

別添資料 検討会議議事要旨

第1回検討会議

平成25年度原子力災害影響調査等事業 (放射線の生物学的影響に関する研究調査事業)

第1回検討会議議事要旨

日時：平成25年12月24日(火) 13:30～15:00

会場：国立遺伝学研究所東京連絡所

東京都中央区京橋1-1-1 八重洲ダイビル1階104

出席者(敬称略)：

国立遺伝学研究所(以下、遺伝研)：城石、高田、豊田、野口、藤山

環境科学技術研究所(以下、環境研)：小倉、小野、小村、田中

環境省：川畑、桝山、

<議題>

1. 経過報告
2. 進捗報告と今後の予定

　試料の状況について

　今後の方針と予定

3. その他

配付資料

資料1	実施計画書（提出版）
資料2	実施計画と進捗状況
資料3	試料リスト
資料4	DNAの準備状況

<議事>

1. 経過報告

各自自己紹介のあと、資料1(業務実施計画書)にもとづき、藤山から、本委託業務の目的及び解析試料の選定、全塩基配列解析、配列情報の比較・分析、被ばく線量と塩基配列変異との関連づけ等、本業務を実施するに当たっての基本方針と実施方法、実施計画、実施体制についての説明が行われ確認を受けた。

資料2にもとづき、藤山から、平成25年12月13日の業務委託契約締結後の経過について、以下のような説明があった。

- (1) 12月16日から、設備、消耗品、役務調達の手続きを開始(遺伝研)。
- (2) 12月18日に、導入予定の新型シークエンサーの入札説明会を実施(遺伝研)。

(3) サーバ、役務、シークエンサーの入札改札予定。試薬類の納品予定について。

2. 進捗報告と今後の予定

解析試料について

資料3及び追加資料にもとづき、田中と小倉から遺伝研に送付済みの放射線被ばくトリオ6組及びコントロールトリオ3組の試料について、検体の選定理由（悪性リンパ腫発症群は除外するなど）および死因についての説明があり、さらに検体採取の時期、平均寿命などについての質疑が行われた。また、追加資料では、資料3に記載の検体群のうち、被ばく群、コントロール群の各1トリオについては、孫世代に当たるF2世代検体が保存してあることが報告された。本委託業務では解析を行わないが、今後、新規に生じた変異を確定するためには重要な試料となることが期待される。

DNA抽出精製法について

資料4およびパワーポイントにより、高田から試料の状態、保管状況及びコントロール群の12検体(トリオ3組について両親と仔。仔については尾と前肢)についてDNAのテスト抽出を行った結果が下記のように報告され、意見交換を行った。

- (1) サンプルが環境研から遺伝研へ良好な条件で送付されてきた。
- (2) 試料およびDNAは、立ち入り制限された施設の鍵付き冷凍庫に保管。

次いで

- (3) 個体と組織の判別可能な試料命名則についての提案があり、了承した。

さらに

- (4) DNAのテスト抽出結果についての報告があった。

遺伝研で抽出したDNAが、やや壊れ気味で、環境研の抽出手法では特に問題が生じていないとの指摘があり、今後の品質向上に向けての改善点について意見交換が行われた。

3. その他

今後の予定については、翌年1月中にDNA抽出手法を確定させ、早期に配列データ生産のテストを行いたい旨、藤山から紹介があった。また、配列解析のための時間が極めてタイトであるとの意見があった。

以上

(文責：藤山)

第2回検討会議

配列決定が進行中のため、下記の項目についてメール審議とした。

*DNA調製、試料追加について：

2013/12/27 DNA抽出プロトコルの変更とその結果が良好であったことについての意見交換

2014/01/22/23 DNA抽出状況についての連絡、シーケンシングテストラン開始についての連絡、追加提供可能な検体についての問い合わせ。

2014/01/27 追加可能検体についての回答、同送付依頼、

2014/02/04 追加検体到着の連絡

*報告書作成について：

2014/02/10 実験動物に関する項についての問い合わせ

2014/02/13 実験動物に関する項の原稿送付

2014/02/26 実験動物に関する項の原稿改訂版送付

*進捗状況共有用WEBサイトの設定について：

2014/02/19 WEBサイト開設の連絡

*第3回検討会について：

2014/02/27 日程調整を実施し、3月14日に決定した。

第3回検討会議

平成25年度原子力災害影響調査等事業 (放射線の生物学的影響に関する研究調査事業)

第3回検討会議議事要旨

日時：平成26年3月14日(金) 13:00～16:00

会場：情報・システム研究機構本部会議室

東京都港区虎ノ門4丁目3番13号ヒューリック神谷町ビル2階

出席者（敬称略）：

国立遺伝学研究所(以下、遺伝研)：城石、高田、豊田、野口、藤山

環境科学技術研究所(以下、環境研)：小倉、小野、小村、田中

環境省：川畑

＜議題＞

1. 進捗報告
2. 報告書作成について
3. 今後の方針と予定
4. その他

資料1

報告書骨子案

＜議事＞

進捗報告－1：資料1にもとづき、藤山から以下の経過報告があった。

- (1) 第1回検討会の話題となったDNA抽出法については、一応の解決をみた。
- (2) 第2回検討会はメイル審議で実施し、検体の追加、報告書作成、進捗状況の共有、第3回検討会の準備などについての検討を行った。
- (3) 次世代シークエンシングのためのライブラリ調製法を検討し、主に安定にライブラリ調製を行える視点から、トランスポゾンを用いる手法を採用した。
- (4) シークエンサが納品されたため塩基配列データを本格化し、照射、非照射の各トリオの計8検体から抽出したDNAについて、>100Xの配列データ生産が完了した。

進捗報告－2：野口から、各トリオの仔の塩基配列情報を比較解析した予備的結果についてパワーポイントによる説明があり、これについての意見交換を行った。塩基置換については照射、非照射で大きな差が見られず、indelについては、照射仔の方が多い様な傾向が見て取れるが、排列データに偏りも見られることから、解析条件についての検討を継続することとなった。今回の予備的解析結果からは、両者で、例えば100倍を超えるような大きな差は見られておらず、この点についてはマイクロアレイを用いた先行調査の結果と矛盾はしていない。

2. 報告書の作成内容について、特に被ばく放射線量に関する既知の知見と、ヒトへの外挿性に関する部分についての意見交換を行い、各担当者に原案作成を依頼した。

3. 今後の方針と予定

データ生産は予定の数量まで完了しているので、今後は解析と結果の検討に集中する。望ましくは、検体数を増やすこと、検証を実施すること等の意見があった。また、照射放射線の線量率に関する意見交換、低線量被ばくにおける線量値についての意見交換を行った。

以上

(文責：藤山)

平成 25 年度原子力災害影響調査等事業
(放射線の生物学的影響に関する研究調査事業)

