

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K16143

研究課題名(和文) lncRNAを中心とした生体分子間相互作用ネットワークの予測と機能推定法の開発

研究課題名(英文) Prediction of macromolecular interactions involving lncRNAs

研究代表者

岩切 淳一 (Iwakiri, Junichi)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・助教

研究者番号：40770160

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、lncRNAの機能を推定するための情報基盤として、lncRNAの分子間相互作用予測を塩基配列およびRNA-seqの大規模な実験データから高精度に予測できる仕組みを構築し、ヒトおよびマウスのlncRNAの相互作用予測結果を網羅したWebサーバーを開発した。このWebサーバーを用いることで、いくつかのヒトlncRNAについて、lncRNA-RNA相互作用が核内構造体形成に参与していることが示唆される結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトの生体内には数万種類にも及ぶ機能未知の長鎖ノンコーディングRNA (lncRNA) が様々な体組織で特異的に発現し、複雑な分子間相互作用のネットワークを形成し、多様な生体制御を実現していると考えられている。本研究では、分子間相互作用の観点からlncRNAの機能を明らかにするために、lncRNAの分子間相互作用を配列および実験データから高精度に予測し、ヒトおよびマウスの全てのlncRNAの相互作用を網羅したWebサーバー (<http://rtools.cbrc.jp/LncRRlsearch/>) として公開した。これにより、lncRNAの機能解析研究を加速することが期待される。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have developed the web server "LncRRlsearch" containing lncRNA-RNA interactions comprehensively predicted using primary sequences and expression profiles derived from large scale RNA-seq experiment. Our preliminary study using this web server implies the relationship between nuclear body formation and lncRNA-RNA base-pairing interactions.

研究分野：RNA計算生物学

キーワード：長鎖ノンコーディングRNA lncRNA RNA-RNA相互作用 核内構造体

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトの生体内には数万種類にも及ぶ機能未知の長鎖ノンコーディング RNA (lncRNA) が様々な体組織・細胞・疾患で特異的に発現し、複雑な分子間相互作用のネットワークを形成することで多様な生体制御を実現していると考えられている。しかし、現状では、多様な lncRNA がヒトの様々な細胞に存在することだけが分かっており、個々の lncRNA がどのような機能を持っているかは、ほとんど明らかにされていないため、大量の lncRNA に対しての情報学的アプローチによる分類・機能解析が急務となっている。また、生体内の RNA は基本的に単独で機能を発揮することはなく、他の分子 (タンパク質や他の RNA) と特異的に結合 (相互作用) することによって機能することが知られているため、RNA の分子間相互作用の観点から lncRNA の機能を推定するアプローチが必要とされている。

### 2. 研究の目的

本研究では、lncRNA を中心とした生体分子の相互作用ネットワークを高精度に予測し、lncRNA の相互作用情報・各種実験データに基づき、lncRNA の機能を推定するための情報基盤技術の開発を行う。

### 3. 研究の方法

本研究では、当初 lncRNA を中心とした生体分子の相互作用ネットワーク情報と、様々な実験データを統合することにより、lncRNA の機能推定を行うための情報基盤技術の開発を行うことを計画しており、具体的には、下記の4つの研究項目を3年間で遂行する予定であった。

- (1) lncRNA の形成する分子間相互作用 (lncRNA - RNA, lncRNA - タンパク質) の予測
- (2) lncRNA を中心とした相互作用ネットワークの構築
- (3) 相互作用予測と実験データの統合による各組織・疾患で特異的な相互作用の抽出
- (4) 相互作用パートナーの機能情報に基づいた lncRNA の機能推定

実際の研究期間には、lncRNA-RNA 相互作用については、予測手法の開発から実験データの統合の(1)~(3)までを実施し、(4)については lncRNA-RNA 相互作用の観点から核内構造体形成を調べる仕組みを構築した。一方で、lncRNA-タンパク質相互作用については、類似の相互作用データベースが海外の研究グループにて発表されたことに伴い (Hu, B., et al. (2017). *Nucleic acids research*, 45(D1), D104-D114), (Zhu, Y., et al. (2019). *Nucleic acids research*, 47(D1), D203-D211.) 本研究でも同様のデータベースを開発するのではなく、これらの発表されたデータベースの活用を検討することとし、核内構造体形成などの lncRNA の機能解析研究に注力することとした。

