

プロジェクト名： 超大容量ゲノム・多元軸表現型データの統計情報解析による
遺伝機能システム学（略称：遺伝機能システム学）

プロジェクトディレクター： 倉田 のり教授（国立遺伝学研究所）

〔1〕 研究計画・研究内容について

(1) 目的・目標

本プロジェクトでは、大量ゲノム配列情報や遺伝子発現情報のデータ解析手法と多元的な生物表現型多様性の統計モデリング手法を開発する。両者を統合することにより複雑な遺伝的相関構造を描出するための方法を開発し、モデル生物に適用してゲノム機能と遺伝的ネットワーク抽出を行う。これにより、多数の遺伝因子の高次連関から形成される生物多様性を、システムとして理解することを目指す。

これらの研究の効率的推進のため、本プロジェクトは以下の3つのサブテーマを設定して行う。

(サブテーマ1) 次世代シーケンサによるゲノム関連情報の大規模生産とその情報解析手法の開発

(代表、藤山秋佐夫：情報研／遺伝研)

(サブテーマ2) 大量ゲノム関連データと多元的な生物表現型多様性データの統合による遺伝的相関構造抽出のための統計手法の開発と最適化 (代表、栗木 哲：統数研)

(サブテーマ3) 大量で多元的なデータの情報・統計手法を適用したゲノム機能と遺伝的ネットワーク抽出 (代表、倉田のり：遺伝研)

サブテーマ1では、最新のゲノムテクノロジーを駆使して年あたりペタバイト級の超大容量ゲノム・遺伝子関連データを系統的に生産し、統計情報解析研究と融合させることによって、生命システム原理についてのデータセントリックな理解を目指す。

サブテーマ2とサブテーマ3においては、まずマウス、イネ、ゼブラフィッシュ、ショウジョウバエなどのモデル生物のゲノム配列・遺伝子型、遺伝子発現表現型、表現型因子、背景因子、時系列情報などのゲノムおよび表現型の多型・多様性データの抽出法を確立する。抽出データの多重組み合わせや相関解析などを行う統計的解析手法の開発と、その手法によるデータ解析を行い、生命・遺伝現象に関するメカニズムを新たな手法で解明することを目的とする。とくにデータ取得技術の進展によって、時系列、e-QTL、遺伝集団構造解析の展開で生み出される新たな形での情報取得と、それによって生ずる課題に対応できる手法の開発を目指す。それらの方法論に立脚して、生物表現型多様性を多元的に様々な角度から説明できる、「遺伝機能システム学」の展開を図る。

(2) 必要性・重要性（緊急性）

ヒトゲノム解読計画以来、生命科学の研究スタイルは、大量のゲノム情報を基盤とするデータ駆動型へとパラダイムシフトが進行しつつある。近年の超並列大規模シーケンサの登場は世界的にもその勢いを加速させているが、我が国の大学研究機関の対応は大きく後れており、特に遺伝学の研究分野における大量のデータ処理と情報解析に不可欠な統計分野、情報分野との研究交流は、ごく一部のグループを除いては殆ど行われていない。このため、今後の情報ゲノム科学の発展に不可欠の研究コミュニティ形成や、社会にこれらの超大量データを用いた科学知の必要性を認知させる仕組みは脆弱であり、早急の基盤形成が必須である。このような基盤形成を行う場として、本プロジェクトの掲げる研究連携を、生命・遺伝研究の一つの中心拠点である遺伝研と、情報処理・解析の拠点である情報研、統計数理の拠点である統数研を有する情報・システム研究機構で担う事は、大きな意味がある。

世界での研究分野の現状を考えると、日本でのこのような試みは遅きに失した感もあるが、緊急に進めるべき分野である。

(3) 期待される成果等（学問的効果、社会的効果、改善効果等）

本プロジェクトの成果は、生命科学、統計学、情報学の各研究コミュニティに対して異分野間融合研究の有効性を強くアピールするものとなると期待できる。同時に、本融合研究を通して作られる遺伝学と情報学、統計学の共同研究の土壌は、いずれの研究コミュニティにも学問的に非常に良い影響を与えることが期待される。また、わが国の学術分野で欠落している multi-disciplinary な人材育成の土壌が参加各機関に形成されることが期待される。

多くの局面で統計的データ解析手法は生命遺伝現象データ解析に決定的に有用であるが、測定技術進歩にデータ解析が追いついていないのが現状である。また歴史的には統計学の起源のひとつは、生命・遺伝現象のデータを解析するために生み出されたものであり、現在においても生命遺伝データの解析を目的として開発される手法が普遍化されることにより統計学全体に還元されることは少なくない。それらの方法論は遺伝研究以外においても活用できる汎用的な性質を有するため、統計学への還元も期待される。

これらの新たな研究開発現場の中で学ぶ事により、大学院生、ポスドクなどが新たな学問の形成に寄与しつつ、育って行く事が望まれる。大容量、多様なデータに基づく多次元の視点からの研究が生み出す新たな研究、新たな問題が次の時代の学問の醸成につながる。いずれの視点からも、本課題が遺伝学研究、統計学、情報科学に大きな貢献をもたらすのみならず、これらの分野を超えた新しい融合領域の創成が期待される。

(4) 独創性・新規性等

本プロジェクトで研究対象とするイネ、マウス、ゼブラフィッシュ、ショウジョウバエ等のモデル生物は、国立遺伝学研究所が独自に開発した実験系統と自然変異を豊富に包含した独創的な遺伝資源である。これらの研究資源の大容量ゲノム関連情報の生産は、世界でトップクラスのゲノム解読能力を有する国立遺伝学研究所のシーケンスセンターが担当する。また、大容量情報のデータ解析には、我が国の情報学の拠点である国立情報学研究所と統計数理解析の拠点である統計数理研究所が担当する。このように、独自の遺伝資源を軸に据え、遺伝学、情報学、統計学の統合的解析を行う「遺伝機能システム学」の構築は、世界に類を見ない新規性の高い試みであり、本プロジェクトの推進はこのような融合的研究体制を組織できる情報・システム研究機構以外ではあり得ない。さらに、本プロジェクトは、情報・システム研究機構外の大学・研究機関からも研究者が参加し、相互に密接な関係を保ちながら研究を進める点でも極めて新規性が高く、大学共同利用機関としての役割を担うものでもあり、他の研究機関で実施することは不可能である。

(5) これまでの取り組み内容の概要及び実績

サブテーマ1については、これまでにナメクジウオゲノム、メダカゲノム、ラットゲノム、チンパンジーゲノム等の解読を大規模国際共同研究として進めてきた。また、新型シーケンサの導入とゲノム解読への利用を進め、大腸菌、線虫などの生命研究に有用な変異体のゲノム変異部位の特定や、日本産野生マウス系統についての比較ゲノム解読、ヒト個人ゲノムの解読等を行っている(Kasahara et al., Nature, 2007, Putnam et al., Nature, 2008, STAR Consosium, Nat. Genet., 2008, Rensing et al., Science, 2008 など)。また、次世代シーケンシングパイプラインの検討を進め、2008年7月から2013年3月までに累積で約 50×10^{12} 塩基のデータを生産した。染色体機能領域研究については、ニワトリ培養細胞の系を活用し、特に動原体領域に存在するタンパク質の同定やゲノム配列上の特徴、ゲノム改変技術を開発してきた(Hori et al., Cell, 2008; Amano et al., J. Cell Biol., 2009)。また、主にシロイヌナズナ及びイネを用いゲノムDNAの修飾と機能との関連解析研究を進めている。今年度の成果については、[5]に記載した。

サブテーマ2では、関連する以下の成果を得ている(1)機械学習とベータダイバージェンスの方法による形の表現型の計量化とQTL解析のロバスト化(Mollah et al. Neural Processing Letters, 2007など)(2)ロバスト推定に関する基礎的な研究：外れ値の割合が大きい場合にも潜在バイアスを小さくすることが可能

な方法を提案した (Fujisawa & Eguchi, *Journal of Multivariate Analysis*, 2008) (3) 高い相関構造を持つ多重検定の研究: 多重積分の必要なしに簡単に陽に計算ができ、近似精度が高く、保守的でもある検定方法を開発した。(Ninomiya & Fujisawa, *Biometrics*, 2007) (4) 連鎖解析のエピスタシスの解析において、逐次解析やチューブ法を含むいろいろな方法で検定の多重性調整 p 値を与える方法を開発した (栗木哲「QTL 解析の統計モデルと検定の多重性調整」、21 世紀の統計科学、東京大学出版会、2008; Kuriki, et al. *Annals of the Institute of Statistical Mathematics* 2013) (5) いくつかの古典的 QTL 解析において、影響関数を定義し、マウスのデータについて解析を行った (Dou et al., *Biometrical J*, in revision)。(6) 遺伝子数が多く実験回数が少ないデータに対して妥当な P 値を推定できる遺伝子発現差解析手法の成果をまとめた。これらの成果のうち、(1)、(4) については、サブテーマ (3) と関連して、第 1 期新領域融合研究プロジェクト「生物多様性解析」を中心とする成果、(5) については第 1 期からの継続中のテーマである。

サブテーマ 3 についても、サブテーマ 2 と同様に第 1 期新領域融合研究プロジェクト「生物多様性解析」に基づく成果が得られ、第 II 期への展開を継続するとともに、新たな課題や展開でも成果が出始めている。主な成果は、ゲノム配列多型に基づいたマウス複合形質の解析基盤の整備と遺伝的解析 (Takada et al., *Genome Res.*, 2008, Oka et al., *Genetics*, 2007, Amano et al., *Dev. Cell*, 2009)、マウス行動解析の遺伝的基礎 (Takahashi et al., *Behav Genet.*, 2006, Mamm. *Genome*, 2008, *Behav. Genet.*, 2009, Umemori et al. *BMC Genetics*, 2009)、イネ及びマウスの系統間ゲノム多型および発現差検定法 SNEP の開発 (Fujisawa et al., *BMC Bioinfo.*, 2009) や生殖隔離因子の相互作用解析 (Mizuta et al., *PNAS* 2010)、ゼブラフィッシュにおいては、トランスジェニックゼブラフィッシュの大規模作製と表現型解析 (Suster et al., *Dev Biol*, 2009; Esaki et al., *Dev Biol*, 2009; Koide et al., *PNAS*, 2009; Picker et al., *PLoS Biol*, 2009; Sugiyama et al., *PNAS*, 2009; Appelbaum et al. *PNAS*, 2009) など、様々な成果を得ている。

(6) 国内外における関連分野の学術研究の動向

大量遺伝情報解析の関連では、次世代シーケンサの普及により、大規模ゲノムデータを軸とする研究スタイルが個別的な研究テーマにも使われるようになり、研究テーマや研究材料の特性に適した大規模データの取得と情報処理、統計処理を個別の研究室レベルで行うことが求められるようになってきている。また、我が国では諸外国に比して特に遅れていたヒトゲノム研究材料の系統的収集を行うバイオバンクとゲノム情報解読とが一体化した、東北メガバンク構想の実現が本格化している。

遺伝子関連データ解析の観点からは、本プロジェクトで扱う (a) ゲノムデータ解析のための並べ替え検定手法の開発、多重性調整への応用、(b) グラフィカルモデルの利用、(c) LASSO などの疎性、機械学習アプローチはその実用性が強く期待できる分野である。(b) の各変数間の関連性をグラフィカルに表現する方法は、国内外で数例、統数研と東京大医科研、米国ジャクソン研究所のグループが知られている。(a) の多重性に関する研究については、国際的に医学統計の観点での研究が多く見られが、本プロジェクトが主にあつかう実験交配生物に関する多重性に関するものは多くない。

本研究で主に扱うマウス、イネ、ゼブラフィッシュ、ショウジョウバエなどのモデル生物においては、世界中で多様なゲノム情報の抽出や比較解析が行われている。しかし、本プロジェクトで扱う遺伝資源と実験系統は、世界の中でも独自のリソースであり、これらの遺伝的特性、特に表現型や行動パターン、複合形質、発現遺伝子変異、時系列変化など多様な特性の抽出、およびそれらの統合的情報解析を統計学、情報学、ゲノム解析を駆使して解明しようとする試みは、未だ非常に少ない。材料の優位はあるが、方法論の開発は世界中で時を追って進んできており、どのような系統やデータを用いるかの独自性を有効にするため、マッチした方法論との組み合わせの開発は緊急の問題となりつつある。一例としては、動物行動研究における行動の自動解析および時系列解析の重要性が増してきており、本プロジェクトで進めている研究は重要な意味がある。また、高精度の遺伝解析のための、複数系統を遺伝的に交雑したヘテロジニアスストック集団の解析

は国内外の注目を集めつつある。

[2] 研究計画

(1) 全体計画

全体としては、3つのサブテーマ間で機動的、融合的にデータ生産、方法論開発、データ解析を繰り返しつつ、「遺伝機能システム学」を創成し、抽出データ、解析方法論、多重ゲノムデータの体系的な表現型解析、遺伝機能システム解析の成果をコミュニティーに公開・発信して行く。

サブテーマ1

次世代型といわれる超並列DNAシーケンサの利用技術開発を進め、特にサブテーマ2、3、と連携しながら遺伝学研究所が有する遺伝資源に対して豊かなゲノム情報を付加し、研究資源として高度化する。また、計画の後期については、解析微量化、効率化が進むことが期待できるため、例えば発生過程における精細な遺伝子発現プロファイル時系列データなど、従来研究では実現不可能であった、生物学者の『夢』ともいえる定量解析の実現をめざす。このためには、プロジェクト内研究者との連携に加え、「地球生命システムプロジェクト」や「データ同化プロジェクト」との連携、さらには共同利用研究機関であることの特長を生かして研究コミュニティーと連携しながら計画を遂行する。

サブテーマ2

3つの課題

- (a) ゲノムデータ解析のための並べ替え検定手法の開発と多重性調整への応用
- (b) 遺伝子情報と発現データのためのグラフィカルモデルの開発
- (c) LASSO などの疎性、機械学習アプローチの利用

を軸として、遺伝研メンバーが取得したデータから遺伝的知見を引き出すためのデータ解析を行うことを通して、遺伝学上の発見につながる貢献をするとともに、新たなデータ解析のための方法論を開発する。

サブテーマ3

多様なゲノム情報、表現型情報をもつモデル生物、マウス、ゼブラフィッシュ、ショウジョウバエ、イネを用いて、遺伝機能システム学の基盤を作る。野生系統の多様性、ユニークな変異体集団など独自の系統群の持つ遺伝的変異のパワーを多面的に引出し、サブテーマ1、2と共同して多面的、多重的データの相関解析法の開発と解析を行い、グラフィカルモデル理論や情報の階層的組立てにより、遺伝機能システム学を展開する。各生物種で取り扱う具体的内容は、以下の通りである。

- (a) マウスについては、野生系統を含む実験交配集団や2系統間染色体置換系統群等を用いた、複雑形質（体内構造、骨格形態、行動パターンなど）の定量化、データ抽出と統計解析手法の開発。ゲノム多様性データとの相関解析。
- (b) イネについては、野生イネを中心に、ゲノム構造、発現遺伝子の質・量・変異解析。組み換え自殖系統の遺伝型評価、系統毎の表現型抽出、e-QTL解析。野生イネ集団を用いた集団遺伝構造解析、association解析。
- (c) ゼブラフィッシュについては、トランスポゾンを用いた遺伝学的方法論に基づく大規模遺伝子改変系統の作製とそれらからの多様な表現型の抽出および表出法の確立を行なう。
- (d) ショウジョウバエについては、RNAi knock-down 変異系統群を用いて、主に多様な翅形態の変異の抽出法の開発、および変異遺伝子群との相関関係についての解析を行う。

(2) 各年度の計画

平成24年度（中間評価）

サブテーマ1では、大規模ゲノム配列解析パイプラインがほぼ完成し、これを活用した大規模ゲノム配列

データに基づく研究を推進する。このパイプラインは、Web を通して研究コミュニティに公開する。

サブテーマ2では、多重性調整に関しては、神経発達異常を引き起こす QTL 探索の検出力向上を目指し、エピスタシスも考慮に入れた検定を定式化し、多重性調整法を開発した。特に疑似相関（異質のものが混ざっているために生ずる見せかけの相関）を利用した効率のよい多重性調整法を開発した。並べ替え検定に関しては、前年度までに行っていたのは平均の同等性検定であったが、24年度は分散の同等性検定を考察した。グラフィカルモデルに関しては、2部グラフに対応するグラフィカルモデルもちいて、コンソミックと遺伝子の相互作用検出を行う。またマウスの活動量の遺伝解析のために、LASSO をもちいた遺伝子特定の手法を開発し、データの解析を行った。ベルンシュタインコピュラを用いて、マウス・コンソミック系統データの解析に用いた。エクソシーム配列を用いた疾患遺伝子の変異数の推定を行った。

サブテーマ3では、生物系統毎の遺伝子発現量とゲノム多型情報を統合して、ゲノム変異に連動する発現変動要因の検出を行う。情報処理・統計モデリングによって記述した画像データやその他の形質計測データと大量ゲノム多型情報とを連関させる統計手法の最適化を行う。時系列データについてもゲノム情報との連関解析を試みる。以上のデータ群はテーマ2の遺伝的相関構造の統計的手法開発のデータソースとして利用する。

平成 25 年度

サブテーマ1では、ゲノム配列データの生産と解析研究を継続する。器官形成、個体形成、環境適応など基本的な生命現象に関わる遺伝子発現調節機構について体系的な遺伝子発現プロファイ作成を行う。このため、モデル生物を対象に適切な発現データを得るために必要な試料調製手法や、個別の生命現象に特異的な大規模データを取り扱うための情報解析手法の開発を行う。

サブテーマ2では、多重性調整に関しては、提案した疑似相関を利用して検出力を上げる新しい多重性調整法について、その実用性を吟味する。分散の同等性検定に対して外れ値に強い手法を考える。また主成分スコアに基づいたスハース回帰モデルについて検討を始める。グラフィカルモデルについては、昨年度明らかになった問題点を再検討するとともに、グラフィカルモデルの解析が優位性を持つようなデータの取得を、サブテーマ3の協力の下に行う。またグラフィカルモデルの新たな可能性として、3すくみを記述できるようなモデルの開発をはじめ。LASSO を用いた遺伝子探索 (QTL 解析) については、引き続きその妥当性を吟味する。ベルンシュタインコピュラを用いたデータ解析については引き続きデータ解析における実用性を吟味する。

サブテーマ3では、形質とゲノム構造多型、発現多型間の相関解析を GWAS、eQTL 解析を中心にすすめ、ゲノム上の遺伝因子群の特定とネットワークとしての因子群の相互連関を視覚化し記述する手法を確立する。画像データや時系列による多面的な表現形質変動についても、実データを用いたゲノム機能との連関解析を行い、ゲノム機能ネットワーク全体の描出を試みる。

平成 26 年度

サブテーマ1では、技術開発の状況を見ながら前年度の計画をさらに推進させるとともに、解析対象とする生物種、生物系統、さらに生命現象を拡大させる。また、遺伝子発現プロファイルデータをサブテーマ2や3に提供し連携して遺伝子発現のネットワークを解明する。

サブテーマ2では、多重性調整に関しては、純系とそのコンソミックの特徴量を比較する多重検定問題に対し、H25 に開発した手法をカスタマイズして適用し、その有用性を確認する。また全課題を通して、H22～26 で開発した多重性調整法を一般化・汎用化させた後にパッケージ化する。

サブテーマ3では、一連の e-QTL 解析結果をとりまとめ、ゲノム上の遺伝因子群の特定とネットワークとしての因子群の相互連関を視覚化し記述する手法を確立する。画像データや時系列による多面的な表現形質

変動についても、実データを用いたゲノム機能との関連解析を行い、ゲノム機能ネットワーク全体の描出を試みる。

平成 27 年度

時期的に出現が予想される第 4 世代 DNA シーケンサを視野に入れた、新しい情報解析手法についての検討を行う。また、新型シーケンサの特質を生かし、微量ゲノム、集団ゲノムを対象とした新しいゲノム研究の方向性を探る。

全プロジェクトを通して得られた研究成果をとりまとめ、論文発表と Web を通じた公開を行う。特に、次世代シーケンサで生産したゲノム関連情報については適宜アノテーションをつけてデータベース化して web 公開する。新規に開発したアルゴリズム、ソフトウェアについても Web 発信する。また e-QTL データの統合のための国際的な共同体制の構築をめざす。最後に研究成果を公開するための国際シンポジウムを開催する。

平成 28 年度以降の展開

サブテーマ 1 については本プロジェクト発足時には既にゲノムデータの生産量の増大速度が CPU におけるムーアの法則を凌駕していたことが示すように、量的側面からだけ見ても本プロジェクトの中心テーマでもある超大容量データを基軸とする現代生物学の流れは一層の広がりを見せることが予想される。したがって、こうした状況に対処するためには電子ハコモノ整備的な計算機ハードウェアの進歩と従来型の情報工学に依存することは不可能であり、新たな発想のもとに情報学、統計学と融合した新しい学術分野の創造と展開が必要である。本プロジェクトを先駆けとする学術分野での具体的な展開としては、個体を形成する細胞から集団を対象とし、さらに時間軸、空間軸を加味した統合的なゲノム・遺伝機能システムが展開されるであろう。本計画で得られたセントロメアやテロメアのゲノム領域解析からの知識をもとに、制御可能な人工染色体の作成も期待される。

サブテーマ 2 とサブテーマ 3 では、両者を組み合わせる事により、以下のような展開が可能になると考えられる。マウスについては、多様な系統の遺伝構造変異、形質変異、発現遺伝子多様性などを統合して、多くの形質を支配する遺伝子群やネットワークが解明され、利用への展開が期待される。マウス行動データに関しては、ここまでに確立してきた表現形質の抽出法をもとに、多様性を持つ生物集団における表現形質の時系列変化を解析し、更にゲノム遺伝子座マーカーの浮動および選択について、実際の実験結果とシミュレーションによる結果とを比較する段階に入ってゆき、多因子形質の時系列変化におけるゲノムの効果を明らかにしてゆく。またショウジョウバエは翅の形成をモデルとした形態形成に機能する全遺伝子のネットワークを元に、ネットワークを構成するそれぞれのシグナル伝達系が初期胚の各組織の形成や寿命など他の生命現象にどのように関与するかを体系的に検証していく。イネにおいては表現形質を形成する遺伝子発現ネットワークからその遺伝子群の作用・機能メカニズムを解明する。また多様な集団を用いてイネゲノム構造の進化とイネの起源を追うことにより遺伝現象の仕組みや表現型獲得の仕組みを明らかにしていくことが可能になる。

[3] 研究推進・実施体制

サブテーマ 1 では、国立遺伝学研究所シーケンスセンターが直接的なデータ生産に関わるが、従来のゲノム解読では対象になっていなかったエピゲノム修飾、機能的ヘテロクロマチン領域の研究グループや、メタゲノム、個人ゲノム、単一細胞ゲノム等の国立遺伝学研究所の先端的ゲノム研究グループが参加する。また、基礎生物学研究所、理化学研究所、霊長類研究所からゲノム研究グループが参加する予定である。情報解析手法の研究開発は、国立情報学研究所、国立遺伝学研究所、東京工業大学、京都大学、慶應義塾大学から、ゲノム情

