

総説：ウイルス研究

イルミナテクノロジーを使用した研究論文の概要

目次

はじめに	3
DNAウイルス	6
RNAウイルス	7
ウイルスmRNA	9
ウイルス低分子RNAs (MIRNAS) と宿主-病原体相互作用	11
ヒトウイルスメタゲノム (バイローム)	14
ヒトウイルス病原体	15
動物ウイルス	17
植物ウイルス病原体	19
昆虫ウイルス病原体	21
バクテリオファージ	22
ワクチン	25
共生	26
用語と略語の解説	27
参考文献一覧	28

はじめに

次世代シーケンサーは、いまや新規ウィルスをたった1回のランで検出、同定、そして定量まで行うことのできる強力なツールとなりました¹。実際、ヒト組織に関与する感染性が疑われる因子の検出に使用できるほど感度は高く、ウィルス転写物の頻度が100万分の1に満たない場合でも検出が可能です²。幸いなことに、ディープシーケンスの際にウィルスDNAやRNAが同時にシーケンスされたため、これが数多くの新規ウィルス発見につながりました³。観光や貿易におけるグローバル化に加え、気候変動とその媒介者分布への影響が人畜共通伝染病の出現と再出現を促進する現在、この技術の貢献が非常に期待されています⁴。

*...there are a minimum of
320,000 mammalian
viruses awaiting discovery.
Anthony S. J. et al. 2013*

参照

Anthony S. J., Epstein J. H., Murray K. A., Navarrete-Macias I., Zambrana-Torrel C. M., et al. (2013) A strategy to estimate unknown viral diversity in mammals. *MBio* 4:

Chiu C. Y. (2013) Viral pathogen discovery. *Curr Opin Microbiol* 16: 468-478

Colson P., Fancello L., Gimenez G., Armougom F., Desnues C., et al. (2013) Evidence of the megavirome in humans. *J Clin Virol* 57: 191-200

Lipkin W. I. and Firth C. (2013) Viral surveillance and discovery. *Curr Opin Virol* 3: 199-204

Lipkin W. I. (2013) The changing face of pathogen discovery and surveillance. *Nat Rev Microbiol* 11: 133-141

Malboeuf C. M., Yang X., Charlebois P., Qu J., Berlin A. M., et al. (2013) Complete viral RNA genome sequencing of ultra-low copy samples by sequence-independent amplification. *Nucleic Acids Res* 41: e13

Mokili J. L., Rohwer F. and Dutilh B. E. (2012) Metagenomics and future perspectives in virus discovery. *Curr Opin Virol* 2: 63-77

Wylie K. M., Weinstock G. M. and Storch G. A. (2013) Virome genomics: a tool for defining the human virome. *Curr Opin Microbiol* 16: 479-484

¹ Dunowska M., Biggs P. J., Zheng T. and Perrott M. R. (2012) Identification of a novel nidovirus associated with a neurological disease of the Australian brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Vet Microbiol* 156: 418-424

² Moore R. A., Warren R. L., Freeman J. D., Gustavsen J. A., Chenard C., et al. (2011) The sensitivity of massively parallel sequencing for detecting candidate infectious agents associated with human tissue. *PLoS ONE* 6: e19838

³ Li S. C., Chan W. C., Lai C. H., Tsai K. W., Hsu C. N., et al. (2011) UMARS: Un-Mappable Reads Solution. *BMC Bioinformatics* 12 Suppl 1: S9

⁴ Lipkin W. I. and Firth C. (2013) Viral surveillance and discovery. *Curr Opin Virol* 3: 199-204

イルミナの技術により同定されたウイルス病原体の例⁵

名称	技術	疾病との関連	参考文献
2009年汎流行インフルエンザA (H1N1)	Genome Analyzer <i>Ilx</i>	熱病	6,7
TMAV (titi monkeyアデノウイルス)	Genome Analyzer <i>Ilx</i> 73bpペアエンドリード	肺炎 (titi monkey)	8
BASV (バス・コンゴウイルス)、ラブドウィルス科	HiSeq 2000	急性出血性発熱症候群	9
MWPvV・HPy10・MXPvV (MWポリオーマウイルス)	HiSeq 2000 75bpペアエンドリード	下痢	10
HPyV9 (ヒトパピローマウイルス9)	HiSeq 2000 100bpペアエンドリード	下痢	11
ヒトエンテロウイルス109	Genome Analyzer <i>Il</i>	急性呼吸系疾患	12
TDAV (セーラー病随伴ウイルス)、新規pegivirus	HiSeq 2000 100bpペアエンドリード	肝炎 (ウマ)	13
イヌボカウイルス3	MiSeq	出血性下痢と脈管炎 (イヌ)	14
ヘビアレナウイルス	HiSeq 100bpペアエンドリード	封入体病 (ヘビ)	15
SadV-C (シミアンアデノウイルスC)	HiSeq 2000 100bpペアエンドリード	肺炎 (ヒヒ)	
急性呼吸系疾患 (ヒト)	16		
翼手類ボックスウイルスと新規アデノウイルス	Genome Analyzer <i>Il</i> 76bpペアエンドリード	無症候性キャリア (コウモリ)	17
新規ニドウィルス、Arteriviridaeの近縁種	Genome Analyzer <i>Ilx</i>	致死性神経疾患 (オーストラリアポッサム)	18
新規ヘパシウイルス、ゲレザヘパシウイルス	Nextera DNAサンプル調製キットを 用いたMiSeq	無症候性キャリア、 クロシロコロブス (Colobus guereza)	19
新規ガンマ2ヘルペスウイルス	Genome Analyzer <i>Ilx</i>	自発性炎症性脱髄性疾患 (ニホンザル)	20

⁵ Chiu C. Y. (2013) Viral pathogen discovery. *Curr Opin Microbiol* 16: 468-478

⁶ Greninger A. L., Chen E. C., Sittler T., Scheinerman A., Roubinian N., et al. (2010) A metagenomic analysis of pandemic influenza A (2009 H1N1) infection in patients from North America. *PLoS ONE* 5: e13381

⁷ Yongfeng H., Fan Y., Jie D., Jian Y., Ting Z., et al. (2011) Direct pathogen detection from swab samples using a new high-throughput sequencing technology. *Clin Microbiol Infect* 17: 241-244

⁸ Chen E. C., Yagi S., Kelly K. R., Mendoza S. P., Tarara R. P., et al. (2011) Cross-species transmission of a novel adenovirus associated with a fulminant pneumonia outbreak in a new world monkey colony. *PLoS Pathog* 7: e1002155

⁹ Grard G., Fair J. N., Lee D., Slikas E., Steffen I., et al. (2012) A novel rhabdovirus associated with acute hemorrhagic fever in central Africa. *PLoS Pathog* 8: e1002924

¹⁰ Yu G., Greninger A. L., Isa P., Phan T. G., Martinez M. A., et al. (2012) Discovery of a novel polyomavirus in acute diarrheal samples from children. *PLoS ONE* 7: e49449

¹¹ Sauvage V., Foulongne V., Cheval J., Ar Gouilh M., Pariente K., et al. (2011) Human polyomavirus related to African green monkey lymphotropic polyomavirus. *Emerg Infect Dis* 17: 1364-1370

¹² Yozwiak N. L., Skewes-Cox P., Gordon A., Saborio S., Kuan G., et al. (2010) Human enterovirus 109: a novel interspecies recombinant enterovirus isolated from a case of acute pediatric respiratory illness in Nicaragua. *J Virol* 84: 9047-9058

¹³ Chandriani S., Skewes-Cox P., Zhong W., Ganem D. E., Divers T. J., et al. (2013) Identification of a previously undescribed divergent virus from the Flaviviridae family in an outbreak of equine serum hepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: E1407-1415

¹⁴ Li L., Pesavento P. A., Leutenegger C. M., Estrada M., Coffey L. L., et al. (2013) A novel bocavirus in canine liver. *Virol J* 10: 54

¹⁵ Stenglein M. D., Sanders C., Kistler A. L., Ruby J. G., Franco J. Y., et al. (2012) Identification, characterization, and in vitro culture of highly divergent arenaviruses from boa constrictors and annulated tree boas: candidate etiological agents for snake inclusion body disease. *MBio* 3: e00180-00112

¹⁶ Chiu C. Y., Yagi S., Lu X., Yu G., Chen E. C., et al. (2013) A novel adenovirus species associated with an acute respiratory outbreak in a baboon colony and evidence of coincident human infection. *MBio* 4: e00084

¹⁷ Baker K. S., Leggett R. M., Bexfield N. H., Alston M., Daly G., et al. (2013) Metagenomic study of the viruses of African straw-coloured fruit bats: detection of a chiropteran poxvirus and isolation of a novel adenovirus. *Virology* 441: 95-106

¹⁸ Dunowska M., Biggs P. J., Zheng T., and Perrott M. R. (2012) Identification of a novel nidovirus associated with a neurological disease of the Australian brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Vet Microbiol* 156: 418-424

¹⁹ Lauck M., Sibley S. D., Lara J., Purdy M. A., Khudyakov Y., et al. (2013) A Novel Hepacivirus with an Unusually Long and Intrinsically Disordered NS5A Protein in a Wild Old World Primate. *J Virol* 87: 8971-8981

²⁰ Estep R. D., Hansen S. G., Rogers K. S., Axthelm M. K. and Wong S. W. (2013) Genomic characterization of Japanese macaque rhadinovirus, a novel herpesvirus isolated from a nonhuman primate with a spontaneous inflammatory demyelinating disease. *J Virol* 87: 512-523

参考文献

Baker K. S., Leggett R. M., Bexfield N. H., Alston M., Daly G., et al. (2013) Metagenomic study of the viruses of African straw-coloured fruit bats: detection of a chiropteran poxvirus and isolation of a novel adenovirus. *Virology* 441: 95-106

SARSコロナウィルスやハンタウィルス、そしてヘニパウィルスなど、新規出現ウィルスは、野生動物を宿主としています。ヒトの居住環境近辺に生存するコウモリ種に寄生するウィルス負荷を調査するため、著者らはEidolon helvumからウィルスDNAを単離、シーケンス解析を実施しました。その結果、新規のヘルペスやパピローマウィルス、新規翼手類ポックスウィルスなど、多様な新規ウィルスが多く見つかりました。このようにさまざまな哺乳類ウィルスが発見されたことから、コウモリ種が公衆衛生上の脅威となりうるウィルスを宿している可能性が考えられます。この研究では、次世代シーケンサー解析の優れた新規ウィルス検出能を示しています。

イルミナテクノロジー：76bpペアエンドリードによるGenome Analyzer II

Flaherty P., Natsoulis G., Muralidharan O., Winters M., Buenrostro J., et al. (2012) Ultrasensitive detection of rare mutations using next-generation targeted resequencing. *Nucleic Acids Res* 40: e2

著者らは、この頑強なシステムを用いて、0.1%の数値で変異を検出したことを示しました。この数値は、野生型1,000アレルあたりに起こる1変異を正確に検出できることを表しています。稀な変異を検出する手法では、複数のリファレンス反復におけるベースラインのエラー率と、各点におけるサンプルエラー率を比較します。この手法の有用性を証明するために、H1N1インフルエンザAの9つの臨床サンプルを分析し、0.18%のサンプルから、オセルタミビル（抗ウィルス治療薬）耐性に関与するH1N1ノイラミニダーゼ遺伝子の変異を検出しました。

イルミナテクノロジー：Genome Analyzer IIx

Han Y., Zhang Y., Mei Y., Wang Y., Liu T., et al. (2013) Analysis of hepatitis B virus genotyping and drug resistance gene mutations based on massively parallel sequencing. *J Virol Methods* 193: 341-347

1種もしくは複数種の抗生物質の投与された395患者から得られた肝炎Bウィルス（HBV）DNAを、HiSeq 2000を用いてシーケンス解析しました。実験は3反復で行われ、結果からHiSeqシステムの高い再現性が明らかとなりました。またPCRシーケンスにより、得られた結果の検証が行われました。著者らは、HiSeqシステムの感度、フィレディティ、スループットが高く、自動化されているため、HBV検査とジェノタイピングにおいて有用な手法だと結論付けました。

イルミナテクノロジー：HiSeq 2000

Law J., Jovel J., Patterson J., Ford G., O' Keefe S., et al. (2013) Identification of hepatotropic viruses from plasma using deep sequencing: a next generation diagnostic tool. *PLoS ONE* 8: e60595

