

National Bio-Resource Project “Silkworm”  
ナショナルバイオリソースプロジェクト「カイコ」情報誌  
令和7年3月31日発行  
<https://www.nbrp.jp/index.jsp>

## NBRP野蚕のゲノム情報

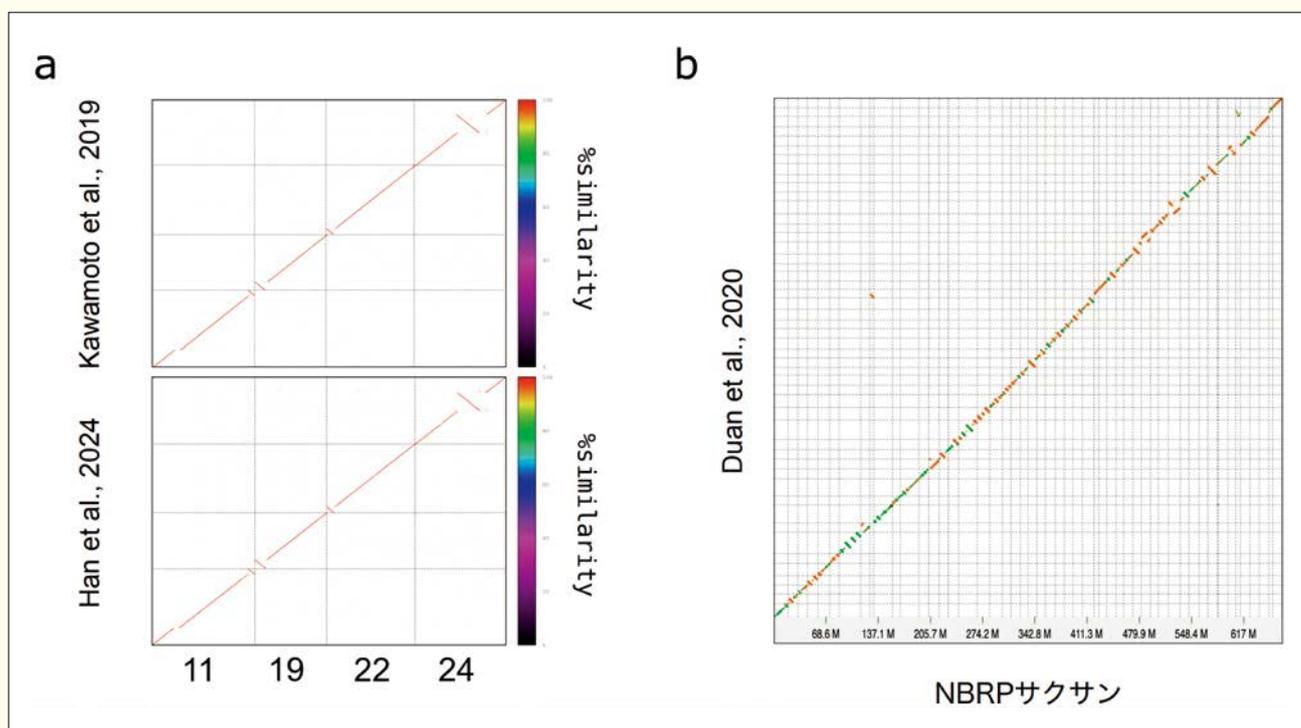


図1 過去のアセンブリと現在のアセンブリの比較  
(a) カイコ (b) サクサン

## [カイコ・野蚕のゲノム情報整備]

筆者が所属する学習院大学理学部嶋田研では、ナショナルバイオリソースプロジェクト（NBRP）カイコ・野蚕で維持されている野生種5種、すなわちクワコ坂戸系統、イチジクカサン、エリサン、柞蚕、天蚕について、染色体スケールのゲノムアセンブリ構築・アノテーション情報の整備をおこなった。本稿では、シーケンスおよびアセンブリ手法、データ概要、アノテーションデータのレポジトリおよびその引用方法を紹介する。

### 1. シーケンシングプラットフォームの選定

2022年10月15日にPacBio Revioが発表されて以降、「長くて正確」を売りにしたHiFiリードによるシーケンスの低価格化が急激に進行した。そのため、ドラフトアセンブリを構築するための第一選択には、まずHiFi技術が挙がると思われる。シーケンスプロジェクトが2022年以前に開始したイチジクカサンとクワコを除き、NBRP野蚕のゲノムはHiFiリードで解読した。もし、Nanopore long readや、PacBio CLRなどのnoisy long readを利用しなければならない場合、常にミスアセンブリの可能性を考慮する必要がある。例えば、Kawamoto et al., 2019とHan et al., 2024では、CLRでカイコのドラフトアセンブリを構築しているが、異なるデータセットを用いたアセンブリであるにもかかわらず、ゲノム上の全く同じ箇所でもミスアセンブリが生じている（図1a；第11、19、22、24染色体でそれぞれ人工的な逆位が生じている）。このように、科学的に再現性のあるミスアセンブリの存在は、noisy long readの技術的な限界を示している。ドラフトアセンブリを構築する目的ならば、あえてnoisy long readを使うべきではない。