報解読やシステム生物学の研究グループが参加する。また、新領域研究「地球生命システムプロジェクト」からの試料解析も実施する。さらにサブテーマ2および3関連のデータ取得では、多様な野生および実験系統からのゲノムおよび発現遺伝子解析等も行うため、これらのデータを各生物のコミュニティで共有したり、比較研究解析の基盤として利用する事も含め、国内外の研究グループと協力、連携する体制を促進する。すでにマウス、イネなどにおける国際連携体制は整っており、具体的データにより今後の展開を図る。そのためには、シーケンサーのフル稼働とデータ解析部隊の充実は必須である。

サブテーマ2および3の実施に当たっては、データ取得のために遺伝研に研究スタッフを配置する。多次元の遺伝情報、発現変異情報、表現型情報、時系列情報の大量データ取得と解析が鍵になる。しかし、本プロジェクトの目指す遺伝的多様性を軸に据えた同様な研究は未だ国内外で部分的にしか取り組みはなく、今後国内外の状況を見ながら順次連携やコミュニティ形成を推進して行く。統計解析の体制としては、統数研、東京大、九州大などから、統計推測（ロバスト、影響分析、グラフィカルモデル、多重性調整など）と知識を有し、かつデータ解析についても経験と興味を有する研究スタッフをおく。全メンバーが協力してデータ解析の方法論の開発にあたる。

(サブテーマ1) 次世代シーケンサによるゲノム関連情報の大規模生産とその情報解析手法の開発

・研究代表者

〔国立情報学研究所〕 藤山秋佐夫

・共同研究者

〔国立遺伝学研究所〕 角谷徹仁、樽谷芳明、深川竜郎、堀 哲也、中村保一、神沼英里、豊田 敦

〔新領域融合研究センター〕 辰本将司、松崎肖子、丸山多恵子、程 朝陽、商 維昊、望月孝子

〔東京工業大学〕 黒川 顕

〔京都大学〕 矢田哲士

〔慶應義塾大学〕 榊原康文

〔基礎生物学研究所〕 長谷部光泰

〔理化学研究所〕 黒木陽子

(サブテーマ2) 大量ゲノム関連データと多元的な生物表現型多様性データの統合による遺伝的相関構造描出のための統計手法の開発と最適化

・研究代表者

〔統計数理研究所〕 栗木 哲

・共同研究者

〔統計数理研究所〕 藤澤洋徳、間野修平、加藤昇吾、田村義保、川崎能典

〔国立遺伝学研究所〕 城石俊彦、高田豊行、小出 剛、倉田のり

〔新領域融合研究センター〕 春島嘉章、堀内陽子、岡（木曾）彩子、Dou Xiaoling、田中英希

〔山形大学〕 坂口隆之

〔新潟大学〕 原 尚幸

〔大阪府立大学〕 川野秀一

〔九州大学〕 二宮嘉行

〔政策科学大学院大〕 土谷 隆

(サブテーマ3) 大量で多元的なデータの情報・統計手法を適用したゲノム機能と遺伝的ネットワーク抽出

・研究代表者

〔国立遺伝学研究所〕 倉田のり

・共同研究者

〔国立遺伝学研究所〕 城石俊彦、小出 剛、川上浩一、上田 龍、高田豊行、田村 勝、高橋阿貴、久保貴彦、武藤 彩

〔統計数理研究所〕 栗木 哲、加藤昇吾、藤澤洋徳

〔国立情報学研究所〕 北本朝展、宇野毅明

〔新領域融合研究センター〕 岡(木曾)彩子、後藤達彦、春島嘉章、堀内陽子、阿部玄武、Dou Xiaoling

〔新潟大学〕 中谷明弘、阿部貴志

〔京都工芸繊維大学〕 高野敏行

〔政策科学大学院大〕 土谷 隆

〔九州大学〕 二宮嘉行

〔大阪大学〕 白旗慎吾

〔首都大学〕 相垣敏郎

〔4〕 研究の進捗状況

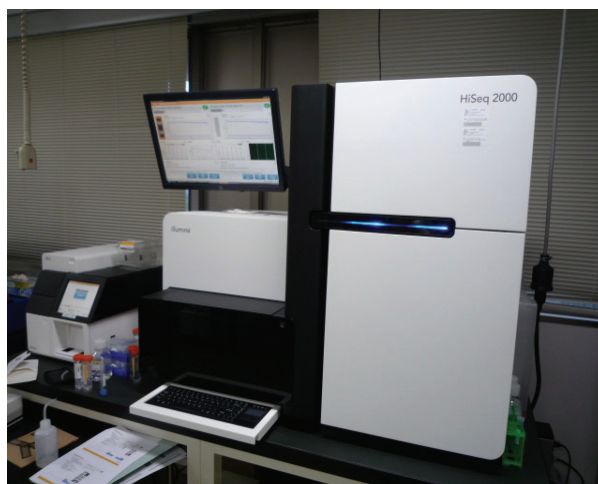
全体としては、3つのサブテーマ間で機動的、融合的にデータ生産、方法論開発、データ解析が進行しており、体系的な表現型-遺伝型相関解析の基盤が整い、相関解析の成果が生まれつつある。最終年度にむけて「遺伝機能システム学」の新たな展開を図っている。

サブテーマ1

「次世代シーケンサによるゲノム関連情報の大規模生産とその情報解析手法の開発」

(1)大規模シーケンサーの稼働状況

22年度に、最新の次世代型シーケンサとして Illumina 社製 HiSeq2000 型及び試料調製装置 c-BOT を導入した。同装置は、アジア地域で中国 BGI に次ぐ国内第1号機であり、当初計画よりも数ヶ月遅れて稼働を開始した。本装置の導入当初の性能は、読み取り鎖長が100塩基、1回の運転あたりのデータ生産量が約200Gbであったが、その後の改良により、読み取り精度の大幅な向上と共に、1回運転あたりのデータ生産量も600Gbに増大されている。23年度の後期には HiSeq2500 タイプにアップグレードし、読み取り長150bp \times 2、180Gbのデータを27時間で産出するモードでの運転が可能となり、時間短縮、マッピングとアセンブリの効率と精度の改善が見込まれる。シーケンサの運用は、国立遺伝学研究所先端ゲノミクス推進センターのシーケンシング施設で行っており、世界的にも高精度のデータ生産が安定して行われるようになっている。本プロジェクトで導入したマシン以外に、HiSeq シーケンサ4台と MiSeq シーケンサ3台、ABI3730 シーケンサ8台が主に使われている。



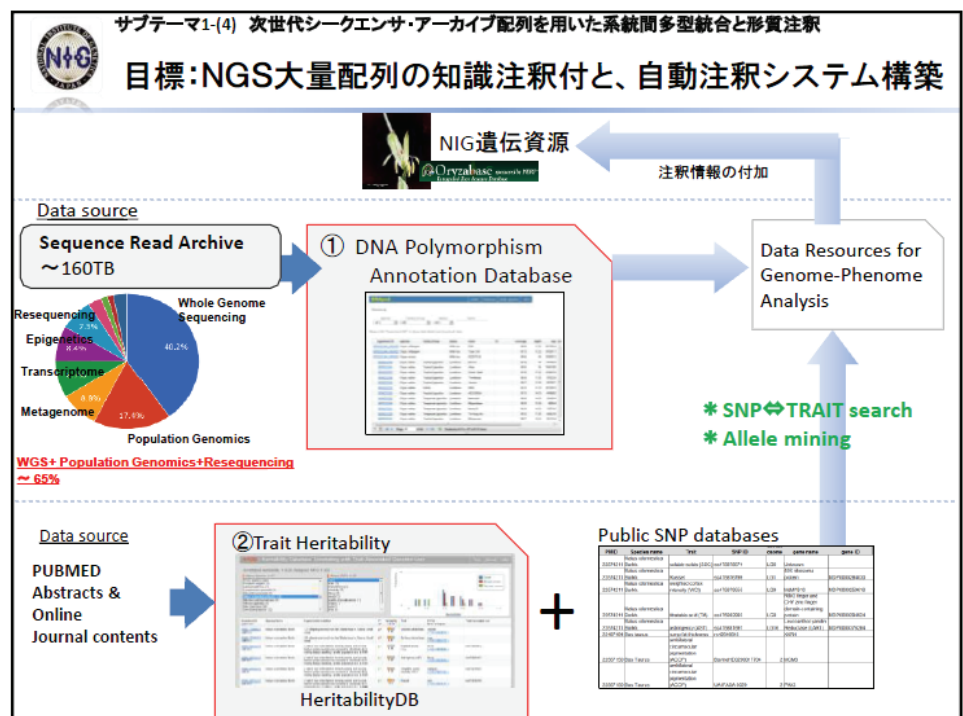
22年度に導入した試料調製装置 c-BOT(左)と、HiSeq2000 次世代型シーケンサ(右)。

(2)データ解析・管理システム

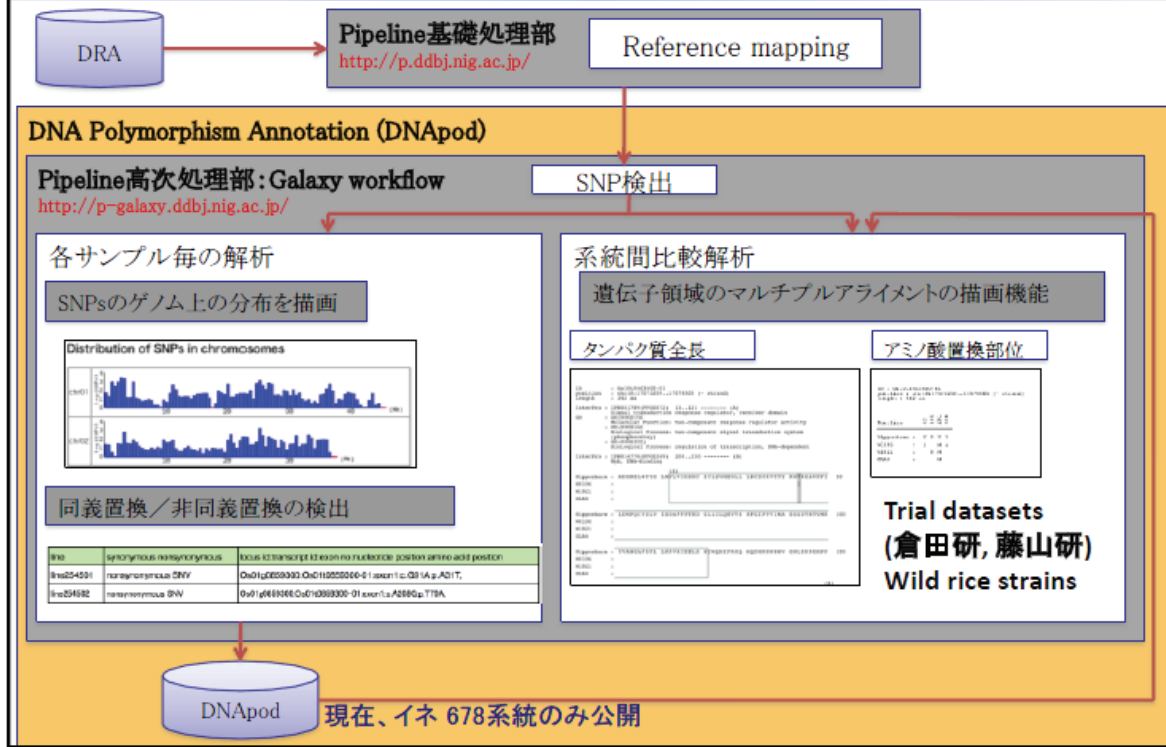
1-1：データ処理パイプラインの機能拡張

基本的なデータ処理パイプラインは昨年度の報告と変更はないが、計算機の増強と23年度から本格稼働した遺伝研スーパーコンピュータを積極的に利用することにより、処理能力の増強を果たしている。次世代シーケンシングパイプラインから出力されたすべての配列データは、最終的にDDBJの新型シーケンサのデータアーカイブであるDDBJ Sequence Read Archive (DRA)に登録される。サブテーマ1中村グループでは、データ処理をクラウド型で行うパイプライン開発を進めてきたが、上述したように遺伝研スーパーコンピュータが本格稼働したことにより、遺伝研植物遺伝研究室との共同研究である「イネ野生種のゲノム解析」にて構築したゲノム解析のワークフローを、種々の動植物や微生物を用いた解析にも適用できるよう増強した。このワークフローでは、DRAに登録されたゲノムリシーケンスデータをクエリとしリファレンス配列にマッピングして、DNA多型を検出する。23年度は、イネ、シロイヌナズナ、トウモロコシ、ソルガムのSNPsに対する構造注釈付けを行うワークフローを実装した。このワークフローでは、以下の2つの構造注釈ができる。(1) 既知の注釈情報を使って、遺伝子領域のSNPsを検出する。(2) 遺伝子領域のSNPsが同義置換/非同義置換のどちらを起すかを検出する。構造注釈を行った結果は、遺伝子領域のアライメントを塩基配列もしくはアミノ酸配列として視覚化することができる。

de novo アセンブリを行う「基礎処理部」と、ゲノム解析、RNA-seq、ChIP-seq等の個別の高次処理を実現する「高次処理部」で構成されている。遺伝研スーパーコンピュータの本格稼働により、一層の効率向上が期待される。

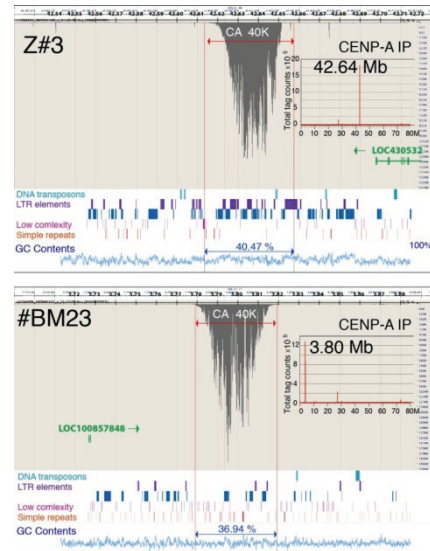


①DRA由来多型統合1.多型構造注釈pipeline公開



1-2 : 高次ゲノム機能領域の解析

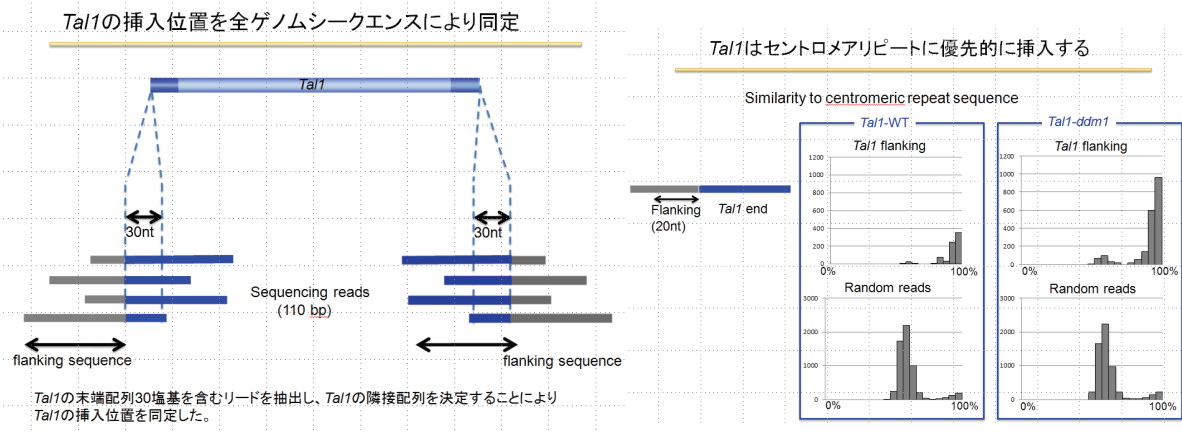
サブテーマ 1 のチーム内では、次世代シーケンサーを活用した大規模シーケンシングを基盤とする融合的研究が進み、深川グループによる染色体高次構造に関する研究では、主にセントロメアのゲノム領域の実体を知ることが目的に研究を推進した。細胞分裂の際に、染色体は両極から伸びた紡錘糸が染色体の特殊領域を捉えることで遂行される。この紡錘糸が捉える特殊領域はセントロメアと呼ばれ、多くの生物種では、セントロメア領域は巨大な反復配列から構成されている。しかし、セントロメア領域は巨大で複雑な反復構造を構成しているため、一般的なゲノム解析の対象から除外されており、また、解読後にこの配列の機能解析を行うことは、きわめて困難であると考えられてきた。本研究では、ニワトリのセントロメアタンパク質の研究を長年行ってきた深川のグループと、ゲノム解析を専門とする藤山のグループと、情報学専門とする榊原のグループが融合することで、ニワトリゲノムを対象として、セントロメアのゲノム配列の実体解明と、その配列の機能的意義の解明を進めており、動原体構築動態における CENP タンパクの機能解明 (*EMBO J.* 32: 424-436, 2013 ; *J. Cell Biol.* 200: 45-60, 2013) に関する成果を論文報告した。



新型シーケンサーによるChIP-seq解析令Z#3は、本来のセントロメア #BM23は、本来の場所と全く異なる領域にセントロメアができています

1-3 : 植物におけるエピジェネティックな高次ゲノム機能研究の超大規模化

サブテーマ 1 の角谷グループは、ゲノム機能調節の重要なメカニズムの一つであるメチル化とトランスポゾン転移について、シロイヌナズナと近縁種をモデルとした研究を進めている。この種の研究では、全ゲノム解析を行わない限りは個別の遺伝子レベルでの解析に終始するおそれがある。また、トランスポゾン転移系のように高頻度でゲノム全体に動き回る因子の解析にも全ゲノム解析は必須である。新型シーケンサによる大規模解析は、こうした生物学的に重要な現象に対して配列データの裏付けのついた解析を行うことを初めて可能にするもので、今年度はシロイヌナズナモデルを用いたアクティブなセントロメア指向性トランスポゾン転移部位の網羅的同定に成功し論文発表を行った (*Genes Dev.* 26:705-713, 2012)。深川グループの研究と併せ、いずれも大規模ゲノムシーケンシングによって明らかにされたゲノム機能領域の構成と機能に関する重要な知見である。



サブテーマ 2

「大量ゲノム関連データと多角的な生物表現型多様性データの統合による遺伝的相関構造描出のための統計手法の開発と最適化」

2-1 : ゲノムデータ解析のための多重性調整の研究 [二宮、藤澤、坂口、小出、梅森、高田、城石]

前年度までにおいて、QTL 検出のための検定に対する多重性調整法を提案し、特にマーカーが密に存在するときには検定統計量間の相関が 0.9 にもなるため、既存手法より提案手法の検出力が大きく上回ることを示してきた。QTL 検出ではマーカー間の距離がわかっており、検定統計量間の相関を求めることができるが、一般の多重検定問題においては相関が未知であることも多い。本年度の研究は、相関が未知であるときに、その代わりとして特殊な統計量を用いることで検出力が上がるような新しい多重性調整法を開発したことである。

対象としている多重検定問題は、純系のマウス MSM とそのコンソミックの特徴量 (体重・身長など) の比較である。コンソミックは 20 種、特徴量は 34 種あるため、検定数は 680 となる。具体的には、MJM と第 s コンソミックの第 j 特徴量 (の期待値) は等しいという帰無仮説と、等しくないという対立仮説とを比較する t 検定を考えている ($1 \leq s \leq 20$, $1 \leq j \leq 34$)。以降、この t 検定統計量を $T_j^{(s)}$ と書くことにする。

最もシンプルな多重性調整法は、相関の推定量を求め、それを相関の代わりとして用いて既存手法を適用することである。Dudoit et al. (2004) の方法はこれに相当する。 $T_j^{(s)}$ 間の相関を各マウスにおける標本相関を用いて一致推定すれば、この方法が漸近的に Family-wise error rate (FWER; 多重検定における第一種の過誤) をコントロールするのは自明な結果である。しかし、本データにおいては各マウスにおける標本相関がそれほど小さくなく、これにより $T_j^{(s)}$ 間の相関も高々 0.5 ほどであったため、相関を用いることによる改良は小さなものであった。

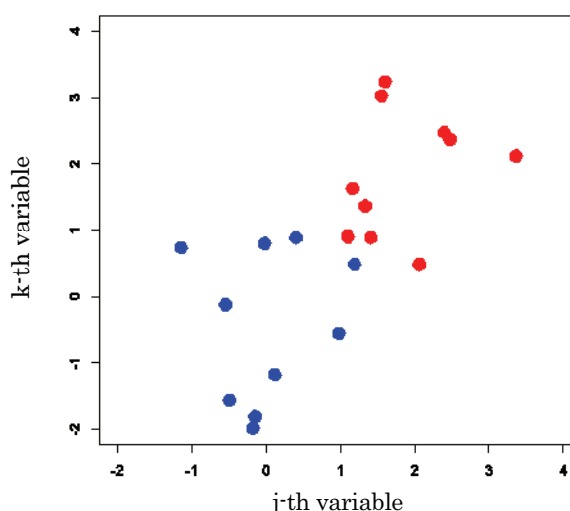
身長と体重のように、一方が大きい（小さい）ければ他方も大きい（小さい）くなる傾向がある場合、各マウスに対する標本相関より、マウス複数種のデータを併せたものに対する標本相関の方が大きくなる。これはいわゆる疑似相関である（右図において、青の相関は 0.13、赤の相関は 0.27 であるが、青と赤を併せて得られる疑似相関は 0.68 である）。

この値を多重性調整で用いることができれば、相関を用いることによる改良は大きなものとなるが、一般に FWER をコントロールすることはできない。

そこで本研究では、疑似相関を用いてよい条件を考え、 $T_j^{(s)}$ と $T_k^{(s)}$ 間の相関を求めるときは MJM と第 s コンソミックのデータを併せて得られる疑似相関を用いてよいことを発見した。具体的にいえば、

疑似相関は真の相関の一致推定量ではないものの、それを利用した多重性調整は漸近的に FWER をコントロールすることを示した。そして数値実験により、設定によっては Dudoit et al. (2004) の方法を大きく改善することを確認した。

本年度、ここまでの成果を日本計量生物学会と 8th International Conference on Multiple Comparison Procedures において講演発表し、研究の新規性と有用性についての客観的評価を確認している。今後の課題は、本データに適用するために手法を精緻化・カスタマイズし、実データ解析において手法の有用性を確認するとともに、論文としてまとめあげることである。



2-2 : 遺伝子情報と発現データのためのグラフィカルモデルの開発

[原、城石、高田、栗木、二宮、倉田、春島]

グラフィカルモデルは、変数間の条件付独立関係、因果関係をグラフで表した統計的モデルである。グラフィカルモデルは遺伝連関解析において、遺伝子間の相互作用や、遺伝子発現の因果関係のモデリングに有用であると考えられている。本年度はマウスの 2 系統間染色体置換（コンソミック）系統群を用いた遺伝子間相互作用ネットワーク推定のための、統計的モデルの構築、および LASSO 型推定手法を用いた解析を行った。

解析したデータの詳細は以下の通りである。B6、MSM、コンソミック 28 系統の計 30 系統について、総数 45101 肝臓の遺伝子の発現量のマイクロアレイデータが得られている。系統と遺伝子の組み合わせ一つについて、2 個体×繰り返し測定 2 回、計 4 つデータが得られている。すなわち、 45101×30 の 2 次元テンソル形式の発現量データが 4 セット存在する。遺伝子間制御関係の推定は、統計学的には（遺伝子） \times （系統）の制御関係を表す 2 部グラフの推定問題と考えることができる。

