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	Validation of the environmental informatics regarding a small next-generation DNA sequencer
Author	黒田, 裕樹(Kuroda, Hiroki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2023
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2022.)
JaLC DOI	
Abstract	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ことを目指している。今年度は3年計画の2年目となる。 今年度は、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)について、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ができた。具体的には最も速くデータを出せる Platform を用いて解析を行った際に、主成分解析をした場合にクラスターが形成できる条件を定めた。また、MinIONで確認されたシーケンスのうち有意に多く含まれるものについては、リアルタイムPCRによる解析が必須であるため、リアルタイムPCR装置を購入し、その解析に必要な試薬を整え、迅速にPCR技術によってデータの再現性· 信頼性が得られる環境を確立した。 以上より、今年度の目標は達成できたと判断した。 In recent years, reading gene sequences has become increasingly 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 a major innovation in the field of environmental informatics. On the other hand, unless a research organization is very large, it is necessary to outsource this measurement, which costs several hundred thousand yen each time. In this study, a small, state-of-the-art next-generation sequencer will be installed at Keio SFC to permanently improve the efficiency of research. In particular, we aim to prove the validity of environmental DNA measurements using samples of significance. This fiscal year is the second year of the three-year plan. This year, we were able to set up an environment at the SFC for rapid sequencing of MinION, a compact, state-of-the-art next-generation sequencer developed by Oxford Nanopore Technologies (especially the Mk1C model, which will be launched in Japan in 2020). Specifically, we defined the conditions under which clusters can be formed when principal component analysis is performed using the Platform that can produce the fastest data. In addition, since real-time PCR analysis is essential for sequences that are significantly included among those confirmed by MinION, we purchased a real-time PCR device, prepared the reagents necessary for the analysis, and established an environment in which data reproducibility and reliability can be obtained quickly using PCR technology. Based on the above, we judged that the goals for this fiscal year were achieved.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2022000011-20220038

2022年度　学事振興資金（共同研究）研究成果実績報告書

2023年3月27日

研究代表者	所属	環境情報学部	職名	教授	補助額	1,500　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）
Validation of the environmental informatics regarding a small next-generation DNA sequencer

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
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

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ことを目指している。今年度は3年計画の2年目となる。

今年度は、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)について、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ができた。具体的には最も速くデータを出せるPlatformを用いて解析を行った際に、主成分解析をした場合にクラスターが形成できる条件を定めた。また、MinIONで確認されたシーケンスのうち有意に多く含まれるものについては、リアルタイムPCRによる解析が必須であるため、リアルタイムPCR装置を購入し、その解析に必要な試薬を整え、迅速にPCR技術によってデータの再現性・信頼性が得られる環境を確立した。

以上より、今年度の目標は達成できたと判断した。

２．研究成果実績の概要（英訳）

In recent years, reading gene sequences has become increasingly 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 a major innovation in the field of environmental informatics. On the other hand, unless a research organization is very large, it is necessary to outsource this measurement, which costs several hundred thousand yen each time. In this study, a small, state-of-the-art next-generation sequencer will be installed at Keio SFC to permanently improve the efficiency of research. In particular, we aim to prove the validity of environmental DNA measurements using samples of significance. This fiscal year is the second year of the three-year plan.

This year, we were able to set up an environment at the SFC for rapid sequencing of MinION, a compact, state-of-the-art next-generation sequencer developed by Oxford Nanopore Technologies (especially the Mk1C model, which will be launched in Japan in 2020). Specifically, we defined the conditions under which clusters can be formed when principal component analysis is performed using the Platform that can produce the fastest data. In addition, since real-time PCR analysis is essential for sequences that are significantly included among those confirmed by MinION, we purchased a real-time PCR device, prepared the reagents necessary for the analysis, and established an environment in which data reproducibility and reliability can be obtained quickly using PCR technology.

Based on the above, we judged that the goals for this fiscal year were achieved.

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）
Yukako Suzuki, Ryosuke Hayasaka, Masako Hasebe, Satsuki Ikeda, Tomoyoshi Soga, Masaru Tomita, Akiyoshi Hirayama, Hiroki Kuroda	Comparative Metabolomics of Small Molecules Specifically Expressed in the Dorsal or Ventral Marginal Zones in Vertebrate Gastrula	Metabolites	2022年5月
Takumi Shimizu, Haruki Natsukawa, Hiroki Yuasa, Hiroki Kuroda, Tomohiro Ichinose	DNA Metabarcoding Analysis of Long- Eared Owl Asio otus Pellets Reveals Small Animals as Its Prey	SFC JOURNAL	2023年3月