

検査を行うことが望まれる。

(2) 危険因子

他の癌と同様、膵臓癌のリスクは年齢とともに増加するが、まれに20～30歳代でも発症するため注意を要する。また、糖尿病は膵臓癌の結果であるとともに、膵臓癌のリスクを2倍程度高めることが疫学調査にて報告されている。喫煙も2～3倍のリスクが報告されていることから、生活習慣を改めることは膵臓癌患者の減少に役立つ可能性がある。

また、膵管内乳頭粘液性腫瘍 (IPMN) は癌に進展することがあるため、的確な診断と慎重な経過観察が求められる。

(3) 検査

膵臓癌を疑った場合、まず血液生化学検査や腹部超音波が行われる。血液生化学検査では、肝胆道系酵素や膵酵素、腫瘍マーカー (CA19-9やCEAなど) などがチェックされるが、早い段階では異常値を示さないことも多い。腹部超音波は侵襲性が少なくスクリーニング目的に適しているが、体型や膵臓の部位によっては描出が困難になることがある。これらの検査にて異常が認められなくても膵臓癌を疑う症状を認める場合は、慎重に経過を観察したり、さらなる精査を検討したりすることが勧められる。

精査の段階では、腹部CTが実施される。単純CTは膵臓癌の診断に適しておらず、造影剤を用いたdynamic CTが必要である。細かい空間分解能を持つ多列検出器CT (MDCT) の登場により、かなり小さい病変まで描出することが可能になっている。造影CTにても膵臓癌の診断が困難な場合には、MRI (MR胆管膵管撮影 (MRCP))、超音波内視鏡 (EUS)、内視鏡的逆行性膵管造影 (ERP)、PETなどを必要に応じて組み合わせる。EUSやERPでは、細胞診や組織診を行うことも可能である。

以上、膵臓癌は診断が難しい疾患だが、膵臓癌の可能性を意識することと、疑われた場合には的確にスクリーニングを行い、必要に応じて専門施設へ紹介することが、早い段階の診断に役立つと思われる。

管理・治療

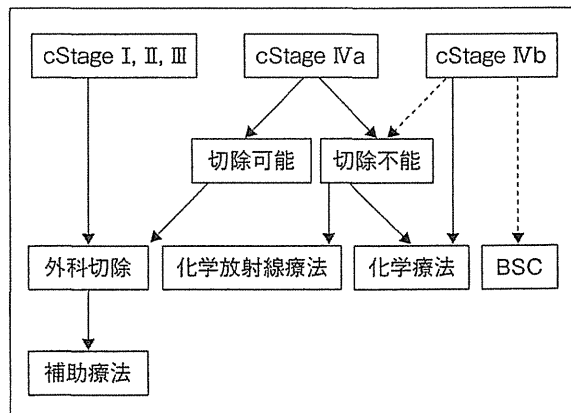
「膵臓癌診療ガイドライン」の膵臓癌治療アルゴリズムを図2に示す。画像や病理検査にて膵臓癌と診断された場合は、切除可能かどうかをまず判断する。切除可能と判断された場合は、切除術を行った後に補助化学療法を行うのが標準治療である。切除不能と判断された場合は、化学療法もしくは放射線療法が選択肢になる。膵臓癌はいずれの病期においても予後が不良なため、臨床試験への参加も選択肢として考慮する必要がある。日本における臨床試験の情報に関しては、国立がん研究センターがん対策情報センターのホームページ (<http://ganjoho.jp/>) などが役に立つ。

(1) 切除可能膵臓癌

(Stage I、II、III、IVaの一部)

遠隔転移を認めず、高度な脈管浸潤のない

図2 膵臓癌治療のアルゴリズム



BSC : best supportive care

Stage分類はJPS膵臓癌取り扱い規約第6版による。

(日本膵臓学会膵臓癌診療ガイドライン改訂委員会, 2009)

例が外科切除の対象となる。膵切除術の安全性は飛躍的に向上したが、重篤な合併症を起こすことがあるため、経験豊富な施設で行うことが望ましい。かつて拡大郭清手術が積極的に行われたが、その意義はランダム化比較試験 (RCT) にて否定された。