この研究では、血漿中からウィルスを確実に同定することが可能なシーケンスアッセイ紹介しています。このプロトコールでは、血漿ろ過液からウィルス粒子を濃縮し、シーケンス用のRNAもしくはDNAライブラリーを作成します。慢性B型肝炎、慢性C型肝炎、そして自己免疫肝炎の患者から得られた血漿を用いて、このアッセイの検査を行いました。肝疾患のない患者をコントロールグループとしました。肝炎患者から肝炎ウィルスが高いカバレッジで速やかに検出され、他のウィルスと近似したシーケンスはほとんど検出されませんでした。

イルミナテクノロジー：Genome Analyzer IIx

Fancello L., Raoult D. and Desnues C. (2012) Computational tools for viral metagenomics and their application in clinical research. *Virology* 434: 162-174

Kato S. E., Chahal J. S. and Flint S. J. (2012) Reduced infectivity of adenovirus type 5 particles and degradation of entering viral genomes associated with incomplete processing of the preterminal protein. *J Virol* 86: 13554-13565

Killip M. J., Young D. F., Gatherer D., Ross C. S., Short J. A., et al. (2013) Deep sequencing analysis of defective genomes of parainfluenza virus 5 and their role in interferon induction. *J Virol* 87: 4798-4807

Koh Y., Wu X., Ferris A. L., Matreyek K. A., Smith S. J., et al. (2013) Differential effects of human immunodeficiency virus type 1 capsid and cellular factors nucleoporin 153 and LEDGF/p75 on the efficiency and specificity of viral DNA integration. *J Virol* 87: 648-658

Santini S., Jeudy S., Bartoli J., Poirot O., Lescot M., et al. (2013) Genome of *Phaeocystis globosa* virus PgV-16T highlights the common ancestry of the largest known DNA viruses infecting eukaryotes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 10800-10805

DNA ウィルス

ルーチンでのDNAウィルスのシーケンス解析により、ウィルスの驚くべき変異性を示す多くのウィルスゲノムが得られました。研究室で所有する株と臨床的に単離された同一ウィルスのゲノムの差異は顕著であり、臨床単離株をルーチンでシーケンス解析することの必要性を強調しています²¹。

...60–99% of the sequences generated in different viral metagenomic studies are not homologous to known viruses.
Mokili et al. 2012

参考文献

Chiu C. Y., Yagi S., Lu X., Yu G., Chen E. C., et al. (2013) A novel adenovirus species associated with an acute respiratory outbreak in a baboon colony and evidence of coincident human infection. *MBio* 4: e00084

シーケンス解析は感染症発生の際の解析において、感度が高く非常に有益な診断ツールです。1997年、テキサスの研究所で捕獲されたヒヒたちが急性呼吸系疾患に襲われました。感染したヒヒ1匹と、症状を呈していないヒヒ3匹から摂取した臨床サンプルを用いて全ゲノムシーケンス解析を行ったところ、新規のアデノウィルス種が検出されました。イルミナのシーケンス解析の高い特異性と分解能により、ウィルス起源が非病原性の遺伝子組み換えウィルス種と、他の未知ウィルスであることが判明しました。この包括的な研究では、ヒトを含む他の脊椎動物を宿主とする既知のアデノウィルスとの比較検討も行われました。

イルミナテクノロジー：100bpペアエンドリードによるHiSeq 2000

Conway C., Chalkley R., High A., Maclennan K., Berri S., et al. (2012) Next-generation sequencing for simultaneous determination of human papillomavirus load, subtype, and associated genomic copy number changes in tumors. *J Mol Diagn* 14: 104-111

この研究では、ホルマリン固定パラフィン包埋 (formalin-fixed paraffin-embedded : FFPE) 標本から頭頸部の44腫瘍型におけるウィルス感染の調査のため、次世代シーケンサーで解析を実施しました。著者らは、従来の手法では検出されなかった、ヒトパピローマウィルス (HPV) の亜種の検出に成功しました。さらに8細胞株を用いたところ、このアプローチをさまざまな腫瘍やウィルスの研究に適用できることが明らかになりました。

イルミナテクノロジー：Genome Analyzer 76bpリード

Colson P., Fancello L., Gimenez G., Armougom F., Desnues C., et al. (2013) Evidence of the megavirome in humans. *J Clin Virol* 57: 191-200

Minot S., Grunberg S., Wu G. D., Lewis J. D. and Bushman F. D. (2012) Hypervariable loci in the human gut virome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 3962-3966

²¹ Szpara M. L., Parsons L. and Enquist L. W. (2010) Sequence variability in clinical and laboratory isolates of herpes simplex virus 1 reveals new mutations. *J Virol* 84: 5303-5313

RNAウィルスの高い変異率は、ポリメラーゼが誤りやすいことと、RNAの校正機構に限界があることに起因します²²。この複製におけるフィデリティーの低さにより、RNAウィルス集団は疑似種と呼ばれています。つまり、野生型 (WT) と変異体のゲノムが変異と淘汰の平衡状態において集まっているか交じり合っているといえます²³。近年の研究により、ウィルスの多様性こそが適応進化および疾病誘発に必須であることが明らかになりました²⁴。

参考文献

Blasdel K. R., Voysey R., Bulach D., Joubert D. A., Tesh R. B., et al. (2012) Kotonkan and Obodhiang viruses: African ephemeroviruses with large and complex genomes. *Virology* 425: 143-153

この研究は、オボジャングウィルス (OBOV) とコトンカンウィルス (KOTV) のゲノムの完全配列について記述しています。遺伝的また血清学的データは、KOTVとOBOVがエフェメロウィルス属で新しい種として分類されるべきであることが示されました。これはシーケンス解析による新規RNAウィルス種同定の一例です。

イルミナテクノロジー：75bpペアエンドリードによるGenome Analyzer

Chandriani S., Skewes-Cox P., Zhong W., Ganem D. E., Divers T. J., et al. (2013) Identification of a previously undescribed divergent virus from the Flaviviridae family in an outbreak of equine serum hepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: E1407-1415

この研究では、RNAシーケンス解析により、ウマ血清肝炎を引き起こす未知のFlaviviridaeウィルスを同定しました。著者らはこのウィルスを「セーラー病随伴ウィルス」(Theiler's disease-associated virus: TDAV) と名づけました。このウィルスの出現に関する研究では、他の感染性物質が低濃度で存在している可能性も除去されなかったものの、すべての感染動物からこのTDAVが検出されたため、TDAVがセーラー病の原因ウィルスであることが示唆されました。

イルミナテクノロジー：HiSeq 2000



RNAシーケンス解析により、ウマ血清肝炎を引き起こす未知のFlaviviridaeウィルスが同定されました²⁵。

²² Drake J. W. and Holland J. J. (1999) Mutation rates among RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 13910-13913

²³ Bull J. J., Meyers L. A. and Lachmann M. (2005) Quasispecies made simple. *PLoS Comput Biol* 1: e61

²⁴ Vignuzzi M., Stone J. K., Arnold J. J., Cameron C. E. and Andino R. (2006) Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature* 439: 344-348

²⁵ Chandriani S., Skewes-Cox P., Zhong W., Ganem D. E., Divers T. J., et al. (2013) Identification of a previously undescribed divergent virus from the Flaviviridae family in an outbreak of equine serum hepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: E1407-1415

Depew J., Zhou B., McCorrison J. M., Wentworth D. E., Purushe J., et al. (2013) Sequencing viral genomes from a single isolated plaque. *Virology* 10: 181

一般に、ウイルスやバクテリオファージのシーケンス解析では、十分量のゲノムを得るために、ウイルスストックの生産や特別な精製と増幅が必要になります。この研究では、シーケンス非依存の単1プライマー増幅 (Sequence-Independent Single Primer Amplification: SISPA) という新しい手法により10pgという少ないDNA鋳型からシーケンス解析を行う方法を紹介します。

イルミナテクノロジー：HiSeq 2000

Rutvisuttinunt W., Chinnawirotpisan P., Simasathien S., Shrestha S. K., Yoon I. K., et al. (2013) Simultaneous and complete genome sequencing of influenza A and B with high coverage by Illumina MiSeq Platform. *J Virol Methods* 193: 394-404

インフルエンザウイルスの特性評価を積極的に行うことは、その世界的な流行に備える上で重要です。インフルエンザゲノムの包括的な特性評価と、新規出現する株を同定するため、この研究では、イルミナのMiSeqによる次世代シーケンサー解析を用いて、タイとネパールから集められた臨床試料から単離された6ウイルスのシーケンス解析をマルチプレックスで実施しました。この解析により、3株の季節性インフルエンザA H3N2、1株の2009年汎流行インフルエンザH1N1、2株のインフルエンザBが同定されました。

イルミナテクノロジー：MiSeq

Al Rwahnih M., Dolja V. V., Daubert S., Koonin E. V. and Rowhani A. (2012) Genomic and biological analysis of Grapevine leafroll-associated virus 7 reveals a possible new genus within the family Closteroviridae. *Virus Res* 163: 302-309

Bronkhorst A. W., van Cleef K. W., Vodovar N., Ince I. A., Blanc H., et al. (2012) The DNA virus Invertebrate iridescent virus 6 is a target of the *Drosophila* RNAi machinery. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: E3604-3613

Dunowska M., Biggs P. J., Zheng T. and Perrott M. R. (2012) Identification of a novel nidovirus associated with a neurological disease of the Australian brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Vet Microbiol* 156: 418-424

Hwang Y. T., Kalischuk M., Fusaro A. F., Waterhouse P. M. and Kawchuk L. (2013) Small RNA sequencing of Potato leafroll virus-infected plants reveals an additional subgenomic RNA encoding a sequence-specific RNA-binding protein. *Virology* 438: 61-69

Morita M., Kuba K., Ichikawa A., Nakayama M., Katahira J., et al. (2013) The lipid mediator protectin D1 inhibits influenza virus replication and improves severe influenza. *Cell* 153: 112-125

Perera O. P., Snodgrass G. L., Allen K. C., Jackson R. E., Becnel J. J., et al. (2012) The complete genome sequence of a single-stranded RNA virus from the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois). *J Invertebr Pathol* 109: 11-19

Roy A., Choudhary N., Guillermo L. M., Shao J., Govindarajulu A., et al. (2013) A novel virus of the genus Cilevirus causing symptoms similar to citrus leprosis. *Phytopathology* 103: 488-500

ウイルスmRNAのシーケンス解析を行うことで、ウイルスの活性に加え、その機能のメカニズムなど非常に多くの情報を得ることができます²⁶⁻²⁷。そしてこの情報をウイルスゲノムのアノテーションにも使用することができます。次世代シーケンサーの解析技法が出現する以前は、ウイルスのシーケンス解析は非常に難しく、また手間のかかるものでした。ウイルスシーケンスの機能に関する知見の不足は、現在までに明らかになっている微生物の集団動態において顕著といえるでしょう²⁸。

*Viral mRNA constitutes a surprisingly large portion of the total RNA in HIV-infected CD4+ T cells (in this study, nearly 40% by 24 hours after infection)...
Law G. L. et al. 2013*

参照

Law G. L., Korth M. J., Benecke A. G. and Katze M. G. (2013) Systems virology: host-directed approaches to viral pathogenesis and drug targeting. *Nat Rev Microbiol* 11: 455-466

参考文献

Lee A. S., Burdeinick-Kerr R. and Whelan S. P. (2013) A ribosome-specialized translation initiation pathway is required for cap-dependent translation of vesicular stomatitis virus mRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 324-329

この研究では、リボソームが介在する転写産物に特異的な翻訳開始調節の発見が紹介されています。このメカニズムは水疱性口内炎ウイルス (VSV) 研究を通じて明らかになり、その翻訳にはリボソーム大サブユニット (rpL40) 由来のタンパク質が必要です。ディープシーケンス解析により、著者らは、rpL40の欠乏に対する感受性が選択的に高い細胞内転写産物サブセットを発見し、これこそが内因性の翻訳経路であることが示唆されました。

イルミナテクノロジー : mRNA-SeqによるGenome Analyzer //

Lusic M., Marini B., Ali H., Lucic B., Luzzati R., et al. (2013) Proximity to PML nuclear bodies regulates HIV-1 latency in CD4+ T cells. *Cell Host Microbe* 13: 665-677

遺伝子の特定の核コンパートメントへの局在化は、遺伝子発現制御のメカニズムの一つです。ヒト免疫不全ウイルス1型 (HIV-1) 潜在性のメカニズムの研究により、著者らは、前骨髄球性白血病 (PML) タンパクに近接する、サイレントであるものの転写能があるHIV-1プロウィルスを発見しました。PMLは潜伏するHIV-1のプロモーターに結合することで、遺伝子発現を阻害します。

