

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月18日現在

機関番号：11101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22700304

研究課題名（和文） 真核生物ゲノムにおけるRNAインタラクトーム予測

研究課題名（英文） RNA interactome prediction in eukaryotic genomes

研究代表者

種田 晃人（TANEDA AKITO）

弘前大学・大学院理工学研究科・准教授

研究者番号：70332492

研究成果の概要（和文）：RNA 配列解析のための計算手法として、多目的遺伝的アルゴリズムによる RNA 配列アライメント予測システムと、RNA 配列設計手法の開発を行った。開発したシステムにより予測されるアライメントと共通二次構造は、RNA 間相互作用予測を行う際に有用な情報を与えている。また、開発した配列設計法は、RNA 間相互作用を含む他の手法では困難なタイプの機能性 RNA 配列設計にも適用可能であり、人工的に機能性 RNA を設計する際に有用である。

研究成果の概要（英文）：We have developed computational RNA sequence analysis tools including a prediction system for RNA sequence alignment and an RNA sequence design method on the basis of multi-objective genetic algorithm. Alignments and secondary structures predicted by our system can give useful information for RNA-RNA interaction prediction. Moreover, our RNA sequence design method can be applied to RNA device design problems which are difficult for the other previous RNA sequence design methods.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,700,000	510,000	2,210,000

研究分野：生命情報学

科研費の分科・細目：情報学・生体生命情報学

キーワード：生体生命情報学、RNA 工学、ゲノム、遺伝子

1. 研究開始当初の背景

miRNA、RNAi、snoRNA、アンチセンス RNA、など、RNA 間相互作用が遺伝子調節などの重要な生命機能に深い関わりを持ち、生命工学的に高い有用性を持つことが近年明らかとなってきた。さらに、解読が終了したゲノム配列に対するハイスループット実験や比較ゲノムにより、非翻訳 RNA が真核生物ゲノム

中に多数存在することも分かってきた。これら非翻訳 RNA の大半は機能未知であることから、まだ未発見の RNA 間相互作用がゲノム中に存在している可能性は極めて高く、今後その探索が国際的な競争となることが予想される。非翻訳 RNA 遺伝子の探索と同様に、ゲノムスケールでの RNA 間相互作用の解明 (RNA インタラクトームの解明) やその成果の合成

生物学への応用のためには RNA 配列アライメントなどのバイオインフォマティクスを利用することが重要であり、国際的な競争に打ち勝つためには高性能な RNA 配列解析手法を充実させていく必要がある。

2. 研究の目的

本研究課題では、RNA 間相互作用に関係する配列解析技術の開発とその応用を目的とする。RNA 間相互作用を持つ機能性 RNA の配列設計も目的とする。

3. 研究の方法

二次構造を考慮した RNA 配列アライメントにより予測された機能性 RNA 配列候補に対して RNA 間相互作用予測を行うことを想定し、高精度な RNA 配列アライメント手法について研究を行う。次に、近年の RNA 合成生物学の進展を鑑み、多目的遺伝的アルゴリズムに基づく RNA 配列設計手法の開発を行う。多目的遺伝的アルゴリズムによる配列設計では、RNA 間相互作用を持つ機能性 RNA 配列設計が可能な手法の開発を行う。具体的には、Breaker のグループから 2005 年に発表された「オリゴヌクレオチド配列を入力信号としてリボザイム構造へ変化することで別なオリゴヌクレオチドを出力する RNA デバイス」の自動設計を行うための機能について開発を行う。

RNA 間相互作用の予測は、それぞれの RNA 配列で予測された二次構造のループ領域同士の間で分子間相補鎖を計算することで行う。

4. 研究成果

(1) Cofolga2mo を中心とした RNA 配列アライメント・二次構造予測システムの開発：入力された RNA 配列に対して、多目的遺伝的アルゴリズムを用いて配列類似度と共通二次構造を同時に考慮し高精度なペアワイズアライメントを出力するシステムの開発を行った。多目的遺伝的アルゴリズムによる RNA 配列アライメントでは、目的関数として配列類似度スコアと構造スコアの 2 つを考慮し、その最大化問題に対して弱パレート最適解の探索を行う。得られた解集合（複数の RNA 配列アライメント）の中には高精度なアライメントが含まれるが、Cofolga2mo から 1 度の計算で出力される RNA 配列アライメントの数はベンチマークテストによると平均で約 34 であった。高精度なアライメントを失うことなく、出力されるアライメント数をより絞り込むことができれば、RNA 配列アライメント手法としての有用性がより高まる。我々は、線形重み付け指標と呼んでいるアライメン