外科切除のみでは限界があることから補助療法の開発が近年は積極的に行われており、それらのなかでも、術後補助化学療法は予後改善に役立つことが複数のRCTにて証明された。ゲムシタビン塩酸塩 (GEM) による術後補助療法は良好な効果と安全性を示したことから、現在広く臨床応用されており、2013年には経口のTS-1 (S-1) の優れた成績が報告された。

(2) 局所進行膵癌 (Stage IVaの一部)

明らかな遠隔転移は認めないが、脈管浸潤のために切除困難な膵癌のことを局所進行膵癌と呼ぶ。RCTにて延命効果が示された化学療法が広く行われているが、化学放射線療法の有用性も報告されているため、これも選択肢となっている。ただし、化学放射線療法が化学療法よりも優れていることを示す十分なエビデンスはなく、今後明らかにすべき課題となっている。

(3) 遠隔転移膵癌 (Stage IVb)

全身状態が良好な場合は、化学療法が標準治療である。化学療法の選択肢に関しては、RCTにて延命効果が証明されたGEMが広く使用されている。GEM + エルロチニブはGEMよりも予後が良好であることがRCTで示されたが、改善度があまり大きくなかった

ことから、GEM単剤に置き換わる位置づけにはなっていない。日本人では8.5%に間質性肺疾患が認められたことから、十分な説明と厳重な治療管理が求められている。

その他、わが国ではS-1が使用されている。進行膵癌を対象に日本と台湾で実施されたGEST試験では、GEM + S-1の優越性は示されなかったものの、GEMに対するS-1単剤の非劣性は証明された。

以上より、遠隔転移膵癌もしくは局所進行膵癌に初回化学療法を行う際は、GEM、GEM + エルロチニブ、S-1がエビデンスに基づいた選択肢として挙げられ、患者の状態や希望、主治医の判断に基づいて選択されている。なお、国外のRCTで延命効果が示されたFOLFIRINOX療法やGEM + Abraxane併用療法は、わが国では保険未承認であり、臨床試験が進行中である。

経過・予後

切除術と術後補助化学療法を受けた膵癌患者の生存期間中央値 (MST) は20~24カ月、5年生存率は23~30%、化学療法や化学放射線療法を受けた局所進行膵癌患者のMSTは13~16カ月、化学療法を受けた遠隔転移膵癌患者のMSTは7~10カ月と報告されている。膵癌患者全体の5年生存率は5%程度にすぎず、根治に関しては依然厳しいといわざるを得ないが、診断や治療の進歩に伴い各病期でのMSTは改善しつつある。

[参考文献]

- 日本膵臓学会膵癌診療ガイドライン改訂委員会 編：科学的根拠に基づく膵癌診療ガイドライン2009年版。金原出版、東京、2009。

3

全エクソンリシークエンシング

土原一哉 松島洸達 三牧幸代

国立がん研究センター東病院 臨床開発センター トランスレーショナルリサーチ分野

ゲノムワイドな一塩基変異 (SNV) 解析を効率的に進めるツールとして開発された全エクソンリシークエンシングは盛んに行われるようになり、多数例の比較が必要となる疾患関連遺伝子の探索、特にがんゲノムの解析において必須の方法論となりつつある。今後、この手法をさらに有効に活用するためには、ホルマリン固定された臨床検体から抽出したゲノムDNAなども利用していく必要がある。全エクソンリシークエンス (WXS) の実際を自験例を中心に紹介し、今後の課題についても展望する。

はじめに

次世代DNAシーケンサー(NGS)の登場により、ゲノムリシークエンシングの効率は飛躍的に向上し、個体ごとのゲノムワイドの構造比較が実用的なレベルで行えるようになった。こうして得られる“パーソナルゲノム”データは多くの領域で有用であるが、とりわけ疾患の原因や易罹患性(かかりやすさ)に関わる遺伝子の同定にはきわめて強力なツールとなる。疾患関連遺伝子の探索には、罹患者と健常者の比較が必須であり、それぞれのグループのサンプル数が多いほど有意な結果が得られることは容易に想像される。とはいえ、ヒトの全ゲノム30億塩基について多数検体を用いた横断的な解析を行おうとすると、シーケンス解析の“ウェット”^{*1}の部分にかかる時間、経済的なコスト、“ドライ”^{*2}の作業の負荷は、ほとんどの研究者にとってまだまだ越えがたいハードルとして立ちはだかる。

