

primer は期待された効率を示していないことから、social network 分析用ソフトの変更を含むグループ化のための方法の変更が必要と考えられる。

E. 結論

特定の種の塩基配列データを大量にデータベース上から入手し、グループ化と motif 分析を組み合わせることにより、効率良く degenerate primer を設計可能なアルゴリズム (CoCoMo アルゴリズム) およびプログラム群が整備された。合成オリゴマーを用いた実験と 3 種のウイルスでの適用試験では、CoCoMo アルゴリズムによって設計された degenerate primer は一定の効率を示した。これらの結果から、CoCoMo アルゴリズムの実用性が示されたが、同時にプログラムの改善と個々の適用種に応じて方法を変更する必要性が示唆された。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1) 論文発表

1. Hamaguchi I, Imai J-I, Momose H, Kawamura M, Mizukami T, Kato H, Naito S, Maeyama J-I, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Mochizuki M, Ochiai M, Yamamoto A, Horiuchi Y, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K: Two vaccine toxicity-related genes Agp

and Hpx could prove useful for pertussis vaccine safety control

Vaccine, 25: 3355-3364, 2007

2. Naito S, Maeyama J, Mizukami T, Takahashi M, Hamaguchi I, Yamaguchi K: Transcutaneous immunization by merely prolonging the duration of antigen presence on the skin of mice induces a potent antigen-specific antibody response even in the absence of an adjuvant

Vaccine, 25: 8762-8770, 2007

3. Mizukami T, Imai J-I, Hamaguchi I, Kawamura M, Momose H, Naito S, Maeyama J-I, Masumi A, Kuramitsu M, Takizawa K, Nomura N, Watanabe S, Yamaguchi K: Application of complementary DNA microarray technology to influenza A/Vietnam/1194/2004 (H5N1) vaccine safety evaluation

Vaccine in press

2) 学会発表

1. 浜口功、今井順一、百瀬暖佳、河村未佳、水上拓郎、内藤誠之郎、前山順一、加藤博史、益見厚子、倉光球、滝沢和也、水谷哲也、落合雅樹、山本明彦、堀内善信、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成 遺伝子発現解析 (QuantiGene Plex 法) を用いたワクチンの新しい安全性評価法確立の試み

第11回ワクチン学会（横浜）・2007.12.

2. 水上拓郎、今井順一、浜口功、河村未佳、百瀬暖佳、内藤誠之郎、前山順一、益見厚子、倉光球、滝沢和也、野村信夫、渡辺慎哉、山口一成
網羅的遺伝子発現解析によるパンデミックインフルエンザワクチン(H5N1)の安全性・有効性評価法開発の試み
第11回ワクチン学会（横浜）・2007.12.

3. 内藤誠之郎、前山順一、水上拓郎、長谷川秀樹、浜口功、山口一成
経皮ワクチンに関する研究-抗原の皮膚送達促進による免疫効果の増強とインフルエンザHAワクチンへの応用
第11回ワクチン学会（横浜）・2007.12.

4. Momose H, Imai J, Hamaguchi I, Kawamura M, Watanabe S, Yamaguchi K
Application of quantitative gene expression analysis to Pertussis vaccine safety control
国際ワクチン学会 (Amsterdam, Netherland), 2007.12.

H. 知的財産権の出願・登録状況
該当なし

図 1. CoCoMo における PCR 位置モチーフ選定アルゴリズムの流れ図

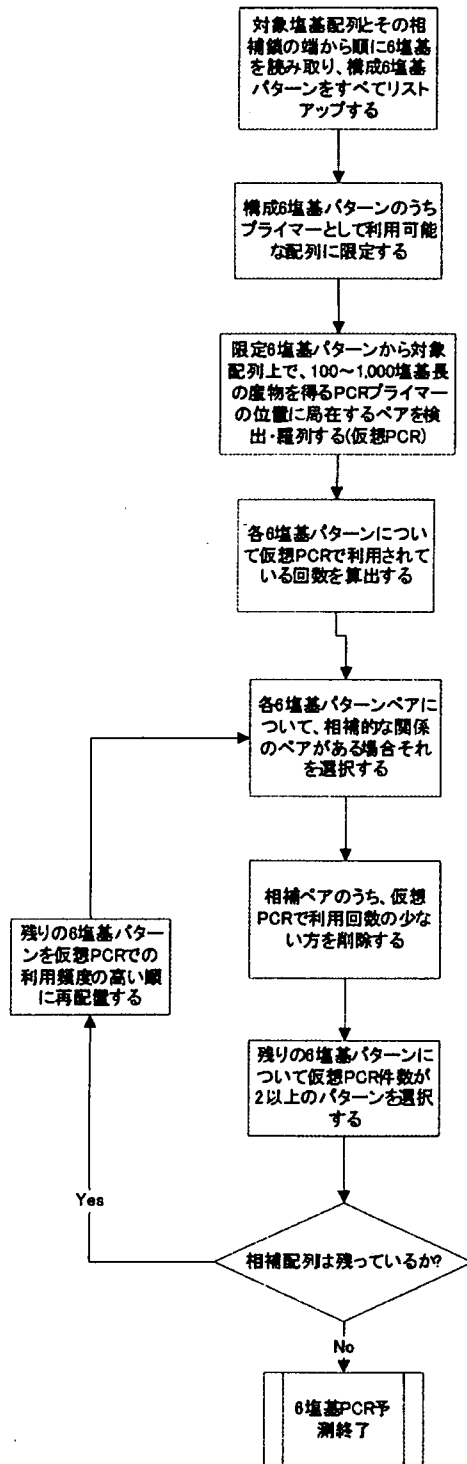


表 1. 塩基配列分析事例における 3mer 頻度

3mer	頻度	3mer	頻度
ACA	1	GCC	1
ATC	1	GGA	1
ATG	3	GGC	1
CAC	1	GTG	1
CAT	3	TCC	1
CCA	2	TGC	1
GAT	1	TGG	2
GCA	1	TGT	1

表 2. 塩基配列分析事例における 3mer の位置

位置	センス鎖	位置	相補鎖
1	ATG	1	CAT
2	TGG	2	CCA
3	GGA	3	TCC
4	GAT	4	ATC
5	ATG	5	CAT
6	TGT	6	ACA
7	GTG	7	CAC
8	TGG	8	CCA
9	GGC	9	GCC
10	GCA	10	TGC
11	CAT	11	ATG

