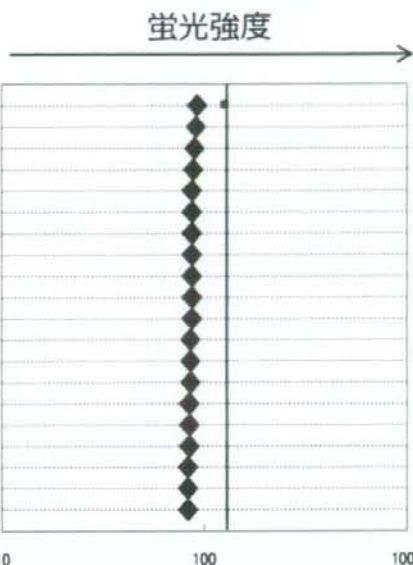


豚 廃棄脾臓

内臓全廃棄

候補順位	Accession No.	検出病原体候補
1	M35514	S.pyogenes streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
2	AF419157	Aeromonas hydrophila isolate SSU enterotoxin (ast) ger
3	CP000661	Rhodobacter sphaeroides ATCC 17025, complete genom
4	CY005359	Influenza A virus (A/laughing gull/DE/94/2000(H12N4))
5	CU234118	Bradyrhizobium sp. ORS278, complete sequence
6	AY262282	Human papillomavirus type 18 complete sequence
7	CP000580	Mycobacterium sp. JLS, complete genome
8	NC_002657	Classical swine fever virus, complete genome
9	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
10	Y16009	Clostridium perfringens cpe gene
11	AF939114	Streptomyces coelicolor A3(2) complete genome; segm
12	M17357	S.aureus eta gene encoding epidermolytic toxin A, com
13	CP000378	Burkholderia cenocepacia AU 1054 chromosome 1, corr
14	NC_007323	Bacillus anthracis str. 'Ames Ancestor' plasmid pXO2, cc
15	CP000259	Streptococcus pyogenes MGAS9429, complete genome
16	DQ278891	Hepatitis C virus subtype 6k isolate KM45, complete ger
17	NC_007322	Bacillus anthracis str. 'Ames Ancestor' plasmid pXO1, cc
18	AB099607	Influenza C virus (C/Yamagata/6/2000) NS gene for non
19	AF391541	Bovine coronavirus isolate BCoV-ENT, complete genom
20	CY015021	Influenza A virus (A/chicken/Victoria/1985(H7N7)) segn



内臓全廃棄

候補順位	Accession No.	検出病原体候補
1	M35514	S.pyogenes streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
2	CP000250	Rhodospseudomonas palustris HaA2, complete genome
3	Y16009	Clostridium perfringens cpe gene
4	X03929	Streptococcus pyogenes speA gene for exotoxin type I
5	AE017220	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraes
6	NC_004317	Plasmodium falciparum 3D7 chromosome 14, complete
7	NC_002657	Classical swine fever virus, complete genome
8	NC_007322	Bacillus anthracis str. 'Ames Ancestor' plasmid pXO1, cc
9	CP000661	Rhodobacter sphaeroides ATCC 17025, complete genom
10	M80837	Clostridium perfringens type B (strain NCTC 8533) epsil
11	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
12	NC_001479	Encephalomyocarditis virus, complete genome
13	CP000480	Mycobacterium smegmatis str. MC2 155, complete gen
14	AY274504	Kunjin virus clone FLSDX polyprotein mRNA, complete t
15	AF436130	Human papillomavirus type 74 subtype AE10, complete
16	AY302555	Human echovirus 32 strain PR-10 complete genome
17	U31786	Human papillomavirus type 37, complete genome
18	AL627276	Salmonella enterica serovar Typhi (Salmonella typhi) st
19	AF345636	Hantaan virus isolate 84FLI segment M, complete sequ
20	A10937	Human rhinovirus 89 (HRV89), complete genome

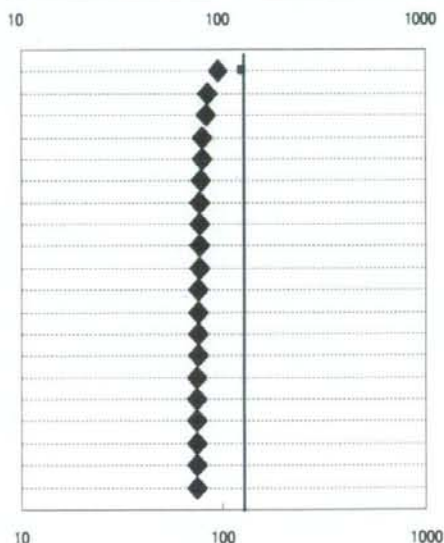


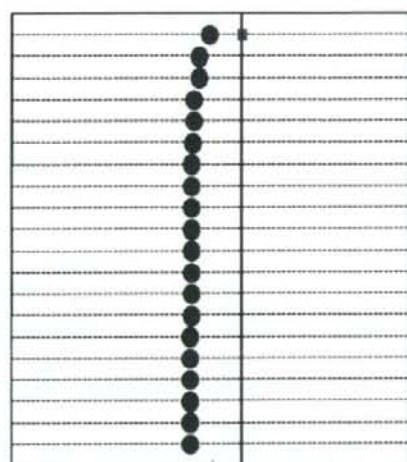
Fig. 3 廃棄処分臓器からの病原体検出

食肉処理場で廃棄処分となった検体から、DNA及びRNAを含む核酸溶液を抽出した。核酸溶液は断片化、Alexa546蛍光標識処理後病原体検出用マイクロアレイと反応させた。検体毎の各スポットシグナル蛍光強度はGenBankアクセスions毎にまとめられ、その中央値をグラフに示した。シグナル蛍光強度の高い順にランキングし、GenBankアクセスions毎の蛍光強度中央値が、3条件(①マイクロアレイ全体のバックグラウンド蛍光強度の2.5倍以上、②p値が0.001以下、③z値が3.5以上)を満たした場合、該当するGenBankアクセスionsの病原体が陽性と判定した。グラフ中央に示した線とピンクの点は、上記条件①(マイクロアレイ全体のバックグラウンド蛍光シグナル強度の2.5倍以上)を示している。

豚 廃棄肝臓

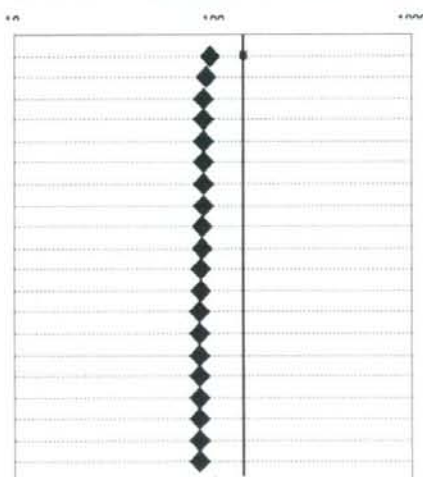
肝炎

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	AL939114	Streptomyces coelicolor A3(2) complete genome; seg
2	CP000661	Rhodobacter sphaeroides ATCC 17025, complete gen
3	M80837	Clostridium perfringens type B (strain NCTC 8533) epsI
4	NC_009127	Cyprinid herpesvirus 3, complete genome
5	NC_002657	Classical swine fever virus, complete genome
6	AB118841	Hepatitis delta virus DNA, complete genome, strain:M
7	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
8	NC_007345	Theileria parva strain Muguga chromosome 2, comple
9	NC_004325	Plasmodium falciparum 3D7 chromosome 1, complete
10	U37537	Human papillomavirus type 57b complete genome
11	AP007255	Magnetospirillum magneticum AMB-1 DNA, complete
12	AF241359	Enterovirus CA55-1988, complete genome
13	L13198	Clostridium perfringens type B beta-toxin gene, compl
14	NC_001458	Human papillomavirus type 63, complete genome
15	NC_002512	Murid herpesvirus 2, complete genome
16	X61560	S.pyogenes strain MGAS156 speA gene (allele 1) for ty
17	BX842576	Mycobacterium tuberculosis H37Rv complete genome
18	CP000091	Ralstonia eutropha JMP134 chromosome 2, complete
19	AB201226	Human papillomavirus type 94 DNA, nearly complete
20	AF104263	Hepatitis D virus strain TW2667, complete genome



寄生虫性肝炎

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	AL939114	Streptomyces coelicolor A3(2) complete genome; seg
2	AY684891	Influenza A virus (A/black-headed gull/Sweden/5/99)(
3	AY262282	Human papillomavirus type 18 complete sequence
4	NC_009127	Cyprinid herpesvirus 3, complete genome
5	AB000860	Akabane virus RNA for nucleoprotein, complete cds
6	CP000250	Rhodospseudomonas palustris HaA2, complete genom
7	AL627276	Salmonella enterica serovar Typhi (Salmonella typhi) s
8	X03929	Streptococcus pyogenes speA gene for exotoxin type
9	CP000580	Mycobacterium sp. JLS, complete genome
10	NC_006560	Cercopithecine herpesvirus 2, complete genome
11	AB211993	Human papillomavirus type 27b DNA, complete genom
12	DQ010921	Feline coronavirus strain FIPV 79-1146, complete gen
13	BX640415	Bordetella pertussis strain Tohama I, complete genom
14	BX248345	Mycobacterium bovis subsp. bovis AF2122/97 comple
15	CP000479	Mycobacterium avium 104, complete genome
16	AF345636	Hantaan virus isolate 84FLI segment M, complete seq
17	AE017220	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Cholerae
18	CP000661	Rhodobacter sphaeroides ATCC 17025, complete gen
19	NC_001479	Encephalomyocarditis virus, complete genome
20	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome



内臓全廃棄

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	AL939114	Streptomyces coelicolor A3(2) complete genome; segm
2	AL627276	Salmonella enterica serovar Typhi (Salmonella typhi) st
3	CP000259	Streptococcus pyogenes MGAS9429, complete genome
4	Y16009	Clostridium perfringens cpe gene
5	CP000261	Streptococcus pyogenes MGAS2096, complete genome
6	CP000250	Rhodospseudomonas palustris HaA2, complete genome
7	AF053400	Clostridium difficile truncated toxin A gene, complete c
8	BA000019	Nostoc sp. PCC 7120 DNA, complete genome
9	AB027021	Human papillomavirus type 82 DNA, complete genome
10	AF106299	Human rotavirus G2 strain TF85 VP7 protein (VP7) gene
11	BX640415	Bordetella pertussis strain Tohama I, complete genome
12	CY021487	Influenza A virus (A/turkey/Italy/4608/2003(H7N3)) seg
13	EF208930	Hantavirus CJA93 segment M, complete sequence
14	CU234118	Bradyrhizobium sp. ORS278, complete sequence
15	NC_004325	Plasmodium falciparum 3D7 chromosome 1, complete
16	DQ324666	Gallid herpesvirus 1 isolate Bio-Trach UL47 and glycopr
17	NC_007323	Bacillus anthracis str. 'Ames Ancestor' plasmid pXO2, cc
18	AY395706	Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compl
19	AF114383	Coxsackievirus B5 strain Faulkner, complete genome

