

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 5 月 31 日現在

機関番号：32644

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K21386

研究課題名(和文)大量塩基配列データを用いた機能性内在性ウイルス配列の比較ゲノム解析

研究課題名(英文)Comparative genome analysis of functional endogenous viral elements using massive nucleotide sequence data

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) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題は哺乳類のゲノムに内在性したウイルスに由来する配列(EVE)が宿主で獲得した様々な新規機能とそのゲノム進化を明らかにすること目標としている。私はEVE由来の蛋白質をコードする可能性のある配列について、アノテーションを行ったデータベースgEVEを開発した。本データベースを活用し、EVE由来する新規機能性配列の同定を試みた。例えば共同研究によりウシの胎盤で発現しているレトロウイルスの構造蛋白質(Gag)様の新規遺伝子を発見した。また、EVE由来の非コード領域についても同定し、プロモータなどとして機能獲得した可能性があることを予測した。

研究成果の概要(英文)：The aim of this research project is to clarify various new functions gained by endogenous viral elements (EVEs) in mammalian genomes and their genome evolution. I have developed an annotation database called gEVE for possible protein-coding sequences derived from EVEs. In this study, we have identified various new functional sequences derived from EVE using NGS data analyzed with this database. For example, we discovered a novel structural protein Gag-like retroviral gene expressed in bovine placenta by collaborative research. We also identified non-coding regions derived from EVE and predicted that it might have acquired the function such as promoters.

研究分野：ゲノム科学・バイオインフォマティクス・分子進化

キーワード：レトロウイルス レトロトランスポゾン 比較ゲノム 分子進化 データベース 機能ゲノム

1. 研究開始当初の背景

哺乳類のゲノム配列の約 1 割はトランスポゾン的一种のウイルス由来の塩基配列 (Endogenous Viral Element, EVE) である。EVE の主な由来は、レトロウイルスのゲノム配列が生殖細胞に感染することによって内在化した配列である。従って、EVE はレトロウイルスのゲノム構造と同様に、蛋白質をコードする領域と発現調節領域などに関わる非コード領域がある。EVE は塩基置換や挿入・欠失が起き、かつエピジェネティックな発現抑制により、宿主内では機能を失い、進化的に保存されていないことが多い。しかし、一部の EVE に由来する配列が宿主の中で新たな機能を獲得し、胎盤や表皮の発生、ウイルス感染の防御や神経性の疾患などに関与することが報告されている。一方で、このように宿主で機能を獲得した EVE 由来の遺伝子も進化的に保存されていないことも多い。例えば胎盤の発生に関与する EVE 由来の syncytin 遺伝子は、ウイルスの env (エンベロープ蛋白質) 遺伝子に由来するが、霊長類、げっ歯類、食肉目、反芻亜目などの系統ごとに異なるレトロウイルスの env 遺伝子が起源である。また、種特異的に獲得した EVE 由来の遺伝子が機能を獲得したことも発見され、宿主内で機能する EVE は塩基/アミノ酸配列の比較ゲノム解析のみで発見することは極めて困難である。

2. 研究の目的

EVE が様々な生物種で獲得した新規機能とそのゲノム進化を明らかにすること目標に、以下の研究課題を遂行した：1) 精度の高いゲノム配列が公開されている哺乳類 19 種の非コード領域の EVE をゲノムワイドに同定し、それらの分類や種間での比較解析；2) 様々な生物・細胞の RNA-seq、ChIP-seq、ribosome profiling などの NGS データを活用し、RNA-seq、ribosome profiling データからは転写・翻訳されて機能する EVE、もしくはノンコーディング RNA として機能する可能性のある EVE を、そして ChIP-seq データ解析から転写調節に寄与する EVE を同定し、生物種間での比較ゲノム解析；3) それらの位置、塩基配列、分類、発現情報やプロモータ活性などの情報を gEVE データベースにて公開

3. 研究の方法

(1) ウイルス由来の塩基配列 (EVE) の非コード領域の同定

申請者が発見した EVE 配列の周辺配列を網羅的に探索することに加えて、LTR を同定するためのコンピュータプログラム (RepeatMasker, RetroTector, LTRharvest) を組み合わせ、それぞれ同定された LTR 配列をマージした。更にそれら同定した LTR 配列をクエリー配列として各ゲノム配列に相溶性探索を行い、LTR 配列を網羅的に同定した。ま

た、レトロウイルス以外のウイルス由来の EVE については、それぞれのウイルス配列を各ゲノムに相溶性探索してアライメントを行うことにより非コード領域を同定した。

(2) EVE の NGS データ解析と比較ゲノム解析

哺乳類 19 種を対象として、iPS 細胞や癌細胞を中心に、さまざまな細胞の RNA-seq、ChIP-seq、ribosome profiling などの大規模シーケンスデータ (以後 NGS データと略す) を SRA (Sequence Read Archive) から入手し、解析を行った。各生物の EVE の種類や頻度などを調べて、配列類似度が高い配列が多く局在する生物種については塩基配列がゲノム配列に重複ヒットする回数を増やしたり、またリード配列とゲノムのミスマッチ塩基数を減らしたりなど、詳細なパラメータの調整を行った。そして生物種ごとに NGS データをゲノム配列にマッピングし、同定した EVE 領域に基づいてリード数を長さで正規化してカウントした。各生物種で同定された EVE を種間で比較し、さまざまな細胞・組織で機能する EVE のゲノムワイドな分子進化解析を行った。

