

National Bio-Resources 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
令和元年12月15日発行 第44号
<http://www.nbrp.jp/index.jsp>



NBRP保存系統のゲノム情報を活用した遺伝子の多型解析

NBRPが解読したカイコ22系統・野蚕4系統のゲノム配列は、国立遺伝研のDDBJ-DRAに登録されている。図の左側は、カイコのC108T系統とc10系統のそれぞれ7000万以上あるショートリードのうち10本を例示している。この2系統のショートリード全体を対象にして、試みに、濃核病ウイルス2型に対する感受性遺伝子 $nsd-2^+$ の一部（第13エクソンの末端から第14エクソンの先頭にかけての60塩基）をクエリーにしてBLAST検索を行うと、図の右半分に示すアラインメントが得られる。Itoら（2008 PNAS）が明らかにしたとおり、C108Tからは第13エクソンの配列が検出されるが、c10からは検出されない。c10は同遺伝子の一部を欠失していることが、一目瞭然に分かる。

ゲノム情報等整備プログラムによる カイコ22系統・野蚕4系統のゲノム 解説

学習院大学理学部 嶋田 透

ナショナルバイオリソースプロジェクトには、リソースの保存・分譲等を行う中核的拠点整備プログラム以外に、ゲノム情報等整備プログラムと基盤技術整備プログラムがあります。カイコについては、平成27年度、28年度、および30年度にゲノム情報等整備プログラムによる支援が行われました。ここでは、同プログラムによって何が得られたか、そして、そのデータの利用方法を説明します。

平成27年度には、NBRPカイコで保存されているカイコ18系統とクワコ2系統の計20系統のゲノムを、次世代シーケンサーillumina HiSeq 2500でシーケンスしました。用いたのは、c10、p21、p22、p20、k25、f35、b20、d18、u48、n16、o55、o56、e10、p44、c51、g53、クワコ（隠岐島由来系統）、クワコ（坂戸市由来系統）、東大C108T、東大N4、の20系統（クワコと書いてないものは全部カイコ）のゲノムです。得られた配列は、いずれも80x程度のカバレッジになっており、以下のURLからダウンロードすることができます：

<https://trace.ddbj.nig.ac.jp/DRAsearch/submission?acc=DRA004652>

BLASTNにより変異の検索などを行うには、以下のURL：

https://trace.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/sra/?run=*

の*の位置に、目的の系統により、DRR059693からDRR059712までの1つを入力すれば実行できます。DRR059693～059712は、それぞれ上記20系統に対応します。

平成28年度には、クワコ（坂戸市由来系統）をPacBio RS IIおよびilluminaでシーケンスしました。得られた配列は、以下のURLからダウンロードすることができます：

<http://trace.ddbj.nig.ac.jp/DRAsearch/study?acc=DRP004537>

平成30年度には、NBRPで保存されている

カイコのうち比較的大型の4系統、すなわちS30、p42、xe28、xe51と、エリサン1系統（東大系統）、シンジュサン1系統（信州大系統）の計6系統のゲノムをシーケンスしました。各系統からilluminaで100x程度のカバレッジの配列を取得し、特に未解読ゲノムであるシンジュサンについては、さらにPacBio Sequelを用いて100x程度の配列を取得しました。カイコ4系統の配列はp50T系統と比較すると700万～800万箇所のSNP（塩基置換）を持っていました。シンジュサンとエリサンの間では1300万のSNPがありました。これらの配列は以下のURLからダウンロードすることができます：

<http://trace.ddbj.nig.ac.jp/DRAsearch/submission?acc=DRA008433>

BLASTNにより相同配列や変異の検索を行うには、以下のURLを使ってください：

https://trace.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/sra/?run=*

*は以下のアクセス番号のどれかを入力します。エリサンDRR179498、カイコS30（DRR179499、DRR179500）、xe28DRR179501、xe51（DRR179502、DRR179503）、p42（DRR179504、DRR179505）、シンジュサンillumina DRR179506、シンジュサンPacBio（DRR179507、DRR179508、DRR179509、DRR179510、DRR179511）

なお、カイコのゲノム標準系統p50Tについては、PacBioとilluminaを併用して超高精度のゲノム解読が実施され、アセンブリーや遺伝子予測の結果が、2019年春に論文として公表されています（Kawamoto et al., *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 107: 53–62 (2019)）。この最新のp50Tゲノムを参照しながら、NBRPで解読されたカイコ22系統の配列情報を解析すれば、ゲノム多型について正確な情報が得られます。図1に、その一例を示しておきます。

