厚労科学研究費補助金（がん対策推進総合研究事業）

分担研究年度終了報告書

遺伝子パネル検査による遺伝子プロファイリングに基づく複数の標的治療に関する患者申出療養に関する研究

研究分担者　　鈴木　穣・東京大学大学院新領域創成科学研究科

A.研究要旨

難治性がん（膵がん）並びに希少がんの試料を用いたパイロット解析を行うことを目的とし、200 検体について短鎖シークエンスによる全ゲノム解析、40 検体について長鎖 DNA シークエンスを行う。

B.　研究方法

長鎖 DNA シークエンスは、Ligation Sequence Kit（Oxford nanopore, Cat# SQK-LSK109）で鋳型を調整し、Oxford Nanopore Technologies 社のナノポア DNA シークエンサー・PromethION でシークエンス解析を行った。

短鎖シークエンスの鋳型 DNA は、TruSeq DNA PCR-Free High Throughput Library Prep Kit（Illumina, Cat# 20015963)を用いて作成した。また、複数個体を同じフローセルでシークエンスを行うマルチプレックスでシークエンスするため、IDT for Illumina – TruSeq DNA UD Indexes(Illumina, Cat# 20020590)でインデックスを付加した。その後、NovaSeq 6000 で 150bp ペアエンドシークエンスを行った。

PromethION で取得した長鎖シークエンスで足場を構築し、NovaSeq 6000 で取得した精度の高いシークエンスを用いてシークエンス精度を補完するステップ（ゲノム配列のポリッシング）を経て、新規アセンブリを構築した。

（倫理面への配慮）

本研究計画の遂行は各医療機関の IRB 承認を得て、研究計画を情報公開しオプトアウト機会を保障して進めた。

C.　研究結果

200 検体について短鎖シークエンスによる全ゲノム解析を行った。また 40 検体について長鎖 DNA シークエンスを行った。それぞれの読み取り深度（depth）は、Novaseq6000 で約 95 倍、PromethION で約 32 倍

であった。短鎖シークエンサーであるNovaseq6000では検体当たりのデータ量は平均283Gbase得られ、QV30以上の塩基割合の平均は95%であった。また、長鎖シークエンサーであるPromethIONでは、検体当たりのデータ量は平均96Gbase得られ、平均DNA長33Kbの配列を解読することができた。

D.　研究危険情報

なし

E.　研究発表

1.　論文発表　なし
2.　学会発表　なし

F.　知的財産権の出願・登録状況

なし