

1 次の文 A~C を読み問いに答えよ。

文 A ヒトの細胞内には①塩基対のゲノム DNA が存在する。この①塩基対を解読し、遺伝情報のすべてを明らかにしようとする計画が 1990 年に開始された。これが②プロジェクトである。当初は DNA 塩基配列解析機器（シーケンサー）を用いて一度に読み取れる配列は 2 時間で 500 塩基程度であった。しだいに国際的な共同プロジェクトに広がり、多数のシーケンサーで並列して解析を行うことで、当初 15 年計画であったものが 2003 年に完了した。②プロジェクトの完了によりヒト全ゲノム配列が既知のものとなったことから、新規遺伝子を見つける研究を行う必要がなくなった。さらに、一つの目的遺伝子のみを解析する手法では不十分とみなされ、多数の遺伝子解析を行うことが求められるようになった。しかし、従来の塩基配列解析手法では、性能に限りがあり少数の遺伝子だけしか解析できなかった。そこで、新しい原理に基づき大容量・超高速シーケンスを可能にしたのが次世代シーケンサー(next generation sequence NGS)である。さまざまな原理に基づくシーケンサーが次々と開発され、第一～第四世代に分類されている。技術進歩に伴い解析コストは年々低下し、基礎研究から臨床応用へと広がりつつある。第一世代シーケンサーは、古典的シーケンサーともいわれる(図 11・1)。この方法では、まず目的とする DNA 断片の単離・増幅を行う。特異的プライマーを用い、蛍光色素を付加した③加えて PCR 法を行い、一つの遺伝子を増幅する。原理開発者の名をとって④法ともよばれることが多い。蛍光標識

を取込んだ DNA 断片は、種々の塩基長で伸長反応が止まる。これを毛细管(キャピラリー)内の高分子ポリマーで電気泳動することで、長さの違いにより分離できる。キャピラリー下部の検出窓にレーザー光を照射し、ここを通過する DNA 断片の蛍光を検出

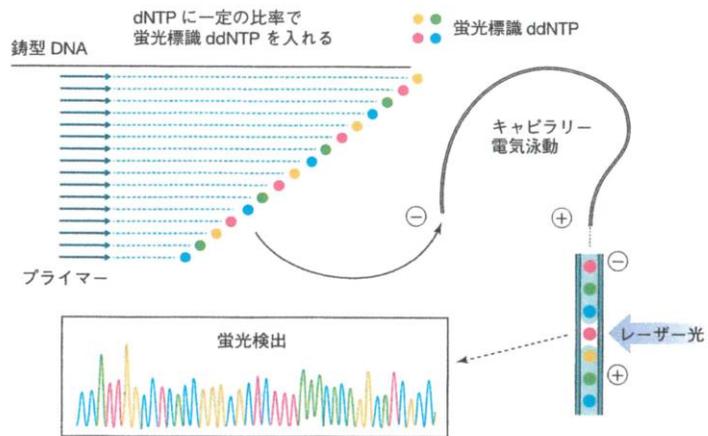


図 11・1 第一世代: キャピラリー電気泳動法

してその色から A, T, G, C を同定し, DNA 配列を決定する。一度に泳動できるキャピラリー数を増やし, 泳動速度を上げることで多検体の迅速な解析が可能となり,

現在一般に広く使われている。

問1 文中の①～④にあてはまる語句を記入せよ。

問2 ③は DNA 合成の材料となる通常のスクレオチドとは異なる。③は④法の中でどのように働くのか簡潔に説明せよ。

問3 通常、③は反応液にごく少量混ぜてDNA鎖を合成させる。もし、この特殊なスクレオチドを反応液に過剰に加えてしまった場合、合成されるDNAの長さはどうなるか。理由とともに述べよ。

文B 第二世代シーケンサーは、全ゲノムを断片化して増幅し、多数のDNA断片の配列を同時並行解析することができるようになった。DNA断片の単離プロセスが不要であり、大量高速処理を安価に実施できることから、すでに広く普及している。解読するDNAの調製法を工夫することで、単にゲノム配列を解読だけでなくさまざまな目的に利用される。次世代シーケンサーによる解析手順の概略を図11. 2に示す。



図 11・2 次世代シーケンサーによる解析の手順

次世代シーケンサーの進歩より、かつて何年もかかったヒトゲノム解読が数日から2週間程度に短縮された。遺伝子工学領域において、膨大な情報が得られる次世代シーケンサーは核酸の同定・分析に関するさまざまな旧来の解析に取って代わりつつある。次世代シーケンサーのおもな解析用途として、ゲノム塩基配列解析、遺伝子発現解析、転写制御機構解析の三つがある。

問4 ゲノム塩基配列解析には全ゲノム解析以外に、エクソーム解析というすでに配列が判明しているエクソン部分のみを解析する手法がある。この解析の利点を述べよ。

問5 問4以外に、ヒト腸内を含む様々な環境中の多種の微生物のDNAを混合物として抽出し、DNA配列を網羅的に調べるメタゲノム解析がある。この方法の利点を述べよ。