

Fig.9 PEIビーズによるHBV濃縮に及ぼすヒト正常血漿、血清の影響

A) HBV標準品; B) HBV陽性血漿

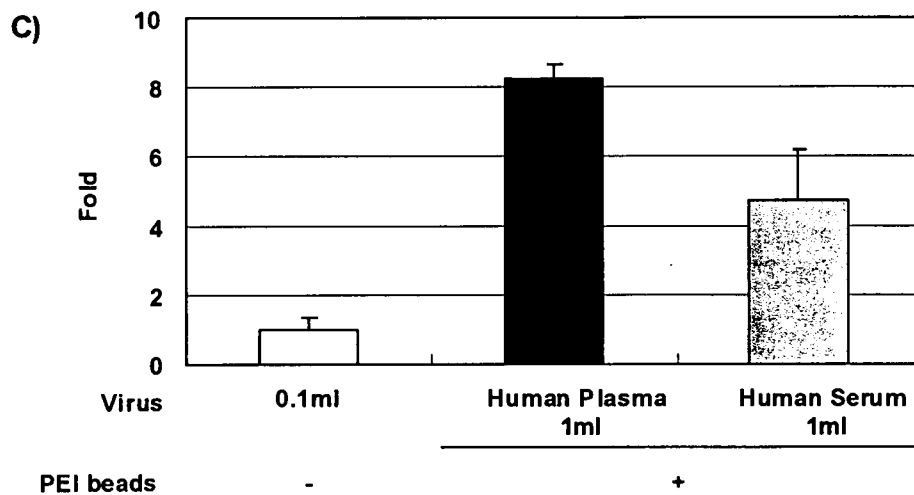
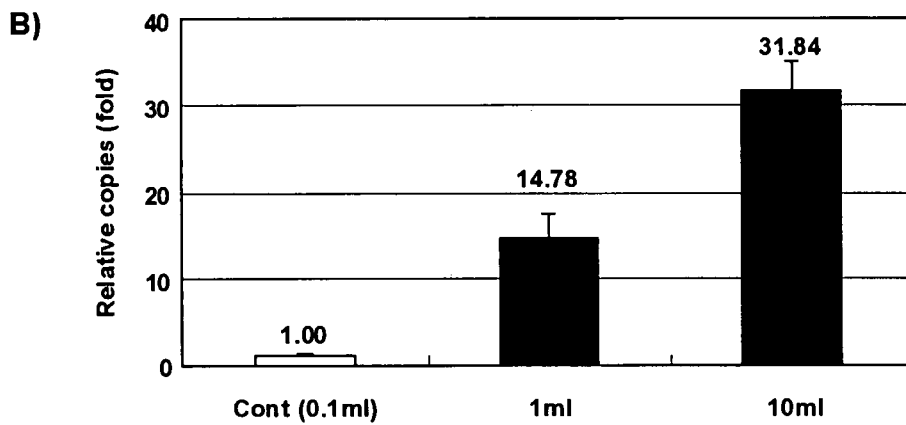
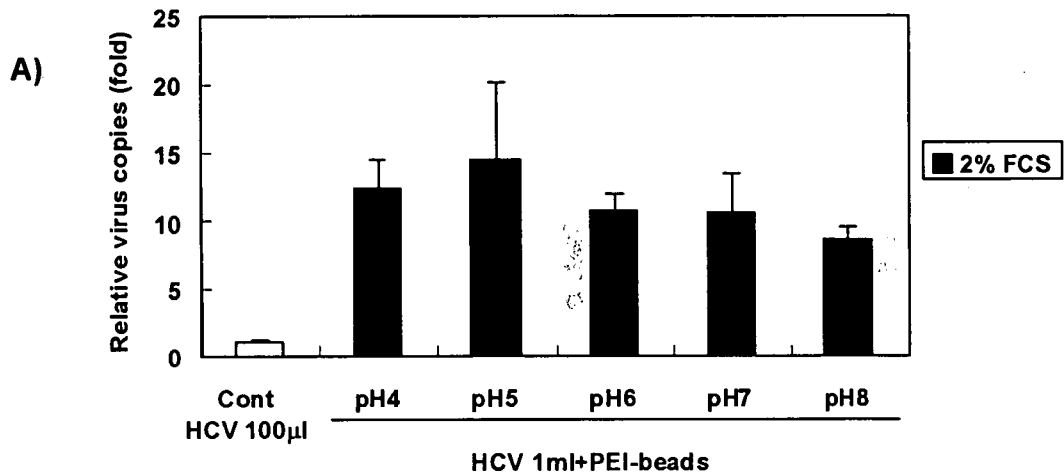
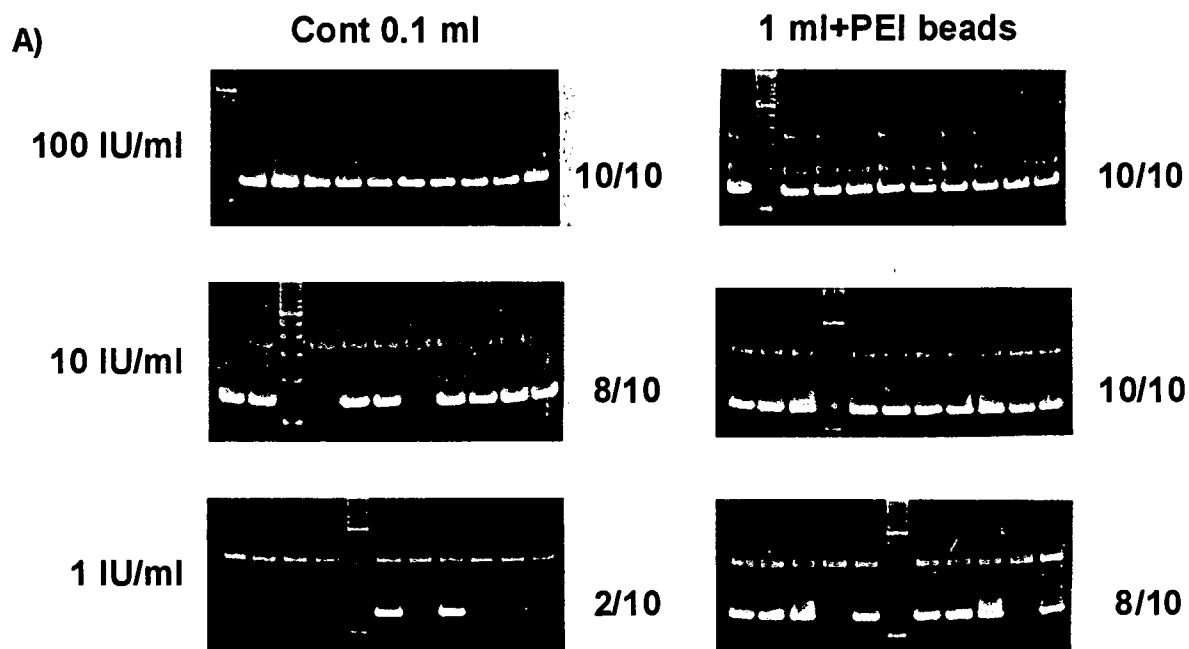


Fig.10 PEIビーズによるHCVの濃縮

A) pH, FCSの影響; B) 大容量からの濃縮; C) ヒト正常血漿、血清の影響



B)

HCV conc. (IU/ml)	Control 0.1ml			1ml + PEI beads		
	#1 (Copies)	#2 (Copies)	Mean (Copies)	#1 (Copies)	#2 (Copies)	Mean (Copies)
100	7.7×10^1	8.6×10^1	8.2×10^1	5.5×10^2	5.9×10^2	5.7×10^2
10	8.3×10^0	2.3×10^1	1.6×10^1	8.5×10^1	7.2×10^1	7.9×10^1
1	-	-	-	-	6.8×10^0	3.4×10^0

Fig.11 PEIビーズによるHCVの濃縮とHCV検出感度

- A) Nested PCR; B) 定量的RT-PCR
- HCVはヒト正常血漿で希釈して使用。

Table 2 Worldwide HCV Performance Panel (WWHV 302)

Panel ID	Genotype		Origin	HCV RNA (copies/ml)	
	Bayer Trugene 5'NC	Innogenetics INNO-LiPA		Roche COBAS PCR	Bayer HCV RNA3.0
302-01	1b	1b	China	3.1 x 10 ⁶	6.6 x 10 ⁶
302-02	1	1a	Thailand	1.1 x 10 ⁶	2.3 x 10 ⁶
302-03	1b	1b	South Africa	4.0 x 10 ⁵	3.7 x 10 ⁵
302-04	2a	2a/2c	China	2.5 x 10 ⁶	2.7 x 10 ⁶
302-06	3b	3b	China	6.6 x 10 ⁶	8.6 x 10 ⁶
302-07	3a	3a	USA	8.2 x 10 ⁵	4.7 x 10 ⁵
302-09	4a	4	Egypt	1.0 x 10 ⁶	8.7 x 10 ⁵
302-10	4	4	Egypt	8.8 x 10 ⁴	1.2 x 10 ⁵
302-12	5a	5a	Unknown	6.5 x 10 ⁵	4.4 x 10 ⁴
302-14	6a	6a	Unknown	1.6 x 10 ⁶	7.1 x 10 ⁵