このデータを以下の手順で前処理を行った。 $z_{i,B6}$ を B6 の gene i における発現量の算術平均、 z_{ij} を系統 j の遺伝子 i における発現量の算術平均とする（ $i=1, \dots, 45101$, $j=0, \dots, 28$ ）ただし $j=0$ は MSM、 $j=1, \dots, 28$ はコンソミック。 $y_{ij} = z_{ij} / z_{i,B6}$ が 45101×29 のテンソル型データとなり、ここでは y_{ij} を分析に用いた。

図 2-2-1 は、横軸が系統、縦軸が遺伝子、 $y_{ij} > 2$ のとき赤、 $y_{ij} < \frac{1}{2}$ のとき青色でプロットされたもの。対角線上に有意な発現量差 (cis) が観察されている。これは予備的な解析において、手作業で作成したものである。このような図を客観的に統計モデルを用いて推定することが目的である。

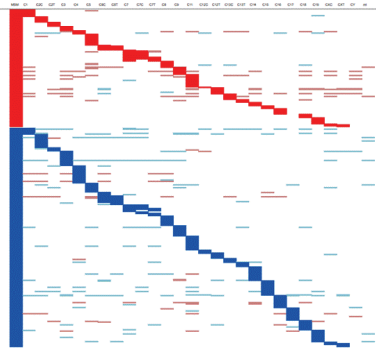


図 2-2-1 : 手作業による予備的な解析

ここでは以下のような線形モデルを考える

$$\log y_{i0} = \alpha_i + \beta_{i1} + \beta_{i2} + \dots + \beta_{iJ} + \varepsilon_{i0}$$

$$\log y_{ij} = \alpha_i + \beta_{ij} + \varepsilon_{ij} \quad (j=1, \dots, J)$$

($i=1, \dots, 45101, J=28$)。 α_i は gene i の主効果、 β_{ij} は MSM の染色体 j の遺伝子 i への効果。 ε_{ij} は誤差項。これを、 $Y_i = X_i \beta_i + \varepsilon_i$ 、 $i=1, \dots, 45101$ 、ただし $Y_i := (\log y_{i0}, \dots, \log y_{iJ})'$ 、 $\beta_i = (\alpha_i, \beta_{i1}, \dots, \beta_{iJ})$ 、 X_i は説明変数行列、とベクトル行列表現する。このとき LASSO 推定量は以下の最小化問題の解である：

$$\min[(Y_i - X_i \beta_i)'(Y_i - X_i \beta_i) + \lambda |\beta_i|_1] \quad \text{subject to } \beta_i \in R^{J+1}, i=1, \dots, 45101。$$

実際の計算には R の glmnet を利用した。推定結果を図 2-2-2 から 2-2-4 に示す。

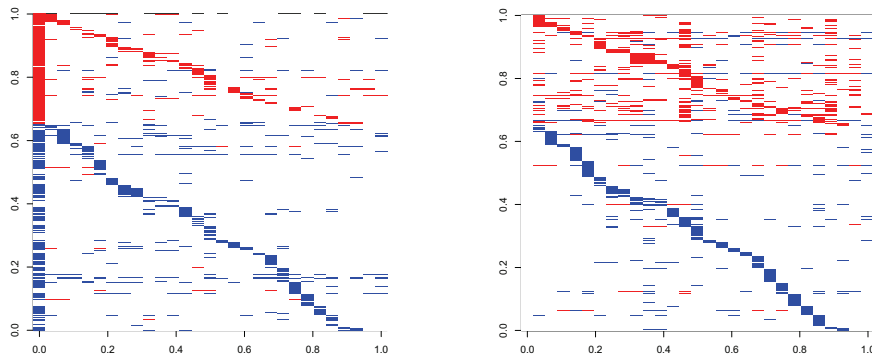


図 2-2-2: 図 2-2-1 で cis と確認された遺伝子における [左] 発現量の比(発現量比が 1.1 以上: 赤、発現量比が 0.8 以下: 青)と [右] 推定されたモデル(縦軸: 遺伝子、横軸: $\beta_{i0}, \dots, \beta_{i,28}$ の符号、赤: $\hat{\beta}_{ij} > 0$ 、青: $\hat{\beta}_{ij} < 0$ 、白: $\hat{\beta}_{ij} = 0$)。

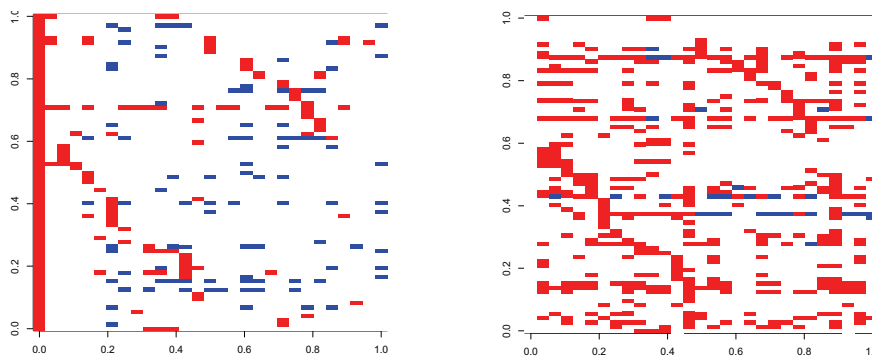


図 2-2-3 : MSM/B6 の発現量比が 1.5 以上の gene に関する [左] 各コンソミック系統(含 MSM)と B6 の発現量比(発現量比が 1.2 以上: 赤、発現量比が 1/1.2 以下: 青)と [右] モデルの推定結果。

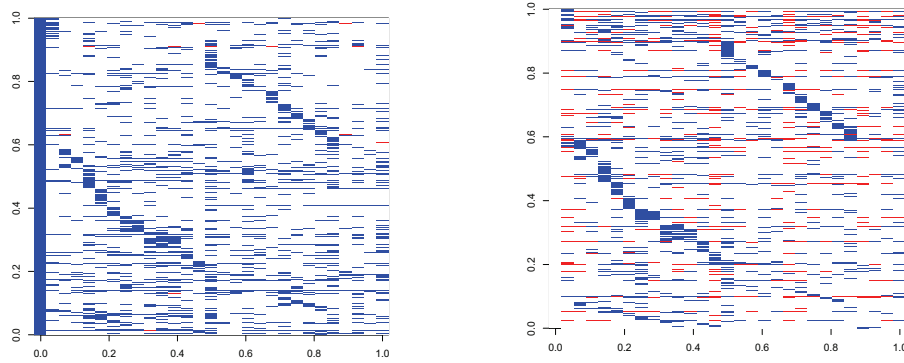


図 2-2-4 : MSM/B6 の発現量比が 1/1.2 以下の gene に関する[左] 各コンソミック系統(含 MSM)と B6 の発現量比 (1.2 以上 : 赤、 1/1.2 以下 : 青) と [右] モデルの推定結果。

マイクロアレイデータではなく、次世代シーケンサデータで同様のことを行うこと、本当に興味のある部分を現在のように手作業でなく、自動的に抽出できるアルゴリズムを作ること、また遺伝学的知見に基づいてモデルを改良することが今後の課題である。

2-3 : 回帰分析を用いたマウス活動量データの遺伝解析 [加藤、石井、西、梅森、栗木、小出]

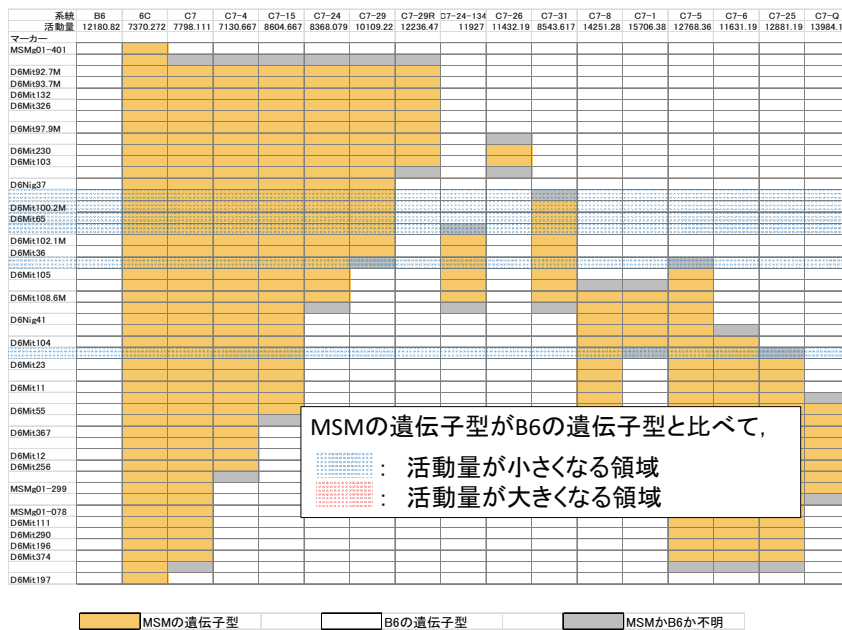
Nishi *et al.* (2010)は、野生由来マウス系統 (MSM) と実験用マウス系統 (B 6) の行動形質を行い、2 系統のマウスの活動量 (home-cage activity) に有意な差があることを明らかにした。さらに、染色体領域 Chr 6 の遺伝子型の違いが、活動量に大きく影響していることも示した。

本研究では、染色体領域 Chr 6 のどの領域の遺伝子型の違いがマウスの活動量に影響するのかを調べるため、Chr 6 の一部を置換した B 6 のサブコンソミック系統を樹立し、それらの系統の活動量データから回帰分析の手法を用いて活動量に影響する領域の特定を試みた。

回帰分析においては、マウス系統の活動量を被説明変数、microsatellite marker における遺伝子型を説明変数とした。しかし、今回のデータに対して、通常最小二乗法に基づく回帰モデルを当てはめることには大きな問題点があった。それは、microsatellite marker (説明変数) の数がマウスの系統数 (標本数) よりも大きくなるという問題、つまり $p \gg n$ 問題、である。このようなデータに対しては、通常最小二乗誤差に基づく回帰モデルでは解が一意に求まらないことが統計学において知られている。

この問題を克服するため、今回は以下のように解析を行った。まず初めに、lasso (Tibshirani, 1996)を用いて変数選択を行い、説明変数が標本数よりも小さくなるまで変数を削減した。それから、通常最小二乗法による回帰モデルを当てはめ、all subsets を用いてさらなる変数選択を行った。

その結果、活動量に有意に影響を与える染色体領域をした左図のように推定することができた。また、今回の解析により活動量を大きくすると推定された領域は、追加して行った実験の結果とも一致した。現在、これらの結果をまとめた論文を執筆中である。



2-4 : 遺伝子のデータを統合して解析効率を上げるデータ解析手法の開発

[藤澤、坂口、高田、岡、城石、倉田]

遺伝子発現データを解析する際に問題となるのが、繰り返し数が少ないという点である。そのため、解析を行うことはできても、その結果に信頼がおけない、という深刻な問題が生じていた。その繰り返し数の少なさを克服するために、様々な手法が提案されていた。特に、ほかの遺伝子上のデータを援用して見かけ上の標本数を増やして、信頼性が上がっているかのように見せかける手法が多くの中で使われ始めている。しかしながら、そのどれもがアドホックな提案であり、何の理論的な最適性も議論されていなかった。平均の同等性検定では t 検定が最適であることが証明されている。分散の同等性検定では F 検定が最適であることが証明されている。そのような結果が、それらの方法を汎用的にしている。そのような最適性を議論することで、アドホックな手法の妥当性を検証し、また、アドホックさからは見つからない手法が見つかるのではないかと考えた。

本課題では、遺伝子発現データで頻繁に行われている遺伝子発現差解析をターゲットにした。平均の同等性においては、次のような結果を得ていた。まずは、背後にある母集団分布が、左右対称である場合を考えた。その場合に、ほかの遺伝子のデータを援用しても P 値を妥当に推定できるための数学的条件を導出した。その条件の下で最適な検定手法を導出した。その結果として、過去にアドホックに提案されていた手法と、ほぼ同一のものが得られた。普通の t 検定と違うのは、ほかの遺伝子を援用しても P 値推定が妥当になる条件を、余分に課した点であった。その分だけ問題は格段に難しくなっていた。さらに、背後にある母集団分布が、左右対称とは限らないが同じ分布族に属しているという場合を考えた。この条件はある意味では数学的に少しきつくなるが現実のデータに対しては十分に妥当であるとも考えられる。その場合にも、上記と同様なことを行い、過去には現れていなく、アドホックには見つかりにくい、より検出力の高い方法を得ることに成功した。この検定方式は直観にも訴える自然な形式をしていたことも、アピーリングなものであった。

そこで、次に、分散の同等性検定を考えた。分散の同等性検定の最適性は、平均の同等性よりも一段難しい問題になる。しかし、遺伝研からのデータの要請から、そのような問題も考えることにした。上述のような設定において、同じように問題にトライした。しかしながら、思いのほか壁は厚く、残念ながら、一般に最適な検定を得ることはかなわなかった。結果的に、ある程度は狭いクラスの下で局所最強検定を得る程

度に終わってしまった。また、その検定方式が、直観に訴えるものでもなかった。いろいろと条件を緩和することも試みたが、きれいな結果を得るまでには至らなかった。

その過程において、もちろん、遺伝研のデータの解析を行っていた。そのうちに、外れ値に対処することの重要性が現れてきたため、分散の同等性検定においては、その方向にシフトすることを検討した。その検討の結果として、次年度からの研究テーマを変更するに至った。

2-5 : コピュラを用いたマウス・コンソミック系統データの解析 [Dou, 栗木, 城石, 高田]

Triglycerides (TG)と plasma high-density lipoprotein cholesterol (HDL)は代謝症候群に関する重要な指標であり、人間の心臓血管発病と関連性がある。肥満に関与する遺伝子を特定するために、TG と HDL データが 314 匹の生後 10 週間のメスのコンソミックマウスから観測した (Takada and Shiroishi, 2012)。本データセットは C57BL/6 (B6) と MSM/MS (MSM)の純粋の血統で作られた 30 種類のコンソミック血統を含まれている。そのプロットを図 2-5-1 に示す。

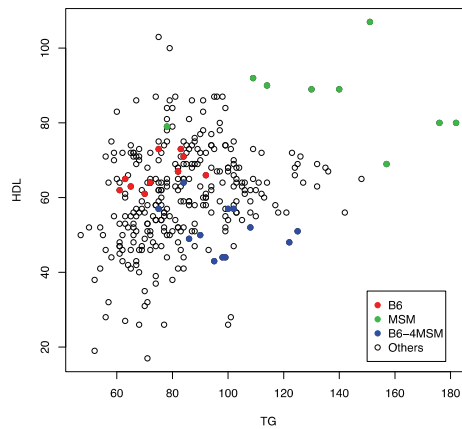


図 2-5-1 : コンソミック系統 30 種の TG-HLD 相関図

図 2-5-1 はコンソミック 30 系統を同時に描いたものであり、そこにはいろいろな相関構造が混ざっていると考えられる。このような複雑な 2 変量 (一般には多変量) 分布を記述するための方法として、我々はベルンシュタイン (Bernstein) コピュラの方法を考案した。これは順序統計量の考え方から構成されたコピュラであり、たとえば 2 変数データの同時密度関数は以下の様に記述される :

$$h(x, y; R) = mn \sum_{k=1}^m \sum_{l=1}^n r_{k,l} b_{k-1, m-1}(F(x)) b_{l-1, n-1}(G(y)) = c(F(x), G(y); R) f(x) g(y).$$

ここで $c(F(x), G(y); R)$ は Bernstein コピュラ密度、 R は $m \times n$ パラメータ行列、

$$b_{k,n} = \binom{n}{k} u^k (1-u)^{n-k}, \quad \sum_{l=1}^n r_{k,l} = \frac{1}{m}, \quad \sum_{k=1}^m r_{k,l} = \frac{1}{n}, \quad r_{k,l} \geq 0$$

ここで未知パラメータは周辺分布の $F(x)$ 、 $G(y)$ (密度関数はそれぞれ $f(x)$ 、 $g(y)$)、ならびにパラメータ行列 R である。周辺分布に関しては、通常のコピュラ法と同様、周辺経験分布ならびに適当なカーネル法で推定を行う。パラメータ行列 R については、ベルンシュタインコピュラが有限混合分布の形をもつため、EM (Expectation-maximization) アルゴリズムを用いることができる。その際の行列 R の初期値として経験コピュラ推定量 (Sancetta and Satchell, 2004; Janssen, et al., 2012) を用いることができる。その詳細は

arXiv:1301.2677 (<http://arxiv.org/abs/1301.2677>) を参照されたい。

この方法を用いて推定された密度関数の等高線を図 2-5-2 に示す。

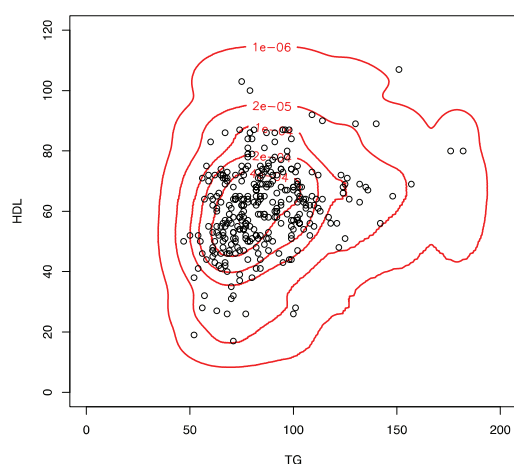


図 2-5-2 : ベルンシュタインコピュラを用いた推定密度関数

なおベルンシュタインコピュラは非常に柔軟なモデルであり、たとえば高次の交互作用を含んだ 3 変数データにも柔軟に適合する。詳細は上述の論文 (arXiv) を参照されたい。

2-6 : エクソーム配列を用いた疾患遺伝子の変異数の推定 [間野、西野]

現在、次世代シーケンサによるエクソーム配列を用いた疾患遺伝子のマッピングでは、患者は持っているけれども健常者はもっていない変異を抽出し、しらみつぶしに調べるアプローチが主流である。しかし、帰無仮説の下でどの程度の個数の変異が抽出されるかという見積りがなかった。そこで、我々は、研究計画に資することを目的とし、その期待値を求めた。成果は、次の通り、学術雑誌 *Comp. Math. Methods in Medicine* に発表した。

Nishino J, Mano S. 2013. The number of candidate variants in exome sequencing for Mendelian disease under no genetic heterogeneity. *Computational and Mathematical Methods in Medicine* 2013: 179761. 13pp.

サブテーマ 3

「大量で多元的なデータの情報・統計手法を適用したゲノム機能と遺伝的ネットワーク抽出」

前年度に引き続き、複雑形質（マウス：生体内構造、生化学データ、骨格形態、行動パターンなど、イネ：多年生・1年生の生態型、種子稔性、生殖器官形態など）の表現型計測を行いデータの拡充を行った。汎用実験系統、野生由来系統、さらにはそれらの交配集団や亜種間コンソミック（染色体置換）系統群などを対象としたデータ産出とサブテーマ 2 との連携による統計解析手法の開発を行った。マウスゲノム多型と遺伝子発現情報を利用して、対立遺伝子による遺伝子発現量の差を制御する遺伝機構を解析するため、各種交配系統の整備およびサブテーマ 1 との連携による次世代シーケンサーを用いた対立遺伝子発現データの収集と解析を開始した。イネにおいては、GWAS 解析法の開発・改良を図るため、統計的手法の検討も開始した。

3-1 : 次世代シーケンサーによる対立遺伝子発現バイアスの遺伝的制御機構の解明

[豊田、藤山、阿部、中谷、近藤、清澤、藤澤、栗木、二宮、原、岡、高田、城石]

本テーマの目的は、ゲノムのリファレンス配列が整備されている 2 種類のマウス系統間のゲノム多型情報と、両系統を使用した計画的交配により得られた個体群の各種組織の遺伝子発現情報を解析して、対立遺伝

子間の発現量差を制御する遺伝機構の解明につながる研究を行うことである。我々が使用するマウスは、最初にゲノム配列が明らかにされた汎用実験用系統である西ヨーロッパ産由来の C57BL/6J(B6)系統、および国立遺伝学研究所が樹立し、我々がその塩基配列を明らかにした日本産野生由来の MSM 系統である。両系統間には、膨大な cSNP (26,000 の non-synonymous 塩基置換を含む) があるため、哺乳類でゲノム上の全遺伝子について次世代シーケンサーを用いた RNA-Seq 法で両親由来の対立遺伝子の発現バイアス(極端な場合にはインプリンティング現象)のプロファイリングが可能となる。本研究ではまず両系統の交配により得られる F1 個体の解析を当面の対象としている(図 3-1-1A)。なお、情報解析については、サブテーマ 1 により生産される遺伝子発現情報は国立遺伝学研究所 DDBJ スーパーコンピュータ(NIG スパコン)を活用して行う。NIG スパコンの利用にあたっては、プロジェクト参画メンバーが自由にアクセスできる環境を整備し、データや解析結果の共有を行う。

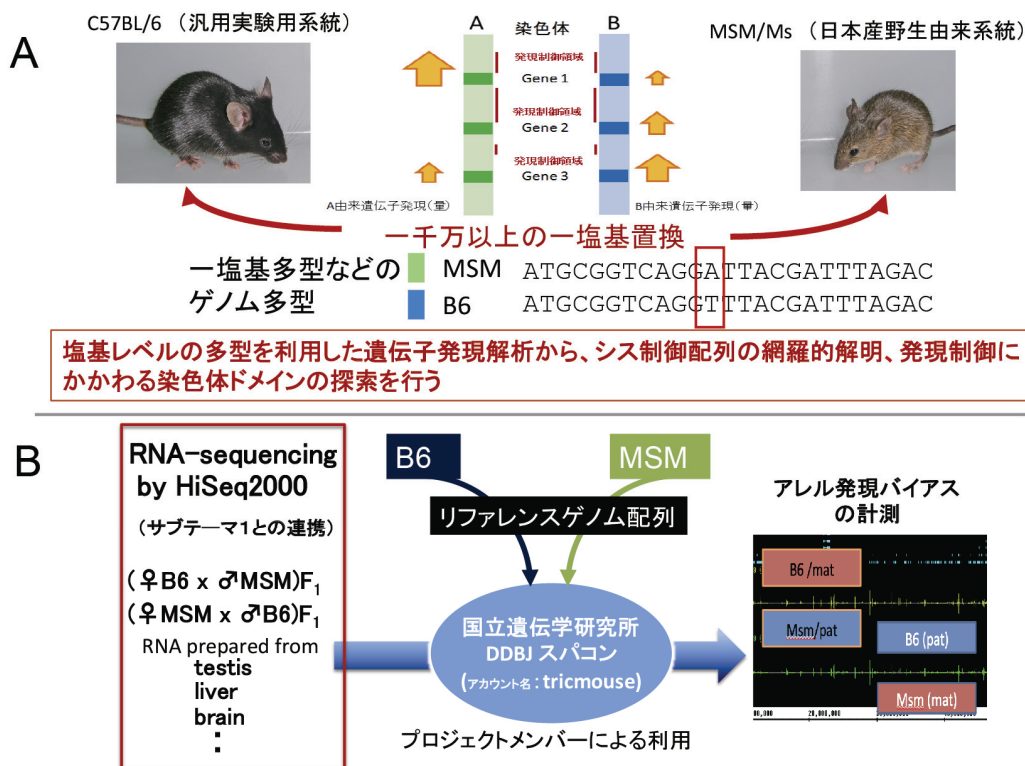


図 3-1-1: 次世代シーケンサーによる対立遺伝子発現バイアスの遺伝的制御機構の解明の概略図。(A) 本テーマでは、ゲノム配列が明らかな 2 種類のマウスの計画交配系を利用して、塩基配列レベルの多型(cSNP)を利用した遺伝子発現解析を行い、シス制御配列の網羅的解析および遺伝子の発現制御に関わる染色体ドメインの探索を行う。(B) 個体より収集した試料は、サブテーマ 1 との連携により、次世代シーケンサー(イルミナ社製 HiSeq2000)により遺伝子発現を検出する。また、生産されたデータは国立遺伝学研究所のスーパーコンピュータを利用して情報解析を行いアレル発現バイアスの計測および各種統計情報の収集を行う。

