

2022 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	2021 年 4 月～2022 年 3 月 31 日

研究成果の概要

2022 年度は研究開始年であった。解析対象となる髄芽腫に対し検体の収集を行った。日本小児がん研究グループへの研究申請が承認され、173 例の髄芽腫腫瘍検体からの DNA/RNA の提供を受けた。これらの症例に対する髄芽腫サブグループの分類が完了した。変異型細胞株の作成を行い、変異導入によりスプライシングに変化が生じることを確認し、機能の解析に使用可能である。

本研究では、U1 snRNA の機能に応じた様々な RNA シークエンス法を確立し、RNA のプロセス異常を解明することを目的としている。

スプライシング異常解析に関しては Iso-seq によるロングリード RNA シークエンス 7 例を解析しスプライシング解析を施行している。ナノポアシークエンスによるロングリード RNA シークエンスの準備が進んでおり、結果が得られ次第比較・検証を行う。Circular RNA 同定用の circRNA-seq の手法を確立した。Circular RNA を効率的に濃縮したシークエンスライブラリーの構築が可能となり、シークエンスを行った結果、circular RNA が濃縮されていることが確認された。次年度以降、臨床検体に対して circRNA-seq を進めていく予定である。

異常ポリアデニル化解析に対しては 3' -seq による解析法の確立を行った。Mayr lab 法でのライブラリー構築を行ったが、実験間でのライブラリー収量の差が大きく、安定的なライブラリー構築が困難であると判断し、3' READS+法を行うこととした。原法を改良することでシークエンスライブラリーの調整が可能となり、シークエンスの結果でポリアデニル化領域の濃縮が確認できた。シークエンスの結果から追加の改良を行うことで、さらなる感度の向上が見込める可能性があり、修正を進めている。

初年度の進捗は概ね計画通りに進んでおり、次年度では腫瘍検体に対してのシークエンスを進めていく予定である。