一方、ゲノム上でタンパク質をコードするエクソン領域はおよそ1%、約3,000万塩基に相当し、この領域に生じる変異は細胞や生体機能に直接影響する可能性がより高いと予想される。コーディングエクソンに絞った変異解析の試みはNGSの登場前からすでにあった。乳がん、大腸がん各11例について、がん特異的な体細胞突然変異を網羅的に同定した報告は2007年にVogelsteinのグループによってなされている¹⁾。彼らはヒト全遺伝子のコーディングエクソンをPCRで増幅し、サンガー法で配列決定を行った。当時、筆者はあるシンポジウムで変異発生頻度を染色体上にマップしたスライドを見て、まさしくがんゲノムの鳥瞰図(landscape)だと得心した。それと同時に、その1枚の地図を作るのに要した労力を思い、大航海時

*1 サンプルDNAの準備からシーケンサーで配列を決定するまで。

*2 獲得したDNAシーケンスからコンピュータプログラムを用いて有意な変異を導き出すまで。

■ 表1 網羅的解析のためのゲノムDNAソース

DNAの品質		剖検	手術	生検
	モノクローン		WGS・WXS・target	WGS・WXS・target
新鮮		WGS・WXS・target	WGS・WXS・target	WGS・WXS・target
凍結		WGS・WXS・target	WGS・WXS・target	WGS・WXS・target
メタノール固定など		WGS・WXS・target	WGS・WXS・target	WGS・WXS・target
ホルマリン固定		WGS・WXS・target	WGS・WXS・target	WGS・WXS・target

(mg) DNA量 (ng)

WGS; 全ゲノムシーケンシング, WXS; 全エクソンシーケンシング, target; ターゲットキャプチャーシーケンシング, 黒字: 実施例の報告あり, グレー字: 報告なし.

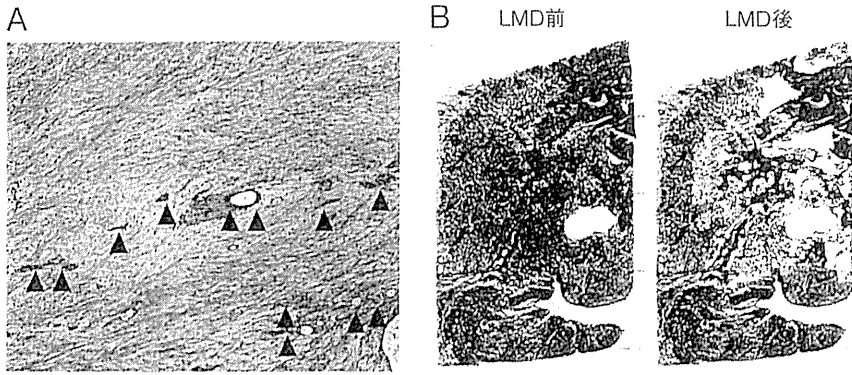
代に小さな帆船で大洋に乗り出していった航海者の姿を連想した。シンポジウムでは若い演者に対して「あなたは研究のどのパートを担当したのか?」という質問が飛んだ。サンプル調製からシーケンシングの間にどれほど多くの人手が必要だったのか、会場の多くの聴衆が同じ思いでいたようだった。それからわずか数年で超並列シーケンサーが一般化し、これに加えて2009年にターゲットキャプチャー法^{*3}が発表され²⁾、がんゲノムの鳥瞰図を作る労力は帆船時代に比すれば航空写真をもとに描き起こす程度に軽減し、ゲノムの専門家のみならず一般の研究室でも手掛けられるようになった。本稿では、全エクソンシーケンシングの実際について、筆者らが主に行っているがん臨床検体由来のゲノムDNAを用いる方法について紹介する。

