

## Langmuir吸着等温式の2溶質への拡張

### 2溶質の場合 (式展開)

Bの濃度が、Aの濃度に比例する部分と、一定の濃度に分解できると仮定する。

$$n_A = N \frac{C_A}{K + \frac{\alpha}{\beta} C_A + C_A}$$

仮定:  $C_B = p + q \cdot C_A$

$$n_A = N \frac{C_A}{K + \frac{\alpha}{\beta} (p + q \cdot C_A) + C_A}$$

$$n_A = N \frac{C_A}{\left(\frac{\alpha}{K} + \frac{\alpha}{\beta}\right) + \left(\frac{\alpha}{\beta} q + 1\right) C_A}$$

$$n_A = N \frac{1}{\left(\frac{\alpha}{K} + \frac{\alpha}{\beta}\right) + \left(\frac{\alpha}{\beta} q + 1\right) C_A}$$

$$n_A = N \frac{1}{\left(\frac{\alpha}{K} + \frac{\alpha}{\beta}\right) + \left(\frac{\alpha}{\beta} q + 1\right) C_A}$$

$$n_A = N \frac{1}{\left(\frac{\alpha}{K} + \frac{\alpha}{\beta}\right) + \left(\frac{\alpha}{\beta} q + 1\right) C_A}$$

### 1溶質の場合

$$n = N \frac{k \cdot C}{1 + k \cdot C}$$

$$N_A = \left( \frac{1}{\frac{\alpha}{\beta} \cdot q + 1} \right) N$$

$$k_A = \frac{\frac{\alpha}{\beta} \cdot q + 1}{\frac{\alpha}{K} + \frac{\alpha}{\beta} \cdot p}$$

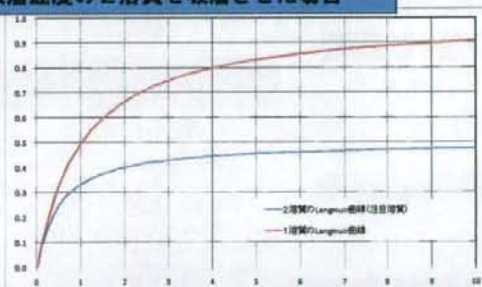
濃度が定数倍、結果の蛍光強度 (Imax) が定数倍となったLangmuirの方程式と一致する

Imaxが見掛け落ちること、つまり、ProbeSetごとに異なって観測されることの原因ではないだろうか？ また、特定条件下でのみ大きく誤差される遺伝子に関しては、既存のLBMやLatinSquareではカバーできておらず、補正式/パラメータ設定用の基本データの拡充が必要と考えられる

## 導出された式の検討:

### 対象溶質と対象外溶質が比例して推移する場合

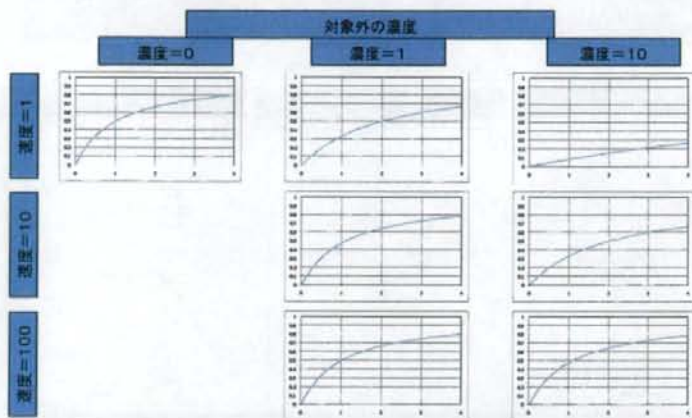
#### 同じ吸着速度の2溶質を吸着させた場合



2倍の濃度をもつものとして振舞い、その半分が対象溶質の吸着量となる

対象外物質として、100倍の濃度かつ100倍の離脱速度を持つ溶質を対象物質に比例して投入しても、2倍の濃度を持つものとして振舞い、その半分が対象溶質の吸着量となる

## 導出された式の検討 対象溶質と対象外溶質の条件差による、飽和差異

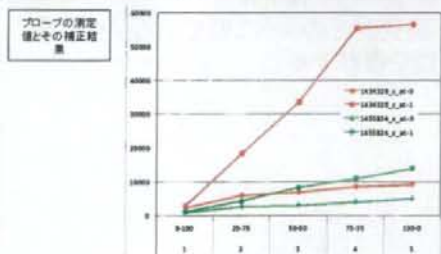


対象外の濃度条件変化に対する、形状変化がほとんどみられない  
対象外溶質が変化しないか対象溶質に比例する場合、またはその割合の場合には単一溶質のLangmuirとして取り扱えようである

## Probe配列の類似性によるチェック

- 1445824\_x\_atは、lmaxが2, 3000程度と低く推定されている。Probe配列の似ている他のProbeがどのような値を示しているか確認した。
- 1455824\_x\_atの25mer中13merが合致する1434329\_s\_atは、Liver側において数倍の値となっている。

1455824_x_at	GGACTAGCTCTGGTTCACAAATGT	Stt3a
1434329_s_at	GGGAGACTCTGGTTCACATAGCAC	Adlpor2



