

ショートリードを用いたアイスプラントにおける *de novo* ゲノムアセンブル法の確立佐藤稜真^{1*M2}・近藤侑梨^{2 B4}・John C. Cushman³・齋藤和幸⁴・東江栄⁴(1九州大学大学院生物資源環境科学府・2九州大学農学部・3ネバダ大学リノ校・
4九州大学大学院農学研究院)**Establishment of a method for *de novo* genome assembly of ice plant using short reads**Ryoma Sato^{1*M2}, Yuri Kondo², John C. Cushman³, Kazuyuki Saito⁴, Sakae Agarie⁴(1 Graduate school of Bioresource and Bioenvironmental Sciences, Kyushu University,
2 School of Agriculture, Kyushu University, 3 Department of Biochemistry and Molecular Biology,
University of Nevada, Reno, 4 Faculty of Agriculture, Kyushu university)

【背景】アイスプラント(*Mesembryanthemum crystallinum* L.)は、耐塩性、好塩性、及び CAM 型光合成の制御機構を解明するモデル植物である。しかし、全ゲノム配列情報は決定されていない。本種のゲノム情報は公開されているが断片的であり、ゲノムの翻訳領域、非翻訳領域、及び転写調節因子等を解析する機能ゲノミクスに用いることは困難である。一般に、ゲノム塩基配列の構築には、次世代シーケンサー(NGS)を用いて取得される 10 kb 程度の長い読み取り配列(ロングリード)を使用することが推奨されているが、解析には高額な費用が必要である。一方で、150 bp 程度の短い読み取り配列(ショートリード)は比較的安価に取得することが可能であり、解析用ソフトウェアの開発も大きく進展した。本研究では、近年開発されたショートリードに対応したアセンブラを用いて、アイスプラントのゲノムデータの構築を試みた。

【材料及び方法】アイスプラントの葉身から、MagExtractor™ Plant DNA purification kit(東洋紡)を用いて DNA を単離した。その後、Novaseq(Illumina)で 150 bp ペアエンドシーケンスを行い、ショートリードを得た。アセンブリには以下のソフトウェアを利用した。トリミングには musket(v1.1)、ショートリードを用いたコンティグの生成には ALGA(v1.0.3)、及びスキップフォールドの生成には Redundans(v0.14a)を用いた。配列の本数、完全性、及びゲノム中の反復配列の割合は、gVolante 及び Repeat Masker(v4.1.2-p1)を用いて算出した。既報のアイスプラント遺伝子配列及び cDNA 配列とゲノム配列の相同性の検証には、blastn(v2.2.31+)を用いた。

【結果と考察】musket, ALGA, 及び Redundans を用いてゲノムアセンブルを行った結果、約 99% のホモ接合性を有した 49782 本のゲノム配列が得られた。本ゲノム配列は、陸上植物に保存される 1614 個のコア遺伝子のうち、1509 個(93.49%)を含んでいた。また、アイスプラントのゲノム配列中には、少なくとも 3% の反復配列が含まれていることが明らかになった。さらに、既報のアイスプラント遺伝子との相同性比率は平均約 99%であった。これらの結果から、本研究で構築されたゲノム配列の正確性が裏付けられ、ショートリードであっても精度の高いゲノム情報の構築が可能であることが示された。本ゲノム情報を用いることで、アイスプラントにおけるより包括的なゲノム機能の解析が可能になった。