### 2. スキャフォールディング手法

もっとも使用頻度が高いスキャフォールディング技術は、Hi-C seqである。しかし、ショートリードの長さを超えるような反復配列が存在する領域を正しくアセンブリすることはできない。カイコのように、多くのアセンブリが公開されている場合であれば、比較によってミスアセンブリを発見することもあり得るが、完全に新規なゲノムの場合、ミスアセンブリに気づくことすらできない。また、noisy long readとHi-Cの組み合わせは致命的なミスを引き起こす可能性がある。AP\_1.0 (acc: GWHABGR00000000) は、2020年に発表された柞蚕の染色体スケールゲノムアセンブリであり、PacBio CLRとHi-Cによってアセンブリされている（Duan et al., 2020）。このアセンブリと、後述の手法でアセンブリされたNBRP柞蚕のアセンブリを比較したところ、ほぼ全ての染色体で大規模な構造変異が検出された（図1b）。用いた柞蚕の系統が異なるので、系統間差を反映している可能性は完全には否定できないが、それら変異のうちいくつかは真の変異を反映していたとしても、全てが真の変異であるとは考えづらい。いずれにせよ、信頼のおけるリファレンス配列がない状態で、Hi-Cによるスキャフォールディングは推奨できない。

我々がスキャフォールディング手法として推奨するのは、オプティカルゲノムマッピングである。オプティカルゲノムマッピングでは、高分子のDNAを配列特異的に標識し、標識部位の間隔情報をスキヤニング、ドラフトアセンブリの配列情報をもとにコンティグ同士を接続する。塩基配列をコールすることはできないため、スキャフォールディング後には必ずギャップが生じるが、平均リード長が数百kbに及ぶため、複雑な領域を跨いでアセンブリすることができる。経験上、高度に純系化が進んだ系統であれば、ドラフトアセンブリ後にオプティカルゲノムマッピングをおこなうことで、染色体スケールのアセンブリを達成することができる（イチジクカサン、エリサン、カイコなど）。ゲノム中におけるヘテロ接合領域の割合が高い野生種・半野生種（天蚕、柞蚕など）についても、オプティカルゲノムマッピングをおこなうことで1染色体あたりのコンティグ数を1-3程度にまで減らせることが多い。この段階で、Hi-Cによる更なるスキャフォールディングをおこなえば、ミスアセンブリの可能性を減らしつつ、染色体スケールのアセンブリの構築に成功しやすい。クワコ、柞蚕、天蚕については、HiFi（クワコのみCLR）+オプティカルゲノムマッピング+Hi-Cという戦略で染色体スケールのアセンブリに成功した。

### 3. データ概要

#### 〈イチジクカサン〉

W染色体の配列をアセンブリする目的があったため、HiFiリードよりも配列長において優位なNanoporeを用いてシーケンスをおこなった。ゲノムのホモ接合性は極めて高く（図2a）、ドラフトアセンブリを構築したのち、オプティカルゲノムマッピングによるスキファールディングだけで染色体スケールのゲノムアセンブリを構築することができた。遺伝子モデルおよびその他のアノテーション情報は公開済み（表1）。

#### 〈エリサン〉

HiFiリードでドラフトアセンブリを構築したのち、オプティカルゲノムマッピングによってスキファールディングをおこなった。k-mer解析の結果、純系化の程度が著しいことが示唆されたため（図2b）、Hi-C seqはおこなわず、オプティカルゲノムマッピングのみで染色体スケールのゲノムアセンブリを構築することができた。論文は投稿中だが、遺伝子モデルおよびその他のアノテーション情報は公開済み（表1）。

#### 〈クワコ〉

PacBio CLRでドラフトアセンブリを構築した。シーケンスに供したクワコ系統は、1982年から兄妹交配によって維持されているので、高度に純系化していることが期待されたが、k-mer解析の結果、意外にもヘテロ接合領域が多く残されていることが示唆された（図2c）。その影響で、オプティカルゲノムマッピングによるスキファールディングだけでは全ての染色体を1本の配列に収束させることができなかつた。そのため、さらにHi-C seqをおこない、染色体スケールのゲノムアセンブリを構築した。遺伝子モデルおよびその他のアノテーション情報は公開済み（表1）。

#### 〈天蚕・サクサン〉

HiFiリードでドラフトアセンブリを構築したのち、オプティカルゲノムマッピングによって第一段階のスキファールディングをおこなった。両種ともにゲノムのヘテロ接合度が高く（図2d、e）、更にスキファールディングをおこなう必要があったため、HiFiリードのDNA供与個体と同一の個体からHi-C libraryを調整、染色体スケールのゲノムアセンブリを構築した。遺伝子モデルおよびその他のアノテーション情報は2025年度の早い段階で公開予定。

### 4. データの引用方法について

イチジクカサン、クワコ、そして野蚕ではないがカイコp50ma系統については、それぞれのde novo assemblyとアノテーションに関する論文を発表済みである。上記の種のゲノム・アノテーションデータを利用する場合は、それらの論文を引用されたい（表1参照）。アノテーションデータは、基本的にFigshareにて公開している。ヤマユガ科3種については、現在論文投稿中である。エリサンについては、論文公開に先んじて、アノテーションデータをFigshareで公開済みである。表1において\*マークがついているアセンブリは、旧版のゲノムアセンブリであり、アノテーションデータと整合しないので注意されたい。