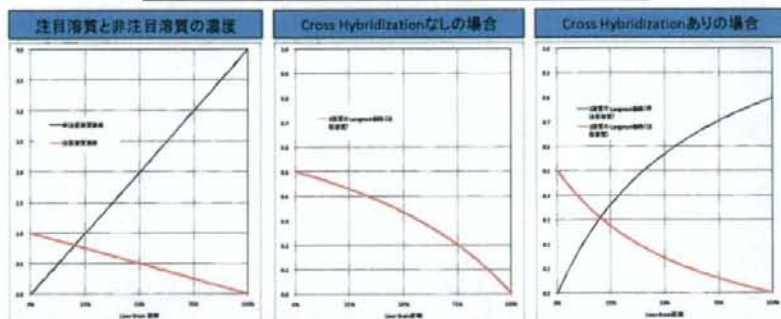
25merの結合と比べて、13merの結合の強度はどの程度なのか不明である。またProbe設計範囲以外の領域で結合しているRNAも存在しうる。

最大値が知られているプローブを基準として選び出し、似ている配列で、存在量が多いプローブが見つかった

## LBMで下に凸な状況

Cross-Hybridizationにより他のRNAがHybridizationの邪魔をしていると仮定すると、Brain側で発現量が大きくても、Liver側にCross-Hybridizationしやすい配列のRNAが多く発現している場合には、下に凸な形状を示す。

導出された式より得られる種のグラフを示す



他のRNAの影響がなければ、上に凸になるはずだが、Brain側だけで発現する遺伝子で、Liver側で極端に発現が大きいRNAと似ていた場合、下に凸になる。下に凸な形状を見つければ、相手の組織で発現量の多いRNAと似ているものが見つかると考えられる。

## 下に凸な状況 探索方針

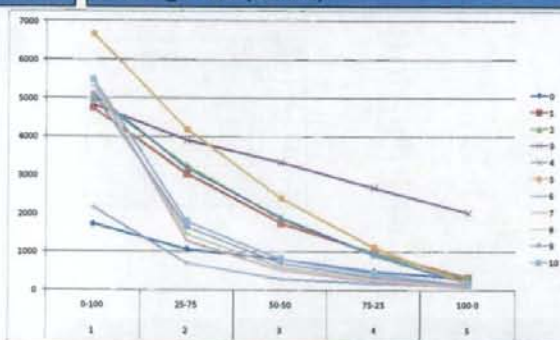
- Brain側で発現しており、下に凸な形状を示すプローブを見つける。
- 見つかったプローブと他のプローブで似ている配列を見つける
  - 連続何merか的一致で見つけ出す
  - プローブ同士を比較する。
- 似ている配列を示すプローブで、Liver側飽和となるものを探す
- 見つかった組み合わせで、配列がどのように似ているかを確認し、結合の強度に関して仮説を作成する

## 下に凸な状況 ① Ddn

下に凸な状況を示す遺伝子①

24528

1436268\_at : Ddn (Dendrin)



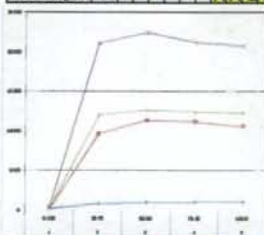
特に、Probe 7,8,9,10は、落ち込み方が激しく、検証用として適切と考えられる

## 下に凸な状況 ① Ddn

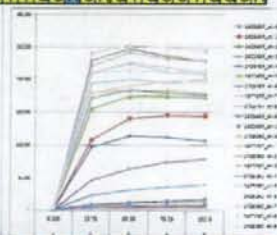
- 対象プローブと配列が似ており、Liver側で飽和していると考えられるプローブ

1423437_at	0	T	T	T	C	T	A	A	G	G	G	G	T	C	T	G	T	G	T	C	A	A	T	T	C	A			
1425260_at	7																												
1436268_at	7	G	T	A	T	A	A	G	G	G	T	C	T	T	G	C	A	C	A	G	T	T	C	C	T	G	G	A	T
1436268_at	8																												
1436268_at	9																												
1436268_at	10																												

Alb1



1423437\_at : Gsta3  
1425260\_at : Alb1



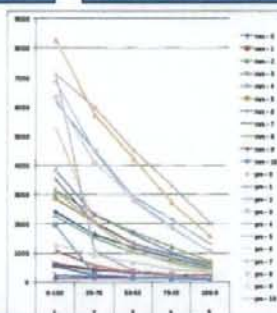
Liver側で大量に存在するRNAと似ていることが判明した



## 下に凸な状況 ② St3gal2

下に凸な状況を示す遺伝子②

6197 1421891\_at : Siat5 or St3gal2



No.	Probe	配列
0	1421891	AMGSRATGGGTCAGATGACGGT
1	2472	TGTACCGTLLTCTTCATLGTCCG
2	2488	ATTGTCCGCCGAMGAGGACAGG
3	2529	GTAGGATTTGCTTGGACATCATG
4	2544	GTGTCATGCTTATTTACCGTCAG
5	2578	ATGGGGAACGAGGAGATTTGGTTG
6	2741	GAAGGGGCGTCATGAAATTCAG
7	2773	GAGGATGATTCATGAGTTGGTCA
8	2792	TCATTTGTCCTGTTGAGTTTCACT
9	2879	ATGRTGACGCGTCCACATAAATAT
10	2905	BATTTACATTTACGAGGACGTTGG

