

令和元年6月6日現在

機関番号：11101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K00392

研究課題名(和文)人工RNA回路のコンピュータ援用自動設計

研究課題名(英文)Computational RNA switch design for artificial RNA circuits

研究代表者

種田 晃人(Akito, Taneda)

弘前大学・理工学研究科・准教授

研究者番号：70332492

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：RNA配列を設計し人工的に遺伝子回路を制御する試みが合成RNA生物学の研究として近年注目されている。本研究課題の目的は、RNA回路のパーツとなりうる「二次構造を持つRNA配列を入力として動作するRNAスイッチ」をコンピュータにより設計する手法の開発、および設計に有用なエネルギーバリア予測法の開発である。本研究課題では、結合二次構造を考慮してRNA配列を設計する手法、ならびにアントコロニー最適化法を応用した新規なRNA二次構造折り畳み経路予測法の開発を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

合成生物学は、バクテリア等による有用物質生産や医療・創薬などの分野においてイノベーションを起こしうる新しいパラダイムとして期待されている。合成生物学では核酸などの生体分子を遺伝子回路の部品として扱うことから、高性能な遺伝子パーツの開発が行われている。本研究課題では、RNA配列をベースとした遺伝子パーツをコンピュータで設計するための新しい手法や、設計に有用なRNA二次構造折り畳み経路予測法の開発を行った。

研究成果の概要(英文)：Recently, in the field of RNA biology, much attention has been paid to designing RNA switches for artificial RNA circuits. The aims of the present study are “developing computational methods for designing RNA switches whose input molecule is a structured RNA sequence” and “developing an algorithm for predicting an energy barrier height between RNA secondary structures”. In the present study, we developed methods for designing RNA sequences that can form a specified joint secondary structure. In addition, we developed a novel ant colony optimization algorithm for RNA folding pathway prediction that can give useful information for designing RNA switches.

研究分野：ソフトコンピューティング

キーワード：RNA二次構造 ヒューリスティクス エネルギーバリア 分子設計 RNAスイッチ RNA間相互作用 RNA折り畳み経路予測

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

合成生物学は生命科学の新発見につながるものが期待されている新しい研究分野である。学術的な価値のみならず、バクテリア等による有用物質生産や医療・創薬などへの応用が可能であることから、産業上有用な分野においてイノベーションを起こしうる新しいパラダイムとしても期待されている。合成生物学では遺伝子回路を人工的に改編するために、タンパク質や核酸などの生体分子を部品として扱う。近年、「遺伝子パーツ」として天然のタンパク質遺伝子や機能性 RNA 遺伝子のみならず、人工的に設計された生体配列も利用できるようになってきたことから、高性能な遺伝子パーツを目指して開発が行われている。

コンピュータによる二次構造予測を利用した人工 RNA スイッチの設計としては、まず Smolke のグループにより報告されている RNA デバイスの設計が挙げられる。Smolke らは RNA アプタマーをセンサー部分(小分子などの入力分子を認識する)、リボザイムをアクチュエーター部分(入力の結果、mRNA を切断し遺伝子の発現を阻害する)として持つ人工 RNA スイッチの設計と細胞内での動作の検証を行った。ただし、Smolke らの設計法では、数十塩基程度の部分配列のみが最適化の対象となっており、設計の自由度はそれほど高くない。

また、ターミネーター配列をアクチュエーター部分として転写調節を行う人工 RNA スイッチの設計が Wachsmuth らにより報告されている。Rodrigo らは、「RNA 間相互作用を利用した RNA 回路」の二次構造予測に基づく自動設計法を提案している。Rodrigo らのアルゴリズムは、配列最適化のアルゴリズムとしてシンプルなシミュレーテッドアニーリング法を用いている点など、改善の余地がある。

さらに、上記の Rodrigo らのアルゴリズムが提案される以前に発表された人工 RNA スイッチ設計アルゴリズムとして Frnakenstein、RNA design の 2 つが挙げられる。ただしこれら 2 つの人工 RNA スイッチ設計アルゴリズムにおいては、RNA 間相互作用を考慮した設計についての報告は見当たらない。

2. 研究の目的

二次構造を持つ RNA 配列を設計し人工的に遺伝子回路を制御する試みが合成 RNA 生物学の研究として近年注目されている。本研究課題では二次構造付き RNA や小分子を入力とする RNA 回路をコンピュータにより設計する手法と、RNA スイッチ設計に有用なエネルギーバリア予測法の開発を目的とする。本研究の目的は RNA 回路設計に必要なと想定される計算手法の開発であり、開発したプログラムにより設計された配列の実験による機能の検証は目的としていない。