本年度の成果について、前年度に引き続いて親系統の雌雄を交換した F1 (B6xMSM) および F1 (MSMxB6) 個体の交配・生産を継続した。これまで、F1 (B6xMSM) および F1 (MSMxB6)、さらに親系統である B6 および MSM の雌雄について、計 500 匹近くの個体から表現型データを取得した。さらに、RNA 収集用の臓器サンプルを 4,000 種類以上収集することができた。対象とする表現型の項目ならびに各種のデータ収集条件に関しては、以前の報告書に記載済みである。今年度より、これら表現型データや遺伝子発現情報を使用して、サブテーマ 2 と連携した統計解析や相関解析を開始した。さらに一部の個体より得られた RNA につい

では、サブテーマ 1 との連携により、HiSeq2000 および HiSeq2500 をもちいた直接塩基配列解読により遺伝子発現のデータ取得を開始した。対立遺伝子発現解析に関しては、各組織から得た RNA を使用して、ペアエンド法により得られた塩基配列を HiSeq2000 により解読した。解読塩基配列長は 100bp であり、得られたデータは、F1 (B6/MSM)が 2 億 4000 万リード、F1 (MSM/B6)が 2 億 8000 万リード であった(各 1 個体)。各リードは B6 ゲノムについては mm9 リファレンス配列、MSM ゲノムについては我々が整備した MSMv1 リファレンス配列を参照し、ENSEMBL transcripts (データベース) のエクソン配列に相当する領域にマップされた高品質リードをカウントした。得られたデータについては閾値を設定し F1 (B6/MSM)および F1 (MSM/B6)における B6、MSMそれぞれのゲノムから発現している対立遺伝子の分布図を作成した(図 3-1-2)。このように、本年度は情報解析について、新たに構築した解析パイプラインによるアレルバイアスの定量化に目処が立った。次年度以降これらパイプラインを活用した本格的な解析に着手する。

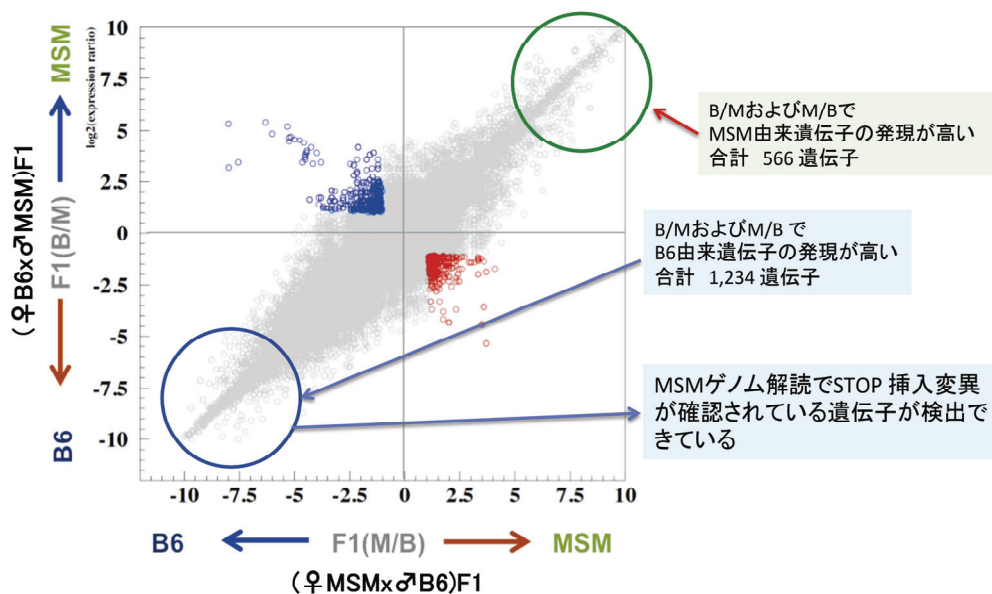


図 3-1-2 : 本テーマにより構築したパイプラインによる解析結果の一例。縦軸に B6 を母親、MSM を父親にして得た産子(B/M)、横軸に MSM を母親、B6 を父親にして得た産子(M/B)について、精巣での遺伝子発現について示す。各軸とも中心が B6 と MSM の遺伝子型を持つリードが同数確認できた遺伝子を示す。各軸の中心から離れるほど B6 および MSM ゲノム由来の遺伝子について対立遺伝子発現バイアスが大きくなる。B/M および M/B で MSM 由来遺伝子の発現が高い遺伝子を 566 種類、B6 由来遺伝子の発現が高い遺伝子を 1,234 種類検出した。特に、MSM 系統のゲノム解読で STOP 挿入変異が確認されている遺伝子が B6 由来遺伝子の発現が高い遺伝子の集団に複数含まれることも確認できた。インプリンティング現象 (赤および青のドット) についても検出できている。

3-2 : 大規模実験交配集団を対象とした遺伝的構造 (主にエピスタシス) の統計解析 [栗木、岡、高田、城石]

本研究テーマでは、マウス亜種由来系統の大規模交配から得られた F2 個体の形質データと遺伝子型を利用したエピスタシスの統計解析を行うことを目的として、B6 および MSM を基盤とした 3000 匹超を目的とした F2 組み替え体と、廉価で高速な SNP タイピングを組み合わせ、エピスタシスの検出と同定に挑戦することを目的としている。本年度は、最終的に 3017 頭の雄個体の形質データの取得を終了した。形質データの分布を図 3-2 に示す。

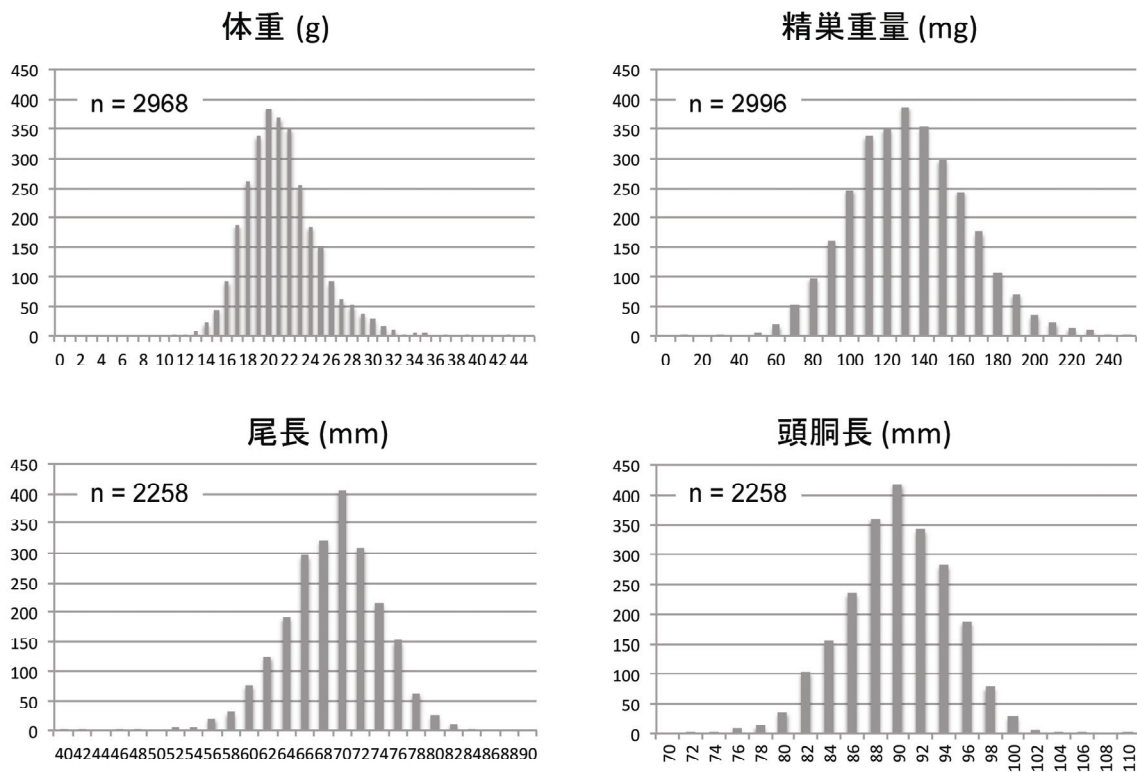


図 3-2 : B6 および MSM を基盤とした F2 組み替え体の形質データ (10 週齢、オス) の分布を示す。

本テーマで表現型を収集した全ての個体のサンプルについて、ゲノム DNA のアーカイブ化を終了した。アーカイブの DNA については、本プロジェクトにより構築した B6-MSM 間の MassARRAY による 200 座位近い高速 SNP タイピングを行い、低品質な結果の再解析や統計解析のためのデータの整形を行った。昨年度にパイロット試験として、汎用ソフトによりエピスタシスの検出を行ったが、今後は本年度得られたデータを最終データセットとし、サブテーマ 2 と連携を取りながらエピスタシスの検出と検証を行うための統計的手法の検討に着手する。

3-3 : マイクロ CT 画像の情報学的解析による高速・高精細マウス表現型の自動抽出法の開発

[田村、城石、北本]

本研究は、ゲノム・遺伝子機能を解明する為とその礎となる表現型解析を、高速、かつ精細に行う技術の開発を行う事にある。その先ず第一歩として、1) micro computed tomography (micro-CT)を用いて、各種造影剤を組み合わせることにより軟組織、各種臓器のイメージングを行う技術の開発、2) それらイメージデータを用いた表現型の情報学的自動抽出法の開発を行った。1) は、遺伝研・城石グループが、2) は、

情報研・北本グループが担当した。これら micro-CT を用いたイメージング技術、及び表現型自動抽出技術は世界的に見ても黎明期にあり、今後の発展が大いに期待される分野である。遺伝研の城石グループは、サンプルにマウス胎児を用い、造影剤としリンタングステン、及びヨード系溶液を、固定液として4%パラホルムアルデヒド、10%ホルマリン、ブアン溶液を用いて画像データ取得のための条件検討を行った。これらの組合せを比較検討した結果、最もコントラストよく軟組織を画像化出来たのは、4%パラホルムアルデヒド固定

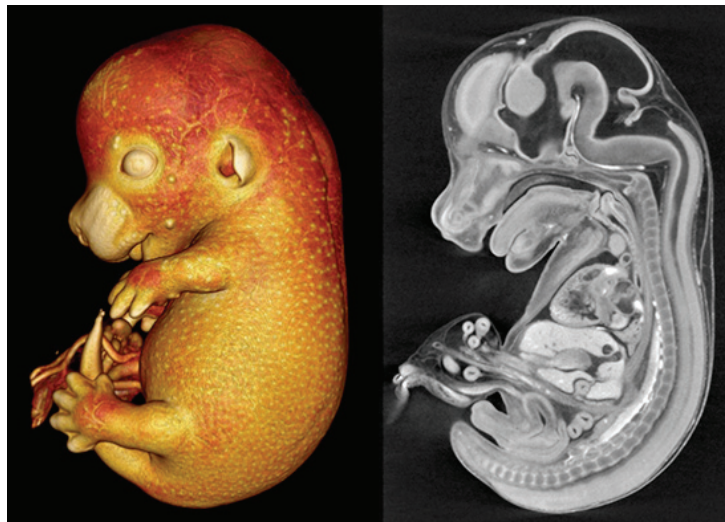


図 3-3-1 : マウス胚の micro-CT 画像。(左) 14.5 日胚 3D 立体再構築像、(右) 同矢状断面像

＋ヨード系造影剤の組合せであった(図 3-3-1)。次に、その解像度を検討した結果、胎生 14.5 日胚において、個々の臓器のみならず、肺や脊椎に入る毛細血管、更には個々の筋肉繊維までもが識別可能であり、実際の使用に十分耐え得ると考えられた。そこで実際の突然変異マウス(染色体異常をもつ)胎児を用いて、その同腹野生型3個体、ヘテロ変異体7系統、ホモ変異体3系統の胎生 14.5 日胚の撮影を行い、画像データを取得した。

一方、情報研の北本グループでは、表現型を自動抽出する画像処理手法に関する研究を進めた。本研究は表現型自動抽出技術を以下の4段階、すなわち①位置合わせ、②表現型候補領域の抽出、③候補領域のフィルタリング、④候補領域の解析・分類、に分割し、個々の段階ごとに要素技術を固めることとした。特に今年度は、②の部分と④の部分について研究を進めた。なお①については今年度の研究対象とせず、既存の優れたツールを活用することとした。

まず②については、平均画像に合わせにくい領域に各個体の表現型が隠れているとの仮説に基づき、①の位置合わせの際に得られる各種の特徴量(レジストレーション変形特徴量)に着目した。具体的には、i)ボクセルごとのヤコビアン、ii) 領域内のストレスを表現する方向性エントロピー、iii) ボクセル内の輝度値分散、という3つの特徴量に着目し、それらがしきい値を越える領域を抽出した。そしてそれらの領域の和を計算すると、表現型の候補となる領域を効果的に抽出できることを示した。なお実験評価では、遺伝研グループが実験結果を専門的知見に基づき解釈し、既知の表現型(心室中隔欠損など)が候補領域に含まれていることを確認した。しかしアルゴリズムの最終ゴールは未知の表現型候補の発見であり、その点に関する評価は今後の課題である。

また④については心室中隔欠損という表現型を対象に、画像処理のみを用いて表現型を自動解析するアルゴリズムを研究した。その結果、自動解析が可能な場合もあるが失敗する場合も多く、信頼性の高い結果を得ることは難しいという結果を得た。以上の結果を基に遺伝研グループと今後の研究方針を議論し、1. 表現型の自動解析は将来の研究課題、2. 候補領域の自動検出によって専門家の新たな発見を誘発することが当面の研究課題、との結論に至った。尚、本研究は、NII Internship Program Student である Sharmili Roy, Xi Liang の両名の研究協力を得て遂行された。

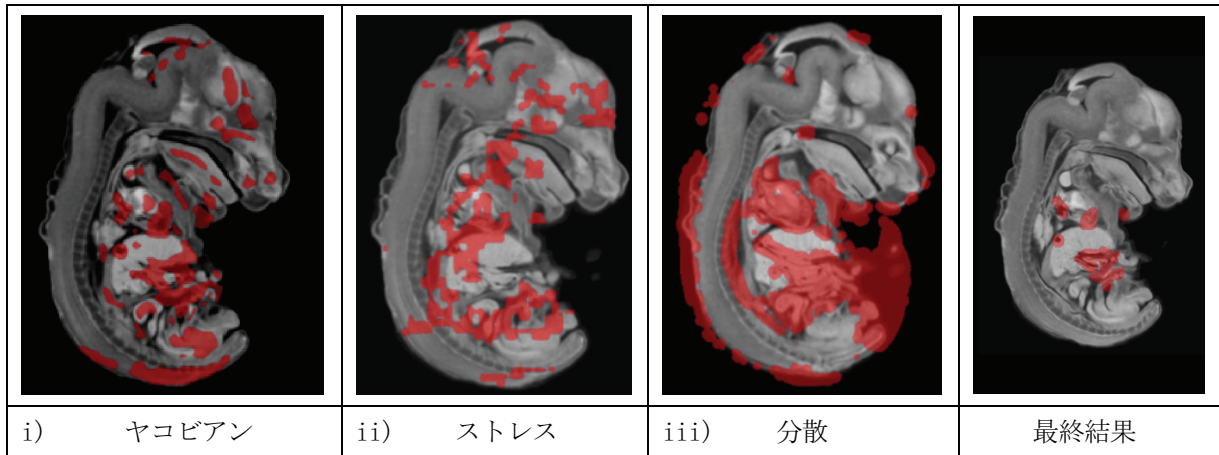


図 3-3-2 : レジストレーション変形特微量を用いた表現型候補領域の自動検出

3-4 : 野生由来ヘテロジニアスストックによる高精度 QTL 遺伝子マッピング法の確立

[後藤、高橋、栗木、加藤、二宮、高野、小出]

多因子形質の遺伝的基盤を理解することは、近年の遺伝学の中で最も大きな課題の一つとなっている。しかし、実際の研究においては、その遺伝子の同定に際して大きな困難に直面しているのが実情である。この困難の主たる原因は、小さな効果を持った多数の遺伝的変異が多因子形質に関与しているためであると考えられているが、その詳細はまだ明らかになっていない。このような多因子形質の遺伝解析における問題を打開するために、多数のマウス系統を遺伝的に交雑した集団を使う例が多く見られるようになってきた。ヘテロジニアスストックはアウトブレッッドストックの一種であり、複数の遺伝的に異なった近交系統を相互に交配し、その後近交化を避けるためにランダム交配を続けることで作出されるものである。現在我々は、Domesticus 亜種由来の 2 系統 (PGN2, BFM/2)、Castaneus 由来の 1 系統 (HMI)、それから Musculus 亜種由来の 5 系統 (BLG2, NJL, MSM, CHD, KJR) の合計 8 種類の野生由来系統をもとに 16 ペアで一つの集団を維持することでヘテロジニアスストックの作製を進めている (図 3-4)。これら野生由来の 8 系統は、系統間で遺伝的な差が大きく、その遺伝的マーカーおよび形質の多様性を持つことが大きな特徴である。そのため、これらの野生系統から作出されるヘテロジニアスストック内では膨大な多様性が期待できる。私たちは、この集団に対して従順性にかかわる形質の選択交配を行うことで、この形質に関して顕著な違いを示す集団を作製し、選択集団と非選択集団を比較することによる精度の高い遺伝解析を行うことを試みている。また、この野生由来ヘテロジニアスストックは、ほかにもさまざまな多因子形質の遺伝解析に利用できる可能性を持っており、F2 集団などを用いた QTL 解析では十分な精度の遺伝子座情報が得られない場合に、このヘテロジニアスストックを利用した解析を行うことで精度の高い遺伝解析が可能になると期待できる。

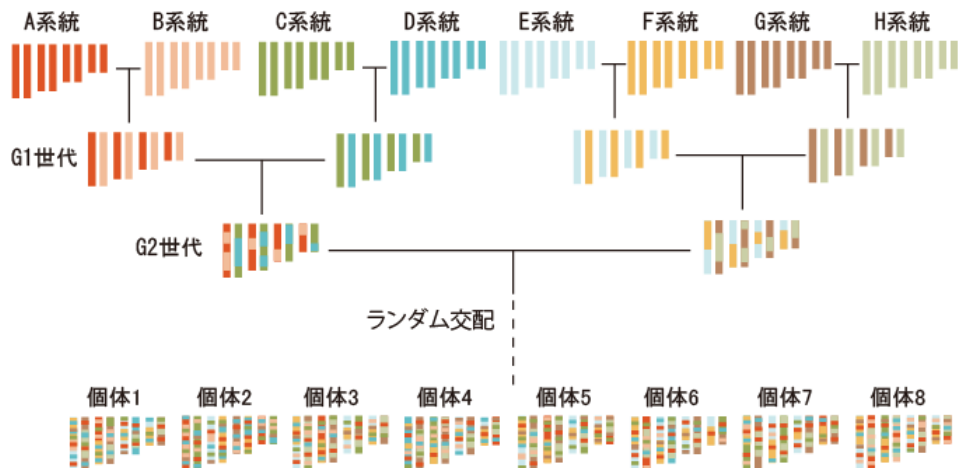


図 3-4 : ヘテロジニアスストックの作製

3-5 : マウス超音波発声の関数データ解析 [Dou、白旗、杉本、高橋、小出]

マウスの超音波発声(USV)は多くの科学分野で研究されている。しかし、発声データには多くのノイズが含まれ、その発声パターンにも多様性があるため、データを自動的解析することは難しい。そこで、私たちは超音波発声(USV)データを自動解析するための系統的な解析手法を開発した。

今回開発した手法はノイズの除去、USV の特定、USV の関数化、関数データのクラスタリングの4つのステップで構成されている (図 3-5-1 から 3-5-6)。USV の関数化では B-spline 基底関数といくつかの制御点 (knot)を決めてデータを曲線で当てはめる。knot が曲線の局所性に影響するので、USV 曲線の途中で周波数が突然変化するジャンプのある時点に knot を重ねて置く事で不連続の関数を作る事が可能となる。同じジャンプの数を持つ曲線は同じパラメータ数を持っているので、それらをさらに形による分類ができる。

本手法は主に非和音声(nonharmonic)の発声パターンにも有効である。ハーモニックの発声パターンについて分類するのは本解析法では難しいが、USV 発声が発声かハーモニックの発声であるかどうかを判断する事は可能であった。