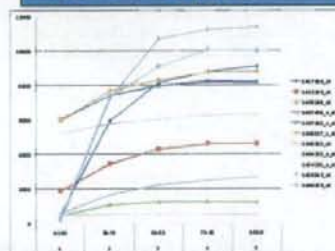
特に、Probe 10は、他のプローブよりも落ち込み方が激しく、重複領域がないため、Ddnと違ったパターンとして、検証用として適切と考える

## 下に凸な状況 ② St3gal2

配列9mer以上連続して一致し、Liver側で1万以上発現している  
プローブを有するプローブセット

Prb_ID	Gene Symbol	Liver発完全飽和
1460256_at	Car3	○
1455593_at	Apob	○
1454231_a_at	Rorip1	
1449255_a_at	Rpl15	
1448615_at	Ccs	
1448157_s_at	Rpl10	
1437689_x_at	Clu	
1437458_x_at	Clu	
1435188_at	LOC433627	
1423396_at	Ant	
1417610_at	Apoa5	○

PM全プローブの単純平均



Brain側に存在せず、Liver側完全飽和と考えられる3プローブセットが存在した

## 下に凸な状況 ② St3gal2

Liver側完全飽和と考えられる3プローブセットが、どのような配列なのか詳細をチェックした。

### ターゲット配列で検索

I417810.at	Apoa5	185	TGGGCTCTGTTAATTCCTCGCAGGCTTGCTGCT
I455593.at	ApoB	412	AAGAAAGCAAGACTTCAAGGCAAGGCTG
I460256.at	Car3	-12	TCTGAAGCAAGGCTGATGGC
対象プローブ			GAGTTGACATTAACAAGCAAGGCTGG

### プローブ配列で検索

I455593.at	ApoB	0 -12	TGTGAAGCAAGGCTGATGGC
I460256.at	Car3	10 -1	GAAAGCAAGGCTG
対象プローブ			GAGTTGACATTAACAAGCAAGGCTGG

プローブ端に存在する場合には、反発力が小さくなり、外れにくいと推測される。

今回、調査した下に凸な2プローブセット両方に、阻害を行ったと思われる遺伝子が存在した。競合Hybridizationの影響と思われる。

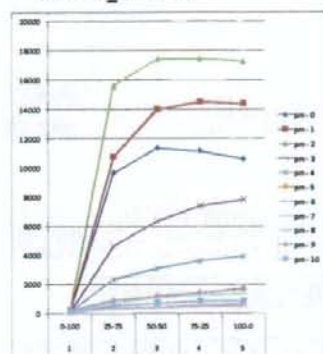
## 同一プローブセットのプローブ間の差異の説明

- 同一プローブセットのプローブ間で、発現量が異なって観測されることがしばしば存在する。
- 次の理由が挙げられてきた
  - プローブ配列ごとに結合力が異なる
  - RNA内で、プローブ相当の配列が存在しない
    - Splicing Variant
- 不完全な結合で、目標RNAの結合を阻害しているという仮説のもとでは、相対的に低い発現量を示すプローブでは、阻害するRNAが存在することが予想できる。

## 同一プローブセットのプローブ間差異

- 同一プローブセット内での差異が存在する例

- 1423437\_at : Gsta3



Probe 2 最大値

Probe 4 5番目

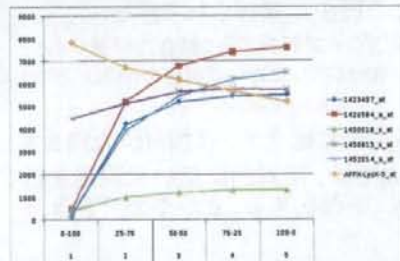
Probe10 下に固まった集団の典型例

3Probeを取り出して見て比較を行ってみる

## 同一プローブセットのプローブ間の差異の説明 1423437\_at : Gsta3 : Probe 2

対象プローブと9個以上連続で同じ配列をTarget配列上に持っており、Liver側で10000以上の発現値を有するプローブセット

Probe ID	Gene Symbol
AFFX-LysX-5_at	
1452014_at	Iof1
1450815_s_at	Chchd2 /// 2410018M08Rik
1450018_s_at	Slc25a30
1426584_s_at	Sdh1
1423437_at	Gsta3

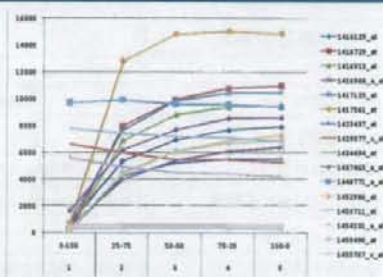


自分を(Gsta3)を含め、Liver側で飽和するプローブセットが4プローブセット存在した。また、これらの影響で、スパイク(LysX)の発現値が下がっている可能性がある。

