

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 16 日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07426

研究課題名(和文) 進化上保存されていない「若い」遺伝子の発生プログラムにおける役割を探る

研究課題名(英文) Characterizing the roles of evolutionarily 'young' genes in development

研究代表者

工樂 樹洋 (KURAKU, Shigehiro)

国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・チームリーダー

研究者番号：40391940

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：生命科学研究では、既知遺伝子のホモログを他の生物で解析する手法が主流であり、往々にして種間で保存された遺伝子が注目される。本研究では、多様な生物種の全ゲノム情報を活用し、進化の過程で比較的最近(約1億年以内)に創成されたため他の多くの生物にホモログのない「若い」遺伝子に注目した。その結果、多様な脊椎動物において、遺伝子様構造、転写のエビデンス、及び翻訳の可能性を示す分子進化的特徴を備える候補を多数同定した。これらは発生期に組織特異的発現パターンを示す遺伝子を含み、保存的とされる発生プログラムに「若い」遺伝子が含まれること、並びに、それらが種間の発生過程の相違を説明する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題の遂行により、特定の種だけが持つ遺伝子に新たに光を当てるとともに、その特徴づけのための解析技術基盤を築き上げることができた。種間の共通点に目が行きがちだった比較ゲノミクスに新たな流れを創ることと期待される。伝統的な実験動物以外の生物についての解析をシームレスに行うことも本課題の重点であった。そのために行った爬虫類および軟骨魚類の全ゲノム解析を一流国際誌にて報告し、複数の国際会議にて講演してきた。その一部については大手メディアにも科学記事として取り上げられ、一般社会へ発信した。また得られた配列情報は公共リソースとして世界中の研究者が利用できる状態にある。

研究成果の概要(英文)：Typical life science studies focus on evolutionarily 'old' genes that are conserved throughout diverse species, because analyzing homologs of already known genes has been a mainstream of studies. To overcome that bias, the present study has focused to characterize evolutionarily 'young' genes that arose relatively recently (within 100 million years) whose homolog does not exist in many other species. As a result, the original workflow designed under this purpose identified a number of candidates that have nucleotide DNA sequences characteristic of protein-coding genes, evidence of transcription, and molecular evolutionary attributes of translation. These candidates include a considerable proportion with tissue-species expression during embryogenesis, which emphasizes the involvement of 'young' genes in developmental processes that have been regarded as conservative and their importance in addressing cross-species differences in developmental regulation.

研究分野：発生生物学、分子進化学、ゲノム情報学

キーワード：若い遺伝子 ゲノム情報 発生プログラム

## 1. 研究開始当初の背景

かつて、「遺伝子が新たに創成される可能性はゼロに等しい」と言われたこともあった (Jacob, 1977. *Science*, 196:1161-6)。この流れに乗って、分子レベルの発生生物学研究では「ホモログ探し」が主流となり、種間で保存された遺伝子を中心に研究が進められた。その後の進化発生学研究 (Evo-Devo) に端を発して、いわゆる「ツールキット遺伝子」が遠縁の動物間でも保存され、ボディプランの共通性の背後にあること、そして、それらの遺伝子の使われ方の変化で形態進化が起きるという考えが広まったことが、この流れを決定的にした。全ゲノム情報を用いた解析が可能になると、種間で保存していない「若い」遺伝子が調べられ始めた。それらは new gene や orphan gene と呼ばれる (Tautz & Domazet-Lošo, 2011. *Nat. Rev. Genet.* 12: 692-702)。発生に関わるものでは、Stella (有胎盤哺乳類特異的) や Bicoid (ショウジョウバエ特異的) などがあった。保存された因子を探さねばという観念に囚われなければ、そのような遺伝子はゲノム中に簡単に見つかるのである。これまで、ゲノム情報学の見地から系統特異的遺伝子を探索する試みはあったが、発生プログラムへの関与を体系的に探るような大規模解析はなされていなかった。