*3 ターゲットキャプチャー
ゲノム上の特定の領域をハイブリダイゼーションによって濃縮する方法。シーケンシングキャプチャーとも呼ばれる。

➡ I. ゲノムDNAのソース

全ゲノムシーケンシング (whole genome sequencing ; WGS), 全エクソンシーケンシング (whole exon sequencing ; WXS) いずれにおいても、鋳型となるゲノムDNAのソースとして何が使えるかは、研究全体のデザインを規定する大きな要素である(表1)。組織固定・保存に伴う断片化が少なく、また人工的な修飾ができるだけ加わっていない良質のDNAが大量(10 μg以上)に用意できれば、それにこしたことはない。しかし、この条件を満たすことができるのは、肺がんや大腸がんなど“固形がん”の場合、腫瘍量が多い手術切除検体、特に、組織固定を伴わずにDNA抽出が可能な新鮮材料、もしくは切除後に組織標本をすぐに液体窒素で凍らせた (snap frozen) 材料に限られる。

固形がん組織はがん細胞のみで構成されているわけではない。ひとかたまりの組織中にはがん細胞のほか、線維芽細胞、炎症細胞、血管・リンパ管・



■ 図1 がん組織中のがん細胞と間質(肺管がん) (A) とレーザーマイクロダイセクション(LMD) 前後の肺がん組織 (B)
 A: がん細胞(▶)は多量の線維芽細胞の中に埋もれるように散在している。
 B: 組織中のがん細胞のみを顕微鏡下で選択的に切り出し、ゲノム解析に用いる。

神経を構成する細胞が“間質”として少なからず存在する(図1A)。生殖系列の多型、変異の解析では問題にならないが、がん細胞が獲得した体細胞突然変異を探索する際には、このような間質由来のゲノムDNAの配列情報がバックグラウンドとして影響してくる。

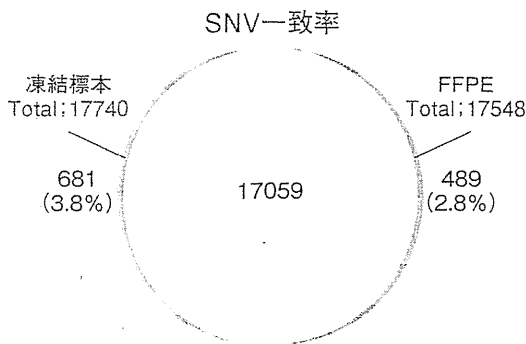
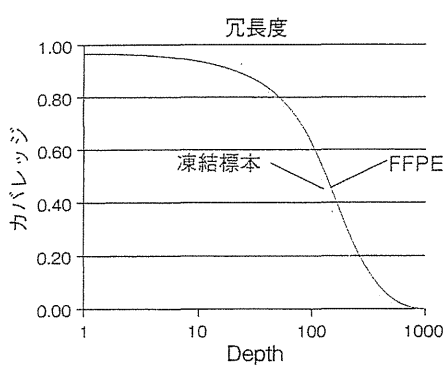
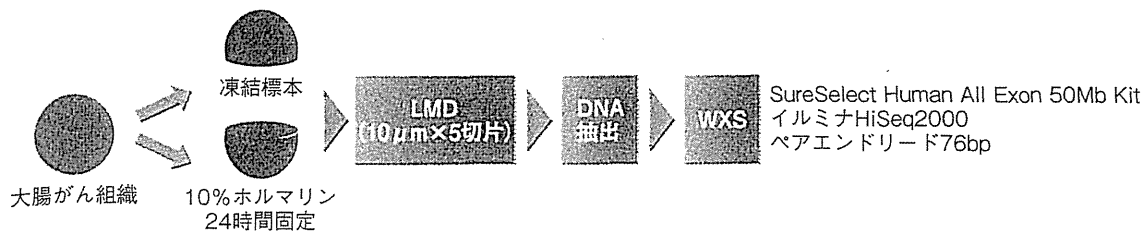
これらの問題を解決するためにゼノグラフトモデル*4が用いられる。ゼノグラフトモデルは腫瘍細胞の純度を上げ、大量のDNAを得るには理想的な方法であるが、いかんせん、手間とコストがかかること、必ずしもすべてのがん組織が定着しないこと、これに関連して、移植組織中の一部のクローンのみがマウスで成長し、元の組織における腫瘍サブクローンの不均質性(微小不均質性, microheterogeneity)を反映していないおそれなどの問題点もある。

