北京生科院环形RNA数据挖掘新技术研究获进展

作者：writer 来源：中国科学院

本文原地址：https://www.iikx.com/news/progress/13087.html

本文仅供学习交流之用，版权归原作者所有，请勿用于商业用途！

3月12日，中国科学院北京生命科学研究院研究员赵方庆团队在*Nature Biotechnology*上发表了题为*Comprehensive profiling of circular RNAs with nanopore sequencing and CIRI-long*的论文，研究内容为高效测定环形RNA全长转录本的实验和计算方法。该研究主要是利用随机引物对环形RNA进行的滚环反转录扩增，而后应用纳米孔测序技术对环形RNA的全长序列进行直接测序，并使用开发的CIRI-long算法识别长测序读段中的环形RNA序列并进行全长重构。实验结果表明，与传统的环形RNA二代测序技术相比，该方法将环形RNA检测灵敏度提升了20倍，并可实现对不同长度（<100bp-5kb）的环形RNA全长序列的无偏识别，大幅提升了环形转录本的重构能力，为其功能研究提供了重要的实验方法和计算工具。

环形RNA是一类在真核生物中广泛存在的具有特殊环状结构的RNA分子。研究表明，在生物体内，环形RNA主要通过其序列特征，发挥miRNA海绵、RBP海绵及翻译短肽等重要的生物学功能。因而环形RNA的全长序列确定是进行环形RNA功能研究的重要基础。由于环形RNA的内部序列与线性mRNA分子高度相似，在数据中很难区分来自环形RNA和线性RNA分子的读段。研究方法对于环形RNA结构的识别能力主要被二代测序的读长所限制，对于长度较长（>500bp）的环形RNA分子，仍缺少有效的全长重构手段。

针对这一问题，研究团队构建并优化环形RNA建库流程，使用随机引物对环形RNA进行滚环反转录扩增，结合片段长度筛选（~1kb），针对长度更长的目标cDNA片段进行富集，最后使用纳米孔测序技术，实现了对目标环形RNA的全长序列进行直接测定。同时，研究人员进一步开发了CIRI-long算法，识别纳米孔测序数据中的环形RNA结构，并使用偏序比对算法，校正纳米孔测序带来的测序错误。随后，CIRI-long基于基因注释和剪接信号信息，提供单一样本内和多样本间结果的整合与校正方法，实现了环形RNA的准确识别和全长重构。

为了评估CIRI-long方法的准确性和效率，研究人员利用模拟数据和多次实验重复，综合评估CIRI-long结果，发现该方法具有较高的灵敏度，且与实验结果保持了高度的一致性。同时，结合二代测序结果及公共数据库的全面分析，表明CIRI-long可有效地对高表达环形RNA进行识别，且与二代测序方法相比，CIRI-long对环形RNA的检测效率有着近20倍的提升，对表达丰度较低的环形RNA有着更好的识别效果，同时可以识别到长度更长的环形RNA分子，大幅提升了环形RNA全长的检测能力。

利用该方法，研究进一步发现了一类由内含子自连形成的新型环形RNA分子（Intronic self-ligated circRNA）。这类环形RNA具有特殊的剪接位点内侧的GT-AG信号和较高的两侧序列保守性，在之前工作中缺乏普遍研究。此外，研究人员在小鼠不同组织中，对内含子自连型环形RNA的表

达模式开展了进一步探究，发现*Tpm1*
基因可以产生一个长
度为767bp的内含子自连型环形RNA——cir
cTpm1。与*Tpm1*
基因的其他内含子相比，该分子成环区域具有相对较高的保守性，且与线性mRNA在组织间具有不同的表达模式，说明circTpm1并非其母本基因转录的副产物，可能具有一定的生物学功能。

综上，研究人员开发了基于纳米孔测序技术的环形RNA全长识别流程CIRI-long，通过结合滚环反转录扩增和纳米孔长读长测序技术，可直接测定环形RNA的全长序列，实现了对环形RNA的高灵敏度检测和内部结构重构。与传统的二代测序方法相比，CIRI-long大幅提升了环形RNA全长重构能力，并可实现与二代测序相近的分析成本。同时，CIRI-long提供了样本间整合分析的工具，并针对纳米孔测序的高错误率建立了有效校正方法，为环形RNA的功能研究提供了重要的方法学工具，具有很高的应用价值。

