

論文審査の結果の要旨

氏名 クロス レジナルド マサノブ
Reginaldo Massanobu Kuroshu

本論文は4章からなる。第1章はイントロダクション、第2章はクローン化された cDNA を数百本混ぜて DNA 断片をシーケンスし、ゲノムへと写像することにより cDNA を低コストで配列決定する方法について述べている。第3章は cDNA, fosmid 等のクローンの両端配列があらかじめ分かっているときに、その両端配列をゲノム上に写像することでクローン同士が重なるかどうかを判定し、重ならないクローンを別々のグループに分けてシーケンスする方法を展開している。最後に第4章は研究の結論を述べている。

第1章では、研究の動機、cDNA クローンの配列を決定するアプローチの概要、その問題点を述べている。従来はサンガー法に基づくシーケンサーにより高精度の配列を解読してきたが、コストが高額であることが問題であった。そのため低コストで大量の塩基を解読することが出来る次世代型シーケンサーにより、低コストで高精度の配列決定化できるかどうかを考察している。このように研究の動機は明確である。

第2章では、クローン化された cDNA を約 800 本混ぜ合わせたプールを、次世代シーケンサー技術を使って解読し、混合した配列を参照するゲノム配列へアラインメントすることにより、cDNA の exon-intron 構造を復元するアプローチを詳細に検討している。本問題を検討した 2008 年ごろには、解読配列長が 36 塩基と短かったため、短い exon の同定が難しかった。また繰り返し配列などにより断片配列をゲノム上で唯一の位置へと写像することも困難であった。さらに intron をはさんで exon を繋げることは容易ではなかった。このような様々な困難な問題を乗り越えて、cDNA 配列を復元できるようにしたことは重要である。しかし、現在では 75-100 塩基程度の長さが標準的に読めるようになったため、技術的な苦労は少なくなっている。現在のシーケンス技術水準のもとでは、提案方法の価値は薄まりつつある。その点についても考察している。またソフトウェアは公開しており、シーケンス速度が指数関数的増加にしている現在の状況に対応するための努力を継続している。コストは毎年さがると最新価格での比較は難しい。しかし過去の水準と比較はしており、現在でも参考的資料としての価値は高い。

第3章では、論文の後半では、ゲノム上で重なり合わないよう様々なクローンを混ぜてプールをつくり、次世代シーケンサーにより解読することを考察している。シーケンスの回数を減らし、コストを抑えるために、プールの数が少なくなるような近似的なアルゴリズムを利用している。既存のアルゴリズムを使用しており、理論的に優れたアルゴリズムを提案しているわけではないものの、実用的価値は高く普及する可能性がある。

第4章では、上記の研究から導かれる結論について述べられている。まとめると cDNA クローンを次世代型シーケンサーで解読することにより、高い精度を維持しながら、大幅なコストダウンを実現できることを示している。

なお、本論文は、森下真一、笠原雅弘、鈴木穰、菅野純夫との共同研究であるが、論文提出者が主体となって開発、分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（科学）の学位を授与できると認める。