イルミナテクノロジー : mRNA-Seq

²⁶ Jiang X., Jiang H., Li C., Wang S., Mi Z., et al. (2011) Sequence characteristics of T4-like bacteriophage IME08 genome termini revealed by high throughput sequencing. *Virology* 418: 194

²⁷ Gausson V. and Saleh M. C. (2011) Viral small RNA cloning and sequencing. *Methods Mol Biol* 721: 107-122

²⁸ Law G. L., Korth M. J., Benecke A. G. and Katze M. G. (2013) Systems virology: host-directed approaches to viral pathogenesis and drug targeting. *Nat Rev Microbiol* 11: 455-466

Morita M., Kuba K., Ichikawa A., Nakayama M., Katahira J., et al. (2013) The lipid mediator protectin D1 inhibits influenza virus replication and improves severe influenza. *Cell* 153: 112-125

予防接種プログラムにもかかわらず、インフルエンザウイルスは全世界で疾病・死亡の主な原因となっています。これに対して、抗炎症性を示すいくつかの脂質由来産物が有望視されています。この研究では、抗炎症性のメカニズムを解明するために、脂質性メディエータープロテクチンPD1を対象にして研究が行われました。RNAシーケンス解析により、著者らはRNA輸送機構を通して、PD1がインフルエンザウイルスの複製を妨害することを明らかにしました。この発見は、外因性の脂質性メディエーターがインフルエンザA感染に対して抗炎症性剤として作用する可能性を示唆しています。

イルミナテクノロジー：RNA結合タンパク（RIP）とRNA-SeqによるHiSeq 2000

Murakami R., Suetsugu Y., Kobayashi T. and Nakashima N. (2013) The genome sequence and transmission of an iflavirus from the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Virus Res* 176: 179-187

トビイロウンカは、イネへ直接被害を及ぼすと共に、この植物体へイネラギッドスタントウイルスやイネグラッシースタントウイルスなどのウイルスを伝播するため、イネの最も重要な害虫の一つといえます。この研究では、以前は知られていなかったイフラウイルスがトビイロウンカの飼育株から同定されました。このウイルスおよびその宿主の特性がシーケンス解析により明らかにされ、伝染検査によりウイルスが水平伝播を行うことが明らかになりました。

イルミナテクノロジー：mRNA-SeqによるHiSeq 2000

Neller M. A., Burrows J. M., Rist M. J., Miles J. J. and Burrows S. R. (2013) High frequency of herpesvirus-specific clonotypes in the human T cell repertoire can remain stable over decades with minimal turnover. *J Virol* 87: 697-700

Ramasubramanyan S., Kanhere A., Osborn K., Flower K., Jenner R. G., et al. (2012) Genome-wide analyses of Zta binding to the Epstein-Barr virus genome reveals interactions in both early and late lytic cycles and an epigenetic switch leading to an altered binding profile. *J Virol* 86: 12494-12502

Rossetto C. C., Tarrant-Elorza M., Verma S., Purushothaman P. and Pari G. S. (2013) Regulation of viral and cellular gene expression by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus polyadenylated nuclear RNA. *J Virol* 87: 5540-5553

Schnettler E., Ratinier M., Watson M., Shaw A. E., McFarlane M., et al. (2013) RNA interference targets arbovirus replication in *Culicoides* cells. *J Virol* 87: 2441-2454

Wilkie G. S., Davison A. J., Watson M., Kerr K., Sanderson S., et al. (2013) Complete genome sequences of elephant endotheliotropic herpesviruses 1A and 1B determined directly from fatal cases. *J Virol* 87: 6700-6712

Wu L., Zhou P., Ge X., Wang L. F., Baker M. L., et al. (2013) Deep RNA sequencing reveals complex transcriptional landscape of a bat adenovirus. *J Virol* 87: 503-511

低分子RNAは、ウイルス感染時の宿主-病原体相互作用において重要な役割を果たします²⁹。マイクロRNA (miRNA) は低分子ノンコーディングRNAの一つで、植物から高等動物にいたる生物中で、転写後制御に関与しています³⁰。RNAおよびDNAウイルスは、共に宿主とウイルス遺伝子制御のためにmiRNAを用います³¹。ウイルスのメタゲノム解析は、その宿主を予期せぬ方法で操作する遺伝子を明らかにすることにより、ウイルス宿主相互作用の解明の一端を担っています³²。

参照

Celsi F., Catamo E., Kleiner G., Tricarico P. M., Vuch J., et al. (2013) HLA-G/C, miRNAs, and their role in HIV infection and replication. *Biomed Res Int* 2013: 693643

参考文献

Etebari K., Hussain M. and Asgari S. (2013) Identification of microRNAs from *Plutella xylostella* larvae associated with parasitization by *Diadegma semiclausum*. *Insect Biochem Mol Biol* 43: 309-318

miRNAは多くの生物プロセスにおいて重要な役割を果たし、発生や免疫刺激、ストレスなどの変化する状況下でその発現量に差異が見られます。この研究では、コナガ (*Diamondback moth*) である *Plutella xylostella* のmiRNA発現量の調査を行い、その発現を *Diadegma semiclausum* の貯卵下における発現のプロファイルと比較しました。貯卵後のさまざまなタイムポイントで重要な役割を担う可能性のあるウイルス様粒子とポリドナウイルス (PDVs) を産卵の際に共注入しました。貯卵にตอบสนองして変動する宿主細胞のmiRNAの発現量差異を調査するために、未処理および貯卵している *P. xylostella* の幼虫から低分子RNAライブラリーを構築しました。RNA-Seqの幅広いダイナミックレンジにより、ノーザンブロット法では確認が困難である、高発現するmiR-218*の発現量差異が検出されました。同定されたこの応答性のmiRNAは、寄生に対する昆虫の免疫応答に関する知見を提供します。

イルミナテクノロジー：Genome Analyzer _{IIx} およびイルミナTruSeq低分子RNA調製キットと36bpリード



コナガ (*Diamondback moth*) *Plutella xylostella*

²⁹ Gausson V. and Saleh M. C. (2011) Viral small RNA cloning and sequencing. *Methods Mol Biol* 721: 107-122

³⁰ Guo H., Ingolia N. T., Weissman J. S. and Bartel D. P. (2010) Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature* 466: 835-840

³¹ Whisnant A. W., Bogerd H. P., Flores O., Ho P., Powers J. G., et al. (2013) In-depth analysis of the interaction of HIV-1 with cellular microRNA biogenesis and effector mechanisms. *MBio* 4: e000193

³² Rosario K. and Breitbart M. (2011) Exploring the viral world through metagenomics. *Curr Opin Virol* 1: 289-297

Goic B., Vodovar N., Mondotte J. A., Monot C., Frangeul L., et al. (2013) RNA-mediated interference and reverse transcription control the persistence of RNA viruses in the insect model *Drosophila*. Nat Immunol 14: 396-403

ウイルス感染は一過性（その生物にとっては致命的である可能性があります）と持続性のある感染に分類することができます。後者の場合は、宿主の免疫系がウイルスを制御しますが、除去することはできません。この研究では、*Drosophila melanogaster* のブロックハウスウイルス（FHV）感染をモデルシステムとして、ウイルスの持続性感染のメカニズムの解明に取り組みました。RNAを介する干渉経路の役割を調査するために、低分子RNAのシーケンス解析を実施しました。著者らは、ウイルスとレトロトランスポゾンDNAのキメラが転写物を生産し、その後RNA機構によりプロセッシングし、その後ウイルス複製を阻害することを発見しました。

イルミナテクノロジー：低分子RNA-SeqによるHiSeq 2000と54bpのペアエンドリードによるゲノムDNA



ブロックハウスウイルス（FHV）感染のモデルシステムとしての*Drosophila melanogaster*³³

Hwang Y. T., Kalischuk M., Fusaro A. F., Waterhouse P. M. and Kawchuk L. (2013) Small RNA sequencing of Potato leafroll virus-infected plants reveals an additional subgenomic RNA encoding a sequence-specific RNA-binding protein. Virology 438: 61-69

ジャガイモ葉捲病ウイルス（PLRV）の転写機構は、3'末端近接遺伝子の発現のために、サブゲノムRNA（sgRNA）を作成します。低分子RNA（sRNA）シーケンス解析により、この研究ではウイルスに感染した植物体から、PLRV由来のsRNAのウイルスカバレッジをマッピングしました。これはポレロウイルス属のウイルスにおいて初めてsgRNAの同定を行った研究であり、他のウイルスゲノムの知見を深める上で役立つと考えられます。

イルミナテクノロジー：Genome Analyzer *ix*

Vereide D. T., Seto E., Chiu Y. F., Hayes M., Tagawa T., et al. (2013) Epstein-Barr virus maintains lymphomas via its miRNAs. Oncogene

エプスタイン・バール・ウイルス（EBV）は活動を休止した細胞をターゲットとし、その増殖を促します。このメカニズムによりウイルス感染した細胞量が増加する一方で、このウイルスの発がん性につながる可能性もあります。このRNAシーケンス解析研究では、他のウイルス由来の発がん遺伝子がない場合にEBVのmiRNAがバーキットリンパ腫を維持し、初代Bリンパ球の形質転換を促進することが明らかになりました。

イルミナテクノロジー：mRNAとRISC免疫沈降mRNAによるGenome Analyzer *ix*

Whisnant A. W., Bogerd H. P., Flores O., Ho P., Powers J. G., et al. (2013) In-depth analysis of the interaction of HIV-1 with cellular microRNA biogenesis and effector mechanisms. MBio 4: e000193

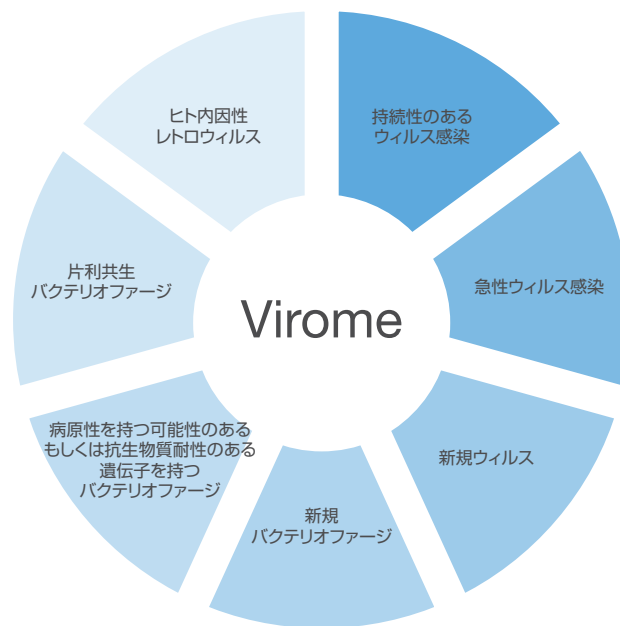
細胞miRNA生合成やエフェクターメカニズムとHIV-1との相互作用については議論的になってきました。この論文で著者らは、2つの異なる感染細胞株と2種の初代ヒト細胞を用いて、低分子RNAのディープシーケンス解析を実施し、HIV-1がいかなるウイルスmiRNAをもコードしていないことを明白にしました。

イルミナテクノロジー：TruSeq低分子RNAキットを用いた、RISC-結合miRNAとRNA-SeqによるHiSeq 2000

³³ Goic B., Vodovar N., Mondotte J. A., Monot C., Frangeul L., et al. (2013) RNA-mediated interference and reverse transcription control the persistence of RNA viruses in the insect model *Drosophila*. Nat Immunol 14: 396-403

- Gunasekharan V. and Laimins L. A. (2013) Human papillomaviruses modulate microRNA 145 expression to directly control genome amplification. *J Virol* 87: 6037-6043
- Guo X. K., Zhang Q., Gao L., Li N., Chen X. X., et al. (2013) Increasing expression of microRNA 181 inhibits porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication and has implications for controlling virus infection. *J Virol* 87: 1159-1171
- Jayachandran B., Hussain M. and Asgari S. (2012) RNA interference as a cellular defense mechanism against the DNA virus baculovirus. *J Virol* 86: 13729-13734
- Kakumani P. K., Ponia S. S., S R. K., Sood V., Chinnappan M., et al. (2013) Role of RNA Interference (RNAi) in Dengue Virus Replication and Identification of NS4B as an RNAi Suppressor. *J Virol* 87: 8870-8883
- Leger P., Lara E., Jagla B., Sismeiro O., Mansuroglu Z., et al. (2013) Dicer-2- and Piwi-mediated RNA interference in Rift Valley fever virus-infected mosquito cells. *J Virol* 87: 1631-1648
- Lin X., Li X., Liang D. and Lan K. (2012) MicroRNAs and unusual small RNAs discovered in Kaposi' s sarcoma-associated herpesvirus virions. *J Virol* 86: 12717-12730
- Majoros W. H., Lekprasert P., Mukherjee N., Skalsky R. L., Corcoran D. L., et al. (2013) MicroRNA target site identification by integrating sequence and binding information. *Nat Methods* 10: 630-633
- Quax T. E., Voet M., Sismeiro O., Dillies M. A., Jagla B., et al. (2013) Massive Activation of Archaeal Defense Genes during Viral Infection. *J Virol* 87: 8419-8428
- Rosewick N., Momont M., Durkin K., Takeda H., Caiment F., et al. (2013) Deep sequencing reveals abundant noncanonical retroviral microRNAs in B-cell leukemia/lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 2306-2311
- Schnettler E., Ratinier M., Watson M., Shaw A. E., McFarlane M., et al. (2013) RNA interference targets arbovirus replication in *Culicoides* cells. *J Virol* 87: 2441-2454
- Stik G., Dambrine G., Pfeffer S. and Rasschaert D. (2013) The oncogenic microRNA OncomiR-21 overexpressed during Marek' s disease lymphomagenesis is transactivated by the viral oncoprotein Meq. *J Virol* 87: 80-93

