

Title	小型長鎖用DNAシーケンサーの恒久稼働環境の実現とその環境情報学的有効性の立証
Sub Title	
Author	黒田, 裕樹(Kuroda, Hiroki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2022
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2021. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>近年、遺伝子の塩基配列を読むことは身近になりつつある。特に特定環境に生息する生物の一斉検出や節食物に含まれる生物種の同定に役立つDNAメタバーコーディング技術、ならびに生物や特定の細胞が発現している遺伝子だけを網羅的に読み取るRNA-seq技術、は環境情報学の分野に大きな革新をもたらそうとしている。一方、この測定のためには余程の大きな研究組織でもない限り、外部に委託するしかなく、毎回数十万円のコストがかかる。本研究では慶応SFC内に小型の最新鋭の次世代シーケンサーを導入して、研究の恒久的な効率化を図る。特に環境DNA測定について、意義のある試料を用いて、その有効性を立証する。</p> <p>研究は、Oxford Nanopore Technologies社が開発した小型の最新鋭の次世代シーケンサーであるMinION(特に2020年に国内販売が開始されたMk1Cモデル)を購入し、迅速な塩基配列解読が可能な環境をSFC内に立ち上げることを目指した。また、試料から核酸を抽出する簡易設備ならびに配列情報を解析できる環境の整備が第一に必要であると考え、2021年度は発注をして届くまでの間に核酸抽出簡易設備ならびに配列情報解析環境を整備した。実際にはMinIONはMk1Cモデルを購入するためには今年度は予算が足らず、本体をレンタルすることになった。その上で、レンタル品を稼働させる試薬をそろえ、RNAseqを中心としたメタ解析を行った。その結果、最も速くデータを出せるPlatformを用いて解析を行ったが、主成分解析をしてもクラスターが形成されていないという問題が生じた。サンプリング上の問題である可能性は低く、MinIONを用いて解析できる量の限界値を超えていた可能性が示唆された。そこで、別のサンプルやサンプル量を変更して調べていった結果、最終的には目的の試料に含まれる遺伝子解析を完了することができた。</p> <p>以上より、今年度の目標は達成できたと言える。</p> <p>In recent years, reading gene sequences has become more accessible. In particular, DNA metabarcoding technology, which is useful for simultaneous detection of organisms inhabiting a specific environment and identification of species contained in food sources, and RNA-seq technology, which comprehensively reads only genes expressed by organisms or specific cells, are bringing about major innovations in the field of environmental informatics. On the other hand, unless you are a very large research organization, you have no choice but to outsource this measurement, which costs several hundred thousand yen each time. In this study, a small next-generation sequencer will be installed in Keio SFC to permanently improve the efficiency of the research. In particular, we will prove the effectiveness of environmental DNA measurement using samples of significance.</p> <p>The research aimed to purchase a small next-generation sequencer, MinION (especially the Mk1C model, which will be available in Japan in 2020), developed by Oxford Nanopore Technologies, to set up an environment within the SFC that will enable rapid sequencing. In addition, we considered it necessary first of all to develop a simple facility for extracting nucleic acids from samples and an environment for analyzing sequence information, and in FY2021, we developed a simple facility for extracting nucleic acids and an environment for analyzing sequence information before placing an order and receiving the order. In fact, MinION did not have enough budget this fiscal year to purchase the Mk1C model, so the main unit had to be rented. On top of that, we prepared reagents to run the rented equipment and conducted meta-analysis centered on RNAseq. As a result, we conducted the analysis using Platform, which can produce data the fastest, but a problem arose: clusters were not formed even after principal component analysis. It was unlikely that this was a sampling problem, and it was suggested that the limit of the amount of data that could be analyzed using MinION may have been exceeded. Therefore, we investigated by using different samples and changing the sample volume, and were eventually able to complete the analysis of the genes contained in the target samples.</p> <p>Based on the above, it can be said that the goals for this fiscal year were achieved.</p>
Notes	

Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2021000004-20210031">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2021000004-20210031</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