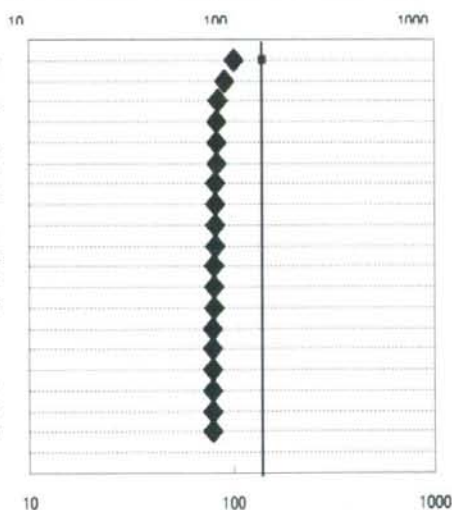
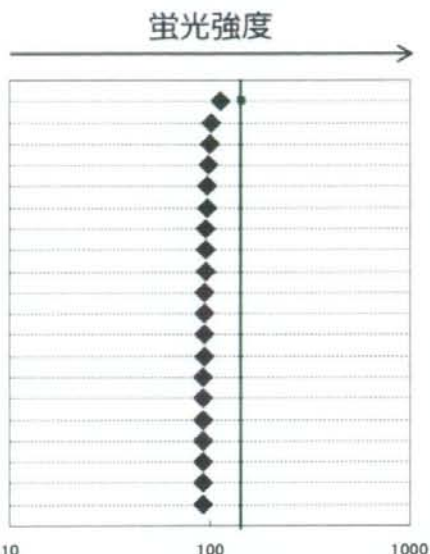


Fig. 3 続き

豚 廃棄肝臓

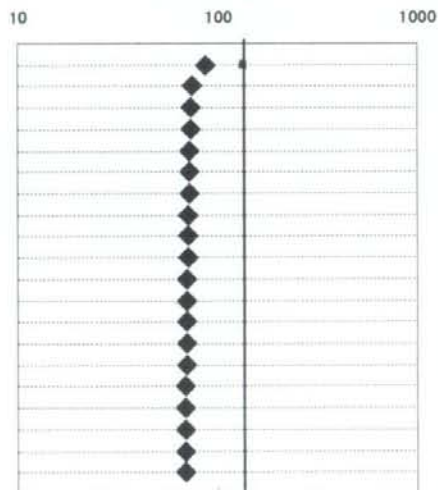
内臓全廃棄

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	M35514	<i>S.pyogenes</i> streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
2	DQ462191	Human T-lymphotropic virus 3 strain Pyl 43, complete g
3	M85198	<i>Vibrio cholerae</i> NAG-ST (stn) gene, complete cds
4	AB027021	Human papillomavirus type 82 DNA, complete genome
5	AF293960	Human papillomavirus type 84, complete genome
6	NC_003266	Human adenovirus E, complete genome
7	CP000261	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS2096, complete genome
8	AF419157	<i>Aeromonas hydrophila</i> isolate 55U enterotoxin (ast) gen
9	AE014613	<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica serovar Typhi Ty2, c
10	AL627276	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi (<i>Salmonella typhi</i>) st
11	CP000453	<i>Alkalilimnicola ehrlichei</i> MLHE-1, complete genome
12	AY395706	Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compli
13	AF436130	Human papillomavirus type 74 subtype AE10, complete
14	DQ366347	Norovirus Hu/OsakaNI/2004/JP ORF1 and ORF2 mRNA,
15	AM039952	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. vesicatoria complete gene
16	CP000259	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS9429, complete genome
17	CY015021	Influenza A virus (A/chicken/Victoria/1985(H7N7)) segm
18	DQ473489	Human rhinovirus 70, complete genome
19	NC_003047	<i>Sinorhizobium meliloti</i> 1021, complete genome
20	CP000058	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. phaseolicola 1448A, comple



肝硬変

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	M98037	<i>Clostridium perfringens</i> enterotoxin gene, complete cd
2	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) complete genome; segm
3	AJ224480	<i>Clostridium botulinum</i> gene encoding C2 toxin (compor
4	U31788	Human papillomavirus type 44, complete genome
5	CP000259	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS9429, complete genome
6	CP000431	<i>Rhodococcus</i> sp. RHA1, complete genome
7	D45904	<i>Clostridium perfringens</i> DNA for lambda toxin (metallog
8	AY395706	Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compli
9	AM039952	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. vesicatoria complete gene
10	CY005359	Influenza A virus (A/laughing gull/DE/94/2000(H12N4))
11	AB080575	Hepatitis E virus genomic RNA, complete genome, isola
12	AP007255	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1 DNA, complete j
13	AB027021	Human papillomavirus type 82 DNA, complete genome
14	AY302559	Human echovirus 7 strain Wallace complete genome
15	AE017220	<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica serovar Choleraesu
16	CP000261	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS2096, complete genome
17	CP000552	<i>Prochlorococcus marinus</i> str. MIT 9515, complete geno
18	CP000576	<i>Prochlorococcus marinus</i> str. MIT 9301, complete geno
19	CP000479	<i>Mycobacterium avium</i> 104, complete genome
20	J02615	<i>S.aureus</i> toxic shock syndrome toxin-1 gene, complete



肝包膜炎

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	AY302555	Human echovirus 32 strain PR-10 complete genome
2	X92973	<i>C.botulinum</i> A ntnh and bont genes
3	X61560	<i>S.pyogenes</i> strain MGAS156 speA gene (allele 1) for ty
4	NC_009127	Cyprinid herpesvirus 3, complete genome
5	CP000525	<i>Burkholderia mallei</i> SAVP1 chromosome II, complete s
6	AB051292	Japanese encephalitis virus gene for viral protein, com
7	DQ835770	Hepatitis C virus subtype 6i isolate Th602, complete ge
8	DQ080083	Human papillomavirus type 102, complete genome
9	CP000133	<i>Rhizobium etli</i> CFN 42, complete genome
10	D00435	Swine vesicular disease virus (STRAIN H/3 '76) genomic
11	CP000577	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17029 chromosome 1,
12	CP000479	<i>Mycobacterium avium</i> 104, complete genome
13	M35514	<i>S.pyogenes</i> streptococcal pyrogenic exotoxin type C (s
14	AY302548	Human echovirus 24 strain DeCamp complete genome
15	AY896761	Human enterovirus B strain EV6-14103-00 from Russia
16	DQ473489	Human rhinovirus 70, complete genome
17	NC_007323	<i>Bacillus anthracis</i> str. 'Ames Ancestor' plasmid pXO2, c
18	X62560	Influenza A virus (A/equine/London/1416/73(H7N7)) g
19	AF391541	Bovine coronavirus isolate BCoV-ENT, complete genon

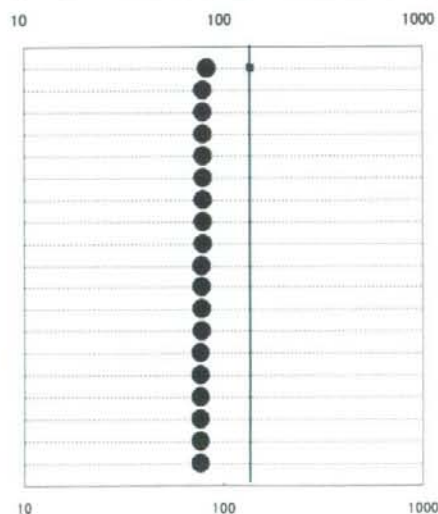


Fig. 3 続き

豚 廃棄心臓

心外膜炎

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	AE004969	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> FA 1090, complete genome
2	M98037	<i>Clostridium perfringens</i> enterotoxin gene, complete cd
3	AY302549	Human echovirus 25 strain JV-4 complete genome
4	M35514	<i>S.pyogenes</i> streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
5	AM039952	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. vesicatoria complete gen
6	AE017220	<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica serovar Choleraesu
7	DQ462191	Human T-lymphotropic virus 3 strain Pyl 43, complete g
8	AE017221	<i>Thermus thermophilus</i> HB27, complete genome
9	AP007255	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1 DNA, complete i
10	NC_003888	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2), complete genome
11	CP000479	<i>Mycobacterium avium</i> 104, complete genome
12	CP000086	<i>Burkholderia thailandensis</i> E264 chromosome I, compl
13	U10527	<i>Bordetella pertussis</i> BP338 DNA dermonecrotic toxin (d
14	NC_001676	Human papillomavirus - 54, complete genome
15	NC_009127	Cyprinid herpesvirus 3, complete genome
16	AY684891	Influenza A virus (A/black-headed gull/Sweden/5/99(H
17	AB201226	Human papillomavirus type 94 DNA, nearly complete g
18	DQ080079	Human papillomavirus type 68a, complete genome
19	NC_001408	Avian leukosis virus - RSA, complete genome
20	AF531420	Human papillomavirus type 92, complete genome
21	NC_001458	Human papillomavirus type 63, complete genome

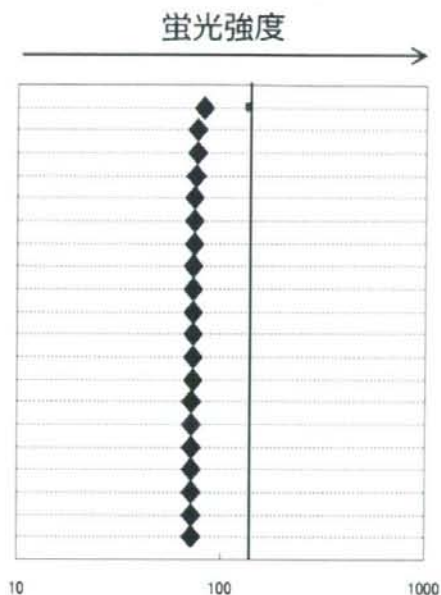


Fig. 3 続き

豚 廃棄肺

流行性肺炎SEP

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	M35514	<i>S.pyogenes</i> streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
2	CP000577	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17029 chromosome 1,
3	X53180	<i>Clostridium butyricum</i> gene for botulinum type E toxin,
4	CP000250	<i>Rhodopseudomonas palustris</i> HaA2, complete genome
5	M12737	Human papillomavirus type 8, complete genome
6	AM039952	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i> complete gen
7	EF208930	Hantavirus CJA93 segment M, complete sequence
8	X61560	<i>S.pyogenes</i> strain MGAS156 speA gene (allele 1) for typ
9	AJ224480	<i>Clostridium botulinum</i> gene encoding C2 toxin (comp
10	U10527	<i>Bordetella pertussis</i> BP338 DNA dermonecrotic toxin (d
11	Y16009	<i>Clostridium perfringens</i> cpe gene
12	BX248347	<i>Mycobacterium bovis</i> subsp. <i>bovis</i> AF2122/97 complet
13	DQ011855	Porcine hemagglutinating encephalomyelitis virus strai
14	AB099607	Influenza C virus (C/Yamagata/6/2000) NS gene for non
15	CP000440	<i>Burkholderia ambifaria</i> AMMD chromosome 1, complet
16	CU234118	<i>Bradyrhizobium</i> sp. ORS278, complete sequence
17	CP000479	<i>Mycobacterium avium</i> 104, complete genome
18	AE004969	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> FA 1090, complete genome
19	M26090	Influenza A virus (A/ring-billed gull/Maryland/704/197
20	AY302549	Human echovirus 25 strain JV-4 complete genome