表 3. 塩基配列分析事例における相互に相補的な 3mer の位置

位置	センス鎖	位置	相補的 3mer	位置	相補的 3mer
1	ATG	1	CAT	2	CCA
2	TGG	2	CCA	3	TCC
3	GGA	3	TCC	4	ATC
4	GAT	4	ATC	5	CAT
5	ATG	5	CAT	6	ACA
6	TGT	6	ACA	7	CAC
7	GTG	7	CAC	8	CCA
8	TGG	8	CCA	9	GCC
9	GGC	9	GCC	10	TGC
10	GCA	10	TGC	11	ATG
11	CAT	11	ATG		

表 4. 塩基配列分析事例における PCR 位置に存在する 3mer

センス鎖		反対側 3mer の位置および配列					
位置	配列	6	7	8	9	10	11
1	ATG	ACA	CAC	CCA	GCC	TGC	ATG
2	TGG		CAC	CCA	GCC	TGC	ATG
3	GGA			CCA	GCC	TGC	ATG
4	GAT				GCC	TGC	ATG
5	ATG					TGC	ATG
6	TGT						ATG

表 5. 塩基配列分析事例における相互に相補的な 3mer の組み合わせと仮想 PCR での利用 PCR 数

センス側 3mer		相補側 3mer	
配列	利用 PCR 件数	配列	利用 PCR 件数
ATG	6	CAT	0
TGG	5	CCA	3
GGA	4	TCC	0
GAT	3	ATC	0
ATG	6	CAT	0
TGT	1	ACA	1
GTG	0	CAC	2
TGG	5	CCA	3
GGC	0	GCC	4
GCA	0	TGC	5
CAT	0	ATG	6

センス側 3mer		相補側 3mer	
配列	利用 PCR 件数	配列	利用 PCR 件数
ATG	6	CCA	3
TGG	5	TCC	0
GGA	4	ATC	0
GAT	3	CAT	0
ATG	6	ACA	1
TGT	1	CAC	2
GTG	0	CCA	3
TGG	5	GCC	4
GGC	0	TGC	5
GCA	0	ATG	6
CAT	0		

表 6. 塩基配列分析事例における相互に相補的な 3mer のうち一方の削除

センス側 3mer		相補側 3mer	
配列	利用 PCR 件数	配列	利用 PCR 件数
ATG	6	CAT	0
TGG	5	CCA	3
GGA	4	TCC	0
GAT	3	ATC	0
ATG	6	CAT	0
TGT	1	ACA	1
GTG	0	CAC	2
TGG	5	CCA	3
GGC	0	GGC	4

センス側 3mer		相補側 3mer	
配列	利用 PCR 件数	配列	利用 PCR 件数
ATG	6	CCA	3
TGG	5	TCC	0
GGA	4	ATC	0
GAT	3	CAT	0
ATG	6	ACA	1
TGT	1	CAC	2
GTG	0	CCA	3
TGG	5	GGC	4
GGC	0	TGC	5

GCA	0	TGC	5	GCA	0	ATG	6
GAT	0	ATG	6	GAT	0		

表 7. 塩基配列分析事例における選択された 3mer による仮想 PCR

センス鎖		反対側 3mer の位置および配列		
位置	配列	7	10	11
1	ATG	CAC	TGC	ATG
2	TGG	CAC	TGC	ATG
3	GGA		TGC	ATG
4	GAT		TGC	ATG
5	ATG		TGC	ATG

図 2. 鋳型作成およびその後の TAP-PCR の流れ

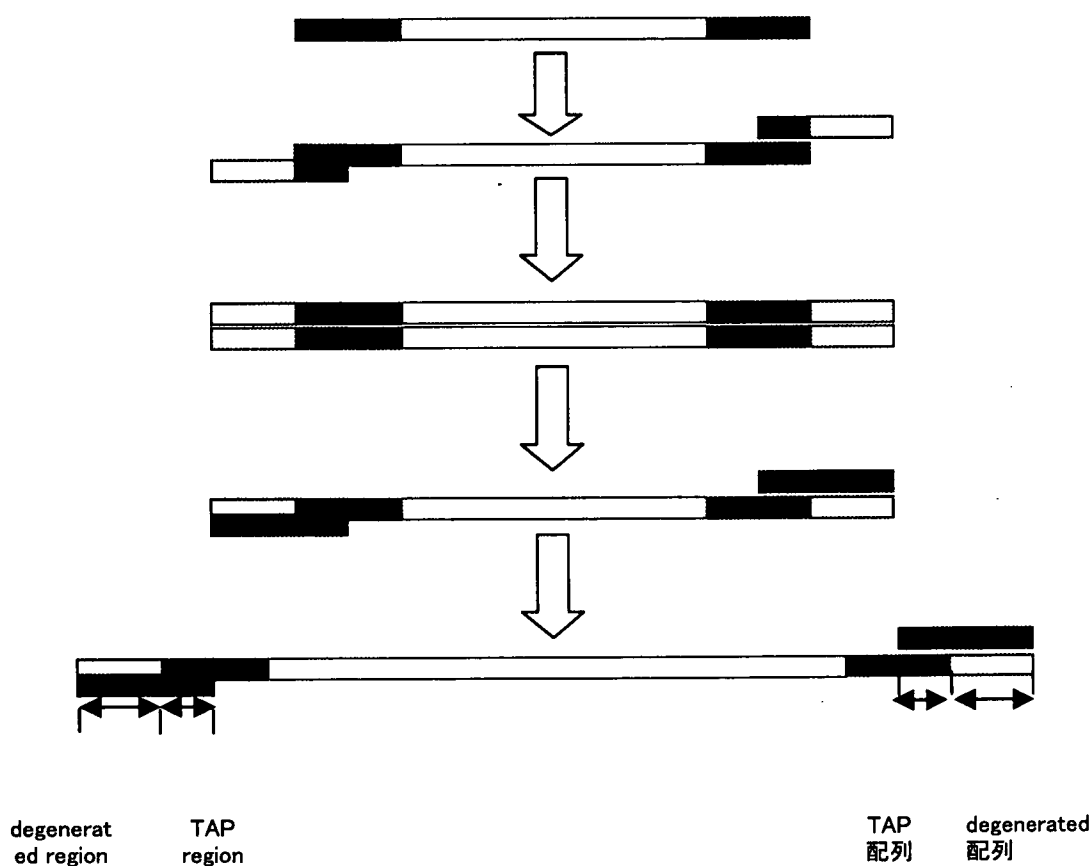


図 3. 合成鑄型

【coreInf150】

5'-AACCCAGCACCTTAGGATGAAATGGATGATGGCAAATACGTCGGAGAGTTGACATAAAATCCTGGTCA-3'