第 1 回検討会議

日時：平成 25 年 12 月 24 日(火) 13:30～

会場：国立遺伝学研究所東京連絡所

東京都中央区京橋 1-1-1 八重洲ダイビル 1 階 104

議題

1. 経過報告
2. 進捗報告と今後の予定

試料の状況について

今後の方針と予定

3. その他

資料 1	実施計画書（提出版）
資料 2	実施計画と進捗状況
資料 3	試料リスト
資料 4	DNA の準備状況

平成 25 年度原子力災害影響調査等事業（放射線の生物学的影響
に関する研究調査事業）委託業務
実施計画書

大学共同利用機関法人情報・システム研究機構
国立遺伝学研究所

1. 業務の目的

本事業の目的は、これまで科学的な知見がほとんど得られていない低線量放射線被ばくによる遺伝性の影響の可能性について哺乳類実験動物を対象とする研究調査を実施し、放射線による遺伝性の影響に関する科学的知見を収集することである。

2. 業務の基本方針

（1）解析試料について

本事業では、哺乳類実験動物のトリオについて全塩基配列解析を行い、放射線による遺伝性の影響に関する科学的な知見の収集が求められている。これに用いる実験動物は、仕様書記載の項目に加え以下の要件を備えていることが必要である。（1）実験に供する動物群の遺伝的背景が全個体について均一であると見なせるか、もしくは、遺伝的背景の確認が比較的容易に行えること。（2）観察可能なものだけではなく、生理的な変化や遺伝子発現レベルまで含む、広い意味での表現型に関する情報が多数蓄積されていること。（3）DNA の塩基配列情報に加え、遺伝子に関する情報がデータベース化されていて隨時利用が可能のこと。（4）動物のハンドリングが容易で、複数個体を用いた長期間の照射実験が可能であり、再現性の確認も可能のこと。

上記の条件を満たす実験動物として、本委託業務では、マウスを用いたガンマ線照射実験系を解析試料とする提案とした。詳細については、実施方法の項に記載する。

（2）全塩基配列解析について

上記 1. で取得した生体試料の全塩基配列情報解読に用いる分析装置として、超並列型塩基配列決定装置の使用を提案する。具体的には、蛍光標識基質を用いた逐次合成型の塩基配列決定装置で、業務委託機関が十分な運転経験と稼働実績を持つ装置である。本事業では、試料の全塩基配列中に生じた微少な変異を有意に検出できる情報解析を行う必要があるため、それを満たすだけの精度を持つ分析装置であることが必要である。また、事業の緊急性に鑑み、十分高いデータ生産量を持つ必要もある。

本提案では、上記の条件を満たす分析装置を使用する。詳細については、実施方法の項に記載する。

（3）全塩基配列情報の比較・分析について

本事業では、放射線照射の影響を科学的に調査するため、父、母、仔の組（トリオ）から抽出したDNA の全塩基配列情報を解析の対象とする。解析の基本的な手法は塩基配列の相同性に基づく変異候補の抽出と統計検定であり、既にヒトトリオで論文発表されている方法および提案者らがチンパンジートリオ解析で採用している考え方と同じである。すなわち、トリオから得られた配列について、同一系統マウスの全 DNA 参照配列を軸に配列相同性の相互比較を行い、反復配列を含まない DNA 領域について、仔由来 DNA に特異的な変異候補部位の検出と統計的有意性の検討を行う。変異の個数と部位を特定する

ためにも、参照配列の精度が哺乳動物の中ではヒトについて高いマウスを利用することの利点がある。まず、一塩基置換部位、小規模な挿入／欠失部位の検出を目指す。詳細については、実施方法の項に記載する。また、コピー数変化、逆位、転座等、参照配列の精度と配列上の位置に依存して検出の可能性が変動する変異については、正確な変異率の推定は困難なことが予想されるため、変異の可能性を示唆する参考情報として提供する。

(4) 親世代の被ばく線量と仔 DNA の塩基配列変異との関係について

本提案では、生体試料として父親世代に低線量率の放射線を長期間照射したトリオを使用する。父親が非照射のトリオから得られたデータと比較することにより、仔の DNA に特異的な変異を検出する。仔については、異なる組織から抽出した DNA を配列決定することにより、体細胞変異で生じる可能性のある変異の影響についても検討する。本提案では、照射トリオの被ばく線量を、変異を検出できる可能性の高い量とすることにより、結果の曖昧性を排除するように努める。詳細については、実施方法の項に記載する。

(5) ヒトへの外挿性に係わる検討について

本委託事業で用いられる解析手法とそこから得られる結果をヒトに対して適用できるかどうか検討するに際して、従来の放射線生物学研究から得られている知見をもとに、被ばく線量の違い、被ばく条件の違い、種間差、臓器依存性等、比較検討が必要な諸要因について精査し、報告書に取りまとめる。

(6) 報告書のとりまとめについて

本委託事業の成果を報告書に取りまとめる際には、広く国民の目に触れるものであることに配慮し、極力平易でわかりやすい表現に努める。専門用語についても、同じ方針で作成した解説集を作成する。

以上の委託事業は、委託契約締結日から平成 26 年 3 月 31 日までを実施期間とし、仕様書で要求された部数と形式の紙媒体および電子媒体の報告書を成果物として提出する。

3. 業務の実施方法

(1) 実験動物からの生体試料の採取について	
事項名	実験動物からの生体試料の採取
生体試料に関する情報として必要な事項：	
本委託業務の目的は、放射線による遺伝性の影響についての科学的知見を収集することである。 したがって、解析に用いる哺乳類実験動物として、以下の条件を満たす必要がある。	
(1) 放射線被ばく実験では、遺伝性影響を検出可能な程度の低線量率放射線による長期間ばく露が可能であること。 (2) 全身及び生殖器への被ばく線量の推計が確実にできること。 (3) トリオ（父、母、仔の一組）の照射動物群及びトリオの非照射群を解析に供せられること。 (4) 解析に用いる生体試料の組織及び量が明確であること。 (5) 実験動物として確立された種であり、遺伝的背景が均一な系統を利用できること。また、実験上のハンドリングが容易で、複数個体を用いた照射実験が現実的に可能であること。 (6) 表現型情報及び遺伝子情報が整備されており、データベースとして利用できること。	

以上の条件を満たすものとして、本委託業務ではマウス（C57BL/6J）を用いた照射実験から得られる生体試料を対象に解析を行うことを提案したい。マウス（C57BL/6J）は、米国ジャクソン研究所で確立された近交系統であり、既に 200 世代以上を経過していることから、遺伝的背景の均一性に問題はない。また、全 DNA の塩基配列も既に決められており、遺伝子情報と併せて UCSC（米国カリフォルニア大学サンタクララズ校）および EBI（ヨーロッパ生命情報研究所）からデータベースが提供されている。表現形質、遺伝子地図なども整備されていることから、本委託業務に用いる哺乳動物として最適である。次に、照射実験に用いる放射線量としては、仔を得られながらも遺伝子・DNA の塩基配列への影響が確認できることが想定される量とする。具体的には、 ^{137}Cs 線源から 20mGy/日 (Gy:グレイ) の全身照射を 400 日間連続的に続けた雄個体（累積照射線量 8000mGy）を非照射雌と交配させ、得られた仔および父母のトリオから、下に示す組織を採取し、これらから抽出した全 DNA について配列解析を行う。非照射トリオについても、放射線照射以外は同様の処理を行う。