ヒトバイロームは、真核および原核生物のウイルスを含む、ヒトの体内外で見つかったすべてのウイルスを集めたものです。真核生物のウイルスは、軽症で自己複製能の限られた急性もしくは慢性の感染から、深刻で死にいたる感染までさまざまな感染症を引き起こし、ヒトの健康に重大な影響を及ぼします。原核生物のウイルスは、ヒトの体内外に存在する微生物群の構造か機能に作用することで、その結果ヒトの健康に影響を及ぼします³⁴。



メタゲノムシーケンス解析により特徴付けられる可能性のあるヒトバイロームの構成成分³⁵

参照

- Lipkin W. I. and Firth C. (2013) Viral surveillance and discovery. *Curr Opin Virol* 3: 199-204
- Wylie K. M., Weinstock G. M. and Storch G. A. (2013) Virome genomics: a tool for defining the human virome. *Curr Opin Microbiol* 16: 479-484
- Moon C. and Stappenbeck T. S. (2012) Viral interactions with the host and microbiota in the intestine. *Curr Opin Immunol* 24: 405-410
- Rho M., Wu Y. W., Tang H., Doak T. G. and Ye Y. (2012) Diverse CRISPRs evolving in human microbiomes. *PLoS Genet* 8: e1002441
- Wylie K. M., Weinstock G. M. and Storch G. A. (2012) Emerging view of the human virome. *Transl Res* 160: 283-290

³⁴ Wylie K. M., Weinstock G. M. and Storch G. A. (2012) Emerging view of the human virome. *Transl Res* 160: 283-290

³⁵ Wylie K. M., Weinstock G. M. and Storch G. A. (2012) Emerging view of the human virome. *Transl Res* 160: 283-290

疾病の原因となるウイルスの検出法の改善に加え、ゲノムに基づいた手法により、健康な個人におけるウイルスの分布も明らかになりました。例えば、ピコルナウイルス科に属する2グループ、ライノウイルスと消化管エンテロウイルスが粘膜表面でよく見られました。「1病原菌、1疾病」モデルとは対照的な、ヒトバイロームのより複雑なモデルは、ヒトがほぼ継続的にウイルスにさらされており、症状が現れる場合と現れない場合とがあることを示唆しています。そのためバイロームは環境の重要な一因であり、宿主の遺伝形質と相互作用することで複雑な疾病を引き起こす可能性があるといえます³⁶。

参照

Chiu C. Y. (2013) Viral pathogen discovery. *Curr Opin Microbiol* 16: 468-478

Minot S., Bryson A., Chehoud C., Wu G. D., Lewis J. D., et al. (2013) Rapid evolution of the human gut virome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 12450-12455

Reyes A., Semenkovich N. P., Whiteson K., Rohwer F. and Gordon J. I. (2012) Going viral: next-generation sequencing applied to phage populations in the human gut. *Nat Rev Microbiol* 10: 607-617

参考文献

Grard G., Fair J. N., Lee D., Slikas E., Steffen I., et al. (2012) A novel rhabdovirus associated with acute hemorrhagic fever in central Africa. *PLoS Pathog* 8: e1002924

イルミナのHiSeqシステムによるディープシーケンス解析を用いることで、コンゴ民主共和国で2009年に発生したヒトでの急性出血性熱病の3症例に関与する、新規ラドウイルス（バス・コンゴウイルス、もしくはBASV）が発見されました。唯一生き残った患者の急性期血清サンプルからBASVが検出された後、1億4000万のシーケンスリードからde novoアセンブリが行われました。このウイルスに対する抗体が、3人の患者の世話をしていた看護婦から見つかりました。この看護婦では症状が現れていませんでした。これらのことから、このウイルスがヒトからヒトへ伝染する可能性があることが示唆されました。

イルミナテクノロジー：100bpペアエンドリードによるHiSeq 2000

Kugelman J. R., Lee M. S., Rossi C. A., McCarthy S. E., Radoshitzky S. R., et al. (2012) Ebola virus genome plasticity as a marker of its passaging history: a comparison of in vitro passaging to non-human primate infection. *PLoS ONE* 7: e50316

フィロウイルスに対する医学的対策（MCM）の策定は、生物テロ防御のために非常に優先度の高い問題です。この研究では、エボラウイルス（EBOV）ゲノムの変異性を、細胞培養および制御下で感染させたマカクを用いて調査を実施しました。この研究により、EBOVは、細胞培養した場合と動物に投与した場合とにおいて、ゲノムの異なる明確な部分集団へと進化することが結論付けられました。この発見は、感染症の研究において、細胞培養を用いたモデルと動物を用いたモデルの違いを表す重要な意義を持ちます。

イルミナテクノロジー：76bpペアエンドリードによるcBOTおよびGenome Analyzer IIx

³⁶ Foxman E. F. and Iwasaki A. (2011) Genome-virome interactions: examining the role of common viral infections in complex disease. *Nat Rev Microbiol* 9: 254-264

Kriesel J. D., Hobbs M. R., Jones B. B., Milash B., Nagra R. M., et al. (2012) Deep sequencing for the detection of virus-like sequences in the brains of patients with multiple sclerosis: detection of GBV-C in human brain. PLoS ONE 7: e31886

この研究は、多発性硬化症（MS）で死亡した患者の脳に潜むウイルス感染を検出するためのディープシーケンス解析の有用性を示しています。この研究で用いたディープシーケンス解析は初期のイルミナGenome Analyzer IIのテクノロジーに基づいているので、そのリード長（36bp）の点とライブラリ挿入のシーケンス解析が単一末端からのみ可能であるという点で限界があります。著者らは、リード長の伸張やペアエンド戦略など、シーケンス解析のさらなる改善によって、パイオインフォマティクスの大幅な簡略化が望めると述べています。

イルミナテクノロジー：Genome Analyzer II

Malboeuf C. M., Yang X., Charlebois P., Qu J., Berlin A. M., et al. (2013) Complete viral RNA genome sequencing of ultra-low copy samples by sequence-independent amplification. Nucleic Acids Res 41: e13

従来のウイルス検出法では、シーケンスや抗原についての事前の知識が必要でした。この研究は、シーケンスに依存しないウイルスのRNA増幅と、それに伴うイルミナMiSeqシーケンス解析による検出法を紹介しています。ここで紹介する手法を用いることで、少量のウイルスRNAを含む臨床サンプルから、ほぼ全長のウイルスゲノムを作成することができます。

イルミナテクノロジー：101bpペアエンドリードによるHiSeq 2000

Han Y., Zhang Y., Mei Y., Wang Y., Liu T., et al. (2013) Analysis of hepatitis B virus genotyping and drug resistance gene mutations based on massively parallel sequencing. J Virol Methods 193: 341-347

1種もしくは複数種の抗生物質の投与された395患者から得られた肝炎Bウイルス（HBV）DNAを、HiSeq 2000を用いてシーケンス解析しました。実験は3反復で行われ、結果からHiSeqプラットフォームの高い再現性が明らかとなりました。またPCRシーケンスにより、得られた結果の検証が行われました。著者らは、HiSeqシステムの感度、フィレディティ、スループットが高く、自動化されているため、HBV検査とジェノタイピングにおいて有用な手法だと結論付けました。

イルミナテクノロジー：HiSeq 2000

Grard G., Fair J. N., Lee D., Slikas E., Steffen I., et al. (2012) A novel rhabdovirus associated with acute hemorrhagic fever in central Africa. PLoS Pathog 8: e1002924

Janovitz T., Klein I. A., Oliveira T., Mukherjee P., Nussenzweig M. C., et al. (2013) High-throughput sequencing reveals principles of adeno-associated virus serotype 2 integration. J Virol 87: 8559-8568

Khoury J. D., Tannir N. M., Williams M. D., Chen Y., Yao H., et al. (2013) Landscape of DNA Virus Associations across Human Malignant Cancers: Analysis of 3,775 Cases Using RNA-Seq. J Virol 87: 8916-8926

Lin Z., Wang X., Strong M. J., Concha M., Baddoo M., et al. (2013) Whole-genome sequencing of the Akata and Mutu Epstein-Barr virus strains. J Virol 87: 1172-1182

Sanchez-Sampedro L., Gomez C. E., Mejias-Perez E., Perez-Jimenez E., Oliveros J. C., et al. (2013) Attenuated and replication-competent vaccinia virus strains M65 and M101 with distinct biology and immunogenicity as potential vaccine candidates against pathogens. J Virol 87: 6955-6974

Stern A., Mick E., Tirosh I., Sagy O. and Sorek R. (2012) CRISPR targeting reveals a reservoir of common phages associated with the human gut microbiome. Genome Res 22: 1985-1994

Yang H., Zhu J., Li H., Xiao L., Wang J., et al. (2012) Full genome sequence of bluetongue virus serotype 4 from China. J Virol 86: 13122-13123

Yu G., Greninger A. L., Isa P., Phan T. G., Martinez M. A., et al. (2012) Discovery of a novel polyomavirus in acute diarrheal samples from children. PLoS ONE 7: e49449

ウイルスは家畜における重要な病原体です。ウイルスは口蹄疫やブルータンクなど、経済上深刻な疾病を引き起こします³⁷。貿易が盛んになるにつれ、動物において深刻な疾病の原因となるウイルスに家畜がさらされつつあります³⁸。

参照

Lipkin W. I. (2013) The changing face of pathogen discovery and surveillance. *Nat Rev Microbiol* 11: 133-141

Lipkin W. I. and Firth C. (2013) Viral surveillance and discovery. *Curr Opin Virol* 3: 199-204

参考文献

Biek R., O' Hare A., Wright D., Mallon T., McCormick C., et al. (2012) Whole genome sequencing reveals local transmission patterns of *Mycobacterium bovis* in sympatric cattle and badger populations. *PLoS Pathog* 8: e1003008

畜牛におけるウシ結核 (bTB) の発生は損失が大きく、この疾病に対処する上でも、伝染の原理に関する詳細な知見が必要とされています。bTBは畜牛もしくはアナグマが共にキャリアとなるため、その疫学に関する分析がより複雑になります。この研究では、地理的に近い畜牛の5群と4匹のアナグマからbTBサンプルを得て、さらにそれらをまとめることでbTPの発生と拡散の特性を検査しました。*Mycobacterium bovis*ゲノム中に含まれるタンデム反復数 (VNTR) 領域に基づいて、それぞれのbTB単離株が同定されました。その結果、地理的に距離の近い範囲で得られたサンプルでは、一塩基多型 (SNP) が合致していることが明らかとなりました。

イルミナテクノロジー：70bpペアエンドリードによるGenome Analyzer II



ウシ結核 (bTB) は畜牛もしくはアナグマが共にキャリアとなるため、その疫学に関する分析が複雑となっています³⁹。

Blasdel K. R., Voysey R., Bulach D. M., Trinidad L., Tesh R. B., et al. (2012) Malakal virus from Africa and Kimberley virus from Australia are geographic variants of a widely distributed ephemerovirus. *Virology* 433: 236-244

キンバリーウイルス (KIMV) とマラカルウイルス (MALV) はオーストラリアとスーダンでそれぞれ初めて単離されました。この研究では、イルミナシーケンス解析により、この2種のウイルスゲノムの特性を調べ、それぞれのゲノム構造と発現プロファイルの比較を行いました。高いアミノ酸レベルでの相同性が確認され、同様の発現プロファイルが見られたことから、KIMVとMALVが同一のエフェメロウイルスの地理的な変異体であることが示唆されました。

