

平成 25 年度 京都大学化学研究所スーパーコンピュータシステム利用報告書

後生動物におけるイントラジェニック miRNA とホスト遺伝子の機能関連解析 Functional relationship between miRNA and its host gene in metazoan species 化学研究所 化学生命科学 西村 陽介

背景と目的

miRNA は動物や植物等の様々な生物種がコードする機能性低分子 RNA であり、後生動物においては複数のターゲット遺伝子の発現抑制を行うことによってシグナル伝達や細胞分化等の制御分子として機能する。また癌を始めとする各種疾患にも重大な関連が指摘され、臨床診断マーカーや創薬ターゲットとして注目を集めている。後生動物において miRNA によるターゲット遺伝子の発現抑制効果は一部の例外を除き、ターゲット mRNA の 3' UTR に不完全ながら相補的に結合することによる mRNA の分解促進や翻訳抑制を行うことによって生じる。しかし実験的に確認されたターゲット遺伝子は少なく、個々の miRNA がどのような細胞制御機能を果たしているかについては未だ解明途上である。

後生動物 miRNA の半数程度は既知のタンパク質コード領域にゲノム上で重複していることが知られている。これらの miRNA と遺伝子はそれぞれイントラジェニック miRNA とホスト遺伝子と呼ばれるが、一つのユニットとして同時に転写されるものが多く、発現量の相関が見られるという報告がなされており、相互に機能的な関連性があるのではないかと推測される。そこで報告者はイントラジェニック miRNA がホスト遺伝子の機能的レギュレーターであるという仮説を立てた。計算機を用いて miRNA のターゲットを予測し、イントラジェニック miRNA とホスト遺伝子との機能的な関連について種間比較を含めた手法によりこの仮説の検証を行うことによって、イントラジェニック miRNA の機能解明を行うことを目的とした。

手法と結果

前述の仮説を検証するために、イントラジェニック miRNA のホスト遺伝子に対する制御モデルとして、直接的制御モデルと機能的制御モデルを構築した。前者はイントラジェニック miRNA が直接ホスト遺伝子をターゲットとするモデルで、後者はイントラジェニック miRNA がホスト遺伝子と同一機能カテゴリー内の遺伝子を制御することを通じてホスト遺伝子の機能を間接的に制御するモデルである。miRNA のターゲット情報については、実験的に確認されたターゲットを用いてテストセットを構築し、発表されている 5 つの予測手法の精度を評価した結果、その中から 3 つの手法を組み合わせて予測することが最良であるという結果を得た。このターゲット情報をもとにイントラジェニック miRNA とホスト遺伝子の各組に対して直接的制御モデルと機能的制御モデルを用いて仮説の検証を行った。機能的制御モデルに関してはパスウェイと機能階層情報を機能カテゴリーとして使い、ホスト遺伝子と同じ機能カテゴリーにイントラジェニック miRNA のターゲットが集中的に存在するかについて統計的検定を行った。この予測結果をもとにイントラジェニック miRNA とホスト遺伝子の各組に対して直接的制御モデルと機能的制御モデルを用いて仮説の検証を行った。機能的制御モデルに関しては KEGG データベースのパスウェイと機能階層情報(BRITE)を機能カテゴリーとして使い、ホスト遺伝子と同じ機能カテゴリーにイントラジェニック miRNA のターゲットが集中的に存在するかについて統計的検定を行った。結果として、直接的制御モデルは全体の 12.6%の組で、間接的制御モデルは 27.3%の組でそれぞれ確認された。さらに、両者のうち少なくともどちらかが成立する組は 34.9%に達し、少なくない数のイントラジェニック miRNA がホスト遺伝子のレギュレーターとして機能している可能性が示唆

された。

また、これらの制御モデルが種間で保存されているかどうかを検証した。宿主遺伝子の進化的な類縁関係を調べると、種間で保存されているイントラジェニック miRNA と宿主遺伝子が多数存在していることが分かった。そこで宿主遺伝子のオーソログ情報を用いて、種間で保存されている宿主遺伝子とイントラジェニック miRNA を調べた所、174 のオーソログにおいてイントラジェニック miRNA が 3 生物種以上で保存されていた。さらにその中で 65 のオーソログにおいて直接的制御モデルか機能的制御モデルのどちらかが 3 生物種以上で保存されていることが確認された。

さらに近年では、前駆体 miRNA から2つの異なる成熟 miRNA (3p arm, 5p arm) が生じ、その両方が機能的であるという知見が蓄積されてきている。そこで発表者はイントラジェニック miRNA の 3p arm, 5p arm の両方のターゲットが、宿主遺伝子が関連する KEGG パスウェイ上にどのように分布しているかを調べた所、3p arm と 5p arm がそれぞれ排他的に分担して宿主遺伝子が関わるシグナル伝達ネットワークの構成遺伝子をターゲットとしている例が見られた。この結果は、イントラジェニック miRNA が 3p arm と 5p arm の双方を介して宿主遺伝子のシグナル伝達ネットワーク上でレギュレーターとして機能していることを示唆している。

考察

直接的制御モデルや間接的制御モデルによって、少なくない数のイントラジェニック miRNA が宿主遺伝子のレギュレーターとして機能していることが示唆され、さらにそれらの制御関係が宿主遺伝子のオーソログに関して保存される傾向にあることが分かった。これらのことから、イントラジェニック miRNA の宿主遺伝子に対するレギュレーターとしての機能が進化の過程を通して重要であるという可能性が考えられる。今後も継続的に解析を進めて行きたい。