

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 30 年 4 月 18 日

採択番号			
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	フタトゲチマダニのドラフトゲノム解析		
研究代表者	(ふりがな) 氏名	所属部局等・職名・役割分担	
	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 (役割分担) シーケンシング、バイオインフォ解析	
研究分担者	しらふじりか 白藤梨可	帯広畜産大学・原虫病研究センター・助教 (役割分担) フタトゲチマダニ試料提供	
	(原虫研共同研究担当教員名) 玄学南	帯広畜産大学・原虫病研究センター・教授 (役割分担) 試料提供・研究助言	
研究期間	平成 29 年 4 月 1 日 ~ 平成 30 年 3 月 31 日		
目的・趣旨	<p>マダニ類は、吸血自体による不快感・障害に加え、様々な感染症を媒介し疾病を引き起こすベクターとしても軽視することのできない衛生害虫である。しかしながら、世界的に見ても、そのゲノム解析は十分に進められていないのが実態である。ここで、帯広畜産大学・原虫病研究センターでは、国内優占種の 1 つであるフタトゲチマダニのコロニーが維持されている。そこで、このフタトゲチマダニのゲノム解析を試みる。これは、今後、他のマダニゲノム解析を行う際に生じるであろう種々の困難の洗い出しと解決のためのノウハウ取得を見すえたパイロット研究としての位置づけも含む。</p>		
研究経過の概要	<p>フタトゲチマダニのドラフトゲノムを得るために、1) 研究分担者の白藤博士よりフタトゲチマダニより精製したゲノム DNA の供与を受け、2) 外注(ケミカル同仁社が提供する” GeneNex”)により次世代シーケンスを行い、3) k-mer 法によりゲノムサイズを推定し、4) 各種アセンブラー (ABYSS、および、platanus) により contig を得た。</p> <p>しかしながら、当初 <i>Ixodes scapularis</i> と同程度 (2.1 Gb) と想定していたゲノムサイズは、k-mer 法による推定では 8.3-8.8Gb と、想定を大きく超えることが示唆された。そのため、今回取得した総塩基数 142Gb では 17.2 倍のカバレッジにしかならず、十分な長さの contig の取得が難しいことが予想された。実際に、ABYSS を用いてアセンブルを試みたが、得られたゲノムは、最も良い成績でも総塩基 6.3 Gb、contig 数 20.7 M、N50 が 701bp と、向上の余地を大きく残すものであった。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の概要</p>	<p>まず、研究分担者の白藤博士よりフタトゲチマダニより精製したゲノムDNAの供与を受けた。degradationが認められたものの(図1)、純度と量については問題ないことを確認した後、ケミカル同仁社が提供する次世代シーケンシング受託サービス”GeneNex”を利用し、150塩基ペアエンド計141.6Gbの塩基配列を得た。続いて、低クオリティのリードをフィルターし、残った129.3Gb、891M readsを用いて、以降の解析を行った。</p> <p>次に、k-mer法によるゲノムサイズの推定を行った。k-merの取得はJellyfishを用いて行い、kを20塩基、25塩基、30塩基としたときの推定値は、それぞれ8.3 Gb, 8.8 Gb, 8.7 Gbであった(図2)。</p> <p>続いて、ABYSS、および、platanusを用いてゲノムアセンブルを行った(表1)。結果として得られたcontigは、非常に断片化されたものであったが、これは想定以上にゲノムサイズが大きく、HiSeqにより取得した配列が不足していたためと考えられる(22.5倍のカバレッジ)。そこで、H30年度に、改めて追加のHiSeqシーケンスを行い、少なくとも40倍以上のカバレッジを得ることで、より統合されたドラフトゲノムの取得を試みる。また、H29年度に予定していた長鎖シーケンサーMinIONの援用によるアセンブリーの向上、および、遺伝子領域の推定は、追加HiSeqの結果を確認してから行う。これらの追加解析により、<i>I. scapularis</i>と同程度(N50=2,942bp)のドラフトゲノムの取得を目論んでいる。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>特記事項なし。</p>

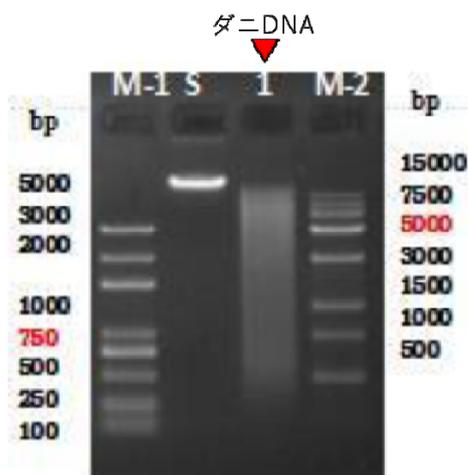


図1 精製DNAの評価

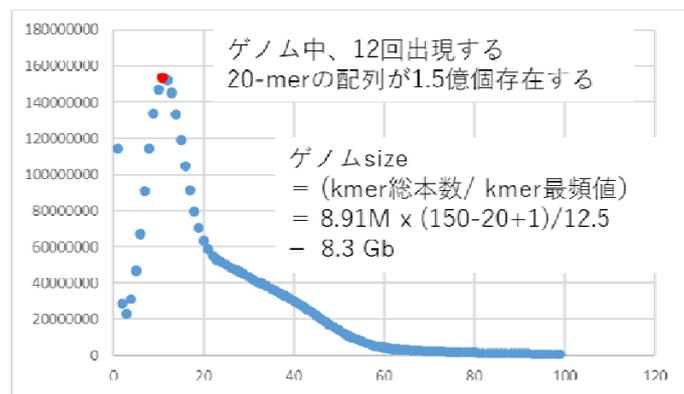


図2 k-mer法によるゲノムサイズの推定

アセンブラー	K-mer	Contig数	N50 (bp)	Max (bp)	総塩基 (Gbp)
ABYSS	90	20.7 M	701	54202	6.6
ABYSS	80	24.2 M	697	73749	6.5
ABYSS	60	35.2 M	645	42783	6.3
platanus	67	51.2 M	331	36267	7.5
<i>I. scapularis</i>		571 K	2942		2.1

表1 assembly条件の最適化