

論文審査の要旨		
筆頭著者（学位申請者）氏名		太刀川 慶史
主論文の題目 および 掲載・審査委員	題 目	Cost-Effective Cas9-Mediated Targeted Sequencing of Spinocerebellar Ataxia Repeat Expansions (脊髄小脳失調症におけるリピート伸長の Cas9 ターゲット・シーケンセスを活用した費用対効果の高い遺伝子解析)
	掲載誌	The Journal of Molecular Diagnostics 2024; 26: 85-95
	主査	北岡 康史
	副査	右田 王介 副査 高砂 浩史
[論文の要旨・価値] 脊髄小脳失調症（Spinocerebellar ataxia: SCA）は常染色体顕性遺伝であり、複数の原因となるリピート伸長遺伝子領域が知られている。リピート遺伝子配列を検出する方法として、ショートリードもしくはロングリード全ゲノムシーケンサー (LR-WGS) が知られているが、非常に高価であるという欠点がある。ナノポア・ロングリードシーケンサーは、DNA がナノポアを通過する際の膜電位を読み取り塩基配列が確定できる画期的な手法であり、その中でも Flongle は最小で最も安価なナノポアフローセルとして知られている。今回診断の確定している SCA1、2、3、6、DRPLA の DNA を用いて、Flongle のシーケンセス解析の精度を評価した。まず患者末梢血から DNA を精製し、CRISPR-Cas9 により断片化、アダプターのついたリードを各タイプ別に SCA パネルとして作成する。Flongle と SCA パネルの組み合わせ (FLO-SCAp) と LR-WGS を用いて、既知の DNA を使用しリピートカバレッジを比較すると前者の方が優れていた。FLO-SCAp により既知の 5 名の患者の DNA を解析した結果、いずれも異常リピート伸長が検出できた。さらに SCA パネルにハンチントン病と筋強直性ジストロフィーの責任領域を追加した検討でも、それぞれ異常リピート伸長が検出できた。また、ショートリード WGS との比較では 250bp を超える長いリピートも正確に解析できることがわかった。今回の結果は今後の遺伝子解析をより簡便で安価に行え、大規模な検討も可能にする価値ある研究である。		
[審査概要] 発表及び質疑応答において、解析結果は DNA のメチル化のデータが可視化できており、現時点ではこの意味に結論が出ていないが、今後症例数を増やすと例えば病気発症時期に関与するなど、今後の発展も期待できる内容であった。DNA の精製の仕方や Flongle の実際の使い方などの質問がされ、申請者が自分で実際研究を行っていることが確認できた。リピートの回数が少ない症例もあり、Flongle の正確性への限界にも触れ、また症状を遅らせる治療についても的確に回答できた。		
最終試験結果の要旨		
[研究能力・専門的学識・外国語（英語）試験等の評価] 申請者は本研究分野および周辺分野に幅広い専門的知識を有し、とくに Cas9 と Flongle の組み合わせは独自性が高く、今後もこの分野でのさらなる活躍が期待できると考えられた。質疑応答でも終始誠実な態度であり、人格的にも学位授与に値する人物であると判断された。英語は引用文献の一部をその場で訳してもらい、十分な英語読解能力を兼ね備えていると判断された。		