

研究成果報告書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB		複合網羅的解析による長い非コードRNAの統合的理解；生理的機能と進化的意義			
研究テーマ (欧文) AZ		Integrative study of long non-coding RNA by multiplex omics analyses			
研究氏 代 表 名 者	カタカナ CC	姓) シログチ	名) カツユキ	研究期間 B	2012 ~ 2014 年
	漢字 CB	城口	克之	報告年度 YR	2014 年
	ローマ字 CZ	Shiroguchi	Katsuyuki	研究機関名	独立行政法人理化学研究所
研究代表者 CD 所属機関・職名		独立行政法人理化学研究所 統合生命医科学研究センター 上級研究員			
概要 EA (600字~800字程度にまとめてください。)					
<p>近年、蛋白質を合成する情報をもたないRNA(非コードRNA)が多く見つかり、その生理的意義が注目されている。特に長い非コードRNAでは、重要な機能をもつと報告されているものがある一方で、そのほとんどについては、生理的機能が未解明である。</p> <p>ブラウン運動が激しい分子の世界で起こるRNAの転写は、完璧に制御されているわけでもなく、なんらかのアクセシビリティでRNA合成酵素がゲノムDNAと相互作用し、生理機能を持たないRNAが転写されることは十分にありうる。一方で、数多く発現する長い非コードRNAは、何らかの生理機能を持つ可能性が高いとも考えられる。したがって、生理機能が未解明である非コードRNAにおいて、一細胞あたりの発現量を正確に計測することは重要である。そして、正確な発現量の測定は、個々の非コードRNAのみならず、それらが進化の過程で果たしているかもしれない役割を理解するための、新たな視点を与える。</p> <p>RNAの分子数を測定するにあたり、一般には、RNAをcDNAに変換して増幅、シーケンシングする。この時、増幅されたDNAの分子数が増幅前のRNAの分子数と比例すると仮定している。しかし、近年、増幅中やシーケンシング自体などのノイズやバイアスが問題となり、この仮定が成り立たないことが示されてきている。これは、特にノイズが含まれやすい発現量の低いRNAを測定する非コードRNAの研究では、重要な問題である。</p> <p>本研究では、分子バーコーディング法を用いたRNA絶対定量法を開発した。この方法により、ノイズやバイアスの影響を受けずに、網羅的にRNAの分子数を高精度で計測できた。100個のプライマリーな哺乳細胞から高精度な定量を行うことができ、その成果を国内外の学会で発表した。</p>					
キーワード FA	RNA	網羅的解析	シーケンシング	遺伝子発現	

(以下は記入しないでください。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入してください。）									
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
雑誌	論文標題 <sup>GB</sup>								
	著者名 <sup>GA</sup>		雑誌名 <sup>GC</sup>						
	ページ <sup>GF</sup>	～	発行年 <sup>GE</sup>					巻号 <sup>GD</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	
図書	著者名 <sup>HA</sup>								
	書名 <sup>HC</sup>								
	出版者 <sup>HB</sup>		発行年 <sup>HD</sup>					総ページ <sup>HE</sup>	

欧文概要 EZ

Physiological functions of non-coding RNAs have been focused for years. Particularly, some long non-coding RNAs have been shown to have important roles, but others have not investigated yet.

The transcription which happens at the molecular level and undergoes Brownian motion may be not perfectly regulated. Therefore, it is possible that the transcription occurs when a RNA polymerase encounters a site of genomic DNA by accident and a non-coding RNA which does not have any physiological function is generated. On the other hand, it is possible that highly expressed long non-coding RNAs tend to have physiological functions. In this scenario, it is important to measure expression level of non-coding RNAs accurately. This approach may provide new insights not only for individual non-coding RNAs but for possible roles of those RNAs in evolution.

Generally, to measure RNA abundance, RNA is converted to cDNA, the cDNA is amplified, and those amplicons are sequenced. In this flow, it is assumed that the number of amplicons are proportional to that of original RNA molecules. However, this assumption has been shown to be not always true due to noise and/or bias in amplification and/or sequencing, etc. This is important for non-coding RNA measurement since it is necessary to measure low-copy expressed RNAs whose quantification is often disturbed by noise.

In this study, we have developed a method of absolute counting of RNA molecules by using molecular barcoding. This method provided accurate and digital measurement of number of RNA molecules genome-wide without being affected by noise and bias. We presented results of transcriptome analysis obtained from 100 mammalian primary cells using this method in domestic and international academic meetings.