これらの手法は BALB/cAnN と C57BL/6 のマウスの USV データを実際に解析することで、その有用性が確認できた。

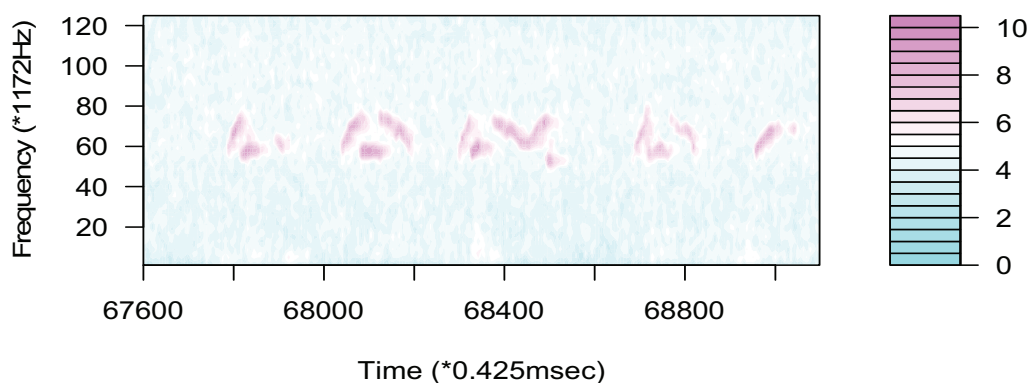


図 3-5-1 : C57BL/6 超音波発声データの一部

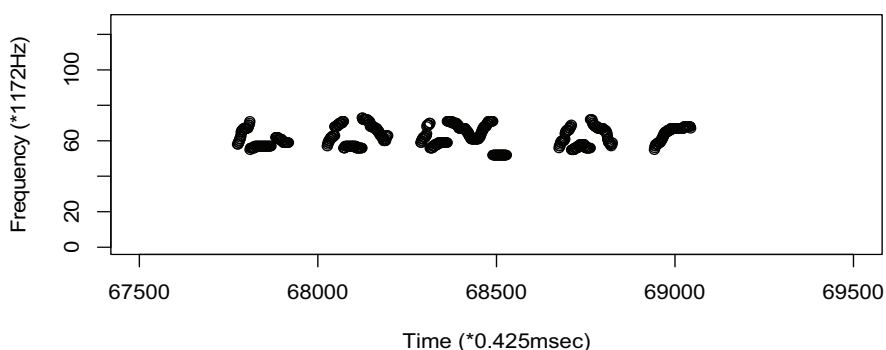


図 3-5-2 : ノイズの除去

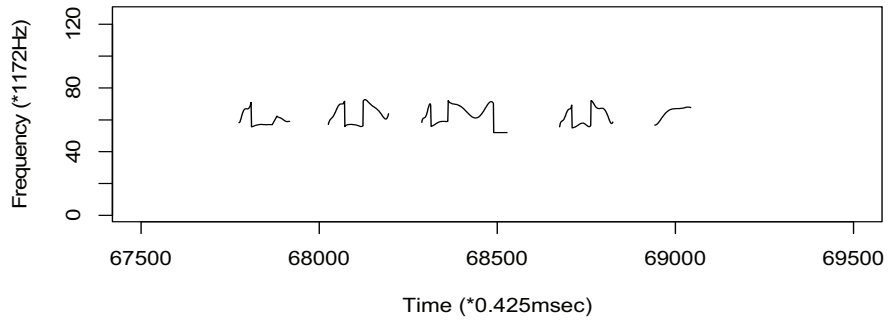


図 3-5-3 : B-spline 基底関数による関数化

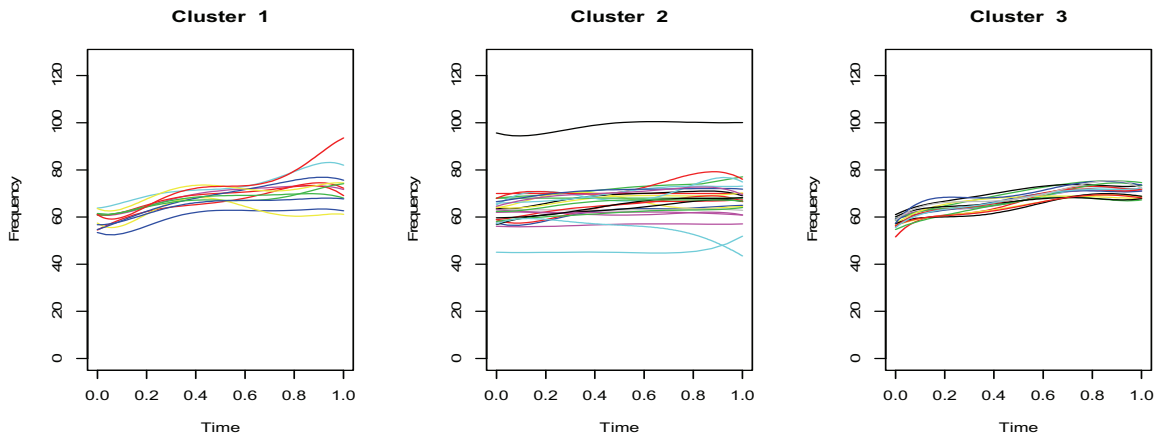


図 3-5-4 : 関数クラスタリング (滑らかな関数の分類)

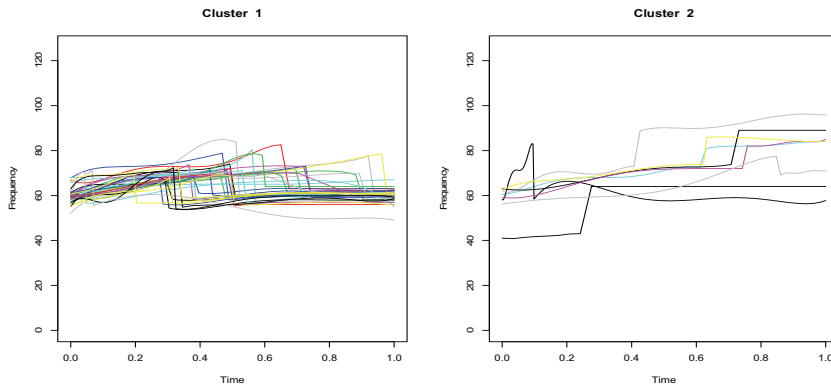


図 3-5-5 : 関数クラスタリング (一つの不連続点を持つ関数の分類)

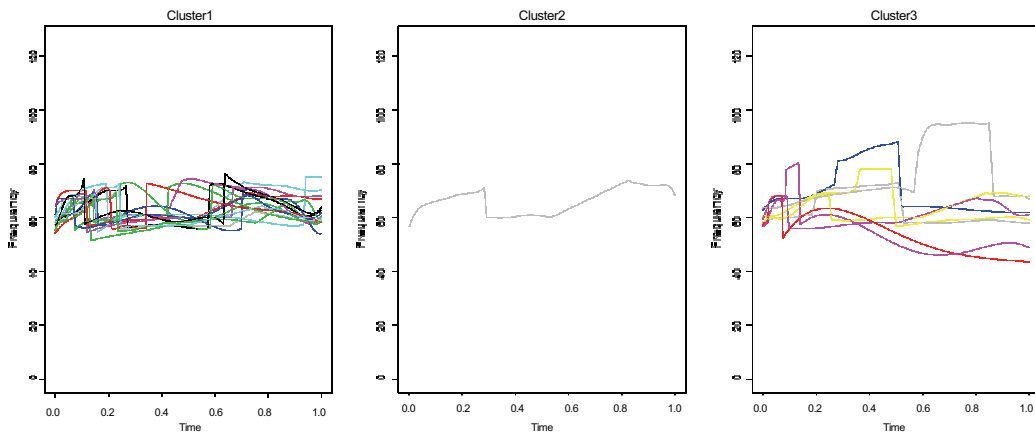


図 3-5-6 : 関数クラスタリング (二つの不連続点を持つ関数の分類)

3-6： 隠れマルコフモデルに基づく新規ソフトウェアの開発 [土谷、荒川、柿原、高橋、杉本、田邊、小出]

行動解析はこれまで実験者による観察法が中心であったが、この手法は詳細なデータ解析が可能であるという利点があるものの、データ解析に膨大な時間と労力がかかる一方で客観性に乏しく実験者により結果が異なるという欠点もある。そのため、実験者による観察法と同レベルでの自動解析を可能にする方法の確立が求められている。本プロジェクトではこれまで、社会行動解析に関して隠れマルコフモデルによるコンピュータ学習により自動推定を可能とし、社会行動テスト記録画像から有用な行動データを自動抽出する方法の確立を進めてきた。平成 23 年度は、この隠れマルコフモデルを組み込んで社会行動の自動解析を可能にするソフトウェアの開発を進めた。そこで、平成 24 年度には、このソフトウェアを用いて、実際のマウス系統の社会行動を自動解析し、それを実験者の解析結果と比較することで、実験者の観察とほぼ同レベルでの解析結果を出すことに成功した (図 3-6)。また、この手法を用いて、実際に、社会行動にかかわる遺伝子座の同定を行った。本ソフトウェア (DuoMouse) は、Adobe 社の Flash action script と呼ばれるマルチプラットフォーム言語を用いて開発しており、Windows、Mac、Linux のどの OS でも実行することが可能である。現在研究成果を論文にまとめており、投稿論文が受理され次第ホームページより自由にダウンロードできるフリーウェアとして公開する予定である。

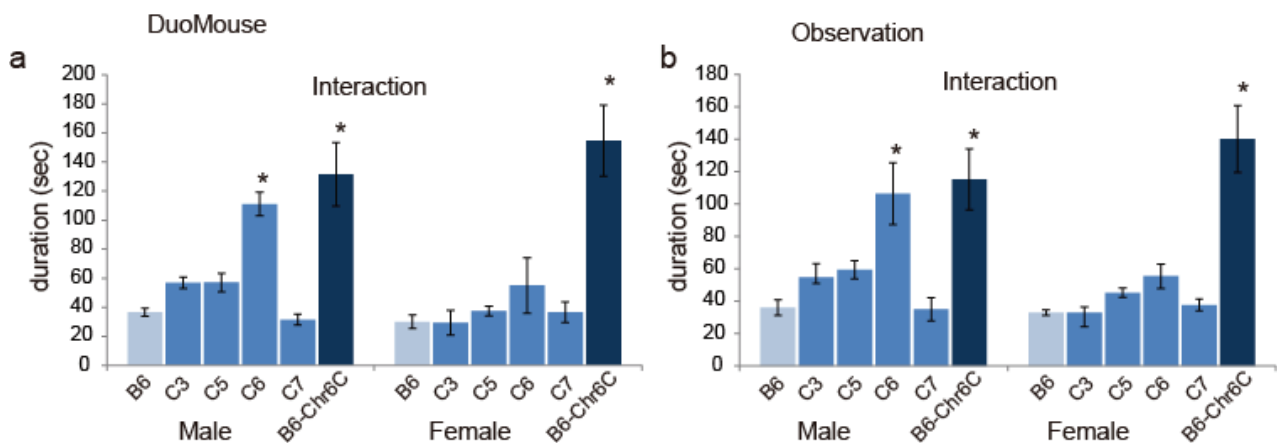


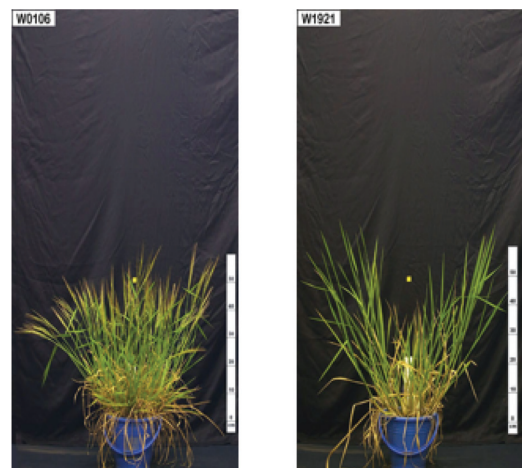
図 3-6： DuoMouse を用いた自動解析と実験者による観察法に基づく解析の比較

3-7： eQTL 解析による表現形質と遺伝子発現のネットワークの解明 [堀内、春島、藤澤、久保、倉田]

栽培イネ *Oryza sativa* の祖先種である野生イネ *O. rufipogon* は、栽培イネより多様な遺伝的形質を示し、生態、形質調査から数種類の集団構造が存在することが示唆されている。第 I 期融合研究プロジェクトで推進した。*O. rufipogon* の量的形質調査からも、柱頭長、種子稔性、穂の形 (着粒数と相関あり)、発根・再生力など多く形質が多年生系統群、一年生系統群で大きく 2 つに分かれることが示唆されている。

このように野生イネ *O. rufipogon* は集団構造を持つため、様々な品種を用いたアソシエーション解析による表現型及び遺伝子発現量の遺伝解析は困難を伴う。そこで本研究は表現型の離れた一年生、多年生グループから代表的な 2 系統 W0106 と W1921 を選抜し、この交雑後代の実験集団を量的な表現型の遺伝形質の遺

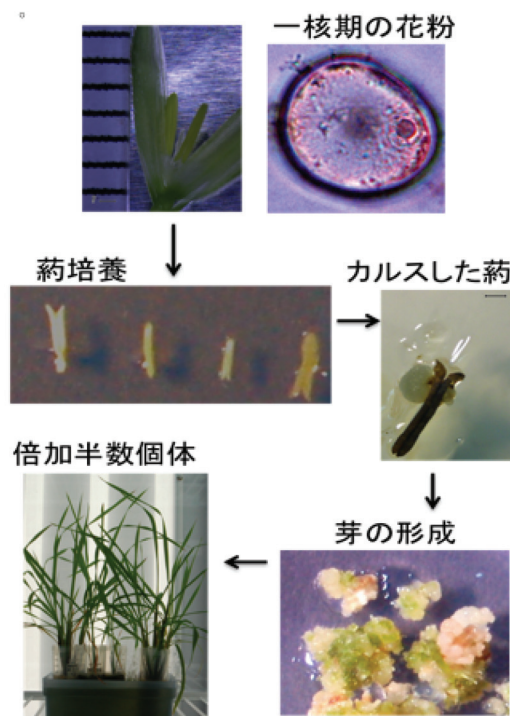
図1 *Oryza sativa* の祖先種 *O. rufipogon* (左) 一年生型の W0106 (右) 多年生型の W1921。



伝解析 (QTL 解析) と遺伝子発現量の遺伝解析(eQTL 解析)に用いることとし、表現形質を形成するゲノム上の遺伝因子群の特定とその遺伝子発現のネットワークの解明を目指している。

本研究ではより解像度の高い解析集団として組換え固定化集団を確立するために多数の F₂ 種子を取得し、異なる F₂ 個体どうしを交配した F₃ 他殖系統群を獲得後、それらの自殖 F₄ 系統から葯培養による倍加半数体系統(DHLs: doubled haploid line)200 系統の取得を試みている。この実験集団の分解能は 0.22cM(平均物理距離 56kb)である。H22、23 年度は異なる F₂ 666 個体を交雑し 333 個体の F₃ 他殖系統を取得し、インキュベーターを用いて 247 系統分の自殖 F₄ 種子を獲得し、葯培養による DH 系統化を遂行している。H24 年度は予備実験として、栽培イネ日本晴、両親である W10106、W1921、4 系統の F₄ 個体を用い葯培養による DH 系統化を試みた。イネの成熟花粉は栄養核と二個の性核の三核だが、葯培養による DH 系統化は、一核期の花粉をカルス化し、再分化させることにより倍加半数体の成体を得ることである。一核期の花粉を得るのに最適な外形上の特徴(葉耳間長: 止葉と次葉の葉耳間の距離)を決め、このステージの穂の低温処理条件、葯培養によるカルス化及び再分化の培地の検討を行った。W0106 と W1921 の後代系統では葉耳間長が 9~12cm の成長段階において葯内に一核期に相当する花粉が多く含まれ、低温処理は 8°C で 7~11 日処理後のカルス化率が高かった。葯当りのカルス化率、カルスが再分化し不定芽が得られるまで生育する確率は、品種系統間で大きく違い、一年生の W0106 はカルス誘導率は 12% と高いがカルスより不定芽が生じる確率はカルス当り 0.4% と低く、多年生の W1921 はカルス誘導率は 4% と低い、カルスより不定芽が生じる確率は 14% と高かった。同時に試みた交雑後代 4 系統については様々な培地、温度条件を組み合わせることにより培養条件の検討を行い、全て葯培養による DH 系統化することに成功した。そのカルス誘導率は、平均では 17% と比較的高いが、培養に用いる葯内の花粉成熟状況のばらつきによりカルス誘導率は 0.88% と安定しなかった。またカルスから不定芽が生じる確率はカルス当り 1.9% と低く、未だ再分化率に大きな効果をもたらす実験条件が定まっていない。さらに冬温室で育成した植物はカルス化するが再分化率は極めて低く葯培養に適さないため、冬期はインキュベーターを用いて植物を育成し DH 系統化実験を試みる必要がある。H25 年度も引き続き夏期、冬期を通し葯培養からの DH 化最適条件の検討実験を並行し、DHLs 育成を行う。

図2 F₄系統から倍加半数体系統取得に向けた葯培養実験



3-8 : 構造多型を考慮した発現解析手法を用いた遺伝子発現量差の解析 [堀内、春島、藤澤、久保、倉田]

生物の形質や形態の多様性は発現する遺伝子の塩基配列構造や遺伝子の発現量の差によりもたらされる。本研究は栽培イネのジャポニカとインディカの亜種間において各組織でどの程度の遺伝子が高発現し、どの程度の遺伝子の発現量が異なるのかを Affymetrix 社 Rice Genome Array を用いて解析を行った。発現量が異なる遺伝子の特徴を調べるため、遺伝子発現の組織特異性や遺伝子進化との関連性を調査した。

Rice Genome Array はイネのゲノム配列が決定される以前に設計されたものであったので、array の約 63 万のプロープのうちジャポニカ Nipponbare で想定されている全ての遺伝が発現しても特定の遺伝子にのみハイブリダイゼーションする 51 万プロープのみを用い、計 43,934 遺伝子を発現差解析の解析対象とした。

またイネ 2 亜種の発現データとして公的データベース GEO よりジャポニカ(Nipponbare)、インディカ 3 品種(Zhenshan97, Minghui63, 9311)合わせて 321 アレイデータ(121 組織)を取得し、融合研究プロジェクト第 I 期により開発した遺伝子の塩基多型に影響されない発現量推定法 (SNEP 法) を用い解析した。まず、第 I 期プロジェクトで取得した Nipponbare と 93-11 の新芽と幼穂の array データよりいずれの組織でも高発現しかつ 2 品種間で遺伝子発現量に差のない 11,973 遺伝子を用い全 321 アレイデータのクラスタリング解析を行った。アレイデータは類似組織毎にクラスタリングされ、胚乳、成熟葯、幼穂、幼葉、根の計 5 組織の類似アレイのクラスターにはジャポニカとインディカ由来の品種がともに含まれていた。この同一クラスターに含まれるアレイデータは同じ組織のものとしてジャポニカとインディカ間の発現差解析に用い、5 組織それぞれについて Nipponbare とインディカ 2 品種 (Minghui63、Zhenshan97) 間の発現解析を行った。全解析遺伝子 43,934 個のうち高発現している遺伝子数は組織品種に関わりなく平均 13,292±70 個と同程度だが、ジャポニカまたはインディカで、高発現しているのに発現差がある(*j*DE)遺伝子数は用いる組織と組み合わせにより異なる(表 1)。

高発現する各遺伝子について発現の組織特異性を Nipponbare 44 組織、Minghui63 36 組織、Zhenshan97 39 組織のアレイデータをもとに、組織特異性指標 (τ : 図 3-8 の注釈参照) を求めた。また、一方の品種では高発現しているがもう一方の品種ではいずれの組織でも高発現していない遺伝子をサイレンシングされている遺伝子として区別した。亜種間で発現差のある遺伝子のうち、一方の品種ではサイレントな遺伝子割合はかなり高い。日本晴で高発現する遺伝子でインディカ品種ではサイレントな遺伝子は発現差のある遺伝子の平均 44% を占めた(表 1)。Minghui63 の葯で高発現する遺伝子を除くとインディカ品種で高発現する遺伝子で日本晴ではサイレンシングされている数が少ないのはアレイがジャポニカ配列をもとに設計されているためと考えられる。

表 1 ジャポニカとインディカ 5 組織で高発現する遺伝子数と亜種間で発現差のある遺伝子数

	Nipponbare Highly Expressed Genes				Minghui63 Highly Expressed Genes			
	Total ¹	<i>j</i> DE ² Genes			Total	<i>j</i> DE ² Genes		
		Total	Non-silent ³	Silent ³		Total	Non-silent ⁴	Silent ⁴
Endosperm	13,327	1,004	616	388	13,267	731	530	201
Anther	13,289	1,282	787	495	13,248	1,316	779	537
Panicle	13,254	903	448	455	13,252	478	365	113
Root	13,420	1,120	700	420	13,226	916	752	164
Leaf	13,252	1,086	655	431	13,306	892	669	223
Total ⁵	20,952	3,847	2,660	1,187	20,909	3,598	2,623	975

	Nipponbare High Expression				Zhenshan97 High Expression			
	Total ¹	<i>j</i> DE ² Genes			Total	<i>j</i> DE ² Genes		
		Total	Non-silent ³	Silent ⁶		Total	Non-silent ⁴	Silent ⁴
Endosperm	13,334	921	529	392	13,265	662	440	222
Anther	13,310	1,010	405	605	13,275	697	511	186
Panicle	13,322	925	457	468	13,118	595	474	121
Root	13,419	1,084	668	416	13,407	880	688	192
Leaf	13,283	1,029	571	458	13,264	873	586	287
Total ⁵	20,950	3,456	2,155	1,301	20,289	2,958	2,254	704

¹ 日本晴の高発現遺伝子数が比較するインディカ品種によって異なるのは検出される塩基多型の影響により発現量を決定するプローブが異なるため。

² japonica-indica differentially expressed. ³ silent in Minghui63. ⁴ silent in Nipponbare. ⁵ いずれの5組織で検出された合計。 ⁶ silent in Zhenshan97.