【coreNDV100】

5'-AACCCAGCACCTTAGGATGCTGACTATCCGGGTCGCGCTGGTATTGAGTTGCATCTGTCGCAGCTACAAT
ATCTCATCCTGTCATTCATTCAAGGTTACATACATAAAATCCTGGTCA-3'

【coreInf1150】

5'-AACCCAGCACCTTAGGATGAAATGGATGATGGCAATGAAATATCCAATTACAGCAGACAAGAGGATAAC
GGAAATGATTCTGAAGGCTAAAGCATGGAACCTTTGGCCCTGTCCATTTTAGAAACCAAGTCAAAATAC
GTCGGAGAGTTGACATAAAATCCTGGTCA-3'

5'-AACCCAGC-3' : 共通の 8 塩基の配列 (TAP 配列)

5'-CCTGGTCA-3' : 共通の 8 塩基の配列 (TAP 配列)

5'-ACTTAGGA-3' : H1N1 の共通部分(5'-AACCCAGC-3')の 3' 側の配列

5'-ACATAAAT-3' : H1N1 の共通部分(5'-CCTGGTCA-3')の 5' 側の配列

表 8. モデル実験での鑄型作成用 primer

鑄型	Forward/Reverse	primer配列	産物の名称
co re In fl 150	Inf150_f-1	5' -AACCTACGAACCCAGC-3'	Inf150(1)
	Inf150_r-1	5' -CAAGAAGGTGACCAGG-3'	
	Inf150_f-2	5' -AATCTACGAACCCAGC-3'	Inf150(2)
	Inf150_r-2	5' -CAGGAAGGTGACCAGG-3'	
	Inf150_f-3	5' -AATCTACCAACCCAGC-3'	Inf150(3)
	Inf150_r-3	5' -CAGGAAGCTGACCAGG-3'	
	Inf150_f-4	5' -GATCTACCAACCCAGC-3'	Inf150(4)
	Inf150_r-4	5' -TAGGAAGCTGACCAGG-3'	
	Inf150_f-5	5' -GATCTTCCAACCCAGC-3'	Inf150(5)
	Inf150_r-5	5' -TAGGAGGCTGACCAGG-3'	
co re ND V1 00	NDV_f-1	5' -AACCGACGAACCCAGC-3'	NDV(1)
	NDV_r-1	5' -CAAGCAGGTGACCAGG-3'	
	NDV_f-2	5' -AAGCGACGAACCCAGC-3'	NDV(2)
	NDV_r-2	5' -CATGCAGGTGACCAGG-3'	
	NDV_f-3	5' -AAGCGACTAACCCAGC-3'	NDV(3)
	NDV_r-3	5' -CATGCAGATGACCAGG-3'	
	NDV_f-4	5' -TAGCGACTAACCCAGC-3'	NDV(4)
	NDV_r-4	5' -GATGCAGATGACCAGG-3'	
NDV_f-5	5' -TAGCGGCTAACCCAGC-3'	NDV(5)	
NDV_r-5	5' -GATGCCGATGACCAGG-3'		
co re In fl 15	HIN1_f HIN1_r	5' -AACCCACGAACCCAGC-3' 5' -CAAGGAGGTGACCAGG-3'	Inf1150

表 9. TAP-PCR 用鑄型作成に用いた primer と、その確認に用いた primer

primer	配列
Inf1150_f-25-9	5'-ATGCGAGTAACCCACGAACCCAGCA-3'
Inf1150_r-25-9	5'-CTAGAATCCAAGGAGGTGACCAGGA-3'
Inf1150_degenerated-f	5'-ATGCGAGTAACCCACG-3'
Inf1150_degenerated-r	5'-CTAGAATCCAAGGAGG-3'
Inf1150_TAP-f	5'-AACCCACGCACTTAGGA-3'
Inf1150_TAP-r	5'-TGACCAGGATTTATGT-3'

表 10. TAP-PCR に用いた鑄型と primer の組み合わせ

	名称	鑄型の両端の配列/primer 配列
鑄型	Infl50(1)	5'-AACCTACGAACCCAGC·····CCTGGTCACCTTCTTG-3'
	NDV(1)	5'-AACCGACGAACCCAGC·····CCTGGTCACCTGCTTG-3'
	Infl150	5'-AACCCACGAACCCAGC·····CCTGGTCACCTCCTTG-3'
primer	Infl-NDV_F-1	5'-AACCSACGAACCCAGC-3' 3'-GGACCAGTGGASGAAC-5'
	Infl-NDV_R-1	
鑄型	Infl50(2)	5'-AATCTACGAACCCAGC·····CCTGGTCACCTTCCTG-3'
	NDV(2)	5'-AAGCGACGAACCCAGC·····CCTGGTCACCTGCATG-3'
	Infl150	5'-AACCCACGAACCCAGC·····CCTGGTCACCTCCTTG-3'
primer	Infl-NDV_F-2	5'-AASCSACGAACCCAGC-3' 3'-GGACCAGTGGASGWAC-5'
	Infl-NDV_R-2	
鑄型	Infl50(3)	5'-AATCTACCAACCCAGC·····CCTGGTCAGCTTCCTG-3'
	NDV(3)	5'-AAGCGACTAACCCAGC·····CCTGGTCATCTGCATG-3'
	Infl150	5'-AACCCACGAACCCAGC·····CCTGGTCACCTCCTTG-3'
primer	Infl-NDV_F-3	5'-AASCSACKAACCCAGC-3' 3'-GGACCAGTRGASGWAC-5'
	Infl-NDV_R-3	
鑄型	Infl50(4)	5'-GATCTACCAACCCAGC·····CCTGGTCAGCTTCCTA-3'
	NDV(4)	5'-TAGCGACTAACCCAGC·····CCTGGTCATCTGCATC-3'
	Infl150	5'-AACCCACGAACCCAGC·····CCTGGTCACCTCCTTG-3'
primer	Infl-NDV_F-4	5'-WASCSACKAACCCAGC-3' 3'-GGACCAGTRGASGWAS-5'
	Infl-NDV_R-4	
鑄型	Infl50(5)	5'-GATCTTCCAACCCAGC·····CCTGGTCAGCCTCCTA-3'
	NDV(5)	5'-TAGCGGCTAACCCAGC·····CCTGGTCATCGGCATC-3'
	Infl150	5'-AACCCACGAACCCAGC·····CCTGGTCACCTCCTTG-3'
primer	Infl-NDV_F-5	5'-WASCSRCKAACCCAGC-3' 3'-GGACCAGTRGMSGWAS-5'
	Infl-NDV_R-5	