これまで研究代表者は、進化上の保存性が崩れた遺伝子におもに注目してきた。脊椎動物の祖先には保持されていたが、二次的に複数の脊椎動物系統で失われた Bmp16 (Feiner et al., 2009. *BMC Evol. Biol.* 9:277) Hox14 (Kuraku et al., 2008. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 105: 6679-6683) Pax10 (Feiner et al., 2014. *Genome Biol. Evol.* 6: 1635-1651) などである。これらの遺伝子の解析では、伝統的な実験動物以外のいわゆる「非モデル生物」の全ゲノム配列情報が非常に重要な役割を果たした。遺伝子の保存性を語る場合には、共通の因子を見つけてしまえばそれでよいのだが、遺伝子レパートリの違いを語るには、(全体を調べる土俵を整えたい) 「存在しない」と言わなければいけない。そのためには、全ゲノム情報と、それを種間で比べる妥当な方法が必要である。それらがある程度整ったことから、この「違い」を精査する段階に入ったと考えた。

## 2. 研究の目的

発生生物学をはじめとする生命科学研究は、ある生物ですでに調べられた遺伝子のホモログを他の生物で解析する流れによって発展してきたため、種間で保存された遺伝子が注目されやすい。本研究では、多様な生物種の全ゲノム情報を最大限に活用して、光が当たることのない他生物にホモログのない遺伝子、すなわち、系統特異的 (taxon-specific) 遺伝子を総ざらえし機能解析を行った。「ツールキット」と呼ばれる進化上保存された遺伝子が支配していると考えられてきた胚発生プログラムの中で、系統特異的遺伝子がどういった役割を果たしているのか、オミクス情報解析を駆使して追究した。具体的には、下記の3つのステップに分け、明確な目的を掲げて研究を進めた。

- (1) 特定の生物系統でしか見つからないタンパク質コード遺伝子の候補をリスト化  
in silico 解析により、「遺伝子らしい」配列の特徴を持ち、かつ相同性が当該生物系統以外では見られないゲノム領域を多数推定する。
- (2) 発生過程で組織特異的に転写又は翻訳されている遺伝子の絞り込み  
他の生物系統では見られない遺伝子であると推定された候補遺伝子について、機能発現のエビデンスとしての転写産物を探索し、さらに翻訳されている手掛かりとなる「コドン」を単位とする分子進化的傍証を得ることにより、確かに「遺伝子」であるといえるものに絞り込む。
- (3) 絞り込んだ遺伝子 (系統特異的であり組織特異的発現を示す遺伝子) の機能解析  
発生時期・組織別の遺伝子発現プロファイルに照合し、発生期に組織特異的に発現する候補に絞り込む。

## 3. 研究の方法

まず、生物種ごとの遺伝子構造の特徴を学習させた遺伝子推定プログラムに全ゲノム配列を入力することにより、タンパク質コード遺伝子様配列の候補を得た。これらの候補のうち、他生物にホモログを持たない候補を大量 BLASTP 検索により選別した。選ばれた候補について、近縁種のオーソログとの塩基配列アライメントを行い、それをもとに推定 ORF に基づく同義置換速度および非同義置換速度を計算することにより、この ORF で翻訳されていることの検証を行った。これと、発生期を含む多様な組織からのトランスクリプトーム・エピゲノム・プロテオームの情報と照合した。最後に、選ばれた数十個の遺伝子に注目して、組織レベルの RNA-seq データを用いたトランスクリプトーム解析によって、個々の遺伝子の発生期における発現プロファイルを詳細に分析した。このプロセスによって、系統特異的かつ発生過程において組織特異的に発現している遺伝子を多数同定した。

#### 4. 研究成果

本課題の独自性のひとつは、伝統的な実験動物以外の生物にも解析を拡げることであった。そのための材料の整備として、まず、遺伝子発現解析のための実験系となる、軟骨魚綱板鰓亜綱イヌザメ (*Chiloscyllium punctatum*) の胚試料を用いた発生ステージ表の作成を行い、国際専門誌に出版した (Onimaru et al., 2018. *Developmental Dynamics* 247: 712-723)。この生物種は、発生生物学など多様な研究で比較的多用されている他の軟骨魚種であるトラザメ (*Scylliorhinus torazame*) に比べて発生速度が約 1.5 倍であるなど、操作的な実験への有用性が高い。さらに、このイヌザメの全ゲノムシーケンスの初版とでもいべき配列情報の取得をひとまず完了し、ゲノム配列上のタンパク質コード遺伝子の網羅的推定を行った。軟骨魚類に加えて、爬虫類ソメワケササクレヤモリ (*Paroedura picta*) のゲノム解析も進め、一流国際誌への出版が実現した (Hara et al., 2018. *BMC Biology* 16:40; Hara et al., 2018. *Nature Ecology & Evolution* 2: 1761-1771 など)。これらの内容は、複数の国際会議にて講演し、データ取得法の検討や脊椎動物ゲノム進化のテーマに沿って研究者向けに発信してきた。これらの一部 (サメの全ゲノム解析) については NHK ニュースや大手新聞にも科学記事として取り上げられ、一般社会への発信も実現することとなった。