凍結組織あるいはパラフィン包埋した組織を5~10 μ mの厚さにスライスして細胞染色を行い、顕微鏡下でがん細胞のみを選択的に回収するレーザーマイクロダイセクション(LMD)もしばしば用いられる。対物レンズの中に高出力のレーザーを通過させ、組織を観察しながら狙った場所を切り出す顕微鏡の性能が向上し、細胞回収のスピードは格段に上がった。筆者らはゲノムDNAの劣化が少ないメタノール固定を行った肺がんの手術標本のLMDを行った(図1B)。数 μ gのゲノムDNA回収に必要な数十mgの組織を回収するには、厚さ10 μ mのスライス切片が5~10枚程度必要であり、1検体の処理に組織病理学のトレーニングを受けた医師や検査技師が取り組んで数時間から数日を要した。組織内の任意の場所を選んで細胞が回収できることは、特にがん組織における微小不均質性を考慮すると大きな利点であるが、それにかかる労力を考慮すると、昨今増えてきた数百例、数千例単位の解析のサンプル処理としては、現実には難しい点も多いと言わざるをえない。

がんと間質由来のゲノムが混在したサンプルで、その比率を計算上求める方法なども模索されているが、ドライ、ウェット双方の工夫が今後も必

*4 ゼノグラフトモデル

患者から取り出された組織を重度複合免疫不全(severe combined immunodeficiency: SCID)マウスもしくはヌードマウスに移植し、その中に含まれる不死化したがん細胞のみをマウスの生体内で増殖させ、そこから十分な量のゲノムDNAを回収する方法である。細胞はマウス体幹の皮下に異所性に移植されるのが一般的だが、眼球に発生する網膜芽細胞腫では、SCIDマウスの眼球内が移植場所を選ばれるなど、腫瘍の性質によって様々な方法が取られる³⁾。



■ 図2 凍結標本、FFPE標本由来DNAによるWXSの比較

大腸がん組織を二分割して凍結標本、FFPE標本を作製し、WXSを行った。FFPE標本由来DNAからも凍結標本由来DNAと同等の冗長度のシーケンスが可能であり、検出された変異の一致率もきわめて高かった。

要である。

次に、組織標本の保存法がゲノム解析に及ぼす影響について考えたい。国際がんゲノムコンソーシアム (International Cancer Genome Consortium ; ICGC) *5などのプロジェクトでは、新鮮凍結標本をゲノムソースとして規定しているものが多い。しかし、研究施設、病院で手術切除標本を凍結して保管しているところは決して多くはなく、常温で半永久的に保存可能なホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin-fixed paraffin-embedded ; FFPE) ブロックとして保管するのが一般的である。FFPE標本のDNAがゲノム解析に利用できれば、予後や抗がん治療に対する反応性の検討など、患者の経過を数年にわたって観察しなければならない研究において、すでに収集されている組織標本と、患者情報を組み合わせることで遡及的 (retrospective) な解析が可能となり格段に研究対象を拡大できる。ただし、FFPE標本中の核酸は、組織固定までに生じるヌクレアーゼによる分解やホルマリン分解産物による化学的な分解による断片化、ホルマリンによる核酸とタンパク質などのクロスリンクのため、DNA合成酵素の基質としては不適で、サンガー法に基づくダイレクトシーケンスの際に問題になってきた。またホルマリンによってゲノムDNAに生じる付加体がシーケンスのアーティファクトの原因になることも指摘されている^{4),5)}。筆者らのこれまでの経験でも、FFPE標本から抽出したゲノムDNAを用いて、300塩基以上のダイレクトシーケンスを行うのは、ほと