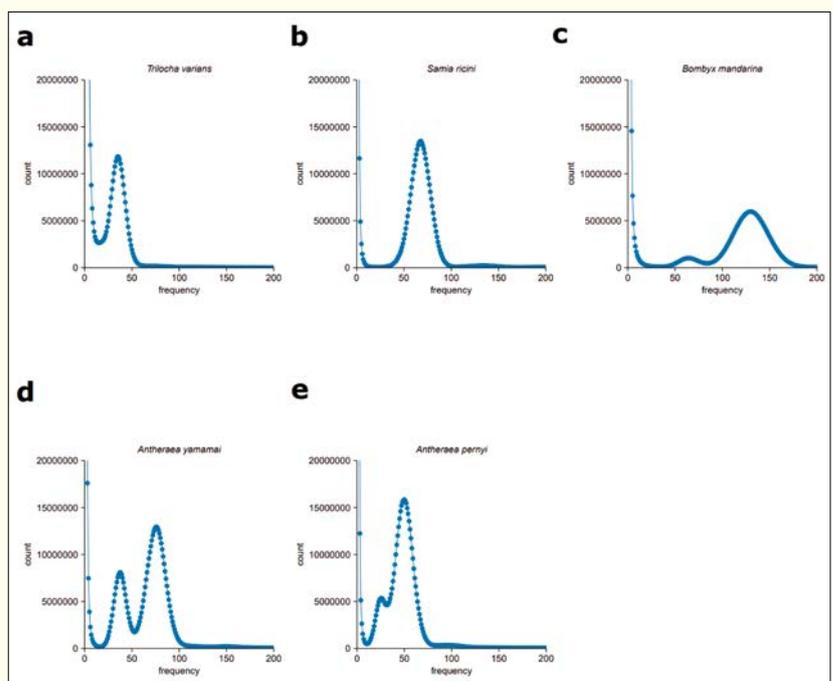


図2 各種のk-mer頻度解析 (k=21)

表1 対応する論文およびデータレポジトリ

	アセンブリアクセス番号	論文 (DOI)	QRコード	Figshare	QRコード
クワコ	GCA_030267445.2	10.1038/s41597-025-04395-0		10.6084/m9.figshare.26940925	
		10.1038/s41597-025-04411-3		10.6084/m9.figshare.23648115	
イチジクカサン	GCA_030269945.2	10.1111/mec.17434			
カイコ p50ma系統	GCF_030269925.1	10.1038/s41597-025-04679-5		10.6084/m9.figshare.26303761	
エリサン	GCA_014132275.2*	投稿中	-	10.6084/m9.figshare.27268212	

## 分譲可能なリソースの紹介

### ●九州大学（代表機関）

#### 2025年度の飼育スケジュール

表を目安に連絡を頂ければ分譲します。時期が合わない場合には中核機関九州大学までご連絡下さい。

時期	孵化日	幼虫時期	蛹時期
1期	5月9日	5月9～31日	6月1～9日
2期	6月27日	6月27～7月19日	7月20～28日
3期	8月15日	8月15～9月6日	9月7～15日
4期	10月3日	10月3～25日	10月26～11月3日
5期	11月21日	11月21～12月13日	12月14～22日
6期	1月13日	1月13～2月4日	2月5～13日

### ●信州大学（分担機関）（野蚕関係）

日本のヤママユガ科ガ類を保存しています。ホームページをご覧ください。

<https://www.shigen.nig.ac.jp/wildmoth/index.jsp>  
管理、質の向上に一層の努力を重ねていきます。

種名	ステージ	時期	提供
ヤママユガ	卵（休眠）	9月～翌年6月	～100粒
	幼虫	6月～9月	～50頭
	蛹	7月～10月	～50頭
サクサン	成虫	8月～10月	～10頭
	卵（非休眠）	4月～8月	～100粒
	幼虫	6月～9月	～50頭
エリサン	蛹（休眠）	9月～翌年5月	～50頭
	成虫	5月～10月	～10頭
	卵（非休眠）	通年	～1000粒
エリサン	幼虫	通年	～100頭
	蛹（休眠）	通年	～100頭
エリサン	成虫	通年	～10頭

他にウスタビガ、オオミズアオ、オナガミズアオ、ヒメヤママユ、シンジュサン、エゾヨツメなどを扱っています。不明な点はお問い合わせ下さい。

〈問い合わせ先〉 梶浦善太zkajiur@shinshu-u.ac.jp

### ニュースレター“おかいこさま”編集・発行

☎819-0395

福岡市西区元岡744 九州大学大学院農学研究院  
遺伝子資源開発研究センター内

ナショナルバイオリソースプロジェクト

「カイコ」 藤井 告（課題代表）、藤本章晃

TEL 092-802-4821

fujii.tsuguru.233@m.kyushu-u.ac.jp

fujimoto.toshiaki.252@m.kyushu-u.ac.jp