本提案で利用可能な組織は、尾（約 200mg）、前足（300~400mg）、精巣、精巣上体（雄のみ、各 100mg 程度）である。

調達方法等の提案に必要な手順、資料等：

マウストリオとしては、公益財団法人環境科学技術研究所（以下、環境研と略す。）で、0 または 8000mGy の放射線を 400 日間掛けて長期照射（20mGy/day）した照射トリオ、非照射トリオから組織を採取済みであることから、本提案では環境研を試料調達に関する再委託先とし、効率的に試料入手することができる。マウス（C57BL/6J）に関する必要な情報については、国立遺伝学研究所（以下、遺伝研と略す。）系統生物研究センターに十分な知見が蓄積されている。全 DNA の抽出は、遺伝研で全 DNA 解析に通常用いている方法とし、液体窒素温度で組織を破碎した後、タンパク変性剤存在下でイオン交換クロマトグラフィーによる精製を行う。また、次項（2）、（3）とも関連するが、いきなり大規模解析を実施するのではなく複数のトリオ群を対象に、まず小規模なテスト解析を実施し、大規模解析に適したトリオと組織を選別する。以上の工夫により、限られた時間と経費の中でより効果的に業務を遂行することができる。

（2）全塩基配列の解読について

事項名	全塩基配列の解読
-----	----------

調査事項の提案に必要な事項：

前項で調製した全てのトリオ由来 DNA を対象に、個体ごとの全塩基配列を解読する。これに用いる分析装置としては、遺伝研が十分な運用と情報解析の経験を持ち、現時点では最大の配列データ生産能力と最高の配列精度を持つ次世代型シーケンサー、HiSEQ2500 型（イルミナ社製）を提案する。また、生産された配列データについては専用サーバに保存し管理すると共に、事後の解析に容易に供せるようにする。

調査方法及び実施計画等の提案に必要な手順、資料等：

解析対象とするトリオであるが、仔については次項以降での解析において体細胞変異の影響を最小にするため、別個の組織から調製した DNA についても配列決定をおこなう。すなわち、トリオあたり、父由来 1、母由来 1、仔由来 2 の計 4 個の塩基配列データセットを取得する。したがって、本提案で

大規模解析に供する試料数は、照射群4個、非照射群4個の計8個である。

配列決定の具体的な方法は次世代型シーケンサ用に遺伝研で最適化したプロセスを採用する。すなわち、DNAの断片化とサイズ分画（300–500 塩基対）、シーケンシングアダプターの付加、シーケンサによる配列データ生産、高速ネットワーク経由でのサーバへのデータ保存、配列データの品質検定である。データ量としては、遺伝研での経験から信頼性の高いデータが統計的にも確実に得ることができるデータセットあたり 3000 億塩基対（マウスのゲノムサイズを約 30 億塩基対として、約 100 倍の被覆率に相当する）の Q.V.>30（Q.V.：統計的精度期待値。Q.V.=30 は精度 99.9%に相当する）データとする。また、大規模解析の前に十分なテスト解析を実施し、適切な生体試料の選定を行う。以上の業務については、平成 26 年 1 月～3 月末日までの間、次世代シーケンシングについて十分な経験を持つ専任研究員を配置し、効率化をはかる。

遺伝学研究所は、次世代型シーケンサが実用化された 2008 年以降、全 DNA 解析については国内で最高レベルの経験と実績を有しており、いわゆるノウハウに属する工夫と知識も多い。したがって、本委託業務の遂行に当たっても、これらを配列解読プロセスの全体に取り入れることにより、業務遂行の効率化を図ることができる。

（3）親世代と仔の全塩基配列情報の比較・分析について

事項名	親世代と仔の全塩基配列情報の比較・分析
-----	---------------------

調査事項の提案に必要な事項：

上記第 2 項で取得した、全トリオの配列データにつき、親世代の雌雄のそれぞれと仔の情報を効率的に比較・解析するために、専用サーバに比較・解析パイプラインを構築する。また、マウス（C57BL/6J）の全ゲノム配列を遺伝研が提供している公共塩基配列データベース（DDBJ）から取得し、これを比較のための参照配列とする。解析パイプラインには、遺伝研においてチンパンジー・トリオ等の大規模塩基配列データの比較解析で実績のあるプロセスを組み込み、配列の相同性を元に仔の DNA に新たに生じた可能性のある変異部位候補を網羅的に検出・計数する。これに使用するプログラム及びパイプラインの条件設定にはゲノム情報解析に十分な経験のある遺伝研担当者が当たる必要があるが、サーバの運転及びプログラム／パイプラインに対する配列データの投入と出力データの処理及び可視化については通常レベルの情報処理技術者で実施可能である。

調査方法及び実施計画等の提案に必要な手順、資料等：

各個体から得られた配列データの解析プロセスは、まず各データセットに含まれる全配列について、次世代シーケンスデータに特有の前処理を行う。各データセットには 10 億個を越える配列が含まれているため、解析サーバに加え、遺伝研スパコンを利用する可能性もある。前処理の内容としては、エラー率の高い塩基を含む配列の除去、同一配列の除去、エラー率の高い領域のトリミング等で、基本的にはチンパンジー・トリオの解析に利用したプロセスである。極力シーケンスレベルでのエラーを低減させるための工夫である。次に、マウスの全 DNA 参照配列に対して各配列データの相同性を元に参照配列データ上での位置づけを行う（この処理をマッピングという）。この際、参照配列との相同性の違いの程度に応じて検定条件を調節する必要がある。また、反復配列領域については、現状の技術レベルでは変異位置の特定が困難であるため、本提案では解析の対象から除外する（この処理は、ヒトトリオの解析でも一般的に行われている）。マウス参照配列は雌由来の配列であるため、性染色体についても、本委託業務での解析対象から除外する。一方、本提案では近交系マウスを試料

に用い、十分量の配列データを使うため、一塩基置換についての検出信頼性は高いことが期待される。また、同じ理由により、欠失、挿入についても小規模なものについては、通常以上の信頼度が期待できる。両親と仔の全DNA配列が同じ程度に高い信頼度で得られている区間については、データ量が多いためコピー数変化を起こしている部位についても検出できる可能性が高い。以上の一連のプロセスにより、仔世代に新たに見つかる変異の個数と種類を特定する。仔世代で見つかる変異には、親世代の生殖系列で生じた変異と仔の発生から試料採取時までに生じた体細胞変異とが含まれる。体細胞変異は発生時に各器官・組織が分化した後はそれぞれの幹細胞に独立に変異が生じると考えられるので、本提案では、仔世代について2箇所の組織（前足と尾）から独立に調製したDNAについて全塩基配列決定を行ない、両組織に由来するDNAに共通に見られる変異を生殖系列変異と見なして次項以降で行う検討に供する。また、本委託業務の仕様書に記載はないが、親世代についても2系統のトリオから照射雄1個体と非照射雄1個体、非照射雌2個体の全DNA配列情報が得られるため、これらを比較解析することで非照射個体間のDNA構造多型が予測でき、照射個体に被ばくの影響で生じた体細胞変異についての重要な情報が得られる可能性もある。