肺炎

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	M35514	<i>S.pyogenes</i> streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
2	DQ462191	Human T-lymphotropic virus 3 strain Pyl 43, complete g
3	M85198	<i>Vibrio cholerae</i> NAG-ST (stn) gene, complete cds
4	AB027021	Human papillomavirus type 82 DNA, complete genome
5	AF293960	Human papillomavirus type 84, complete genome
6	NC_003266	Human adenovirus E, complete genome
7	CP000261	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS2096, complete genome
8	AF419157	<i>Aeromonas hydrophila</i> isolate SSU enterotoxin (ast) ge
9	AE014613	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhi Ty2,
10	AL627276	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhi (<i>Salmonella typhi</i>) st
11	CP000453	12/20
12	AY395706	<i>Alkalicoccus ehrlichei</i> MLHE-1, complete genome
13	AF436130	Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compli
14	DQ366347	Human papillomavirus type 74 subtype AE10, complete
15	AM039952	Norovirus Hu/OsakaNI/2004/JP ORF1 and ORF2 mRNA,
16	CP000259	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i> complete gen
17	CY015021	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS9429, complete genome
18	DQ473489	Influenza A virus (A/chicken/Victoria/1985(H7N7)) segr
		Human rhinovirus 70, complete genome

流行性肺炎SEP

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	M35514	<i>S.pyogenes</i> streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
2	NC_001545	Rubella virus, complete genome
3	CP000261	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS2096, complete genome
4	AE017221	<i>Thermus thermophilus</i> HB27, complete genome
5	M98037	<i>Clostridium perfringens</i> enterotoxin gene, complete cd
6	BX248347	<i>Mycobacterium bovis</i> subsp. <i>bovis</i> AF2122/97 complet
7	NC_001479	Encephalomyocarditis virus, complete genome
8	AY302555	Human echovirus 32 strain PR-10 complete genome
9	AE004969	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> FA 1090, complete genome
10	CP000259	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS9429, complete genome
11	CP000555	<i>Methylobium petroleiphilum</i> PM1, complete genome
12	AB000860	Akabane virus RNA for nucleoprotein, complete cds
13	CP000017	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS5005, complete genome
14	NC_006560	Cercopithecine herpesvirus 2, complete genome
15	AB018697	Human rotavirus A gene for VP7, complete cds
16	AY395706	Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compli
17	NC_004148	Human metapneumovirus, complete genome
18	AB043500	Influenza A virus (A/Ibaraki/90/1998(H1N1)) HA gene fr
19	J04353	Human papillomavirus type 31 (HPV-31) complete gen
20	M12737	Human papillomavirus type 8, complete genome

蛍光強度

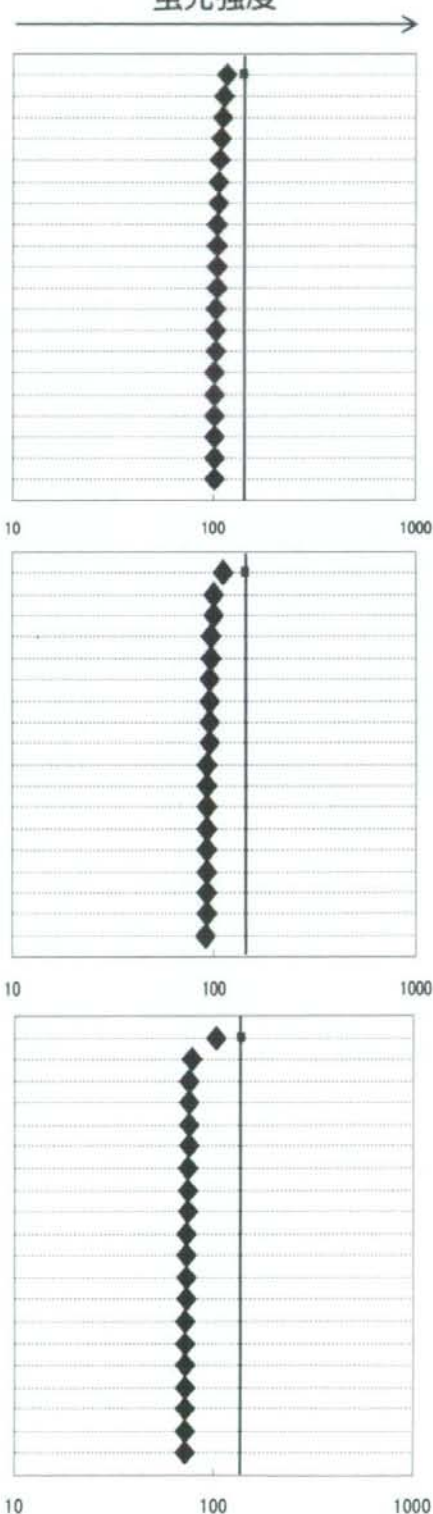


Fig. 3 続き

豚 廃棄下顎リンパ節

抗酸菌症

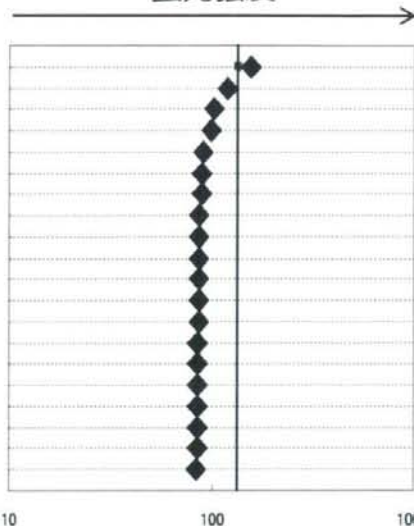
候補順位

候補順位	Acession No.
1	M35514
2	AL939114
3	NC_003468
4	D42143
5	AF104263
6	EF362755
7	DQ010921
8	NC_009127
9	AY395706
10	DQ835770
11	X03929
12	NC_001576
13	DQ186797
14	CP000359
15	M12737
16	AB118846
17	X61560
18	CP000431
19	NC_002067
20	NC_004325

検出病原体候補

S.pyogenes streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp; Streptomyces coelicolor A3(2) complete genome; segm Andes virus segment L, complete sequence Staphylococcus aureus hlg2 gene for gamma-hemolysin Hepatitis D virus strain TW2667, complete genome Human papillomavirus type 2 isolate C1, complete gen Feline coronavirus strain FIPV 79-1146, complete genor Cyprinid herpesvirus 3, complete genome Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compl Hepatitis C virus subtype 6i isolate Th602, complete gen Streptococcus pyrogenes speA gene for exotoxin type / Human papillomavirus type 10, complete genome Bluetongue virus 9 isolate BUL1999/01 inner core struc Deinococcus geothermalis DSM 11300, complete genor Human papillomavirus type 8, complete genome Hepatitis delta virus DNA, complete genome, strain:Mi S.pyogenes strain MGAS156 speA gene (allele 1) for typ Rhodococcus sp. RHA1, complete genome Human adenovirus D, complete genome Plasmodium falciparum 3D7 chromosome 1, complete

蛍光強度



非定型抗酸菌症

候補順位

候補順位	Acession No.
1	AL939114
2	CP000661
3	X61560
4	DQ010921
5	BA000019
6	M95206
7	NC_006077
8	DQ080081
9	AY302546
10	M12197
11	CP000378
12	NC_009127
13	X03929
14	CP000555
15	AY525843
16	U37537
17	AY395706
18	AB039776
19	D21208
20	BK001744
21	AY494850

検出病原体候補

Streptomyces coelicolor A3(2) complete genome; segrr Rhodobacter sphaeroides ATCC 17025, complete genoi S.pyogenes strain MGAS156 speA gene (allele 1) for typ Feline coronavirus strain FIPV 79-1146, complete genoi Nostoc sp. PCC 7120 DNA, complete genome Clostridium perfringens epsilon-toxin (etxD) gene, com Kluyveromyces lactis mitochondrion, complete genom Human papillomavirus type 101, complete genome Human echovirus 20 strain JV-1 complete genome Poliovirus type 2 (Lansing strain), complete genome Burkholderia cenocepacia AU 1054 chromosome 1, cor Cyprinid herpesvirus 3, complete genome Streptococcus pyrogenes speA gene for exotoxin type / Methylibium petroleiphilum PM1, complete genome Human metapneumovirus isolate NL/1/99, complete g Human papillomavirus type 57b complete genome Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compl Norwalk-like virus genomic RNA, complete genome, isc Human papillomavirus type 67 complete genome TPA_exp: Suid herpesvirus 1, complete genome Duck hepatitis B virus, complete genome

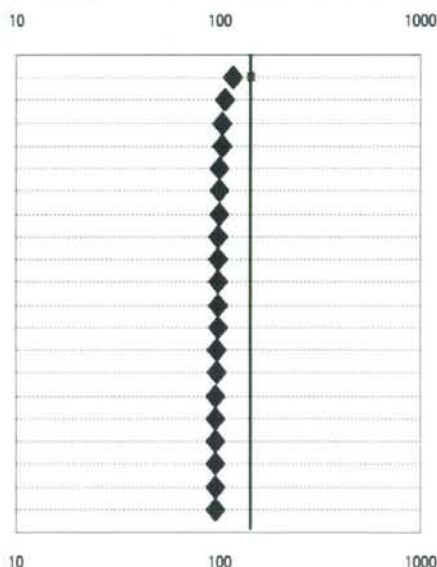


Fig. 3 続き

牛 廃棄肝臓

富脈斑

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) complete genome; segm
2	AF104263	Hepatitis D virus strain TW2667, complete genome
3	AE017221	<i>Thermus thermophilus</i> HB27, complete genome
4	NC_006560	Cercopithecine herpesvirus 2, complete genome
5	AB027021	Human papillomavirus type 82 DNA, complete genome
6	M12732	Human papillomavirus type 33, complete genome
7	AE017220	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Choleraes
8	BK001744	TPA_exp: Suid herpesvirus 1, complete genome
9	DQ835770	Hepatitis C virus subtype 6i isolate Th602, complete ge
10	NC_006077	<i>Kluyveromyces lactis</i> mitochondrion, complete genome
11	AF419157	<i>Aeromonas hydrophila</i> isolate SSU enterotoxin (ast) ge
12	NC_009127	Cyprinid herpesvirus 3, complete genome
13	DQ010921	Feline coronavirus strain FIPV 79-1146, complete genor
14	AY395706	Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compl
15	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
16	Y16009	<i>Clostridium perfringens</i> cpe gene
17	AY896760	Human enterovirus B strain EV6-10887-99 from Russia
18	CP000479	<i>Mycobacterium avium</i> 104, complete genome
19	X74483	Human papillomavirus type 56 genomic DNA
20	AM406671	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> MG1363, complete g