### 4. 研究成果

#### (1) 組織別発現データを組み合わせた lncRNA-RNA 相互作用予測

従来、RNA-RNA 相互作用予測は、RNA 同士の配列相補性に基づいて行われてきた。一方で、ヒトの lncRNA の多くは、タンパク質コード遺伝子の mRNA と同様に 5' 末端のキャップ構造、3' 末端のポリ A 付加配列を有することが知られており、次世代シーケンサーを用いた RNA-seq の実験データの中に mRNA と同様に lncRNA の発現データも含まれている。そこで、lncRNA の RNA-RNA 相互作用について、従来の配列相補性に基づく相互作用予測に加えて、RNA-seq から得られる lncRNA や相互作用ターゲット RNA の発現データを組み合わせることで、予測性能の高精度化を図った。特に多くの lncRNA の発現は組織特異的であるという知見に基づき、様々な国際コンソ

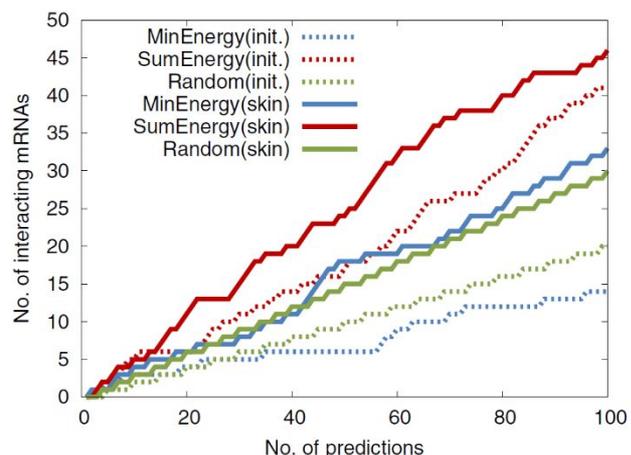


図1 発現データを組み合わせた相互作用予測

ーシアムが公開しているヒトの約 30 組織の発現データを収集し、発現の組織特異性を指標として、配列相補性による相互作用予測結果の絞り込みを行った結果、既に報告されている TINCR lncRNA の相互作用をより高い精度で予測できることを示した (図 1)。

#### [ 本成果に対応する研究業績 ]

Iwakiri, J., Terai, G., & Hamada, M. (2017). Computational prediction of lncRNA-mRNA interactions by integrating tissue specificity in human transcriptome. *Biology direct*, 12(1), 15.

