

令和4年10月3日

「重なり合う遺伝子」見つける ソフトウェア「CCIVR」を開発

<研究成果のポイント>

- 重なり合う遺伝子の転写産物である cis-NATs を網羅的に抽出するソフトウェア「CCIVR」を開発しました。
- 多様な遺伝子発現データを CCIVR で解析し、新たな cis-NATs を同定しました。
- 本研究成果は cis-NATs 研究のさらなる発展につながることが期待されます。

※本研究成果は、英国電子版科学誌「**Scientific Reports** (サイエンティフィック・リポーツ)」に日本時間9月15日に公表されました。

<概要>

浜松医科大学分子生物学講座の大畑樹也助教、医学科5年の鈴木麻耶らのグループは、同大学先進機器共用推進部との共同研究により、互いにある領域で重なり合う遺伝子を由来とする転写産物¹で、その発現調節機能が注目されている「cis-NATs」を、網羅的に抽出するソフトウェア「CCIVR」を新しく開発しました。この成果は、英国電子版科学誌「**Scientific Reports** (サイエンティフィック・リポーツ)」に日本時間9月15日に公表されました。

<研究の背景>

私たちの遺伝情報のもととなっているDNAは、細胞の核の中で2本鎖を作っています。ある遺伝子に対して、その遺伝子と反対側のDNA鎖上の同じ領域に別の遺伝子が存在するとき、この遺伝子の転写産物を cis-natural antisense transcripts (cis-NATs) と呼びます。つまり cis-NATs は、互いにある領域で重なり合う遺伝子のペアを由来とする転写産物なのです。cis-NATs の中には様々な機序を介してパートナーの発現量を変化させるものが存在し、ゲノムインプリンティング²をはじめとした重要な生命現象に関わっていることが報告されています。特に、X染色体の不活化を引き起こす遺伝子 *Xist* とその cis-NATs である *Tsix* は、エピジェネティックな機序³による発現調節機構を有しており、特徴的な発現パターンを示すことが知られています。

cis-NATs の生物学的な機能を調べるうえで、遺伝子同士の“重なり方”は重要なポイントです。cis-NATs を抽出するための解析ツールはいくつか存在しますが、従来のツールでは遺伝子の位置関係から cis-NATs の“重なり方”を明確に分類することは困難でした。

<研究手法・成果>

私たちは、ゲノムデータや RNA-seq⁴ のデータから cis-NAT を網羅的に探し出す CCIVR というソフトウェアを新たに開発しました。本ソフトウェアでは cis-NATs を重なり方によって embedded 型、fully-overlapped 型、head-to-head 型、tail-to-tail 型という4パターンに分類して抽出することが可能となりました。本研究では CCIVR を用いて実際に3つの解析を

行い、系統進化と cis-NATs の関係性や、生命現象の中で特徴的な発現を示す cis-NATs について明らかにしました。

一つ目の解析では、異なる 11 種の生物ごとに cis-NATs の存在比率を調べました。その結果、より高等な生物になるほど全遺伝子に占める cis-NATs の割合が高くなるという傾向が見つけられました。二つ目の解析は、ゲノムインプリンティングに関与する可能性がある cis-NATs を探すことを目的として行いました。解析には、母方由来、父方由来のゲノムのみをもつ特殊な ES 細胞^{*5}で遺伝子の発現量を調べた RNA-seq データを用いました。その結果、既にゲノムインプリンティングへの関与が報告されている 1 組を含む、29 組の cis-NATs が CCIVR 解析によって抽出されました。三つ目の解析では、TGF β ^{*6} 刺激を与えた癌細胞における遺伝子発現を調べた RNA-seq データから、上皮間葉転換 (EMT)^{*7} という現象に関与する cis-NATs を探索しました。その結果、多数の cis-NATs が候補として抽出され、そのうちの 3 組は *Xist*・*Tsix* とよく似た発現パターンを示したことから、*Tsix* 型の発現調節機構をもって EMT に関与している可能性があることが明らかになりました。