## 同一プローブセットのプローブ間差異の説明 1423437\_at : Gsta3 : Probe 4

対象プローブと9個以上連続で同じ配列をTarget配列上に持っており、Liver側で10000以上の発現値を有するプローブセット

ProbeSet	Gene Symbol
1460175_at	Rps23
1455767_x_at	Rpl21
1455490_at	Ubf1
1454231_a_at	Rorip1
1453711_at	A930029K19Rik
1452986_at	Hsd
1448771_a_at	Fth1
1437465_a_at	P4hb
1434494_at	Zar1
1429077_x_at	Rpl21
1423437_at	Gsta3
1417561_at	Apoc1
1417125_at	Ahcy
1416968_a_at	Hsd3b7
1416913_at	Est1
1416729_at	Plg
1416129_at	1300002F13Rik

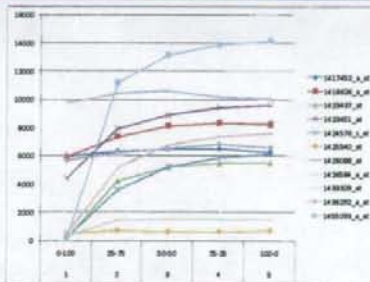


Liver側で飽和するプローブセットが、Probe2よりも多く、かつ発現値も高かった。より多くの阻害が発生したことが推測される

## 同一プローブセットのプローブ間差異の説明 1423437\_at : Gsta3 : Probe 10

対象プローブと9個以上連続で同じ配列をTarget配列上に持っており、Liver側で10000以上の発現値を有するプローブセット

Probe Set	Gene Symbol
1455093_a_at	Ahsq
1436292_a_at	Osz1
1433329_at	4930573C08Rik
1426584_a_at	Sdh1
1426088_at	?
1425540_at	Otc
1424576_s_at	Cyp2c44
1423451_at	Pormc1
1423437_at	Gsta3
1418626_a_at	Clu
1417452_a_at	Fau



Probe4よりも多いとはいえない。同じ並びを共有する長さが長いのか、Splicing Variantの可能性があるものと推測される



## 同一プローブセットのプローブ間差異の説明

差異が生じる理由として次のようなことがあげられる

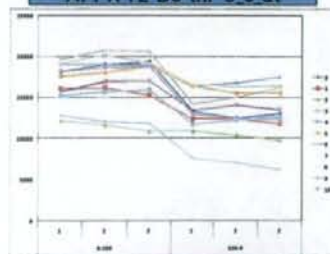
<b>ターゲットの存在量の差異</b>	
Splicing Variant	Splicing Variantも考えられるが可能性は薄い
RNA増幅の効率	プロモーターからの距離で増幅効率が違う
<b>ターゲットの結合力</b>	
塩基間結合強度	GC間、AT間で結合強度が異なる
洗浄工程における剥離	洗浄工程では、25mer 結合といえども剥離する可能性がある
<b>競合結合による阻害</b>	
検体RNA同士	検体は、さまざまな働きが考えられ、すべてを記述できない
添加RNA	添加RNAは、RNA配列の全長がわかっているれば、再発に顕微鏡することが可能である。

どれが支配的か？これらの割合の検証を試みる

## クロスハイブリダイゼーションによる 発現値への影響確認

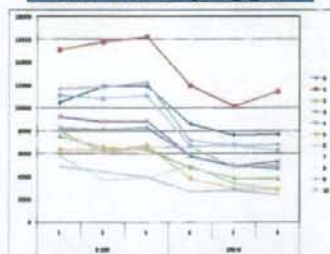
- 競合結合により他のRNAがターゲットRNAの結合を阻害し、測定値が抑えられているならば、遺伝子の発現構成が異なるLiverとBrainでは、同一プローブセット内でプローブの発現値の順番が異なるはずである。LBM1において、GSCIに対する影響を確認した。

AFFX-r2-Bs-thr-3 s.at



Probe 2,5,8は、パターンが異なる

AFFX-r2-Bs-lys-3 s.at



Probe 7,8は、パターンが異なる

影響の程度は不明だが、本来のターゲットRNA以外のクロスハイブリダイゼーションが測定値を抑制していると考えられる

## 飽和しているRNAと似ている 配列を有するProbeの挙動

- Liverにおいて飽和している、Alb1と似ている配列を有するProbeのLBMにおける曲線を確認する

9566

1425260\_at

Alb1

配列が部分一致するプローブを見いだした。

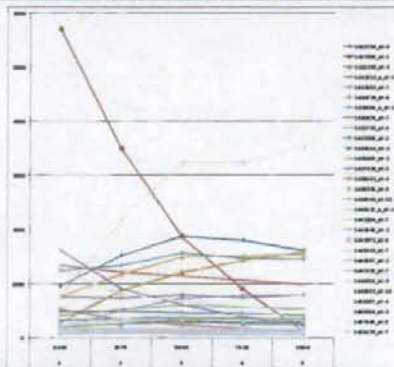
一致長さ	一致数
25	11
15	3
14	15
13	50
12	236
11	849
10	3,537
9	13,671
8	54,119

