

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 23 日現在

機関番号：12301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2015

課題番号：15K14432

研究課題名(和文) 偽遺伝子は偽者か？

研究課題名(英文) Is pseudogene fake?

研究代表者

畑田 出穂 (Hatada, Izuho)

群馬大学・生体調節研究所・教授

研究者番号：50212147

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：non-coding RNAでも偽遺伝子の研究は、機能しないものとみなされあまり研究が進んでこなかった。しかしながら最近、特定の偽遺伝子が癌で増幅していたり欠失していたりすることが報告されており、なんらかの機能が示唆される。申請者は次世代シーケンサーによるRNA-Seqのデータを解析することにより、プロセス型(レトロトランスポゾン型)偽遺伝子の多くが親遺伝子(祖先遺伝子)の発現と関連することをみいだした。

研究成果の概要(英文)：Pseudogenes have been thought to be non-functional and been neglected for long time. However, the deletion and amplification of special pseudogenes are reported recently, suggesting that pseudogenes are functional. Using NGS analysis, we found relation between the expression of pseudogenes and their ancestral genes.

研究分野：エピジェネティクス

キーワード：偽遺伝子

1. 研究開始当初の背景

non-coding RNA(非コードRNA)は蛋白質をコードしないRNAの総称であるが、microRNAやlncRNA(long non-coding RNA)などの研究は進み機能が明らかになりつつある。偽遺伝子は変異により蛋白質をコードするOpen Reading Frame (ORF)を失った遺伝子であるが、転写されているものがありnon-coding RNAの一種といえるが、機能しないものとして長らく無視されてきた。しかしながら最近、特定の偽遺伝子が癌で増幅したり¹、欠失していたりすることが報告されており²、なんらかの機能が示唆される。

1. Hayashi H et al. Oncogene 2013, 1-10
2. Polisen L et al. J Invest Dermatol. 2011, 131:2497-250

2. 研究の目的

次世代シーケンサーによるRNA-Seqのデータを解析することにより、プロセス型(レトロトランスポゾン型)偽遺伝子と親遺伝子(祖先遺伝子)の発現の関係性を解析し、偽遺伝子と親遺伝子の干渉現象のメカニズムを明らかにする。

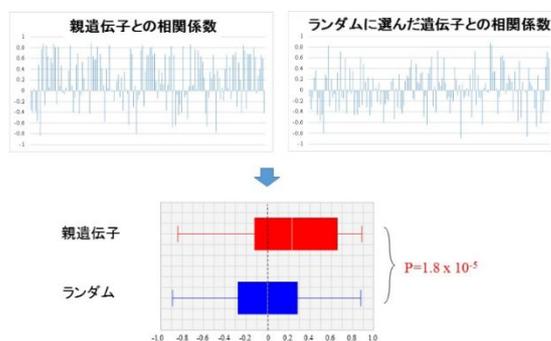
3. 研究の方法

24匹のマウス白色脂肪のRNAを次世代シーケンサーを用いて解析(RNA-Seq)し、プロセス型偽遺伝子について、その親(祖先)遺伝子との発現との相関を解析する。

4. 研究成果

24匹のマウス白色脂肪のRNAを次世代シーケンサーを用いて解析(RNA-Seq)し、301個の偽遺伝子で発現を認めた。そのうちレトロトランスポゾンの逆転写酵素によってDNA配列がゲノム内に挿入されて作られる、いわゆるプロセス型偽遺伝子156個について、その親(祖先)遺伝子との発現がどのような関係にあるかを調べた。その結果、興味深いことに親遺伝子との相関係数はランダムに選んだ遺伝子とくらべて優位に高い($P=1.8 \times 10^{-5}$)ことがわかった(図1)。図2にその具体例を示す。

図1 偽遺伝子と親遺伝子との発現の相関係数



偽遺伝子と親遺伝子の転写調節領域が異なることを考えると、偽遺伝子と親遺伝子のRNA間の干渉作用が考えられる。興味深い

ことに癌抑制遺伝子 PTEN の偽遺伝子である PTENP1 を強制発現すると PTEN RNA を安定化し癌抑制効果があることが報告されている³。この効果は PTEN 3' UTR をターゲットとする miRNA の効果を PTENP1 強制発現により弱めることによる。申請者らのデータはこのような miRNA を介した偽遺伝子と親遺伝子の干渉作用が多く偽遺伝子でおこっていることを示唆する(図3)。

