

シーケンス解析□～サンガー法とNGS～

◎池尻 誠¹⁾
三重大学医学部附属病院¹⁾

シーケンス解析とは、塩基配列（A、T、G、Cの並び）を決定することである。シーケンス解析は疾患の診断や治療方針選択の補助として臨床検査に用いられている。シーケンス解析には様々な方法があるが、代表的なものにサンガー法とNGS（次世代シーケンス）がある。

1977年に塩基配列決定法であるジデオキシ法が開発された。この画期的な技術は開発者であるフレデリック・サンガーにちなんでサンガー法と呼ばれることが多い（サンガー法＝ジデオキシ法）。サンガー法はDNA合成反応時にdNTP（デオキシヌクレオチド）以外にddNTP（ジデオキシヌクレオチド）を少量加えておくと、ddNTPが取り込まれた時点でDNAの合成反応が停止することを利用し、1塩基違いの様々な長さの反応産物を合成して、その反応産物を解析することで塩基配列を決定する方法である。当初はddNTPにRIを標識しアクリルアミドゲルで電気泳動し配列を決定していたが、現在ではddNTPは蛍光で標識し、シーケンサーを用いたキャピラリー電気泳動で分離している。一度に1つのDNA断片（800～1000bp）のみを決定することができる。

NGSは次世代シーケンスとも呼ばれ、1990年代後半に開発された技術である。NGSの原理は複数のDNA断片を基板上で並列的に合成反応を行い、各塩基の添加時に発生する光や電気信号などを検出することで塩基配列を決定する方法である。NGSでは数百万から数十億ものDNA断片を同時に解析することができる。

サンガー法とNGSはどちらも塩基配列を決定する方法であるが、それぞれに特徴がありどちらを選択するかは目的に応じて決める必要がある。サンガー法は、高精度で信頼性が高いが、少数のターゲット（1～20ターゲット）に対して迅速で費用対効果の高い解析が出来るが、低感度（検出限界約10～20%）であるという特徴をもつ。一方NGSは、高感度（シーケンス深度が高いと1%まで低下）であり、大量のターゲット（数百から数千の遺伝子領域）を同時に解析することが可能である。しかし、ランニングコストが高いため少数のターゲットを解析する場合は費用対効果が低く、データ解析が複雑であるなどの欠点もある。よって、少ないサンプル数やDNAの小さな領域を調べる際にはサンガー法が適しており、それ以外の場合はNGSの方が適している可能性が高くなる。

このようにサンガー法とNGSにはそれぞれ特徴がある。NGSの臨床応用が進んでいるが、サンガー法も有用なツールである。どちらの解析法を選択するかは、それぞれの特徴を理解して目的に応じて決める必要がある。今回の講演でシーケンス解析法の理解を深め、臨床検査にこのツールを有効利用することが出来れば幸いである。

連絡先：059-232-1111（内線5388）