

2023 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	鈴木 啓道
研究機関名	国立がん研究センター
所属部署名	研究所 脳腫瘍連携研究分野
役職名	分野長
研究課題名	U1 snRNA 変異型髄芽腫における RNA 異常プロセスの解明と治療標的の同定
研究実施期間	2023 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日

研究成果の概要

本研究課題では U1 snRNA 変異が引き起こす細胞内 RNA プロセスの異常を解明し、髄芽腫の病態を明らかにすることを目指す。

該当年度においては、RNA プロセスの異常を解明するため、解析対象とする異常に特化したシーケンス解析を進めた。ポリアデニル化領域検出手法の確立、スプライシングと RNA 修飾の解析のための direct RNA シーケンスを行った。合わせて、機械学習法を用いた発現データからの U1 snRNA 変異検出法の確立を行った。

ポリアデニル化領域の解析のため、改良型 3' READS+法を確立し、約 30%分の配列がポリアデニル化領域となる効率的なライブラリー構築が可能となった。また、ポリアデニル化領域を含むシーケンスリードから、ポリアデニル化部位を同定可能な PASS (PolyA Site Supporting) read を抽出し定量できる解析パイプラインを整備した。circular RNA の濃縮における直鎖 RNA の効率的な除去のため、RNaseR 処理に poly(A) tailing を先行させる手法と rRNA depletion を先行させる手法の 2 種類の検討を行った。いずれの手法でも全く処理を行わなかった場合と比較して約 3 倍以上の circular RNA を同定でき、十分な濃縮が得られた。Direct RNA シーケンスを 2 症例に対して行った。臨床検体を使用した direct RNA シーケンスでは、これまでの既知の報告と同程度の品質のリードの取得が可能であった。U1 snRNA がゲノムワイドなスプライシング異常を生じることから、そのスプライシングパターンを定量的に解析し、ランダムフォレストアルゴリズムによる機械学習プログラム実装した。このプログラムにより RNA-seq データから U1 snRNA 変異の有無の正確な同定が可能になった。