

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 28 日現在

機関番号：32644

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2013～2014

課題番号：25891023

研究課題名(和文) 哺乳類29種の内在性ウイルス配列の比較ゲノム進化解析

研究課題名(英文) Comparative evolutionary analysis of endogenous viral elements among mammals

研究代表者

中川 草 (NAKAGAWA, So)

東海大学・医学部・助教

研究者番号：70510014

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類19種の20ゲノム配列を対象に、網羅的に内在性ウイルス(endogenous viral element, EVE)を探索した。その結果736,765配列のERV/EVEを発見し、それぞれについてゲノムでのローカス、塩基・アミノ酸配列、機能モチーフ、最も近い内在性・外来性ウイルス配列などを同定した。それらの情報をまとめてデータベースとして公開した(gEVE, <http://geve.med.u-tokai.ac.jp>)。

研究成果の概要(英文)：Using 20 genomes from 19 mammalian species, we identified 736,765 nucleotide sequences that are possibly derived from viruses (called EVE). For each sequence, its locus, amino acid and nucleotide sequences, functional motifs, and similar endogenous/exogenous viral sequences were annotated. These results are publically available via a database (gEVE, <http://geve.med.u-tokai.ac.jp>).

研究分野：生物学

キーワード：比較ゲノム 内在性レトロウイルス レトロトランスポゾン ジャンクDNA 分子進化 バイオインフォマティクス ゲノム進化 データベース

1. 研究開始当初の背景

哺乳類のゲノムはトランスポゾンなどに由来する反復配列が約半分もの領域を占める。その中にはウイルス由来の配列 (endogenous viral elements, EVE) があり、ヒトゲノムの約 8%、マウスゲノムの約 10% を占めると言われている。EVE の主な由来は、生殖細胞に感染したレトロウイルスのゲノム配列が宿主のゲノムに挿入されて、子孫に伝搬するようになった内在性レトロウイルス (endogenous retroviruses, ERV) であり、ウイルスの構造やその生成に關与する蛋白質をコードする遺伝子がある。

多くの宿主内のウイルス由来の配列 (ERV/EVE と略記) は塩基置換や挿入・欠失があり、ゲノムの中にただ存在する機能がないジャンク DNA の一部であると考えられてきた。しかし、ERV/EVE の中には哺乳類特有の器官や組織の発生に關与することが分かってきた。そして ERV/EVE は生物進化に深く關与し、その配列自体もダイナミックに進化している。加えて ERV/EVE は他のウイルスと組換えを起こして新たなレトロウイルス感染症などに関わるなど潜在的に危険な因子でもある。しかし、ゲノム全体での ERV/EVE の配列やその進化は一般的に明らかになっていない。すなわち、生物のゲノム中に ERV/EVE の配列数や種類、各 ERV/EVE の蛋白質をコードする配列の長さや機能モチーフの有無、ERV/EVE の挿入時期や生物種ごとの重複や欠失、各生物の特異的な ERV/EVE の配列がゲノムレベルで明らかになっていない。

2. 研究の目的

本研究では上記の、ウイルスによる哺乳類のダイナミックな進化を明らかにするため、ヒトを含めた 19 種の哺乳類の標準ゲノム配列を用いて ERV/EVE の比較ゲノム進化解析を行う。そのために ERV/EVE のデータベースの作成を行う。

3. 研究の方法

19 種の 20 ゲノム配列を NCBI データベースから download した。ERV/EVE を探索するために使用されるコンピュータプログラム RetroTector と Repeat Masker を使用して ERV/EVE の探索を行った。そのようなプログラムを用いて発見した領域の 80 アミノ酸より長い ORF をもつ領域に対して、ウイルス配列に特徴的な隠れマルコフモデル (HMM) プロファイルを用いて類似度を計算し、有意に高かったもののみを ERV/EVE として登録した。そのようにして発見した ERV/EVE に加えてすべてのウイルス由来の配列、そして過去の研究で報告されている ERV/EVE のアミノ酸配列をクエリーとして、各ゲノム配列に対して探索を行った。そのようにして発見した ERV/EVE を fasta 形式のファイルに加えて、GTF (General Transfer

Format) 形式のファイルも作成し、次世代シーケンサなどの解析により ERV/EVE の発現などの解析も行えるようにデータを整備した。

4. 研究成果

表 1 に示す通り、20 ゲノム配列から合計して 736,765 配列の ERV/EVE を発見した。

表 1 各ゲノムの EVE/ERV 配列数

Abbreviation	Species	All
Hsap38	Human	33,965
Ptro214	Chimpanzee	30,098
Ggor31	Gorilla	26,334
Pabe2	Orangutan	28,314
Panu2	Baboon	27,229
Mmul1	Macaque	26,940
Cjac321	Marmoset	21,802
Mmus38	Mouse	61,184
Rnor50	Rat	34,861
Ocun2	Rabbit	13,214
BtauUMD31	Cattle	105,654
Btau461	Cattle	98,016
Cfam31	Dog	11,393
Fcat62	Cat	11,132
Ecab2	Horse	14,391
Oari31	Sheep	61,093
Sscr102	Pig	15,210
Chir1	Goat	37,003
Mdom5	Opossum	77,190
Oana5	Platypus	1,742

それらすべてが 80 アミノ酸より長い ORF を持ち、ウイルス由来の配列モチーフを有する。また、RetroTector と Repeat Masker を用いた配列探索の結果は種によっては大きく異なることがあることがわかった。そのため、ERV/EVE を網羅的に探索するためには複数のプログラムを併用することが重要であると考えられる。

