

(様式 3)

平成 24 年度学融合推進センター学融合研究事業 研究成果報告書

研究テーマ名称	ショウジョウバエにおける miRNA 遺伝子と標的遺伝子の共進化の検証
応募事業区分	事業枠②「若手研究者研究支援」
申請代表者氏名	野澤 昌文

○ 研究状況報告

miRNA 遺伝子と標的遺伝子の共進化を検証するためには、最低でも近縁種の miRNA 遺伝子の配列に違いがなければならない。そこでまず、*Drosophila melanogaster* と *D. simulans* の間で配列の異なる miRNA 遺伝子 19 個を同定した。次に、その中で特に共進化している可能性の高い 4 つの miRNA 遺伝子を抽出し、そのうち 3 つの miRNA についての遺伝子強制発現系統（全身）を作製した。得られた強制発現個体と野生型個体の幼虫の遺伝子発現を RNA-seq 法によって網羅的に解析し、野生型に比べて変異系統において有意に発現量が減少している遺伝子群を選別した。さらに、生物情報学的手法を用いて miRNA と候補遺伝子の mRNA 配列の相補性を調べ、相補性の高いものだけを標的遺伝子群として同定した。この結果をもとに、今後 *D. simulans* の miRNA を持つ *D. melanogaster* 変異体を作成し、この変異体における標的遺伝子の発現量や生存率の測定を行う予定である。

○ 当該事業年度において達成された研究成果

上記の実験及び解析の結果、*mir-277* の標的遺伝子を 134 個（うち雌雄で共通なもの 49 個）、*mir-954* の標的遺伝子を 7 個（うち雌雄で共通なもの 1 個）、*mir-982* の標的遺伝子を 52 個（うち雌雄で共通なもの 24 個）同定した。この結果は形態の雌雄差がまだそれほど顕著でない幼虫においても、miRNA の標的遺伝子が雌雄で著しく異なることを示唆している。また、標的遺伝子の数は miRNA が生じてからの時間に応じて多くなるという理論的予測を実験的に検証した例として重要であると考えられる（*mir-277*: 起源 6000 万年以上前、標的遺伝子 100 個以上；*mir-982*: 起源約 3000 万年前：標的遺伝子数十個；*mir-954*: 起源 1000 万年前より最近、標的遺伝子 10 個以下）。

○ 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名等のリスト（論文があれば添付）

該当なし

(様式 3)

平成 25 年度学融合推進センター学融合研究事業 研究成果報告書

研究テーマ名称	ショウジョウバエにおける miRNA 遺伝子と標的遺伝子の共進化の検証
応募事業区分	事業枠②「若手研究者支援事業」
申請代表者氏名	野澤 昌文

○ 研究状況報告

平成 25 年度は、まず平成 24 年度に引き続き、miRNA の強制発現個体と野生型個体の RNA-seq を行い、*D. melanogaster* における標的遺伝子の同定を進めた。昨年度は幼虫における標的遺伝子の同定を行ったが、本年度は蛹と成虫における標的遺伝子の同定を行った。これにより、3つの発生段階における3つの miRNA (miR277, miR954, miR982) の標的遺伝子をほぼ網羅的に同定できた。次に、これら標的遺伝子が *D. simulans* においても標的遺伝子であるかどうかを生物情報学的に予測した。また、分子レベルでの共進化の有無を調べた。一方、*D. melanogaster* の miRNA を *D. simulans* の miRNA に置き換え、適応度の違いを調べる実験に関しては、変異体の作成がうまく行かず、実行することができなかった。現在、2年間の研究で得られた結果をまとめた論文を執筆中である。

○ 当該事業年度において達成された研究成果・今後の展望等

miRNA の強制発現個体を用いた実験により、*D. melanogaster* において miR277 で 187 個、miR954 で 29 個、miR982 で 47 個、合計 263 個の標的遺伝子を同定した。これらの標的遺伝子が *D. simulans* でも標的遺伝子であるかを調べたところ、*D. simulans* でも標的遺伝子であると判定されたのはわずか 124 遺伝子 (47%) に過ぎなかった。また、これら 124 遺伝子について、この両種で標的座位が保存されているか調べたところ、近縁種であるにもかかわらず、その割合は約 76%にとどまった。さらに、保存された標的座位 139 個を詳細に調べたところ、分子レベルで共進化の痕跡が見つかったものはわずか 2 個であった。以上の結果から、miRNA 遺伝子と標的遺伝子の共進化の程度は低いと結論した。これは、miRNA と標的遺伝子の関係が 1 対 1 ではなく多対多であるため、共進化の程度が強すぎると進化の余地が全くなくなってしまうためであると考えられる。

また、これまでは、起源の古い miRNA ほど自然選択によって有害な標的遺伝子を除去できるので、結果として標的遺伝子の数が少なくなると考えられていたが、実験的手法に基づいた本研究により、起源の古い miRNA (miR277) の方が起源の新しい miRNA (miR954) よりも多くの標的遺伝子を持つことが分かった。本研究によって得られた結果から、より妥当な miRNA-標的遺伝子ペアの進化モデルを構築することができた。

○ 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名等のリスト (論文があれば添付)

Nozawa M*, Fujimi M, Iwamoto C, Fukuda N, Ikeo K, and Gojobori T. A new model for evolution of miRNA-target pairs in *Drosophila* species. *In preparation*.