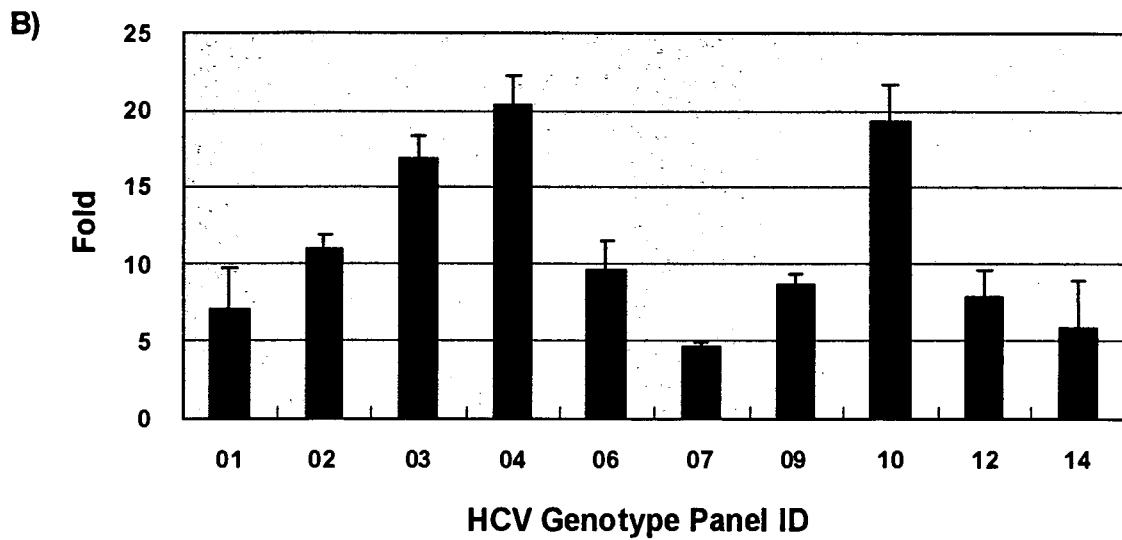
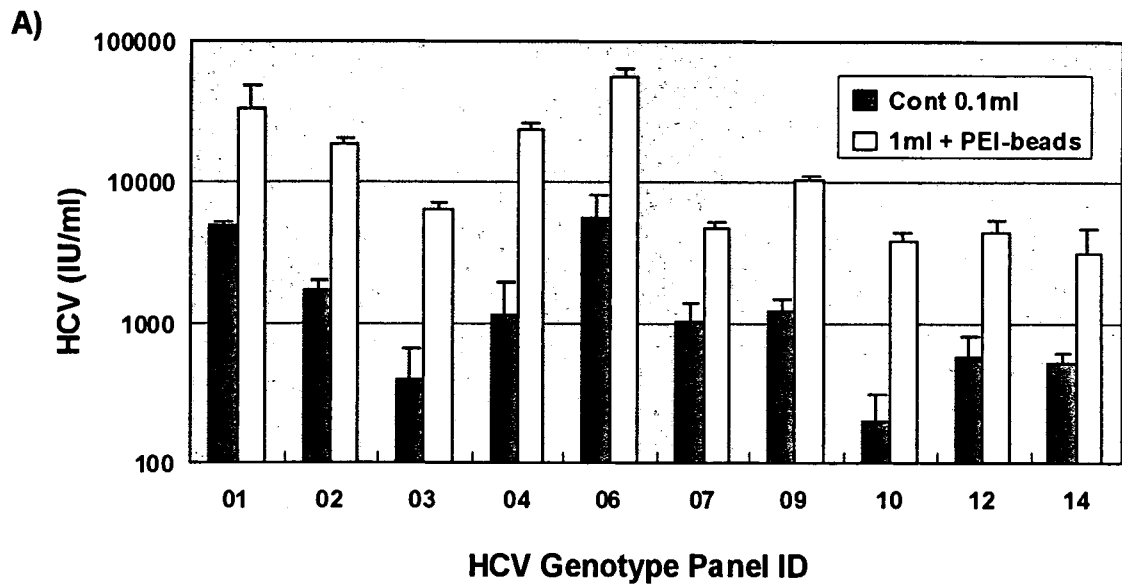


Fig. 12 PEIビーズによるHCV ジェノタイプパネルの濃縮

A) HCVジェノタイプパネル0.1ml, 1mlから得られたウイルス量

B) HCVジェノタイプパネル 1mlのPEI磁気ビーズによる濃縮倍率

Table 3 Anti-HCV Seroconversion Panel (Donor No. 62999)

Panel ID	Bleed Date	CHIRON bDNA (Meq/ml)	ROCHE HCV MONITOR (copies/ml)	PCR RNA Quantitative Result Lab #3
6225-01	10/25/96	<0.2	<175	<100
6225-02	10/28/96	<0.2	<179	<100
6225-03	11/01/96	<0.2	<226	<100
6225-04	11/06/96	<0.2	<135	<100
6225-05	11/08/96	<0.2	<149	<100
6225-06	11/13/96	<0.2	<147	<100
6225-07	11/19/96	<0.2	<182	<100
6225-08	11/22/96	<0.2	<154	<100
6225-09	11/26/96	<0.2	<148	<100
6225-10	11/29/96	<0.2	<155	<100
6225-11	12/03/96	<0.2	670	<100
6225-12	12/09/96	27.02	390,000	3,000,000
6225-13	12/11/96	98.84	1,300,000	4,300,000
6225-14	12/16/96	77.79	1,300,000	2,900,000
6225-15	12/20/96	54.71	810,000	3,100,000
6225-16	12/24/96	>120	2,400,000	5,000,000
6225-17	01/06/97	9.373	510,000	4,200,000
6225-18	01/11/97	4.971	460,000	1,700,000
6225-19	01/13/97	3.242	230,000	1,600,000

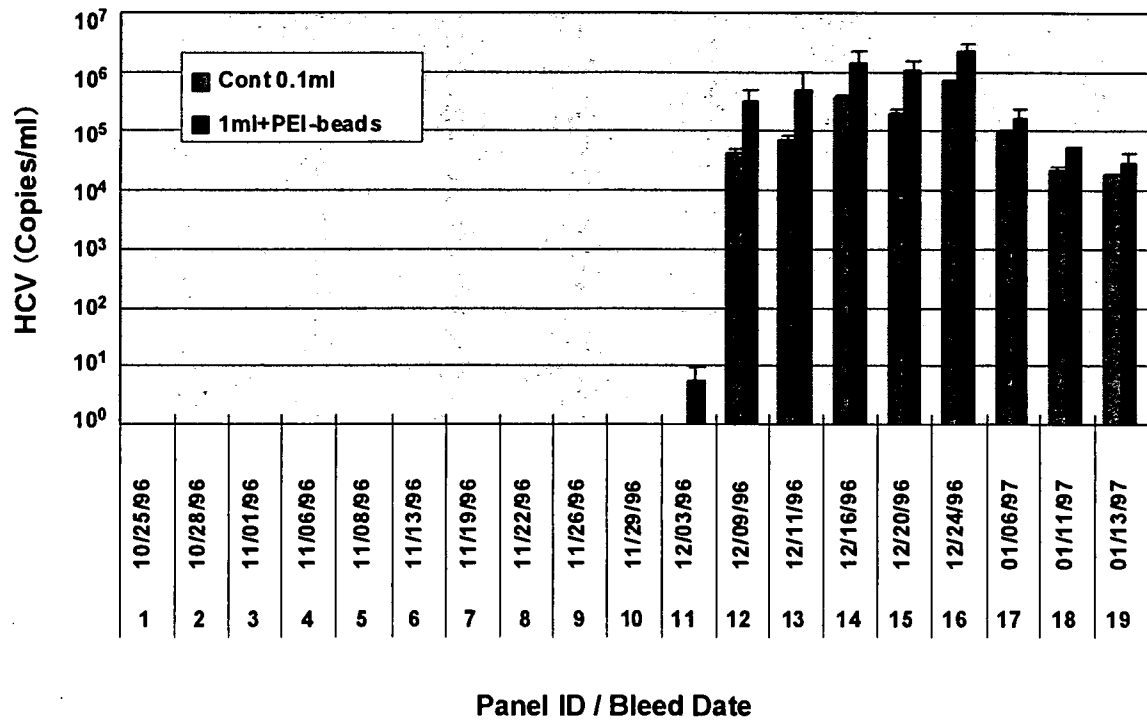


Fig. 13 PEIビーズによるHCV セロコンバージョンパネルの濃縮

Table 4 HBV標準パネル血漿

Panel ID	Genotype	Subtype	HBsAb	HbcAb	HBV DNA	
					A法 (copies/ml)	B法 (copies/ml)
P1-002	B	adw	-	-	1.4×10^4	1.3×10^4
P1-003	C	adw	+	-	7.0×10^4	6.3×10^4
P1-007	C	adr mutant	-	-	$<10^2$	(+)
P1-010	C	adr mutant	-	-	6.6×10^3	5.0×10^3
P1-011	C	adr	-	-	5.2×10^2	5.1×10^2
P1-012	C	adr	-	-	1.6×10^3	1.3×10^3
P1-013	C	ayr	-	-	1.4×10^4	1.6×10^4
P1-015	C	adr	-	+	2.5×10^4	2.0×10^4
P1-017	C	adw mutant	-	-	5.3×10^2	6.3×10^2
P1-022	B	adw	-	-	7.3×10^3	6.3×10^3
P1-028	B	adw	-	-	2.0×10^5	1.0×10^5
P1-060	A	adw	-	-	4.7×10^3	4.0×10^3
P1-068	C	adr	-	+	5.0×10^2	5.0×10^2
P1-069	C	adr	-	+	1.4×10^2	5.0×10^2