ト評価法を導入することで、得られた弱パレート最適解に含まれる RNA 配列アライメントに順位付けを行い、その上位 10 個のアライメントの中に高精度なアライメントが含まれることを見出した。BRALiBase 2.1 に基づくベンチマークテストを行い、線形重み付け指標により順位付けし得られた上位 10 個のアライメントには、平均として従来手法 (Foldalign、Dynalign) よりも高精度なアライメントが含まれていることを確認した。開発したシステムにより予測されるアライメント・共通二次構造は RNA 間相互作用予測を行う際に有用な情報となる。この RNA 配列アライメント・二次構造予測システムは Cofolga2mo ウェブサーバとして一般に公開済みである。

(2) 多目的遺伝的アルゴリズムを用いた RNA 配列の設計手法 (MODENA) の開発：近年、人工的な機能性 RNA 配列の設計が合成 RNA 生物学として注目されている。これまでに非翻訳 RNA の多様な機能が明らかにされてきているが、非翻訳 RNA の機能はその二次構造と密接に関連していると考えられ、人工的に RNA 配列の二次構造を制御することができれば指定した機能を持つ RNA 配列を創り出せる可能性がある。この様な観点から、これまでも RNA 配列設計アルゴリズム (逆 RNA フォールディングアルゴリズム) が複数提案されているが、どの手法も①アダプティブウォークなどの局所探索手法を用いていること、②単一の目的関数のみを考慮しており、より複雑な設計への対応が困難であること、などの問題点があった。我々は、これらの問題点を改善するために、大域的最適化アルゴリズムである多目的遺伝的アルゴリズムを RNA 配列設計に利用する手法 (MODENA) を提案した。従来手法では「指定した構造」と「設計した RNA 配列の構造」の間の構造類似度のみを目的関数としていたのに対し、MODENA では構造類似度と自由エネルギーの 2 つを目的関数とすることで、従来手法では困難であった幅広い自由エネルギー分布を持つ RNA 配列群を設計することを可能とした。従来手法では困難であった、天然の RNA 配列に近い安定性を持つ RNA 配列の設計が容易となるなど、MODENA は機能性人工 RNA の可能性を大きく広げる新手法であるといえる。

(3) 多目的遺伝的アルゴリズムによる RNA 配列設計手法 (MODENA) の拡張
①非翻訳 RNA の中には、シュードノット構造と呼ばれる、標準的な RNA 二次構造よりも複雑な構造が機能を担っている例が知られている。以前の MODENA はシュードノット構造へ対応していなかったことから、シュードノット構造への拡張を行った。拡張は、独自に

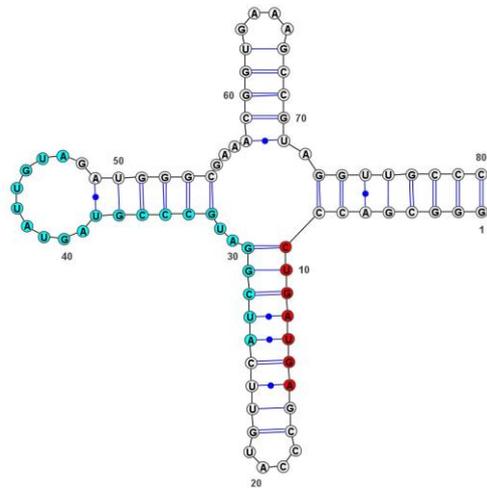


図1 OFF 状態の二次構造の例

考案した「シュードノットを持つ RNA 配列の設計に適した遺伝的交差オペレーター」を MODENA に実装し、シュードノット構造を予測可能な IPknot、HotKnots を構造予測法として利用することで行った。拡張を施した MODENA をシュードノット構造データベース PseudoBase から取得したシュードノット構造を用いてベンチマークテストを行った。その結果、MODENA は従来のアルゴリズム (Inv) と比較してより高い配列設計性能を示すことが分かった。