## (2) lncRNA-RNA 相互作用予測の Web サーバー構築

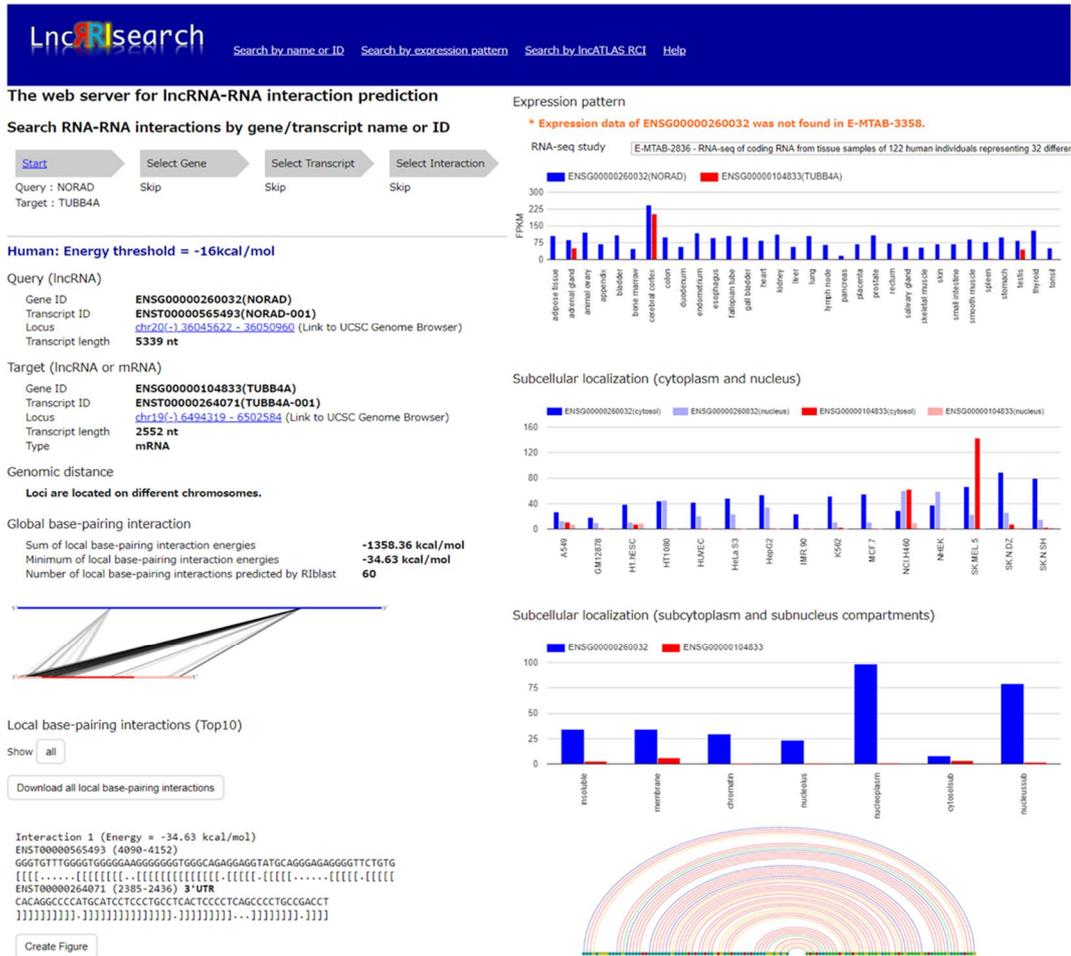


図2 Web サーバーLncRRISearch の検索結果

研究成果(1)の中で開発した lncRNA-RNA 相互作用予測手法をヒト (27,674 個) およびマウス (16,113 個) の全ての lncRNA について網羅的に適用し、予測結果を検索可能な Web サーバーとして公開した (<http://rtools.cbrc.jp/LncRRISearch/>)。発現データによる絞り込み機能としては、lncRNA と相互作用ターゲット RNA の発現パターンの組織特異性の他に、細胞内局在による絞り込みも新たに追加した。この Web サーバーでは、予測された個々の相互作用について、従来の配列相補性に基づく lncRNA-RNA 相互作用に加えて (図2左側) 様々な発現データの詳細 (図2右側) を閲覧することが可能である。

[ 本成果に対応する研究業績 ]

Fukunaga, T., Iwakiri, J., Ono, Y., & Hamada, M. (2019). LncRRISearch: a web server for lncRNA-RNA interaction prediction integrated with tissue-specific expression and subcellular localization data. *Frontiers in genetics*, 10, 462.

## (3) 核内構造体形成と lncRNA-RNA 相互作用についての研究

近年、lncRNA の一部は核内で非膜性構造体形成の骨格として用いられていることが明らかになってきた (Chujo, T., et al. (2017). *The EMBO journal*, 36(10), 1447-1462.)。これらの構造体は多数の RNA やタンパク質の複合体であり、RNA-タンパク質相互作用によって形成・維持されていると考えられてきた。一方で、一部の高発現 lncRNA は、核内での局所的な RNA 濃度が高くなり、塩基対形成による RNA-RNA 相互作用によって構造体の骨格が形成されるというモデルも提唱されている (Van Treeck, B., & Parker, R. (2018). *Cell*, 174(4), 791-802.)。

我々は研究成果(1)および(2)にて、lncRNA-RNA 相互作用予測について多くの研究を行ってきた。現在、その中で開発した Web サーバーの LncRRISearch を用いて、核内構造体を形成し得る lncRNA 候補の探索を始めており、いくつかの lncRNA については、構造体形成を示唆する RNA-RNA 相互作用の特徴を発見している (現在、論文準備中)。

#### (4) 核内構造体を構成する lncRNA の機能解析

ヒト細胞核内において熱ストレス時に形成される核内ストレス体 (nSB) は、HSATIII lncRNA を骨格とした核内構造体であるが、その機能は良く知られていなかった。そのため、北海道大学 (現在、大阪大学) の廣瀬先生・二宮先生のグループが HSATIII lncRNA のノックダウンを行った細胞での RNA-seq 実験を実施し、我々のグループにてデータ解析を行った。その結果、HSATIII lncRNA は約 400 種類のタンパク質コード遺伝子の mRNA について、一部イントロンのスプライシングを抑制し、pre-mRNA の状態で核内に留めていることが明らかになった。さらにこのような制御を受けるイントロンの特徴を調べたところ、上流および下流のエキシソンの長さが比較的長いことも明らかになった。

