

受理年月日	受理番号

## 帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

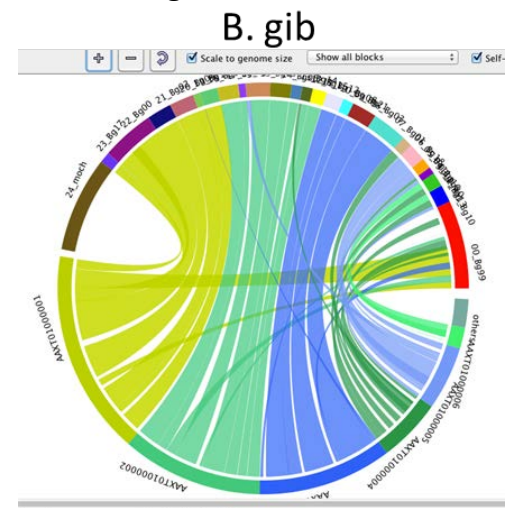
平成 26 年 5 月 25 日

採択番号 25 - 共同 - 4			
研究部門	感染免疫研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	玄 学南
研究課題名	イヌバベシア原虫のゲノム解析		
研究代表者	(ふりがな) 氏 名	所属部局等・職名	
	(やまぎしじゅんや) 山岸潤也	東北大学 東北メディカル・メガバンク機構・助教	
研究分担者			
研究期間	平成 25 年 4 月 1 日 ~ 平成 26 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	<p><i>Babesia gibsoni</i> は宿主であるイヌの赤血球に寄生することでイヌバベシア症を引き起こす。感染によりイヌは貧血、黄疸、血色素尿などの症状を呈し、死に至る場合もある。その治療にはジミナゼン等が使用されている。しかしながら、副作用が強いことや耐性株の出現などの問題点が指摘されている。また、効果的なワクチンも開発されていない。そこで本研究では、未だ報告のない <i>B. gibsoni</i> の全ゲノム配列を決定し、有効な治療法や組換えワクチン開発に資する情報基盤の確立を目的として解析を行う。</p>		
研究経過の概要	<p>原虫病研究センターで維持継代されている NRCPD 株、Oita 株から原虫ゲノム DNA を精製・取得した。得られた DNA を Beigin Genome Institute (BGI) へ送りシーケンスを委託した。その際、Oita 株は、200bp および 500bp のライブラリーを作成し paired-end で、さらに、5Kb のライブラリーを mate-pair でシーケンスした。納品された合計 12Gbase の配列を Velvet および Abyss を用いてアセンブルを行った。SyMAP を用いて既にゲノムが公開されている <i>B. bovis</i> を対象としたシンテニー解析を行った。続けて、GlimmerHMM、tRNAScan、RNAmmer を用いてタンパク質コード領域、tRNA、rRNA の推定を行った。NRCPD 株は 200bp のライブラリーを構築し、paired-end でシーケンスを行った</p>		

受理年月日	受理番号

研究成果の  
概要

Oita 株について、得られた合計 12Gbp の大部分が宿主であるイヌゲノムに対して map された。これは、得られた配列の大部分が宿主ゲノムのコンタミに由来することを示唆している。一方、残りの 370Mb はイヌゲノムに map されなかった。これは、*B. gibsoni* の推定ゲノムサイズである 5-10Mb の約 30 倍以上にあたり、de novo アライメント解析を行うのに十分なデータ量であったため、第一段階として Velvet および Abyss でアセンブリーを行い、第二段階として得られた contig を融合した。このうち 3K 塩基以下の contig とイヌに対し高い相同性を示した contig を除いた結果を *B. gibsoni* のドラフトゲノム配列とした。この総塩基数は 7,283,398bp、NG50 は、258Kbp、contig 数は 70 本であった。また、4 本と推定される染色体数まで contig が減らなかった理由として、rDNA に代表される多重遺伝子群がアセンブリーの障害になったと考えられる。続いて *B. bovis* に対するシケンシー解析を行い、各 contig と *B. bovis* ゲノムとのおおよその対応を明らかにした (図 1)。この結果に基づき gap 周辺を特異的にシケンシー解析することで、今後、各 contig を結合し、より完全に近いゲノムを再構成することが可能かもしれない。次に、GlimmerHMM をもちいて、タンパク質コード領域の推定を行い、3843 箇所を推定した。これは既にゲノム解析が行われている、*B. bovis*、*B. micro*、*T. parvum* の推定タンパク質コード領域数と、類似していた (表 1)。加えて、tRNA と rDNA 領域の推定を行い、前者は 44 ヶ所、後者は 28S 領域、18S 領域を共に 1 ヶ所が特定した (表 1)。



B. gib  
B. bov  
【図 1】

	<i>B. gibsoni</i>	<i>B. bovis</i>	<i>B. microti</i>	<i>T. parva</i>
Genome size (M bp)	7.3	6.5	8.2	8.3
Number of genes	3843	3513	3706	3796
Number of tRNA	44	44	70	71
Number of 5S rRNA	ND	2	ND	1
Number of 5.8S/18S/28S rRNA units	1	2	5	8

【表 1】

研究成果の  
発表

本研究の成果について第 156 回獣医学会で発表をおこなった。また、現在進行形のトランスクリプトーム解析と併せて論文投稿を予定している。