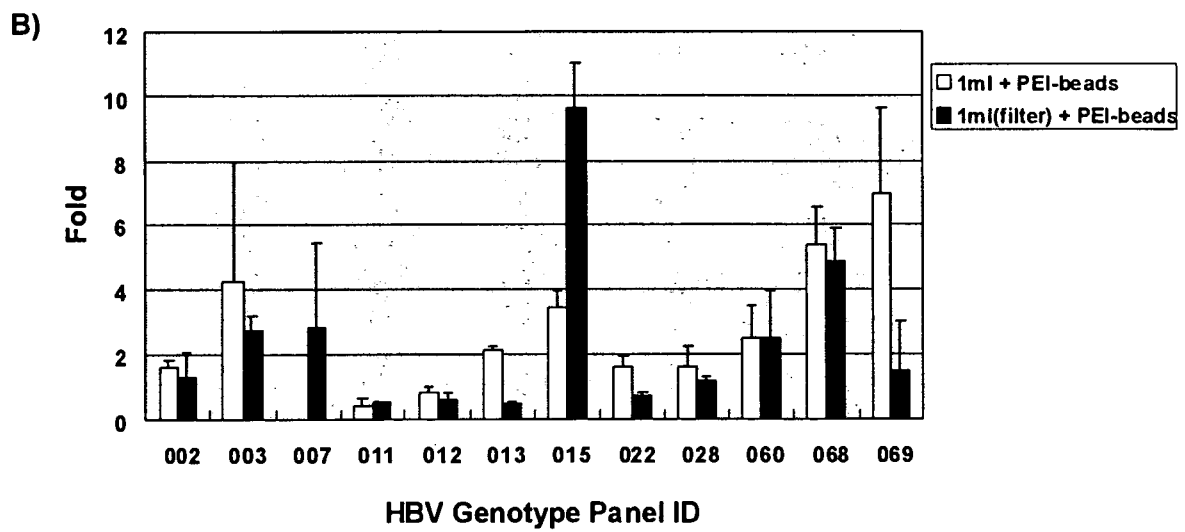
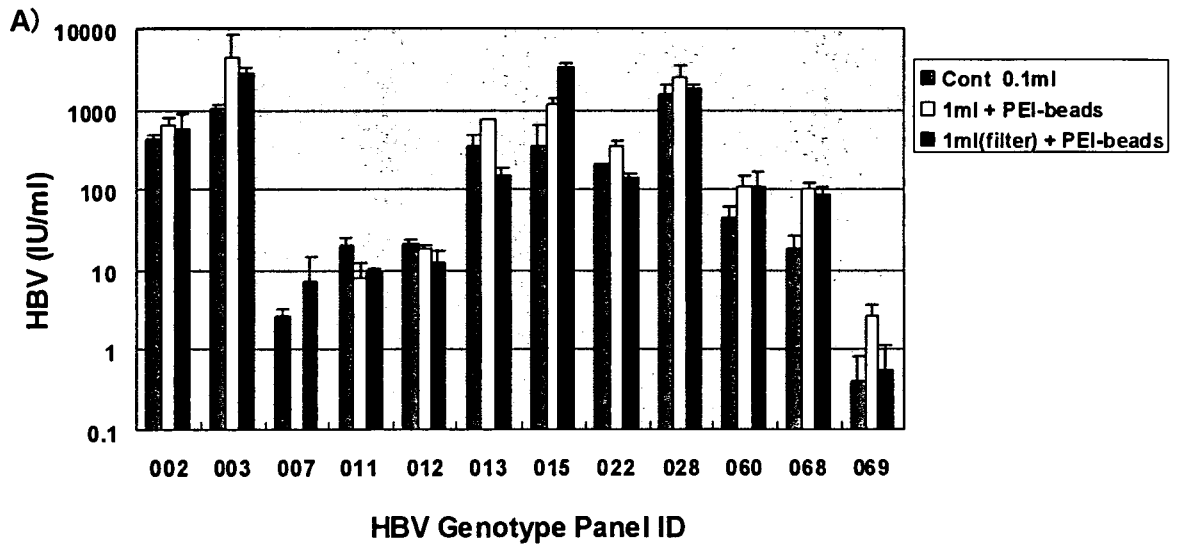


Fig. 14 PEIビーズによるHBV ジェノタイプパネルの濃縮

A) HBVジェノタイプパネル0.1ml, 1mlから得られたウイルス量

B) HBVジェノタイプパネル 1mlのPEI磁気ビーズによる濃縮倍率

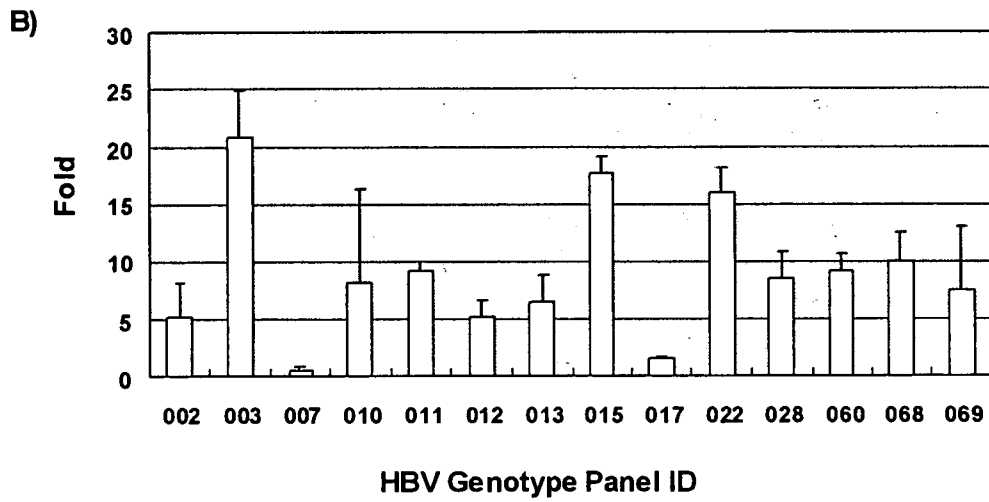
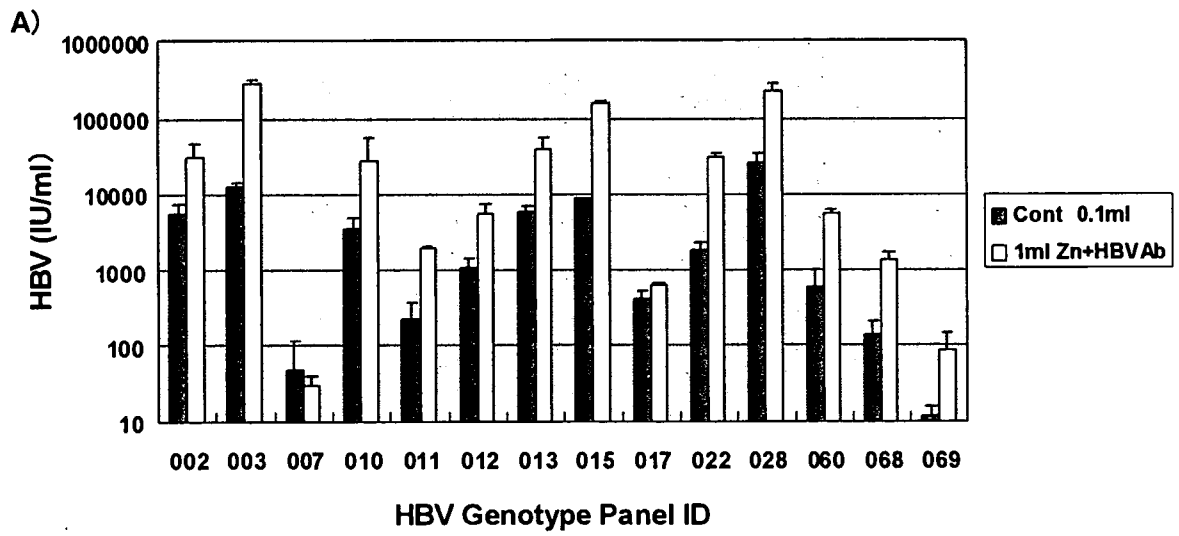