図2 偽遺伝子と親遺伝子の発現相関が高いものの例

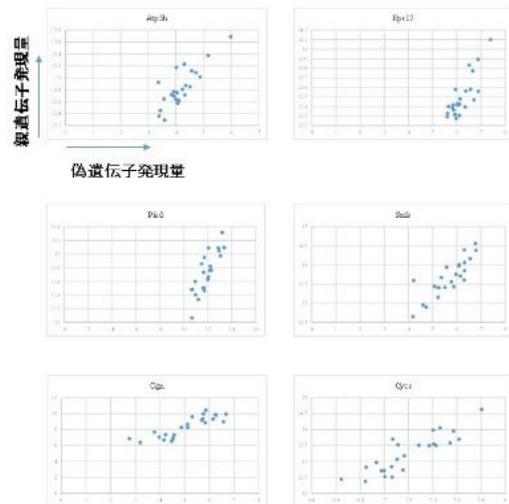
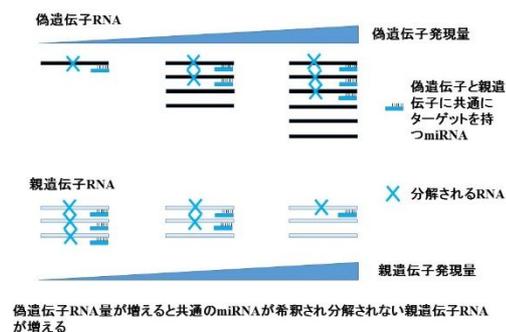


図3 miRNAを介した偽遺伝子と親遺伝子の干渉



偽遺伝子は変異により蛋白質をコードするOpen Reading Frame (ORF)を失った遺伝子であり、教科書には機能しないものと記述されており、長らくその存在意義が無視されてきた。しかしながらその中には転写されているものがありnon-coding RNAの一種といえるが、機能しないものとして長らく無視されてきた。一方non-coding RNAの研究はmiRNAやlncRNAの研究は近年、盛んにおこなわれており、その機能が次々と明らかになってきている。そこで偽遺伝子も多くのもが親遺伝子との干渉をつうじて機能を持つのではないかと仮説を考え、次世代シーケンサーのRNA-Seqのデータを偽遺伝子と親遺伝子の発現相関という見地で網羅的に解析したところ、偽遺伝子と親遺伝子の発

現の間に相関が顕著にみられた。このことは偽遺伝子が親遺伝子との干渉をつうじて機能するということが一般化できるかもしれないことを示唆する。このように偽遺伝子が機能していることが一般化できれば、これまでの偽遺伝子に対する概念を変えることになる。

今後、我々の研究の知見をもとに癌をはじめとする様々な疾患において偽遺伝子の変化も疾患の原因遺伝子であることを考慮に入れて研究が進められていくことになる。それにより、これまで原因がよくわからなかった疾患の原因が明らかになることが期待できる。また、この研究は進化の研究にも大きな影響を与える可能性がある。木村資生の“中立説”によると、偽遺伝子は元来、正常な遺伝子から導かれたもので、何らかの理由で遺伝子としての機能を失ったものである。したがって、これは表現効果がなく、そこでどんな突然変異が起こっても害作用がなく、したがって自然淘汰にかからず(中立となり)、中立説でいう最高速度で進化的変化を行なうと予想されていた。しかしながら発現する偽遺伝子が機能を持っているとすると、この中立説の予想を検証し直す必要が出てくる。例えば発現がみられる偽遺伝子と発現していない偽遺伝子の進化速度を調べると発現するものの方が遅いということがわかるかもしれない。さらに偽遺伝子は種特異的なものが多く見られることから、偽遺伝子が機能するのであれば種の分化に關与する可能性が考えられる。例えばチンパンジーなどの類人猿に比べてホモ・サピエンスの知能が高いのは脳で発現している偽遺伝子によるのかも知れない。このように種の進化研究のアプローチにも影響を与える可能性がある。

3. Polisen L et al. Nature 2010, 465:1033-1038

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. Morita S, Nakabayashi K, Kawai T, Hayashi K, Horii T, Kimura M, Kamei Y, Ogawa Y, Hata K, Hatada I. Gene expression profiling of white adipose tissue reveals paternal transmission of proneness to obesity. *Scientific Reports*. 2016 Feb 12;6:21693. doi: 10.1038/srep21693. 査読有り
2. Horii T, Hatada I. Production of genome-edited pluripotent stem cells and mice by CRISPR/Cas. *Endocr J*. 2016 Jan 6. [Epub ahead of print] 査読有り