以上のプロセスに使う諸条件は一度定まると全解析を通じて一定にするため、以降の解析速度は全体的に速まることが期待される。また、最終的な出力データはサイズが大きい上に（通常のPCではなかなか扱えない）、人目ではなかなか理解できない形式であるため、WEBブラウザを構築し、遺伝学の専門家以外にも直感的に分かりやすい形で可視化する。

（4）親世代の被ばく線量と仔の塩基配列上の変異との関係に係る検討について

事項名	親世代の被ばく線量と仔の塩基配列上の変異との関係に係る検討
-----	-------------------------------

調査事項の提案に必要な事項：

放射線によって生殖細胞に生じる変異を全遺伝子・DNAの塩基配列レベルで網羅的に解析した研究はこれまでに存在しない。したがって、今回の解析結果を検討するに当たっては、過去のさまざまな関連調査結果と慎重に比較検討する必要がある。具体的には、（3）項で得られた全塩基配列情報をもとに、DNA構造の変異特性を被ばくトリオと非被ばくトリオ（コントロール・データ）とを比較し、被ばくトリオに特異的に検出された変異について量的、質的な観点から検討を行う。さらにその結果が、これまでに調査されてきた培養細胞や体細胞組織でのごく一部の遺伝子での解析結果、また表現型を指標として調べられたマウスでの結果とどう対応づけられるかについても検討を加える。それらをふまえ、親世代の被ばく線量と仔の塩基配列上の変異についての効果関係を推測する。

本提案で照射実験に用いる放射線量は、仔を得られながらも遺伝子・DNAの塩基配列への影響が確認できることが想定される量とした（項目1）。マウスは体躯が小さいため、全身への照射線量と生殖腺への照射線量は等しいと見なす。本提案における照射線量 8000 mGy は、子孫を得られる線量としては限界に近い線量である。

調査方法及び実施計画等の提案に必要な手順、資料等：

上述のように、照射トリオ親（雄）の被ばく線量を、変異を検出できる可能性の高い量とすることにより、結果の曖昧性を最大限排除するための工夫である。また、確実に変異差に関するデータの得られることが期待できるため、業務遂行上の効率化にも貢献することが期待される。

これまでに発表された論文を中心に本事業に関連するデータをまとめ、それと比較することによって生殖細胞での放射線誘発変異特性を明らかにする。

(5) ヒトへの外挿性に係る検討について

事項名	ヒトへの外挿性に係る検討
-----	--------------

調査事項の提案に必要な事項 :

従来実施されてきた、広島、長崎の被爆者の子供の調査結果では継世代影響が見出されていない。しかし、この調査では調査人数、調査指標、被ばく線量などが限られており、より感受性の高い調査方法が模索されている。本提案の成果として、8000 mGy 被ばくマウスでその影響の一端が明らかにできれば、その手法をヒトにも適応できるかどうかについて、一段進んだ検討が可能となる。具体的には、対象とする被ばく線量の範囲、変異の検出感度と信頼性、検査対象とする臓器特性、調査対象人数の規模等について検討する。

調査方法及び実施計画等の提案に必要な手順、資料等 :

本委託事業で用いられる解析手法とそこから得られる結果をヒトに対して適用できる可能性を検討するに際しては、従来の放射線生物学研究から得られている知見（論文及び公益財団法人放射線影響研究所の報告書等）をもとに、被ばく線量、被ばく条件、種間差、臓器依存性等の比較検討が必要な諸要因について精査し、報告書に取りまとめる。

(6) 上記 (1) – (5) の用語解説について

事項名	用語解説
-----	------

各専門用語の提案に必要な事項 :

専門用語集で解説する用語は、放射線生物学、マウス遺伝学、大規模 DNA シーケンシング等の本委託事業に係わるものとして、以下を事例として提案する（報告書の内容に伴い、増減する可能性はある）。

放射線生物学関連用語事例

吸収線量、等価線量、実効線量、線量率効果、確定的影響、LNTモデル

マウス遺伝学関連用語事例

近交系、C57BL/6J 系統、体細胞変異、生殖系列変異、尤度推定、遺伝子型、SNV、CNV、indel
大規模 DNA シーケンシング関連用語事例

次世代型シーケンシング、次世代型シーケンサー、相同性解析、変異検出アルゴリズム、尤度推定

各用語解説の作成に必要な手順、資料等 :

用語解説集の作成に当たっては、遺伝研および環境研の本提案担当者が遺伝学、ゲノム生物学、放射線生物学等の各専門分野に応じて原案を執筆し、最終的なまとめは、提案書作成責任者の藤山秋佐夫が担当する。

(7) 報告書の作成について

事項名	報告書の作成
-----	--------

報告書の項目案として必要な事項 :

報告書の項目案として、以下を提案する。

- (1) 生体試料の選定と照射線量、照射期間について
- (2) 全塩基配列の解読結果について
- (3) 親世代と仔の全塩基配列情報の比較解析結果について
- (4) 親世代の被ばく線量と仔の DNA の塩基配列上の変異に関する検討

(5) 本提案の結果とヒトへの外挿性についての検討

(6) 用語集

報告書の作成に必要な手順、資料等：

報告書のとりまとめに当たっては、遺伝研および環境研に所属する本提案担当者間で期間中3回の検討会開催を予定しているが、必要に応じて遺伝学、ゲノム生物学、放射線生物学の立場から十分な意見交換を行うこととし、信頼性のあるデータと解析結果をもとに、放射線被ばくと遺伝性の影響に関する科学的知見を国民に提供するよう努める。最終的なとりまとめは、提案書作成責任者の藤山秋佐夫が担当する。報告書及び英語サマリー、電子版の作成については（別添）報告書等の仕様と記載事項に従い、期日までに必要部数を提出する。