Fig. 15 Zincと抗HBV抗体によるHBV ジェノタイプパネルの濃縮

A) HBVジェノタイプパネル0.1ml, 1mlから得られたウイルス量

B) HBVジェノタイプパネル 1mlのZnと抗HBV抗体による濃縮倍率

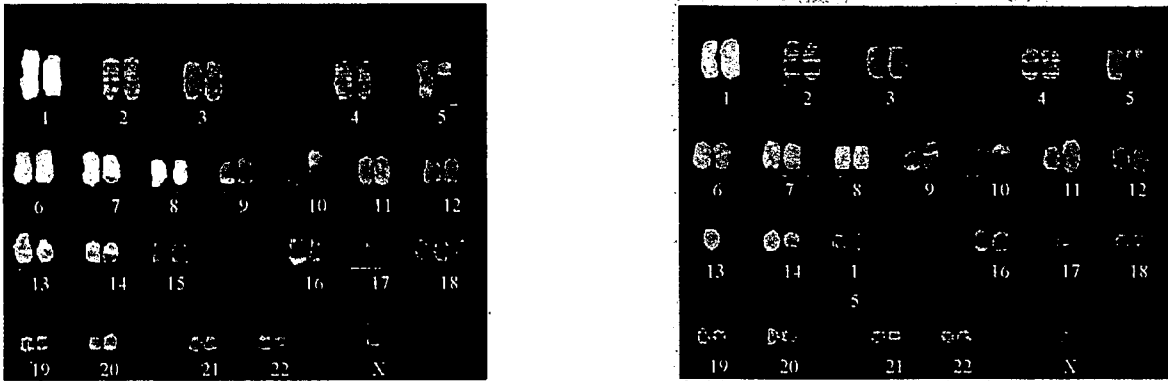
Table 5 PEI磁気ビーズによって濃縮されるウイルス

ウイルス	宿主	ウイルスゲノム	脂質膜	サイズ (nm)	PEI-磁気ビーズ濃縮
モデルウイルス					
サイトメガロウイルス(CMV)	サル	DNA	+	180-200	+
ヘルペスウイルスI型 (HSV-1)	ヒト	DNA	+	150-200	+
水疱性口内炎ウイルス(VSV)	ウシ	RNA	+	70-150	+
マウス白血病ウイルス	マウス	RNA	+	80-110	+
Sindbis ウイルス	ヒト	RNA	+	60-70	+
アデノウイルス5型	ヒト	DNA	-	70-90	+
SV-40ウイルス (SV-40)	サル	DNA	-	40-50	+
ブタパルポウイルス(PPV)	ブタ	DNA	-	18-24	+*
ポリオウイルス	ヒト	RNA	-	25-30	+**
ヒト感染性ウイルス					
ヒト免疫不全ウイルス(HIV)	ヒト	RNA	+	80-100	+
A型肝炎ウイルス(HAV)	ヒト	RNA	-	25-30	+*
B型肝炎ウイルス(HBV)	ヒト	DNA	+	40-45	+**
C型肝炎ウイルス(HCV)	ヒト	RNA	+	40-50	+

*: 条件により濃縮されない場合もある

** : IgM抗体又は抗体と補体の添加により濃縮可能

Fig. 16 HL60およびHL60-RGのm-FISHによる染色体解析



HL60-NG cell (original)

HL60-RG cell (subline)