*5 ICGC
<http://www.icgc.org/>

んど不可能だった⁶⁾。

しかし、FFPE 標本由来DNAの断片化は、第二世代以降のシーケンサー、特に筆者らが主に用いているイルミナ社のシステムのように、ゲノムDNAを200~300塩基に断片化してシーケンス反応を行う場合には、それほど大きなデメリットにはならないのではないかと考えた。また、ホルマリン固定に伴うアーティファクトの塩基置換はゲノム上にランダムに生じるはずである。シーケンスの冗長度を大きく設定することができるWXSの場合、スタートのゲノムDNAのコピー数がある程度確保できれば、実際にある変異とこれらランダムな置換では、変異アレルの出現頻度に有意差が生じると考えられた。これらのことから、FFPE 標本由来DNAを用いたWXSは十分可能だと見込んで、アジレント社のSureSelect Human All Exon 50Mb Kitとイルミナ社のHiSeq2000を併用して、解析を試みている。手術切除検体を二分割して凍結標本とFFPE 標本を作製し、同様にがん部をLMDによって抽出した後、WXSを行った予備的な検討では、FFPE 標本由来DNAからでも良好なシーケンスが可能であり、検出した一塩基変異 (single nucleotide variation ; SNV) のパターンも高率に一致した (図2)。これに意を強くして多少の工夫を加えながら、国立がん研究センター東病院で切除・保管された臨床検体の解析を数十例以上手がけており、これまでのところ良好な結果を得ている。FFPE 標本由来DNAからWGSが可能であったとする報告はすでにあり⁷⁾、Broad InstituteやBGIも、FFPE 標本由来DNAを用いた全ゲノム解析の受託を発表しており、今後ゲノムワイドの変異解析が可能なサンプルはいっそう拡がると期待される。

WXSに必要なDNA量についても触れておきたい。ターゲットキャプチャーのキットで、解析に必要なDNAのスタート量は3~10 μ gと設定されている。この量をどこまで少なくすることができるか、生検(バイオプシー)材料のWXSなど、これも実際の臨床がんゲノム研究において重要なファクターになる。筆者らの経験では二本鎖DNA量を1 μ gに減らしても問題なく解析は行えた。さらにこの量を減らして100ngからのスタートが可能になれば、生検材料の利用も現実的になってくる。スタートのDNA量はその後のエクソン特異的なプローブとのハイブリダイゼーションの効率を確保するのに重要だと考えられる。1検体あたりのDNA量が100ngであっても、インデックス配列を付加した後に複数検体を混合したり、全ゲノム増幅(シグマアルドリッチ社のSeqPlex DNA Amplification Kitなど)によってターゲットキャプチャーの際の総DNA量を確保することで解決できる可能性がある。

■表2 市販されている全エクソンキャプチャーキット

	販売元	プローブ	ターゲット領域		主なデータベース	
			サイズ	種類	CCDS	miRBase
SureSelect Human All Exon v4 (V4+UTRs)	アジレント	RNA	71Mb	エクソン UTR	March 2011	v17
SeqCap EZ Human Exome Library v3.0	ロシュ	DNA	64Mb	エクソン UTR	March 2011	v15
TruSeq Exome Enrichment Kit	イルミナ	DNA	62Mb	エクソン UTR	March 2011	v15

CCDS (the consensus coding sequence) ; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/CCDS/CcdsBrowse.cgi>,
miRBase (the microRNA database) ; <http://www.mirbase.org/>