(8) その他

事項名	環境省担当官との協議
-----	------------

環境省担当官とは十分に協議しながら、本委託事業を実施致します。

4. 業務の実施計画

時 期	内 容
平成25年 12月 13日	委託業務契約締結予定
12月 16日	設備、消耗品類、役務調達手続き開始（遺伝研）
12月中旬	第1回検討会開催（東京を予定）事業進行日程の最終確認、試料の最終確認 <u>試料の受け入れ</u> （環境研→遺伝研） <u>DNA抽出と定量、検定</u> （遺伝研） <u>解析サーバ発注予定</u> （遺伝研） <u>試料の検定のためのテストラン</u> （遺伝研） <u>解析用サーバ納品予定</u> （遺伝研） <u>解析支援役務開札予定</u> （遺伝研） <u>テストラン結果の解析とプログラム・パイプラインの調整</u> （遺伝研） <u>2回目検討会開催（東京を予定）</u> <u>テストラン結果の検討と本解析用試料の決定</u> <u>本解析用試料のテスト解析</u> （遺伝研） <u>大規模シーケンシングラン</u> （遺伝研） <u>情報比較解析</u> （遺伝研） <u>3回目検討会（東京を予定）</u> <u>報告書作成</u> （遺伝研） <u>報告書提出</u>
12月下旬	
平成26年 1月初旬	
1月中旬	
1月下旬	
2月上旬	
2月中旬	
2月下旬	
3月上旬	
3月中旬	
3月下旬	
3月 31日	

5. 業務の実施体制

4. 1 執行体制、役割分担等

全体統括責任者：国立遺伝学研究所・教授・藤山秋佐夫

*生体試料の採取を担当：仕様書「3. 事業内容」の（1）に相当、従事者数5

従事者1：国立遺伝学研究所・教授・副所長・[REDACTED]

役割分担：生体試料の採取・調製プロセス全体の管理監督

従事者2：環境科学技術研究所生物影響研究部・部長・[REDACTED]

役割分担：生体試料への放射線照射実験全体の管理監督

従事者3：国立遺伝学研究所・助教・[REDACTED]

役割分担：生体試料の管理とDNA調製

従事者4：環境科学技術研究所生物影響研究部・主任研究員・[REDACTED]

役割分担：放射線照射実験及び動物管理、病理検査、組織採取等の実施

従事者5：環境科学技術研究所生物影響研究部・研究員・[REDACTED]

*全塩基配列の解読及び親・仔配列情報の比較解析を担当：仕様書「3. 事業内容」の（2）と（3）に相当、従事者数3

従事者1：国立遺伝学研究所・教授・藤山秋佐夫

役割分担：DNAシーケンシング過程全体の管理監督

従事者2：国立遺伝学研究所・特任准教授・[REDACTED]

役割分担：DNA配列情報の比較解析及び解析支援役務担当者への命令伝達と監督

従事者3：国立遺伝学研究所・特任研究員・[REDACTED]

役割分担：DNA試料の品質検定、シーケンシングの全体

*親世代の被ばく線量と仔の塩基配列変異との関係検討とヒトへの外挿性に係わる検討及び取りまとめ：仕様書「3. 事業内容」の（4）～（6）に相当、従事者数7

従事者1：国立遺伝学研究所・教授・藤山秋佐夫

従事者2：国立遺伝学研究所・教授・副所長・[REDACTED]

従事者3：環境科学技術研究所生物影響研究部・部長・[REDACTED]

従事者4：国立遺伝学研究所・特任准教授・[REDACTED]

従事者5：環境科学技術研究所生物影響研究部・主任研究員・[REDACTED]

従事者6：環境科学技術研究所生物影響研究部・研究員・[REDACTED]

従事者7：国立遺伝学研究所・助教・[REDACTED]

役割分担：解析結果の検討と必要な調査及び意見交換（全員）

*報告書の作成：仕様書「3. 事業内容」の（7）に相当、従事者数3

従事者1：国立遺伝学研究所・教授・藤山秋佐夫

役割分担：全体の調整と取りまとめ

従事者2：国立遺伝学研究所・教授・副所長・[REDACTED]

従事者3：国立遺伝学研究所・特任准教授・[REDACTED]

従事者2、3の役割分担：各種データの取りまとめ、WEBブラウザの準備指示と監督等

環境科学技術研究所（3名）

生物影響研究部・部長・[REDACTED]

生物影響研究部・主任研究員・[REDACTED]

生物影響研究部・研究員・[REDACTED]

* 放射線照射実験と試料調製

* 解析結果検討への参加

生体試料

解析結果

比較検討

報告書

国立遺伝学研究所（5名）

教授・藤山秋佐夫（統括責任者）

教授・副所長・[REDACTED]

特任准教授・[REDACTED]

特任研究員・[REDACTED]

* DNA配列決定と情報解析（支援分を含む）

* 全体の取りまとめ

4. 2 従事者の実績、能力、資格等

(1) 本業務に従事する主たる担当者

氏名	藤山 秋佐夫	生年月日	[REDACTED]
所属・役職	国立遺伝学研究所生命情報研究センター比較ゲノム解析研究室 ・教授	経験年数 (うち本業務の類似業務従事年数)	35 年 (20年)
専門分野	分子生物学、ゲノム科学		
所有資格	薬剤師		
(職歴)	[REDACTED]		
(学位)	[REDACTED]		
所属学会	日本分子生物学会、日本遺伝学会、日本進化学会、日本靈長類学会		
類似業務の実績			
業務名	業務内容	履行期間	
研究 (大規模ゲノム構造情報比較に関するもの)	国際ヒトゲノム計画で、ヒトゲノム参照配列の決定と国際協力 科研費特定領域研究「比較ゲノム」で、靈長類を中心とした比較ゲノム研究を行ったほか、領域代表として領域全体の統括 靈長類等の比較ゲノム研究	平成2年4月～16年3月 平成16年4月～22年3月 平成13年4月～現在	
教育 (ゲノムに関する生物学と情報学)	総研大遺伝学専攻及び情報学専攻等で分子細胞生物学、ゲノム科学に関する教育	昭和62年4月～現在	
主な手持ち業務の状況 (平成25年12月1日現在2件)			
業務名	業務内容	履行期間	
先端ゲノミクス推進事業	次世代シーケンシングを活用した、新しいゲノミクスの推進	平成23年4月～28年3月	

(2) 主たる担当者以外であって本業務に従事する者

氏名		生年月日	
所属・役職	国立遺伝学研究所・教授・副所長	経験年数（うち本業務の類似業務従事年数）	
		33年（33年）	
専門分野	哺乳類遺伝学、発生進化遺伝学		
所有資格			
(職歴)			
(学位)			
所属学会	国際哺乳類ゲノム学会、日本遺伝学会、日本分子生物学会、日本実験動物学会、日本発生物学会、日本進化学会		
類似業務の実績			
業務名	業務内容	履行期間	
研究（ゲノム情報を利用した哺乳類遺伝学および発生進化遺伝学）	遺伝子およびゲノム情報を利用した哺乳類遺伝学と発生進化遺伝学の推進	昭和56年4月～現在	
教育（ゲノム情報を利用した遺伝学に関する教育）	総研大遺伝学専攻等における哺乳類遺伝学と発生進化遺伝学に関する教育	昭和59年9月～現在	