イルミナテクノロジー：1,000倍以上のカバレッジでの101bpペアエンドリードによるGenome Analyzer IIx

³⁷ Rao P. P., Reddy Y. N., Ganesh K., Nair S. G., Niranjana V., et al. (2013) Deep sequencing as a method of typing bluetongue virus isolates. *J Virol Methods* 193: 314-319

³⁸ Goris N., Vandenbussche F. and De Clercq K. (2008) Potential of antiviral therapy and prophylaxis for controlling RNA viral infections of livestock. *Antiviral Res* 78: 170-178

³⁹ Biek R., O'Hare A., Wright D., Mallon T., McCormick C., et al. (2012) Whole genome sequencing reveals local transmission patterns of *Mycobacterium bovis* in sympatric cattle and badger populations. *PLoS Pathog* 8: e1003008

Blasdell K. R., Voysey R., Bulach D., Joubert D. A., Tesh R. B., et al. (2012) Kotonkan and Obodhiang viruses: African ephemeroviruses with large and complex genomes. *Virology* 425: 143-153

KOTVとOBOVはアフリカの節足動物から単離されたラプトウィルスで、以前はリッサウィルスに分類されていました。しかしこれらウィルスが共に、狂犬病ウィルスや狂犬病関与ウィルスと交差反応をすることが示されており、その病原性に関する知見は不足していました。この研究により、KOTVとOBOVの完全長ゲノムシーケンスとその発現プロファイルが明らかとなり、他のラプトウィルスとの系統学的関係が解析されました。遺伝学、また血清学によるデータは、この2種のウィルスが共にエフェメロウィルス属の新しい種に分類されるべきであることを示しました。

イルミナテクノロジー：101bpペアエンドリードによるGenome Analyzer_{IIx}

Vasilakis N., Widen S., Mayer S. V., Seymour R., Wood T. G., et al. (2013) Niakha virus: A novel member of the family Rhabdoviridae isolated from phlebotomine sandflies in Senegal. *Virology*

この研究では、Niakhaウィルス (NIAV) のゲノムの特性を調査しました。このウィルスは、セネガルのサシチョウバエから単離されましたが、これまでその特性は知られていませんでした。イルミナのHiSeqシステムを用いてウィルスRNAのシーケンス解析を実施し、アセンブリの後、他のラプトウィルスのゲノムと比較しました。系統学的な分析により、このNIAVウィルスが、現在同定されているラプトウィルス属の8種すべてと系統学的に異なっていることが明らかになりました。

イルミナテクノロジー：50bpペアエンドリードによるHiSeq 1000

Bodewes R., van der Giessen J., Haagmans B. L., Osterhaus A. D. and Smits S. L. (2013) Identification of multiple novel viruses, including a parvovirus and a hepevirus, in feces of red foxes. *J Virol* 87: 7758-7764

Fan W. L., Ng C. S., Chen C. F., Lu M. Y., Chen Y. H., et al. (2013) Genome-wide patterns of genetic variation in two domestic chickens. *Genome Biol Evol* 5: 1376-1392, Ramasubramanian S., Kanhere A., Osborn K., Flower K., Jenner R. G., et al. (2012) Genome-wide analyses of Zta binding to the Epstein-Barr virus genome reveals interactions in both early and late lytic cycles and an epigenetic switch leading to an altered binding profile. *J Virol* 86: 12494-12502

Lauck M., Sibley S. D., Hyeroba D., Tumukunde A., Weny G., et al. (2013) Exceptional simian hemorrhagic fever virus diversity in a wild African primate community. *J Virol* 87: 688-691

Leon A. J., Banner D., Xu L., Ran L., Peng Z., et al. (2013) Sequencing, annotation, and characterization of the influenza ferret infectome. *J Virol* 87: 1957-1966

Ramasubramanian S., Kanhere A., Osborn K., Flower K., Jenner R. G., et al. (2012) Genome-wide analyses of Zta binding to the Epstein-Barr virus genome reveals interactions in both early and late lytic cycles and an epigenetic switch leading to an altered binding profile. *J Virol* 86: 12494-12502

Rao P. P., Reddy Y. N., Ganesh K., Nair S. G., Niranjan V., et al. (2013) Deep sequencing as a method of typing bluetongue virus isolates. *J Virol Methods* 193: 314-319

Schnettler E., Ratniner M., Watson M., Shaw A. E., McFarlane M., et al. (2013) RNA interference targets arbovirus replication in *Culicoides* cells. *J Virol* 87: 2441-2454

Squire M. M., Carter G. P., Mackin K. E., Chakravorty A., Noren T., et al. (2013) Novel molecular type of *Clostridium difficile* in neonatal pigs, Western Australia. *Emerg Infect Dis* 19: 790-792

Subramaniam S., Johnston J., Preyanon L., Brown C. T., Kung H. J., et al. (2013) Integrated Analyses of Genome-Wide DNA Occupancy and Expression Profiling Identify Key Genes and Pathways Involved in Cellular Transformation by a Marek's Disease Virus Oncoprotein, Meq. *J Virol* 87: 9016-9029

Wilkie G. S., Davison A. J., Watson M., Kerr K., Sanderson S., et al. (2013) Complete genome sequences of elephant endotheliotropic herpesviruses 1A and 1B determined directly from fatal cases. *J Virol* 87: 6700-6712

植物は、ウイルス転写物など核酸の侵入に対して、明確な防衛メカニズムを持っています⁴⁰。サイレンシング経路は極めて複雑ですが、エフェクター複合体のステップや特性は、種間で、また種内でさえ異なっています^{41, 42}。

Bronkhorst A. W., van Cleef K. W., Vodovar N., Ince I. A., Blanc H., et al. (2012) The DNA virus Invertebrate iridescent virus 6 is a target of the *Drosophila* RNAi machinery. Proc Natl Acad Sci U S A 109: E3604-3613

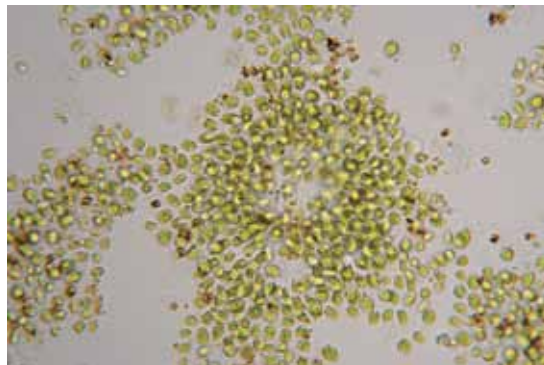
昆虫のRNAウイルスは、RNA干渉 (RNAi) に基づいた抗ウイルス免疫応答をターゲットとします。この研究では、無脊椎動物イリデセントウイルス6 (IIV-6) を感染させた*Drosophila melanogaster*をモデルとして、DNAウイルス感染の際のRNAiの役割について調査を行いました。dsRNAがプロセシングされてウイルス低分子干渉RNA (vsiRNA) になるかどうかを調べるために、低分子RNAをイルミナのGenome Analyzerを用いてシーケンス解析しました。得られたデータは、数多くのvsiRNAがRNAi経路に依存的に生産されており、dsDNAウイルスに対してRNAiが抗ウイルス防衛システムとして作用していることを示唆しました。

イルミナテクノロジー：低分子RNAライブラリーによるGenome Analyzer IIx

Rowe J. M., Dunigan D. D., Blanc G., Gurnon J. R., Xia Y., et al. (2013) Evaluation of higher plant virus resistance genes in the green alga, *Chlorella variabilis* NC64A, during the early phase of infection with *Paramecium bursaria* chlorella virus-1. Virology 442: 101-113

業界の藻類およびその水生系での重要な役割に対する興味が高まるにつれ、藻類の病原体の影響を理解する必要性が増加しつつあります。藻類の宿主-ウイルスのモデルシステムにおいて、イルミナのRNAシーケンス解析を適用することで、高等植物におけるRNAサイレンシングやウイルス応答に関連する遺伝子と相同性を示す遺伝子の発現を測定しました。この手法を用いた結果、健全な藻類細胞および感染した藻類細胞から、それぞれ325と375の相同遺伝子を検出したことから、ウイルス感染に応答するために、藻類でもRNAサイレンシングが行われている可能性が示唆されました。

イルミナテクノロジー：51bpリードを用いたRNA-SeqによるGenome Analyzer IIx



緑藻*Chlorella variabilis*が、植物のウイルス耐性のモデルシステムとして用いられました⁴³。

⁴⁰ Lai M. M. (1992) RNA recombination in animal and plant viruses. Microbiol Rev 56: 61-79

⁴¹ Alvarado V. and Scholthof H. B. (2009) Plant responses against invasive nucleic acids: RNA silencing and its suppression by plant viral pathogens. Semin Cell Dev Biol 20: 1032-1040

⁴² Maree H. J., Almeida R. P., Bester R., Chooi K. M., Cohen D., et al. (2013) Grapevine leafroll-associated virus 3. Front Microbiol 4: 82

⁴³ Rowe J. M., Dunigan D. D., Blanc G., Gurnon J. R., Xia Y., et al. (2013) Evaluation of higher plant virus resistance genes in the green alga, *Chlorella variabilis* NC64A, during the early phase of infection with *Paramecium bursaria* chlorella virus-1. Virology 442: 101-113

Zhang Z., Zhang P., Li W., Zhang J., Huang F., et al. (2013) De novo transcriptome sequencing in *Frankliniella occidentalis* to identify genes involved in plant virus transmission and insecticide resistance. *Genomics* 101: 296-305

ミカンキイロアザミウマ (WFT) は、摂食により直接的に、およびトマト黄化壊そウイルス (TSWV) などのトスポウィルスの媒介により間接的に、世界的な農業における被害を及ぼす昆虫です。この研究ではRNAシーケンスにイルミナのHiSeqシステムを用いて、TSWV感染への応答におけるWFTのトランスクリプトーム解析および遺伝子発現差異解析が行われました。著者らは、TSWVが細胞プロセスおよび免疫応答を制御することが可能であることを解明し、その宿主であるWFTに対して有害な影響を及ぼさないメカニズムが存在することを示しました。

イルミナテクノロジー : RNA-SeqによるHiSeq 2000

Hwang Y. T., Kalischuk M., Fusaro A. F., Waterhouse P. M. and Kawchuk L. (2013) Small RNA sequencing of Potato leafroll virus-infected plants reveals an additional subgenomic RNA encoding a sequence-specific RNA-binding protein. *Virology* 438: 61-69

Loconsole G., Onelge N., Potere O., Giampetruzzi A., Bozan O., et al. (2012) Identification and characterization of citrus yellow vein clearing virus, a putative new member of the genus *Mandarivirus*. *Phytopathology* 102: 1168-1175

Maree H. J., Almeida R. P., Bester R., Chooi K. M., Cohen D., et al. (2013) Grapevine leafroll-associated virus 3. *Front Microbiol* 4: 82

Roy A., Choudhary N., Guillermo L. M., Shao J., Govindarajulu A., et al. (2013) A novel virus of the genus *Cilevirus* causing symptoms similar to citrus leprosis. *Phytopathology* 103: 488-500

Roy A., Stone A., Otero-Colina G., Wei G., Choudhary N., et al. (2013) Genome assembly of citrus leprosis virus nuclear type reveals a close association with orchid fleck virus. *Genome Announc* 1:

低分子RNAゲノムや形態学的に脊椎動物のピコルナウイルスに類似する昆虫ウイルスが数多く同定されてきました。これらには、深刻な有害性を持たずに潜伏性の感染を引き起こすだけのウイルスもあれば、その他のウイルスは宿主に有害、もしくは死にいたる感染をもたらす可能性のあるウイルスもあります⁴⁴。

参考文献

Perera O. P., Snodgrass G. L., Allen K. C., Jackson R. E., Becnel J. J., et al. (2012) The complete genome sequence of a single-stranded RNA virus from the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois). *J Invertebr Pathol* 109: 11-19

著者らは、感染した昆虫から調製したcDNAをシーケンス解析することで、1本鎖RNAウイルス（LyLV-1）の完全長ゲノムシーケンスを作成しました。ミツバチサックブルドウイルス（SBV）ゲノムと高い相同性が見られ、またFlaviridae科のウイルスと同様のゲノム構造やアミノ酸配列を示したため、LyLV-1がこの科に属する新規メンバーであることが示されました。

イルミナテクノロジー：36bpリードによるGenome Analyzer //

Murakami R., Suetsugu Y., Kobayashi T. and Nakashima N. (2013) The genome sequence and transmission of an iflavirus from the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Virus Res* 176: 179-187