富脈斑

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) complete genome; segm
2	CP000661	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17025, complete genor
3	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
4	NC_003468	Andes virus segment L, complete sequence
5	CP000431	<i>Rhodococcus</i> sp. RHA1, complete genome
6	AF419157	<i>Aeromonas hydrophila</i> isolate SSU enterotoxin (ast) ge
7	M12732	Human papillomavirus type 8, complete genome
8	X03929	<i>Streptococcus pyogenes</i> speA gene for exotoxin type /
9	NC_003888	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2), complete genome
10	NC_001676	Human papillomavirus - 54, complete genome
11	CP000577	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17029 chromosome 1,
12	CP000479	<i>Mycobacterium avium</i> 104, complete genome
13	NC_004325	<i>Plasmodium falciparum</i> 3D7 chromosome 1, complete
14	CP000017	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS5005, complete genome
15	NC_006077	<i>Kluyveromyces lactis</i> mitochondrion, complete genome
16	CP000555	<i>Methylibium petroleiphilum</i> PM1, complete genome
17	EF151503	Eastern equine encephalitis virus strain BeAr436087, cc
18	CP000378	<i>Burkholderia cenocepacia</i> AU 1054 chromosome 1, con
19	CP000259	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS9429, complete genome
20	AE017220	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Choleraes

富脈斑

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) complete genome; segm
2	AF419157	<i>Aeromonas hydrophila</i> isolate SSU enterotoxin (ast) ge
3	AB027021	Human papillomavirus type 82 DNA, complete genome
4	M12732	Human papillomavirus type 33, complete genome
5	AE017220	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Choleraes
6	DQ835767	Hepatitis C virus subtype 6m isolate B4/92, complete g
7	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
8	AM183330	Hepatitis delta virus complete virion genome, strain dFi
9	DQ010921	Feline coronavirus strain FIPV 79-1146, complete genor
10	AJ620350	Influenza A virus (A/Chicken/Germany/R28/03(H7N7))
11	CP000359	<i>Deinococcus geothermalis</i> DSM 11300, complete genor
12	NC_003888	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2), complete genome
13	EF208930	Hantavirus ClAp93 segment M, complete sequence
14	AJ400628	Human papillomavirus type 87 (candidate) complete ge
15	AJ577594	Human echovirus 11, isolate ROU-9191, complete virio
16	D00435	Swine vesicular disease virus (STRAIN H/3 '76) genomic
17	CP000431	<i>Rhodococcus</i> sp. RHA1, complete genome
18	J04353	Human papillomavirus type 31 (HPV-31) complete gen
19	BX248347	<i>Mycobacterium bovis</i> subsp. <i>bovis</i> AF2122/97 compl
20	CT573213	<i>Frankia alni</i> str. ACN14A chromosome, complete seque

蛍光強度

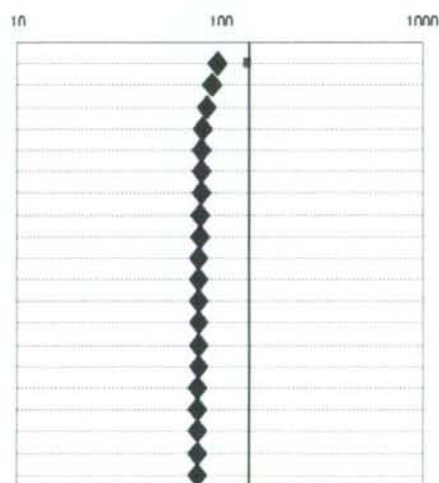
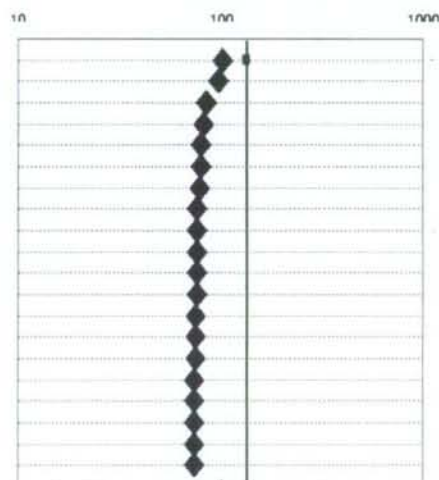
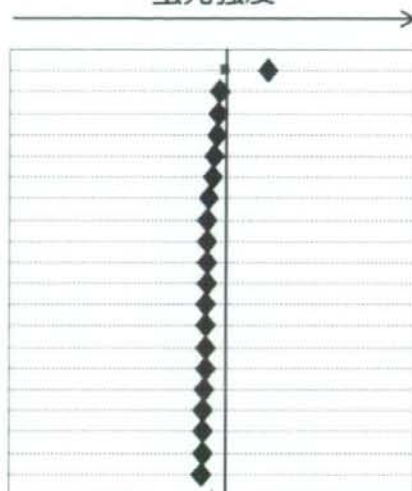


Fig. 3 続き

牛 廃棄肝臓

富脈斑

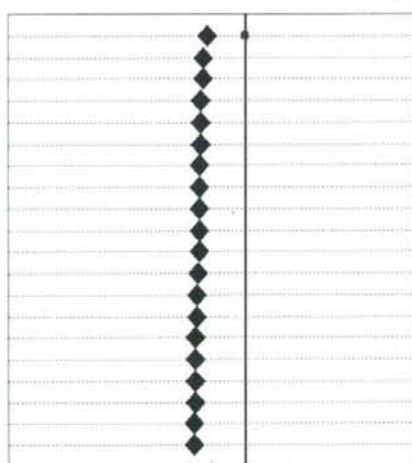
候補順位

候補順位	Acession No.
1	AL939114
2	AE017220
3	X03929
4	NC_003888
5	CP000577
6	CP000661
7	NC_002512
8	NC_006077
9	AF419157
10	AF436130
11	DQ080081
12	AJ577594
13	M12737
14	CP000431
15	AM406671
16	NC_002067
17	AB027021
18	CP000479
19	AY395706
20	AF184083

検出病原体候補

Streptomyces coelicolor A3(2) complete genome; segm
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesui
Streptococcus pyogenes speA gene for exotoxin type I
Streptomyces coelicolor A3(2), complete genome
Rhodobacter sphaeroides ATCC 17029 chromosome 1,
Rhodobacter sphaeroides ATCC 17025, complete genom
Murid herpesvirus 2, complete genome
Kluyveromyces lactis mitochondrion, complete genome
Aeromonas hydrophila isolate SSU enterotoxin (ast) ge
Human papillomavirus type 74 subtype AE10, complete
Human papillomavirus type 101, complete genome
Human echovirus 11, isolate ROU-9191, complete virio
Human papillomavirus type 8, complete genome
Rhodococcus sp. RHA1, complete genome
Lactococcus lactis subsp. cremoris MG1363, complete g
Human adenovirus D, complete genome
Human papillomavirus type 82 DNA, complete genome
Mycobacterium avium 104, complete genome
Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compl
Human rotavirus B strain CAL outer capsid protein VP7

蛍光強度 →



富脈斑

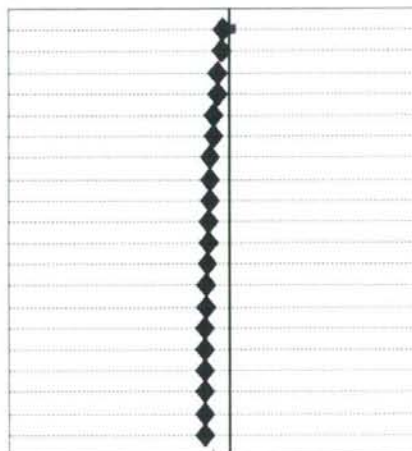
候補順位

候補順位	Acession No.
1	DQ080081
2	AL939114
3	CP000378
4	AE017220
5	NC_003468
6	X61560
7	CP000259
8	AB118846
9	NC_001545
10	NC_001676
11	BX248347
12	X70827
13	L13198
14	X92973
15	DQ835770
16	X03929
17	CP000431
18	BK001744
19	NC_001593
20	AE004969

検出病原体候補

Human papillomavirus type 101, complete genome
Streptomyces coelicolor A3(2) complete genome; segm
Burkholderia cenocepacia AU 1054 chromosome 1, con
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesui
Andes virus segment L, complete sequence
S.pyogenes strain MGAS156 speA gene (allele 1) for typ
Streptococcus pyogenes MGAS9429, complete genome
Hepatitis delta virus DNA, complete genome, strain:Mi
Rubella virus, complete genome
Human papillomavirus - 54, complete genome
Mycobacterium bovis subsp. bovis AF2122/97 complet
Human papillomavirus type 4 complete genome
Clostridium perfringens type B beta-toxin gene, comple
C.botulinum A ntnh and bont genes
Hepatitis C virus subtype 6i isolate Th602, complete ge
Streptococcus pyogenes speA gene for exotoxin type I
Rhodococcus sp. RHA1, complete genome
TPA_exp: Suid herpesvirus 1, complete genome
Human papillomavirus type 53, complete genome
Neisseria gonorrhoeae FA 1090, complete genome

10 100 1000



富脈斑

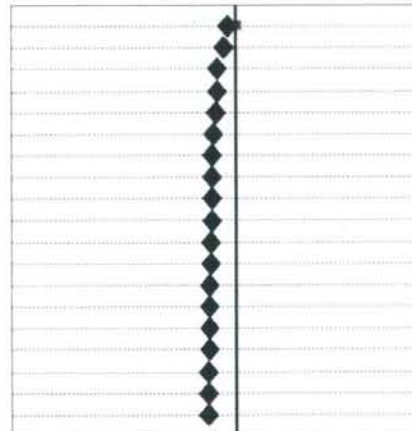
候補順位

候補順位	Acession No.
1	Y16009
2	D42143
3	AE017221
4	X03929
5	A10937
6	CP000661
7	CP000555
8	M35514
9	CP000580
10	DQ080081
11	AY494850
12	AY684891
13	CP000086
14	NC_003888
15	AE017220
16	CP000431
17	AY262282
18	M17357
19	BX640415

検出病原体候補

Clostridium perfringens cpe gene
Staphylococcus aureus hlg2 gene for gamma-hemolysin
Thermus thermophilus HB27, complete genome
Streptococcus pyogenes speA gene for exotoxin type I
Human rhinovirus 89 (HRV89), complete genome
Rhodobacter sphaeroides ATCC 17025, complete genom
Methylibium petroleiphilum PM1, complete genome
S.pyogenes streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
Mycobacterium sp. JLS, complete genome
Human papillomavirus type 101, complete genome
Duck hepatitis B virus, complete genome
Influenza A virus (A/black-headed gull/Sweden/5/99)(H
Burkholderia thailandensis E264 chromosome I, compl
Streptomyces coelicolor A3(2), complete genome
Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraesui
Rhodococcus sp. RHA1, complete genome
Human papillomavirus type 18 complete sequence
S.aureus eta gene encoding epidermolytic toxin A, com
Bordetella pertussis strain Tohama I, complete genome