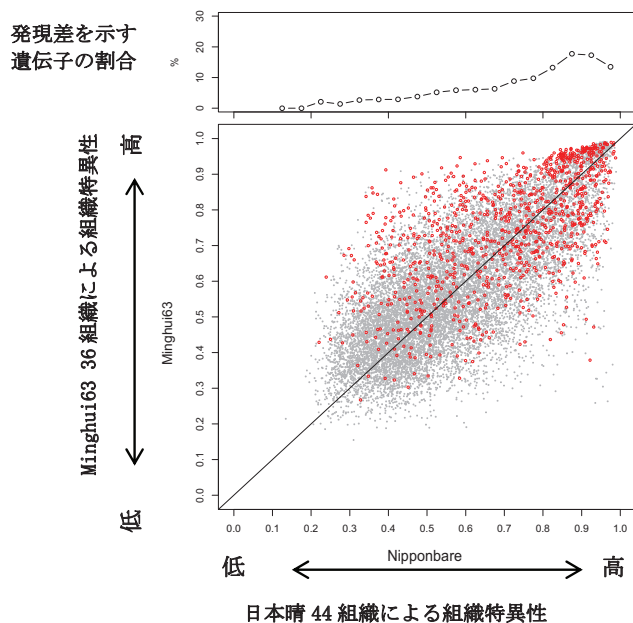


図 3-8: 日本晴と Minghui63 の葯で高発現する遺伝子の組織特異性指標。遺伝子の組織特異性指標は、複数の組織の発現量を比較し得られ、0 は全ての組織で発現量同じ、1 は 1 組織でのみ発現。組織特異性指標 = 1 - (最も発現量の多い組織の発現量に対する他の組織での発現量の割合を平均した値)。一方の品種でサイレンスされている遺伝子は除外した。
 Grey: 日本晴 = Minghui63
 Red: Minghui63 ≠ 日本晴

一方の品種でサレントな遺伝子を除き葯で高発現する遺伝子の日本晴の 44 組織による τ と Mingui63 の 36 組織による τ の相関を見た (図 3-8)。 τ を求めるために用いた組織は違うのに両者はほぼ一致し、発現の組織特異性の高い遺伝子が *jiDE* を示す傾向があった。これは別の組織でもジャポニカーインディカの組み合わせに関わらず同じ傾向を示した。そのため 5 組織では異なる遺伝子が *jiDE* を示す。また、一方の品種でサイレンシングされている遺伝子について、もう一方のサイレンシングされていない品種における発現の組織特異性指標 τ の分布調査により、サイレンシングは組織特異性に関係なく制御されていることがわかった。

次に、ジャポニカーインディカ間の発現多型と遺伝子進化速度の相関性を調べるため、93-11 ゲノムの遺伝子アノテーションより相同遺伝子を検索した。ジャポニカで発現が確認され、インディカにおいて発現がサイレンシングされている遺伝群では相同遺伝子が見つかる割合が低く、また相同遺伝子が検出されても、**Ka/Ks** 値が高く進化速度の速い遺伝子の割合が高かった。サイレンシングを受けていない遺伝子群については、発現多型の有無と相同性遺伝子が検出される割合や進化速度が早い遺伝子の数の割合に差はなかった。サイレンシングを受けている遺伝子はトランスポゾン関連遺伝子、病害抵抗性関連遺伝子が多く確認され、染色体の一部の領域にクラスター化している傾向にあった。これら結果は H25 年度に論文投稿を行う予定である。

3-9 : 多系統野生および栽培イネゲノム構造比較による系統類縁関係の解析および GWAS 解析

[藤山、豊田、久保、倉田、上海植物科学研究所]

アジア各地から収集した野生イネ *O. rufipogon* ルフィポゴン 446 系統と栽培イネ *O. sativa* 1083 系統 (*japonica*, *indica* を含む) をゲノム解析し、ゲノム全長の構造変異のパターンを用いて、1529 系統間の相互関係を明らかにした。また、遺伝的変異のパターン解析から、ジャポニカイネとインディカイネでは 55 のゲノム領域で、栽培化による選択圧がかかっている事がわかった。これらの領域には、脱粒性、芒の有無、粒幅など栽培化にとって重要な形質を支配している遺伝子が存在していた。これらの遺伝的指標を用いた系統進化の解析と、各系統の生育地の情報を比較することにより、栽培化は、はじめに中国の珠江中流領域で起こり、ひとつの野生イネ集団からジャポニカイネが生まれたことがわかった。その後、その集団に異なる野生系統が複数回交配し、インディカイネの系統が作り出されたと考えられる。過去何十年にもわたり、イネ栽培化の起源地および起源となる系統についての論争が続いて来たが、今回の我々の解析で初発の起源地と栽培化のプロセスが明らかになり、長い論争に終止符を打つことができた。

さらにこの研究の中で融合研究の目的でもある、遺伝子多型と形質変異の相関検出のために GWAS

(genome wide association study)を適用し、2種類の表現型(草型、茎色)を支配する遺伝子の検出を試みた。この結果をもとに、さらに新たな GWAS 解析法の開発を進めている。

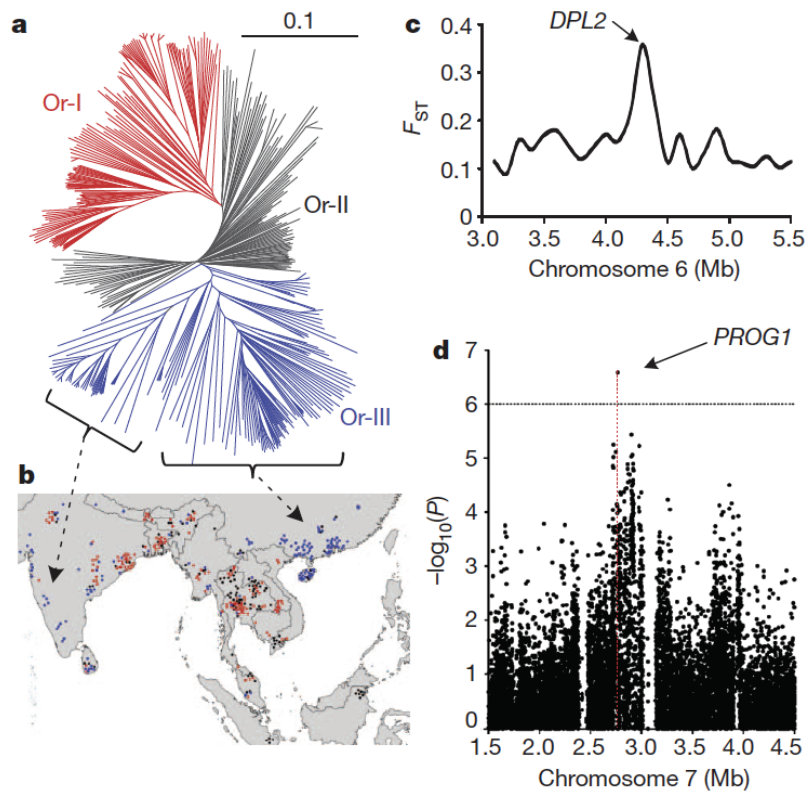


図 3-9 : 野生イネ *O. rufipogon* 446 系統のゲノムワイド SNP 解析を用いた系統類縁関係 (a) と分布地図 (b)。さらに selective sweep 領域内 DPL2 の検出 (c) と compressed mixed linear model を用いた GWAS 解析による tiller angle 支配遺伝子 PROG1 の検出 (d)。

3-10 : ゼブラフィッシュの多様な表現型の抽出とその表出法の確立 [川上、武藤、北本、栗木、小山]

トランスポゾンランダム挿入に基づくトランスジェニック系統、ノックアウト変異系統の網羅的な開発とそれらに基づく多様な表現型の抽出とその表出法の確立のための研究を行った。また発現パターンの画像解析、数理解析等の研究を進めた。図 3-10-1 に概略を示す。それぞれについて以下に述べる。

1. トランスジェニックゼブラフィッシュシステムを開発し、それらを基にして国内他研究機関の研究との融合を推進した。

GFP発現で特定の器官・細胞を視覚化する

遺伝子トラップ・エンハンサートラップ
ゼブラフィッシュの開発とそれら系統の発現解析、ゲノム解析

Large-scale screens for Gal4FP-gene trap transgenic fish

1140 transgenic lines with specific expression patterns (176 GFP lines, 964 Gal4FP lines)

729 lines with single insertions were established and transposon integrations were determined

データベースの構築・整備による国内器官形成研究者とのコンソーシアム形成、共同・融合研究推進

2. ゼブラフィッシュ神経ネットワークの機能解析に関する融合研究を進めた。

遺伝学研究所
川上浩一・武藤彩
ゼブラフィッシュ脳の神経活動のイメージング

国立情報学研究所
北本朝展
画像処理によるノイズ除去とシグナル抽出

統計数理研究所
栗木哲・小山慎介
神経ネットワークシグナルのパターン解析

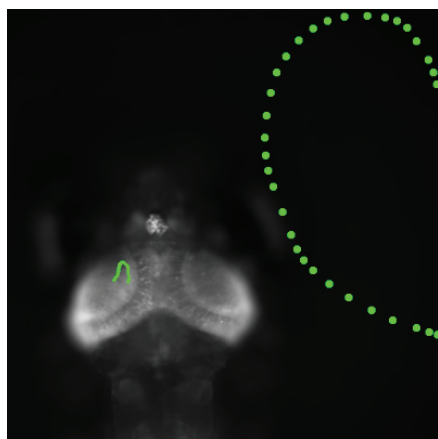
図 3-10-1 に概略を示す。それぞれについて以下に述べる。

(1)モデル脊椎動物ゼブラフィッシュにおいて、トランスポゾンを用いた遺伝子トラップ・エンハンサートラップスクリーンを実施し、Gal4 を細胞・組織・器官特異的に発現するトランスジェニックゼブラフィッシュを新たに 100 系統作製し、合計 1100 系統以上とした。これらを基にして、国内外の器官形成研究者と共同研究を展開することにより研究の融合をはかった。京都府立大学の融合をはかった。

図 3-10-1 : ゼブラフィッシュの多様な表現型の抽出とその表出法の確立のための研究の概略

福井博士・横山博士との共同研究では、Nek8 遺伝子の腎臓形成における役割を明らかにした (Fukui et al., FEBS letter, 2012)。東北大学の田村博士との共同研究では、新しい付属肢 (ヒレ) 形成機構を明らかにした (Yano et al., Development, 2012)。スペインのゲノム研究センターの Lopez-Schier 博士との共同研究では、側線の感覚神経の軸索投射の新しいメカニズムを明らかにした (Pujol-Marti et al., J. Neurosci., 2012)。国立遺伝学研究所の平田博士との共同研究では、グリシン作動性ニューロンの新しい活動メカニズムを明らかにした (Yamanaka et al., Genes Cells, 2012)。

(2)これまで、新しい表現型抽出法としてゼブラフィッシュの脊椎の運動神経の活動を、カルシウムインディケーターGCaMP を用いてイメージングするシステムの開発に成功してきた (Muto et al., PNAS, 2011)。今回、ゼブラフィッシュの脳内の神経細胞が視覚刺激に応じて活動する様子をリアルタイムでイメージング



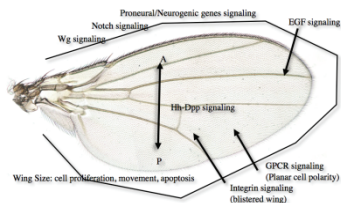
することに成功した (Muto et al., Curre Biol, 2012、図)。このような脳内の神経活動の時空間パターンのイメージ動画から自動的にデータ取得するための画像解析プログラムの開発を情報研の北本博士と共同で行い、データを取得することに成功した。さらに、そのようにして得られた時空間パターンを数理的に解析するために、統数研栗木博士との共同研究を進めている。

図 3-10-2: ゼブラフィッシュが餌であるゾウリムシを知覚する際の、脳内の視蓋における神経細胞活動をカルシウムイメージングに成功した (Muto et al., Curr Biol, 2013)。

3-11: ショウジョウバエ翅形態異常のゲノム相関解析

ショウジョウバエのゲノムは 15,000 個の遺伝子をコードしている。これらの 3 割程度は個体の発生に重要な役割を果たしており、突然変異で致死となることが知られている。残りの遺伝子はこれらの補佐的役割を担い、システムの堅固さを保証しているのではないかと考えられるが、必ずしも明確な結論は得られていない。そこで本研究では、遺伝研に維持されている 7,100 遺伝子の突然変異体 (RNAi 変異体) の表現型を詳細に解析することによりこの問題にアプローチする。

ショウジョウバエの翅は薄いシート状の構造物である。この翅は体の他の器官と同様に、それぞれ多くの遺伝子が関与する幾つかのシグナル伝達系が互いに協調して働くことによって作られる (図 3-11)。それぞれのシグナル伝達系は翅の前後軸方向あるいは端部-基部方向の増殖や、翅脈の形成等を支配するため、それら



らの変異体では特徴的な形態異常が観察される。従って、微かな形態異常を検出することができれば上記の補佐的な遺伝子の機能も同定できるかもしれない。

図 3-11: ショウジョウバエの翅形成に働くシグナル伝達系

H24 年度は RNAi 系統を使って翅に遺伝子変異を誘導し、その画像を取得する作業を継続した。これまで首都大学の GS 変異体系統をも使って取得した画像は合計で 260,576 枚を越える。必ずしも明確な輪郭がトレースできないものもあるが、RNAi 系統で複数サンプルが取得できたものは 5,351 系統、183,051 画像に達した。ショウジョウバエ全遺伝子は 16,549 であるが、この画像サンプルは 8,070 遺伝子の変異表現型をカバーしている。現在、これらの画像に対して基本的な統計解析を行い、また翅面積を計算するためのプログラムを適用して、各遺伝子の翅の形成に及ぼす機能を解析している。

[5] 研究成果物

① 知見・成果物・知的財産権等

1. 日本語バイオポータルサイト：<http://www.biportal.jp>
2. データベース公開 <http://tga.nig.ac.jp/dnapod/> (DNA 多型注釈データベース)
3. データベース公開 <http://tga.nig.ac.jp/h2db/> (形質遺伝率データベース)

② 成果発表等

サブテーマ1

<論文発表>

[学術論文]

1. Kaminuma,E, Fujisawa,T, Tanizawa,Y, Sakamoto,N, Kurata,N, Shimizu,T, Nakamura,Y, H2DB: a heritability database across multiple species by annotating trait-associated genomic loci. *Nucleic Acids Res.* 41: D880-4, 2013.
2. Yasuhiro Yamamoto, Toshiaki Watanabe, Yuko Hoki, Kenjiro Shirane, Yufeng Li, Kenji Ichiiyanagi, Satomi Kuramochi-Miyagawa, Atsushi Toyoda, Asao Fujiyama, Masayuki Oginuma, Hitomi Suzuki, Takashi Sado, Toru Nakano, and Hiroyuki Sasaki: Targeted gene silencing in mouse germ cells by insertion of a homologous DNA into a piRNA generating locus. *Genome Res.* 23: 292-299, 2013.
3. Shiomi D, Toyoda A, Aizu T, Ejima F, Fujiyama A, Shini T, Kohara Y, Niki H.: Mutations in Cell Elongation Genes mreB, mrdA and mrdB Suppress The Shape Defect of RodZ-Deficient Cells. *Mol Microbiol.* 87: 1029-1044, 2013.
4. Takashi Hamaji, David R. Smith, Hideki Noguchi, Atsushi Toyoda, Masahiro Suzuki, Hiroko Kawai-Toyooka, Asao Fujiyama, Ichiro Nishii, Tara Marriage, Bradley J. S. C. Olson, Hisayoshi Nozaki : Mitochondrial and Plastid Genomes of the Colonial Green Alga *Gonium pectorale* Give Insights into the Origins of Organelle DNA Architecture within the Volvocales *PLoS One.* 8: e57177, 2013.
5. Nishino T, Rago F, Hori T, Tomii K, Cheeseman IM, and Fukagawa T: CENP-T provides a structural platform for outer kinetochore assembly. *EMBO J.* 32: 424-436, 2013.
6. Hori T, Shang WH, Takeuchi K, and Fukagawa T. : The CCAN recruits CENP-A to the centromere and forms the structural core for kinetochore assembly. *J. Cell Biol.* 200: 45-60, 2013.
7. Tsukahara S, Kawabe A, Kobayashi A, Ito T, Aizu T, Shin-i T, Toyoda A, Fujiyama A, Tarutani Y, Kakutani T. Centromere-targeted de novo integrations of an LTR retrotransposon of *Arabidopsis lyrata*. *Genes Dev* 26: 705-713, 2012.
8. Sasaki T, Kobayashi A, Saze H, Kakutani T. RNAi-independent de novo DNA methylation revealed in *Arabidopsis* mutants of chromatin remodeling gene DDM1. *Plant J* 70: 750-758, 2012.
9. Higo H, Tahir M, Takashima K, Miura A, Watanabe K, Tagiri A, Ugaki M, Ishikawa R, Eiguchi M, Kurata N, Sasaki T, Richards E, Takano M, Kishimoto N, Kakutani T, Habu Y. DDM1 (decrease in DNA methylation) genes in rice (*Oryza sativa*). *Mol Genet Genomics* 287: 785-792, 2012.
10. Myosho T, Otake H, Masuyama H, Matsuda M, Kuroki Y, Fujiyama A, Naruse K, Hamaguchi S, Sakaizumi M. Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka, *Oryzias luzonensis*. *Genetics* 191: 163-170, 2012.
11. Moriyama Y, Kawanishi T, Nakamura R, Tsukahara T, Sumiyama K, Suster ML, Kawakami K, Toyoda A, Fujiyama A, Yasuoka Y, Nagao Y, Sawatari E, Shimizu A, Wakamatsu Y, Hibi M, Taira M, Okabe M, Naruse K, Hashimoto H, Shimada A, Takeda H. The medaka *zic1/zic4* mutant provides molecular insights into teleost caudal fin evolution. *Curr Biol.* 22: 601-607, 2012.

12. Izutsu M, Zhou J, Sugiyama Y, Nishimura O, Aizu T, Toyoda A, Fujiyama A, Agata K, Fuse N.: Genome features of "Dark-fly", a *Drosophila* line reared long-term in a dark environment. *PLoS One*. 7:e33288, 2012.
13. Kim RN, Kim DS, Choi SH, Yoon BH, Kang A, Nam SH, Kim DW, Kim JJ, Ha JH, Toyoda A, Fujiyama A, Kim A, Kim MY, Park KH, Lee KS, Park HS.: Genome Analysis of the Domestic Dog (Korean Jindo) by Massively Parallel Sequencing. *DNA Res*. 19: 275-287, 2012.
14. Yamaguchi A, Tanaka S, Yamaguchi S, Kuwahara H, Takamura C, Imajoh-Ohmi S, Horikawa DD, Toyoda A, Katayama T, Arakawa K, Fujiyama A, Kubo T, Kunieda T.: Two novel heat-soluble protein families abundantly expressed in an anhydrobiotic tardigrade. *PLoS One*. 7: e44209, 2012.
15. Sumiyo Morita, Ryou-u Takahashi, Riu Yamashita, Atsushi Toyoda, Takuro Horii, Mika Kimura, Asao Fujiyama, Kenta Nakai, Shoji Tajima, Ryo Matoba, Takahiro Ochiya and Izuho Hatada: Genome-Wide Analysis of DNA Methylation and Expression of MicroRNAs in Breast Cancer Cells. *Int. J. Mol. Sci*. 13: 8259-8272, 2012.
16. Kagoshima H, Kito K, Aizu T, Shin-I T, Kanda H, Kobayashi S, Toyoda A, Fujiyama A, Kohara Y, Convey P, Niki H.: Multi-decadal survival of an antarctic nematode, *Plectus murrayi*, in a -20 degree c stored moss sample. *Cryo Letters*. 33: 280-288, 2012.
17. Robert Freeman, Tetsuro Ikuta, Michael Wu, Ryo Koyanagi, Takeshi Kawashima, Kunifumi Tagawa, Tom Humphreys, Eric Fang, Asao Fujiyama, Hidetoshi Saiga, Chris Lowe, Marc Kirschner, Daniel Rokhsar, Nori Satoh, John Gerhart.: Identical genomic organization of two hemichordate hox clusters. *Curr. Biol*. 22: 2053-2058, 2012.
18. Krasikova A, Fukagawa T, and Zlotina A. : High-resolution mapping and transcriptional activity analysis of chicken centromere sequences on giant lampbrush chromosomes. *Chromosome Res*. 20, 995-1008, 2012,
19. Nishimura K, Ishiai M, Horikawa K, Fukagawa T, Takata M, Takisawa H, and Kanemaki MT. : Mcm8 and Mcm9 form a complex that functions in homologous recombination repair induced by DNA interstrand crosslinks. *Mol. Cell* 47: 511-522, 2012,
20. Hori, T, and Fukagawa T. : Establishment of the vertebrate kinetochores. *Chromosome Res*. 20: 547-561, 2012.
21. Fukagawa T. : Formation of a centromeric-specific chromatin structure. *Epigenetics* 7: 672-675, 2012.
22. Maruyama EO, Hori T, Tanabe H, Kitamura H, Matsuda R, Tone S, Hozak P, Habermann FA, von Hase J, Cremer C, Fukagawa T, and Harata M. : The actin family member Arp6 and the histone variant H2A.Z are required for spatial positioning of chromatin in chicken cell nuclei. *J. Cell Sci*. 125: 3739-3743, 2012.
23. Takeuchi K, and Fukagawa T. : Molecular architecture of vertebrate kinetochores. *Exp. Cell Res*. 318: 1367-1374, 2012.

[著書等]

1. 深川竜郎 “セントロメアに存在するユニークなクロマチン構造” 実験医学増刊 2013, 31, 187-192.
2. 西野達哉, 深川竜郎 “セントロメア領域に特異的なクロマチン構造” 遺伝 2012, 66, 552-558.
3. 豊田敦, 藤山秋佐夫 : 次世代シークエンサーのシークエンス原理 (「新型シークエンサー:目的別解析リファレンス」, 鈴木穰, 菅野純夫監修), 細胞工学別冊 2012, 学研メディカル秀潤社

<会議発表等>

[招待講演]

国際

1. Kakutani, T. : “Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis. 北京 (中国) 2012/4/19 International Symposium on Epigenetic Regulation in Higher Plants.
2. Kakutani T. : Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis. コールドスプリングハーバー(米国) 2012/6/1 The 77th Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology: The Biology of Plants
3. Kakutani T. : Genetics of DNA methylation in genes and transposons. ウイーン (オーストリア) 2012/7/4 The 23rd International Conference on Arabidopsis Research
4. Kakutani T. : Genetics of DNA methylation in genes and trasposons in Arabidopsis. 蘇州 (中国) 2012/10 Cold Spring Harbor Asia Meeting: Plant epigenetics, stress response and evolution
5. Shimizu, T. : Yoshioka, T., Nagasaki, H., Kaminuma, E., Nakamura, Y.: Whole genome sequencing and mapping analysis for identifying polymorphism among 11 citrus varieties, バレンシア(スペイン), 2012/11/18~23, 2012 International Citrus Congress
6. Fukagawa, T. : Molecular architecture of vertebrate kinetochores, ニューヨーク (米国) , 2012/5/15~19, Cold Spring Harbor Laboratory meeting
7. Fukagawa, T. : Molecular architecture of vertebrate kinetochores, バルセロナ (スペイン) , 2012/10/1~5, EMBO Workshop
8. Fukagawa, T.: Structural Dynamics of a Key Interface with Spindle Microtubules, 横浜, 2012/10/10, The 2nd International Workshop on Structural Epigenomics
9. Fukagawa, T. : Chromosome engineering to understand molecular architecture of vertebrate kinetochores, 淡路, 2012/11/25~28, The 8th 3R Symposium
10. Fukagawa, T. : Kinetochore assembly, structure, and function, 横浜, 2013/1/23, 2nd International Symposium ISIDP

国内

1. 藤山秋佐夫:大規模データ生産を基盤とするゲノミクスの最先端、情報・システム研究機構シンポジウム 2012 生命科学のビッグデータ革命 – 仮想から現実へ –、平成 24 年 11 月 9 日 (金)、一橋記念講堂、東京都
2. 深川竜郎:エピジェネティクスに規定されるセントロメアの形成機構、東京都、2012/5/14~15、6 回日本エピジェネティクス研究会年会
3. 深川竜郎 : Kinetochore structure, which ensures for accurate chromosome segregation、札幌市、2012/9/19 ~21、第 71 回日本癌学会学術総会
4. 深川竜郎 : Kinetochore specification and assembly in vertebrate cells、福岡市、2012/9/24~26、日本遺伝学会第 84 回大会
5. 深川竜郎 : 正確な染色体分配を保障するキネトコア構造、東京、2013/1/29、がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動公開シンポジウム

[一般講演]

国際

1. Atsushi Toyoda, Shoji Tatsumoto, Hideki Noguchi, Hideki Hirakawa, Yoko Kuroki, Koji Mikami, Hong-Seog Park, Naotsune Saga, Satoshi Tabata and Asao Fujiyama : Genome analysis of *Porphyra*

- yezoensis*, an edible red algae, revealed highly symbiotic (or contaminated) status of its life cycle, The Biology of Genomes, Cold Spring Harbor Meeting, May, 8-, 2012, Cold Spring Harbor, New York
- Hiroko Kawai-Toyooka, Toshiyuki Mori, Takashi Hamaji, Masahiro Suzuki, Bradley J.S.C. Olson, Atsushi Toyoda, Asao Fujiyama, and Hisayoshi Nozaki: *Gonium* GCS1 is expressed on the tubular mating structure of the mating-type *minus* gamete, The International Symposium on the Mechanisms of Sexual Reproduction in Animals and Plants", Nov.2-, 202, Nagoya, Japan
 - Nishino, T., Fukagawa, T. : New histone complex at eukaryotic centromere: CENP-T-W-S-X forms a unique chromatin structure, 2012/9/5~9, ロスコフ (フランス) , Jacques Monod Conference
 - Hori, T., Shang, W.H., Fukagawa, T. : Ectopic Localization of CCAN proteins induces centromere formation in vertebrate cells, バルセロナ (スペイン) , 2012/10/1~5, EMBO Workshop
 - Takeuchi, K., Fukagawa, T. : The Histone-fold CENP-T-W-S-X complex induces positive supercoils into DNA, サンフランシスコ (米国) , 2012/12/15~19, 52th ASCB Annual Meeting