トビイロウンカは、イネへ直接被害を及ぼすと共に、この植物体ヘイネラギッドスタントウイルスやイネグラッシースタントウイルスなどのウイルスを伝播するため、イネの最も重要な害虫の一つといえます。この研究では、以前は知られていなかったイフラウイルスがトビイロウンカの飼育株から同定されました。このウイルスおよびその宿主の特性がシーケンス解析により明らかにされ、伝染検査により、ウイルスが水平伝播を行うことが明らかになりました。

イルミナテクノロジー：mRNA-SeqによるHiSeq 2000

Bronkhorst A. W., van Cleef K. W., Vodovar N., Ince I. A., Blanc H., et al. (2012) The DNA virus Invertebrate iridescent virus 6 is a target of the *Drosophila* RNAi machinery. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: E3604-3613

昆虫のRNAウイルスは、RNA干渉（RNAi）に基づいた抗ウイルス免疫応答をターゲットとします。この研究では、無脊椎動物イリデセントウイルス6（IIV-6）を感染させた*Drosophila melanogaster*をモデルとして、DNAウイルス感染の際のRNAiの役割について調査を行いました。dsRNAがプロセシングされてウイルス低分子干渉RNA（vsiRNA）になるかどうかを調べるために、低分子RNAをイルミナのGenome Analyzerを用いてシーケンス解析しました。得られたデータは、数多くのvsiRNAがRNAi経路に依存的に生産されており、dsDNAウイルスに対してRNAiが抗ウイルス防衛システムとして作用していることを示唆しました。

イルミナテクノロジー：低分子RNAライブラリーによるGenome Analyzer //x

Etebari K., Hussain M. and Asgari S. (2013) Identification of microRNAs from *Plutella xylostella* larvae associated with parasitization by *Diadegma semiclausum*. *Insect Biochem Mol Biol* 43: 309-318

Goic B., Vodovar N., Mondotte J. A., Monot C., Frangeul L., et al. (2013) RNA-mediated interference and reverse transcription control the persistence of RNA viruses in the insect model *Drosophila*. *Nat Immunol* 14: 396-403

Vasilakis N., Forrester N. L., Palacios G., Nasar F., Savji N., et al. (2013) Negevirus: a proposed new taxon of insect-specific viruses with wide geographic distribution. *J Virol* 87: 2475-2488

⁴⁴ Perera O. P., Snodgrass G. L., Allen K. C., Jackson R. E., Becnel J. J., et al. (2012) The complete genome sequence of a single-stranded RNA virus from the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois). *J Invertebr Pathol* 109: 11-19

バクテリオファージ（ファージ）は細菌に感染し、微生物群集を形作る上で重要な役割を果たします⁴⁵。この群集の遺伝的な多様性は非常に幅広く、そのためファージは何十億年にわたり進化を続けてきたと考えられます。頻繁な遺伝子の水平伝播の結果、その構造のモザイク型が浸透し、また新規細菌病原体が出現することとなりました。例えば、病原菌である*E. coli*の血清型O104:H4のラムダプロファージは志賀毒素を持っており、近年ドイツで大発生しました⁴⁶。また逆に、近年の抗生物質耐性を持つ細菌増加の危機により、感染制御に対するファージ治療や生物防御アプローチへの関心が高まりつつあります⁴⁷。次世代シーケンサーの登場は、この先数年のファージゲノム探索が非常に意義深いものになると期待されています⁴⁸。

Bacteriophages represent an absolute majority of all organisms in the biosphere.
Hatfull et al. 2011



バクテリオファージの図解

バクテリオファージ分布の規模とその影響は劇的である可能性があります。例えば、全世界の海の第一次生産の半分はたった2種のシアノバクテリアのクレイドである*Prochlorococcus*と*Synechococcus*によるものです。そのシアノバクテリアの40%~50%がシアノファージに感染し、このファージは日々その宿主であるシアノバクテリアの10%~50%を死にいたらしめると考えられています。これにより、細菌が耐性を獲得につれ速やかに多様化が進み、また細菌の細胞が溶菌するにしたがって利用可能な溶解炭素を生産します。

この継続的なファージ捕食の脅威が「軍備競争」をもたらしました。これにより細菌は幅広い免疫メカニズムを獲得し、ファージは多様な免疫侵入戦略を進化させました⁴⁹。外来の核酸に対して、真正細菌と古細菌が最初に用いる防衛戦略は、Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) 座位に基づいています。これらの座位がCRISPR関連 (Cas) 遺伝子と共にCRISPR/Cas適応性免疫システムを形成します^{50, 51, 52}。

⁴⁵ Reyes A., Semenkovich N. P., Whiteson K., Rohwer F. and Gordon J. I. (2012) Going viral: next-generation sequencing applied to phage populations in the human gut. *Nat Rev Microbiol* 10: 607-617

⁴⁶ Muniesa M., Hammerl J. A., Hertwig S., Appel B. and Brüssow H. (2012) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4: a new challenge for microbiology. *Appl Environ Microbiol* 78: 4065-4073

⁴⁷ Fernandes P. (2006) Antibacterial discovery and development--the failure of success? *Nat Biotechnol* 24: 1497-1503

⁴⁸ Hatfull G. F. and Hendrix R. W. (2011) Bacteriophages and their genomes. *Curr Opin Virol* 1: 298-303

⁴⁹ Seed K. D., Lazinski D. W., Calderwood S. B. and Camilli A. (2013) A bacteriophage encodes its own CRISPR/Cas adaptive response to evade host innate immunity. *Nature* 494: 489-491

⁵⁰ Horvath P. and Barrangou R. (2010) CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. *Science* 327: 167-170

⁵¹ Horvath P. and Barrangou R. (2010) CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. *Science* 327: 167-170

⁵² Hale C. R., Zhao P., Olson S., Duff M. O., Graveley B. R., et al. (2009) RNA-guided RNA cleavage by a CRISPR RNA-Cas protein complex. *Cell* 139: 945-956

参照

Bondy-Denomy J., Pawluk A., Maxwell K. L. and Davidson A. R. (2013) Bacteriophage genes that inactivate the CRISPR/Cas bacterial immune system. *Nature* 493: 429-432

Klumpp J., Fouts D. E. and Sozhamannan S. (2013) Bacteriophage functional genomics and its role in bacterial pathogen detection. *Brief Funct Genomics* 12: 354-365

Reyes A., Semenkovich N. P., Whiteson K., Rohwer F. and Gordon J. I. (2012) Going viral: next-generation sequencing applied to phage populations in the human gut. *Nat Rev Microbiol* 10: 607-617

参考文献

Wang J., Qi J., Zhao H., He S., Zhang Y., et al. (2013) Metagenomic sequencing reveals microbiota and its functional potential associated with periodontal disease. *Sci Rep* 3: 1843

口腔微生物群集は、口腔衛生に重大な影響を及ぼす可能性があります。この研究では歯のぬぐい液と歯垢から16サンプルを採取し、微生物群集の構成成分とその変化の調査を行いました。リードの約0.16%が、*Actinomyces*や*Streptococcus*のファージ由来であることが判明しました。サンプルのそれぞれのグループに複数の異なる*Actinomyces*ファージが含まれていました。

イルミナテクノロジー：100bpペアエンドリードによるHiSeq 2000およびcBOT

Rho M., Wu Y. W., Tang H., Doak T. G. and Ye Y. (2012) Diverse CRISPRs evolving in human microbiomes. *PLoS Genet* 8: e1002441

ほとんどの古細菌と多くの細菌ゲノムでは、ウィルスや接合性プラスミドに対して、CRISPRとCas遺伝子が耐性を付与しています。ヒトの微生物群集における既知のCRISPRの分布と多様性が、Human Microbiomeプロジェクトのデータセットに基づいて研究されました。CRISPR座位の詳細は、稀な種をたどる場合や、個人がウィルスにさらされた場合に用いることができます。

イルミナテクノロジー：Human MicrobiomeイルミナWGSリード（HMIGWS）Build 1.0

McCallin S., Alam Sarker S., Barretto C., Sultana S., Berger B., et al. (2013) Safety analysis of a Russian phage cocktail: From MetaGenomic analysis to oral application in healthy human subjects. *Virology* 443: 187-196

バクテリオファージ治療（ファージ治療）は細菌感染に対する抗生物質を用いた処置の代替治療です。バクテリオファージは細菌に感染するウィルスで、バクテリア宿主細胞を溶菌します。ロシアの製薬会社が細菌感染の治療薬として、処方箋を必要としない（OTC）ファージ製品を液体または錠剤で生産しました。この研究ではこれら製品の1つに含まれるウィルス含有物を、イルミナシーケンス解析により調査しました。この解析により18の異なるファージ型が検出され、シーケンス解析では望まれない遺伝子は検出されませんでした。

イルミナテクノロジー：100bpペアエンドリードによるHiSeq 2000

Delaney N. F., Balenger S., Bonneaud C., Marx C. J., Hill G. E., et al. (2012) Ultrafast evolution and loss of CRISPRs following a host shift in a novel wildlife pathogen, *Mycoplasma gallisepticum*. *PLoS Genet* 8: e1002511

Holmfeldt K., Solonenko N., Shah M., Corrier K., Riemann L., et al. (2013) Twelve previously unknown phage genera are ubiquitous in global oceans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 12798-12803

Jeon J., Kim J. W., Yong D., Lee K. and Chong Y. (2012) Complete genome sequence of the bacteriophage YMC01/01/P52 PAE BP, which causes lysis of verona integrin-encoded metallo-beta-lactamase-producing, carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Virol* 86: 13876-13877

Rho M., Wu Y. W., Tang H., Doak T. G. and Ye Y. (2012) Diverse CRISPRs evolving in human microbiomes. *PLoS Genet* 8: e1002441

Sabehi G., Shaulov L., Silver D. H., Yanai I., Harel A., et al. (2012) A novel lineage of myoviruses infecting cyanobacteria is widespread in the oceans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 2037-2042



シアノバクテリア⁵³

Stern A., Mick E., Tirosh I., Sagy O. and Sorek R. (2012) CRISPR targeting reveals a reservoir of common phages associated with the human gut microbiome. *Genome Res* 22: 1985-1994

Zhang J., Rouillon C., Kerou M., Reeks J., Brugger K., et al. (2012) Structure and mechanism of the CMR complex for CRISPR-mediated antiviral immunity. *Mol Cell* 45: 303-313

⁵³ Sabehi G., Shaulov L., Silver D. H., Yanai I., Harel A., et al. (2012) A novel lineage of myoviruses infecting cyanobacteria is widespread in the oceans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 2037-2042

ワクチン

ウイルスは、異質で複雑な群集として存在し、そのゲノムは類似しているものの相通的ではありません。次世代シーケンサーを用いることで、稀なメンバーを含め、群集の特性を非常に正確に解析することができます⁵⁴。また宿主の免疫応答やT細胞応答・メモリーを測定することも可能です⁵⁵、⁵⁶。宿主-病原体応答をより深く理解することにより、ワクチン開発のスピードや成功率が上昇すると考えられます。

参考文献

Glass E. J., Baxter R., Leach R. J. and Jann O. C. (2012) Genes controlling vaccine responses and disease resistance to respiratory viral pathogens in cattle. *Vet Immunol Immunopathol* 148: 90-99

家畜は風土性ウイルス、外来ウイルス、新規出現ウイルスからの危険にさらされています。そのコントロール措置としては、効果のあるワクチンの開発や疾病の影響を受けにくい、およびまたはワクチンに良好な応答を示す動物の選択的な繁殖などが挙げられます。この総説では、実際に現場で適用されているさまざまなアプローチを述べるとともに、なぜ感染症耐性とワクチン応答に関する表現型を同定するのが困難であるかの説明をしています。開発の成功例として、著者らはイルミナのBovine 50 BeadChipを用いたより分解能の高いジェノタイピングにも言及しています。

イルミナテクノロジー：Bovine 50 BeadChip



家畜は風土性ウイルス、外来ウイルス、新規出現ウイルスからの危険にさらされています⁵⁷。

Zust R., Dong H., Li X. F., Chang D. C., Zhang B., et al. (2013) Rational design of a live attenuated dengue vaccine: 2'-o-methyltransferase mutants are highly attenuated and immunogenic in mice and macaques. *PLoS Pathog* 9: e1003521

Killip M. J., Young D. F., Gatherer D., Ross C. S., Short J. A., et al. (2013) Deep sequencing analysis of defective genomes of parainfluenza virus 5 and their role in interferon induction. *J Virol* 87: 4798-4807

