

<b>Focus</b>	Genome Re-sequencing of Diverse Strains of <i>Bombyx mori</i> and <i>B. mandarina</i> (2)
<b>PI</b>	Toru Shimada The University of Tokyo
<b>Period</b>	FY2016
<b>Overview</b>	<p>In the Silkworm NBRP at Kyushu University, about 750 strains are maintained, and distributed to many researchers. Among them, p50T was utilized for whole genome sequencing, and its accurate genome assembly was published in 2008. Nevertheless, the genomes of other strains have not yet been sequenced. In the same program, last year (2015), we selected 18 <i>Bombyx mori</i> strains and 2 <i>B. mandarina</i> ones, analyzed their genomes by an Illumina sequencer, and released the resultant sequences in DDBJ and GenBank. This year (2016), we will perform highly accurate sequencing of the genome of a Japanese, inbred strain (Sakado) of <i>B. mandarina</i> by using a single molecule realtime sequencer (PacBio). <i>B. mandarina</i> is the ancestral species of <i>B. mori</i>, and exhibits “wild” phenotypes including mimicry in larvae and flight ability in adults, which have been lost in <i>B. mori</i> during domestication. On the other hand, <i>B. mandarina</i> produces smaller cocoons than <i>B. mori</i>. Although <i>B. mori</i> and <i>B. mandarina</i> can be interspecifically hybridized and produce their fertile progenies, their karyotypes are different; <math>n = 28</math> in <i>B. mori</i> and <math>n = 27</math> in <i>B. mandarina</i>. Therefore, <i>B. mandarina</i> is a valuable resource for comparative genomics in both phenotypic and cytological points of view, and its genomic information will be useful for researchers.</p>  <p style="text-align: center;"><b><i>Bombyx mandarina</i> (Wild species of the domesticated silkworm, <i>B. mori</i>)</b></p>
<b>Progress</b>	<p>(written in Japanese)</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ゲノムシーケンシングの準備 <p>クワコ (<i>Bombyx mandarina</i>, カイコガ科) はカイコ (家蚕, <i>Bombyx mori</i>) の野生種であり、日本・中国などに分布している。現在世界中で飼育されているカイコは、今から 5000 年以上前に中国大陸に生息するクワコを元にして家畜化された祖先系統に由来すると考えられている。カイコについては、すでに詳細なゲノム解析が行われているが、クワコのゲノム情報は十分に得られていない。クワコのゲノム情報が得られれば、それをカイコゲノムと比較することにより、家畜化の過程で失われた形質 (たとえば成虫の飛翔能力) や、獲得された形質 (たとえば高品質のシルクを多量に生産する能力) を支配する遺伝子を解明することができると期待される。そこで、本研究ではクワコのゲノムの精密な解読を実施した。</p> </li> <li>2. ゲノムアセンブリ結果の取得及び評価 <p>東京大学で飼育している埼玉県坂戸市由来のクワコの系統 (1982 年から累代) から、雄幼虫 1 頭を配列決定に用いた。配列の決定は、分担者の豊田敦特任教授 (国立遺伝学研究所) が行った。すなわち、1 分子リアルタイムシーケンサー (PacBio RSII) により、平均 12.8kb のリードを 370 万リード解読し、ゲノムの被覆率 95x の配列を得た。また、Illumina HiSeq 2500 を用いて、600 塩基長のペアエンドを大量に解読し、ゲノムの被覆率 133x の配列を得た。これら 2 種類のデータセットを用いてアセンブリを行った結果、479Mb の総塩基長となるゲノム配列情報が得られた。500Mb 弱と推定されていたクワコゲノムのゲノムサイズと一致したことから、十分な情報が得られていると考えられる。また、コンティグの塩基長は N10 が 17.4Mb、N50 が 6.4Mb であり、相当に高精度のゲノム塩基配列が得られたものと評価した。</p> </li> <li>3. トランスクリプトーム情報を利用した解析 <p>ゲノム情報の最終的な検証に時間を要しているため、トランスクリプトームとの対応付けには、平成 27 年度のゲノム情報等整備プログラムで解読したゲノム情報を用いた。すなわち、クワコ (坂戸系統) ゲノムの Illumina HiSeq 2500 によるリードから de novo のアセンブリを行うとともに、東大が所有しているクワコ (同系統) の RNA-seq データのアセンブリも行った。</p> </li> </ol>

#### 4. データベースの構築

今回得られた高精度のクワコゲノムの塩基配列情報を、データベース SilkBase (<http://silkbases.ab.a.u-tokyo.ac.jp>) で公開するための準備を進めている。すでに、平成 27 年度の NBRP ゲノム情報等整備プログラムで支援していただいたクワコ 2 系統（埼玉県坂戸由来、島根県隠岐の島由来）については SilkBase 上でデータを公開し、BLAST など各種検索ができるようにした。平成 28 年度のクワコ坂戸系統の PacBio、Illumina の各生リードのデータセットは、DDBJ の DRA アーカイブに登録した (BioProject: [PRJDB5778](https://ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJDB5778), BioSample: SAMD00080448, DRA: DRA005795 (PacBio) + DRA005813 (Illumina))。現在進行中の確認作業が終了し次第、ゲノムアセンブリーを SilkBase へ掲載する。

#### 【学会・シンポジウム等における口頭・ポスター】

1. 日本発信のマイクロバイオリソースの魅力, 藤井告, 伴野豊, 梶浦善太, 嶋田透, 瀬筒秀樹, 日本分子生物学会年会 (横浜市), 2016/11/30-12/02, 国内 (ポスター) .