Fig. 17 SNP callによるHL-60RG株でのLOHの検出例

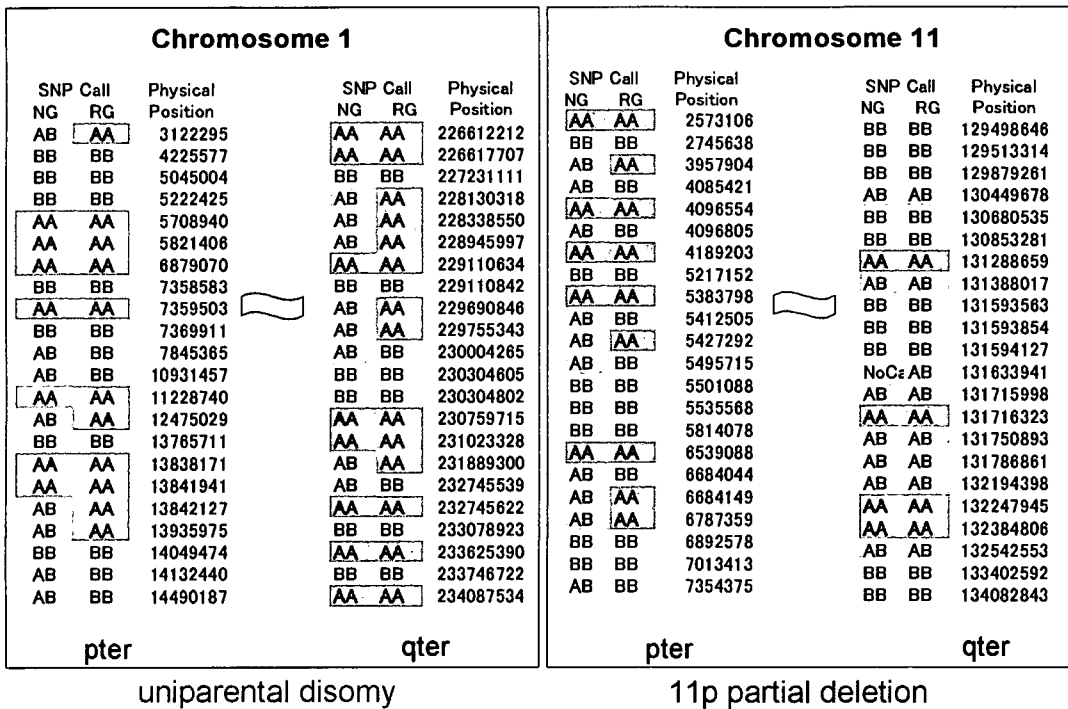


Fig. 18 d-Chipソフトウェアによるコピー数の解析結果とCGHアレイによる結果の比較

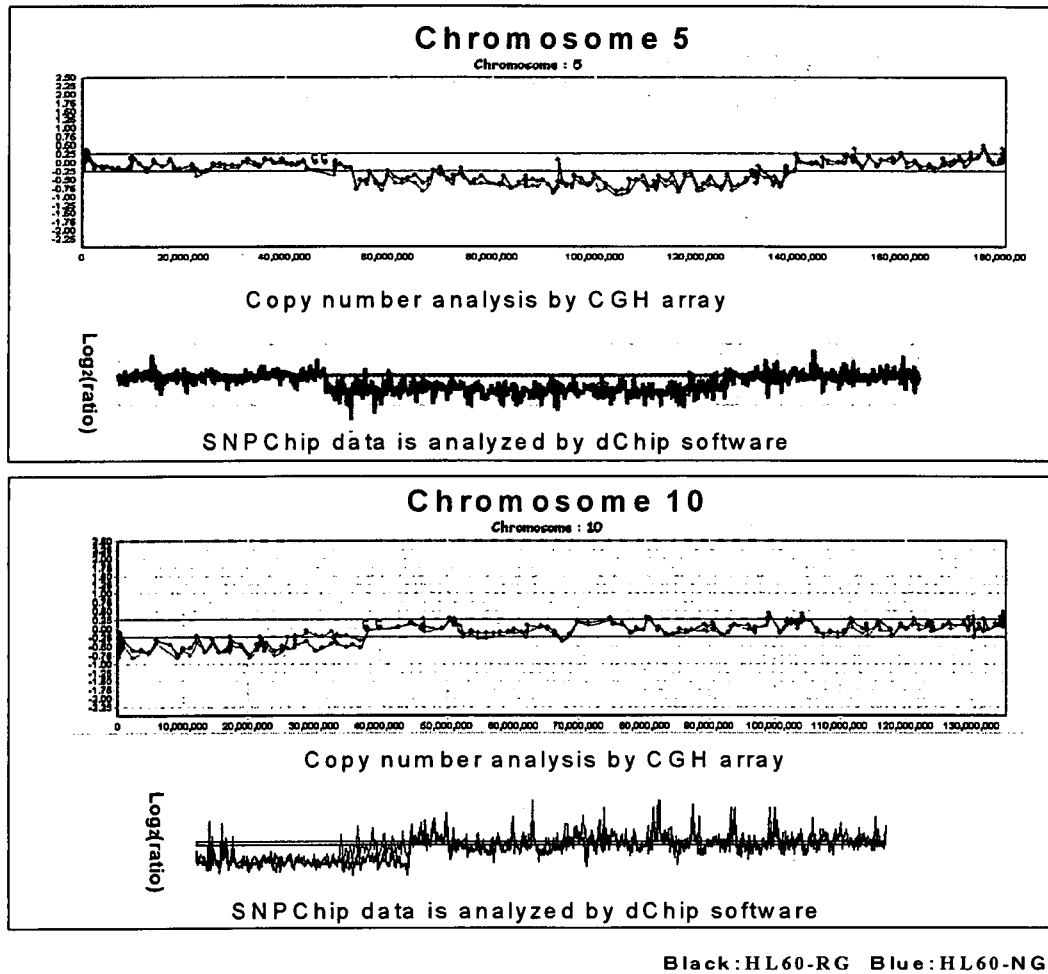


Fig. 19 c-myc遺伝子近傍の増幅領域

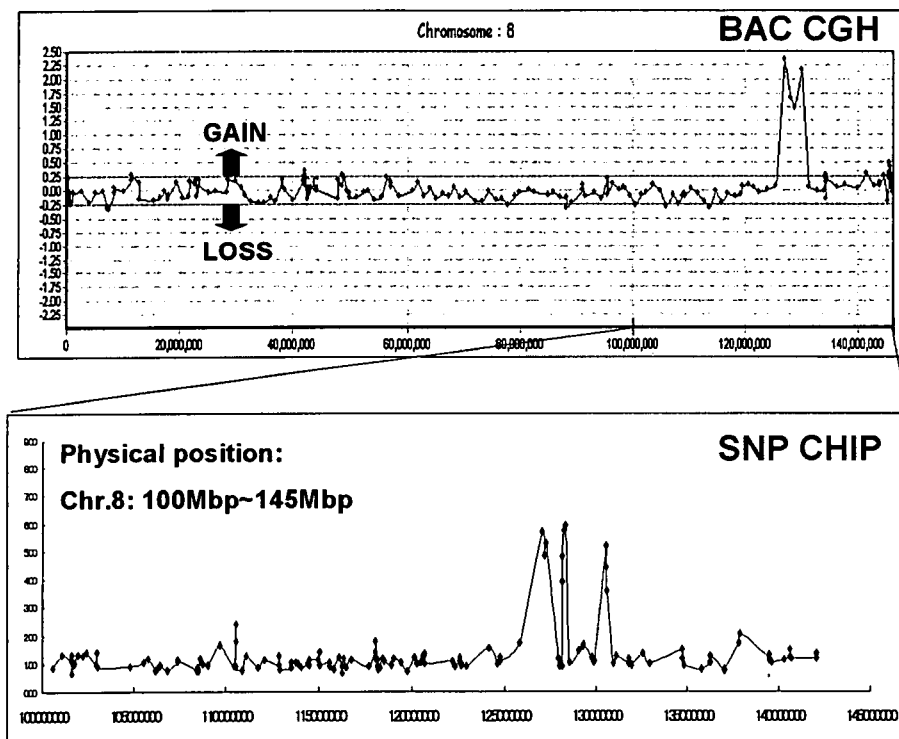


Fig. 20 HL60細胞 8番染色体8q24 c-myc近傍領域のCGH解析の結果

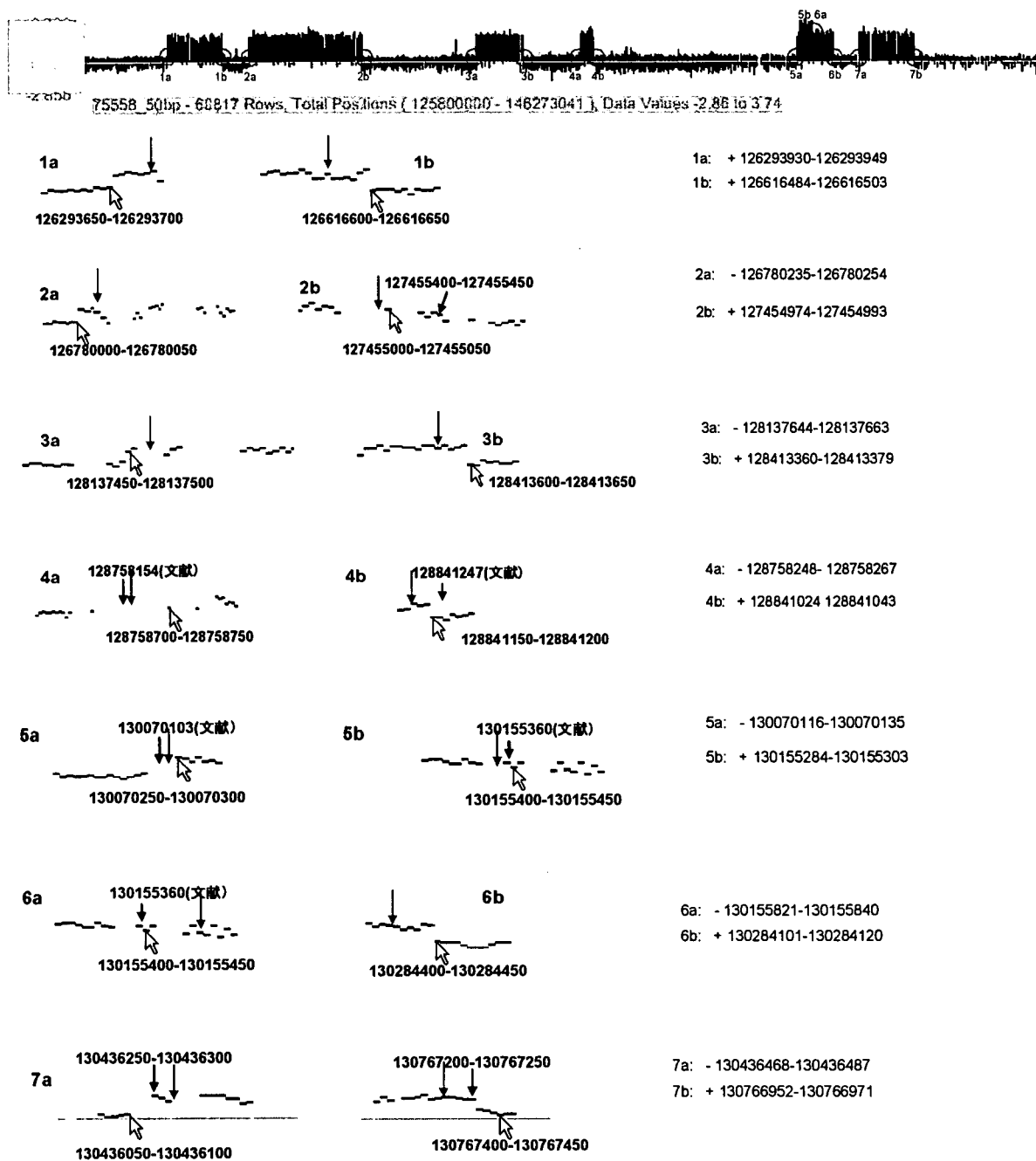
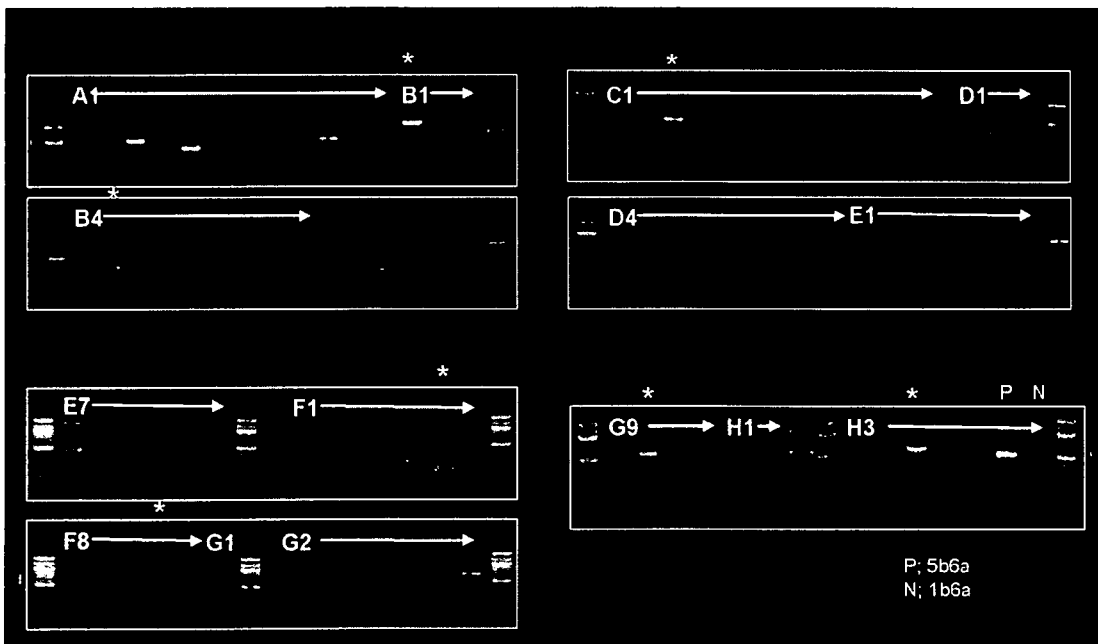


Fig. 21 総当たりPCR

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1a1b	1a2a	1a2b	1a3a	1a3b	1a4a	1a4b	1a5a	1a5b	1a6a	1a6b	1a7a
B	1a7b	1b2a	1b2b	1b3a	1b3b	1b4a	1b4b	1b5a	1b5b	1b6a	1b6b	1b7a
C	1b7b	2a2b	2a3a	2a3b	2a4a	2a4b	2a5a	2a5b	2a6a	2a6b	2a7a	2a7b
D	2b3a	2b3b	2b4a	2b4b	2b5a	2b5b	2b6a	2b6b	2b7a	2b7b	3a3b	3a4a
E	3a4b	3a5a	3a5b	3a6a	3a6b	3a7a	3a7b	3b4a	3b4b	3b5a	3b5b	3b6a
F	3b6b	3b7a	3b7b	4a4b	4a5a	4a5b	4a6a	4a6b	4a7a	4a7b	4b5a	4b5b
G	4b6a	4b6b	4b7a	4b7b	5a5b	5a6a	5a6b	5a7a	5a7b	5b6a	5b6b	5b7a
H	5b7b	6a6b	6a7a	6a7b	7a7b							