Vaccari M., Halwani R., Patterson L. J., Boasso A., Beal J., et al. (2013) Antibodies to gp120 and PD-1 expression on virus-specific CD8+ T cells in protection from simian AIDS. *J Virol* 87: 3526-3537

Sanchez-Sampedro L., Gomez C. E., Mejias-Perez E., Perez-Jimenez E., Oliveros J. C., et al. (2013) Attenuated and replication-competent vaccinia virus strains M65 and M101 with distinct biology and immunogenicity as potential vaccine candidates against pathogens. *J Virol* 87: 6955-6974

⁵⁴ Wright C. F., Morelli M. J., Thebaud G., Knowles N. J., Herzyk P., et al. (2011) Beyond the consensus: dissecting within-host viral population diversity of foot-and-mouth disease virus by using next-generation genome sequencing. *J Virol* 85: 2266-2275

⁵⁵ Marsh A. K., Willer D. O., Ambagala A. P., Dzamba M., Chan J. K., et al. (2011) Genomic sequencing and characterization of cynomolgus macaque cytomegalovirus. *J Virol* 85: 12995-13009

⁵⁶ Yamamoto T., Johnson M. J., Price D. A., Wolinsky D. I., Almeida J. R., et al. (2012) Virus inhibition activity of effector memory CD8(+) T cells determines simian immunodeficiency virus load in vaccinated monkeys after vaccine breakthrough infection. *J Virol* 86: 5877-5884

⁵⁷ Glass E. J., Baxter R., Leach R. J. and Jann O. C. (2012) Genes controlling vaccine responses and disease resistance to respiratory viral pathogens in cattle. *Vet Immunol Immunopathol* 148: 90-99

共生

密接な共生の進化のためには、異なるパートナーゲノム間で、そのゲノムコンテンツと遺伝子発現が協調する必要があります。この協調により、それぞれの生物体の能力が融合し、1つの統合した代謝が生まれるのです。3方向性の共生が巨視的および微視的な生態系において報告されています。例えば、エンドウヒゲナガアブラムシ中に生息する共生細菌は、アブラムシをスズメバチから保護します。この共生がなければ、スズメバチはアブラムシの血体腔中に産卵してしまいます。この保護作用は、ファージがコードし、細菌が発現する毒素によるものです⁵⁸。

参考文献

表2 | ヒト微生物群集における、細菌、真核微生物、そしてウイルスの特性

特性	細菌	ウイルス	真核微生物
ゲノムサイズ	0.5~10Mbp	1~1,000Kbp	10~50Mbp
ヒト微生物群集中の分類群数	最低1,000	未知だが細菌と同程度	未知だが細菌よりも少ない
相対存在量	非常に変化しやすい	非常に変化しやすい	未知
検出法	5Sや16S rRNA遺伝子のシーケンス解析	遺伝子への普遍的な手法はないが、いくつかについてはポリメラーゼ連鎖反応	18S rRNA遺伝子もしくはrRNAスパーサー領域のシーケンス解析
分析のためのショットガンアプローチ	リファレンスゲノムへのアライメントもしくはデータベース比較	データベース比較	リファレンスゲノムへのアライメントもしくはデータベース比較
亜種もしくは株の多様性	中程度のシーケンス変異、遺伝子の水平伝播が寄与	高いシーケンス変異	未知

Adapted from Weinstock G. M. (2012)⁵⁹

⁵⁸ Oliver K. M., Degnan P. H., Hunter M. S. and Moran N. A. (2009) Bacteriophages encode factors required for protection in a symbiotic mutualism. *Science* 325: 992-994

⁵⁹ Weinstock G. M. (2012) Genomic approaches to studying the human microbiota. *Nature* 489: 250-256

用語と略語の解説

archaea	細胞核や他の膜で囲まれたオルガネラを細胞中に持たない単細胞微生物
BASV	バス・コンゴウィルス、ラブドウィルスの一種
bTB	ウシ結核
Cas	CRISPR関連
CRISPR	Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats
EBOV	エボラウィルス
EBV	エプスタイン・バーン・ウィルス
HBV	肝炎Bウィルス
FFPE	ホルマリン固定パラフィン包埋
FHV	フロックスハウスウィルス
HPV	ヒトパピローマウィルス
IIV	無脊椎動物イリデセントウィルス
KIMV	キンバリーウィルス
KOTV	コットンカンウィルス
MALV	マラカルウィルス
MCM	医学的対策
NIAV	Niakhaウィルス
OBOV	オボジャングウィルス
PDV	ポリドナウィルス
PLRV	ジャガイモ葉捲病ウィルス
PML	前骨髄球形白血病
PyV	ポリオーマウィルス
quasispecies	野生型 (WT) と変異体のゲノムが変異と淘汰の平衡状態において集まっているか交じり合っていること
SAdV	シミアンアデノウィルス
SBV	ミツバチサックブルド (腐疽病) ウィルス
SISPA	シーケンス非依存の単一プライマー増幅
SNP	一塩基多型
TDAV	セーラー病随伴ウィルス
TMAdV	titi monkeyアデノウィルス
TSWV	トマト黄化壊そウィルス
virome	微生物群集において、宿主に生息または感染するすべてのウィルスの総和。これらウィルスは、3つの生物ドメインに属するどの生物に感染するかによってさらに分類することができる (細菌バイローム、バクテリオファージ、もしくは真核バイローム)。
VNTR	タンデム反復数
VSV	水疱性口内炎ウィルス
vsRNA	ウィルス低分子干渉RNA
WFT	ミカンキイロアザミウマ
WT	野生株
zoonoses	人畜共通伝染病

- Al Rwahnih M., Dolja V. V., Daubert S., Koonin E. V. and Rowhani A. (2012) Genomic and biological analysis of Grapevine leafroll- associated virus 7 reveals a possible new genus within the family Closteroviridae. *Virus Res* 163: 302-309
- Alvarado V. and Scholthof H. B. (2009) Plant responses against invasive nucleic acids: RNA silencing and its suppression by plant viral pathogens. *Semin Cell Dev Biol* 20: 1032-1040
- Anthony S. J., Epstein J. H., Murray K. A., Navarrete-Macias I., Zambrana-Torrel C. M., et al. (2013) A strategy to estimate unknown viral diversity in mammals. *MBio* 4:
- Baker K. S., Leggett R. M., Bexfield N. H., Alston M., Daly G., et al. (2013) Metagenomic study of the viruses of African straw-coloured fruit bats: detection of a chiropteran poxvirus and isolation of a novel adenovirus. *Virology* 441: 95-106
- Biek R., O'Hare A., Wright D., Mallon T., McCormick C., et al. (2012) Whole genome sequencing reveals local transmission patterns of *Mycobacterium bovis* in sympatric cattle and badger populations. *PLoS Pathog* 8: e1003008
- Blasdel K. R., Voysey R., Bulach D., Joubert D. A., Tesh R. B., et al. (2012) Kotonkan and Obodhiang viruses: African ephemeroviruses with large and complex genomes. *Virology* 425: 143-153
- Blasdel K. R., Voysey R., Bulach D. M., Trinidad L., Tesh R. B., et al. (2012) Malakal virus from Africa and Kimberley virus from Australia are geographic variants of a widely distributed ephemerovirus. *Virology* 433: 236-244
- Bodewes R., van der Giessen J., Haagmans B. L., Osterhaus A. D. and Smits S. L. (2013) Identification of multiple novel viruses, including a parvovirus and a hepevirus, in feces of red foxes. *J Virol* 87: 7758-7764
- Bondy-Denomy J., Pawluk A., Maxwell K. L. and Davidson A. R. (2013) Bacteriophage genes that inactivate the CRISPR/Cas bacterial immune system. *Nature* 493: 429-432
- Bronkhorst A. W., van Cleef K. W., Vodovar N., Ince I. A., Blanc H., et al. (2012) The DNA virus Invertebrate iridescent virus 6 is a target of the *Drosophila* RNAi machinery. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: E3604-3613
- Bull J. J., Meyers L. A. and Lachmann M. (2005) Quasispecies made simple. *PLoS Comput Biol* 1: e61
- Celsi F., Catamo E., Kleiner G., Tricarico P. M., Vuch J., et al. (2013) HLA-G/C, miRNAs, and their role in HIV infection and replication. *Biomed Res Int* 2013: 693643
- Chandriani S., Skewes-Cox P., Zhong W., Ganem D. E., Divers T. J., et al. (2013) Identification of a previously undescribed divergent virus from the Flaviviridae family in an outbreak of equine serum hepatitis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: E1407-1415
- Chen E. C., Yagi S., Kelly K. R., Mendoza S. P., Tarara R. P., et al. (2011) Cross-species transmission of a novel adenovirus associated with a fulminant pneumonia outbreak in a new world monkey colony. *PLoS Pathog* 7: e1002155
- Chiu C. Y. (2013) Viral pathogen discovery. *Curr Opin Microbiol* 16: 468-478
- Chiu C. Y., Yagi S., Lu X., Yu G., Chen E. C., et al. (2013) A novel adenovirus species associated with an acute respiratory outbreak in a baboon colony and evidence of coincident human infection. *MBio* 4: e00084
- Colson P., Fancello L., Gimenez G., Armougom F., Desnues C., et al. (2013) Evidence of the megavirome in humans. *J Clin Virol* 57: 191-200
- Conway C., Chalkley R., High A., MacLennan K., Berri S., et al. (2012) Next-generation sequencing for simultaneous determination of human papillomavirus load, subtype, and associated genomic copy number changes in tumors. *J Mol Diagn* 14: 104-111
- Delaney N. F., Balenger S., Bonneaud C., Marx C. J., Hill G. E., et al. (2012) Ultrafast evolution and loss of CRISPRs following a host shift in a novel wildlife pathogen, *Mycoplasma gallisepticum*. *PLoS Genet* 8: e1002511
- Depew J., Zhou B., McCarrison J. M., Wentworth D. E., Purushe J., et al. (2013) Sequencing viral genomes from a single isolated plaque. *Virology* 443: 181
- Drake J. W. and Holland J. J. (1999) Mutation rates among RNA viruses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 13910-13913
- Dunowska M., Biggs P. J., Zheng T. and Perrott M. R. (2012) Identification of a novel nidovirus associated with a neurological disease of the Australian brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*). *Vet Microbiol* 156: 418-424
- Estep R. D., Hansen S. G., Rogers K. S., Axthelm M. K. and Wong S. W. (2013) Genomic characterization of Japanese macaque rhadinovirus, a novel herpesvirus isolated from a nonhuman primate with a spontaneous inflammatory demyelinating disease. *J Virol* 87: 512-523
- Etebari K., Hussain M. and Asgari S. (2013) Identification of microRNAs from *Plutella xylostella* larvae associated with parasitization by *Diadegma semiclausum*. *Insect Biochem Mol Biol* 43: 309-318
- Fan W. L., Ng C. S., Chen C. F., Lu M. Y., Chen Y. H., et al. (2013) Genome-wide patterns of genetic variation in two domestic chickens. *Genome Biol Evol* 5: 1376-1392
- Fancello L., Raoult D. and Desnues C. (2012) Computational tools for viral metagenomics and their application in clinical research. *Virology* 434: 162-174
- Fernandes P. (2006) Antibacterial discovery and development--the failure of success? *Nat Biotechnol* 24: 1497-1503
- Flaherty P., Natsoulis G., Muralidharan O., Winters M., Buenrostro J., et al. (2012) Ultrasensitive detection of rare mutations using next-generation targeted resequencing. *Nucleic Acids Res* 40: e2
- Flores O., Nakayama S., Whisnant A. W., Javanbakht H., Cullen B. R., et al. (2013) Mutational inactivation of herpes simplex virus 1 microRNAs identifies viral mRNA targets and reveals phenotypic effects in culture. *J Virol* 87: 6589-6603
- Foxman E. F. and Iwasaki A. (2011) Genome-virome interactions: examining the role of common viral infections in complex disease. *Nat Rev Microbiol* 9: 254-264
- Gausson V. and Saleh M. C. (2011) Viral small RNA cloning and sequencing. *Methods Mol Biol* 721: 107-122
- Glass E. J., Baxter R., Leach R. J. and Jann O. C. (2012) Genes controlling vaccine responses and disease resistance to respiratory viral pathogens in cattle. *Vet Immunol Immunopathol* 148: 90-99
- Goic B., Vodovar N., Mondotte J. A., Monot C., Frangeul L., et al. (2013) RNA-mediated interference and reverse transcription control the persistence of RNA viruses in the insect model *Drosophila*. *Nat Immunol* 14: 396-403