10 100 1000



10 100 1000

Fig. 3 続き

牛 廃棄肝臓

膿瘍

候補順位	Accession No.	検出病原体候補
1	X03929	<i>Streptococcus pyogenes</i> speA gene for exotoxin type I
2	CP000661	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17025, complete genor
3	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) complete genome; segm
4	AY740736	Human rotavirus G3 strain B4106 segment 9, complete
5	NC_003888	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2), complete genome
6	NC_006560	<i>Cercopithecine herpesvirus 2</i> , complete genome
7	AM039952	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>vesicatoria</i> complete gen
8	EF362755	Human papillomavirus type 2 isolate C1, complete gen
9	CP000555	<i>Methylobium petroleiphilum</i> PM1, complete genome
10	AF419157	<i>Aeromonas hydrophila</i> isolate SSU enterotoxin (ast) ge
11	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
12	NC_007935	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i> mitochondrion, complete
13	DQ080079	Human papillomavirus type 68a, complete genome
14	U06714	Human papillomavirus type 1a (3-3), complete genome
15	BX248347	<i>Mycobacterium bovis</i> subsp. <i>bovis</i> AF2122/97 complet
16	NC_002067	Human adenovirus D, complete genome
17	AF125673	Human papillomavirus type 16 isolate 16W12E, comple
18	X70827	Human papillomavirus type 4 complete genome
19	BK001744	TPA_exp: Suid herpesvirus 1, complete genome
20	CP000133	<i>Rhizobium etli</i> CFN 42, complete genome

膿瘍

候補順位	Accession No.	検出病原体候補
1	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) complete genome; segm
2	M85198	<i>Vibrio cholerae</i> NAG-ST (stn) gene, complete cds
3	CP000259	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS9429, complete genome
4	M17357	<i>S.aureus</i> eta gene encoding epidermolytic toxin A, com
5	AF419157	<i>Aeromonas hydrophila</i> isolate SSU enterotoxin (ast) ge
6	AJ400628	Human papillomavirus type 87 (candidate) complete ge
7	CP000359	<i>Deinococcus geothermalis</i> DSM 11300, complete genor
8	NC_007323	<i>Bacillus anthracis</i> str. 'Ames Ancestor' plasmid pXO2, cc
9	Y16009	<i>Clostridium perfringens</i> cpe gene
10	AP007255	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1 DNA, complete j
11	AB292661	Influenza A virus [A/duck/Hong Kong/228/1976(H3N6)],
12	M18970	<i>S.aureus</i> enterotoxin A (entA) gene, complete cds
13	X61560	<i>S.pyogenes</i> strain MGAS156 speA gene (allele 1) for typ
14	AY302556	Human echovirus 33 strain Toluca-3 complete genome
15	CP000555	<i>Methylobium petroleiphilum</i> PM1, complete genome
16	DQ473489	Human rhinovirus 70, complete genome
17	CY005548	Influenza A virus [A/duck/Hong Kong/278/1978(H2N9)]
18	AY875692	Human coxsackievirus B5 isolate 2000/CSF/KOR, compl
19	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
20	AB289343	Influenza A virus [A/turkey/Ontario/6118/1968(H8N4)]

鋸屑肝

候補順位	Accession No.	検出病原体候補
1	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) complete genome; segm
2	NC_006560	<i>Cercopithecine herpesvirus 2</i> , complete genome
3	AF419157	<i>Aeromonas hydrophila</i> isolate SSU enterotoxin (ast) ge
4	NC_002512	<i>Murid herpesvirus 2</i> , complete genome
5	CP000577	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17029 chromosome 1,
6	AF125673	Human papillomavirus type 16 isolate 16W12E, comple
7	AF436130	Human papillomavirus type 74 subtype AE10, complete
8	CP000259	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS9429, complete genome
9	BX640439	<i>Bordetella bronchiseptica</i> strain RB50, complete genor
10	NC_003888	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2), complete genome
11	CT573213	<i>Frankia alni</i> str. ACN14A chromosome, complete seque
12	NC_001458	Human papillomavirus type 63, complete genome
13	AF104263	Hepatitis D virus strain TW2667, complete genome
14	CY014993	Influenza A virus [A/fowl/Dobson/1927(H7N7)] segmen
15	AE004969	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> FA 1090, complete genome
16	X78230	<i>C.botulinum</i> type B (NCTC 7273) nontoxic-nonhemaggl
17	Y16009	<i>Clostridium perfringens</i> cpe gene
18	BX640417	<i>Bordetella pertussis</i> strain Tohama I, complete genome
19	BK001744	TPA_exp: Suid herpesvirus 1, complete genome
20	AB099607	Influenza C virus [C/Yamagata/6/2000] NS gene for non

蛍光強度

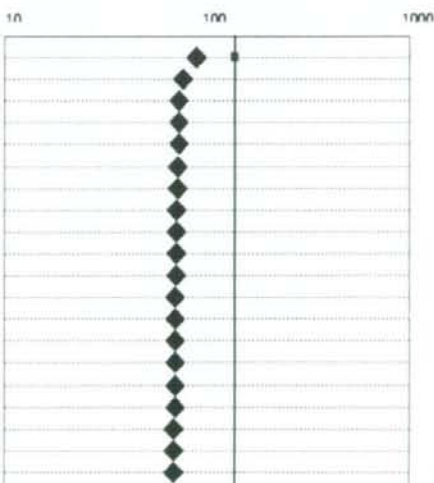
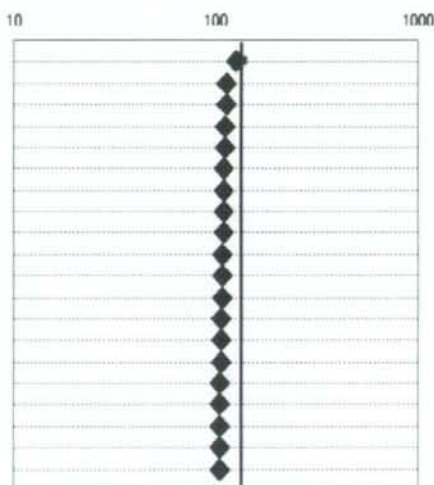
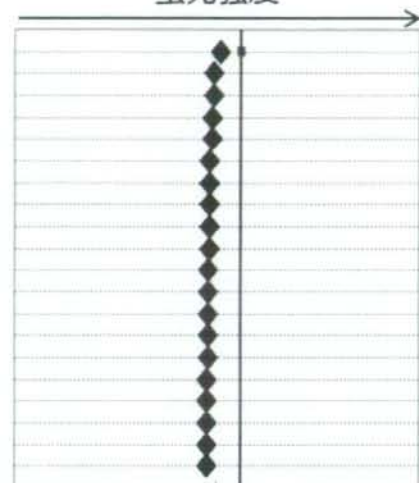
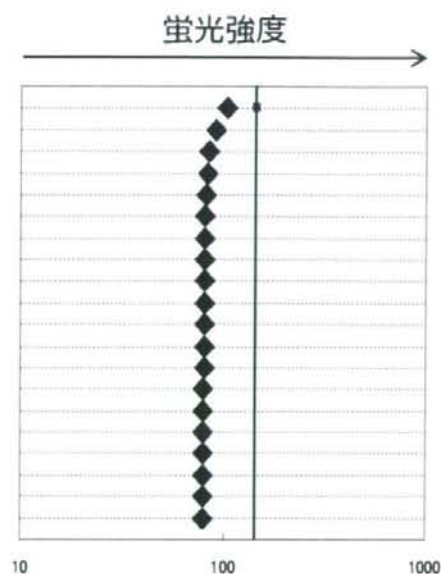


Fig. 3 続き

牛 廃棄肝臓

正常

候補順位	Accession No.	検出病原体候補
1	NC_003888	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2), complete genome
2	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) complete genome; segm
3	AF419157	<i>Aeromonas hydrophila</i> isolate SSU enterotoxin (ast) ge
4	NC_009127	Cyprinid herpesvirus 3, complete genome
5	CP000431	<i>Rhodococcus</i> sp. RHA1, complete genome
6	X74483	Human papillomavirus type 56 genomic DNA
7	CP000661	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17025, complete genor
8	NC_006077	<i>Kluyveromyces lactis</i> mitochondrion, complete genome
9	CU234118	<i>Bradyrhizobium</i> sp. ORS278, complete sequence
10	AJ400628	Human papillomavirus type 87 (candidate) complete ge
11	AE017220	<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica serovar Choleraes
12	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
13	BK001744	TPA_exp: Suid herpesvirus 1, complete genome
14	D00435	Swine vesicular disease virus (STRAIN H/3 '76) genomic
15	EF208930	Hantavirus CjAp93 segment M, complete sequence
16	CP000479	<i>Mycobacterium avium</i> 104, complete genome
17	BX248347	<i>Mycobacterium bovis</i> subsp. bovis AF2122/97 complet
18	A10937	Human rhinovirus 89 (HRV89), complete genome
19	AF241359	Enterovirus CA55-1988, complete genome
20	AF436128	Human papillomavirus - cand89, complete genome



牛 廃棄胃

胃炎

候補順位	Accession No.	検出病原体候補
1	D42143	<i>Staphylococcus aureus</i> hlg2 gene for gamma-hemolysin
2	X53180	<i>Clostridium butyricum</i> gene for botulinum type E toxin,
3	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
4	M35514	<i>S.pyogenes</i> streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
5	AY302543	Human echovirus 17 strain CHHE-29 complete genome
6	NC_001545	Rubella virus, complete genome
7	AY726732	Chikungunya virus strain 37997, complete genome
8	AJ224480	<i>Clostridium botulinum</i> gene encoding C2 toxin (compon
9	CP000261	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS2096, complete genome
10	AE014613	<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica serovar Typhi Ty2, c
11	X74474	Human papillomavirus type 30 genomic DNA
12	X03929	<i>Streptococcus pyogenes</i> speA gene for exotoxin type A
13	AB289344	Influenza A virus (A/turkey/Ontario/6118/1968(H8N4))
14	AY826423	Sapovirus swine/OH-JJ259/00/US polyprotein gene, par
15	CP000661	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17025, complete genor
16	CP000577	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17029 chromosome 1, c
17	U10527	<i>Bordetella pertussis</i> BP338 DNA dermonecrotic toxin (d
18	AY302552	Human echovirus 29 strain JV-10 complete genome
19	AE014075	<i>Escherichia coli</i> CFT073, complete genome
20	CP000038	<i>Shigella sonnei</i> Ss046, complete genome

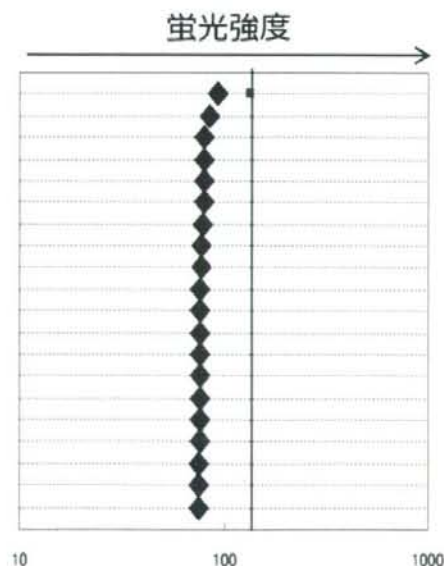
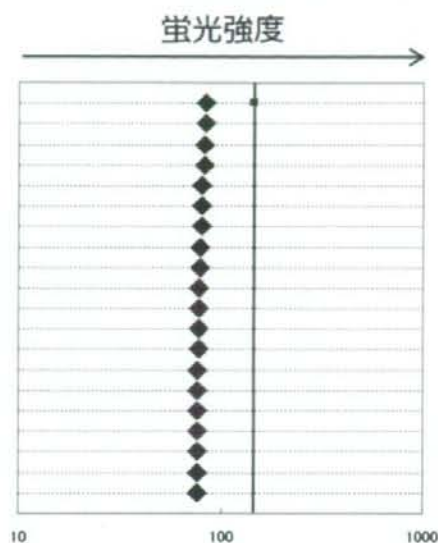