研究代表者	所属	環境情報学部	職名	教授	補助額	1,022	千円
	氏名	黒田 裕樹	氏名（英語）	HIROKI KURODA			
研究課題（日本語）							
小型長鎖用 DNA シーケンサーの恒久稼働環境の実現とその環境情報学的有効性の立証							
研究課題（英訳）							
小型長鎖用 DNA シーケンサーの恒久稼働環境の実現とその環境情報学的有効性の立証							
研究組織							
氏名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position					
黒田 裕樹 (Hiroki Kuroda)		環境情報学部・教授					
一ノ瀬 友博 (Tomohiro Ichinose)		環境情報学部・教授					
鈴木 治夫 (Haruo Suzuki)		環境情報学部・准教授(有期)					
辻本 恵 (Megumi Tsujimoto)		環境情報学部・専任講師(有期)					
1. 研究成果実績の概要							
<p>近年、遺伝子の塩基配列を読むことは身近になりつつある。特に特定環境に生息する生物の一斉検出や節食物に含まれる生物種の同定に役立つ DNA メタバーコーディング技術、ならびに生物や特定の細胞が発現している遺伝子だけを網羅的に読み取る RNA-seq 技術、は環境情報学の分野に大きな革新をもたらそうとしている。一方、この測定のためには余程の大きな研究組織でもない限り、外部に委託するしかなく、毎回数十万円のコストがかかる。本研究では慶応 SFC 内に小型の最新鋭の次世代シーケンサーを導入して、研究の恒久的な効率化を図る。特に環境 DNA 測定について、意義のある試料を用いて、その有効性を立証する。</p> <p>研究は、Oxford Nanopore Technologies 社が開発した小型の最新鋭の次世代シーケンサーである MinION(特に 2020 年に国内販売が開始された Mk1C モデル)を購入し、迅速な塩基配列解読が可能な環境を SFC 内に立ち上げることを目指した。また、試料から核酸を抽出する簡易設備ならびに配列情報を解析できる環境の整備が第一に必要であると考え、2021 年度は発注をして届くまでの間に核酸抽出簡易設備ならびに配列情報解析環境を整備した。実際には MinION は Mk1C モデルを購入するためには今年度は予算が足らず、本体をレンタルすることになった。その上で、レンタル品を稼働させる試薬をそろえ、RNAseq を中心としたメタ解析を行った。その結果、最も速くデータを出せる Platform を用いて解析を行ったが、主成分解析をしてもクラスターが形成されていないという問題が生じた。サンプリング上の問題である可能性は低く、MinION を用いて解析できる量の限界値を超えていた可能性が示唆された。そこで、別のサンプルやサンプル量を変更して調べていった結果、最終的には目的の試料に含まれる遺伝子解析を完了することができた。</p> <p>以上より、今年度の目標は達成できたとと言える。</p>							
2. 研究成果実績の概要（英訳）							
<p>In recent years, reading gene sequences has become more accessible. In particular, DNA metabarcoding technology, which is useful for simultaneous detection of organisms inhabiting a specific environment and identification of species contained in food sources, and RNA-seq technology, which comprehensively reads only genes expressed by organisms or specific cells, are bringing about major innovations in the field of environmental informatics. On the other hand, unless you are a very large research organization, you have no choice but to outsource this measurement, which costs several hundred thousand yen each time. In this study, a small next-generation sequencer will be installed in Keio SFC to permanently improve the efficiency of the research. In particular, we will prove the effectiveness of environmental DNA measurement using samples of significance.</p> <p>The research aimed to purchase a small next-generation sequencer, MinION (especially the Mk1C model, which will be available in Japan in 2020), developed by Oxford Nanopore Technologies, to set up an environment within the SFC that will enable rapid sequencing. In addition, we considered it necessary first of all to develop a simple facility for extracting nucleic acids from samples and an environment for analyzing sequence information, and in FY2021, we developed a simple facility for extracting nucleic acids and an environment for analyzing sequence information before placing an order and receiving the order. In fact, MinION did not have enough budget this fiscal year to purchase the Mk1C model, so the main unit had to be rented. On top of that, we prepared reagents to run the rented equipment and conducted meta-analysis centered on RNAseq. As a result, we conducted the analysis using Platform, which can produce data the fastest, but a problem arose: clusters were not formed even after principal component analysis. It was unlikely that this was a sampling problem, and it was suggested that the limit of the amount of data that could be analyzed using MinION may have been exceeded. Therefore, we investigated by using different samples and changing the sample volume, and were eventually able to complete the analysis of the genes contained in the target samples.</p> <p>Based on the above, it can be said that the goals for this fiscal year were achieved.</p>							
3. 本研究課題に関する発表							
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)				
儀満 光紀	ツメガエル胚において GABA 依存的に生じる体軸伸長機構	分子生物学会	2021年12月				
星野 直樹	アニサキスが保有するトランスポゾンの宿主-寄生体間で生じる水平伝播の検討	分子生物学会	2021年12月				

鈴木 結香子	脊椎動物の原腸胚において背腹帯域特異的に発現する小分子の同定	分子生物学会	2021 年 12 月
--------	--------------------------------	--------	-------------