氏名	[REDACTED]	生年月日	[REDACTED]
所属・役職	国立遺伝学研究所先端ゲノミクス推進センター・特任准教授	経験年数（うち本業務の類似業務従事年数） 13年（13年）	
専門分野	ゲノム情報科学		
所有資格			
(職歴)	<p>[REDACTED]</p> <p>[REDACTED]</p> <p>[REDACTED]</p>		
(学位)	<p>[REDACTED]</p> <p>[REDACTED]</p>		
所属学会	日本分子生物学会		
類似業務の実績			
業務名	業務内容	履行期間	
研究（ゲノム情報とバイオインフォマティクスに関するもの）	ヒトゲノムの情報解析 バイオインフォマティクス技術開発 2種のシーラカンスの全ゲノム配列決定および脊椎動物間の比較・進化解析など多数	平成12年4月～17年3月 平成17年4月～現在 平成22年4月～現在	
教育（バイオインフォマティクスに関するもの）	東京大学、東京工業大学等でバイオインフォマティクスに関する教育	平成17年4月～現在	

氏名		生年月日	
所属・役職	国立遺伝学研究所系統生物研究センター・助教	経験年数（うち本業務の類似業務従事年数）	
専門分野	ゲノム機能学、哺乳類遺伝学		
所有資格			
(歴史)			
(学位)			
所属学会	日本遺伝学会、日本分子生物学会、日本実験動物学会		
類似業務の実績			
業務名	業務内容	履行期間	
研究（ゲノム情報を用いたゲノム機能学と哺乳類遺伝学）	遺伝子およびゲノム情報を用いたゲノム機能学と哺乳類遺伝学の推進	平成10年4月～現在	
教育（ゲノム情報を用いた遺伝学に関する教育）	総研大遺伝学専攻（など）におけるゲノム機能学と哺乳類遺伝学に関する教育	平成21年11月～現在	

氏名		生年月日	
所属・役職	公益財団法人 環境科学技術研究所 生物影響研究部・部長	経験年数（うち本業務の類似業務従事年数）	24年（24年）
専門分野	放射線生物学、分子細胞生物学		
所有資格	第1種放射線取扱主任者免状		
(職歴)			
(学位)			
所属学会	日本動物学会、日本放射線影響学会、日本癌学会、日本生化学会		
類似業務の実績			
業務名	業務内容	履行期間	
研究（放射線生物影響に関するもの）	DNA損傷の生成・修復とクロマチン微細構造の関係の解析	平成元年4月～25年3月	平成20年4月～25年3月
教育（放射線生物影響に関するもの）	医学部医学科における「放射線基礎医学」「遺伝学」の講義分担		

氏名	[REDACTED]	生年月日	[REDACTED]
所属・役職	公益財団法人 環境科学技術研究所生物影響研究部・主任研究員・グループリーダー	経験年数（うち本業務の類似業務従事年数）	
専門分野	獣医病理学、放射線影響学		
所有資格	獣医師		
(職歴)	[REDACTED]		
(学位)	[REDACTED]		
所属学会	日本毒性病理学会、日本放射線影響学会		
類似業務の実績			
業務名	業務内容	履行期間	
研究（放射線生物影響に関するもの）	低線量放射線生物影響実験調査（寿命試験）において放射線照射マウスの病理解剖および病理組織学的検査 低線量放射線生物影響実験調査（継世代影響実験）において放射線照射マウスの病理解剖および病理組織学的検査	平成9年4月～16年3月 平成16年4月～現在	

氏名		生年月日	
所属・役職	公益財団法人 環境科学技術研究所生物影響研究部・研究員	経験年数（うち本業務の類似業務従事年数）	
	17年（9年）		
専門分野	遺伝学、分子遺伝学、放射線影響学		
所有資格			
(職歴)			
(学位)			
所属学会	日本遺伝学会、日本分子生物学会、日本放射線影響学会		
類似業務の実績			
業務名	業務内容	履行期間	
低線量・低線量率放射線の生物応答に関する研究	キイロショウジョウバエ生殖細胞へのガンマ線照射が及ぼす遺伝的影響の調査	平成16年4月～19年3月	
低線量放射線生物影響実験調査（継世代影響実験）	放射線照射マウスの突然変異の検索	平成19年4月～現在	

氏名	[REDACTED]		生年月日	[REDACTED]
所属・役職	情報・システム研究機構 国立遺伝学研究所 先端ゲノミクス推進センター 特任研究員		経験年数（うち本業務の類似業務従事年数）	14年（14年）
専門分野	分子生物学			
所有資格	危険物乙種第4類、高圧ガス製造保安責任者免状(乙化)、毒劇物取扱者			
(職歴)	[REDACTED]			
(学位)	[REDACTED]			
所属学会	無			
類似業務の実績				
業務名	業務内容	履行期間		
研究（大規模ゲノム解読研究に関するもの）	次世代型シーケンサを用いた、ゲノムDNA配列の解読	平成11年4月～現在		

5. 組織の実績

業務名	平成21年度地域科学技術振興事業委託事業「ソラレン誘導体によるがん診断法の確立」、「染色体分配研究を軸にしたバイオメディカル事業への新展開」及び「ヒト疾患原因遺伝子のジーンターゲティング細胞株の作製とその応用」	文部科学省所管平成24年度地域産学官連携科学技術振興事業費補助事業「がん化を促進するセントロメア機能異常を解析する実験系の開発と応用」	平成24年度科学技術試験研究委託事業「ゲノム全域関連解析による子宮内膜症感受性遺伝子の同定」
発注機関 <small>(所在地)</small>	財団法人しづおか産業創造機構 静岡県静岡市葵区追手町44番地の1	公益財団法人静岡県産業振興財団 静岡県静岡市葵区追手町44番地の1	文部科学省研究振興局 東京都千代田区霞が関三丁目2番2号
(受託者名)	情報・システム研究機構	情報・システム研究機構	情報・システム研究機構
(受託形態)	委託事業(元)	委託事業(元)	委託事業(元)
履行期間	H21.4.1～H22.3.31	H24.4.1～H25.3.31	H24.4.5～H25.3.31
業務の概要	創薬研究開発力などを総合的かつ効率的に活用し、①がんの早期発見、②迅速・簡易な診断法や新たな治療法などを実現、③先端的ながん診療技術の開発とその臨床応用、さらに実用化の可能を目指す。	地域イノベーションクラスタープログラム(グローバル型)にて、「先端的ながん診療技術の開発によるファルマレー・メディカルクラスターの形成」を目的とする。産学官連携によるがん診療基盤技術の研究開発を行う。	子宮内膜症を対象としたゲノム全域関連解析1次スクリーニングの結果を踏まえ、バイオバンクジャパンより検体の供給のもと、候補領域2次スクリーニングの実施、子宮内膜症の原因遺伝子を同定、子宮内膜症の発症メカニズムの解明を行い、発症予防、新たな治療法の開発に貢献することを目的とする。
技術的特徴	①ソラレン誘導体によるがん診断法の確立。 ②染色体分配研究を軸にしたバイオメディカル事業への新展開。 ③ヒト疾患原因遺伝子のジーンターゲティング細胞株の作製とその応用。	タンパク質の機能阻害を効率よく遂行できる実験系を用いて、各セントロメア蛋白質の機能を明らかにする。さらに、セントロメア蛋白質に対する特殊抗体(リン酸化された抗体等)を用いて各種細胞生物学実験を行い、セントロメア蛋白質の細胞機能を解析、評価する。	候補領域の2次スクリーニングのための統計的絞り込み、臨床情報を取り込んだ統計遺伝解析、そして必要に応じてSNPタイピングを行い一つ一つ疾患感受性遺伝子同定を目指す。
主たる担当者の健在の有無	無	無	無

