

若手研究者インターナショナル・トレーニング・プログラム(ITP)

バイオインフォマティクスとシステムズバイオロジーの国際連携教育研究プログラム 応募書類

Name: 藤田 恵
Title: 3' 非翻訳領域の進化に関する研究
Institute: 京都大学化学研究所バイオインフォマティクスセンター
Partner institute of your choice : Systems Biology of Gene Regulatory Elements Group, The Max Delbrück Center for Molecular Medicine (MDC) in Berlin-Buch
Duration of your choice: 2012年4月8日～2012年7月4日
Plan : <u>滞在の目的</u> 今回私が滞在を希望する MDC の N. Rajewsky 研究室では、主に動物の遺伝子発現制御機構をバイオインフォマティクスの手法と実験生物学の手法の両方を用いて解析している。特に彼らは、small RNA や RNA 結合タンパク質による翻訳後調節に焦点を当てて研究している。これらを明らかにするために、現在までに主に以下のような研究成果がある。 <ul style="list-style-type: none">・コンピューターによる microRNA のターゲット予測手法の開発[1, 2, etc.]・microRNA の発現抑制の研究[3]・転写因子と microRNA による遺伝子発現制御の進化研究[4]・microRNA を同定するためのアルゴリズムの開発[5, 6]・<i>C. elegans</i> の網羅的な 3' 非翻訳領域の同定[7]・RNA 結合タンパク質の結合部位の同定と機能解析[8, 9] 私は或る動物種の 3'非翻訳領域の進化研究を行っているが、私が所属している研究室には RNA や 3' 非翻訳領域についてのエキスパートがおらず、研究を手さぐりで行わざるを得ない状況にある。今回の滞在によって、私の研究課題について有益な議論が行えることは間違いなく、それにより研究が大幅に進捗することが期待できると考え、N. Rajewsky 研への研究滞在を強く希望する次第である。 また、私は修士課程で実験生物学を修め、博士後期課程でバイオインフォマティクスを勉強中である。将来的には、情報処理技術を身に付けた多くの実験生物学者が台頭してくることは想像に難くない。現在の研究室はバイオインフォマティクスのみ行える環境であるが、N. Rajewsky 研は上述の様に研究室内に、バイオインフォマティクスと実験生物学の両方の手法を行える環境が整い、数々の成果を上げている。このような体制をもつ研究室は日本でも数少ない。研究室をどのようにマネジメントしたらこのような効率的なアウトプットが得られるのかを勉強し、今後のキャリアの参考にしたいと考えている。 <u>研究計画</u> mRNA の安定性、翻訳効率や細胞内局在に関する制御は、mRNA 上の 5'、3' 非翻訳領域に存在するシスエレメント等が多くを担っている。特に 3' 非翻訳領域はポリ A 部位、RNA 結合タンパク質の結合部位、microRNA の結合部位など多くのモチーフを持っている。また、さまざまな生命活動において microRNA による遺伝子発現制御が行われており、その重要性から、microRNA のターゲットである 3' 非翻訳領域に注目が集まっている。近年、線虫で網羅的な完全長 3' 非翻訳領域の同定が行われ、一つの遺伝子が複数の 3' 非翻訳領域をコードしており、発生の過程や年齢によって 3' 非翻訳

Plan (Continued)

領域を使い分けているなど様々な報告がなされた[7]。これらの知見から、私は研究対象に 3' 非翻訳領域を選んだ。

上述の通り、現在私は或る動物種の 3' 非翻訳領域の進化研究を行っており、滞在先では以下の戦略で研究を進める予定である。

或る動物種の変異体と野生株のゲノムを、それぞれデータベースから取得し、3' 非翻訳領域の抽出を行う。コントロールとしてイントロン、タンパク質翻訳領域(CDS) (、遺伝子間領域) の抽出も行う。以降の解析には変異体と野生株各々の 3' 非翻訳領域とコントロールを用いる。

- (1) SNP と InDel をマッピング、カウントする。
- (2) SNP と InDel がマップされた部位が、microRNA の結合部位、RNA 結合タンパクの結合部位あるいはポリ A 部位と重なるかどうか、コンピューター予測などの手法を用いて解析する。
- (3) 上流の遺伝子情報から、gene ontology を用いて遺伝子を機能分類する。
- (4) (1)~(3)の情報を用いて統計解析を行い、結果に有意差があるかどうか検討する。

以上の結果から、野生株と比べて変異体において、3' 非翻訳領域に特に偏って変異が蓄積している遺伝子群を導き出すことができると期待される。この解析から導きだされた遺伝子群は、変異体において野生株と比べて特に遺伝子の発現量が変化している可能性があり、今後のトランスクリプトーム解析の試金石となる。

さらに、CDS に入った non-synonymous SNP や nonsense mutation の遺伝子群と比較することで、同様の遺伝子群の 3' 非翻訳領域もまた配列変化を起こしやすいのか。もしくは全く異なる遺伝子群の 3' 非翻訳領域が配列変化を起こしやすいのかが分かり、3' 非翻訳領域の進化について新たな知見を得ることができると期待される。

[1] Rajewsky N and Socci ND, Computational identification of microRNA targets. *Developmental Biology* 267 (2): 529-535 (2004)

[2] Krek A, et al., Combinatorial microRNA target predictions, *Nature Genetics* 37 (5): 495-500 (2005)

[3] Krutzfeldt J, et al., Silencing of microRNAs in vivo with 'antagomirs', *Nature* 438 (7068): 685-689 (2005)

[4] Chen K and Rajewsky N, The evolution of gene regulation by transcription factors and microRNAs, *Nature Reviews Genetics* 8 (2): 93-103 (2007)

[5] Friedlaender MR, et al., Discovering microRNAs from deep sequencing data using miRDeep, *Nature Biotechnology* 26 (4): 407-415 (2008)

[6] Mackowiak SD, Identification of novel and known miRNAs in deep-sequencing data with miRDeep2, *Current protocols in bioinformatics Chapter 12: Unit12.10* (2011)

[7] Mangone M, et al., The Landscape of *C. elegans* 3'UTRs, *Science* 329 (5990): 432-435 (2010)

[8] Jungkamp AC, et al., In vivo and transcriptome-wide identification of RNA binding protein target sites, *Molecular Cell* 44 (5): 828-840 (2011)

[9] Lebedeva S, et al., Transcriptome-wide analysis of regulatory interactions of the RNA-binding protein HuR, *Molecular Cell* 43 (3): 340-352 (2011)