

Genome Box を用いた トランスクリプトーム（RNA-Seq）解析による 組織特異的スプライスバリエント推定

Genome Box では、高速シーケンサーから出力された大量配列データを簡便にマッピングし、グラフィカルに表示するため、視覚的に比較することが容易です。本アプリケーションノートでは、ヒトの異なる組織由来のRNA-Seqデータのマッピング、可視化により、組織特異的に発現しているスプライスバリエント、新規エクソン候補領域が確認できた例をご紹介します。

序論

高速シーケンサーの登場により、ラボレベルでも比較的安価に高等生物のホールトランスクリプトーム解析が実施できる環境が整ってきました。存在する全てのRNAを対象とすることができるため、マイクロアレイのような、既知のトランスクリプトの一部のみを代表値として扱うのではなく、既知／未知を問わず、転写物の全長にわたって解像度の高い解析が可能となります。また、利用する手法によっては、Poly-Aを持たないRNAも解析対象とすることができます。

本アプリケーションノートでは、ヒトの異なる組織由来のRNAを次世代シーケンサーを用いてシーケンスしたデータを、マッピングおよび可視化することで、組織特異的なスプライスバリエントを、視覚的に確認できた事例をご紹介します。

方法

米国 National Center for Biotechnology Information (NCBI) の The Sequence Read Archive (SRA) に登録されている、ヒト肝臓由来（SRR087756、SRR087757、SRR087758）および、ヒト骨格筋由来（SRR087770、SRR087771、SRR087772） mRNAの高速シーケンズデータを取得し、ヒトゲノム配列（UCSC Human Genome Build 19）に対して、Genome Box 上でマッピング、タグカウント解析を実施しました。

結果

骨格筋で利用されないエクソン領域（図1）

NM_014720として登録されている遺伝子上の13番目のエクソン領域には、肝臓由来サンプルではリードがマッピングされるのに対し、

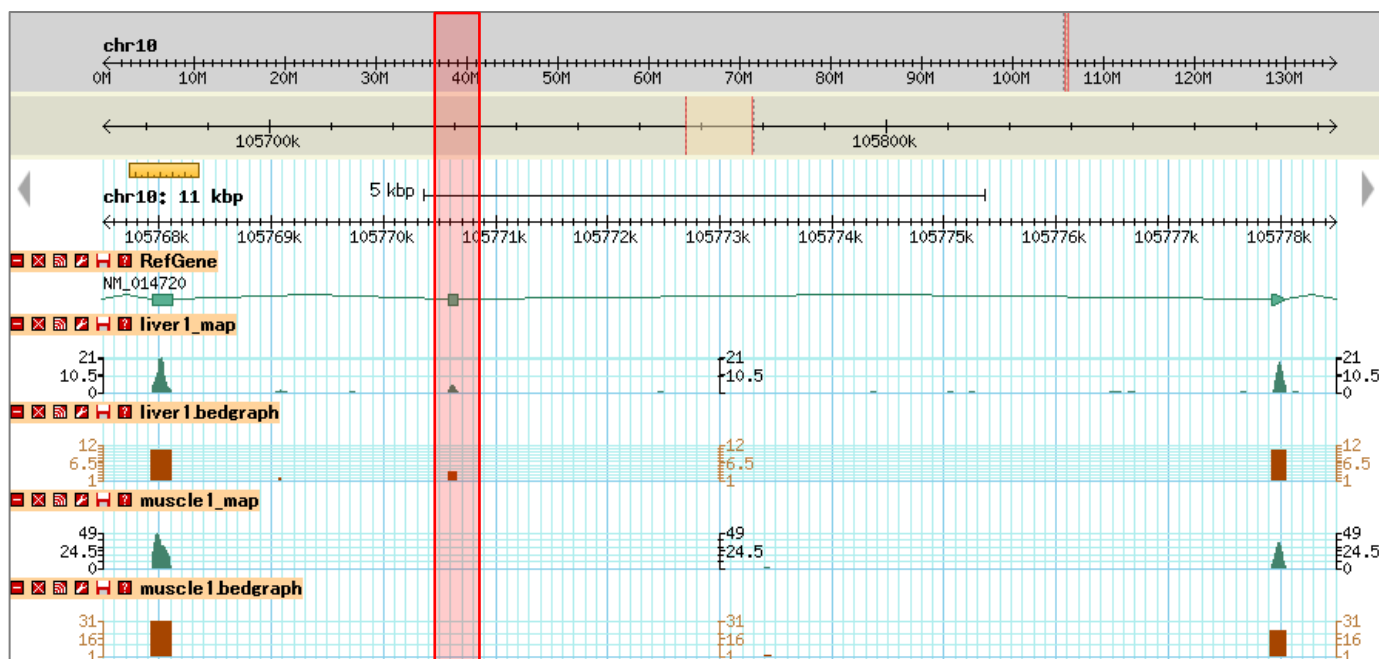


図1. 骨格筋で利用されないエクソン領域

Application Note

骨格筋由来のサンプルではリードがマップされませんでした。(図1赤枠領域)。

骨格筋で利用される新規エクソン候補領域 (図2)