ターゲットRNA自身以外では、15mer部分一致が最長であった

## 飽和しているRNAと似ている 配列を有するProbeの挙動

Alb1と似ている配列: Alb1と5末端で12mer以上連続して一致するProbe

Probe ID	Consensus	Length	Start	End
131	85	0	14	12
333	1336	1	14	12
29	5699	2	14	12
254	6822	3	14	12
8	8259	7	12	18
414	9552	8	14	12
1	9566	0	1	25
17	9566	1	1	25
24	9566	2	1	25
54	9566	3	1	25
91	9566	4	1	25
171	9566	5	1	25
246	9566	6	1	25
214	9566	7	1	25
300	9566	8	1	25
382	9566	9	1	25
401	9566	10	1	25
377	14205	1	13	13
56	14794	7	14	12
130	16098	9	14	12
150	17815	1	14	12
247	18820	2	14	12
48	19712	2	14	12
131	21732	7	14	12
223	22499	4	14	12
183	22645	9	14	12
317	22825	10	14	12
361	24403	1	14	12
31	25520	2	14	12
362	25254	2	14	12
216	27379	9	13	13
4	29861	7	14	12
262	30983	2	14	12
300	31741	7	14	12
67	33114	6	12	14
23	34648	10	12	12
348	34823	9	14	12
4	39209	5	14	12
31	42240	8	14	12
217	42728	7	13	13



Brain側で飽和しているProbeは凹な形状を示し、Liver側で飽和しているProbeは飽和最大値が低い

## 高発現遺伝子の影響を受けていないと 考えられるプローブ

- 高発現遺伝子の影響を受けていないと考えられるプローブは、LBMIに対して、直線性を維持しているはずである。このようなプローブを見つけ出し、直線性を確認する

LBMIにおいて、3マウス(1実験条件)の発現平均が閾値以上のプローブ

閾値以上のプローブ→プローブセット(高発現遺伝子とみなす)

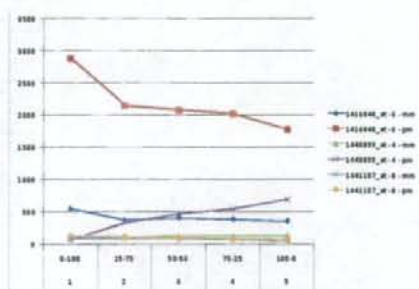
高発現遺伝子(ターゲット配列)と8個以上連続で合致するプローブ(影響を受けているプローブ)

全プローブから、影響を受けているプローブを取り除き、影響を受けていないプローブを見つける

閾値	影響を受けていないプローブ数
12000	0
14000	3
16000	152
18000	2034

## 高発現遺伝子の影響を受けていないと 考えられるプローブ

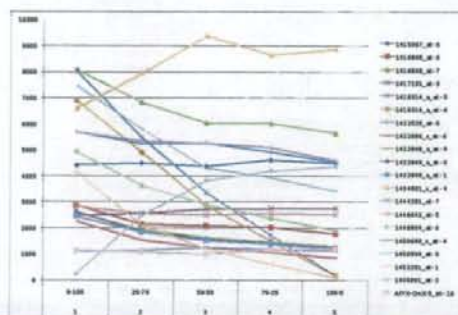
- 14000以上の発現値を有するターゲットと、8mer以上連続で合致しないプローブ  
- 全3プローブ



発現量が低く、直線性を維持しているかの、判断が難しい

## 高発現遺伝子の影響を受けていないと 考えられるプローブ

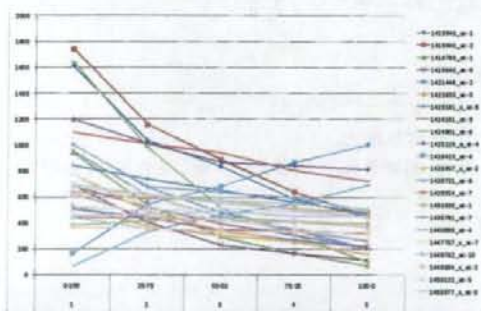
- 16000以上の発現値を有するターゲットと、8mer以上連続で合致が存在しないプローブ
  - 平均値が1000以上のプローブ(PM)



Liver側で飽和しているプローブも存在するが、概ね直線と考えられる。

## 高発現遺伝子の影響を受けていないと 考えられるプローブ

- 16000以上の発現値を有するターゲットと、8mer以上連続で合致しないプローブ
  - 平均値が300-1000のプローブ(PM)

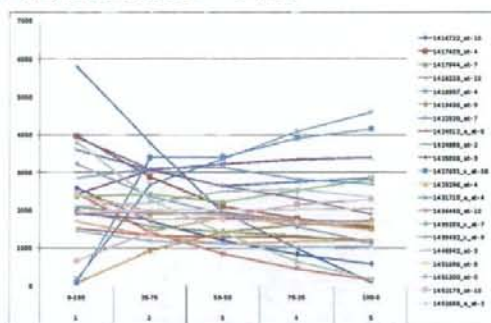


Liver側で飽和しているプローブも存在するが、概ね直線と考えられる。



## 高発現遺伝子の影響を受けていないと 考えられるプローブ

- 対比用:ランダムに選んだ200プローブ
  - 平均値が1000-3000のプローブ(PM)



ランダムに選択されたプローブでは、最大値が2000以下で飽和していると考えられる形状を示すものもあり、8mer連続合致を避けることで、直線性の高いプローブが選き出されたと考えられる。