ゲノム情報等整備プログラムの実施にあたり、豊田敦、木内隆史、川本宗孝、李允求の各位に分担・協力していただいたほか、NBRPカイコの九大・信州大の皆様が材料や情報を提供していただきました。

Query	AAAAAGCCATAGAAAATAGAAAATAATATTAGCTCAGACAAAGCGATATCTGTAATCTC	
DRR059703.82499094.2	185A.....130
DRR059703.79061682.2	208A.....153
DRR059703.77729474.2	32A.....87
DRR059703.77460731.2	124A.....69
DRR059703.75438569.2	88A.....143
DRR059703.73130922.2	163A.....218
DRR059703.69232678.2	31A.....86
DRR059703.67528676.1	122A.....177
DRR059703.66939066.2	186A.....131
DRR059703.64960041.1	193A.....248
DRR059703.64932845.2	87A.....142
DRR059703.62875931.2	40A.....95
DRR059703.60815123.2	11A.....66
DRR059703.60319792.1	181A.....236
DRR059703.60190543.1	57A.....112
DRR059703.56223192.2	68A.....13
DRR059703.55674349.1	88A.....143
DRR059703.55203334.2	34A.....89
DRR059703.47679809.1	158A.....213
DRR059703.47299096.1	126A.....71
DRR059703.47265421.1	164A.....219
DRR059703.46932991.2	78A.....23
DRR059703.45080001.2	100A.....45
DRR059703.43997937.1	212A.....157
DRR059703.38034174.2	225A.....170
DRR059703.36080562.1	79A.....24
DRR059703.36021348.2	86A.....141
DRR059703.33106005.1	24A.....79
DRR059703.29936688.2	186A.....131
DRR059703.29456220.1	99A.....154
DRR059703.28616341.2	42A.....97
DRR059703.27961198.2	56A.....1
DRR059703.27800533.1	62A.....117
DRR059703.25844450.2	177A.....232
DRR059703.25038423.1	233A.....178
DRR059703.24403080.2	192A.....247
DRR059703.22346491.2	161A.....216
DRR059703.22082623.2	143A.....198
DRR059703.21658085.2	86A.....31
DRR059703.21608024.2	98A.....43
DRR059703.20962956.1	122A.....67
DRR059703.19765298.2	58A.....113
DRR059703.19637071.2	70A.....15
DRR059703.19570632.1	115A.....170
DRR059703.18878850.1	108A.....163
DRR059703.17973372.1	241A.....186
DRR059703.13689358.1	71A.....16
DRR059703.11456966.1	223A.....168
DRR059703.11222209.2	46A.....101
DRR059703.10962416.2	162A.....107
DRR059703.9044770.1	196A.....141
DRR059703.8144247.1	67A.....12
DRR059703.6017045.2	123A.....178
DRR059703.5827738.1	140A.....195
DRR059703.5373434.1	127A.....182
DRR059703.5046508.2	5A.....60
DRR059703.4813747.1	170A.....225
DRR059703.3700161.1	249A.....194
DRR059703.2889769.1	93A.....38
DRR059703.27167474.1	54A.....1
DRR059703.75939069.2	141A.....196
DRR059703.4561379.2	65A.....10
DRR059703.45447178.2	250A.....199
DRR059703.77371387.1	201A.....250
DRR059703.2793986.2	201A.....250
DRR059703.7822646.1	37A.....3
DRR059703.72562146.2	45A.....11
DRR059703.61000434.2	211A.....245
DRR059703.53324477.2	35A.....1
DRR059703.14175153.1	35A.....1
DRR059703.39691644.2	29A.....1

図1. *BmHPS5*の mRNA (GenBank アクセス番号AB542958.1) の 1831-1891塩基の配列をクエリーとして、カイコo55系統のilluminaリード (DRR059703) をBLASTNで検索した結果。左端はリードの番号を表し、アラインメントにおけるドットとハイフンは、それぞれ参照配列と比較して一致する塩基、および欠失している塩基を示す。青熟油 (*oa*) を持つo55系統の*BmHPS5*では、第4エクソン上の4塩基CAGAが欠失していることが見てとれる。