先の例とは逆に、パブリックデータベースではエクソンとして登録されていない領域が、RNA-Seqの結果により新たなエクソン候補領域として見つかる場合があります。

NM_134269として登録されている遺伝子上の11番目と12番目のエクソン間に、肝臓由来サンプルではリードがマッピングされないのに対し、骨格筋由来のサンプルではリードがマップされる領域がみられました。(図2赤枠領域)。

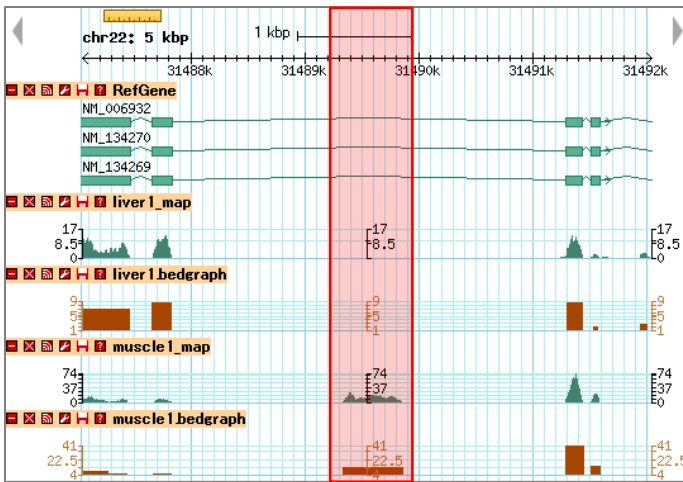


図2. 骨格筋で利用される新規エクソン候補領域

組織間で異なるスプライスバリエント (図3)

NM_198679として登録されている遺伝子領域では、11番目と12番目のエクソン間に、肝臓由来サンプルではわずかなリードしかマッピングされないのに対し、骨格筋由来のサンプルではリードがマップされるエクソン領域がみられました。(図3赤枠領域)。

パブリックデータベースには、該当遺伝子領域に複数のスプライスバリエントが登録されており、本件解析結果は、組織特異的なスプライスバリエントが存在することを示唆するものでありました。

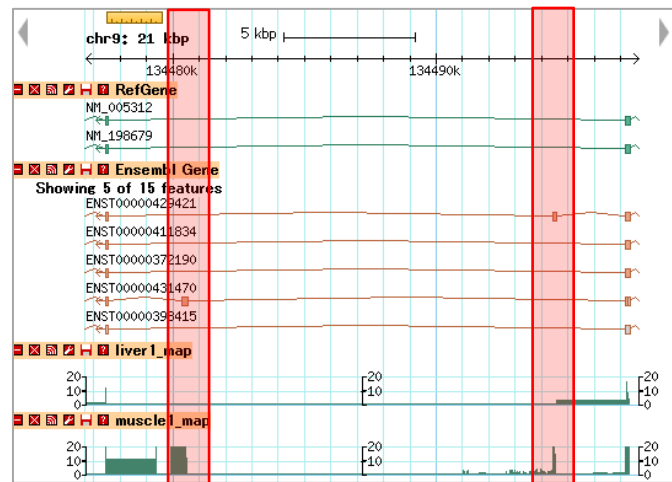


図3. 組織間で異なるスプライスバリエント

まとめ

Genome Box のマッピングおよびタグカウント機能を利用し、ヒトRNA-Seqサンプルの高速シーケンサーによるデータを簡易的に解析しました。正確な議論をするには長大なギャップを考慮したマッピング、Pair情報によるスプライスパターンの推定などが必要となりますが、その予備的な簡易解析としては、ヒトレベルのTranscriptomeの解析においても Genome Box の有用性、適用可能性が確認されました。

参考文献

- Clark TA, et al. (2007). Genome Biol., 8, R64.
- Xu W, et al. (2011). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 108, 3707-3712.

Genome Box シリーズについて

Genome Box シリーズに関する詳細は
<http://www.genome-box.com/>
をご参照下さい。

ビット株式会社

Web : <http://www.bits.cc/> Mail : hts@bits.cc

東京本社
〒101-0023 東京都千代田区神田松永町5 第二砂川ビル201
Tel/Fax : 03-3255-1715
三島研究所
〒411-0943 静岡県駿東郡長泉町下土狩20-3 山光ビルA402
Tel/Fax : 055-989-5560

代理店