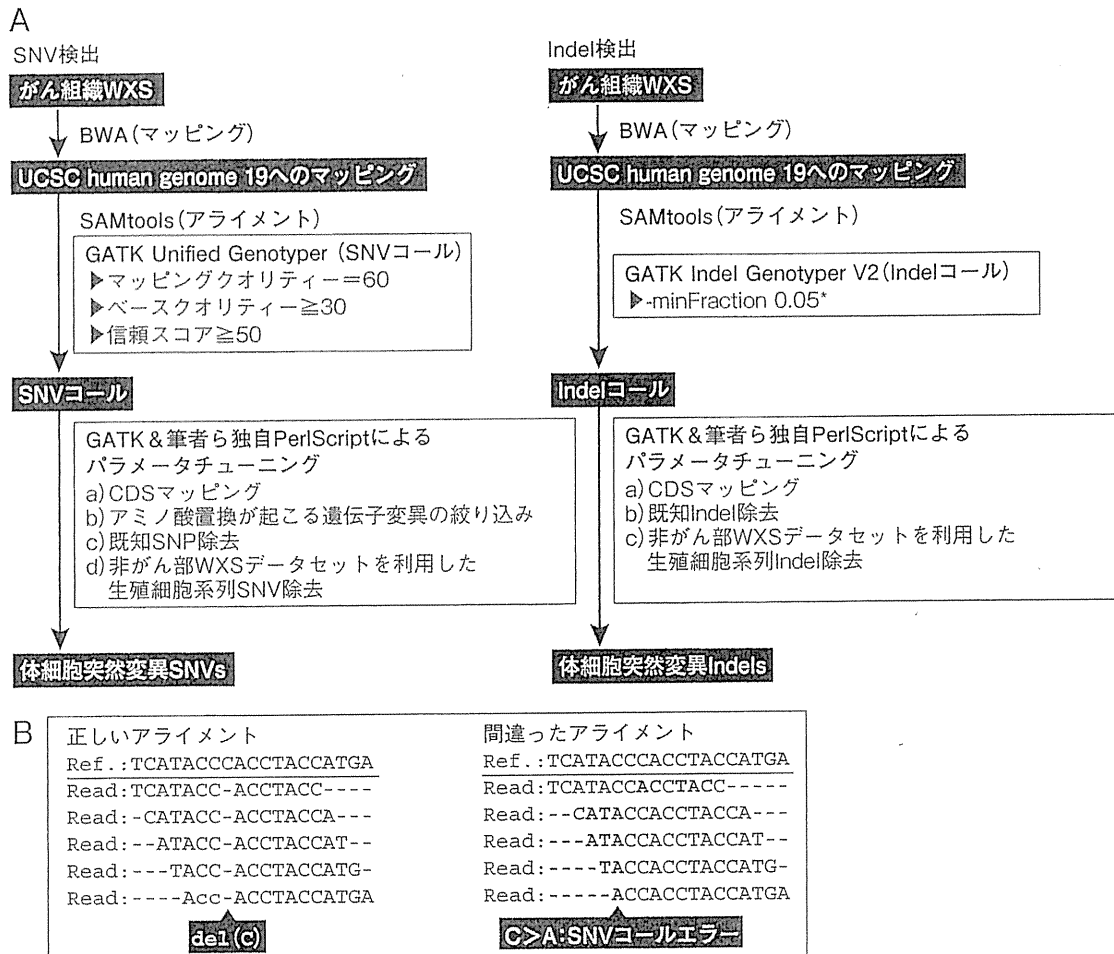


II. ターゲットキャプチャーとシーケンス取得後の解析

現在、全コーディングエクソンをキャプチャーするキットは3社から市販されている。それぞれの特徴は表2に示すとおりである。ターゲットキャプチャーに用いる特異的プローブがアジレント社ではRNAであるのに対し、ロシュ社、イルミナ社はDNAであること、キャプチャーする配列に対して複数のプローブが重なってカバーしているアジレント社、ロシュ社のシステムに対し、イルミナ社のシステムでは、プローブの間隔が開くように設計されていることが主な相違点である。ただし、キャプチャーするコーディングエクソンのバージョン、またこれに加えてmicroRNAのターゲットとなり、遺伝子発現の制御にも関連する3'非翻訳領域(UTR)を含むかどうかなど、各社ほぼ同等のスペックを示している。前述の複数検体を混合してキャプチャーおよびシーケンスを行う“バーコードシーケンス”も各社それぞれ対応している。各社のキットを比較した文献もあるが⁸⁾、筆者らが同じサンプルについてアジレント社とロシュ社のキャプチャーキットでWXSを行った経験では、ゲノムワイドでSNVを検出する能力には実用上大きな違いはないというのが正直な感想である。

キャプチャー後のシーケンスのプラットフォームも各社で市販されているものがほぼ利用できる。筆者らは、HiSeq2000システムを用い、キャプチャー後のサンプルをフローセル1レーンにつき1サンプルで解析して、平均カバレッジ×100以上を確保している。後述のように生殖系列変異・多型の解析でカバレッジが低くてもよい場合には、イルミナ社のMiSeqなどデスクトップ型のシーケンサーでも解析は可能である。

解析に必要なカバレッジについて、ケミストリーの改良などによりシーケンスそのものの信頼性が向上しており、生殖系列変異・多型の解析には平均30~45×程度が一般的に用いられている。ただし、がんゲノムの体細胞突然変異の解析の場合は、微小不均質性などを考慮して、最低でも75×以上、できれば150×以上を確保したい。



■ 図3 WXSにおけるSNVとIndelの解析フロー(A)と

Indelを無視したアライメントによって生じる誤ったSNV判定の模式図(B)