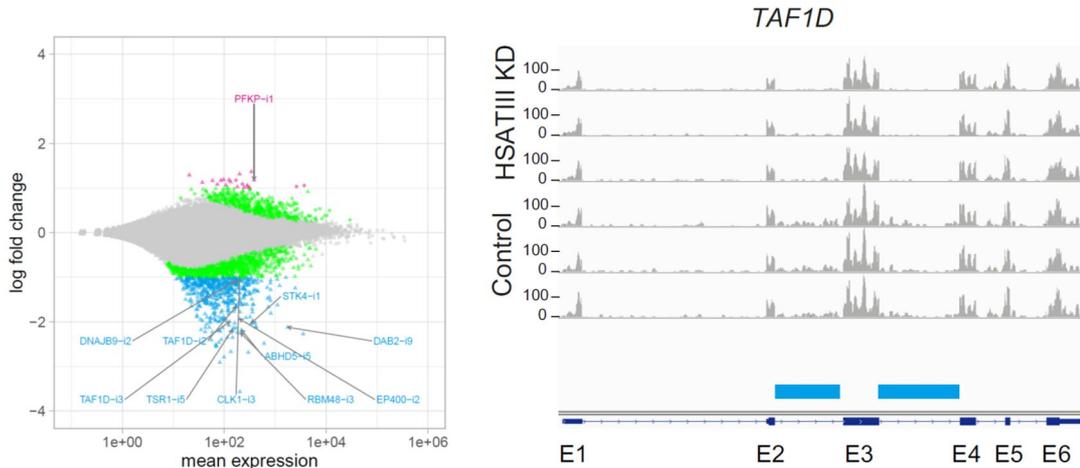


図 3 RNA-seq データ解析による HSATIII lncRNA の制御ターゲットとなるイントロンの検出

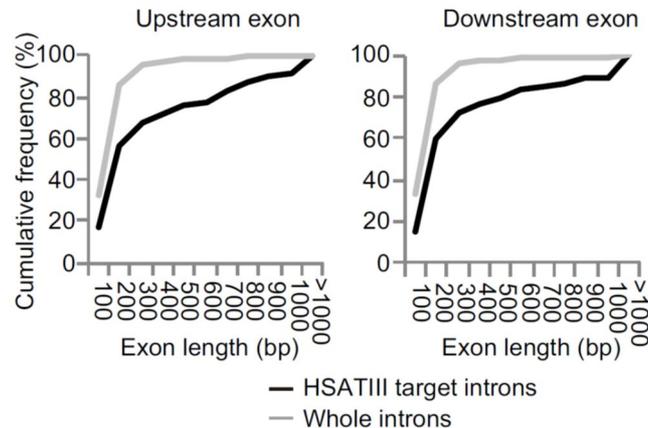


図 4 HSATIII lncRNA の制御ターゲットとなるイントロンの特徴解析

[ 本成果に対応する研究業績 ]

Ninomiya, K., Adachi, S., Natsume, T., Iwakiri, J., Terai, G., Asai, K., & Hirose, T. (2019). LncRNA dependent nuclear stress bodies promote intron retention through SR protein phosphorylation. *The EMBO journal*.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7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 Ninomiya Kensuke, Adachi Shungo, Natsume Tohru, Iwakiri Junichi, Terai Goro, Asai Kiyoshi, Hirose Tetsuro	4. 巻 39
2. 論文標題 LncRNA dependent nuclear stress bodies promote intron retention through SR protein phosphorylation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 e102729
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/embj.2019102729	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Fukunaga Tsukasa, Iwakiri Junichi, Ono Yukiteru, Hamada Michiaki	4. 巻 10
2. 論文標題 LncRRsearch: A Web Server for lncRNA-RNA Interaction Prediction Integrated With Tissue-Specific Expression and Subcellular Localization Data	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Genetics	6. 最初と最後の頁 462
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fgene.2019.00462	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 Kawaguchi Risa, Kiryu Hisanori, Iwakiri Junichi, Sese Jun	4. 巻 20
2. 論文標題 reactIDR: evaluation of the statistical reproducibility of high-throughput structural analyses towards a robust RNA structure prediction	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BMC Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 130
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12859-019-2645-4	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 Hagio Taichi, Sakuraba Shun, Iwakiri Junichi, Mori Ryota, Asai Kiyoshi	4. 巻 19
2. 論文標題 Capturing alternative secondary structures of RNA by decomposition of base-pairing probabilities	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 BMC Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 38 ~ 38
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12859-018-2018-4	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 Chishima Takafumi、Iwakiri Junichi、Hamada Michiaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Identification of Transposable Elements Contributing to Tissue-Specific Expression of Long Non-Coding RNAs	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 23～23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes9010023	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 Iwakiri Junichi、Terai Goro、Hamada Michiaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Computational prediction of lncRNA-mRNA interactions by integrating tissue specificity in human transcriptome	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biology Direct	6. 最初と最後の頁 15～15
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13062-017-0183-4	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 岩切淳一、浜田道昭	4. 巻 56
2. 論文標題 長鎖ノンコーディングRNAのためのバイオインフォマティクス	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 生物物理	6. 最初と最後の頁 217-220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.56.217	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13件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 5件)

