

## 先天性・遺伝性疾患の検査 Up to date —臨床検査技師への期待—

◎新井田 要<sup>1)</sup>

金沢医科大学病院 ゲノム医療センター<sup>1)</sup>

近年、遺伝性難病の診断や、がんにおける体細胞遺伝子変異の診断に、次世代シーケンサ (next generation sequencer, NGS) を用いた解析が普及しています。次世代シーケンス (next generation sequencing, NGS, 注: シーケンス機器の事もシーケンス方法の事も NGS と略記します) は、従来のサンガーシーケンス法に比べて一度に大量の塩基配列の決定が可能であるという利点があり、サイズの大きな遺伝子や、一度に沢山の遺伝子を解析する際に、その威力を発揮します。すでに NGS を用いた多くの検査が保険収載化されており、一般臨床検査技師の立場としても、NGS の原理や限界、留意点に関する基本的な事項を理解しておく必要があると思われます。本講演では、現在 NGS の主流となっているショート・リード・シーケンサに焦点を当て解説します。

NGS では解析対象領域の DNA を濃縮し機械で読み取れる形に加工したもの (ライブラリ) を、ガラス基板 (フローセル) 上に分散させて無数のクラスターを形成させ、各クラスターに対するシーケンス反応とシーケンスの読み取りを同時並列処理で行います。このようにすることで、大量のシーケンスデータを一度に得ることを可能としています。また、検体毎に異なるインデックスをライブラリに付加することで、複数の検体をまとめて一度に処理することが可能です。各クラスターから得られるシーケンス情報をヒトゲノム配列上にマッピングして再構成することで、対象領域の塩基配列を決定しますが、このためには複数のプログラムからなる一連の解析 (解析パイプライン) が必要となります。個々のクラスターからのリード (DNA 塩基配列) の精度は高くないため、1か所につき複数のリードのデータを合わせることで読み取り精度を高めています。また、ライブラリ作成のために、解析対象 DNA 領域を濃縮 (エンリッチメント) するには、キャプチャープローブ法、アンプリコン法、Long PCR base 法の3つの方法があり、どれも一長一短があります。解析パイプラインやエンリッチメントの方法により、解析結果に違いが出てくる可能性があり、注意を要します。現行のショート・リード・シーケンサにはいくつかの弱点があり、決して万能の検査法ではありません。これを解決すべく、さらに新しい機器や手法が開発されてきています。

今後 NGS を用いた遺伝子検査はますます普及し、臨床検査技師としても知らないでは済まされない分野となることは明らかです。最先端の技術というものは、実際にそれを使用している者以外にはブラックボックスであり、ともすれば分からないが故に無批判に信じてしまいがちですが、所詮は人が作った機械です。この機会に NGS の原理と限界を理解し、技術を正しく受け入れる心構えを養っていただけましたら幸いです。