## Affymetrix配列設計の網羅的検証

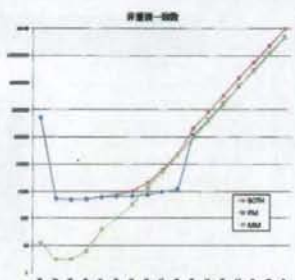
- Affymetrix社が設計した配列に対して、部分的な配列の一致に関して網羅的なチェックを行い、どの程度Cross-Hybridizationが発生していそうなのかをチェックする。
- 対象
  - GeneChip MOE430-2
  - プローブ配列(PM) vs. ターゲット配列
  - 連続9mer以上の一致を検出
    - 断続的な一致は、阻害要因として可能性が低いと考え、9mer以上に設定

## Affymetrix配列設計の網羅的検証 ターゲットとプローブ間の一致数

ターゲットとプローブの間で、連続して一致する状況の個数を調査した。

MMIに25mer一致が13個存在した。

連続長	PM	MM	PM/MM合計
25	526,104	13	526,117
24	527	3	530
23	481	3	484
22	513	6	519
21	592	40	632
20	631	102	733
19	668	331	999
18	730	1,338	2,068
17	948	5,143	6,091
16	1,199	21,996	23,195
15	117,190	92,201	209,391
14	440,156	384,475	824,631
13	1,774,086	1,589,142	3,363,228
12	7,217,804	7,737,802	14,955,606
11	29,355,970	27,443,556	56,799,526
10	118,411,753	112,115,989	230,527,744
9	477,288,011	455,736,406	933,024,417



12mer連続一致では、MM割合が若干多い。MMの設計で中央位置を除くというのが影響していると考えられる

16mer連続一致では、PM割合が圧倒的に少ない。設計段階でチェックされていると思われる。

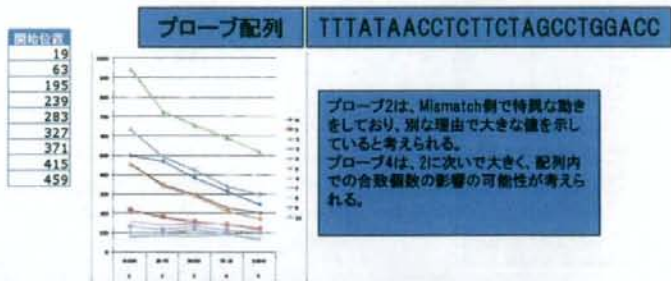
## Affymetrix配列設計の網羅的検証 ターゲットとプローブ間の一致数(端)

プローブの端は、その先で反発力を生み出すものがないので、中央の場合よりも、Hybridization時点において、離脱速度が低く、大きな阻害要因となると考えられる。状況を確認する

連続長	一致数	中央	端(開始)	端(終了)
25	526,117	0	526,117	526,117
24	530	0	281	249
23	484	10	252	222
22	519	34	235	250
21	632	55	227	350
20	733	142	230	361
19	999	270	351	378
18	2,068	1,017	512	539
17	6,091	3,900	1,032	1,159
16	23,195	16,430	3,282	3,483
15	209,391	147,445	29,890	32,056
14	824,631	625,689	94,639	104,303
13	3,363,228	2,631,294	354,237	377,697
12	14,955,606	11,038,939	1,906,381	2,010,286
11	56,799,526	46,111,992	5,180,454	5,507,080
10	230,527,744	190,471,482	19,355,046	20,701,216
9	933,024,417	782,011,343	73,304,200	77,708,874

## Affymetrix配列設計の網羅的検証 特異なプローブ設計例 ①

- ターゲット上に複数合致
- 1455452\_x\_at(AI449310)のプローブ4は、ターゲット配列で9か所合致する。



25merで特異的に結びつくことを前提にしているので、このようなプローブは設計すべきではないし、必要な場合にはその影響を評価しサマライズ処理で反映すべきである

## Affymetrix配列設計の網羅的検証 特異なプローブ設計例 ②

- ターゲット上に同じ配列が繰り返し現れるプローブが存在し、これと12mer長で一致するプローブが存在した。

ターゲット	1615	1417284_at	Mapkap1
プローブ	2963-5	1418632_at	Ube2h

```

factgaggacagac
agaaaaggncaggtaaccagcaacccgacacccacacacacccctgctgtaacacagatgctctgagacctaacctggctgagcagatcctggccaggccacagcagatcttatac
gacgctgctgaggacatglltaactcagtgctcaagcctcagagtaagtgctcttllgcaaggagtgactgaalgaagctctctatctgctgllcagccacagagcctcttlltaaa
tgcttccattctctctc
    
```

GCAGTAAGTCACA ~~GCAGTAAGTCACA~~

12merでの結合であり、弱いと考えられる。しかし、ターゲット側に25か所の結合箇所を有することになり、擬似的に25倍の濃度が存在するものとみなすことができ、12merの結合力の弱さを上回る可能性が存在する