表 11. TAP-PCR 用 primer (degenerate region:8mer、TAP region:8~12mer)

Forward – Reverse	primer 配列
Infl-NDV_8-F Infl-NDV_8-R	5'-WASCSACKAACCCAGC-3' 5'-SAWGSAGRTGACCAGG-3'
Infl-NDV_9-F Infl-NDV_9-R	5'-WASCSACKAACCCAGCA-3' 5'-SAWGSAGRTGACCAGGA-3'
Infl-NDV_10-F Infl-NDV_10-R	5'-WASCSACKAACCCAGCAC-3' 5'-SAWGSAGRTGACCAGGAT-3'
Infl-NDV_11-F Infl-NDV_11-R	5'-WASCSACKAACCCAGCACT-3' 5'-SAWGSAGRTGACCAGGATT-3'
Infl-NDV_12-F Infl-NDV_12-R	5'-WASCSACKAACCCAGCACTT-3' 5'-SAWGSAGRTGACCAGGATTI-3'

表 12. 鑄型作成用 primer (Total:25mer / TAP region:8、9mer)

鑄型	primer	primer 配列	産物の名称
coreInfl150	Infl150_f-25-8	5'-CATGCCAGTATCCCACCAACCCAGC-3'	Infl150(25-8)
	Infl150_r-25-8	5'-CCTAGGATCCCAGGAGCTGACCAGG-3'	
coreNDV100	NDV_f-25-8	5'-CATGCTAGTAGCCCACTAACCCAGC-3'	NDV(25-8)
	NDV_r-25-8	5'-CCTAGTATCCGAGGAGATGACCAGG-3'	
coreInfl150	Infl150_f-25-8	5'-CATGCGAGTAACCCACGAACCCAGC-3'	Infl150(25-8)
	Infl150_r-25-8	5'-CCTAGAATCCAAGGAGGTGACCAGG-3'	
coreInfl150	Infl150_f-25-9	5'-ATGCCAGTATCCCACCAACCCAGCA-3'	Infl150(25-9)
	Infl150_r-25-9	5'-CTAGGATCCCAGGAGCTGACCAGGA-3'	
coreNDV100	NDV_f-25-9	5'-ATGCTAGTAGCCCACTAACCCAGCA-3'	NDV(25-9)
	NDV_r-25-9	5'-CTAGTATCCGAGGAGATGACCAGGA-3'	
coreInfl150	Infl150_f-25-9	5'-ATGCGAGTAACCCACGAACCCAGCA-3'	Infl150(25-9)
	Infl150_r-25-9	5'-CTAGAATCCAAGGAGGTGACCAGGA-3'	

表 13. TAP-PCR 用 primer (Total: 25mer / TAP region: 8, 9mer)

	名称	鋳型の両端の配列 / primer 配列
鋳型	Infl50(25-8)	5'-CATGCCAGTATCCCACCAACCCAGC..... ...CCTGGTCAGCTCCTGGGATCCTAGG-3'
	NDV(25-8)	5'-CATGCTAGTAGCCCACTAACCCAGC..... ...CCTGGTCATCTCCTCGGATACTAGG-3'
	Infl150(25-8)	5'-CATGCGAGTAACCCACGAACCCAGC..... ...CCTGGTCACCTCCTTGGATTCTAGG-3'
primer	Infl-NDV_F-25-8	5'-CATGCBAGTADCCCACBAACCCAGC-3'
	Infl-NDV_R-25-8	3'-GGACCAGTVGAGGAVCCTADGATCC-5'
鋳型	Infl50(25-9)	5'-ATGCCAGTATCCCACCAACCCAGCA..... ...TCCTGGTCAGCTCCTGGGATCCTAG-3'
	NDV(25-9)	5'-ATGCTAGTAGCCCACTAACCCAGCA..... ...TCCTGGTCATCTCCTCGGATACTAG-3'
	Infl150(25-9)	5'-ATGCGAGTAACCCACGAACCCAGCA..... ...TCCTGGTCACCTCCTTGGATTCTAG-3'
primer	Infl-NDV_F-25-9	5'-ATGCBAGTADCCCACBAACCCAGCA-3'
	Infl-NDV_R-25-9	3'-AGGACCAGTVGAGGAVCCTADGATC-5'