(3) EVE 統合データベースとオンライン解析ツールの開発

申請者が開発を行った gEVE データベースを拡張して、EVE の非コード領域の配列や、それらのアノテーション情報、加えて NGS データ解析から明らかになった転写、翻訳、翻訳制御領域の予測などの情報をまとめて表示、かつダウンロードできるようなデータベースを公開する。コード・非コード領域の EVE のアノテーション情報や fasta 形式での塩基、もしくはアミノ酸配列を選択してダウンロードできるようにした。

4. 研究成果

(1) ウイルス由来の塩基配列 (EVE) の非コード領域の同定

先述の方法で EVE 由来の LTR などの非コード領域を同定し、また、レトロウイルス以外のウイルス由来の EVE についても大規模に同定し、データベースを作成した (<http://peve.med.u-tokai.ac.jp>)。

(2) EVE の NGS データ解析と比較ゲノム解析

我々は胎盤、筋肉、破骨細胞、皮膚、がんなどの様々な組織・臓器などに由来する RNA-seq や Ribo-seq のデータを手し、解析を行った。その結果、ウシの胎盤で発現する新規 EVE 由来の遺伝子を共同研究により同定した (Sakurai et al. 2017)。また、筋肉やがん細胞でも特有の発現パターンを示す EVE を発見し、共同研究により詳細な機能解析を行っている。

(3) EVE 統合データベースとオンライン解析ツールの開発

現在(2)で解析したデータなどについて、データをまとめている。このようなデータを公開 (<http://geve.med.u-tokai.ac.jp>) できるように準備を進めている。

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 5件)

Sakurai, T., Nakagawa, S., Bai, H., Bai, R., Kusama, K., Ideta, A., Aoyagi, Y., Kaneko, K., Iga, K., Yasuda, J., Miyazawa, T., and Imakawa, K. Novel endogenous retrovirus-derived transcript expressed in the bovine placenta is regulated by WNT signaling. *Biochemical Journal*, 474: 3499-3512, 2017. 査読有

DOI: 10.1042/BCJ20170531

Imakawa, K., Nakagawa, S. The Phylogeny of Placental Evolution Through Dynamic Integrations of Retrotransposons. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*, 145: 89-109, 2017. 査読有

DOI: 10.1016/bs.pmbts.2016.12.004

Nakagawa, S. and Takahashi, M.U. gEVE: a genome-based endogenous viral element database provides comprehensive viral protein-coding sequences in mammalian genomes. *Database (Oxford)*, 2016: baw087, 2016. 査読有

DOI: 10.1093/database/baw087

宮沢孝幸、下出紗弓、中川草. RD-114 物語: ネコの移動の歴史を探るレトロウイルス. *ウイルス*, Vol.66 No.1 p. 21-30. 2016. 査読無

DOI: 10.2222/jsv.66.21

今川和彦、中川草、草間和哉. 胎盤と内在性レトロウイルス. *ウイルス*, Vol.66 No.1 p. 1-10. 2016. 査読無

DOI: 10.2222/jsv.66.1

[学会発表](計 12件)

上田真保子、三橋里美、三橋弘明、今西規、中川草. 細胞融合にかかわる内在性レトロウイルス由来遺伝子の同定. 2017年度生命科学系学会合同年次大会、神戸、12/6 - 9, 2017.

谷利爵公、中川草、宮沢孝幸. ヒト内在性レトロウイルスWの3'末端によるシンシチン1の発現増強. 2017年度生命科学系学会合同年次大会、神戸、12/6 - 9, 2017.

下出紗弓、中川草、金村優香、宮沢孝幸. 内在性レトロウイルスによるイエネコゲノム多様性の評価. 第160回日本獣医学

会学術集会、鹿児島、9/13-15, 2017.

下出紗弓、中川草、金村優香、宮沢孝幸. 内在性レトロウイルスを指標とした日本国内への欧米ネコ流入の評価. 日本進化学会第19回大会、京都、8/24-26, 2017. Sayumi Shimode, So Nakagawa, Takayuki Miyazawa. Tracing the ancient cat's migration by analyzing retroviral integration sites. IUMS Congresses 2017, Singapore, 7/17-21, 2017.

So Nakagawa, Mahoko Ueda Takahashi. Transcriptome analysis to identify expressed sequences derived from endogenous viral elements. 28th International Workshop on Retroviral Pathogenesis, New Orleans, 12/5-9, 2016.

中川草、上田真保子. 哺乳類ゲノムに内在化するウイルス由来の配列の比較トランスクリプトーム解析. 第39回日本分子生物学会年会、横浜、11/30-12/2, 2016.

森田一輝、永松健、中川草、杉本潤、川名敬、大須賀穰、藤井知行. 合胞体栄養膜細胞分化モデルを用いた内在性レトロウイルスの網羅的発現解析. 第24回日本胎盤学会学術集会 第34回日本絨毛性疾患研究会、和歌山、11/25-26, 2016.

杉本潤, Danny Schust, 中川草, 小田高也, 陣野吉廣. マウスサブリン遺伝子の単離・同定. 第24回日本胎盤学会学術集会 第34回日本絨毛性疾患研究会、和歌山、11/25-26, 2016.

中川草、上田真保子. 哺乳類ゲノムに内在化するウイルス由来の配列データベース gEVE とその活用方法. 日本遺伝学会第88回大会、三島、9/7-10, 2016.

中川草、上田真保子. 哺乳類ゲノムに内在化するウイルス由来の比較トランスクリプトーム解析. 日本進化学会 第18回東京大会、東京(東京工業大学大岡山キャンパス) 8/25-28, 2016.

So Nakagawa, Mahoko U Takahashi. gEVE: a genome-based endogenous viral element database provides open reading frame sequences derived from viruses in 20 mammalian genomes. International Congress on Transposable Elements (ICTE) 2016, San Malo (Saint-Malo's Convention Center), France, 4/16-19, 2016.

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 0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 0 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

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