<今後の展開>

現在、生物学的に意義のある発現変動を示す cis-NATs の報告は限られています。しかし、ヒトの全遺伝子のうち cis-NATs が存在するものは 50% 近くをも占め、未知の機能的 cis-NATs が見つかる可能性は十分にあると言えるでしょう。一部の cis-NATs では悪性腫瘍などの疾患への関与が報告されています。これらの疾患の発生機序に関与する決定的な cis-NATs が見つければ、新規の治療ターゲットとして期待が高まる可能性もあります。私たちは多様なデータを CCIVR 解析することでさらなる cis-NATs の探索を進め、生命現象の実態を明らかにするとともに医学の発展に貢献していきたいと考えています。

CCIVR は遺伝子の生物学的な機能解析に適した簡便なオープンソースのツールです。本ソフトウェアが多くの研究者に利用されることで、cis-NATs 分野の研究がより活発化し、さらに重要な発見へとつながることを期待しています。

<用語解説>

- *1 転写産物：RNA ポリメラーゼによりゲノム DNA を鋳型として合成された RNA の総称。
- *2 ゲノムインプリンティング：哺乳類の生殖では一般に父親と母親の両方から遺伝子を受け継ぐ。このとき一部の遺伝子では、片方の親から受け継いだもののみが発現するように精子や卵子の時点であらかじめ「しるし」が刷り込まれている。このような現象をゲノムインプリンティングという。
- *3 エピジェネティックな機序：DNA や DNA が巻き付いているヒストンタンパクへの化学修飾によってクロマチン構造を変化させ、遺伝子の発現を制御する仕組み。クロマチンとは、DNA とタンパク質の複合体であるヌクレオソームが凝集した構造である。
- *4 RNA-seq：遺伝子発現は DNA の配列が RNA に転写されることによって起こる。RNA-seq は、次世代シーケンサーによって細胞内にある RNA の配列を網羅的に読み、その情報からどの遺伝子がどの程度転写されたかを算出することで、発現量を調べる解析方法である。
- *5 ES 細胞：哺乳類の発生の初期段階である胚盤胞から、内部細胞塊と呼ばれる部分を取り出し培養した細胞。全身のあらゆる組織の細胞に分化できる能力「多能性」をもつ。生物学において多くの実験に用いられる。
- *6 TGF β ：細胞に作用して増殖や分化を制御し、細胞死などを引き起こす物質。本研究では癌細胞に EMT を誘導するために TGF β 刺激を与えた。
- *7 上皮間葉転換 (EMT)：細胞の形態は大きく上皮系と間葉系に分けられる。もともと上皮系であった細胞が間葉系に変化する現象を EMT と呼ぶ。EMT は発生、創傷治癒、癌の転移などに関わるとされている。

<発表雑誌>

Scientific Reports (サイエンティフィック・リポーツ)
(DOI: 10.1038/s41598-022-19782-5)

<論文タイトル>

CCIVR facilitates comprehensive identification of cis-natural antisense transcripts with their structural characteristics and expression profiles

<著者>

Tatsuya Ohhata, Maya Suzuki, Satoshi Sakai, Kosuke Ota, Hazuki Yokota, Chiharu Uchida, Hiroyuki Niida & Masatoshi Kitagawa

<研究グループ>

本研究は、浜松医科大学分子生物学講座を中心に、同大学先進機器共用推進部との共同研究として行われました。

<研究支援>

本研究は、日本学術振興会科学研究費補助金「科研費番号JP20K06541」（研究代表者・大畑樹也）および浜松医科大学 若手研究支援事業の支援によって行われました。

<本件に関するお問い合わせ先>

国立大学法人 浜松医科大学 分子生物学講座
〒431-3192 浜松市東区半田山 1-20-1
助教 大畑 樹也

Tel/Fax: 053-435-2323

E-mail: ohhata@hama-med.ac.jp

<参考図>