図 4. コロナウイルス科の遺伝的近縁性相関図

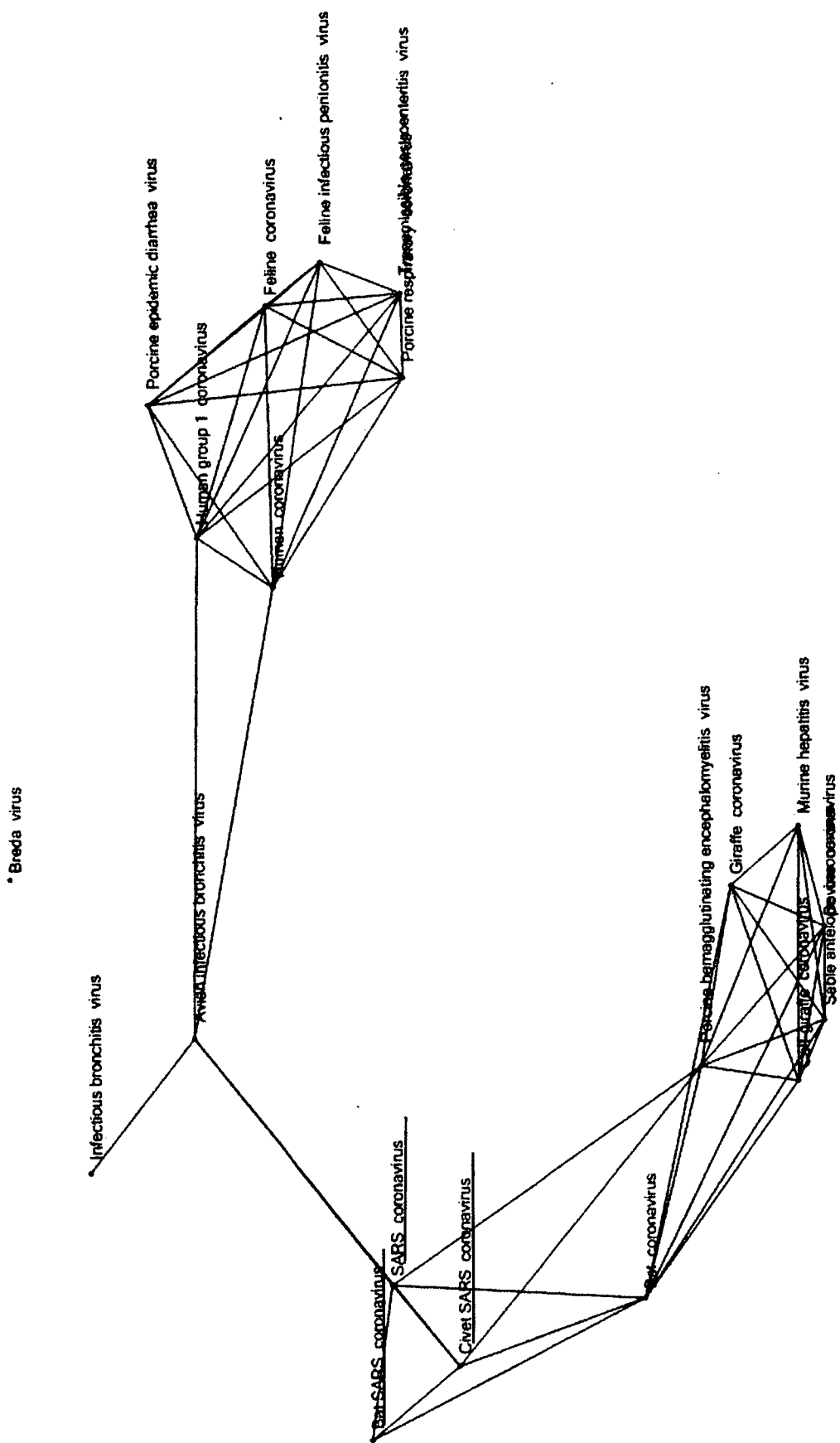


表 14. ウイルスへの適用実験に用いた primer

レーン	primer (Forward/Reverse)		増幅産物 サイズ(bp)
	番号	配列	
1	160	5'-TCRAGAAATTCAACTCCTGGCAGCA-3'	150
	156	5'-AGGCTTTTTAGATGCCTCAGCAGCA-3'	
2	161	5'-AYAARGTGACWCTYGCTGATGCTGG-3'	550
	157	5'-TRGCAGAAGCYCTGATTCAGCAGC-3'	
3	168	5'-GAACTTAGATTCCCTCGAGGCCAGG-3'	390
	169	5'-GAGAATTTCCCCTACTGCTGCCAGG-3'	
4	168	5'-GAACTTAGATTCCCTCGAGGCCAGG-3'	390
	167	5'-GAATTTCCCCTACTGCTGCCAGGAG-3'	
5	164	5'-AGAGCTACCCGACGAGTTCGTGGTG-3'	310
	167	5'-GAATTTCCCCTACTGCTGCCAGGAG-3'	
6	162	5'-AGCTACCCGACGAGTTCGTGGTGGT-3'	310
	167	5'-GAATTTCCCCTACTGCTGCCAGGAG-3'	
7	163	5'-TAGATTCCTCGAGGCCAGGGCGTT-3'	380
	167	5'-GAATTTCCCCTACTGCTGCCAGGAG-3'	
8	166	5'-GACGAGTTCGTGGTGGTGACGGCAA-3'	230
	170	5'-GAGAAGAGGCTTGACTGCCGCCTCT-3'	
9	168	5'-GAACTTAGATTCCCTCGAGGCCAGG-3'	320
	170	5'-GAGAAGAGGCTTGACTGCCGCCTCT-3'	
10	166	5'-GACGAGTTCGTGGTGGTGACGGCAA-3'	300
	167	5'-GAATTTCCCCTACTGCTGCCAGGAG-3'	
11	164	5'-AGAGCTACCCGACGAGTTCGTGGTG-3'	310
	169	5'-GAGAATTTCCCCTACTGCTGCCAGG-3'	
12	162	5'-AGCTACCCGACGAGTTCGTGGTGGT-3'	310
	169	5'-GAGAATTTCCCCTACTGCTGCCAGG-3'	
13	163	5'-TAGATTCCTCGAGGCCAGGGCGTT-3'	380
	169	5'-GAGAATTTCCCCTACTGCTGCCAGG-3'	
14	166	5'-GACGAGTTCGTGGTGGTGACGGCAA-3'	300
	165	5'-AGAATTTCCCCTACTGCTGCCAGGA-3'	
15	168	5'-GAACTTAGATTCCCTCGAGGCCAGG-3'	390
	165	5'-AGAATTTCCCCTACTGCTGCCAGGA-3'	
16	164	5'-AGAGCTACCCGACGAGTTCGTGGTG-3'	310
	165	5'-AGAATTTCCCCTACTGCTGCCAGGA-3'	
17	162	5'-AGCTACCCGACGAGTTCGTGGTGGT-3'	310
	165	5'-AGAATTTCCCCTACTGCTGCCAGGA-3'	
18	163	5'-TAGATTCCTCGAGGCCAGGGCGTT-3'	380
	165	5'-AGAATTTCCCCTACTGCTGCCAGGA-3'	
19	166	5'-GACGAGTTCGTGGTGGTGACGGCAA-3'	300
	169	5'-GAGAATTTCCCCTACTGCTGCCAGG-3'	
20	164	5'-AGAGCTACCCGACGAGTTCGTGGTG-3'	240