②RNA 間相互作用により構造変化して機能のスイッチングを行う RNA 配列 (RNA デバイス) の設計を MODENA で可能とするために、配列設計の際に考慮する目的関数の数を従来の 2 から 3 以上へ拡張した。「オリゴヌクレオチド配列を入力信号としてリボザイム構造へ変化することで別なオリゴヌクレオチドを出力する RNA デバイス」の設計が MODENA を応用して自動化できることを見出した。図 1 および図 2 に、設計した RNA 配列の二次構造の例を示す。二次構造中に青で示したヌクレオチドに相補的なオリゴヌクレオチドが結合していない場合 (図 1) を OFF、結合している場合 (図 2) を ON の状態とする (結合したオリゴヌクレオチドは図 2 では省略してある)。ON の状態では赤で示したヌクレオチドがループ構造となり、かつリボザイムとして機能する二次構造が最安定となる。このように、MODENA を用いることで、オリゴヌクレオチドが結合していない場合には OFF の構造が、結合している場合には ON の構造が最安定となる RNA 配列を設計することができた。このような RNA 配列の設計は、リボザイムの自己切断の機能により、オリゴヌクレオチドの有無に応じて部分配列を出力する「RNA デバイス」を設計する際に有用である。この成果については分子生物学会年回で発表済みであ

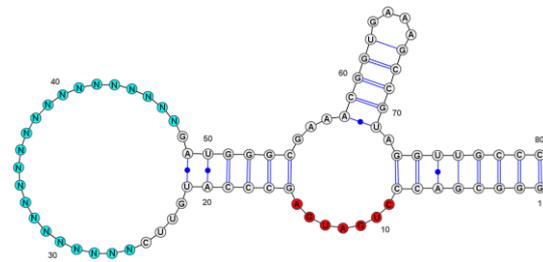


図2 ON 状態の二次構造の例

る。

国内外において、RNA の配列設計アルゴリズムは二次構造予測や配列アライメントのアルゴリズムと比べて非常に発表の数が少ない。本研究で開発した「複数の条件を満たす RNA 配列を設計可能な配列設計アルゴリズム」は、様々な拡張が可能な柔軟性に富んだ手法であり、今後の RNA 工学の発展に資する計算手法であると考えている。

ゲノム配列に対する網羅的な RNA 間相互作用の探索については今後継続して行う予定である。

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 3 件)

① Akito Taneda, Multi-objective genetic algorithm for pseudoknotted RNA sequence design, *Frontiers in Genetics*, 査読有、3 巻、2012、36 (9 ページ)

② Akito Taneda, MODENA: a multi-objective RNA inverse folding, *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*, 査読有、4 巻、2011、1-12

③ Akito Taneda, A Web Server for Multi-objective Pairwise RNA Sequence Alignment with an Index for Selecting Accurate Alignments, *IPJS Transactions on Bioinformatics*, 査読有、4 巻、2011、2-8

[学会発表] (計 5 件)

① 種田 晃人, Computational RNA sequence design toward creation of artificial functional RNAs, 第 34 回日本分子生物学会年会 (シンポジウム講演)、2011 年 12 月 14 日、パシフィコ横浜 (神奈川県)

② 種田 晃人, 構造変化を伴う機能性 RNA

の配列設計、第 10 回 RNA/RNP を見つける会、
2011 年 9 月 16 日、カルチャーリゾート フェストーネ（沖縄県）

③種田 晃人、RNA の逆フォールディング、
次世代バイオインフォマティクス研究会
2011、2011 年 8 月 2 日、産業技術総合研究所
北海道センター（北海道）

④種田 晃人、多目的最適化による RNA 配
列解析、新しい RNA/RNP を見つける会 2010、
2010 年 9 月 6 日 弘前大学コラボレーショ
ンセンター（青森県）

⑤ 種田 晃人、A multi-objective
evolutionary algorithm for RNA sequence
design、生命情報工学研究センターワークシ
ョップ 2010 (CBRC2010)、2010 年 7 月 27 日、
産業技術総合研究所 臨海副都心センター別
館（東京都）

[その他]

ホームページ等

<http://rna.eit.hirosaki-u.ac.jp/cofolga2mo/srv/>

<http://rna.eit.hirosaki-u.ac.jp/modena/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

種田 晃人 (TANEDA AKITO)

弘前大学・大学院理工学研究科・准教授

研究者番号：70332492