	1a	1b	2a	2b	3a	3b	4a	4b	5a	5b	6a	6b	7a	7b
1a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7a	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7b	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

□ シーケンス解析の結果、正しい増幅が認められたプライマーペア

Fig. 22 HL60細胞における増幅単位の構造

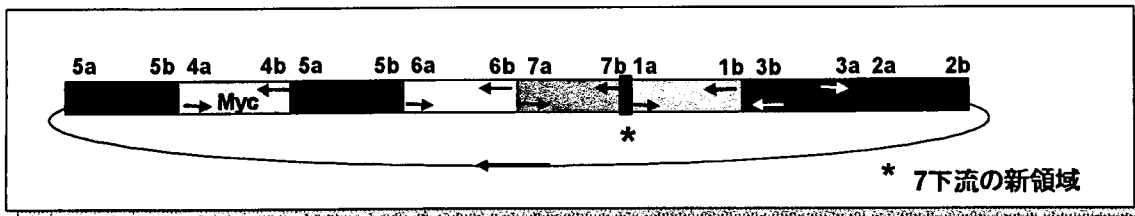


Fig. 23 各増幅単位のつながり

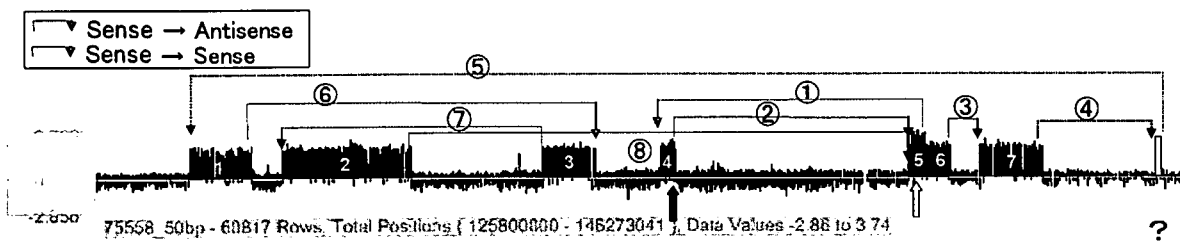


Fig. 24 HL60細胞c-myc増幅領域のジャンクション配列の特徴

Short homology

6b-4a

```

3'→
AGTTTATTTT TTTGATCTGG ACAGGAGATG TTTCTTACTG TAAAGCTTCA GGTTCCTGCA CCTGACCCACA CTGATGDDCA CTGGCCCTTAG TCAGTGTGAC AGAGTCACAG GDCGCTATTT 130155424 6
ACTTTAATTT TTTGATCTGG ACAGGAGATG TTTCTTACTG TAAAGCTTCA GGTTCCTGCA CCTGACCCACA CTGATGDDCA CTGGCCCTTAG TCAGTGTGAC AGAGTCACAG GDCGCTATTT HL.60
TTGTTCTGCA ACATTCTTAG CATGGCTTCA ACTGACGAC TTTCTGCTCT GATTTCTGTT TCTTGAGATA TTTTCTTATG TTTATATGTT ATATGTTTAT AGCCAACTCT CTACGACAG 128758252 4
5'←

```

JOINT部分に2bpのShort Homology.

4b-5a

```

3'←
TTGCTATGCA CATCHGACT AGGAAAGCAC AGAGTCAGG TTAGAAACCA GCTTCTCTG GTTCCATATT GTGCTCTTTC CTTTCTGCT TTTTACTAG ACTTCAAGAT GCTCACACTT 130070039 5
TCAGCTATGA CATCAAGACT AGGAAAGCAC AGAGTCAGG TTAGAAACCA GCTTCTCTG GTTCCATATT GTGCTCTTTC CTTTCTGCT TTTTACTAG ACTTCAAGAT GCTCACACTT HL.60
GCACATCAC ATGCATACAC ATAGGCTTTC CCTTAAACTG TCATTCAAGG CCGGAAACTG CAGGAAAGCA AGAAAGAGG CAGCAAGGCT GGTCTGGAG CAGGAAAGCA AAGCCATCTC 128841158 4
5'←

```

JOINT部分に3bpのShort Homology. 両側にも6bpのShort Homology.

3a-2a

```

3'←
AGCTCCAACT AGCTGTGDC AAAAGGTCGA ATGCAATCT CACAGACT CCCCAGGCTA CTGGCCCTG TCTTTTACAC AGAAGTGTAG CATCCCTCT CACAGACTAT TTAGCAAGG 126779995 2
AGCCCAAGCT AGCTGTGDC AAAAGGTCGA ATGCAATCT CACAGACT CCCCAGGCTA CTGGCCCTG TCTTTTACAC AGAAGTGTAG CATCCCTCT CACAGACTAT TTAGCAAGG HL.60
ATAAAAAGCA CAGGATFACA GTTGTGTTG CAGAAAGAC CTTGAGTAAA TTAATAAGA CAGCCGACCA TTTGGTATGT TTTGCAAAAT TCAGTGGCA GCATTAATGA CTGACACTG 128137504 3
5'←

```

JOINT部分にあるTATGTTTTは後ろの部分が重複した。

7b-8-1a

```

3'←
CTAACTCAC CAGCTCTCA GAGTGAACCC AGAAAGACTC TATCCTGGC TACCAGAAA CAGGTCATAA AATCTTATTG ATAACCTTAA ATGAATATGT GTTCCCTTG CTAACAAGGT 126293633 1
TTTCTTCTCA AAGCACCATA AGTTGAGCCA AGCCTTGGAG GACCTCAGG AAGTCTCTCT TTCTGTGAC TCCCGCTCTC GGGAAAGCTG TTGCAATGCT CTTCCCTCT CACTTCTTC 130767297 7
CTAACTCAC CAGCTCTCA GAGTGAACCC AGAAAGACTC TATCCTGGC TACCAGAAA CAGGTCATAA AATCTTATTG ATAACCTTAA ATGAATATGT GTTCCCTTG CTAACAAGGT HL.60
AATCAAGAC CTACTTTCA GAGTGTCTTA TTGATGACC CTCTTTTCC CTAAATGCA CTAAATGAGT GAAAAAAAT GTTTTAAAT CTGTAAGCT ACTGGAAAT ATTAATATC TAAATGTAAG 136650022 8
5'←

```

7-3'と1-5'は逆方向の8を挟む。1のBREAKPOINTは回文構造で8とShort Homologyを持つ。8と7のJOINTもGTGTTの5塩基が重なっている。

Complementary Sequence

1b-3b

```

3'→
CTTTTCTCA TTTGATCTGG ACAGGAGATG TTTCTTACTG TAAAGCTTCA GGTTCCTGCA CCTGACCCACA CTGATGDDCA CTGGCCCTTAG TCAGTGTGAC AGAGTCACAG GDCGCTATTT 128413727 3
CTTTTCTCA TTTGATCTGG ACAGGAGATG TTTCTTACTG TAAAGCTTCA GGTTCCTGCA CCTGACCCACA CTGATGDDCA CTGGCCCTTAG TCAGTGTGAC AGAGTCACAG GDCGCTATTT HL.60
ACACTGCT CTTCTGAGAAA TATGAATCA CTTTTTAA GTCAGACATG TGATATGAT AATTAGTCT ACATGCTATC TATGGACCA GAGAAAGCA CCAAGATA 126616579 1
5'←

```

3-3'のBREAKPOINTに一つ回文構造。1-3'のBREAKPOINTの下流に8塩基の回文構造がある。挟んだ19塩基の由来は分からないが、両端のCATAとTATGはLOOP構造を作りうる

2b-6a

```

3'←
GAGCTCTTC CTTCTGATG GTGTAAGCTG AAAAGGTCGA ATGCAATCT CACAGACT CCCCAGGCTA CTGGCCCTG TCTTTTACAC AGAAGTGTAG CATCCCTCT CACAGACTAT TTAGCAAGG 127455529 2
GAGCTCTTC CTTCTGATG GTGTAAGCTG AAAAGGTCGA ATGCAATCT CACAGACT CCCCAGGCTA CTGGCCCTG TCTTTTACAC AGAAGTGTAG CATCCCTCT CACAGACTAT TTAGCAAGG HL.60
AAGGAAATC CAATTGTAA CAGATAACTG CCACTCAATG GGATGCTGTG TTAGAGAAAT CTACACAGTT CATTFTTTGTA AGCCAAGCA CACATACACA CATATATACA TACACACACA 130081014 6
5'←