各 ERV/EVE について HMM プロファイル検索の結果からその由来を調べてみた (図 1)。

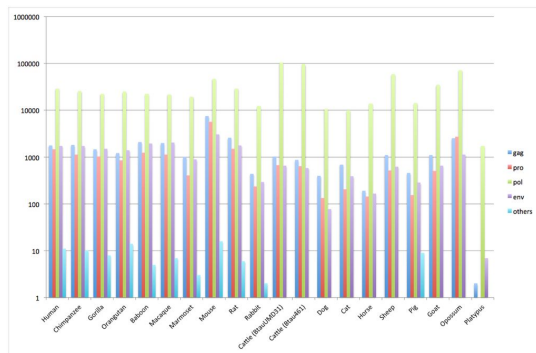


図1 各生物種のEVE/ERV配列のHMMプロファイルごとの出現頻度

pol由来の配列が最も多かったが、これはLINEのpolが入り込んでしまったためであると考えられ、これはERV/EVEのカテゴリではないので、現在これらを区別するようなアノテーションを行っている。

本結果を相同性比較の結果などをまとめてデータベースとして一般に公開し、幅広い解析に活用できるように整備を進めている (<http://geve.med.u-tokai.ac.jp>, 図2)。

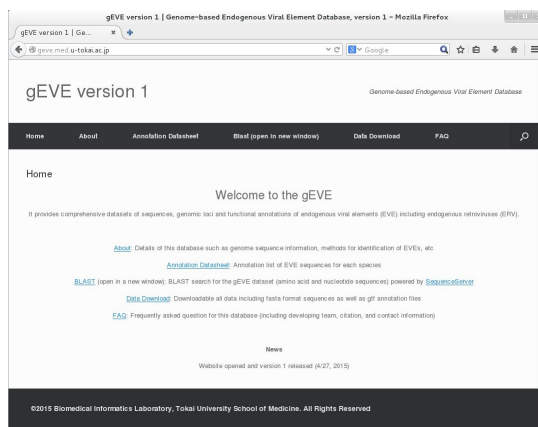


図2 公開した内在性ウイルスデータベース、gEVE

5. 主な発表論文等 (研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計6件)

1. Miyaho RN, Nakagawa S*, Hashimoto-Gotoh A, Nakaya Y, Shimode S, Sakaguchi S, Yoshikawa R, Takahashi MU, Miyazawa, T* (2015) Susceptibility of domestic animals to a pseudotype virus bearing RD-114 virus envelope protein. *Gene*, in press. DOI: 10.1016/j.gene.2015.04.079 (査読有)
2. Kawamura M, Watanabe S, Odahara Y, Nakagawa S, Endo Y, Tsujimoto H, Nishigaki K* (2015) Genetic

diversity in the feline leukemia virus gag gene. *Virus Research*, 204: 74–81. DOI: 10.1016/j.virusres.2015.04.008 (査読有)

3. Yoshikawa R, Okamoto M, Sakaguchi S, Nakagawa S, Miura T, Hirai H, Miyazawa T* (2015) Simian Retrovirus 4 Induces Lethal Acute Thrombocytopenia in Japanese Macaques. *Journal of Virology* 89: 3965-3975. DOI: 10.1128/JVI.03611-14 (査読有)
4. Shimode S, Nakagawa S, Miyazawa T* (2015) Multiple invasions of infectious retrovirus in cat genomes. *Scientific Reports* 5, 8164. DOI: 10.1038/srep08164 (査読有)
5. Yoshikawa R†, Nakagawa S†*, Okamura M, Miyazawa T* (2014) Construction of an infectious clone of simian foamy virus of Japanese macaque (SFVjm) and phylogenetic analyses of SFVjm isolates. *Gene* 548(1): 149-154. DOI: 10.1016/j.gene.2014.07.025 (査読有)
6. Shimode, S.†, Nakagawa, S.†, Yoshikawa, R., Shojima, T. and Miyazawa, T.* (2014) Heterogeneity of koala retrovirus isolates. *FEBS Letters* 588(1): 41-46. DOI: 10.1016/j.febslet.2013.10.046 (査読有)

〔学会発表〕(計7件)

1. 中川草「哺乳類のゲノムに内在化するウイルス由来の配列の比較解析」第37回日本分子生物学会、パシフィコ横浜(横浜)、2014年11月25日。
2. Nakagawa S “RNA-seq analysis of endogenous retroviral elements in bovine conceptuses during the period of placentation” ASHG2014, San Diego (USA), October 18-22, 2014.
3. 中川草「次世代シーケンサを用いたウシ胎盤形成に關与する内在性ウイルス由来の遺伝子の分子進化解析」JSBi2014・第3回生命医薬情報学連合大会、仙台国際センター(仙台)、2014年10月3日。
4. 中川草「ゲノムに内在化したウイルス由来の配列の比較ゲノム解析」日本遺伝学

会第 86 回大会、長浜バイオ大学(長浜)
2014 年 9 月 17 日.

5. 中川草「哺乳類のゲノムに内在化したウイルス由来の配列データベース」日本進化学会 第 16 回大阪大会、高槻現代劇場(高槻) 2014 年 8 月 22 日.
6. Nakagawa S “TRANSCRIPTOME ANALYSIS OF ERV-DERIVED GENES IN BOVINE CONCEPTUSES DURING THE PERIOD OF PLACENTATION” Workshop on Endogenous Retroviruses, West Virginia (USA), August 8, 2014.
7. 中川草「内在性ウイルスのデータベース作成に向けて」第 17 回 日本レトロウイルス研究会夏期セミナー、TKP 熱海研修センター(熱海) 2014 年 7 月 3 日.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://bmi.med.u-tokai.ac.jp>

<http://geve.med.u-tokai.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中川 草 (NAKAGAWA, So)

東海大学・医学部・助教

研究者番号：70510014