Fig. 3 続き

牛 廃棄腸間膜

腫瘍

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	CP000661	Rhodobacter sphaeroides ATCC 17025, complete genor
2	NC_001545	Rubella virus, complete genome
3	NC_006560	Cercopithecine herpesvirus 2, complete genome
4	M80837	Clostridium perfringens type B (strain NCTC 8533) epsil
5	CT573326	Pseudomonas entomophila str. L48 chromosome, comp
6	AB211993	Human papillomavirus type 27b DNA, complete genom
7	AY826423	Sapovirus swine/OH-JJ259/00/US polyprotein gene, pai
8	AE017220	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraes
9	AY302549	Human echovirus 25 strain JV-4 complete genome
10	AP006628	Human adenovirus D, complete genome
11	NC_002067	Clostridium perfringens enterotoxin gene, complete cd
12	M98037	Bovine herpesvirus 5, complete genome
13	NC_005261	Human papillomavirus type 35 complete genome
14	M74117	Bradyrhizobium sp. ORS278, complete sequence
15	CU234118	Influenza A virus (A/black-headed gull/Sweden/5/99)(H
16	AY684891	Cercopithecine herpesvirus 1, complete genome
17	NC_004812	Human echovirus 33 strain Toluca-3 complete genome
18	AY302556	Symbiobacterium thermophilum IAM 14863 DNA, com
19	AP006840	TPA_exp: Suid herpesvirus 1, complete genome



牛 廃棄腎臓

正常

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	M80837	Clostridium perfringens type B (strain NCTC 8533) epsil
2	NC_006077	Kluyveromyces lactis mitochondrion, complete genome
3	AE017221	Thermus thermophilus HB27, complete genome
4	AE017220	Salmonella enterica subsp. enterica serovar Choleraes
5	AE004092	Streptococcus pyogenes M1 GAS, complete genome
6	EF173420	Human rhinovirus 17, complete genome
7	X61560	S.pyogenes strain MGAS156 speA gene (allele 1) for typ
8	CP000661	Rhodobacter sphaeroides ATCC 17025, complete genor
9	DQ473503	Human rhinovirus 7, complete genome
10	X53180	Clostridium butyricum gene for botulinum type E toxin,
11	AF116198	Influenza A virus (A/Chicken/NY/29878/91 (H2N2)) seg
12	AY395706	Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compli
13	NC_001576	Human papillomavirus type 10, complete genome
14	AE005174	Escherichia coli O157:H7 EDL933, complete genome
15	M35514	S.pyogenes streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
16	BX248339	Mycobacterium bovis subsp. bovis AF2122/97 complet
17	L13198	Clotridium perfringens type B beta-toxin gene, comple
18	CY014993	Influenza A virus (A/fowl/Dobson/1927(H7N7)) segmen
19	AB297667	Puumala virus strain: DTK/Ufa-97 genomic RNA, Large s
20	NC_004003	Goatpox virus Pellor, complete genome

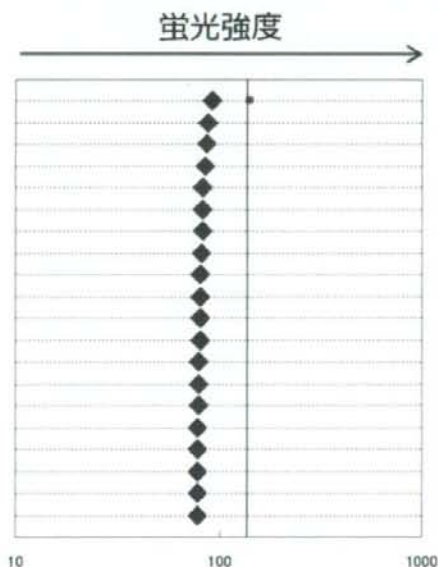
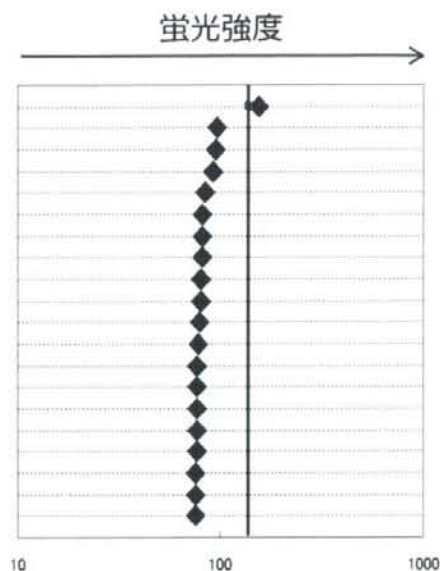


Fig. 3 続き

牛 廃棄脾臓

脾炎

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3[2] complete genome; segm
2	CP000661	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17025, complete genom
3	NC_006560	Cercopithecine herpesvirus 2, complete genome
4	AY395706	Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, compl
5	AE017220	<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica serovar Choleraes
6	D00435	Swine vesicular disease virus (STRAIN H/3 '76) genom
7	X74483	Human papillomavirus type 56 genomic DNA
8	CP000577	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17029 chromosome 1,
9	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
10	CP000479	<i>Mycobacterium avium</i> 104, complete genome
11	AF104263	Hepatitis D virus strain TW2667, complete genome
12	AY262282	Human papillomavirus type 18 complete sequence
13	AB037949	Hepatitis D virus genomic RNA, complete genome, isol
14	AJ400628	Human papillomavirus type 87 (candidate) complete ge
15	U31780	Human papillomavirus type 22, complete genome
16	NC_006077	<i>Kluyveromyces lactis</i> mitochondrion, complete genome
17	Y16009	<i>Clostridium perfringens</i> cpe gene
18	X03929	<i>Streptococcus pyogenes</i> speA gene for exotoxin type /
19	AY633190	Influenza A virus (A/mallard/Alberta/203/92(H6N5)) ne
20	NC_001408	Avian leukosis virus - RSA, complete genome



牛 廃棄心臓

心外膜炎炎症痕

候補順位	Acession No.	検出病原体候補
1	Y16009	<i>Clostridium perfringens</i> cpe gene
2	NC_004317	<i>Plasmodium falciparum</i> 3D7 chromosome 14, complet
3	AF419157	<i>Aeromonas hydrophila</i> isolate 55U enterotoxin (ast) ge
4	AF436130	Human papillomavirus type 74 subtype AE10, complet
5	AP007255	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1 DNA, complete
6	DQ186797	Bluetongue virus 9 isolate BUL1999/01 inner core struc
7	AB107799	Ibaraki virus gene for core protein VP3, partial cds, stra
8	X61560	<i>S. pyogenes</i> strain MGA5156 speA gene (allele 1) for tyt
9	CU234118	<i>Bradyrhizobium</i> sp. ORS278, complete sequence
10	NC_001479	Encephalomyocarditis virus, complete genome
11	AE017220	<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica serovar Choleraes
12	X77858	Human papilloma virus type 59, complete viral genom
13	DQ366347	Norovirus Hu/OsakaNI/2004/JP ORF1 and ORF2 mRNA
14	AY684891	Influenza A virus (A/black-headed gull/Sweden/5/99)(H
15	CP000086	<i>Burkholderia thailandensis</i> E264 chromosome I, compl
16	AB099607	Influenza C virus (C/Yamagata/6/2000) NS gene for nor
17	BX640415	<i>Bordetella pertussis</i> strain Tohama I, complete genom
18	AY262282	Human papillomavirus type 18 complete sequence
19	L43548	<i>Clostridium perfringens</i> alpha-toxin (phospholipase C)

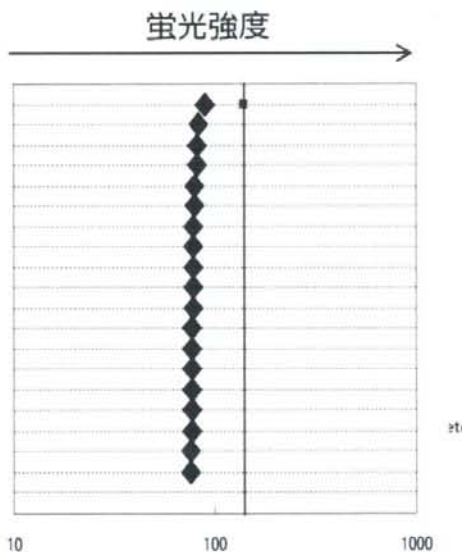
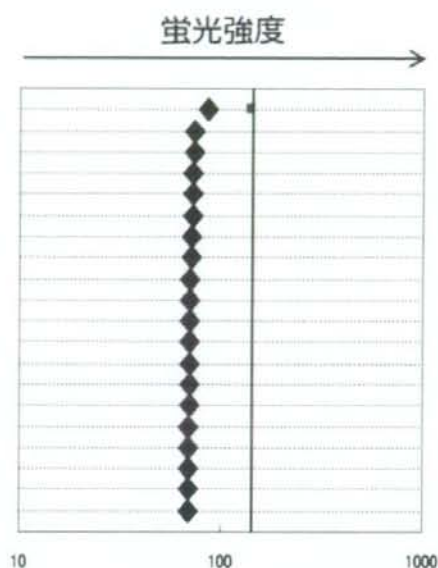


Fig. 3 続き

牛 廃棄肺

胸膜炎

候補順位	Accession No.	検出病原体候補
1	M98037	<i>Clostridium perfringens</i> enterotoxin gene, complete cd
2	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) complete genome; segm
3	AJ224480	<i>Clostridium botulinum</i> gene encoding C2 toxin (compor
4	U31788	Human papillomavirus type 44, complete genome
5	CP000259	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS9429, complete genome
6	CP000431	<i>Rhodococcus</i> sp. RHA1, complete genome
7	D45904	<i>Clostridium perfringens</i> DNA for lambda toxin (metalloy
8	AY395706	Human papillomavirus type 62 isolate Qv18091, comple
9	AM039952	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. vesicatoria complete gene
10	CY005359	influenza A virus (A/laughing gull/DE/94/2000(H12N4))
11	AB080575	Hepatitis E virus genomic RNA, complete genome, isola
12	AP007255	<i>Magnetospirillum magneticum</i> AMB-1 DNA, complete g
13	AB027021	Human papillomavirus type 82 DNA, complete genome
14	AY302559	Human echovirus 7 strain Wallace complete genome
15	AE017220	<i>Salmonella enterica</i> subsp. enterica serovar Choleraesu
16	CP000261	<i>Streptococcus pyogenes</i> MGAS2096, complete genome
17	CP000552	<i>Prochlorococcus marinus</i> str. MIT 9515, complete geno
18	CP000576	<i>Prochlorococcus marinus</i> str. MIT 9301, complete geno
19	CP000479	<i>Mycobacterium avium</i> 104, complete genome
20	J02615	<i>S.aureus</i> toxic shock syndrome toxin-1 gene, complete