国内

- 神沼英里、望月孝子、長崎英樹、藤澤貴智、猿橋智、児玉悠一、清水徳朗、豊田敦、藤山秋佐夫、倉田のり、中村保一：新型シーケンサ・アーカイブ配列を用いたゲノムワイド統合 SNPs の形質注釈, NGS 現場の会, 平成 24 年 5 月 23 日
- 郷康広、辰本将司、豊田敦、西村理、友永雅己、平井啓久、松沢哲郎、藤山秋佐夫、阿形清和：チンパンジーパーソナルゲノム研究、第 28 回日本霊長類学会年会、平成 24 年 7 月 6 日~8 日、椙山女学園大学、名古屋
- 松井 淳、郷 康広、豊田 敦、会津 智幸、石崎比奈子、今井 啓雄、藤山 秋佐夫、平井 啓久、新村 芳人：Exome データを利用した霊長類の嗅覚受容体遺伝子の比較解析、日本進化学会第 4 回東京大会、平成 24 年 8 月 21 日~24 日、首都大学東京、八王子市
- 森田純代、高橋陵宇、山下理宇、豊田 敦、堀居拓郎、木村美香、藤山秋佐夫、中井謙太、田嶋正二、落谷 孝広、畑田出穂：マイクロ RNA とたんぱく質をコードする遺伝子のエピジェネティックな類似性と相違-次世代シーケンサーによる解析、第 35 回日本分子生物学会年会、平成 24 年 12 月 11 日~14 日、福岡国際会議場、福岡市
- 黒木陽子、稲垣尚美、高橋恵子、西田有一郎、藤山秋佐夫、黒岩麻里、小原 収：アマミトゲネズミのゲノム構造解析、第 35 回日本分子生物学会年会、平成 24 年 12 月 11 日~14 日、福岡国際会議場、福岡市
- 神沼英里、藤澤貴智、坂本直子、谷澤靖洋、倉田のり、清水徳朗、中村保一：遺伝率データベース：形質関連 SNP の注釈情報と PATO アノテーション、第 35 回日本分子生物学会年会 (ポスター発表)、平成 24 年 12 月 11 日~14 日、福岡国際会議場、福岡市
- Shimizu,T.,Yoshioka,T.,Nagasaki,H.,Kaminuma,E.,Toyoda,A.,Fujiyama,A.,Nakamura,Y. : Whole genome sequencing and mapping analysis for identifying SNPs among 11 citrus varieties, 第 35 回日本分子生物学会年会 (ポスター発表) 、平成 24 年 12 月 11 日~14 日、福岡国際会議場、福岡市
- 河合幹彦、豊田敦、高木善弘、西真郎、荒井渉、内山郁夫、伊藤武彦、坪内泰志、諸野祐樹、青池寛、高井 研、藤山秋佐夫、稲垣史生、高見英人:定量的メタゲノム解析が明らかにした海底下堆積環境を特徴づける還元的脱ハロゲン化遺伝子、第 7 回日本ゲノム微生物学会年会、2013 年 3 月 8 日~10 日、長浜バイオ大学、長浜市
- 馬場知哉、阿部貴志、豊田敦、藤山秋佐夫、伊村智、神田啓史、本山秀明、仁木宏典：南極の好冷性 *Rhizobium* 属細菌のゲノム解析、第 7 回日本ゲノム微生物学会年会、2013 年 3 月 8 日~10 日、長浜バイオ大学、長浜市

10. 河合幹彦、豊田敦、高木善弘、西真郎、荒井渉、内山郁夫、伊藤武彦、坪内泰志、諸野祐樹、青池寛、高井研、藤山秋佐夫、稲垣史生、高見英人：海底堆積層に見つかる多様な還元的脱ハロゲン化酵素遺伝子：天然ハロゲン化有機化合物は海底で代謝されている？、日本農芸化学会 2013 年大会、2013 年 3 月 24 日～28 日、東北大学、仙台市
11. 望月 孝子、長崎 英樹、神沼 英里、大柳 一、清水 徳朗、豊田 敦、藤山 秋佐夫、倉田 のり、二河 成男、中村 保一：新型シーケンサーアーカイブ配列からの DNA 多型統合データベースと解析ワークフローの構築、日本育種学会第 123 回講演会 2013 年春季、平成 25 年 3 月 27 日～28 日、東京農業大学、東京都
12. 浜地貴志、Smith DR、野口英樹、豊田敦、鈴木雅大、豊岡博子、藤山秋佐夫、西井一郎、Marriage T、Olson BJSC、野崎久義：群体性ボルボックス目 *Gonium pectorale* のオルガネラゲノム、日本藻類学会第 37 回大会、平成 25 年 3 月 27 日～29 日、山梨大学、甲府市
13. 西野達哉、深川竜郎他：新規セントロメア特異的ヒストン様複合体 CENP-TWSX の構造機能解析、名古屋市、2012/6/20～22、第 12 回日本蛋白質科学会年会
14. 西野達哉、深川竜郎：Structural cell biology of chromosome segregation machinery、札幌市、2012/9/19～21、第 71 回日本癌学会学術総会
15. 越阪部晃永、深川竜郎他：新規ヒストン相互作用因子 hsSpt2 の核小体クロマチンダイナミクスにおける機能、福岡市、2012/ 12/14～16、第 85 回日本生化学会大会
16. 西野達哉、深川竜郎：Structural biology of eukaryotic chromosome segregation machineries、福岡市、2012/ 12/14～16、第 85 回日本生化学会大会
17. 石黒啓一郎、深川竜郎他：減数分裂特異的コヒーシ複合体の DSB 非依存的な相同染色体ペアリングにおける役割、福岡市、2012/ 12/11～14、第 35 回日本分子生物学会年会
18. 西村浩平、深川竜郎他：Mcm8 と Mcm9 は複合体を形成し、DNA 二本鎖架橋修復時に引き起こされる相同組換え修復において働く、福岡市、2012/ 12/11～14、第 35 回日本分子生物学会年会
19. 堀 哲也、深川竜郎他：人工動原体の作出からあきらかになるセントロメアの形成メカニズム、福岡市、2012/ 12/11～14、第 35 回日本分子生物学会年会
20. 角谷徹仁 「Genetics of DNA methylation in genes and transposons in Arabidopsis」福岡 2012/9 /25 日本遺伝学会第 84 回大会 国際公開シンポジウム
21. 伊藤佑、樽谷芳明、佐瀬英俊、角谷徹仁 「DNA メチル化に影響するシロイヌナズナ変異体の一塩基解像度メチローム解析」福岡 2012/9/25 日本遺伝学会第 84 回大会
22. 付焜、小林啓恵、樽谷芳明、角谷徹仁「Terminal inverted repeat (TIR)を持たないシロイヌ ナズナ Mutator 様因子の転移様式」福岡 2012/9/26 日本遺伝学会第 84 回大会
23. 樽谷芳明 「次世代シーケンサーを用いたシロイヌナズナの一塩基解像度メチローム解析」滋賀 2012/11/1

<受賞>

なし

③ その他の成果発表：なし

サブテーマ 2

① 知見・成果物・知的財産権等：なし

② 成果発表等

<論文発表>

[学術論文]

1. Kuriki, S., Harushima, Y., Fujisawa H, and Kurata, N.: Approximate tail probabilities of the maximum

of a chi-square field on multi-dimensional lattice points and their applications to detection of loci interactions. *Annals of the Institute of Statistical Mathematics*: in press.

2. Dou, X., Kuriki, S., Lin, G. -D., and Richards, D.: EM algorithms for estimating the Bernstein copula. arXiv:1301.2677: submitted. <http://arxiv.org/abs/1301.2677>
3. Nishino, J., Mano, S.: The number of candidate variants in exome sequencing for Mendelian disease under no genetic heterogeneity. *Computational and Mathematical Methods in Medicine* 2013: 179761 (13pages), 2013.
4. Nakagome, S., Mano, S., Hasegawa, M.: Comment on "Nuclear genomic sequences reveal that polar bears are an old and distinct bear lineage" by Hailer et al. *Science* 339: 1522, 2013.
5. 荒川俊也, 高橋阿貴, 田邊彰, 柿原聡, 木村真吾, 杉本大樹, 城石俊彦, 富原一哉, 小出剛, 土谷隆: 隠れマルコフモデルによるマウス状態の自動推定とコンソミックマウスの特徴付け. 研究集会「最適化: モデリングとアルゴリズム 25」統計数理研究所共同研究レポート 306: 156 - 173, 2013.
6. 荒川俊也, 高橋阿貴, 田邊彰, 柿原聡, 木村真吾, 杉本大樹, 城石俊彦, 富原一哉, 小出剛, 土谷隆: 隠れマルコフモデルを用いたマウス状態の自動判定と 2 値マルコフモデルによるコンソミックマウス系統の特徴付け. *統計数理* 60: 189-213, 2012.
7. Arakawa, T., Takahashi, A., Tanave, A., Kakihara, S., Kimura, S., Sugimoto, H., Shiroishi, T., Tomihara, K., Koide, T. and Tsuchiya, T: A Markov Transition Score for Characterizing Interactive Behavior of Two Animals and its Application to Genetic Background Analysis of Social Behavior of Mouse. *Proceedings of Measuring Behavior* 2012: 279 - 282, 2012.
8. Fujisawa, H. and Sakaguchi, T.: Optimal significance analysis of microarray data in a class of tests whose null statistic can be constructed. *TEST* 21: 280 - 300, 2012.
9. Hara, H., Aoki, S. and Takemura, A.: Running Markov chain without Markov basis. Referred proceedings of the Second CREST-SBM International Conference, "Harmony of Gröbner Bases and the Modern Industrial Society": 45 - 62, 2012.
10. Hara, H., Sei, T. and Takemura, A.: Hierarchical subspace models for contingency tables. *Journal of Multivariate Analysis* 103: 19 - 34, 2012.
10. Takemura, A. and Hara, H.: Markov chain Monte Carlo test of homogeneity of Markov chains. *Statistical Methodology* 9: 392 - 406, 2012.
11. Koyama, S.: Estimating neural firing rates: an empirical Bayes approach. *Lecture Notes in Computer Science* 7664: 51 - 59, 2012.
12. Koyama, S.: On the relation between encoding and decoding of neuronal spikes. *Neural Computation* 24: 1408 - 1425, 2012.

[著書等]

1. Aoki, S., Hara, H. and Takemura A. "Markov bases in Algebraic Statistics" Springer, 2012.

<会議発表等>

[招待講演]

国内

1. 栗木哲: チューフ・法とオイラー標数法 --- その歴史と展望. 熱海 (静岡県)、2012/8/4、統計サマーセミナー2012

[一般講演]

国 際

1. Koyama, S., On the information capacity of spike trains and detectability of rate fluctuations.(ポスター発表), ソルトレイクシティ (米国ユタ州), 2013/3/2, Computational and Systems Neuroscience (Cosyne) 2013
2. Koyama, S., Coding efficiency and detectability of rate fluctuations with non-Poisson neuronal firing.(ポスター発表), レイク・タホ (米国ネバダ州), 2012/12/3, Advances in Neural Information Processing Systems (NIPS) 2012
3. Dou, X., Shirahata, S., Sugimoto, H. and T. Koide: Functional clustering of mouse ultrasonic vocalization data, オビエド (スペイン) , 2012/12/3, 5th International Conference of the ERCIM WG on Computing & Statistics (ERCIM2012)
4. Kuriki, S., Dou, X. and Lin, G.-D., EM algorithms for estimating the Bernstein copula, オビエド (スペイン), 2012/12/2, 5th International Conference of the ERCIM WG on COMPUTING & STATISTICS (ERCIM) 2012
5. Koyama, S., Estimating neuronal firing rates: an empirical Bayes approach. (ポスター発表), ドーハ (カタール), 2012/11/13, The 19th International Conference on Neural Information Processing (ICONIP) 2012
6. Koyama, S., Coding efficiency and detectability of rate fluctuations with non-Poisson neuronal firing, プラハ (チェコ), 2012/9/6, 10th International Workshop Neural Coding 2012
7. Arakawa, T., Takahashi, A., Tanave, A., Kakihara, S., Kimura, S., Sugimoto, H., Shiroishi, T., Tomihara, K., Koide, T. and Tsuchiya, T., A Markov Transition Score for Characterizing Interactive Behavior of Two Animals and its Application to Genetic Background Analysis of Social Behavior of Mouse, ユトレヒト (オランダ), 2012/8/29, Measuring Behavior 2012
8. Ninomiya, Y., A p-value evaluation for multiple testing problem based on highly correlated test statistics, 神戸 (日本), 2012/8/28, International Biometric Conference
9. Ninomiya, Y., Improving a geometrical approach for multiple testing problems, つくば国際会議場 (日本), 2012/7/3, 2nd IMS Asia Pacific Rim Meeting
10. Hara, H., Markov chain Monte Carlo test of homogeneity of Markov chains, つくば国際会議場 (日本), 2012/7/3, 2nd IMS Asia Pacific Rim Meeting
11. Koyama, S., Omi, T., Kass, R. E. and Shinomoto, S., Information transmission using non-Poisson regular firing.(ポスター発表), 東京 (日本), 2012/6/23, BayesComp 2012
12. Koyama, S., Omi, T., Kass, R. E. and Shinomoto, S., Information transmission using non-Poisson regular firing.(ポスター発表), ピッツバーグ (米国ペンシルバニア州), 2012/6/1, Sixth International Workshop, Statistical Analysis of Neuronal Data (SAND6)
13. Dou, X. and Koide, T.: Cluster analyses of mouse vocalisations, パリ (仏), 2012/4/16, Workshop Mouse Ultrasonic Communication

国 内

1. 小山慎介: スパイク間隔分布のスケール族に対するフィッシャー情報量とニューラルコーディングへの関連について. 広島大学、2013/3/29、日本物理学会第 68 回年次大会
2. Koyama, S. : Information gain on variable neuronal firing rate. 立命館大学、2013/3/15、Workshop: Application of information theory to neuroscience

3. Dou, X., 白旗慎吾, 杉本大樹, 小出剛: マウス超音波発生データの関数クラスタリング、富士通大分シスラボ (大分)、2013/2/15、大分統計談話会第 47 回大会
4. 小山慎介: Coding efficiency and detectability of rate fluctuations with non-Poisson neuronal firing. (ポスター発表)、ルスツリゾート (北海道)、2013/1/10、脳と心のメカニズム第 13 回冬のワークショップ
5. 藤澤洋徳: ゲノムデータのための統計的手法の開発. 情報・システム研究機構 (東京)、2012/10/31、新領域融合プロジェクト外部レビュー
6. 原尚幸: マルコフ部分基底・格子基底を用いた分割表の正確検定. 新潟県立大学、2012/9/13、行動計量学会第 40 回大会
7. 松本章邦, 原尚幸, 野村和史, 縄田和満: Tobit 型モデルによる日降水量の統計的予測と降水デリバティブ評価への応用. 北海道大学、2012/9/11、統計関連学会連合大会
8. 原尚幸, 赤坂拓哉, 竹村彰通: Toric homogeneous Markov chain のマルコフ基底と格子基底. 北海道大学、2012/9/10、統計関連学会連合大会
9. 藤澤洋徳: ゲノムデータ解析のプロジェクトに携わって. 熱海 (静岡県)、2012/8/5、統計サマーセミナー 2012

<受賞>

1. 応用統計学会優秀論文賞 (2012 年度)
松本章邦, 原尚幸, 野村和史, 縄田和満: Tobit 型モデルによる日降水量の統計的推測と降水デリバティブ評価への応用. 応用統計学 39: 41 – 58, 2010.

③ その他の成果発表: なし

サブテーマ 3

① 知見・成果物・知的財産権等: なし

② 成果発表等

<論文発表>

[学術論文]

1. Takada, T., Ebata, T., Noguchi, H., Keane, T., Adams, D., Narita, T., Shin-I, T., Fujisawa, H., Toyoda, A., Abe, K., Obata, Y., Sakaki, Y., Moriwaki, K., Fujiyama, A., Kohara, Y., and Shiroishi, T.: The ancestor of extant Japanese fancy mice contributed to the mosaic genomes of classical inbred strains. *Genome Res.* 23: 1329-1338, 2013.
2. Tamura, M., Hosoya, M., Fujita, M., Iida, T., Amano, T., Maeno, A., Kataoka, T., Otsuka, T., Tanaka, S., Tomizawa, S. and Shiroishi, T.: Over-dosage of Hand2 causes limb and heart defects in human chromosomal disorder, partial trisomy distal 4q. *Human Molecular Genetics* 22: 2471-2481, 2013.
3. Nadeau, J. H., Forejt, J., Takada, T., and Shiroishi, T.: Chromosome substitution strains: gene discovery, functional analysis, and systems studies. *Mammalian genome* 23: 693-705, 2012.
4. Takada, T., and Shiroishi, T.: Complex quantitative traits cracked by the mouse inter-subspecific consomic strains. *Experimental animals*, 61(4), 375-88. 2012.
5. Spiezio, S. H., Takada, T., Shiroishi, T., and Nadeau, J. H.: Genetic divergence and the genetic architecture of complex traits in chromosome substitution strains of mice. *BMC genetics* 13(1): 38.2012.
6. Umemori, J., Mori, A., Ichiyangi, K., Uno, T., Koide, T.: Identification of both copy number variation-type and constant-type core elements in a large segmental duplication region of the mouse

- genome. *BMC Genomics* 14: 455, 2013.
7. Kanno, K., Kokubo, H., Takahashi, A., Koide, T., Ishiura, S.: Enhanced prepulse inhibition and low sensitivity to a dopamine agonist in *Hesr1*-knockout mice. *Journal of Neuroscience Research* (in press).
 8. Koide T., Goto, T., Takano-Shimizu, T.: Genomic mixing to elucidate the genetic system of complex traits. *Experimental Animals* 61: 503-509, 2012.
 9. Takahashi, A., Schilit, A.N., Kim, J., Debold, J.F., Koide, T., Miczek, K.A.: Behavioral characterization of escalated aggression induced by GABA(B) receptor activation in the dorsal raphe nucleus. *Psychopharmacology*, 224: 155-166, 2012.
 10. Huang, X., Kurata, N., Wei, X., Wang, ZX., Wang, A., Zhao, Q., Zhao, Y., Liu, K., Lu, H., Li, W., Guo, Y., Lu, Y., Zhou, C., Fan, D., Weng, Q., Zhu, C., Huang, T., Zhang, L., Wang, Y., Feng, L., Furuumi, H., Kubo, T., Miyabayashi, T., Yuan, X., Xu, Q., Dong, G., Zhan, Q., Li, C., Fujiyama, A., Toyoda, A., Lu, T., Feng, Q., Qian, Q., Li, J., Han, B.: A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. *Nature* 490: 497-501, 2012.
 11. Tuda, K., Akiba, T., Kimura, F., Ishibashi, M., Moriya, C., Nakagawa, K., Kurata, N., Ito, Y.: ONION2 Fatty Acid Elongase Is Required For Shoot Development In Rice. *Plant Cell Physiol.* 54: 209-217, 2013
 12. Liu, W., Chen, J.R., Hsu, C.H., Li, Y.H., Chen, Y.M., Lin, C.Y., Huang, S.J., Chang, Z.K., Chen, Y.C., Lin, C.H., Gong, H.Y., Lin, C.C., Kawakami, K., and Wu, J.L.: A zebrafish model of intrahepatic cholangiocarcinoma by dual expression of hepatitis B virus X and hepatitis C virus core protein in liver. *Hepatology* 56: 2268-2276, 2012.
 13. Tsetskhladze, Z.R., Canfield, V.A., Ang, K.C., Wentzel, S.M., Reid, K.P., Berg, A.S., Johnson, S.L., Kawakami, K., and Cheng, K.C.: Functional assessment of human coding mutations affecting skin pigmentation using zebrafish. *PLoS ONE* 7: e47398, 2012.
 14. Fukui, H., Shiba, D., Asakawa, K., Kawakami, K., and Yokoyama, T.: The ciliary protein *Nek8/Nphp9* acts downstream of *Inv/Nphp2* during pronephros morphogenesis and left-right establishment in zebrafish. *FEBS letter* 586: 2273-2279, 2012.
 15. Shimizu, N., Kawakami, K., and Ishitani, T.: Visualization and exploration of *Tcf/Lef* function using a highly responsive *Wnt/β-catenin* signaling-reporter transgenic zebrafish. *Developmental Biology* 370: 71-85, 2012.
 16. Shimizu, N., Kawakami, K., and Ishitani, T.: Visualization and exploration of *Tcf/Lef* function using a highly responsive *Wnt/β-catenin* signaling-reporter transgenic zebrafish. *Developmental Biology* 370: 71-85, 2012.
 17. Macdonald, J., Taylor, L., Sherman, A., Kawakami, K., Takahashi, Y., Sang, H.M., and McGrew, M.J.: Efficient genetic modification and germ-line transmission of primordial germ cells using piggyBac and Tol2 transposons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109: 1466-1472, 2012.
 18. Yano, T., Abe, G., Yokoyama, H., Kawakami, K., and Tamura, K.: Mechanism of pectoral fin outgrowth in zebrafish development. *Development* 139: 2916 – 2925, 2012.
 19. Mayasari, N.I., Mukougawa, K., Shigeoka, T., Kawakami, K., Kawaichi, M., and Ishida, Y.: Mixture of differentially tagged Tol2 transposons accelerates conditional disruption of a broad spectrum of genes in mouse embryonic stem cells. *Nucleic Acids Research* 40: e97, 2012.
 20. Moriyama, Y., Kawanishi, T., Nakamura, R., Tsukahara, T., Sumiyama, K., Suster, M.L., Kawakami, K., Toyoda, A., Fujiyama, A., Yasuoka, Y., Nagao, Y., Sawatari, E., Shimizu, A., Wakamatsu, Y., Hibi, M., Taira, M., Okabe, M., Naruse, K., Hashimoto, H., Shimada, A., and Takeda, H.: The medaka *zic1/zic4*

mutant provides molecular insights into teleost caudal fin evolution. *Current Biology* 22: 601-607,2012.

21. Pujol-Martí, J., Zecca, A., Baudoin, J.P., Faucherre, A., Asakawa, K., Kawakami, K., and López-Schier, H.: Neuronal birth order identifies a dimorphic sensorineural map. *The Journal of Neuroscience*32: 2976-2987, 2012.
22. Nakayama, S., Ikenaga, T., Kawakami, K., Ono, F., and Hatta, K.: Transgenic line with gal4 insertion useful to study morphogenesis of craniofacial perichondrium, vascular endothelium-associated cells, floor plate, and dorsal midline radial glia during zebrafish development. *Development, Growth & Differentiation* 54: 202 – 215, 2012.
23. Yamanaka, I., Miki, M., Asakawa, K., Kawakami, K., Oda, Y., and Hirata, H.: Glycinergic transmission and postsynaptic activation of CaMKII are required for glycine receptor clustering in vivo. *Genes to Cells* 18: 211-224, 2012.
24. Muto, A., Ohkura, M., Abe, G., Nakai, J., and Kawakami, K.: Real-time visualization of neuronal activity during perception. *Current Biology* 23: 307-311,2013.
25. De Graeve FM, Van de Bor V, Ghiglione C, Cerezo D, Jouandin P, Ueda R, Shashidhara LS, Noselli S.: *Drosophila apc* regulates delamination of invasive epithelial clusters. *Dev Biol* 368: 76-85, 2012.
26. Yamamoto-Hino, M., Abe, M., Shibano, T., Setoguchi, Y., Awano, W., Ueda, R., Okano, H., and Goto, S.: Cisterna-specific Localization of Glycosylation-related Proteins to the Golgi Apparatus. *Cell Structure and Function* 37: 55-63, 2012.

