

rRNA およびグロビン mRNA 除去による マラリア感染症の効率的なメタトランスクリプトーム解析

データ提供

関 真秀 先生、今村 聖実 先生、鈴木 穰 先生

東京大学大学院 新領域創成科学研究科 生命システム観測分野

はじめに

QIAseq® FastSelect RNA Removal Kits の使用例について紹介する。本キットを使用することにより、わずか 1 ステップ、14 分でサンプル中に含まれる解析不要な RNA を効率的に除去することができる。断片化したサンプルに対応しているため、FFPE など様々な臨床検体にも最適である。

QIAGEN、Illumina®、NEB®、KAPA® および理論上全ての RNA-seq ライブラリーキットと互換性があるため、ワークフローを変えることなく使用できる。

本稿では、鈴木研究室にご協力いただき、QIAseq FastSelect RNA Removal Kits の有効性を検討した。

背景

鈴木研究室では、マラリア (*Plasmodium falciparum*) に感染した患者の末梢血サンプルを用いて、in vivo での寄生の分子メカニズムについて研究しており、過去に発表された論文では、ヒトおよび寄生虫の遺伝子と様々な臨床データとの相関するパスウェイを特定、医薬品開発の主要なターゲットとして役立つ可能性が示されている (Genome Res. 2014 Sep; **24**(9): 1433-1444.)。

マラリアは赤血球に感染する。末梢血から RNA を抽出した後、RNA-seq の前にサンプルに多く含まれる rRNA とグロビン mRNA の両方を除去することにより、宿主と寄生虫間の相互作用を遺伝子発現のパターンから効率的に分析することが可能となる。

そこで、QIAseq FastSelect RNA Removal Kits を用いた rRNA やグロビン mRNA の効率的除去を検討した。

材料と方法

- サンプル：末梢血を PAXgene® Blood RNA Tube で回収して安定化した後、PAXgene Blood RNA Kit で精製
- ライブラリー調製：
QIAseq FastSelect Multi-RNA Removal Kit + TruSeq® Stranded mRNA (polyA selection 工程なし)
rRNA とグロビン mRNA の除去処理を行う場合と行わない場合でトータル RNA-seq を実施比較
- NGS 解析：HiSeq® 3000、50SR、2 サンプル/レーン
- データ解析：
 1. Bowtie2 を使用して Human rRNA にマッピングを行い、rRNA を除去
 2. rRNA 除去後のリードに対し、Human ゲノムあるいはマラリア 3D7 株をリファレンスとして STAR でマッピング
 3. Feature Counts を使用し、各 transcript にマップされたリードをカウント

結果と考察

表 1. マッピング後のリード統計 各リファレンスシーケンスへのマッピングは個別に実施

Total RNA-seq Sample	Total reads	Human rRNA	グロビン mRNA	<i>P.falciparum</i> ゲノム	Human ゲノム	rRNA を除く Human ゲノム
rRNA / グロビン mRNA 除去なし	228,002,949	191,729,669	1,628,057	34,717,806	211,159,714	19,431,353
		84%	1%	15%	93%	9%
rRNA / グロビン mRNA 除去処理あり (QIAseq FastSelect RNA Removal kits)	113,000,362	547,922	381	34,233,601	69,678,956	69,135,723
		0%	0%	30%	62%	61%

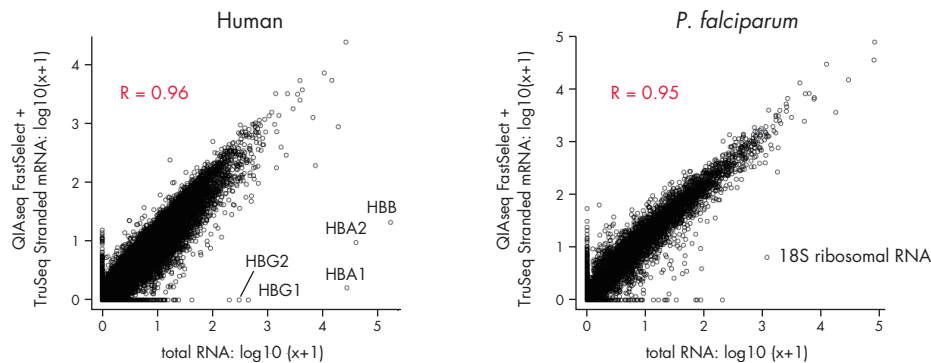


図 1. rRNA およびグロビン mRNA の除去処理の有無による各 transcript にマップされたリードカウント数の比較
Human rRNA にマッピングされたリードを解析前に除去した上で比較。

今回、QIAseq FastSelect RNA Removal Kits で不要な rRNA およびグロビン mRNA の除去をすることにより、ヒト遺伝子とマラリア遺伝子の両方の発現プロファイルへの影響を最小限にとどめた上で、以下のような効果が期待されることが確認された。

- rRNA およびグロビン mRNA のリード割合を 0% 近くまで下げることができること
- より重要な対象遺伝子に対してマッピングできるリード割合の増加
- ヒト遺伝子とマラリア遺伝子発現の相互作用の効率的な解析

NGS ソリューションに関する詳細は www.qiagen.com/QIAseq-NGS-solutions をご覧ください。

記載の QIAGEN 製品は研究用です。疾病の診断、治療または予防の目的には使用することはできません。最新のライセンス情報および製品ごとの免責事項に関しては、ウェブサイト www.qiagen.com の “Trademarks and Disclaimers” をご覧ください。QIAGEN キットの Handbook および User Manual は www.qiagen.com から入手可能です。

Trademarks: QIAGEN®, QIAseq®, Sample to Insight® (QIAGEN Group); HiSeq®, Illumina®, TruSeq® (Illumina, Inc.); KAPA® (Roche Group); NEB® (New England Biolabs, Inc.); PAXgene® (PreAnalytiX GmbH).
本文に記載の会社名および商品名は、各社の商標または登録商標です。

製品情報、仕様、カタログ番号 (Cat. no.)、価格等は予告なく変更する場合がございます。予めご了承ください。© 2020 QIAGEN, all rights reserved.

株式会社 キアゲン | 〒 104-0054 | 東京都中央区勝どき 3-13-1 | Forefront Tower II
Tel: 03-6890-7300 | Fax: 03-5547-0818 | E-mail: techservice-jp@qiagen.com | www.qiagen.com