正常

候補順位	Accession No.	検出病原体候補
1	CP000661	<i>Rhodobacter sphaeroides</i> ATCC 17025, complete genor
2	AL939114	<i>Streptomyces coelicolor</i> A3(2) complete genome; segm
3	AF436128	Human papillomavirus - cand89, complete genome
4	AE017221	<i>Thermus thermophilus</i> HB27, complete genome
5	AY684891	influenza A virus (A/black-headed gull/Sweden/5/99(H
6	NC_007323	<i>Bacillus anthracis</i> str. 'Ames Ancestor' plasmid pXO2, c
7	CP000555	<i>Methylibium petroleiphilum</i> PM1, complete genome
8	CP000038	<i>Shigella sonnei</i> Ss046, complete genome
9	BX248347	<i>Mycobacterium bovis</i> subsp. <i>bovis</i> AF2122/97 complet
10	AE014073	<i>Shigella flexneri</i> 2a str. 2457T, complete genome
11	BX640415	<i>Bordetella pertussis</i> strain Tohama I, complete genome
12	L16014	<i>Salmonella typhimurium</i> enterotoxin (stn) gene, compl
13	DQ080081	Human papillomavirus type 101, complete genome
14	M35514	<i>S.pyogenes</i> streptococcal pyrogenic exotoxin type C (sp
15	AJ620209	Human papillomavirus type 81 complete genome
16	CP000378	<i>Burkholderia cenocepacia</i> AU 1054 chromosome 1, con
17	L25372	<i>Staphylococcus aureus</i> exfoliative toxin A (eta), comple
18	M29171	<i>L.monocytogenes</i> 5H-activated hemolysin pseudogene,
19	NC_001576	Human papillomavirus type 10, complete genome
20	DQ211612	Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strain AP92 se;

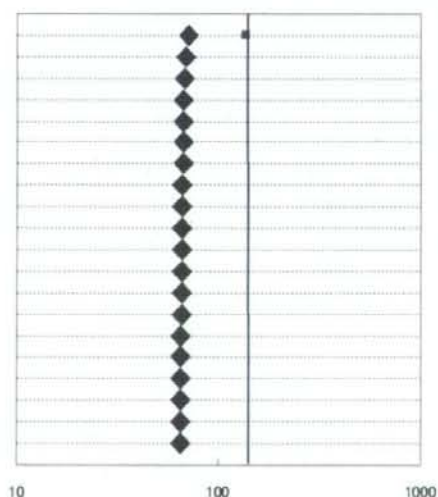


Fig. 3 続き

簡便な A 群ロタウイルス全遺伝子解析法の確立とその応用

研究分担者	杉山 誠	岐阜大学応用生物科学部	教授
研究協力者	石上暁代	岐阜大学農学部・応用生物科学部	6年生
	安部昌子	岐阜大学大学院連合獣医学研究科	3年生
	伊藤直人	岐阜大学応用生物科学部	准教授

研究要旨：人を含め動物に広く胃腸炎を起こす A 群ロタウイルスの多様性を把握するため、最近、11本のゲノム分節遺伝子各 Open Reading Frame 全長を解析対象とした遺伝子型決定法（RCWG 法）が確立されている。本研究では RCWG 法をもとに、各遺伝子分節の部分的遺伝子配列解析による簡便な全遺伝子解析法の開発を行った。さらに本法を応用して、同時期、同地区で肉用牛から分離された未知のロタウイルス 2 株の全遺伝子を解析した。その結果、VP7 遺伝子分節を除く 10 分節は同じ遺伝子型であることが明らかとなった。このことから、両株は起源が同じであり、どちらかの株で VP7 遺伝子分節にリアソートメントが起きたと推測された。さらに、1 株については NSP5/6 遺伝子にリアレンジメントが起きていることも確認された。

A. 研究目的

A 群ロタウイルスは、人を含め哺乳類および鳥類に感染し急性胃腸炎を起こす。これまで、ロタウイルスのゲノムを構成する 11 本の dsRNA 分節のうち VP7 および VP4 遺伝子（それぞれ G および P 遺伝子型を規定）とこれらのゲノム RNA 電気泳動（EP）パターンが分子生物学的解析に主に用いられてきた。一方、ロタウイルスは点変異の蓄積、リアレンジメント（遺伝子分節における配列の部分的な重複）、リアソートメント（分節の交換）といった複雑な機序で遺伝的多様性を獲得する。最近、ロタウイルスの多様性を把握するため、11 本の遺伝子各 Open Reading Frame (ORF) 全長を解析対象とした国際的基準・遺伝子型決定法（RCWG 法）が確立されている。しかし、ゲノム全長約

18kbp のウイルス遺伝子を解析するには多くの手間と時間を要する。そこで、本研究では RCWG 法をもとに、簡便な全遺伝子解析法の開発を試みた。さらに本法を応用して、未知のウシ由来ロタウイルス 2 株の全遺伝子を解析し、両株の遺伝的多様性について考察した。

B. 研究方法

各 ORF の全長ではなく、部分的領域を用いた解析法（簡便法）を確立するために、Genbank にあるロタウイルスの遺伝情報をもとに、各種ロタウイルスの 9 分節（VP1~4、6、7 および NSP1~3 遺伝子）の ORF から、RCWG 法とその解析結果が一致し、かつ一度の PCR 法で増幅可能な領域を選定した。残りの 2 遺伝子分節（NSP4 および NSP5/6）については、それ

それぞれの全長が短いことから、RCWG 法に従い全 ORF を解析対象とした。これらの領域を用いた簡便法と RCWG 法による相同性および系統学的解析結果を比較し、簡便法による解析の精度を検証した。選定した解析領域が増幅できるようにプライマーを設計し、ウシ由来ロタウイルス 3 株 NCDV 株、GB12-22 株および KY2565 株を用いて動作確認を行った。そのうちの 2 株、2007 年岐阜県郡上市においてウシより分離され遺伝子性状が未知の GB12-22 株および KY2565 株について EP パターンを調べ、簡便法により全遺伝子分節を解析し、遺伝子型を推定した。

C. 研究結果

全 11 ゲノム分節について部分的 ORF に基づく解析においても遺伝子型の判別を可能とするために、全遺伝子型を網羅する ORF 全長塩基配列データから、比較的遺伝的多様性の高い領域を検索し、解析領域を選別した (図 1)。RCWG 法により各分節遺伝子で設定された遺伝子型の基準をもとに、RCWG 法で用いる ORF 全長および図 1 で示した部分的 ORF 領域について比較解析した。両遺伝子配列を用いて相同性および系統樹解析を行ったところ、遺伝子型別において RCWG 法と今回の部分的解析での結果がほぼ一致した。

図 1 で設定した部分的領域を解析するため、各分節遺伝子に対応するプライマーを設計した (表 1)。ウシ由来ロタウイルス 3 株の VP1-4、VP6、VP7、NSP1-4 を増幅したところ、それぞれ予想されるバンドの位置にシグナルが確認された (図 2a-i、VP4 遺伝子についてはデー

タを示していない)。また、3 株の NSP5/6 遺伝子に関しては、分節全長 (666bp) を増幅したところ、KY2565 株および NCDV 株については約 600bp の位置に、GB12-22 株ではそれらの株より大きい約 900bp の位置にシグナルが確認された (図 2j)。

動作確認を行った 3 株のうち、GB12-22 株および KY2565 株について EP パターンを調べた。その結果、G 株がスーパーショート、K 株がロングパターンと異なる EP パターンであった (図 3)。

両株を簡便法により解析したところ VP7 分節を除く 10 分節は同じ遺伝子型であり (図 4)、系統学的解析においても近い遺伝学的関係を示した (図 5、例 VP1)。一方、両株の VP7 遺伝子は、GB12-22 株は G8、KY2565 株は G10 遺伝子型と異なるタイプであった。また、VP7 遺伝子の系統学的解析においても、両株は違う系統枝に属していた (図 6)。

PCR 法で増幅した遺伝子のバンドサイズが異なった両株の NSP5/6 遺伝子について、両株の全長 ORF 遺伝子配列を比較した。その結果、サイズが大きかった GB12-22 株では、後半部位の配列に重複が認められた (図 7)。

D. 考察

これまで蓄積されている A 群ロタウイルス遺伝子の情報を基に検討を行ったところ、国際基準の RCWG 法に従って各分節ゲノム遺伝子の全 ORF 塩基配列を決定することなく、部分領域の解析で同様に遺伝子型別を推測できることが明らかとなった。そこで、ロタウイルスのゲノム遺伝子情報から各分節について全ての遺伝子型を PCR 法で増幅しうるプライマーを設計し、ウシ由来ロタウイルス 3 株において

動作について検討を行った。いずれの株でも各分節遺伝子を増幅を確認し、これらのプライマーはロタウイルスの遺伝子解析に応用可能であると考えられた。

同時期、同地区で分離され、EP パターンが異なる GB12-22 株および KY2565 株を用いて、今回の研究で開発されたロタウイルス全遺伝子解析簡易法の応用性に関する検討を行った。全ての 11 分節遺伝子について解析した結果、10 分節の遺伝子型が同じであったことから、両株は同じ起源であると考えられた。一方、両株の VP7 遺伝子は異なるタイプであったことから、両株のいずれかのウイルスが進化の過程で VP7 遺伝子のリアソートメントを起こしたと推測することができた。GB12-22 株の NSP5/6 遺伝子には、重複配列が確認され、リアレンジメントが起きたことが明らかとなった。この両株の NSP5/6 遺伝子の長さの違いが両株の EP パターンの違いの理由であると考えられた。

本研究で開発した簡便法によりロタウイルスの遺伝的多様性を明らかにすることができた。また、起源が同じと考えられる両株にもかかわらず EP パターンと G 遺伝子型が異なることから、従来の解析法では、両株の遺伝性状は異なると判断される可能性が高い。したがって、ロタウイルスの正確な遺伝性状の把握には、全遺伝子を対象とした解析が重要であることが再確認された。

E. 結論

人に胃腸炎を起こす A 群ロタウイルスのウシにおける感染実態を詳細に検討するために、全ゲノム遺伝子の型別を可能にする簡便法を開発した。遺伝情報が未知であった 2 株のウシ由来ロタウイルスについて、同法で解析を行ったところ、両株は起源が同じと考えられるもの

の、いずれかの株でリアソートメントが起きており、リアレンジメントも確認された。従来法では、両株は異なる遺伝性状と判断される可能性が高く、本研究により全ゲノム遺伝子解析の重要性が再確認された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Susetya, H., Sugiyama, M., Inagaki, A., Ito, N., Mudiarto, G. & Minamoto, N.: Molecular epidemiology of rabies virus in Indonesia. *Virus. Res.* 135, 144-149, 2008.
- 2) Mita, T., Shimizu, K., Ito, N., Yamada, K., Ito, Y., Sugiyama, M. & Minamoto, N.: Amino acid at position 95 of the matrix protein is a cytopathic determinant of rabies virus. *Virus. Res.* 137, 33-39, 2008.