```

JOINT部分の両側に相補配列。

5b-7a

```

3'←
TTGTTTCTCA AAGCACCATA AGTTGAGCCA AGCCTTGGAG GACCTCAGG AAGTCTCTCT TTCTGTGAC TCCCGCTCTC GGGAAAGCTG TTGCAATGCT CTTCCCTCT CACTTCTTC 130284510 5
TTGTTTCTCA AAGCACCATA AGTTGAGCCA AGCCTTGGAG GACCTCAGG AAGTCTCTCT TTCTGTGAC TCCCGCTCTC GGGAAAGCTG TTGCAATGCT CTTCCCTCT CACTTCTTC HL.60
TTGTTTCTCA AAGCACCATA AGTTGAGCCA AGCCTTGGAG GACCTCAGG AAGTCTCTCT TTCTGTGAC TCCCGCTCTC GGGAAAGCTG TTGCAATGCT CTTCCCTCT CACTTCTTC 130436264 7
5'←

```

JOINT近傍に7bpのShort Homology. その近傍に回文構造。

7b-8-1a

```

3'←
CTAACTCAC CAGCTCTCA GAGTGAACCC AGAAAGACTC TATCCTGGC TACCAGAAA CAGGTCATAA AATCTTATTG ATAACCTTAA ATGAATATGT GTTCCCTTG CTAACAAGGT 126293633 1
TTTCTTCTCA AAGCACCATA AGTTGAGCCA AGCCTTGGAG GACCTCAGG AAGTCTCTCT TTCTGTGAC TCCCGCTCTC GGGAAAGCTG TTGCAATGCT CTTCCCTCT CACTTCTTC 130767297 7
CTAACTCAC CAGCTCTCA GAGTGAACCC AGAAAGACTC TATCCTGGC TACCAGAAA CAGGTCATAA AATCTTATTG ATAACCTTAA ATGAATATGT GTTCCCTTG CTAACAAGGT HL.60
AATCAAGAC CTACTTTCA GAGTGTCTTA TTGATGACC CTCTTTTCC CTAAATGCA CTAAATGAGT GAAAAAAAT GTTTTAAAT CTGTAAGCT ACTGGAAAT ATTAATATC TAAATGTAAG 136650022 8
5'←

```

7-3'と1-5'は逆方向の8を挟む。1のBREAKPOINTは回文構造で8とShort Homologyを持つ。8と7のJOINTもGTGTTの5塩基が重なっている。

Fig. 25 ヒト間葉系幹細胞の50K SNPチップによるCGH解析

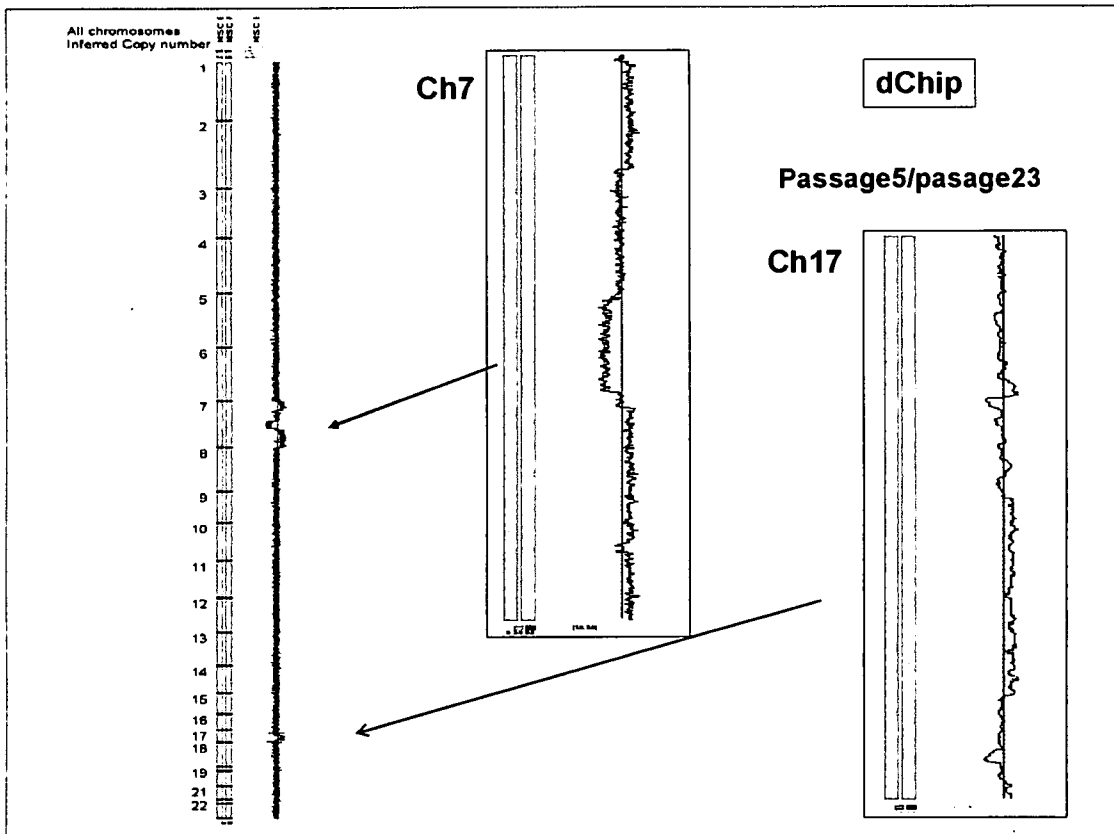
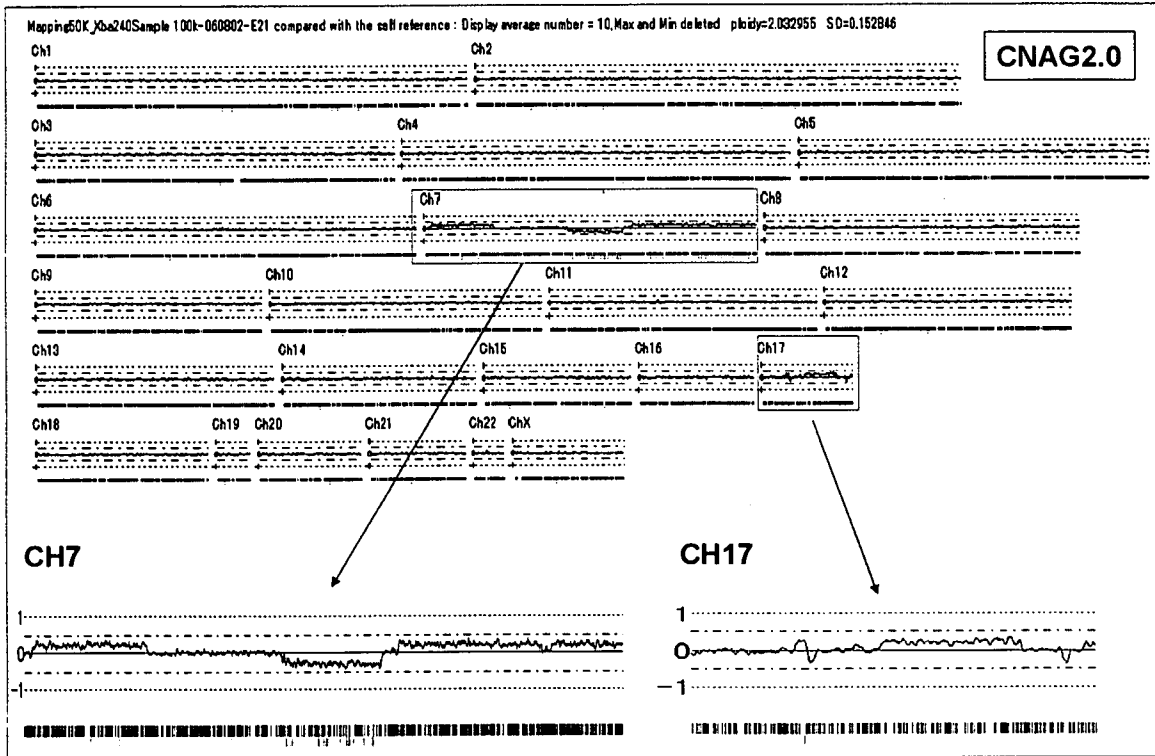


