

乳癌に特異的に発現するアンチセンス転写産物の同定とその診断への応用

研究者名:丸山 玲緒
所属・役職:札幌医科大学 医学部
分子生物学講座 助教
共同研究者:なし

10

研究分野
医学
分子生物学
ゲノム科学

研究キーワード
乳癌
アンチセンスRNA

背景・目的

申請者はこれまで次世代シーケンサーを利用したSAGE-Seq法により、ヒト乳腺の正常及び癌組織において特異的に発現するアンチセンス転写物を多数同定した。興味深い事に、それらは正常と癌のサンプル間で一貫して大きな差異を示した。本研究ではこれまで同定したアンチセンス転写産物のリストを元に、これらの発現レベルの正常と癌での差異を多数の臨床検体を用いて確認し、臨床診断マーカーとして有用なものはいかどうか検証することを目的とする。

研究の成果

本研究ではまず初めに、臨床検体においてアンチセンス転写産物をセンス鎖の転写産物と確実に区別して定性・定量できるよう、基盤となるRT-PCRのプロトコールの構築・改良を試みた。アンチセンス鎖を特異的に検出する目的で、Bisulfite処理を用いたRT-PCR法を採用した。具体的には検体より抽出したRNAをBisulfiteにて処理を行い、シトシンをウラシルに変換し、その後cDNAを作成した。それにより、センス鎖とアンチセンス鎖は相補的な配列ではなく全く異なった配列となり、センス／アンチセンス鎖に特異的なプライマーを作成することで確実に区別することが可能となる。本研究ではこのプロトコールの詳細な条件検討を行い、実際に臨床検体を用いて解析できるようプロトコールを最適化した。その結果、検体からのアンチセンスの検出が可能となった。

将来展望

今後は今回確立したプロトコールを用いて多数の臨床検体の検証を行い、いくつかのアンチセンス転写物の候補に関して発現レベルを調べる予定である。癌の検体において一貫して特異的に高い（あるいは低い）発現を示すアンチセンス転写物を同定することができれば、それを指標としたPCRベースの診断マーカーの開発を行い、その有用性を検証する。またその中のいくつかのアンチセンス転写産物に関しては、分子生物学的手法を用いて機能解析を行う。新たな病態メカニズムの解明につながる可能性を秘めている。またそれが重要な病的意義を持つ場合は、siRNAやRNAアプタマーなどのRNAベースの創薬の分子標的となることが期待される。