2. 学会発表

- 1) 石上暁代、安部昌子、伊藤直人、高須正規、村瀬哲磨、岡田伸隆、杉山 誠: A 群ロタウイルスの遺伝的多様性とその獲得メカニズム. 第 146 回日本獣医学会学術集会 (2008 年 9 月、宮崎)
- 2) 安部昌子、伊藤直人、高須正規、村瀬哲磨、杉山 誠: 岐阜県内の牛における A 群ロタウイルスの動態調査・新型ロタウイルスの検出. 第 146 回日本獣医学会学術集会 (2008 年 9 月、宮崎)
- 3) 安部昌子、伊藤直人、高須正規、杉山 誠: 牛の正常便からの A 群ロタウイルスの検出とその分布. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会 (2008 年 10 月、岡山)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

表 1 本研究に用いたプライマー

分節	プライマー名	方向 ^{※1}	配列(5'→3')	位置 ^{※2} (nt)
VP1	VP1_333F	F	tgagttagattatgaaaataa	333-353
	VP1_950_R	R	aaccagtctgtatcat	950-934
VP2	GEN_VP2Fc	F	ggctattaaaggYtcaatggcgtacag ^{※3}	1-27
	VP2_588R	R	ttattttcaactgcatatc	588-569
VP3	VP3_1850F	F	ataggactaatgtagagaa	1850-1869
	GEN_VP3Rc	R	ggcacatcatgactagtgtg	2591-2571
VP4	VP4-HeadF	F	ggctataaaatggcttcgctcattta	1-26
	VP4-887R	R	tcWgaccatttataWccYaRcccWcc ^{※3}	887-862
NSP1	NSP1_1105F	F	caaatggaaatgttggacattg	1105-1126
	bov_5r1	R	ggatccgggtcacattttatgc	1585-1565
VP6	VP6_696F	F	cttctaccagatgcagaaa	696-714
	GEN_VP6R	R	ggcacatcctctcact	1356-1340
NSP3	NSP3_408F	F	gagttccaggtaaatcatcatc	408-429
	NSP3_endR	R	ggcacataacgccccta	1074-1057
NSP2	NSP2_270F	F	caatgtttaataaaagtggc	270-288
	GEN_NSP2R	R	ggcacataagcgctttc	1059-1042
VP7	VP7_headF	F	ggctttaaaagagagaatttcc	1-22
	VP7_611R	R	cccattgatatccatttattg	611-590
NSP4	GEN_NSP4F	F	ggcttttaaaagtctgttcc	1-21
	GEN_NSP4R	R	ggWYacRYtaagaccRttcc ^{※3}	751-732
NSP5	GEN_NSP5F	F	ggcttttaaaagcgtacag	1-18
	GEN_NSP5R	R	ggcacaaaacgggagt	666-650

※1 F: フォワードプライマー R: リバースプライマー

※2 WC3 株に基づく塩基配列番号

※3 Y: c/t, W: a/t, R: a/g

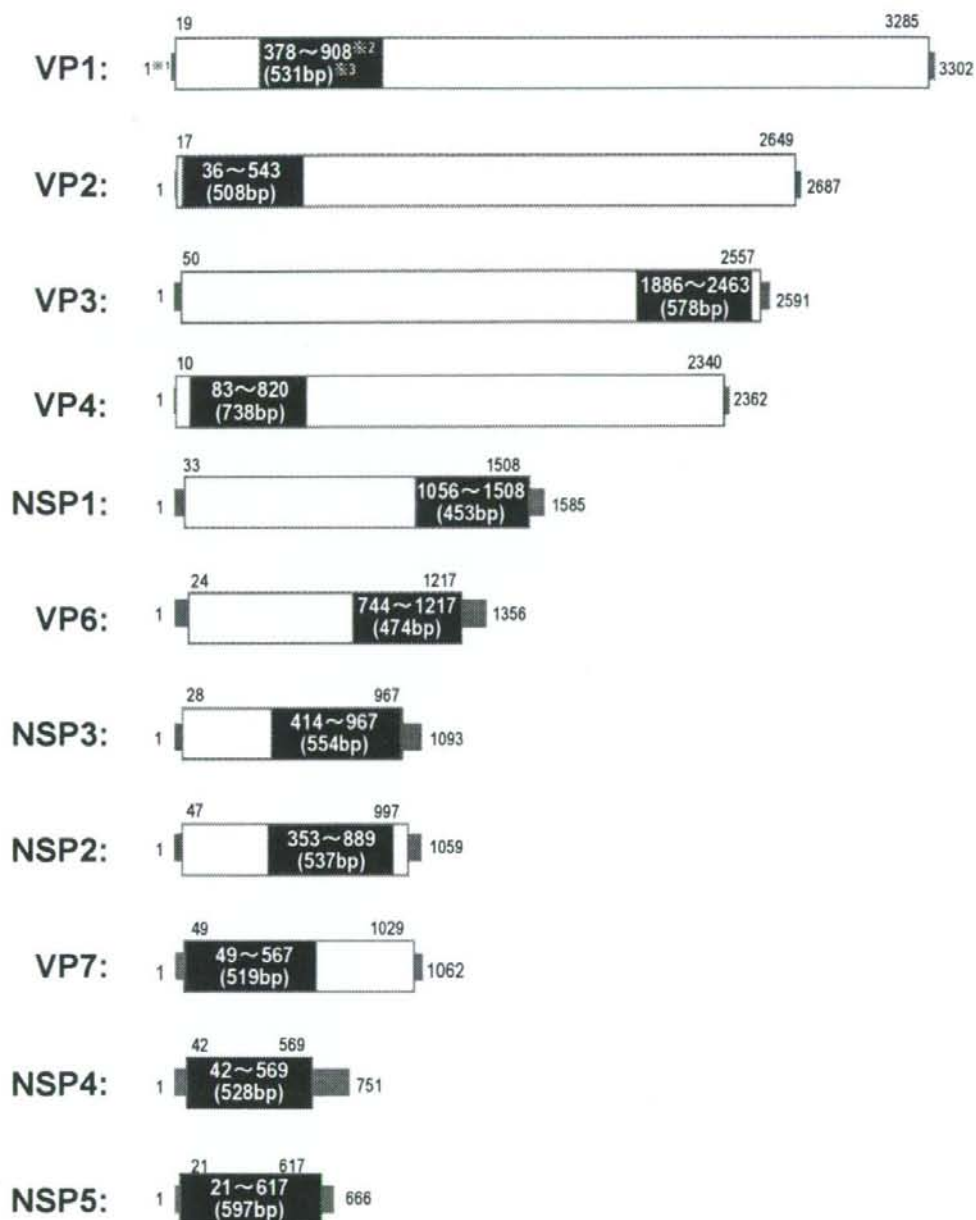


図1 本研究における各遺伝子分節の解析部位

■ : 解析部位、 □ : ORF ■ : 非コード領域

※1: WC3株に基づいた塩基配列番号

※2: 解析部位の塩基配列番号

※3: 解析部位の大きさ

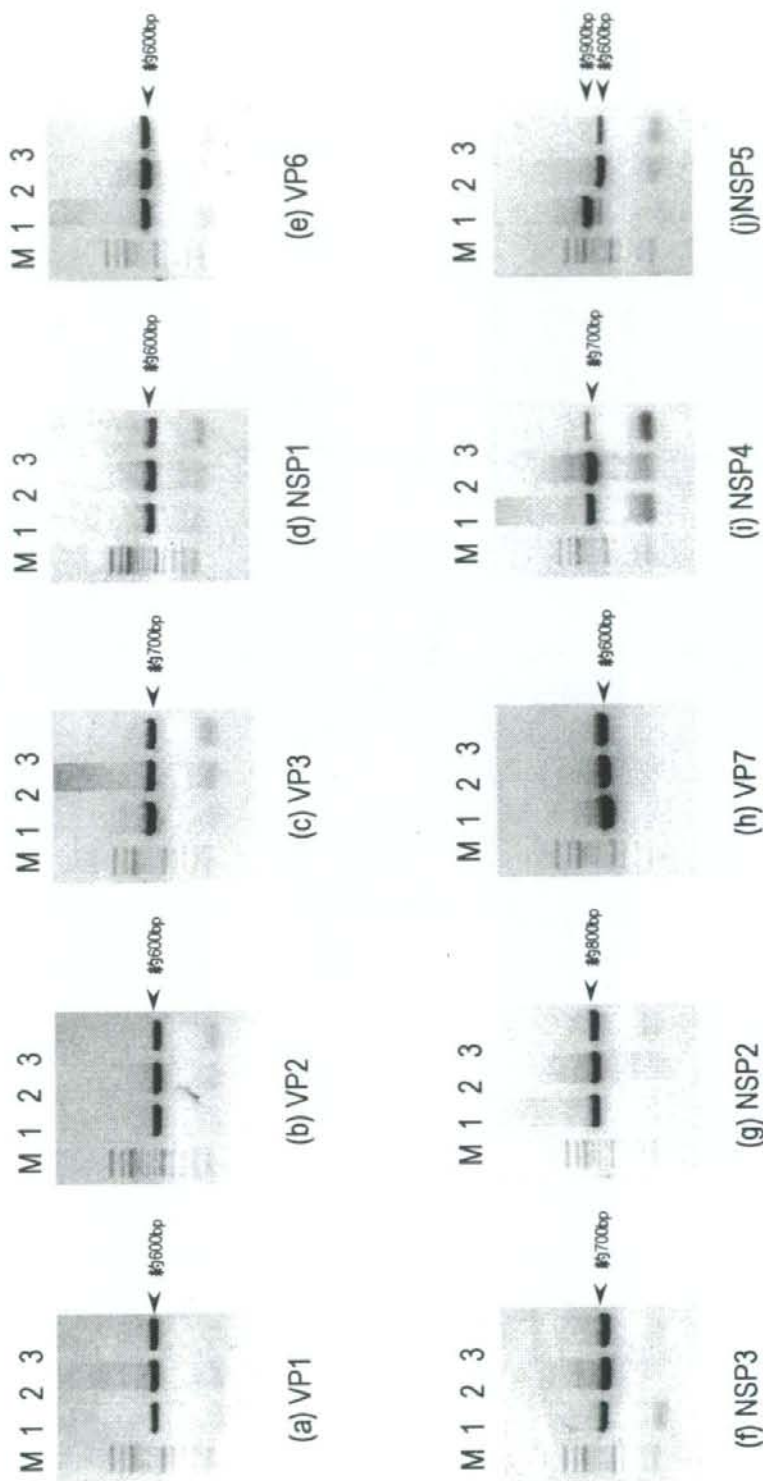


図2 設計プライマーおよび引用プライマーを用いたロタウイルスRT-PCR産物の電気泳動像

M: 100bpマーカー 1: GB12-22株 2: KY2565株 3: NCDV株