

Title	超小型長鎖シーケンサーを用いたリアルタイムゲノム診断システムの開発
Sub Title	Development of a real-time genome diagnostic system using an ultra-compact longread sequencer
Author	武内, 俊樹(Takenouchi, Toshiki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	研究計画に沿って1年目に構築した次世代シーケンスデータ専用集積回路および人工知能を用いた超高速解析系の解析パイプラインを、解析期間の短縮および点変異以外の染色体構造異常の検出率向上の観点からさらに改良を行った。解析期間については、血液検体の採取から、本解析系により最短26時間程度で候補バリエーションの同定まで至ることを実証した。迅速な診断と治療方針の決定が要求される小児および新生児集中治療室において医療実装できる可能性が確認された。点変異以外の染色体構造異常の検出の観点からは、従来の短鎖シーケンス法では検出困難であったDNA繰り返し配列の検出に成功した。例として、短鎖シーケンサーによって原因診断が確定できなかった原因不明の筋力低下を呈する母子患者において、CTG繰り返し配列を検出し、筋緊張性ジストロフィーの確定診断に至った。さらに、発症に伴うDNAメチル化の変化も確認することができ、遺伝カウンセリング上も有用であった。 デスクトップ型パソコンに接続して運用する超小型長鎖型シーケンサー（Nanoporeシーケンサー）からシーケンスデータを取得した後に、Graphics Processing Unitを搭載した長鎖解析専用パイプラインで処理する解析系に、特定の遺伝子群を選択的に解析する方法(adaptive sampling)にGenomics England等のデータベース情報から構築した遺伝子パネルセットを組み合わせる本解析系の診断効率を向上させ、医療実装を進める計画である。 The ultra-high-speed analysis system, which was constructed in the first year according to the research plan, was further improved from the viewpoint of shortening the analysis period and improving the detection rate of chromosomal structural abnormalities other than point mutations. We confirmed that the analysis time from the collection of blood samples to the identification of candidate variants can be as short as 26 hours using this analysis system. This follows that the plausibility of medical implementation in pediatric and neonatal intensive care units, where rapid diagnosis and treatment decisions are required, was confirmed. In terms of detection of chromosomal structural abnormalities other than point mutations, we succeeded in detecting DNA repeat sequences that were difficult to detect by conventional short-sequencing methods. As an example, in a mother and child patient with undiagnosed muscle weakness, we identified CTG repeat sequences and made a definitive diagnosis of myotonic dystrophy. At the same time, we succeeded in detection of DNA methylation status associated with the onset of the disease, which was useful in genetic counseling. After acquiring sequence data from an ultra-compact long-read sequencer connected to a desktop PC, the data is processed by a dedicated long-read analysis pipeline equipped with a Graphics Processing Unit. The plan is to improve the diagnostic efficiency of this analytic system by combining a gene panel set constructed from information from databases such as Genomics England with a method of selectively analyzing specific gene groups (adaptive sampling), and to promote its medical implementation.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230260

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.

2023年度 学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部臨床教室	職名	専任講師	補助額	500千円 (特B)
	氏名	武内 俊樹	氏名(英語)	Takenouchi, Toshiki		
研究課題（日本語）						
超小型長鎖シーケンサーを用いたリアルタイムゲノム診断システムの開発						
研究課題（英訳）						
Development of a real-time genome diagnostic system using an ultra-compact longread sequencer						
1. 研究成果実績の概要						
研究計画に沿って1年目に構築した次世代シーケンスデータ専用集積回路および人工知能を用いた超高速解析系の解析パイプラインを、解析期間の短縮および点変異以外の染色体構造異常の検出率向上の観点からさらに改良を行った。解析期間については、血液検体の採取から、本解析系により最短26時間程度で候補バリエーションの同定まで至ることを実証した。迅速な診断と治療方針の決定が要求される小児および新生児集中治療室において医療実装できる可能性が確認された。点変異以外の染色体構造異常の検出の観点からは、従来の短鎖シーケンス法では検出困難であったDNA繰り返し配列の検出に成功した。例として、短鎖シーケンサーによって原因診断が確定できなかった原因不明の筋力低下を呈する母子患者において、CTG繰り返し配列を検出し、筋緊張性ジストロフィーの確定診断に至った。さらに、発症に伴うDNAメチル化の変化も確認することができ、遺伝カウンセリング上も有用であった。デスクトップ型パソコンに接続して運用する超小型長鎖型シーケンサー（Nanoporeシーケンサー）からシーケンスデータを取得した後に、Graphics Processing Unitを搭載した長鎖解析専用パイプラインで処理する解析系に、特定の遺伝子群を選択的に解析する方法(adaptive sampling)にGenomics England等のデータベース情報から構築した遺伝子パネルセットを組み合わせる本解析系の診断効率を向上させ、医療実装を進める計画である。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
The ultra-high-speed analysis system, which was constructed in the first year according to the research plan, was further improved from the viewpoint of shortening the analysis period and improving the detection rate of chromosomal structural abnormalities other than point mutations. We confirmed that the analysis time from the collection of blood samples to the identification of candidate variants can be as short as 26 hours using this analysis system. This follows that the plausibility of medical implementation in pediatric and neonatal intensive care units, where rapid diagnosis and treatment decisions are required, was confirmed. In terms of detection of chromosomal structural abnormalities other than point mutations, we succeeded in detecting DNA repeat sequences that were difficult to detect by conventional short-sequencing methods. As an example, in a mother and child patient with undiagnosed muscle weakness, we identified CTG repeat sequences and made a definitive diagnosis of myotonic dystrophy. At the same time, we succeeded in detection of DNA methylation status associated with the onset of the disease, which was useful in genetic counseling. After acquiring sequence data from an ultra-compact long-read sequencer connected to a desktop PC, the data is processed by a dedicated long-read analysis pipeline equipped with a Graphics Processing Unit. The plan is to improve the diagnostic efficiency of this analytic system by combining a gene panel set constructed from information from databases such as Genomics England with a method of selectively analyzing specific gene groups (adaptive sampling), and to promote its medical implementation.						
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)	
Toshiki Takenouchi	Nationwide implementation of rapid genomic diagnostic network for sick newborn infants in Japan		Amerian Society of Human Genetics 2023		2023年11月	
Toshiki Takenouchi	Rapid genetic diagnosis for sick neonates		18th Asian Society for Pediatric Research (ASPR) 2023		2023年11月	
武内俊樹	教育講演3：重症新生児に対する迅速なゲノム診断の現状と展望		第59回日本周産期・新生児医学会学術集会		2023年7月	