

Focus	Genome Re-sequencing of Diverse Strains of <i>Bombyx mori</i> and <i>B. mandarina</i>
PI	Toru Shimada The University of Tokyo
Period	FY2015
Overview	<p>In the Silkworm NBRP, 500 or more mutant strains and geographical races are maintained and distributed to many researchers. The silkworm genome information was accurately assembled and published in 2008 by collaboration between Japanese and Chinese groups. After that, many researchers have actively carried out the analysis of gene function, especially positional cloning of the genes responsible for the phenotypes by utilizing the genomic information. But, the genome sequences of the Silkworm NBRP strains have not yet been analyzed, and many users must find the DNA markers necessary for linkage analysis by themselves. In this program, we will perform the re-sequencings of 18 strains of the domestic silkworm <i>Bombyx mori</i> and 2 strains of the wild species by the next-generation sequencer. These 20 strains have been carefully selected to represent the genetic diversity of the silkworms. Some of them have been maintained by inbreeding for about 100 years, and are expected to be highly homozygous. The resultant data will be registered in DDBJ, and publicized at NBRP SilkwormBase and SilkBase. These 20 strains have big varieties in their morphology, coloration, development, diapause, and cocoon/silk traits. Genomic information of these strains will dramatically upgrade the value of the Silkworm NBRP resources.</p> <p>This program is performed in close collaboration between the University of Tokyo (T. Shimada and T. Kiuchi) and the National Institute of Genetics (A. Toyoda).</p> <div data-bbox="475 907 1209 1444" data-label="Diagram"> <p>Origin of the 20 silkworm strains for the resequencing</p> <p>European Univoltine 1</p> <p>Chinese Univoltine 2</p> <p>Korean Univoltine 1</p> <p>Japanese Univoltine 1</p> <p>Chinese Bivoltine 1</p> <p>Japanese Bivoltine 4</p> <p>Tropical Polyvoltine 1</p> <p>(Others) Ryukyus local 1 B. mandarina 2 Practical races etc. 6</p> </div>
Progress	<p>(written in Japanese)</p> <p>(1) ゲノムリシークエンスの準備 20 系統 (c10 乞食[日本種 2 化]、p21 千代鶴[日本種 2 化]、p22 日本錦[日本種 2 化]、p20 赤熟[日本種 1 化]、k25 諸桂[中国種 1 化]、f35 紹興[中国種 2 化]、b20 琉球綿蚕、d18 朝鮮種 淡緑繭、u48 Papillon noir[欧州種]、n16 石蚕[日欧交雑]、o55 青熟油蚕[日本種 2 化]、o56 蕭山[中国種 1 化]、e10 岐阜原蚕・大原白卵、p44 九蚕支 101 号[中国系改良種]、c51 廣東金繭 [中国南方系]、g53 黄脚白繭形蚕、東大 N4 [多化性]、東大 C108T[中国系改良種]、クワコ[埼玉県坂戸市由来]、クワコ[島根県隠岐島由来]) を飼育し、それぞれ雄 1 頭からゲノム DNA を抽出・調整した。</p> <p>(2) ゲノムリシークエンスデータの取得及びデータ解析結果の評価 調整した 20 系統のゲノム DNA を研究分担者の豊田敦博士 (国立遺伝学研究所特任准教授) へ送り、Illumina HiSeq2500 によりペアエンドの塩基配列を解読してもらった。各系統から 6500 万~8300 万のクラスターのペアエンド配列が得られ、その総塩基長は各系統で 31~42Gb となった。カイコのゲノムサイズは 482Mb と推定されているので、ゲノム上のカバー率は 67x~87x となり、目標の 50x を超える良好な結果になった。これらは、DDBJ の DRA データベースに Accession# DRA004652 として登録し公開した。これらのリードを、参照配列であるカイコ p50T 系統の全ゲノム (ASM15162v1) に対して bwa を使用して実際にマッピングしたところ、カイコ 18 系統は参照配列</p>

の 99.1%~99.3%に、クワコ 2 系統は参照配列の 98.6%~99.2%に、それぞれマッピングされた。p50T (大造) からの遺伝的距離の指標となる SNPs 頻度は、廣東金繭 (0.4%) と N4 (0.8%) が低く、他のカイコでも 1.5%前後であったが、クワコは坂戸系が 2.5%、隠岐島系が 2.8%と高かった。これらは、系統間の類縁関係の遠近と一致しており、データが信頼できることを示している。以上より、得られたデータは、カイコ・クワコの系統間のゲノム多様性を利用した研究にとって非常に有用な情報となると予想され、すでに国内外から注目されている。

(3) データベースの構築配列

データは、サーバー上で種々の解析を進めている。現在、参照配列である p50T 系統のリシーケンスが行われているため、その結果を待って、SilkBase (<http://silkbases.ab.a.u-tokyo.ac.jp/>) および SilkwormBase (<http://shigen.nig.ac.jp/silkwormbase/>) 上で、参照配列との差異、すなわち SNPs や InDel などが容易に検索できるシステムを公開するよう、準備をしている。また、論文や国内外の会合において順次発表してゆく。

B. mori (c10), B. mori (p21), B. mori (p22), B. mori (p20), B. mori (k25),
B. mori (f35), B. mori (b20), B. mori (d18), B. mori (u48), B. mori (n16),
B. mori (o55), B. mori (o56), B. mori (e10), B. mori (p44), B. mori (c51),
B. mori (g53), B. mandarina (Oki), B. mandarina (Sakado), B. mori (C108T), B. mori (N4)

<http://trace.ddbj.nig.ac.jp/BPSearch/bioproject?acc=PRJDB4743>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/?term=PRJDB4743>