	170	5'-GAGAAGAGGCTTGACTGCCGCCTCT-3'	
21	162	5'-AGCTACCCGACGAGTTCGTGGTGGT-3'	240
	170	5'-GAGAAGAGGCTTGACTGCCGCCTCT-3'	
22	166	5'-GACGAGTTCGTGGTGGTGACGGCAA-3'	450
	156	5'-AGGCTTTTTAGATGCCTCAGCAGCA-3'	
23	163	5'-TAGATCCCTCGAGGCCAGGGCGTT-3'	320
	170	5'-GAGAAGAGGCTTGACTGCCGCCTCT-3'	
24	189	5'-TGAGTTTGACCGTGATGCTGCCATG-3'	930
	191	5'-TCTGGTGTTACAGTRATTGCCTGTC-3'	
25	192	5'-AATTATTRAAGTCAATAGCCGCCAC-3'	260
	192	5'-GGTTTMACATATAGTGAGCCGCCAC-3'	
26	192	5'-AATTATTRAAGTCAATAGCCGCCAC-3'	260
	193	5'-GGTTTMACATATAGTGAGCCGCCAC-3'	
27	196	5'-GCAGARGGRAGCAGAGGCGGCAGTC-3'	210
	156	5'-AGGCTTTTTAGATGCCTCAGCAGCA-3'	
28	194	5'-CGCAGARGGRAGCAGAGGCGGCAGT-3'	210
	156	5'-AGGCTTTTTAGATGCCTCAGCAGCA-3'	
29	188	5'-YAACACTGGGAGTWCTCGTGCCACA-3'	860
	195	5'-YTAGTCCTACCTCCCTTGCGGAGTC-3'	
30	190	5'-AYAACACTGGGAGTWCTCGTGCCAC-3'	860
	195	5'-YTAGTCCTACCTCCCTTGCGGAGTC-3'	
31	178	5'-AYACWACYAGCTATCGTGAAGCAGC-3'	730
	187	5'-CCTRTCACCATRATAACAGCAGCA-3'	
32	198	5'-GAAGAGAGGTGTYTACTGCTGCCGT-3'	930
	197	5'-AAATTGATCTRATAACACCAGCAGC-3'	
33	198	5'-GAAGAGAGGTGTYTACTGCTGCCGT-3'	490
	195	5'-YTAGTCCTACCTCCCTTGCGGAGTC-3'	

図 5. PCR で作成された TAP-PCR 用鑄型の両端 (degeneracy の検討用)

[Infl50(1)] 5'-AACCTACGAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCACCTTCTTG-3'
 [Infl50(2)] 5'-AATCTACGAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCACCTTCCTG-3'
 [Infl50(3)] 5'-AATCTACCAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCAGCTTCCTG-3'
 [Infl50(4)] 5'-GATCTACCAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCAGCTTCCTA-3'
 [Infl50(5)] 5'-GATCTTCCAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCAGCCTCCTA-3'
 [NDV(1)] 5'-AACCGACGAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCACCTGCTTG-3'
 [NDV(2)] 5'-AAGCGACGAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCACCTGCATG-3'
 [NDV(3)] 5'-AAGCGACTAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCATCTGCATG-3'
 [NDV(4)] 5'-TAGCGACTAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCATCTGCATC-3'
 [NDV(5)] 5'-TAGCGGCTAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCATCGGCATC-3'
 [Infl150] 5'-AACCCACGAACCCAGCACTTA.....TAAATCCTGGTCACCTCCTTG-3'