该研究工作由赵方庆团队完成，获得国家杰出青年科学基金、国家重点研发计划及中科院的支持。赵方庆团队在前期的工作中建立了环形RNA识别、可变剪接检测及定量等方法，相关研究发表在*Nature Biotechnology*（2021）、*Nature Communications*（2016，2020）、*Genome Biology*（2015，2020）、*Briefings in Bioinformatics*（2018）、*Trends in Genetics*（2018）、*Genome Medicine*（2019）、*Cell Reports*（2019）和*Bioinformatics*（2020）上。这些研究成果丰富了我们对环形RNA的组成及结构的认识，为深入了解这一类特殊的RNA分子提供了重要工具和数据支持。

论文链接

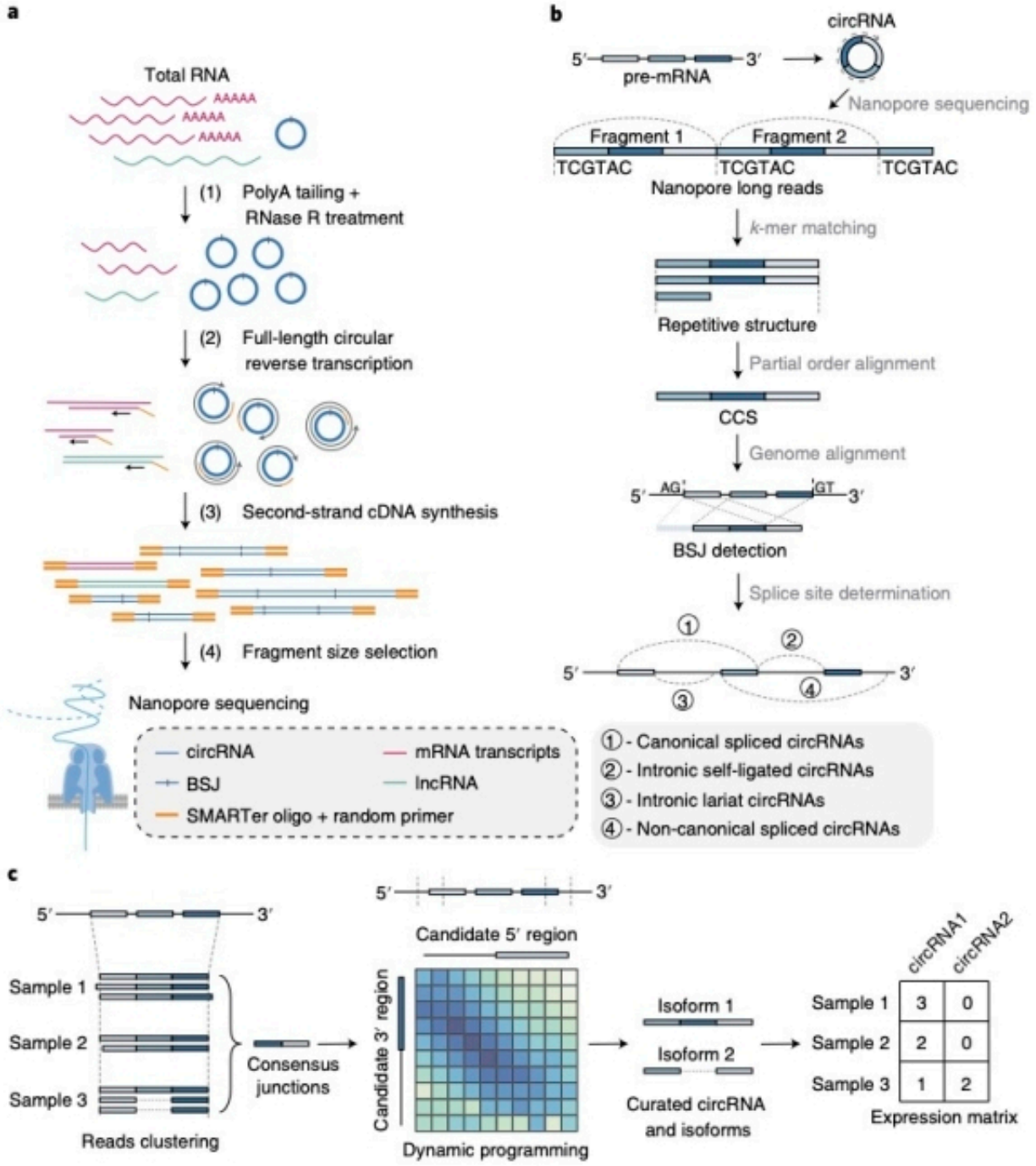

图1.环形RNA全长重构的实验与计算流程

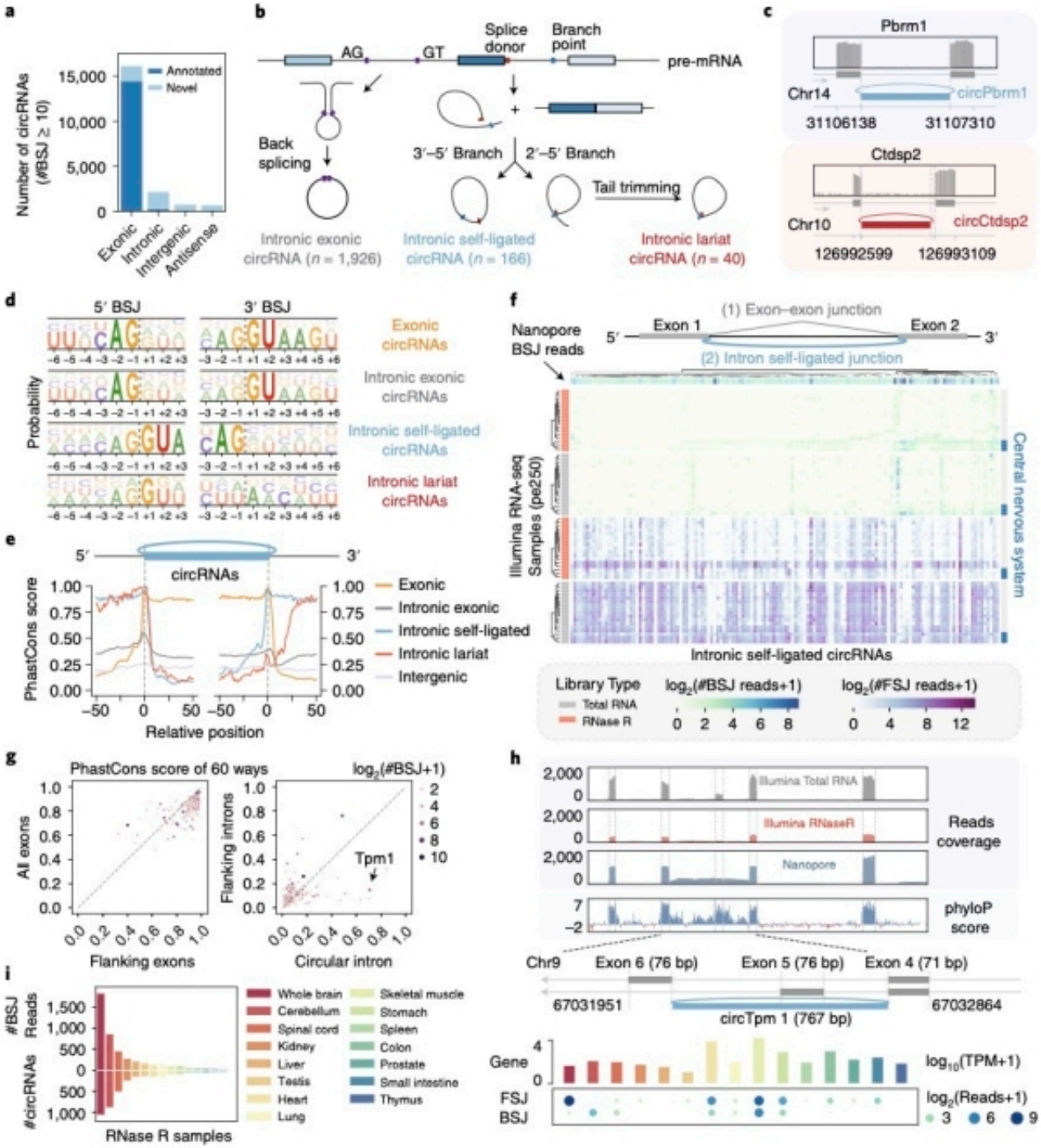

图2.基于纳米孔测序全面揭示环形RNA的多样性

研究团队单位：北京生命科学研究院

更多 科学进展 请访问 https://www.iikx.com/news/progress/

本文版权归原作者所有，请勿用于商业用途，爱科学iikx.com转发