

授与機関名 順天堂大学

学位記番号 甲第 1840 号

## Precise detection of chromosomal translocation or inversion breakpoints by whole-genome sequencing

(全ゲノムシーケンスを用いた転座及び逆位切断点の同定)

鈴木 敏史 (すずき としふみ)

博士 (医学)

### 論文内容の要旨

転座、逆位、欠失、重複などのゲノム構造変化 (Structural variations、以下 SVs) によるゲノム切断点の同定は疾患の遺伝的原因を明らかにする上で重要な情報を提供する。FISH 法やサザンブロット法といった従来の解析法は、煩雑かつ時間を要する等問題点を有する。今回、G バンド法で明らかな染色体構造異常を示す 9 症例に対して、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析を行い、詳細な切断点同定の可能について検討した。

9 症例には 14 か所の染色体構造異常 (相互転座 9 か所、逆位 1 か所、微細欠失 4 か所) が存在し、各 SV に対して 2 つの異なる染色体上あるいは逆位両端の切断点があるとすると計 28 切断点が存在する。そのうち 19 切断点は以前の研究で FISH 法やサザンブロット法などを用いて塩基レベルで切断点が同定されていた。今回、HiSeq2000 または 2500 (Illumina 社) を用いて 101 bp のペアエンドリードでシーケンスを行った。BWA-MEM を用いて参照ゲノムにアライメントを行い、切断点同定には BreakDancerMax を用いた。更に Integrative Genomics Viewer を用いて切断点周辺のマッピングリードを詳細に検証した。最終的に候補となった切断点はサンガー法を用いて塩基配列の確認を行った。

全ゲノム解析のカバレッジは 5.95x~21.92x であった。計 28 切断点のうち 20 か所の切断点 (転座 : 16 か所、逆位 : 2 か所、欠失 : 2 か所) を同定した (71.4%)。しかし、8 か所 (転座 : 2 か所、欠失 : 6 か所) は同定に至らなかった。同定に至らなかった欠失のうち、4 か所の切断点に関しては、転座の切断点に隣接する欠失と関連があった。このような場合、discordant read pair (参照ゲノム上での想定位置が両リードで理論的に異なるもの) がマッピングされることが難しく、今回のストラテジーでの同定は困難であると考えられた。

全ゲノム解析による切断点の同定は、G バンド法などで切断点情報が明らかな症例の場合、従来の解析法に代わる効果的な方法となりうると考えられた。