3. Rumbajan JM, Yamaguchi Y, Nakabayashi K, Higashimoto K, Yastuki H, Nishioka K, Matsuoka K, Aoki S, Toda S, Takeda S, Seki H, Hatada I, Hata K, Soejima H, Joh K. Structure and Engineering of Francisella novicida Cas9 Gene. 2016 Feb 18. pii: S0378-1119(16)30092-0. doi: 10.1016/j. Gene, 2016.02.025. [Epub ahead of print] 査読有り
4. Hirano H, Gootenberg JS, Horii T, Abudayyeh OO, Kimura M, Hsu PD, Nakane T, Ishitani R, Hatada I, Zhang F, Nishimasu H, Nureki O Structure and Engineering of Francisella novicida Cas9 *Cell*, 2016 Feb 10. pii: S0092-8674(16)30053-8. doi: 10.1016/j.cell.2016.01.039. [Epub ahead of print] 査読有り
5. Kafer GR, Li X, Horii T, Suetake I, Tajima S, Hatada I, Carlton PM. 5-Hydroxymethylcytosine Marks Sites of DNA Damage and Promotes Genome Stability. *Cell Rep.*, 2015 May 25. doi: 10.1111/exd.12767. [Epub ahead of print] 査読有り
6. Hattori M, Yokoyama Y, Hattori T, Motegi SI, Amano H, Hatada I, Ishikawa O. Global DNA hypomethylation and hypoxia-induced expression of the ten eleven translocation (TET) family, TET1, in scleroderma fibroblasts. *Exp Dermatol.*, 2015 May 25. doi: 10.1111/exd.12767. [Epub ahead of print] 査読有り

〔学会発表〕(計 8 件)

1. 森田純代、中林一彦、河合智子、林恵子、堀居拓郎、木村美香、亀井康富、小川佳宏、秦健一郎、畑田出穂、食事誘導性肥満における父性遺伝の役割について、日本分子生物学会年会 2015.12.3、神戸ポートアイランド
2. 森田純代、中林一彦、河合智子、林恵子、堀居拓郎、木村美香、亀井康富、小川佳宏、秦健一郎、畑田出穂、父性遺伝する食事誘導性肥満の解析、第9回エピジェネティクス研究会年会、2015.5.26、東京学術総合センターツ橋講堂
3. 畑田出穂、エピジェネティクス - 一卵性双生児はなぜ変わってゆくのか -、第12回日本褥瘡学会関東甲信越地方会学術集会、2015.7.3、前橋テルサ(けやきの間)
4. 畑田出穂、CRISPR/Cas法を用いたTet遺伝子ファミリーの機能解析、大阪大学蛋白質研究所セミナー、エピジェネティクス - 分子機構から高次機能まで、2015.12.12、大阪大学蛋白質研究所
5. 畑田出穂、CRISPR/Casゲノム編集とその

応用可能性について、ゲノム創薬・医療
フォーラム第二回シンポジウムゲノム創
薬・医療の新潮流：ゲノム編集、一分子
解析、電子化医療情報、2015.9.10、東京
大学医科学研究所 病院棟 8階トミーホ
ール

6. 畑田出穂、エピジェネティクスとは、日
本生殖再生医学会 第 11 回 学術集会、
2015.3.6、東京砂防会館
7. 堀居拓郎、森田純代、木村美香、小林遼
平、田村大樹、木村博信、末武勲、田嶋
正二、安部由美子、畑田出穂、Tet 遺伝
子シングル、ダブルおよびトリプルノッ
クアウト ES 細胞株の特性、日本分子生物
学会年会 2015.12.2、神戸ポートアイラ
ンド
8. 堀居拓郎、森田純代、木村美香、小林遼
平、田村大樹、木村博信、末武勲、田嶋
正二、安部由美子、畑田出穂、ES 細胞の
初期分化には Tet による Nr2f2 プロモ
ーター領域の脱メチル化が必要である、第
9 回エピジェネティクス研究会年会、
2015.5.25、東京学術総合センター一ツ橋
講堂

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

[http://epigenome.dept.showa.gunma-u.ac.
jp/~hatada/](http://epigenome.dept.showa.gunma-u.ac.jp/~hatada/)

6. 研究組織

(1)研究代表者

畑田 出穂 (HATADA, Izaho)
群馬大学・生体調節研究所・教授
研究者番号：50212147

(2)研究分担者

堀居 拓郎 (HORII, Takuro)
群馬大学・生体調節研究所・助教
研究者番号：00361387

(3)連携研究者

森田 純代 (MORITA, Sumiyo)
群馬大学・生体調節研究所・研究員
研究者番号：40589264