

課題名	起源を異にするカイコ近交系のゲノムリシークエンシング(2)
課題管理者	嶋田 透 東京大学
実施期間	2016 年度
概要・実施体制	<p>カイコ NBRP (九大) では、形質変異系統や地理的品種が約 750 系統保存され、多くの研究者に利用されている。一方、ゲノム情報については、2008 年に NBRP の保存系統 p50T を用いて高精度な配列が解読されたものの、他の系統の配列は未知であった。私たちは、昨年度 (2015 年) の本プログラムで、カイコ 18 系統ならびにクワコ 2 系統のゲノムを次世代シーケンサー (NGS) によって解読し、それらの結果を公表した。今年度は、ユーザーから特に要望が多い日本産クワコ (坂戸系統) のゲノムの高精度配列を、主として 1 分子リアルタイムシーケンサー (PacBio) を用いて解明する。昨年の結果から、クワコの NGS リードをカイコの参照配列へマップするだけでは、ゲノム解析として不十分であると分かったからである。配列解読は豊田敦博士 (遺伝研) と木内隆史博士 (東大) の協力を得て実施する。</p> <p>クワコ (<i>Bombyx mandarina</i>) はカイコ (<i>B. mori</i>) の祖先種とされ、カイコが家畜化の過程で失った成虫の飛翔能力や幼虫の擬態行動などの祖先形質を保持している一方、繭はカイコに比して貧弱である。両種は交配可能で、その後代も妊性があるが、カイコが染色体数 $n=28$ であるのに対してクワコは $n=27$ である。したがって、クワコは形質レベルのみならず染色体レベルでも比較ゲノム研究に好適のリソースであり、そのゲノム配列は有用性が高い。</p> <div data-bbox="341 786 1477 1155" data-label="Image"> </div>
成果	<ol style="list-style-type: none"> 1. ゲノムシークエンスの準備 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。 2. ゲノムアセンブリー結果の取得及び評価 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) が行なった。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ーを行った結果、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。 3. トランスクリプトーム情報を利用した解析 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 のアセンブリーを行うとともに、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ーも行った。

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://www.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. 日本発信のカイコ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) .