

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 28 年 4 月 20 日

採択番号	27 共同-7		
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	ヒツジバベシア原虫 <i>Babesia ovis</i> 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	北海道大学 人獣共通感染症リサーチセンター 准教授	
研究分担者			
	げん がくなん 玄学南	帯広畜産大学原虫病研究センター・教授	
研究期間	平成 27 年 4 月 1 日 ~ 平成 28 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	<p><i>Babesia ovis</i> が引き起こすヒツジバベシア症は、発熱、溶血性貧血、ヘモグロビン尿症、黄疸等の症状を引き起こし、養羊業に多大な経済的被害をもたらす。その分布域は、ベクターである <i>Rhipicephalus</i> 属のマダニが生息する熱帯・亜熱帯のヨーロッパ、アフリカ、アジアと広大である。トルコにおいても当該疾病の被害は甚大であり、抗体陽性率は 32-80%、原虫検出率も 2.6-8.25% と非常に高い。</p> <p>これまで申請者は、<i>B. gibsoni</i> や <i>B. ovata</i> 等、各種原虫病における、診断、薬剤標的、薬剤耐性出現メカニズム、ワクチン開発の基盤となるゲノム情報の収集・解析・公開を継続的に行ってきた。そこで今回、トルコをはじめ、世界的に問題となっている <i>B. ovis</i> に着目し、その全ゲノムを明らかにすることにより、問題解決に資する情報基盤の提供を試みる。</p>		
研究経過の概要	<p>7 月に共同研究を行っているトルコ共和国国立セルジューク大学の Ferda Sevinc 教授が来日され、その際に <i>B. ovis</i> 感染赤血球から分離・精製したゲノム DNA を受領した。その後、次世代シーケンサーでの解析に向け、ライブラリーの構築を行い、配列の取得に成功した。</p> <p>得られた配列を基にアセンブルを行い、約 7.4M 塩基のドラフトゲノム配列を取得、さらに、コードされる遺伝子の推定を行い、3756 遺伝子を特定した。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の概要</p>	<p>検体はトルコ共和国国立セルジューク大学の Ferda Sevinc 教授と協力して入手した。<i>B. ovis</i> に感染したヒツジより末梢血（寄生率 4-5%）を採取、赤血球分画を取得し、サポニン処理により赤血球膜を破壊することで虫体を露出させた後、フィルトレーションにより宿主細胞の混入を除き、phenol chloroform isoamyl alcohol 法を用いて DNA の精製を行った（右図）。</p> <p>精製 DNA から TruSeq DNA Sample Prep Kit を用いてライブラリーを作成し、申請者が所属する北海道大学人獣共通感染症リサーチセンターの次世代シーケンサー MiSeq により塩基配列の取得を行った。</p> <p>300 bp paired-end で得られたデータから QC を行い、精度の低い配列 (< QV20) を除いた結果、1,888,250 x2 (≒ 1.1Gbp) を得た。さらに、宿主であるヒツジに由来する配列を除くため、Bowtie によりヒツジゲノムにマッピング処理を行った。その結果、約 67% の read pair がヒツジゲノムにマップされたため、残る 623,419 x2 reads (≒ 374 Mbp) を用いて ABySS によるアセンブルを行った。その結果、7,427,323 塩基の <i>B. ovis</i> ドラフトゲノムの取得に成功した (contig 数 118、最大 contig 長 530,468 bp、N50 = 168,283 bp)。</p> <p>続いて、当該ドラフトゲノムにコードされる遺伝子の推定を行った。glimmarHMM を用いたところ、100 アミノ酸以上をコードするものとして 3756 遺伝子の推定に成功した。他のバベシア遺伝子がコードする遺伝子数が 4000 弱であることと、よく一致した。</p> <p>今後、RNA-seq による転写産物の解析を行い、Augustus 等の tool を援用することで、遺伝子モデルの update と機能予測、データベースへの登録と公開を進めたい。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>論文準備中</p>