Bでは各シーケンスリードにおいて複数箇所がリファレンス配列と異なることが多い。CDS; コーディング配列。

シーケンスデータ取得後の処理のフローについて、筆者らが行っているものを図3に示す。筆者らはリファレンス配列へのマッピングにBWA (Burrows-Wheeler Aligner)^{*6}、変異コールにGATK (Genome Analysis Toolkit)^{*7}を用いており、特にGATKのパラメータチューニングには留意している。がんゲノムの解析の際には、KRASやEGFRなど各種のがんで変異のホットスポットが明らかになっている部分についてあらかじめサンガーシーケンスを行い、GATKによる変異コールとの異同を確認し、偽陰性(サンガー法で変異陽性、並列シーケンスで変異陰性)が出ないように調整している。また、変異がコールされた箇所についてはマッピングデータをGenomeStudio^{*8}やIGV (Integrative Genomics Viewer)^{*9}などのゲノムブラウザで表示させ、偽陽性が生じないパラメータを決定している。GATKのプログラム上Indelを考慮せずにマッピングが行われた箇所は、

*6 BWA
<http://bio-bwa.sourceforge.net/>

*7 GATK
<http://www.broadinstitute.org/gatk/>

*8 GenomeStudio
http://www.illumina.com/software/genomestudio_software.ilmn

*9 IGV
<http://www.broadinstitute.org/igv/>

リファレンス配列とのずれを誤ってSNVとして検出してしまうことがある(図3)。これを防ぐためにGATK Indel Genotyper V2では、コールの途中でindelが検出された場合、indelがある場合を考慮して再びアライメントを行う(realignment)オプションを推奨している。筆者らはIndelを無視してアライメントを行った場合には、1つのシーケンスリード中に複数のSNVが存在するように判定されることを逆手にとって、SNVとコールされた箇所以外がリファレンス配列と一致する(perfect match)リードを選んでSNVコールの精度を高めている。これらの工夫によって、現在サンガー法との比較で特異度(並列シーケンスでSNVと判定したものうち、サンガー法で確認できた割合)は95%以上、一塩基多型(SNP)アレイとの比較で感度(SNPアレイで検出された多型のうち、並列シーケンスでSNVと判定したものは85%以上の成績となっている。パラメータチューニングにおいて、感度と特異度はトレードオフの関係にあることが多い。より効果的なプログラムの開発は常に待たれている。

🔄 おわりに

コストをかけずにゲノムワイドの解析が可能な方法としてまず注目されたWXSであるが、各国のメガゲノムセンターに1検体あたり数十万円の価格でWGSを委託できる現状では、コスト面のメリットはそれほどインパクトを持たなくなっているのも事実である。一方、固形がん組織で相次いで明らかになってきた染色体転座、逆位に伴う新規ドライバー遺伝子変異^{*10}の検出など、現行のWXSのシステムでは対応できない点も明らかになってきた⁹⁾。今後はターゲットキャプチャー法の利点、すなわち狙った領域をより深い冗長度で解析できる点、サンプルプレップ^{*11}から変異同定までのターンアラウンドが短い点などを利用した研究、臨床検査への応用などを模索していく必要があると考えている。

*10 ドライバー遺伝子変異

腫瘍の増殖や進展を促す遺伝子変異。ドライバー(運転手)変異と呼ぶ。それに対し、腫瘍形成に関係がないと思われる変異をパッセンジャー(乗客)変異と呼ぶ。

*11 サンプルプレップ

DNA断片化、アダプターライゲーション、サイズセレクション、PCR、ライブラリ定量など。

[文献]

- 1) Wood LD, et al: *Science* (2007) 318: 1108-1113
- 2) Gnirke A, et al: *Nat Biotechnol* (2009) 27: 182-189
- 3) Zhang J, et al: *Nature* (2012) 481: 329-334
- 4) Noguchi M, et al: *Pathol Int* (1997) 47: 685-691
- 5) Srinivasan M, et al: *Am J Pathol* (2002) 161: 1961-1971
- 6) Bando H, et al: *Jpn J Clin Oncol* (2011) 41: 239-244
- 7) Yost SE, et al: *Nucleic Acids Res* (2012) 40: e107
- 8) Clark MJ, et al: *Nat Biotechnol* (2011) 29: 908-914
- 9) Kohno T, et al: *Nat Med* (2012) 18: 375-377