

# 次世代シーケンサーを用いた SNP ジェノタイピング

## 1. はじめに

各個体のゲノム DNA 上の変異を検出し、個体識別を行うジェノタイピング(遺伝子型決定)には様々な方法があります。現在、当センターでは、スギを代表とする林業用樹種に対して、マイクロサテライトマーカー(ゲノム DNA 中に散在する 2~8 塩基を単位とする繰り返しの変異を目印にした DNA マーカー)を使ったジェノタイピングの他に、1 塩基の変異(Single Nucleotide Polymorphism; SNP)を目印にした SNP ジェノタイピングも行っています。SNP ジェノタイピングには、大きく 2 種類の方法があり、マイクロアレイと呼ばれる基盤上で SNP を検出する方法と次世代シーケンサーで塩基配列を読むことで SNP を検出する方法があります。今回は、次世代シーケンサーを用いた SNP ジェノタイピングについて紹介します。

## 2. 次世代シーケンサーを用いたジェノタイピングシステム

現在、次世代シーケンサーを用いた SNP ジェノタイピングには大きく 2 種類の方法があります。1 つはゲノム DNA を制限酵素(特定の配列を認識して DNA を切断する酵素)で切断し、切断した部位から数百塩基程度の配列を調べ、SNP を探索する方法です。この方法は GBS (Genotyping-by-sequencing) や RAD シーケンス (Restriction Site Associated DNA Sequence; RAD-seq) と呼ばれており、新規の SNP をゲノム DNA 上の全体から高密度に検出するために利用されています。2 つ目の方法は、既知の SNP に対して、周辺の配列情報をもとに複数領域を一度に PCR (Polymerase Chain Reaction) 法で増幅し、増幅した領域に対して 200~300 塩基程度の配列を調べ、SNP を検出します。この方法は、アンプリコンシーケンスやターゲットシーケンスと呼ばれ

ており、すでに表現形質との関連が明らかになっている複数の SNP マーカーのセットを構築することで(パネル化して)利用することで、より迅速かつ効率的にジェノタイピングすることができます。

## 3. 林木のゲノム研究への利用について

前段で説明したように次世代シーケンサーを使った SNP ジェノタイピングは、研究目的や規模に応じて使い分けをする必要があります。当センターでも、GBS や RAD-seq といった大規模かつゲノムワイドな SNP ジェノタイピングは、個体識別はもとよりゲノム DNA 上の遺伝子(座)間の距離を推定する連鎖地図の作成や育種上有用な形質との関連解析(Quantitative trait locus; QTL マッピングや Genome Wide Association Study; GWAS)の研究に利用しています。それらの大規模な研究から検出されてきた有望な SNP については、アンプリコンシーケンスのための SNP のパネル化に向けて、育種の現場で優良な個体を迅速かつ効率的に選抜できるような SNP マーカーの開発を進めているところです。



写真 1 当センター所有の次世代シーケンサー IonS5

(森林バイオ研究センター 平尾 知士)