

課題名	起源を異にするカイコ近交系のゲノムリシーケンシング
課題管理者	嶋田 透 東京大学
実施期間	2015 年度
概要・実施体制	<p>カイコ NBRP では、形質変異系統や地理的品種が 500 系統以上保存され、多くの研究者に利用されている。一方、カイコのゲノム情報については、日本と中国の共同研究により、2008 年に高精度塩基配列が公開され、その後、この情報を活用した遺伝子機能の解析が活発に行われている。変異形質の原因遺伝子や、形質発現機構の究明をめざした研究が急増しているが、カイコ NBRP で保存されている系統のゲノム塩基配列は未解析であり、利用者は連鎖解析に必要なマーカーの作成などのために、大きな労力をかけているのが現状である。本課題では、九州大学で約 100 年にわたって継代されてきた系統を中心にして、カイコの遺伝的多様性を代表する 18 系統を選んで、次世代シーケンサーによってリシーケンシングを行う。また、カイコと交配可能な系統として最も遠縁である日本産のクワコについても、30 年以上にわたって累代されている「坂戸」系統および地理的にも形質的にも特異な隠岐産の 1 系統について、リシーケンシングを行ってカイコと比較する。データは DDBJ に登録するとともに、SilkwormBase や SilkBase で公開する。これら計 20 系統は、互いに形態、色彩、発育、繭型、休眠性などに大きな差異があり、形質遺伝学の素材であるとともに、変異体の遺伝分析を行うに適した飼育の容易さを持ち合わせている。これら系統のゲノム情報は、世界随一の規模を誇る日本のカイコ遺伝子資源の価値を飛躍的に高めることになる。</p> <p>本プログラムは、代表者の嶋田のほか、国立遺伝学研究所の豊田敦准教授および東京大学の木内隆史助教が分担者として加わって実施している。</p> <div data-bbox="494 873 1260 1433" data-label="Diagram"> <p style="text-align: center;">本計画でリシーケンシングする20系統の由来</p> </div>
成果	<p>(1) ゲノムリシーケンスの準備 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) ゲノムリシーケ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</p>

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>