業務名	平成25年度環境研究総合推進費（被災後の生物の遺伝的多様性の減少と絶滅リスク）	平成25年度科学技術試験 研究委託事業「データ解析拠点の構築と情報研究開発」	
発注機関 (所在地)	岐阜経済大学 岐阜県大垣市北方町5-50	文部科学省研究振興局 東京都千代田区霞が関 三丁目2番2号	
(受託者名)	情報・システム研究機構	情報・システム研究機構	
(受託形態)	再委託事業（下）	委託事業（元）	
履行期間	H25.4.1～H26.3.20	H25.4.1～H26.3.31	
業務の概要	震災後の個体を採集し遺伝解析を行う。具体的にはミトコンドリアとマイクロサテライトを解析し、津波前の保存個体と比較することによって、津波によって遺伝的多様性が減少したか否かを明らかにする。また、ストレス応答する遺伝子や適応に関わる遺伝子を探索し、これら遺伝子のアリル変動を解析する。	細胞内レベルでの生命現象を総体的に理解することを目標とする本プロジェクトにおいて、次世代シーケンサーから産出される多様・大量な解析データ等を取り扱い、それに必要な研究開発を行うことを目的として、シーケンス拠点と密接に連携し計算機資源を整備したデータ解析拠点を構築する。	
技術的特徴	震災前後での表現型の変化と遺伝的変化をつなぐことをを目指す。これまで得られてきた適応形質の原因遺伝子座における遺伝子アリル頻度の変動を照らし合わせ、野外集団の適応遺伝子に働いた選択圧を推定する。また、マイクロアレイ解析によってストレス環境下で発現変動する遺伝子の探索を行う。	次世代シーケンサーなどによるゲノム関連情報を、大規模計算機システムに集積し、細胞内機序に基づくパノラミックセルDBを構築し、ゲノム情報や組織、時間、多様性などにより異なる細胞特性の情報検索を可能とする基盤技術を確立する。	
主たる担当者の有無	無	無	無

6. 事業実施期間

平成26年12月13日から平成26年3月31日まで

7. 成果物

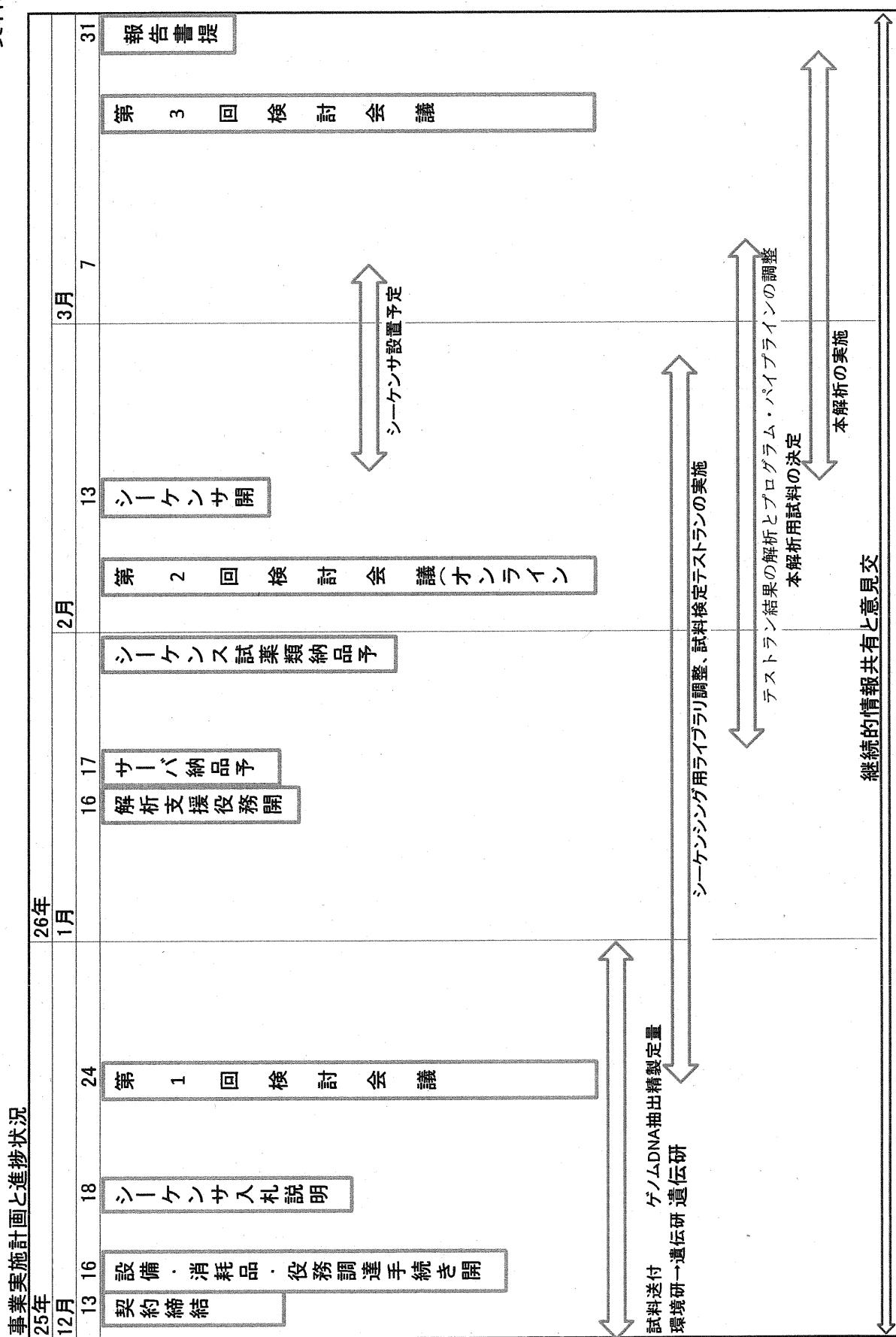
- (1) 事業報告書の紙媒体（A4版、軽印刷、100頁程度）一式については20部提出する。
- (2) 事業報告書の電子媒体（CD-R）一式については10部提出する。

