

「速く、安く、ほどほどに」ベンチトップシーケンサーで生物種を問わないゲノムワイドな SNP 解析

野外で採取されたサンプルを用いる集団遺伝学の研究において、サンプル DNA 量の少なさや劣化は研究成果に大きく影響します。東北大学大学院農学研究科・農学部資源生物科学専攻准教授の陶山佳久先生は、制限酵素を使わず、生物種を超えるユニバーサルプライマーを使う独自の SNP 解析法 MIG-seq を MiSeq システムを用いて開発され、研究の幅を広げています。陶山先生に MIG-seq の特徴や研究応用について聞きました。



MIG-seq (Multiplexed ISSR genotyping by sequencing) 法とは

1. MIG-seq 法の概要
- a) マルチプレックス PCR による多数の SSR 間領域の PCR 増幅
 - b) Tailed PCR による配列付加
 - c) サイズ選抜・定量 (qPCR)、NGS (MiSeq) によるラン

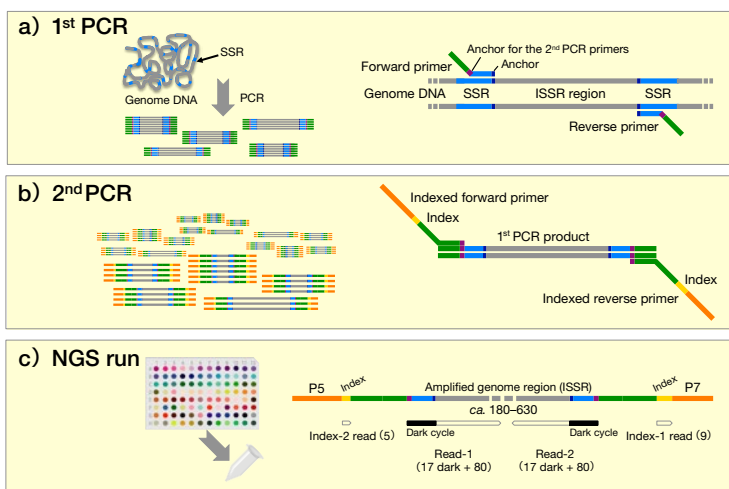


図 MIG-seq 法の 3 ステップ (Suyama & Matsuki 2015 を改変)

NGS を利用した手軽なゲノムワイド SNP ジェノタイピング技術。その特徴として、生物種を問わず広く適用が可能で、例えば標準的な解析では、一度に数百サンプルの少量の DNA サンプルを対象として、迅速 (3 日)・簡単 (2 回の PCR と NGS ラン)・経済的 (消耗品は約 1000 円 / サンプル) に数百座以上の SNP 解析ができる。

技術の詳細はウェビナー録画をご覧ください

MIG-seq 法: 次世代シーケンサーを用いた手軽なゲノムワイド塩基配列分析
<https://jp.illumina.com/180905>



システム	iSeq	MiniSeq	MiSeq
主なアプリケーション	アンプリコン / ターゲットリシーケンス、ターゲット RNA、small RNA	アンプリコン / ターゲットリシーケンス、ターゲット RNA、small RNA	メタゲノム、微生物、ウイルス、アンプリコン / ターゲットリシーケンス
最大データ量 (Giga Bases)	1.2Gb	7.5Gb	15Gb
最大リード数/ラン (ペアエンド)	800 万	5000 万	5000 万
最大リード長	150bp × 2	150bp × 2	300bp × 2
最大ラン時間	17.5 時間	24 時間	55 時間

お客様の声

Q. MIG-seq にはどんな特徴がありますか

A. 「速い・安い・ほどほど」がメリットです

MIG-seq は、手軽に「ほどほどに」ゲノムワイドな SNP 解析ができる技術です。生物種を問わず、縮約したゲノムデータで比較していけるのがメリットです。個体間のクローン識別、集団間の遺伝的違いや分子系統地理的な解析、近縁種間での雑種の識別、種や属のレベルでの系統関係など幅広く利用できます。

また、「速くて安い」のが大きな特徴です。標準的な解析では、3 日間で、2 回の PCR と NGS ランで、数百サンプルの少量の DNA サンプルから数百座以上の SNP 解析ができます。消耗品コストは 1 サンプルあたりでは 1000 円以下です。

Q. MIG-seq を開発しようと考えた理由は何ですか

A. サンプルが少ない場合、あるいは劣化している場合でも解析できる方法が必要でした

野外で採取したサンプルは、DNA が劣化していたり、量が少なかったりと状態が悪く、従来では解析しにくいいため、別の方法が必要になったからです。

従来法である AFLP (amplified fragment length polymorphism) や RAD-seq (Restriction-site Associated DNA sequencing) では、DNA の品質が悪いと分析できない。また、マイクロサテライトマーカー (反復配列を検出するための数塩基のマーカー) では種ごとにマーカーを作らなければならないのが手間、希少種では、経済的に効率が悪くなってしまいます。

そこで、種を問わないユニバーサルなプライマーセットを作ることにし、MIG-seq 法をブラッシュアップしていきました (関連論文参照)。

Q. MIG-seq によって、どのような研究を進めていますか

A. 熱帯林の植物の分類や集団遺伝、キノコの品種鑑定など多様な研究に携わっています

分類学の研究者たちは頭の中に膨大な量の形態の情報があって、見つけた植物の形態から種の同定をしていきます。ただ、熱帯で採取した植物にはまだまだ未知の種や同定困難な種が含まれていますし、従来の分析法によって DNA のバーコード領域を読んでみても、ほとんど差がないことがよくあります。このように決め手がないところに、MIG-seq を使うと 3 日で系統樹が描けると好評です。また、日本で品種開発された食用のキノコについて、日本産であることを証明するために MIG-seq による DNA 検査が使えないかと委託を受けて研究を進めています。

Q. 今後、手がけてみたいことを教えてください

A. より簡単に作業できるプロトコルを作り、解析結果のデータベース化も目指します

iSeq 100 システムを使って、より失敗のない、作業しやすいプロトコルを作ろうと思っています。iSeq 100 はコンパクトで比較的安価なだけに、これから普及していきそうです。

植物の標準的なバーコード領域である葉緑体 DNA の遺伝子や ITS 領域もマルチプレックスで MiSeq や iSeq 100 でシーケンスして、MIG-seq のデータと組み合わせて系統樹を描くことも進めています。それによって、MIG-seq も広まりますし、より正確な系統樹が簡単に構築できることとなります。

関連論文

[MIG-seq: an effective PCR-based method for genome-wide single-nucleotide polymorphism genotyping using the next-generation sequencing platform](#)
Yoshihisa Suyama & Yu Matsuki
Scientific Reports volume 5, Article number: 16963 (2015)

イルミナ株式会社

〒108-0014 東京都港区芝 5-36-7 三田ベルジュビル 22 階
Tel (03) 4578-2800 Fax (03) 4578-2810
jp.illumina.com

 www.facebook.com/illuminakk

販売店

本製品の使用目的は研究に限定されます。診断での使用はできません。 販売条件 : jp.illumina.com/tc

Pub. No. 5023-190712-01

© 2019 Illumina, Inc. All rights reserved.
すべての商標および登録商標は、Illumina, Inc または各所有者に帰属します。
商標および登録商標の詳細は jp.illumina.com/company/legal.html をご覧ください。
予告なしに仕様および希望販売価格を変更する場合があります。