1. 発表者名 Junichi Iwakiri, Martin C. Frith, Michiaki Hamada, Kiyoshi Asai
2. 発表標題 Computational analysis pipeline for recent RNA-seq methods involving induced-substitutions
3. 学会等名 FRONTIERS OF GENOME SCIENCE: The International symposium organized by "Platform for Advanced Genome Science" (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Akihiro Imaeda, Ryota Oikawa, Kiyoshi Asai, Junichi Iwakiri, Shun Sakuraba, Naoko Abe, Fumiaki Tomoike, Yasuaki Kimura, Hiroshi Abe
2. 発表標題 Synthesis of mRNA with site-specific N6-methyladenosine and its translation efficiency
3. 学会等名 ISNAC2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 岩切淳一, Martin C. Frith, 浜田道昭, 浅井潔
2. 発表標題 先進的RNA-seqのデータ解析を改善するマッピングパラメータ学習
3. 学会等名 第20回日本RNA学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 今枝昭裕, 筈川涼太, 浅井潔, 岩切淳一, 桜庭俊, 阿部奈保子, 友池史明, 木村康明, 阿部洋
2. 発表標題 N6-アルキルアデノシンの導入位置を制御したmRNAの合成とその翻訳能
3. 学会等名 第20回日本RNA学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 二宮賢介, 足達俊吾, 夏目徹, 岩切淳一, 寺井悟朗, 浅井潔, 廣瀬哲郎
2. 発表標題 核内ストレス体によるストレス回復期のスプライシング制御
3. 学会等名 第20回日本RNA学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takafumi Chishima, Junichi Iwakiri, Michiaki Hamada
2. 発表標題 Identification of Transposable Elements which contribute to tissue specific expression of lncRNAs
3. 学会等名 第6回生命医薬情報学連合大会(IIBMP)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Mei Takeda, Junichi Iwakiri, Michiaki Hamada
2. 発表標題 Estimation of mapping parameters for PAR-CLIP data using LAST-TRAIN
3. 学会等名 第6回生命医薬情報学連合大会(IIBMP)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福永 津嵩、岩切 淳一、小野 幸輝、浜田 道昭
2. 発表標題 lncRNA-mRNAの網羅的相互作用予測へ向けた高速なRNA-RNA相互作用予測ソフトウェアRiblastの開発
3. 学会等名 第19回日本RNA学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 千島 崇史, 岩切 淳一, 浜田 道昭
2. 発表標題 lncRNAの組織特異的な発現に関するTransposable Elementの同定
3. 学会等名 第19回日本RNA学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 福永 津嵩, 岩切 淳一, 小野 幸輝, 浜田 道昭
2. 発表標題 ヒトlncRNA-RNAの網羅的相互作用予測及びデータベースの構築
3. 学会等名 第五回NGS現場の会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Junichi Iwakiri, Goro Terai, Michiaki Hamada
2. 発表標題 Computational prediction of lncRNA-mRNA interactions by integrating tissue-specificity of human transcripts
3. 学会等名 RNA 2016: The 21st Annual Meeting of the RNA Society (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Junichi Iwakiri, Michiaki Hamada, Kiyoshi Asai, Tomoshi Kameda
2. 発表標題 Improved accuracy in RNA-protein rigid body docking by incorporating force field for molecular dynamics simulation into the scoring function
3. 学会等名 RNA 2016: The 21st Annual Meeting of the RNA Society (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Wataru Okada, Junichi Iwakiri, Michiaki Hamada
2. 発表標題 Investigation of evolutionarily conserved NEAT1-NEAT1 interactions
3. 学会等名 RNA 2016: The 21st Annual Meeting of the RNA Society (国際学会)
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Junichi Iwakiri, Kiyoshi Asai	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Elsevier	5. 総ページ数 3284(575-584)
3. 書名 Encyclopedia of Bioinformatics and Computational Biology Vol.2	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----