8. 納入場所

環境省総合環境政策局環境保健部放射線健康管理担当参事官室

以上

資料2

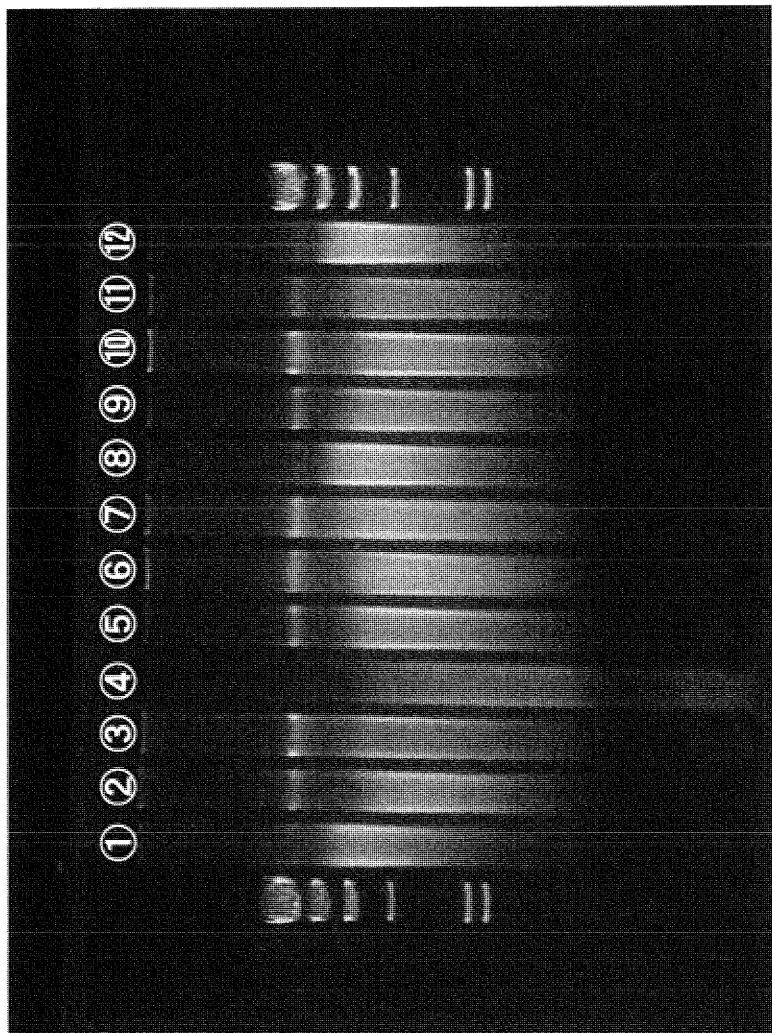


資料3

実験群	家族番号	個体番号	世代	性別	死亡日齢	死因	病理番号
0 mGy/日	C1	C0101	P	M	1034	Dental Abscess (Fistula)	TG-3200
0 mGy/日	C1	C0621	P	F	105	Sacrificed	
0 mGy/日	C1	C1868	F1	M	901	Carcinoma, Squamous Cell	TG-3872
0 mGy/日	C2	C0107	P	M	1063	Dental Caries	TG-3230
0 mGy/日	C2	C0627	P	F	105	Sacrificed	
0 mGy/日	C2	C3859	F1	F	893	Acidophilic macrophage pneumonia	TG-3843
0 mGy/日	C3	C0134	P	M	809	Carcinoma, Bronchiolo-Alveolar	TG-2934
0 mGy/日	C3	C0654	P	F	105	Sacrificed	
0 mGy/日	C3	C3846	F1	F	899	Acidophilic macrophage pneumonia	TG-3861
20 mGy/日	H1	H0103	P	M	899	Enteritis, hemorrhagic	TG-3072
20 mGy/日	H1	H0623	P	F	105	Sacrificed	
20 mGy/日	H1	H1803	F1	M	909	Hemangiosarcoma	TG-3890
20 mGy/日	H1	H3802	F1	F	882	Adenoma, Pars Distalis	TG-3802
20 mGy/日	H2	H0106	P	M	989	Sarcoma, Histiocytic	TG-3152
20 mGy/日	H2	H0626	P	F	105	Sacrificed	
20 mGy/日	H2	H1810	F1	M	885	Sarcoma, Histiocytic	TG-3819
20 mGy/日	H3	H0111	P	M	952	Adenoma, Bronchiolo-alveolar	TG-3119
20 mGy/日	H3	H0631	P	F	105	Sacrificed	
20 mGy/日	H3	H1845	F1	M	879	Ventricle dilatation (heart failure)	TG-3801
20 mGy/日	H4	H0119	P	M	977	Pneumonia, Acidophilic macrophage	TG-3141
20 mGy/日	H4	H0639	P	F	105	Sacrificed	
20 mGy/日	H4	H3834	F1	F	882	Pneumonia, Acidophilic macrophage	TG-3811
20 mGy/日	H5	H0120	P	M	727	Hemangiosarcoma	TG-2754
20 mGy/日	H5	H0640	P	F	105	Sacrificed	
20 mGy/日	H5	H3835	F1	F	909	Adenoma, Pars Distalis	TG-3894
20 mGy/日	H6	H0124	P	M	714	Congestion, Pulmonary	TG-2718
20 mGy/日	H6	H0644	P	F	105	Sacrificed	
20 mGy/日	H6	H1839	F1	M	893	Pneumonia, Interstitial	TG-3848

環境研サンプル DNA精製 20131216-17
非照射コントロール 9個体計12サンプルについて

- ①:IESg1_C0101_Tail_P_M_20131216 54.4 µg/mL
②:IESg2_C0621_Tail_P_F_20131216 326 µg/mL
③:IESg3_C1868_Tail_F1_M_20131216 202 µg/mL
④:IESg4_C1868_Limb_F1_M_20131216 434 µg/mL
⑤:IESg5_C0107_Tail_P_M_20131216 202 µg/mL
⑥:IESg6_C0627_Tail_P_F_20131216 336 µg/mL
⑦:IESg7_C3859_Tail_F1_F_20131216 214 µg/mL
⑧:IESg8_C3859_Limb_F1_F_20131216 768 µg/mL
⑨:IESg9_C0134_Tail_P_M_20131216 228 µg/mL
⑩:IESg10_C0654_Tail_P_F_20131216 408 µg/mL
⑪:IESg11_C3846_Tail_F1_F_20131216 256 µg/mL
⑫:IESg12_C3846_Limb_F1_F_20131216 656 µg/mL



1W/V%ゲル TAE 100V 40分 EtBr 30分
300ngを泳動
マークー:λHindIII

平成 25 年度原子力災害影響調査等事業
(放射線の生物学的影響に関する研究調査事業)

第 3 回検討会議

日時：平成 26 年 3 月 14 日（金） 13:00～

会場： 情報・システム研究機構本部会議室
東京都港区虎ノ門 4 丁目 3 番 13 号ヒューリック神谷町ビル 2 階

議題

1. 進捗報告
2. 報告書作成について
3. 今後の方針と予定
4. その他

資料 1

報告書骨子案