## Affymetrix配列設計の網羅的検証 プローブ配列設計 まとめ

- Affymetrix社のプローブ設計では、プローブ間の全組合せのチェックがなされていないと疑うことができる
  - 16mer以上、合致するケースが少ない。
    - これより短い場合やMMでは、1塩基短くなるごとに4倍の組み合わせが存在しており、その直線性から逸脱しており、人為的な可能性が高いと考えられる。
  - 単一のプローブで、複数個所に合致する設計がなされている。
  - 短い配列の繰り返し領域に一致する部分配列を有するものがある。
- このようなプローブ設計上の不具合を、複数のプローブを用意することでキャンセルできていたと思われる。

## Percellome用GSCの飽和

GSC(Graded Spike Cocktail)の飽和程度を確認するために、GSCの量を変化させ、実験を行った。

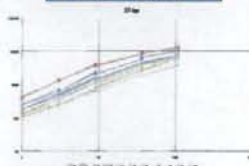
- 飽和現象は、最上位(Thr)、2番目(Lys)では明らかに見られた。また、3番目(Phe)でも一部観測された。

最高濃度(Thr)



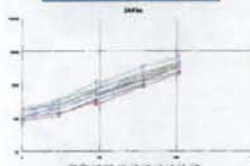
旧濃度で飽和していることが見えて判別可能である

第2濃度(Lys)



旧濃度で若干の飽和現象と思われる現象が発生している

第3濃度(Phe)

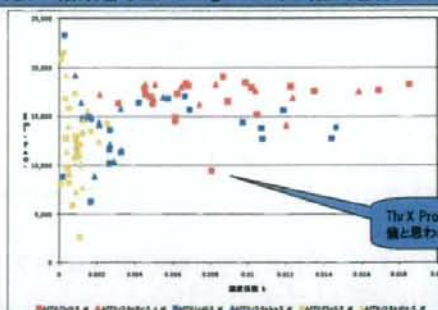


低用量で少し大きめの値が観測されている



## Percellome用GSCの飽和

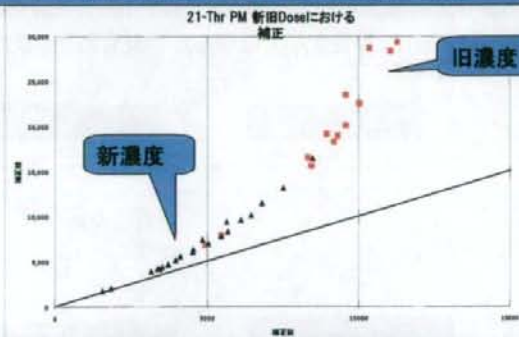
GSC飽和実験の結果をもとにLangmuir式の推測を行った(上位3濃度)



多溶質のLangmuir方程式から導き出される結果と合致した  
 1. 変化しない背景がある場合には、最大濃度への影響はなく、濃度が薄められた曲線を描く。 → Thrは、この条件に合致するとみなせる  
 2. 運動して変化する溶質が存在する場合には、最大量が抑えられる。  
 → LysやPheは、Thrの影響を受けており、この条件に合致するとみなせる

## Percellome用GSCの飽和

最高濃度Thrの飽和程度  
 各ブロープのLangmuir式の推定を行い、新旧濃度における飽和補正を実施した

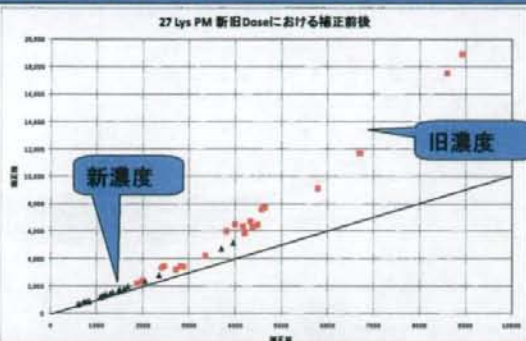


旧濃度では、補正後2倍程度になっていたが、新濃度では、50%増程度に収まっている

## Percellome用GSCの飽和

### 2番目Lysの飽和程度

各ブロープのLangmuir式の推定を行い、新旧濃度における飽和補正を実施した

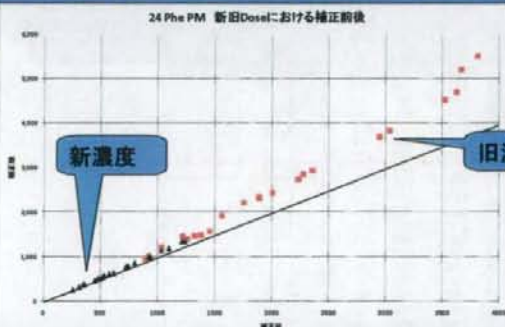


旧濃度では、補正後50%増程度になっていたが、新濃度では、5%増程度に収まっている

## Percellome用GSCの飽和

### 3番目Phe飽和程度

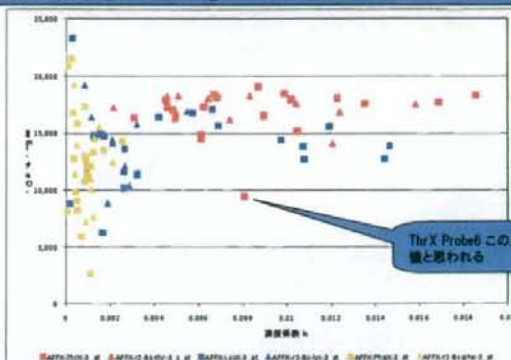
各ブロープのLangmuir式の推定を行い、新旧濃度における飽和補正を実施した



旧濃度では、直線近似や補正後10%増程度になっていたが、新濃度では、若干の増加(1%増程度)に収まっている

## Percellome用GSCの飽和実験 (新旧GSCプローブ)

GSC飽和実験の結果をもとにLangmuir式の推測を行った(上位3濃度)