課題の本筋である系統特異的遺伝子 (進化上保存されていない「若い遺伝子」) の検出と機能解析についても、探索対象となる遺伝子候補の選定のための、他生物群における配列相同性や近縁種間の同義・非同義置換数に基づく情報解析パイプラインの構築など、2 年目途中までに候補の選定のための手順をスムーズに進めることができた。3 年目に入り、海外の大規模ゲノムプロジェクトによる配列情報が多数公開されたため、それらの配列の有用性の吟味に予定より多くの時間を費やした。最終的に、1 億年以内に分岐した種のペアを複数選定したうえで、準備済みの解析パイプラインを実行し、特定の系統にのみ保持される「若い遺伝子」の最終的な候補を同定した。これらの遺伝子の機能解析については、一部の生物について試料の収集が必ずしもスムーズに進まなかったため、今後も継続する予定である。

遺伝子配列レベルの特徴に関していえば、同定された「若い遺伝子」の候補は、GC 含量やコドン使用頻度の偏り、さらに配列長やエキソン構造などにおいて特定の傾向を示し、単に限定した系統に属する種だけが保持する遺伝子という性質で括られるだけではなく、発生期における遺伝子発現様式を含め「若い遺伝子」の機能の表れともいえる性質を多数保持していた。とくに、その性質が顕著かによって、実際に機能する遺伝子かを推測できる可能性が示されたことが、当初の想定を超える重要な成果である。不足部分のデータ取得を今後行うとともに、結果を統合的に解析し、出版へ進める予定である。並行して、本研究において得たノウハウを、他研究チームが主導する国際共同研究へも活かしつつある。本課題の副産物として実現した爬虫類と軟骨魚類のゲノム解析 (上述) によって、種間で保存した分子レベルの特徴に目が行きがちな比較ゲノム解析の新たな流れを加速させるという本課題の方針に沿う重要な成果であると考えている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Hara Y, Yamaguchi K, Onimaru K, Kadota M, Koyanagi M, Keeley SD, Tatsumi K, Tanaka K, Motone F, Kageyama Y, Nozu R, Adachi N, Nishimura O, Nakagawa R, Tanegashima C, Kiyatake I, Matsumoto R, Murakumo K, Nishida K, Terakita A, Kuratani S, Sato K, Hyodo S, Kuraku S.	4. 巻 2
2. 論文標題 Shark genomes provide insights into elasmobranch evolution and the origin of vertebrates.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 1761-1771
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1038/s41559-018-0673-5">https://doi.org/10.1038/s41559-018-0673-5</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Onimaru K, Tatsumi K, Shibagaki K, Kuraku S.	4. 巻 5
2. 論文標題 A de novo transcriptome assembly of the zebra bullhead shark, <i>Heterodontus zebra</i> .	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Data	6. 最初と最後の頁 180197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/sdata.2018.197.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Tanegashima C, Nishimura O, Motone F, Tatsumi K, Kadota M, Kuraku S.	4. 巻 5
2. 論文標題 Embryonic transcriptome sequencing of the ocellate spot skate <i>Okamejei kenojei</i> .	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Data	6. 最初と最後の頁 180200
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1038/sdata.2018.200	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hara Y, Takeuchi M, Kageyama Y, Tatsumi K, Hibi M, Kiyonari H, Kuraku S.	4. 巻 16
2. 論文標題 Madagascar ground gecko genome analysis characterizes asymmetric fates of duplicated genes	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Biology	6. 最初と最後の頁 40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi: 10.1186/s12915-018-0509-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Onimaru Koh, Kuraku Shigehiro	4. 巻 17
2. 論文標題 Inference of the ancestral vertebrate phenotype through vestiges of the whole-genome duplications	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Briefings in Functional Genomics	6. 最初と最後の頁 352-361
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bfgp/ely008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Onimaru Koh, Motone Fumio, Kiyatake Itsuki, Nishida Kiyonori, Kuraku Shigehiro	4. 巻 247
2. 論文標題 A staging table for the embryonic development of the brownbanded bamboo shark ( <i>Chiloscyllium punctatum</i> )	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Developmental Dynamics	6. 最初と最後の頁 712-723