Fig. 26 ヒト間葉系幹細胞の50K SNPチップによるLOH解析

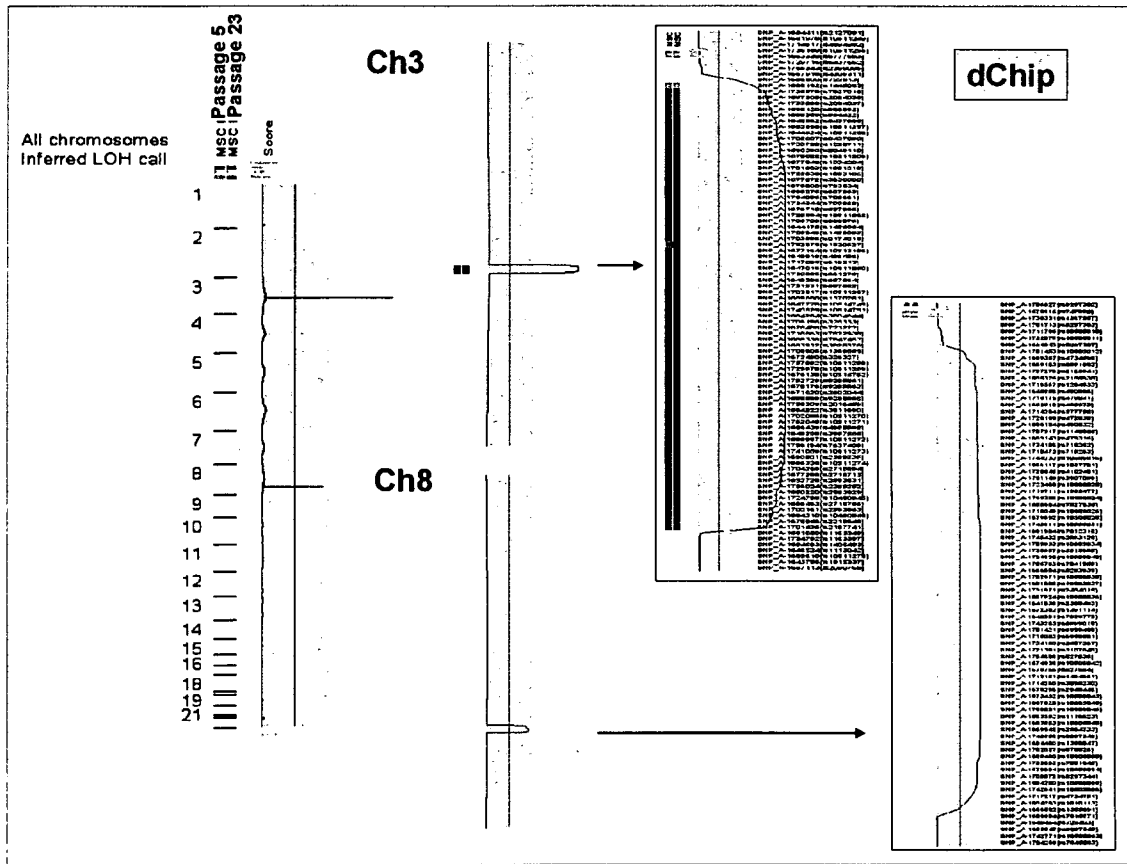


Fig. 28 核型解析の結果とCGH解析結果の比較

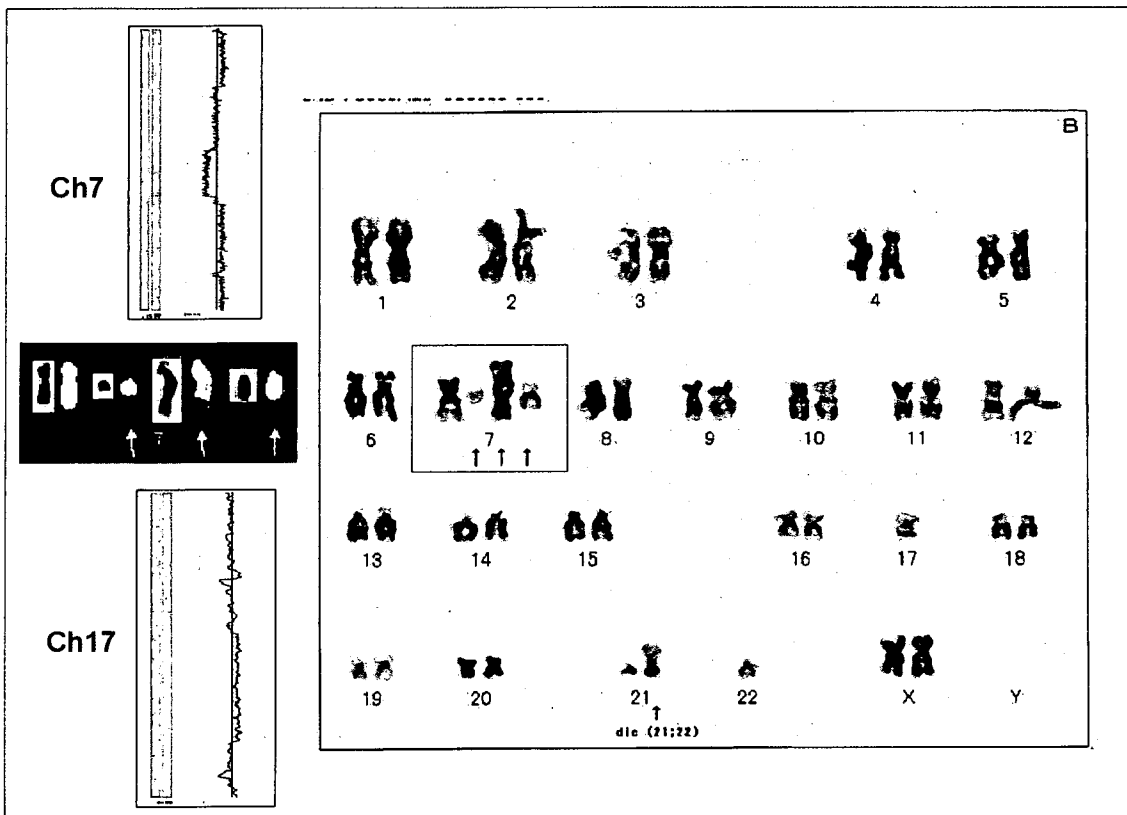
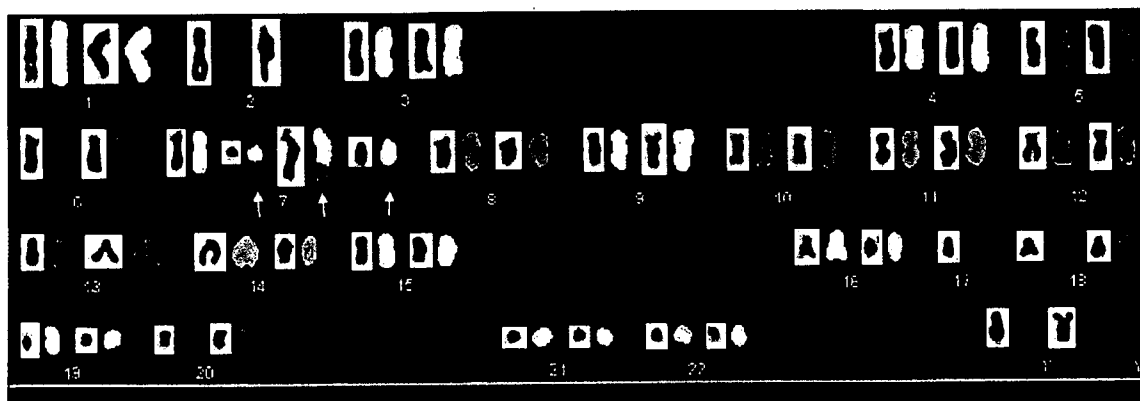
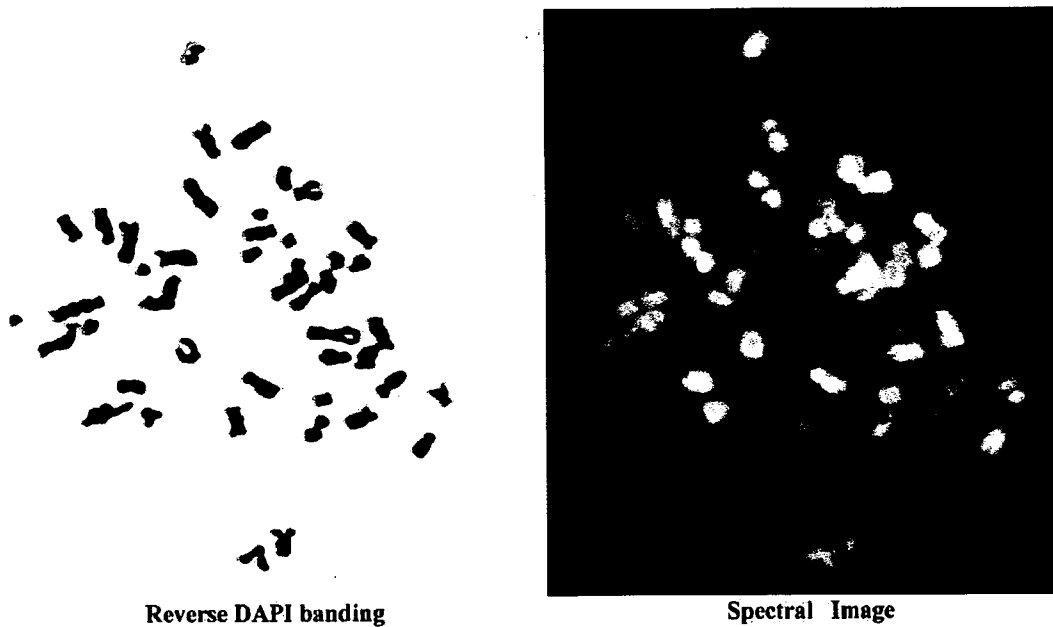


Fig. 27 25継代目hMSC細胞のSpectro Karyotyping解析結果



Comprehensive Karyotyping (left side: reverse DAPI; right side: SKY)

(同一継代6継代目の正常核型を示した細胞)