図 6. 作成された鑄型の正確性

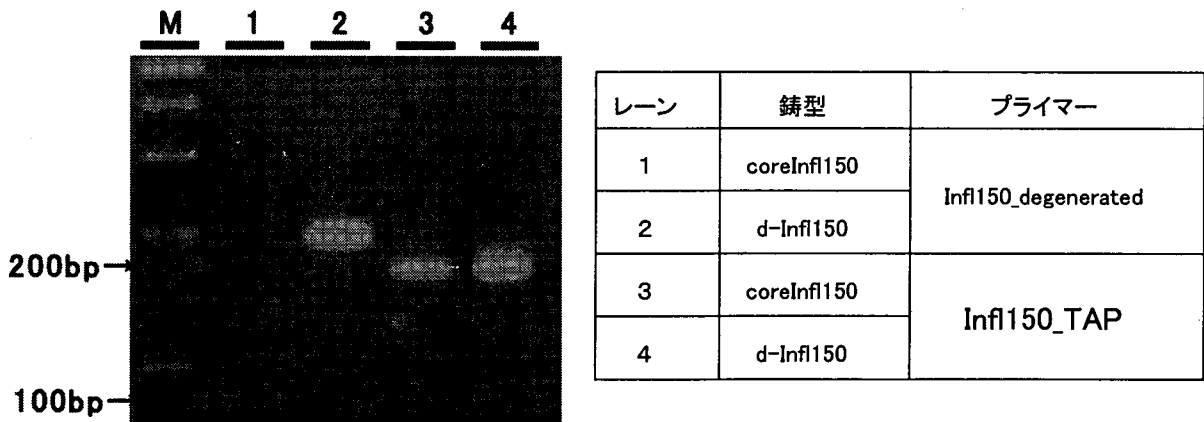


図 7. degenerate region の degeneracy の限界

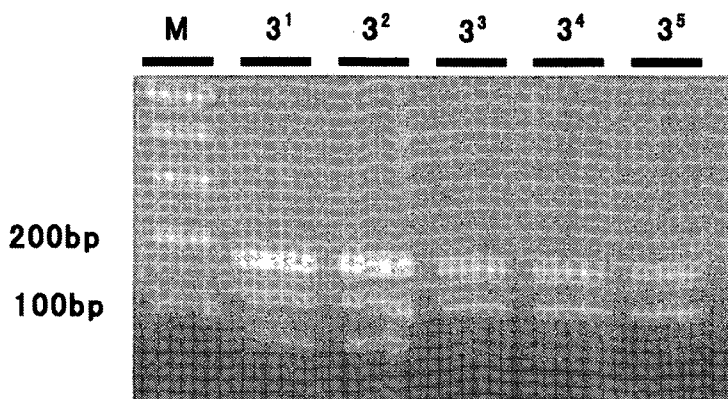


図 8. TAP-PCR の感度の限界と TAP region の長さの影響

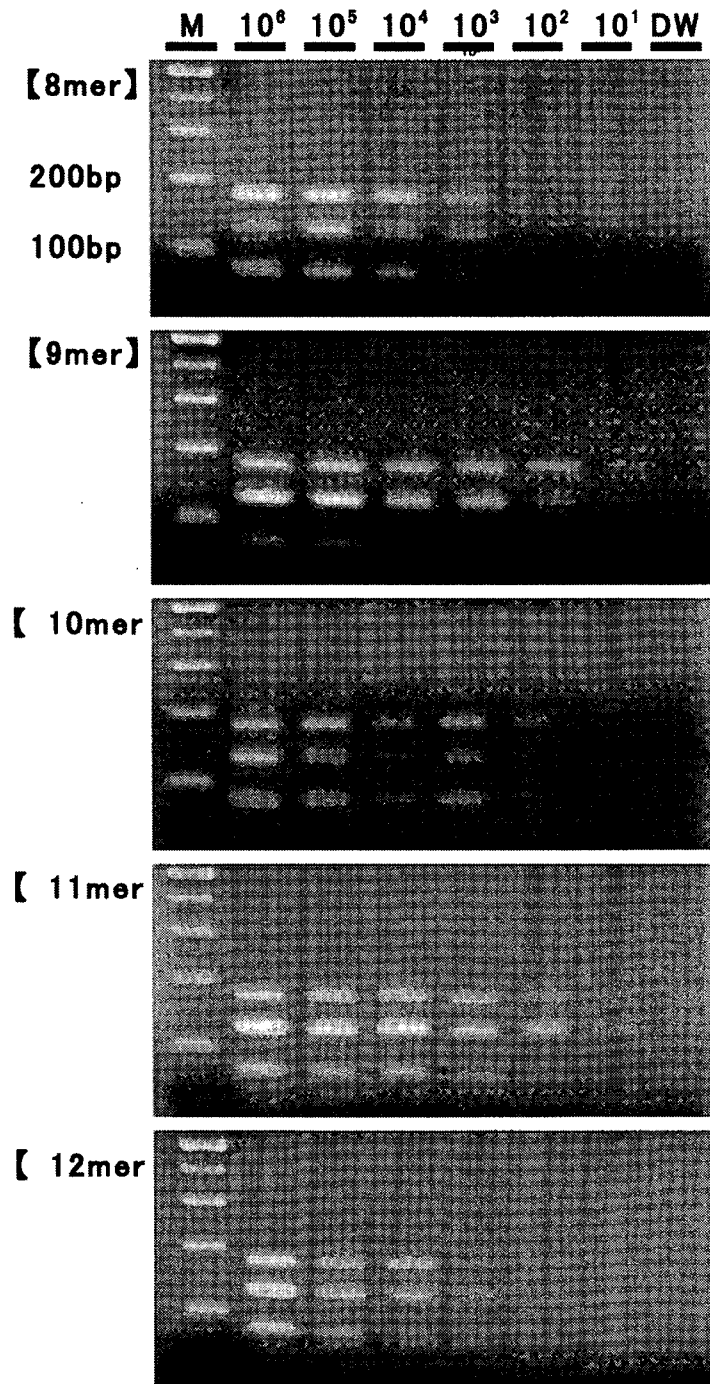


図 9. primer 全長 25mer での TAP PCR

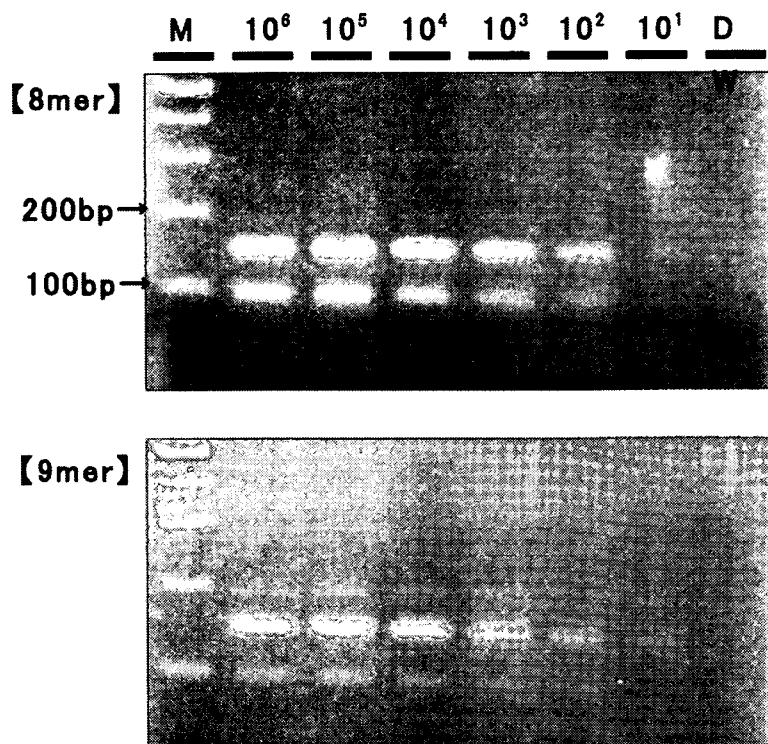


図 10. 同一の primer による TAP-PCR

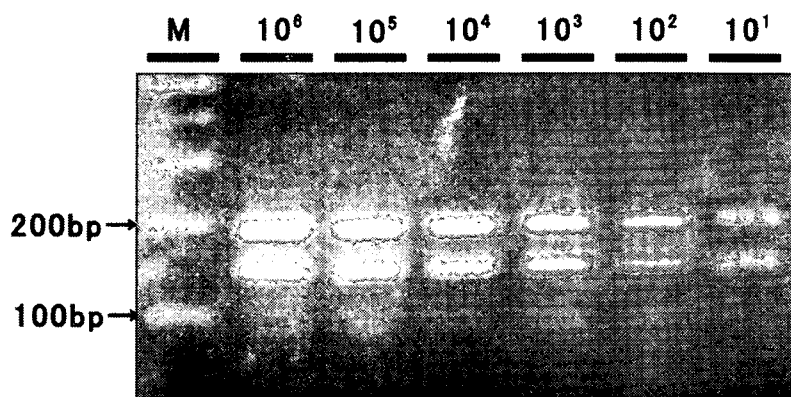


図 11. SARS コロナウイルス感染細胞由来 cDNA を鋳型とした TAP-PCR

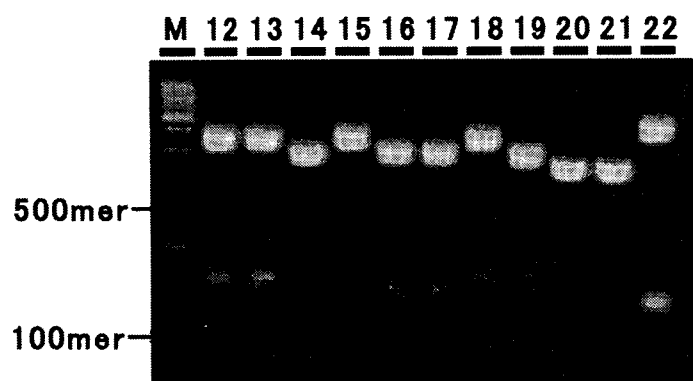
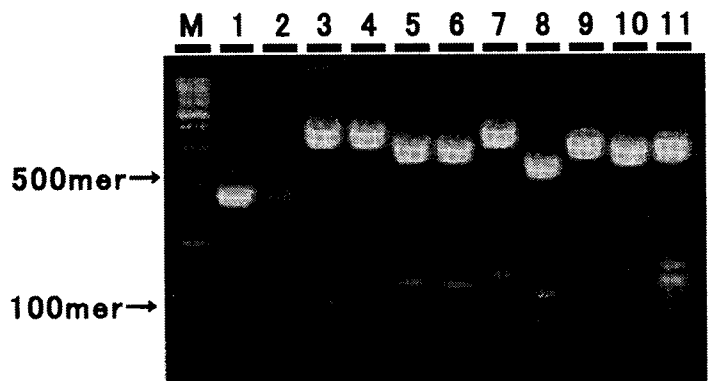
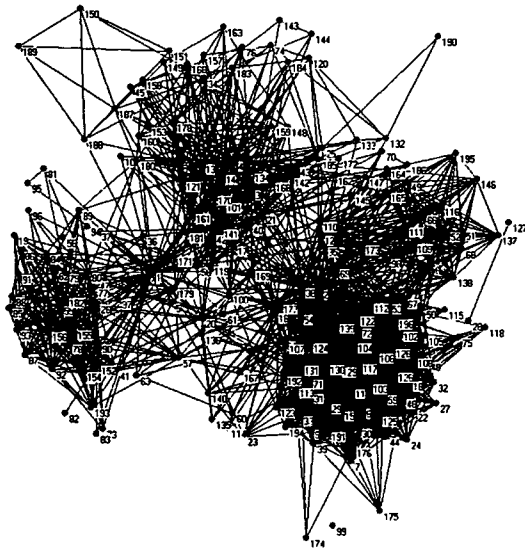
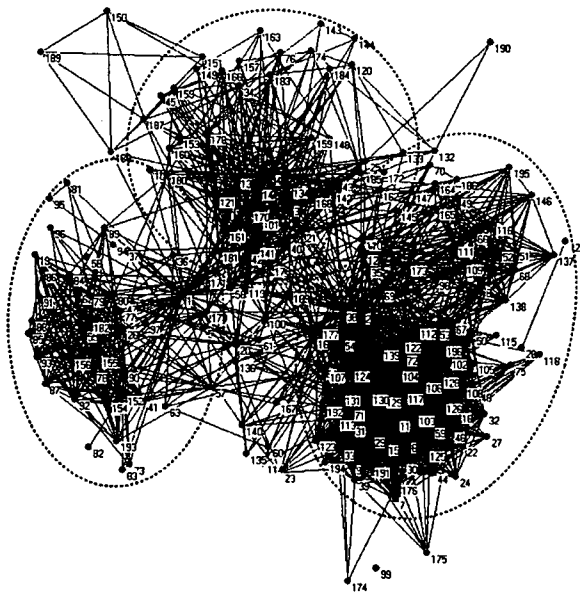


図 12. HIV-1 ゲノムデータの social network analysis

A Kamada-Kawai 法に基づいた相関関係の描出像



B 描出像を元に 3 個の二次グループに分類を実施した際の分離境界線



C 各二次グループに含まれるゲノムデータの件数

二次グループ	含まれる選択一次グループ件数
1	100
2	40
3	50

表 15. 第 1 二次グループ内共通 degenerate primer

Primer Set ID	Forward Primer ID	Forward Primer Position	Forward Primer Sequence	Reverse Primer ID	Reverse Primer Position	Reverse Primer Sequence	PCR fragment size	Count of target templates
68	13	4274	ACAATTWTAHRAGAAAAGGGG	160	4536	AYACWAHSANBRCTGCCATC	260	91
63	13	4274	ACAATTTTAWRAGAAAAGGGG	16	4538	CCAYACWAHYANCACCTGCCA	260	88
75	4	7201	DCGYKRMCRGYACAGGCCAGA	27	7615	TAWYYTKVTRTACCACAGCCA	410	72
59	13	4279	ACAATTWTAHRAGAAAAGGGG	299	4388	YTGTCTGWAATAAACCCGA	100	69