最大濃度(thr)は、新旧プローブともほぼ似た最大値を示している。

第2(Lys)、第3(phe)の濃度は、若干小さな最大値を示している。

濃度係数が小さい領域は、濃度上、低い飽和濃度までいっておらず、低飽和の領域が大きいことを示している

## Percellome用GSCの飽和実験 (新旧GSCプローブ)

ThrXのプローブ6のlmax低下の原因を探る

Thrの旧プローブセットの第6プローブだけが、lmaxが小さい。何らかの原因があると考えられる。現在の製法では、GSCが25未満で結合しているため、洗い流されていることに起因していると考えられている。そのような状況がつかれば、製法の補強材料として利用可能であり、25未満の結合力の評価として利用可能である。

ThrXの各プローブで、連続一致するターゲットの個数を示す。

Probe	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
0	3133	668	119	38	3	2	1													
1	1914	387	52	8	1															
2	2081	471	98	20	5	2	1													
3	3183	806	211	58	8	4	2													
4	1219	274	36	12	1															
5	2444	632	172	26	9	2	1													
6	5570	1621	421	118	30	12	3	2												
7	3245	770	181	54	5	3														
8	1360	256	45	13	2															
9	2667	733	177	53	9	3	1													
10	2705	634	141	35	14	3														
11	3587	948	203	55	17	3														
12	2705	622	126	41	6	2														
13	2407	507	138	27	7		1													
14	1605	347	59	14	2															
15	2804	636	168	24	11	3														
16	1890	450	61	15	1	1														
17	2250	456	99	14	6	2														
18	2361	524	133	30	10	2														
19	3612	928	224	64	7	6	2	1	1											

第6プローブは、他のプローブよりも多く一致している。

仮説では、換体用プローブに対する一致では、lmaxが減少しないが、状況把握のため、確認した

## Percellome用GSCの飽和実験 (新旧GSCプローブ)

ThrXのプローブ6のImax低下の原因を探る

ThrXの全プローブと8mer以上連続で一致したGSCターゲットの全リストを示す

プローブ番号	プローブ長さ	連続一致長さ	一致位置	ターゲット番号	ターゲット長さ	ターゲット名	備考
1	17	17		40081	353	APFV-2-9a-cb-3_s_at	新設計プローブは8mer連続により高い反発力があると考えられる
2	11	9	18	40081	1	APFV-2-9a-cb-3_s_at	
3	9	9	17	40080	364	APFV-2-9a-cb-11_at	
10	17	8	24	40084	516	APFV-2-9a-cb-11_at	
11	17	8	24	40082	314	APFV-2-9a-cb-3_s_at	
12	7	8	14	40050	128	APFV-2-9a-cb-11_at	
7	8	8	25	40081	30	APFV-2-9a-cb-3_s_at	
8	8	8	25	40082	202	APFV-2-9a-cb-11_at	
9	13	8	25	40084	624	APFV-2-9a-cb-11_at	
13	8	8	25	40081	150	APFV-2-9a-cb-3_s_at	
14	8	8	11	40081	31	APFV-2-9a-cb-11_at	
15	4	8	11	40085	132	APFV-2-9a-cb-11_at	
16	8	8	13	40085	97	APFV-2-9a-cb-11_at	
17	3	8	10	40083	202	APFV-2-9a-cb-11_at	
18	4	8	11	40083	82	APFV-2-9a-cb-11_at	
19	5	8	10	40081	150	APFV-2-9a-cb-3_s_at	
20	17	8	24	40084	582	APFV-2-9a-cb-11_at	
21	17	8	24	40082	580	APFV-2-9a-cb-3_s_at	
22	5	8	12	40084	101	APFV-2-9a-cb-11_at	
23	5	8	12	40079	13	APFV-2-9a-cb-11_at	
24	16	8	23	40085	403	APFV-2-9a-cb-11_at	
25	1	8	8	40082	603	APFV-2-9a-cb-11_at	
26	1	8	8	40084	379	APFV-2-9a-cb-11_at	
27	1	8	8	40082	377	APFV-2-9a-cb-3_s_at	
28	14	8	21	40082	325	APFV-2-9a-cb-3_s_at	
29	10	8	21	40084	327	APFV-2-9a-cb-11_at	
30	7	8	14	40085	184	APFV-2-9a-cb-11_at	
31	7	8	14	40078	172	APFV-2-9a-cb-3_s_at	
32	17	8	24	40083	220	APFV-2-9a-cb-11_at	
33	17	8	24	40081	174	APFV-2-9a-cb-3_s_at	

プローブ6だけに存在する特徴として、終了位置25が存在する。つまり、プローブの5'末端側でプローブ間の反発を受けない可能性が考えられる。

## Percellome用GSCの飽和実験 (新旧GSCプローブ)

プローブ末端の結合の有無による違い