〈NBRPからの分譲リソースを利用に際しての謝辞のお願い〉

NBRPから分譲を受けて行なった研究成果の発表、また展示等を行なう場合は下記のような謝辞を明記していただくようお願い致します。記載箇所は、Materials and Methods あるいはAcknowledgments のどちらでも構いません。プロジェクトが末永く続く上で重要となると共に、実験結果の再現性を保証するものとして重要ですので宜しくお願い致します。

〈文例〉

- 1) 本研究で使用したカイコ系統は文部科学省主催のナショナルバイオリソースプロジェクト (カイコ) を活用して行った。
- 2) Silkworm strains used in this study were assisted by the National Bio-Resource Project (NBRP) of the MEXT, Japan.
- 3) Materials (silkworms, relating DNA clones or their information) were provided by the National Bio-Resource Project (NBRP) of the Ministry of Education, Science, Sports and Culture of Japan.
- 4) The maintenance of silkworm strains and database used in this study were supported by NBRP.

分譲可能なリソースの紹介

●九州大学（代表機関）

冬期にもカイコ、桑が入手できます。

九州大学には鹿児島県指宿市に試験地があり、冬期も下記のような予定で桑葉でのカイコ飼育を行っていますので、カイコリソースの利用が可能です。桑のみが必要な方には桑の供給を行っています。

時期	孵化日	幼虫時期	蛹時期
5期	11月13日	11月13～12月5日	12月6～14日
6期	1月9日	1月9～31日	2月1～9日

カイコ並びにクワコのDNAを分譲しています。

突然変異系統（約500系統）並びに、クワコ（北海道から鹿児島まで全国40数地点）のDNAレポジトリを整備しました。飼育が困難、変異体の情報が欲しいなどの場合に便利です。個別別に作成していますので遺伝多型を調べる実験にも利用できます。

●学習院大学（分担機関）

新事業として、培養細胞を分譲しますのでご利用下さい。従来通り、カイコのcDNA 34万クローン、同Fosmid 15万クローン、エリサンのcDNA 2万クローン、クワコのFosmid 15万クローンも分譲を続けます。カイコとエリサンのcDNAについては、以下のウェブサイトでBLASTなどにより検索することができます。

<http://silkbases.ab.a.u-tokyo.ac.jp/nbrp/>

ほかに未整理の情報もあるので、不明な点は下記へお問い合わせください。

〈問い合わせ先〉

嶋田 透 toru.shimada@gakushuin.ac.jp

●信州大学（分担機関）（野蚕関係）

日本に生息するヤマユガ科ガ類を扱っています。ホームページをご覧ください。

<http://www.shigen.nig.ac.jp/wildmoth/index.jsp>

大量にご希望の場合はご使用予定より1カ月以上前、または私どもが飼育を始める前の4月上旬までにご連絡くださいますようお願い申し上げます。管理、質の向上に一層の努力を重ねたい思いを強くしております。

種名	ステージ	時期	提供
ヤマユガ	卵（休眠状態）	9月～翌年6月	～100粒
	幼虫	6月	～20頭
	蛹	7月～8月	～20頭
サクサン	成虫	8月	～5頭
	卵（非休眠）	4月～8月	～100粒
サクサン	幼虫	6月～8月	～20頭
	蛹（休眠）	9月～翌年4月	～20頭
	成虫	4月～8月	～5頭

他にオオミズアオ、ウスタビガ、ヒメヤマユガ、シンジュサン、エゾヨツメなどを扱っています。不明な点は下記にお問い合わせ下さい。

〈問い合わせ先〉 梶浦善太 zkajiur@shinshu-u.ac.jp



九州大学は昨年9月に伊都キャンパスへの移転が完了した。伊都キャンパスに整備した桑園には、クワコが多く生息することが明らかになった。写真は伊都キャンパスの桑園で収集されたクワコの繭。

ニュースレター“おかいこさま”について

蚕は我が国の重要な農業生物でした。農家で大切に飼育される蚕は家のお座敷で養われる程で、「おかいこさま」「お蚕（こ）様」と呼ばれ今日に至っています。カイコは日本人にとって特別な昆虫です。皇居内のご養蚕所では皇后様が毎年、「おかいこさま」を養われています。

「おかいこさま」は世界の何処にもない日本独自のバイオリソースです。日本発のライフサイエンス素材からオリジナルな研究を展開する情報誌の名前として用いています。

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」課題代表 伴野 豊

TEL 092-802-4820 banno@agr.kyushu-u.ac.jp