76	4	7201	DCGYTRMCRGYACAGGCCAGA	104	7765	TYYKRTYYKYCGGGCCTGTC	560	65
59	13	4217	ACAATTWTAHRAGAAAAGGGG	199	4325	TGTCYCTGWAATAAACCCGAA	100	64
67	13	4203	ACAATTWTAHRAGAAAAGGGG	116	4660	TCYCCTGKVWKYAGACCCCAA	450	57
80	4	672	GRCCHRYSCRCCAGGCCAGA	52	1310	YCYYBYBTYKBDGGAAGGCCA	630	51

表 16. 第 2 二次グループ内共通 degenerate primer

Primer Set ID	Forward Primer ID	Forward Primer Position	Forward Primer Sequence	Reverse Primer ID	Reverse Primer Position	Reverse Primer Sequence	PCR fragment size	Count of target templates
62	219	4855	RARAGGGGGATTGGGGGGTA	130	5104	AYACWAYCRKYVCTGCCATC	240	33
73	5	4262	CMAYWWTWWVAAAAGGGGG	130	4523	AYACWAYRKYVCTGCCATC	260	32
72	394	226	RGGARRRAGATRGGTGCGAGA	48	628	YTGRGTTRYATTTGCCCTTG	400	30
64	3	4261	ACAATTWTAAGAAAAGGGG	130	4523	AYACWAYRKYVCTGCCATC	260	30
56	349	4138	TTGGGGGRTACAGTGCAGGGG	130	4376	AYACAAYCRKCMCTGCCATC	230	29
64	219	4244	RARAGGGGGATTGGGGGGTA	258	4787	HRTGDATTAGYGGTCTGCCA	540	28
63	394	141	AGGARAGAGATRGGTGCGAGA	84	665	TYADATCTBVKGGGGTGGCTC	520	28
66	219	4244	RARAGGGGGATTGGGGGGTA	132	4966	YTTNYBMAYACTAGGCAGAGG	720	28
61	219	4206	RAAAGGGGGATTGGGGGGTA	21	4457	CCAYACWAYRKCACCTGCCA	250	27
63	158	229	ARAGAGATRGGTGCGAGAGCG	18	884	GBTCYCTYAWYTGCCCTGGTG	650	27
69	531	154	AGYGCRWCRCGAAGAGGCCGA	48	628	YTGRGTTRCYATTTGCCCTTG	470	27
60	117	1717	CYSTTTGGCRRCCAGCCCTTG	283	2435	CYYTTCYAYCCYTGTTGAAGC	710	27