[著書等]

1. 田村 勝: 第5章: マウスの解剖について知ろう. マウス実験の基礎知識 第2版 (小出剛編集) p67-78. *Medical Bio* 2013.
2. 田村 勝, 前野 哲輝, 天野 孝紀: 第6章: マウスの胎仔を見てみよう. マウス実験の基礎知識 第2版 (小出剛編集) p79-92. *Medical Bio*, 2013.
3. Oka, A., and Shiroishi, T. “The role of the X chromosome in house mouse speciation” *Evolution of the house mouse*, Cambridge university press, 431-454, 2012.
4. 高田豊行: 次世代シーケンサを利用したモデル生物マウスのゲノム機能解析. *遺伝* 66: 333-337, 2012.
5. 小出剛編集「マウス実験の基礎知識」第2版 オーム社 2013年6月出版 全222ページ.

<会議発表等>

[招待講演]

国際

1. Shiroishi T.: A New Trend in 3D Morphological Phenotyping of Mouse Embryo - Micro-computed tomography imaging for embryonic phenotyping - IMPC International Symposium. Sep. 28, 2012, Tokyo.
2. Koide, T., Genetic basis of strain difference in waveforms of male ultrasonic vocalization. パリ (フランス), 2012/4/16-17, 1st Workshop of Mouse Ultrasonic Communication.
3. Kawakami, K., The transposon-mediated genetic methods in zebrafish and their application to the study of functional neural circuits: transgenic tools for calcium imaging, Suzhou (中国), 2012/4/16-20, the 2012 Cold Spring Harbor Asia Conference Zebrafish Disease Models.
4. Kawakami, K., Abe, G., Asakawa, K., Fukuda, R., Lal, P., Muto, A., Tanabe, H., Wada, H. zTrap and NIGKOF: the databases for gene trap/enhancer trap lines and gene-knockout fish lines, ウィスコンシン (アメリカ), 2012/6/20-24, 10th International Conference Zebrafish Development and Genetics

5. Muto, A., Kawakami, K. Visualization of functional neural circuits in zebrafish, メリーランド (アメリカ), 2012/8/5-10, 10th International Congress of Neuroethology
6. Muto, A., Ohkura, M., Abe, G., Nakai, J., Kawakami, K. Real-time visualization of the neuronal activity in the brain during visual perception of a natural object, ウィスコンシン (アメリカ), 2012/6/20-24, 10th International Conference Zebrafish Development and Genetics
7. Kawakami, K. The transposon-mediated genetic methods in zebrafish and their application to the study of functional neural circuits, 台北 (台湾) 2012/10/5-8, Asia-Pacific Developmental Biology Conference 2012
8. Kawakami, K. Tol2-mediated transgenesis, gene trapping, enhancer trapping and Gal4-UAS methods, バージニア (アメリカ), 2012/11/1-2, Janelia workshop on zebrafish genetics, transgenesis, and systems biology
9. Koichi Kawakami, Lal Pradeep, Mari Hiratani. Genetic dissection of the adult zebrafish brain by the Gal4-UAS method, ロンドン (イギリス), 2012/12/7-10, Imaging Structure and Function in the Zebrafish Brain
10. Kawakami, K. Genetic dissection of the adult zebrafish brain by the Gal4-UAS method, カリフォルニア (アメリカ), 2013/1/19-23, 5th Strategic Conference of Zebrafish Investigators

国内

1. 小出剛：神経科学セミナー「不安様行動の亢進と低下に遺伝的仕組みとその応用の試み」京都大学医学部，平成 25 年 7 月 1 日
2. 小出剛：ニュートンセミナー科学技術講演、静岡県立富士高等学校理数科 小山町共栄火災研究センター，平成 25 年 3 月 21 日
3. 小出剛：第 6 回環境科学専攻 月例セミナー「動物行動の遺伝学 マッピングから分子へ」静岡県立大学，平成 24 年 11 月 27 日
4. 久保貴彦：栽培イネにおける生殖的隔離遺伝子群の遺伝的解析. 日本育種学会第 123 回講演会. 2013 年 3 月 27-28 日. 東京
5. 川上浩一：トランスジェニックゼブラフィッシュを用いた側線における細胞間相互作用の研究、再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点「平成 23 年度 共同研究会」（京都）、平成 24 年 9 月 14 日～15 日
6. 川上浩一：ゼブラフィッシュにおけるトランスポゾンを用いた遺伝学的方法論と機能的神経回路研究への応用、再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点「平成 23 年度 共同研究会」（京都）、平成 24 年 9 月 14 日～15 日
7. Muto, A., and Kawakami, K.: Real-time visualization of neuronal activity during perception, 国際高等研究所研究プロジェクト「ゲノム工学とイメージングサイエンスに基づく生命システム研究の新展開」第 1 回研究会（京都）、平成 25 年 2 月 22-23 日

[一般講演]

国際

1. Takada, T., Ebata, T., Keane, T. M., Wong, K., Adams, D. J., Narita, T., Shin-I, T., Fujisawa, H., Noguchi, H., Toyoda, A., Abe, K., Obata, Y., Sakaki, Y., Moriwaki, K., Fujiyama, A., Kohara Y., and Shiroishi, T. Ancestry of extant Japanese fancy mice contributed to the mosaic genomes of classical inbred strains. 26th International Mammalian Genome Conference 21 - 24 Oct. 2012 Florida, USA.
2. Roy, S., Liang, X., Kitamoto, A., Tamura, M., Shiroishi, T., Brown, M. S. "Phenotype Detection in

Morphological Mutant Mice using Deformation Features", 16th International Conference on Medical Image Computing and Computer Assisted Intervention (MICCAI2013), P3-43, Sep. 2013.

3. Tanave, A., Takahashi, A., Shiroishi, T., Koide, T. Genetic and molecular analysis of high anxiety-like behaviors in wild-derived mouse strains. 14th Annual Meeting for International Behavioural and Neural Genetics Society. Boulder, USA, May 15-19, 2012.
4. Ishii, A., Nishi, A., Shiroishi, T., Takahashi, A., Koide, T. Genetic dissection of clustered QTLs related to strain difference of home-cage activity. 14th Annual Meeting for International Behavioural and Neural Genetics Society. Boulder, USA, May 15-19, 2012.
5. Ohyanagi, H., Kubo, T., Toyoda, A., Fujiyama A., Fujita, M., Igarashi, K., Yano, K., Goicoechea, JL., Wing, R., Kurata, N. CC genome pseudomolecule construction for resolving species diversification. 10th International Symposium on Rice Functional Genomics, 2012年11月26-29日, Chiang Mai, Thailand.
6. Harushima, Y., Kurata, N.: Detection of reproductive barriers between Aus and indica rice. 10th International Symposium on Rice Functional Genomics(ポスター発表), 2012年11月26-29日, Chiang Mai, Thailand.
7. Horiuchi, Y., Harushima, Y., Fujisawa, H., Ohyanagi, H., Fujita, M., Mochizuki, T., Kurata, N. Genome-wide analysis of differentially expressed genes between japonica and indica rice. 10th International Symposium on Rice Functional Genomics(ポスター発表), 2012年11月26-29日, Chiang Mai, Thailand.
8. Ohyanagi, H., Kubo, T., Toyoda, A., Fujiyama, A., Fujita, M., Igarashi, K., Yano, K., Goicoechea, JL., Wing, RA., Kurata, N. CC genome pseudomolecule construction by BAC-supported super scaffolding. 10th International Symposium on Rice Functional Genomics(ポスター発表), 2012年11月26-29日, Chiang Mai, Thailand.
9. Wing, R., Chen, M., Han, B., Gao, L., Hsing, Y., Henry, R., Kurata, N., Oliveria, A., Panaud, O., Wang, W. The International-Oryza Map Alignment Project: A golden path to unlock the genetic diversity hidden within the wild relatives of rice. 10th International Symposium on Rice Functional Genomics, 2012年11月26-29日, Chiang Mai, Thailand.
10. Yono, K., Tsuchida, H., Yokoyama, K., Chiba, H., Tada, Y., Mochizuki, T., Suwabe, K., Shimizu, A., Watanabe, M., Kurata, N. OryzaExpress for rice Omics information resources: A new statistical method for gene expression network analysis. 10th International Symposium on Rice Functional Genomics, 2012年11月26-29日, Chiang Mai, Thailand.
11. Hirata, H., Wen, H., Kawakami, Y., Naganawa, Y., Ogino, K., Yamada, K., Saint-Amant, L., Low, S., Cui, W., Zhou, W., Sprague, S., Asakawa, K., Muto, A., Kawakami, K., Kuwada, J. Slow-twitch and fast-twitch muscle defects in zebrafish, Suzhou (中国), 2012/4/16~20, the 2012 Cold Spring Harbor Asia Conference Zebrafish Disease Models
12. Liu, W., Chen, J., Li, Y., Gong, H., Kawakami, K., Wu, J. Involvement of TGF- β 1 in intrahepatic cholangiocarcinoma formation using HBx and HCV core dual transgenic zebrafish as a model, Suzhou (中国), 2012/4/16~20, the 2012 Cold Spring Harbor Asia Conference Zebrafish Disease Models
13. Takeuchi, M., Shimizu, T., Asakawa, K., Kawakami, K., Yonemura, S., Hibi, M. Role of type IV collagen in axogenesis of cerebellar granule cells in zebrafish, ウィスコンシン (アメリカ), 2012/6/20~24, 10th International Conference Zebrafish Development and Genetics
14. Amo, R., Agetsuma, M., Kinoshita, M., Shiraki, T., Yamazaki, M., Aoki, T., Masuda, M., Higashijima, S., Suster, M., Kawakami, K., Ohshima, T., Aizawa, H., Okamoto, H. Involvement of the lateral

- habenula homolog in the active avoidance learning in zebrafish, ウィスコンシン (アメリカ) , 2012/6/20-24, 10th International Conference Zebrafish Development and Genetics
15. Chen, C., Li, Y., Wu, J., Kawakami, K., Gong, H. Antagonistic roles of Akirin1 and Akirin2 in regulating muscle growth of zebrafish, ウィスコンシン (アメリカ) , 2012/6/20-24, 10th International Conference Zebrafish Development and Genetics
 16. Sittaramane, V., Pan, X., Sawant, A., Huang, P., Kawakami, K., Chandrasekher, A. The Wnt/Planar cell polarity protein Vangl2 functions in floorplate cells to mediate motor neuron migration within the vertebrate brainstem, ウィスコンシン (アメリカ) , 2012/6/20-24, 10th International Conference Zebrafish Development and Genetics
 17. Tsetskhladze, Z.R., Canfield, V.A., Ang, K.C., Reid, K.P., Johnson, S.L., Kawakami, K., Cheng, K.C. Functional assessment of human coding polymorphisms affecting skin pigmentation using zebrafish //albino// and //golden// mutants, ウィスコンシン (アメリカ) , 2012/6/20-24, 10th International Conference Zebrafish Development and Genetics
 18. Shimizu, N., Kawakami, K., Ishitani, T. Visualization and exploration of Tcf/Lef function using a highly responsive Wnt/ β -catenin signaling-reporter transgenic zebrafish, ウィスコンシン (アメリカ) , 2012/6/20-24, 10th International Conference Zebrafish Development and Genetics
 19. Hibi, M., Takeuchi, M., Yonemura, S., Asakawa, K., Kawakami, K., Shimizu, T. Role of basement membrane in axogenesis of cerebellar granule cells in zebrafish, 台北 (台湾) 2012/10/5-8, Asia-Pacific Developmental Biology Conference 2012
 20. Abe, G., Asakawa, K., Ito, A., Fukuda, R., Tanabe, H., Muto, A., Lal, P., Wada, H., Kawakami, K. Development of Tol2 transposon mediated gene trap method in zebrafish using MAZ transcription termination site, 台北 (台湾) ,2012/10/5-8, Asia-Pacific Developmental Biology Conference 2012
 21. Asakawa, K., Abe, G., Kawakami, K. Role of the L-type lectin VIPL/Lman2la in the development of escape locomotion in zebrafish, ニューオーリンズ (アメリカ) , 2012/10/13-17, Neuroscience 2012
 22. Tanabe, H., Lal, P., Muto, A., and Kawakami, K. Trace active avoidance conditioning in the adult zebrafish, ロンドン (イギリス) , 2012/12/7-10, Imaging Structure and Function in the Zebrafish Brain

国内

1. 高田豊行, 三田晃彦, 米川博通, 森脇和郎, 城石俊彦: 日本産野生由来マウス系統 MSM/MS を用いた加齢性脂肪蓄積の機能ゲノム解析. 日本実験動物学会総会, 2012年5月24-26日, 別府.
2. 田村 勝: 組織をみる: 古典組織学 VS Micro-Computed Tomography. 第25回モロシヌス研究会. 2012年7月8-9日, 東京.
3. 田村 勝, 城石 俊彦: ヒト 4q-ter に存在する複数遺伝子の量比は、頭蓋顔面骨形成に関与する. 日本遺伝学会第84回大会. 2012年9月24-26日, 福岡.
4. 小出剛: 野生から愛玩化マウスへ: その遺伝的基盤解明に向けて (ワークショップ) 第84回日本遺伝学会大会ワークショップ「モデル動物の特徴を活かした行動遺伝学の新たな展開」2012年9月24-26日 福岡
5. 田邊彰, 石井亜矢子, 城石俊彦, 高橋阿貴, 小出剛: 日本産野生由来マウス系統 MSM における高い不安様行動の分子遺伝学的解析, 第82回日本実験動物学会総会 (口頭) 2012年5月24-26日 別府
6. 小出剛: マウスにおける社会的親和性の遺伝学的解析 (シンポジウム), 第82回日本実験動物学会総会シンポジウム「動物の社会行動解析からヒトの精神疾患を考える」2012年5月24-26日 別府
7. 田邊彰, 高橋阿貴, 城石俊彦, 小出剛: 野生由来マウス系統の高い不安様行動に関する遺伝的・分子的解析 (口頭), 第35回日本神経科学大会, 2012年9月18-21日, 名古屋

8. 平田晴菜, 梅森十三, 小出剛, 渡邊和忠, 霜田靖: 神経細胞接着分子 Caspr3 は発達期の脳基底核に発現する (ポスター), 第 35 回日本神経科学大会, 2012 年 9 月 18-21 日, 名古屋
9. 後藤達彦, 小出剛: マウスの従順性行動に関わる遺伝的影響 (ポスター), 第 35 回日本神経科学大会, 2012 年 9 月 18-21 日, 名古屋
10. 高橋阿貴, 小出剛: 背側縫線核 GABA_B 受容体の活性化が引き起こす過剰な攻撃行動: グルタミン酸と GABA の役割 (ポスター), 第 35 回日本神経科学大会, 2012 年 9 月 18-21 日, 名古屋
11. 高橋阿貴, 小出剛: 野生マウス系統 MSM の過剰な攻撃行動に関わる遺伝的基盤 (ポスター), 第 72 回日本動物心理学会大会, 2012 年 5 月 12-13 日, 西宮
12. 大柳一, 永田俊文, 久保貴彦, 津田勝利, 藤田雅丈, 竹下紗由美, 瓦間淳子, 長崎英樹, 望月孝子, 神沼英里, 中村保一, 五十嵐香里, 矢野健太郎, 会津智幸, 豊田敦, 藤山秋佐夫, 倉田のり: 次世代育種に向けた取り組みー高速 DNA シーケンシングとデータ解析の遺伝学ー, 日本育種学会第 122 回講演会, 2012 年 9 月 14-16 日, 京都
13. 小宮怜奈, 大柳一, 新濱充, 渡部聡朗, 倉田のり, 野々村賢一: 生殖特異的 Argonaute, MEL1 に結合する small RNA の生合成経路, 日本育種学会第 122 回講演会, 2012 年 9 月 14-16 日, 京都
14. 山木辰一郎, 大柳一, 山崎将紀, 宮林登志江, 永口貢, 久保貴彦, 倉田のり, 野々村賢一: 野生イネ系統群のゲノム種を識別する InDel マーカーの開発, 日本育種学会第 122 回講演会, 2012 年 9 月 14-16 日, 京都
15. 秋葉貴文, 石橋まゆ, 守屋千尋, 津田勝利, 倉田のり, 伊藤幸博: イネの極長鎖脂肪酸合成酵素遺伝子の突然変異体 onion2 の解析, 日本育種学会第 122 回講演会, 2012 年 9 月 14-16 日, 京都
16. 小谷野智子, 来須孝光, 花俣繁, 久保貴彦, 野口祐平, 八木智華子, 永田典子, 大西孝幸, 木下哲, 倉田のり, 朽津和幸: イネの雄性生殖器官発達におけるオートファジーの役割, 第 54 回日本植物生理学会年会, 2013 年 3 月 21-23 日, 岡山
17. Oka, M., Moriyama, T., Asally, M., Kawakami, K., Yoneda, Y.: Differential role for Oct4 nucleocytoplasmic dynamics in somatic cell reprogramming and self-renewal of embryonic stem cells, 第 45 回日本発生生物学会・第 64 回日本細胞生物学会合同大会 (神戸)、平成 24 年 5 月 28 日～31 日
18. Abe, G., Suster, M.L., Kawakami, K.: Producing fgf24BAC:GFP transgenic fish by using Tol2 transposon mediated BAC transgenesis in zebrafish, 第 45 回日本発生生物学会・第 64 回日本細胞生物学会合同大会 (神戸)、平成 24 年 5 月 28 日～31 日
19. Takeuchi, M., Shimizu, T., Asakawa, K., Kawakami, K., Yonemura, S., Hibi, M.: Role of type IV collagen in axogenesis of cerebellar granule cells in zebrafish, 第 45 回日本発生生物学会・第 64 回日本細胞生物学会合同大会 (神戸)、平成 24 年 5 月 28 日～31 日
20. Wada, H., Kawakami, K.: Dickkopfs regulate organ growth during lateral line development in zebrafish, 第 45 回日本発生生物学会・第 64 回日本細胞生物学会合同大会 (神戸)、平成 24 年 5 月 28 日～31 日
21. Hirata, H., Wen, H., Kawakami, Y., Naganawa, Y., Ogino, K., Yamada, K., Saint-Amant, L., Low, S.E., Cui, W.W., Zhou, W., Sprague, S.M., Asakawa, K., Muto, A., Kawakami, K., Kuwada, J.Y.: Electrical coupling in muscle enables compensation of sporadic neural outputs to coordinate robust and efficient behavior during motor development, 第 45 回日本発生生物学会・第 64 回日本細胞生物学会合同大会 (神戸)、平成 24 年 5 月 28 日～31 日
22. Hibi, M., Takeuchi, M., Kusuda, R., Inoue, C., Shimizu, K., Asakawa, K., Kawakami, K., Yonemura, S., Shimizu, T.: Genetic control for neural circuit formation in teleost cerebellum, 第 45 回日本発生生物学会・第 64 回日本細胞生物学会合同大会 (神戸)、平成 24 年 5 月 28 日～31 日
23. 竹内未紀, 清水貴史, 浅川和秀, 川上浩一, 米村重信, 日比正彦: IV 型コラーゲンはゼブラフィッシュにおける小脳顆粒細胞の軸索伸長に必要である, 第 35 回日本神経科学大会 (名古屋)、平成 24 年 9 月 18 日～21 日

日

24. 天羽龍之介, 揚妻正和, 木下雅恵, 白木利幸, 山崎昌子, 青木田鶴, 東島眞一, 松田勝, Suster, M.L., 川上浩一, 大島登志男, 相澤秀紀, 岡本仁: ゼブラフィッシュ外側手綱核相同領域は能動的回避学習を制御する, 第35回日本神経科学大会(名古屋)、平成24年9月18日~21日
25. 浅川和秀, 川上浩一: ゼブラフィッシュL型レクチンVIPLの逃避ロコモーションにおける機能, 第35回日本神経科学大会(名古屋)、平成24年9月18日~21日
26. Asakawa, K., Abe, G., Kawakami, K.: Role of L-type lectin VIPL/Lman2la in the escape locomotion in zebrafish, the 18th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (京都), 平成24年9月22日~23日
27. Okamoto, H., Kawakami, K., Higashijima, S.: National Bioresource Project Zebrafish, The 18th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (京都), 平成24年9月22日~23日
28. Wada, H., Kawakami, K.: Organ size control through a negative feedback loop mechanism during lateral line development in zebrafish, The 18th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (京都), 平成24年9月22日~23日
29. Takeuchi, M., Yamaguchi, S., Yonemura, S., Asakawa, K., Kawakami, K., Takada, S., Shimizu, T., Hibi, M.: Role of basement membrane in axogenesis of cerebellar granule cells, The 18th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (京都), 平成24年9月22日~23日
30. Taira, H., Kuroyanagi, Y., Kawakami, K., Yamasu, K.: Functional analysis of the forebrain-forming genes in zebrafish embryos by the Gal4-UAS system, The 18th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (京都), 平成24年9月22日~23日
31. Sakagami, M., Higashijima, S., Abe, T., Asakawa, K., Kawakami, K., Hibi, M.: Visualization of climbing fibers in zebrafish, The 18th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (京都), 平成24年9月22日~23日
32. Shimizu, N., Kawakami, K., Ishitani, T.: Exploration of Tcf/Lef function using a highly responsive Wnt/ β -catenin signaling-reporter transgenic zebrafish, The 18th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (京都), 平成24年9月22日~23日
33. Amo, R., Agetsuma, M., Kinoshita, M., Shiraki, T., Aoki, T., Yamazaki, M., Higashijima, S., Matsuda, M., Suster, M.L., Kawakami, K., Ohshima, T., Aizawa, H., Okamoto, H.: The lateral habenula homolog regulates learning of active instrumental behavior in zebrafish, The 18th Japanese Medaka and Zebrafish Meeting (京都), 平成24年9月22日~23日
34. Taira, H., Shinoto, A., Abe, G., Kawakami, K., and Yamasu, K.: Functional analysis of the forebrain-forming gene in zebrafish embryos by the Gal4-UAS system, The 35th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (博多), 平成24年12月11~14日
35. Moriyama, T., Asally, M., Kawakami, K., and Yoneda, Y.: Differential role for Oct4 nucleocytoplasmic dynamics in somatic cell reprogramming and self-renewal of embryonic stem cells, The 35th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan (博多), 平成24年12月11~14日
36. Taira, H., Shinoto, A., Abe, G., Kawakami, K., Yamasu, K.: Functional Analysis of the Forebrain-forming Genes in Zebrafish Embryos by the GAL4-UAS System, 第35回日本分子生物学会年会(福岡) 平成24年12月11~14日
37. Oka, M., Moriyama, T., Asally, M., Kawakami, K., Yoneda, Y.: Differential Role for Oct4 Nucleocytoplasmic Dynamics in Somatic Cell Reprogramming and Self-renewal of Embryonic Stem Cells, 第35回日本分子生物学会年会(福岡) 平成24年12月11~14日

<受賞>

1. Masaru Tamura and Toshihiko Shiroishi: Multiple gene dosage balance on 4q-ter is critical for craniofacial development. Best Paper Award (2012) The 84th Annual Meeting of Genetics Society of Japan
2. 久保貴彦：栽培イネに置ける生殖的隔離遺伝子群の遺伝的解析，平成 24 年度日本育種学会奨励賞

③ その他の成果発表：なし