3. 研究の方法

(1) ヘアピン構造などの二次構造を持つ RNA 配列を入力として動作する人工 RNA スイッチを設計するアルゴリズムを開発する。代謝物質などの小分子を入力として動作する人工 RNA スイッチを設計するための核酸配列設計アルゴリズム (MODENA) は既に研究代表者により開発済みであり、本研究課題では MODENA を複数 RNA 配列の結合二次構造を扱えるよう拡張することで二次構造付き RNA を入力とした人工 RNA スイッチ設計へ対応させる。結合二次構造予測は RactIP または RNAcofold により行う。相互作用する RNA 配列からなる人工 RNA スイッチを設計するためのグラフィカルユーザーインターフェース付き設計ツールを開発する。

(2) 二次構造付き RNA を入力として動作する人工 RNA スイッチ設計アルゴリズムを開発した後、2 つの分子を入力とした論理ゲートを設計可能な手法の開発を行う。ON スイッチや OFF スイッチなど、単一の入力を持つ人工 RNA スイッチでは入力分子の有無により人工 RNA スイッチの上流または下流に位置する遺伝子の発現が制御されるが、2 入力の人工 RNA スイッチからなる論理ゲートでは 2 つの入力分子の有無のパターンにより出力分子の発現の有無を制御することができる。このようなパーツは、細胞内の複数種の分子の有無をセンシングして出力分子の発現を制御する RNA 回路を構成する際の基礎となりうる。

(3) RNA スイッチにおける構造上の特徴である「局所最適解を隔てるエネルギーバリア」を予測するために、独自に RNA 二次構造折り畳み経路予測法を開発する。これまでに、RNA 二次構造折り畳み経路予測問題に対する解を求めるための手法が複数発表されているが、Condon らにより報告されているように、RNA 二次構造折り畳み経路予測はシュードノットを考慮しない場合でも NP 困難であり、効率的にエネルギーバリアの値を求めるためにはヒューリスティクスを用いる必要がある。本研究課題では、RNA 二次構造折り畳み経路予測を進化的計算により行う新しいアルゴリズムの開発を行う。自由エネルギー計算は、RNAeval を用いて行う。

4. 研究成果

(1) これまで研究代表者が開発を行ってきた「複数のターゲット二次構造に対して RNA 配列を設計するプログラム (MODENA)」を拡張して、結合二次構造を考慮して 2 本の RNA 配列を設計する手法の開発を行った。本研究課題以前にも、入力として小分子が既知のアプタマー配列に結合し、その結果二次構造が変化するタイプの RNA スイッチの設計は MODENA で可能であったが、本研究課題の成果として、「二次構造を持つ RNA を入力分子として他の RNA の二次構造が変化し、遺伝子配列の発現を調節するタイプの RNA スイッチ」のコンピュータによる設計を MODENA により行うことが可能となった。このような RNA 間相互作用に基づく RNA スイッチは人工的な遺伝子回路を構築する際にたんに質を利用した遺伝子回路と比較して設計が容易であると考えられ、人工遺伝子回路を構築するために有用であるといえる。開発した設計手法に対し、「既知の RNA 間相互作用に見られる結合二次構造をターゲット構造としたデータセット」を用いてベンチマークを行い、本手法が従来の設計アルゴリズムよりも高い設計性能を示すことを確認した。