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/dvdy.24623	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計18件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Shigehiro Kuraku
2. 発表標題 Whale shark visual ecology revealed by genomic and spectroscopic analysis
3. 学会等名 Annual Meeting of American Elasmobranch Society (as part of Joint Meeting of Ichthyologists and Herpetologists) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigehiro Kuraku
2. 発表標題 Reshaping the Polyploidized Vertebrate Genomes: Case Studies on Developmental Regulators
3. 学会等名 The 6th Quest for Orthologs Meeting (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigehiro Kuraku
2. 発表標題 Visual ecology of whale shark revealed by whole genome sequencing.
3. 学会等名 5th International Whale Shark Conference (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 工樂樹洋
2. 発表標題 脊椎動物の祖先の姿を探る：ゲノム倍加ゆえの困難と光明
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 工樂樹洋
2. 発表標題 サメを知らずに脊椎動物を語れるかーゲノムから視覚を探る
3. 学会等名 異分野融合による次世代光生物学研究会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 工樂樹洋
2. 発表標題 Unexpectedly complicated CTCF phylogeny: lessons from lamprey and shark genomics 予想外に複雑なCTCF の分子系統：円口類と軟骨魚類のゲノム情報を基に
3. 学会等名 日本進化学会第21回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 工樂樹洋
2. 発表標題 Diversity and evolution of vertebrate genomes
3. 学会等名 The 8th Biennial RIKEN Life Science Retreat 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 原雄一郎、山口和晃、野津了、小柳光正、寺北明久、喜屋武樹、西田清徳、兵藤晋、佐藤圭一、○工樂樹洋
2. 発表標題 板鰐類3種のゲノム解析：「サメらしさ」に分子から迫る
3. 学会等名 異分野融合による次世代光生物学研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigehiro Kuraku
2. 発表標題 Elasmobranch shark genome analysis enabled by chromosome-scale scaffolding
3. 学会等名 CeMEB Marine Evolution 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shigehiro Kuraku
2. 発表標題 Genomic exploration of 400 million years of elasmobranch evolution: clues for visual ecology of sharks
3. 学会等名 The 1st AsiaEvo Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 工樂樹洋
2. 発表標題 ゲノム情報が切り拓く分子レベルのサメ研究の現状と展望
3. 学会等名 板鰐類シンポジウム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 工樂樹洋
2. 発表標題 Genomic exploration of 'fish' diversity including jawless and cartilaginous fishes
3. 学会等名 第24回小型魚類研究会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 工樂樹洋
2. 発表標題 Anti-model' biology assisted by whole genome analysis of sharks and reptiles
3. 学会等名 第51回日本発生生物学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 工樂樹洋
2. 発表標題 板鰐類 3種のゲノム解析：「サメらしさ」に分子から迫る
3. 学会等名 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 工樂 樹洋
2. 発表標題 Asymmetric evolution of paralogs in vertebrate genomes
3. 学会等名 Seminar for SciLifeLab at Karolinska Institute (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 工樂 樹洋
2. 発表標題 Elucidating the early process of vertebrate genome evolution
3. 学会等名 The Svedberg seminar and JSPS seminar series for SciLifeLab (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 工樂 樹洋
2. 発表標題 ゲノム情報と分子進化学のアプローチを利用して遺伝子レパートリの広がりと進化距離を測る
3. 学会等名 第10回Evo-Devo青年の会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 工樂 樹洋
2. 発表標題 NGSが拓き、分子系統学が照らす「反モデル」生物学への招待
3. 学会等名 NGS現場の会、第五回研究会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

理化学研究所 生命機能科学研究センター 分子配列比較解析チーム  
<http://www.bdr.riken.jp/jp/research/labs/kuraku-s/>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----