また、結合二次構造を利用する RNA スイッチを設計するためのウェブサーバ開発も行った (図 1, 2)。

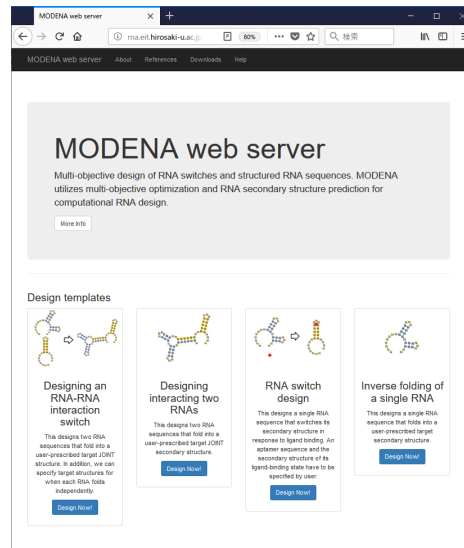


図 1 : 設計用ウェブサーバ画面

(2) 上記の研究成果(1)で述べた二次構造付き RNA 配列を入力として動作する人工 RNA スイッチ設計手法を拡張し、2 分子 (小分子と二次構造付き RNA 配列) を入力とする論理ゲートを設計する手法の研究を行った。具体例として、テオフィリンと二次構造付き RNA 配列を入力とした YES ゲートの設計を行った。相互作用する 2 つの RNA 配列 (相互作用前はそれぞれ異なる指定した二次構造を持ち、相互作用後は指定した結合構造を持つ) の設計、ならびに小分子と二次構造付き RNA 配列を入力として動作することを目的とした 2 入力の RNA スイッチの設計、の 2 点についてまとめた論文の投稿を予定している。

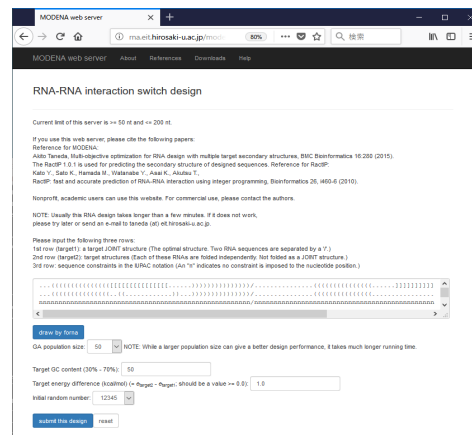


図 2 : 「RNA 間相互作用を利用した RNA スイッチ」設計用画面

(3) アントコロニー最適化法 (ACO) を応用した RNA 二次構造折り畳み経路予測法の開発を行った。RNA 二次構造の 1 塩基対の変化をエッジ、それぞれの二次構造をノードとしたグラフ構造を生成し、巡回セールスマン問題と同様にグラフを探索することで折り畳み経路の予測を行った (ただし RNA 二次構造折り畳み経路予測問題では全てのノードを訪れる必要はない)。巡回セールスマン問題とは異なり、生成した折り畳み経路のエネルギーバリアの高さに基づきその経路の評価を行った。計算を効率的に行うために、少ない計算量で得られる「開始構造と目的構造に含まれる塩基対のみで形成される直接経路」の結果を上限值としてグラフ構造中のノード数を削減するなどの処理を利用した。また、直接経路に対応するグラフ構造から漸進的にグラフ構造を更新することで、間接経路の予測を効率的に行うアルゴリズムとした。既知のリボスイッチ配列などを用いて性能評価を行った結果、従来手法 (ヒューリスティクス) による結果と同等以上の結果が得られた。また、2 本の RNA 配列の結合構造に対する折り畳み経路予測についても動作を確認した。

アントコロニー最適化法による RNA 二次構造折り畳み経路予測法の開発途中において、標準的なベンチマークデータセット (RNAtabupath の論文で用いられているデータセット) のデータの中に、計算量の大きさから予測が困難なケースがあった。これは、アントコロニー最適化法で探索を行うグラフ構造のサイズが大きいことが原因であった。これに対し、グラフ構造の生成アルゴリズムを効率的なものに変更することで、アルゴリズムの改善を行った。改善の結果、RNAtabupath の論文で用いられているデータセットの全てのデータに対して折り畳み経路予測を実行することができた。また、RNAtabupath の論文で用いられているデータセットに加え、SV-11 に対する予測も行うことができた。アルゴリズムや性能評価の結果を英語論文としてまとめ、論文投稿を行った。

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 4件)

Seira Takitou and Akito Taneda, Ant colony optimization for predicting RNA folding pathways, The Sixteenth Asia Pacific Bioinformatics Conference, 2018

Akito Taneda and Kengo Sato, Inverse folding of two interacting RNA molecules, 第5回生命医薬情報学連合大会, 2016

種田 晃人, 複数の指定した特徴を持つ RNA デバイスのコンピュータ援用設計, 第38回日本分子生物学会年会, 2015

種田 晃人, RNA デバイス設計のインフォマティクス, RNA インフォマティクス道場 2105 in 札幌, 2015

〔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://rna.eit.hirosaki-u.ac.jp/modena/web>

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。