- Goris N., Vandenbussche F. and De Clercq K. (2008) Potential of antiviral therapy and prophylaxis for controlling RNA viral infections of livestock. *Antiviral Res* 78: 170-178
- Grard G., Fair J. N., Lee D., Slikas E., Steffen I., et al. (2012) A novel rhabdovirus associated with acute hemorrhagic fever in central Africa. *PLoS Pathog* 8: e1002924
- Greninger A. L., Chen E. C., Sittler T., Scheinerman A., Roubinian N., et al. (2010) A metagenomic analysis of pandemic influenza A (2009 H1N1) infection in patients from North America. *PLoS ONE* 5: e13381
- Gunasekharan V. and Laimins L. A. (2013) Human papillomaviruses modulate microRNA 145 expression to directly control genome amplification. *J Virol* 87: 6037-6043
- Guo H., Ingolia N. T., Weissman J. S. and Bartel D. P. (2010) Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels. *Nature* 466: 835-840
- Guo X. K., Zhang Q., Gao L., Li N., Chen X. X., et al. (2013) Increasing expression of microRNA 181 inhibits porcine reproductive and respiratory syndrome virus replication and has implications for controlling virus infection. *J Virol* 87: 1159-1171
- Hale C. R., Zhao P., Olson S., Duff M. O., Graveley B. R., et al. (2009) RNA-guided RNA cleavage by a CRISPR RNA-Cas protein complex. *Cell* 139: 945-956
- Han Y., Zhang Y., Mei Y., Wang Y., Liu T., et al. (2013) Analysis of hepatitis B virus genotyping and drug resistance gene mutations based on massively parallel sequencing. *J Virol Methods* 193: 341-347
- Hatfull G. F. and Hendrix R. W. (2011) Bacteriophages and their genomes. *Curr Opin Virol* 1: 298-303
- Holmfeldt K., Solonenko N., Shah M., Corrier K., Riemann L., et al. (2013) Twelve previously unknown phage genera are ubiquitous in global oceans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 12798-12803
- Horvath P. and Barrangou R. (2010) CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea. *Science* 327: 167-170
- Hwang Y. T., Kalischuk M., Fusaro A. F., Waterhouse P. M. and Kawchuk L. (2013) Small RNA sequencing of Potato leafroll virus-infected plants reveals an additional subgenomic RNA encoding a sequence-specific RNA-binding protein. *Virology* 438: 61-69
- Janovitz T., Klein I. A., Oliveira T., Mukherjee P., Nussenzweig M. C., et al. (2013) High-throughput sequencing reveals principles of adeno-associated virus serotype 2 integration. *J Virol* 87: 8559-8568
- Jayachandran B., Hussain M. and Asgari S. (2012) RNA interference as a cellular defense mechanism against the DNA virus baculovirus. *J Virol* 86: 13729-13734
- Jeon J., Kim J. W., Yong D., Lee K. and Chong Y. (2012) Complete genome sequence of the bacteriophage YMC01/01/P52 PAE BP, which causes lysis of verona integrin-encoded metallo-beta-lactamase-producing, carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *J Virol* 86: 13876-13877
- Jiang X., Jiang H., Li C., Wang S., Mi Z., et al. (2011) Sequence characteristics of T4-like bacteriophage IME08 genome termini revealed by high throughput sequencing. *Virol J* 8: 194
- Kakumani P. K., Ponia S. S., S R. K., Sood V., Chinnappan M., et al. (2013) Role of RNA Interference (RNAi) in Dengue Virus Replication and Identification of NS4B as an RNAi Suppressor. *J Virol* 87: 8870-8883
- Kato S. E., Chahal J. S. and Flint S. J. (2012) Reduced infectivity of adenovirus type 5 particles and degradation of entering viral genomes associated with incomplete processing of the preterminal protein. *J Virol* 86: 13554-13565
- Khoury J. D., Tannir N. M., Williams M. D., Chen Y., Yao H., et al. (2013) Landscape of DNA Virus Associations across Human Malignant Cancers: Analysis of 3,775 Cases Using RNA-Seq. *J Virol* 87: 8916-8926
- Killip M. J., Young D. F., Gatherer D., Ross C. S., Short J. A., et al. (2013) Deep sequencing analysis of defective genomes of parainfluenza virus 5 and their role in interferon induction. *J Virol* 87: 4798-4807
- Klumpp J., Fouts D. E. and Sozhamannan S. (2013) Bacteriophage functional genomics and its role in bacterial pathogen detection. *Brief Funct Genomics* 12: 354-365
- Koh Y., Wu X., Ferris A. L., Matreyek K. A., Smith S. J., et al. (2013) Differential effects of human immunodeficiency virus type 1 capsid and cellular factors nucleoporin 153 and LEDGF/p75 on the efficiency and specificity of viral DNA integration. *J Virol* 87: 648-658
- Kriesel J. D., Hobbs M. R., Jones B. B., Milash B., Nagra R. M., et al. (2012) Deep sequencing for the detection of virus-like sequences in the brains of patients with multiple sclerosis: detection of GBV-C in human brain. *PLoS ONE* 7: e31886
- Kugelman J. R., Lee M. S., Rossi C. A., McCarthy S. E., Radoshitzky S. R., et al. (2012) Ebola virus genome plasticity as a marker of its passaging history: a comparison of in vitro passaging to non-human primate infection. *PLoS ONE* 7: e50316
- Lai M. M. (1992) RNA recombination in animal and plant viruses. *Microbiol Rev* 56: 61-79
- Lauck M., Sibley S. D., Hyeroba D., Tumukunde A., Weny G., et al. (2013) Exceptional simian hemorrhagic fever virus diversity in a wild African primate community. *J Virol* 87: 688-691
- Lauck M., Sibley S. D., Lara J., Purdy M. A., Khudyakov Y., et al. (2013) A Novel Hepacivirus with an Unusually Long and Intrinsically Disordered NS5A Protein in a Wild Old World Primate. *J Virol* 87: 8971-8981
- Law G. L., Korth M. J., Benecke A. G. and Katze M. G. (2013) Systems virology: host-directed approaches to viral pathogenesis and drug targeting. *Nat Rev Microbiol* 11: 455-466
- Law J., Jovel J., Patterson J., Ford G., O'Keefe S., et al. (2013) Identification of hepatotropic viruses from plasma using deep sequencing: a next generation diagnostic tool. *PLoS ONE* 8: e60595
- Lee A. S., Burdeinick-Kerr R. and Whelan S. P. (2013) A ribosome-specialized translation initiation pathway is required for cap-dependent translation of vesicular stomatitis virus mRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 324-329
- Leger P., Lara E., Jagla B., Sismeyro O., Mansuroglu Z., et al. (2013) Dicer-2- and Piwi-mediated RNA interference in Rift Valley fever virus-infected mosquito cells. *J Virol* 87: 1631-1648
- Leon A. J., Banner D., Xu L., Ran L., Peng Z., et al. (2013) Sequencing, annotation, and characterization of the influenza ferret infectome. *J Virol* 87: 1957-1966
- Li L., Pesavento P. A., Leutenegger C. M., Estrada M., Coffey L. L., et al. (2013) A novel bocavirus in canine liver. *Virol J* 10: 54
- Li S. C., Chan W. C., Lai C. H., Tsai K. W., Hsu C. N., et al. (2011) UMARS: Un-Mappable Reads Solution. *BMC Bioinformatics* 12 Suppl 1: S9

- Lin X., Li X., Liang D. and Lan K. (2012) MicroRNAs and unusual small RNAs discovered in Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus virions. *J Virol* 86: 12717-12730
- Lin Z., Wang X., Strong M. J., Concha M., Baddoo M., et al. (2013) Whole-genome sequencing of the Akata and Mutu Epstein-Barr virus strains. *J Virol* 87: 1172-1182
- Lipkin W. I. (2013) The changing face of pathogen discovery and surveillance. *Nat Rev Microbiol* 11: 133-141
- Lipkin W. I. and Firth C. (2013) Viral surveillance and discovery. *Curr Opin Virol* 3: 199-204
- Loconsole G., Onelge N., Potere O., Giampetruzzi A., Bozan O., et al. (2012) Identification and characterization of citrus yellow vein clearing virus, a putative new member of the genus *Mandarinivirus*. *Phytopathology* 102: 1168-1175
- Lusic M., Marini B., Ali H., Lucic B., Luzzati R., et al. (2013) Proximity to PML nuclear bodies regulates HIV-1 latency in CD4+ T cells. *Cell Host Microbe* 13: 665-677
- Majoros W. H., Lekprasert P., Mukherjee N., Skalsky R. L., Corcoran D. L., et al. (2013) MicroRNA target site identification by integrating sequence and binding information. *Nat Methods* 10: 630-633
- Malboeuf C. M., Yang X., Charlebois P., Qu J., Berlin A. M., et al. (2013) Complete viral RNA genome sequencing of ultra-low copy samples by sequence-independent amplification. *Nucleic Acids Res* 41: e13
- Maree H. J., Almeida R. P., Bester R., Chooi K. M., Cohen D., et al. (2013) Grapevine leafroll-associated virus 3. *Front Microbiol* 4: 82
- Marsh A. K., Willer D. O., Ambagala A. P., Dzamba M., Chan J. K., et al. (2011) Genomic sequencing and characterization of cynomolgus macaque cytomegalovirus. *J Virol* 85: 12995-13009
- McCallin S., Alam Sarker S., Barretto C., Sultana S., Berger B., et al. (2013) Safety analysis of a Russian phage cocktail: From MetaGenomic analysis to oral application in healthy human subjects. *Virology* 443: 187-196
- Minot S., Grunberg S., Wu G. D., Lewis J. D. and Bushman F. D. (2012) Hypervariable loci in the human gut virome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 3962-3966
- Minot S., Bryson A., Chehoud C., Wu G. D., Lewis J. D., et al. (2013) Rapid evolution of the human gut virome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 12450-12455
- Mokili J. L., Rohwer F. and Dutilh B. E. (2012) Metagenomics and future perspectives in virus discovery. *Curr Opin Virol* 2: 63-77
- Moon C. and Stappenbeck T. S. (2012) Viral interactions with the host and microbiota in the intestine. *Curr Opin Immunol* 24: 405-410
- Moore R. A., Warren R. L., Freeman J. D., Gustavsen J. A., Chenard C., et al. (2011) The sensitivity of massively parallel sequencing for detecting candidate infectious agents associated with human tissue. *PLoS ONE* 6: e19838
- Morita M., Kuba K., Ichikawa A., Nakayama M., Katahira J., et al. (2013) The lipid mediator protectin D1 inhibits influenza virus replication and improves severe influenza. *Cell* 153: 112-125
- Muniesa M., Hammerl J. A., Hertwig S., Appel B. and Brussow H. (2012) Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4: a new challenge for microbiology. *Appl Environ Microbiol* 78: 4065-4073
- Murakami R., Suetsugu Y., Kobayashi T. and Nakashima N. (2013) The genome sequence and transmission of an iflavirus from the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Virus Res* 176: 179-187
- Neller M. A., Burrows J. M., Rist M. J., Miles J. J. and Burrows S. R. (2013) High frequency of herpesvirus-specific clonotypes in the human T cell repertoire can remain stable over decades with minimal turnover. *J Virol* 87: 697-700
- Oliver K. M., Degnan P. H., Hunter M. S. and Moran N. A. (2009) Bacteriophages encode factors required for protection in a symbiotic mutualism. *Science* 325: 992-994
- Perera O. P., Snodgrass G. L., Allen K. C., Jackson R. E., Becnel J. J., et al. (2012) The complete genome sequence of a single-stranded RNA virus from the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois). *J Invertebr Pathol* 109: 11-19
- Quax T. E., Voet M., Sismeiro O., Dillies M. A., Jagla B., et al. (2013) Massive Activation of Archaeal Defense Genes during Viral Infection. *J Virol* 87: 8419-8428
- Ramasubramanian S., Kanhere A., Osborn K., Flower K., Jenner R. G., et al. (2012) Genome-wide analyses of Zta binding to the Epstein-Barr virus genome reveals interactions in both early and late lytic cycles and an epigenetic switch leading to an altered binding profile. *J Virol* 86: 12494-12502
- Rao P. P., Reddy Y. N., Ganesh K., Nair S. G., Niranjana V., et al. (2013) Deep sequencing as a method of typing bluetongue virus isolates. *J Virol Methods* 193: 314-319
- Reyes A., Semenov N. P., Whiteson K., Rohwer F. and Gordon J. I. (2012) Going viral: next-generation sequencing applied to phage populations in the human gut. *Nat Rev Microbiol* 10: 607-617
- Rho M., Wu Y. W., Tang H., Doak T. G. and Ye Y. (2012) Diverse CRISPRs evolving in human microbiomes. *PLoS Genet* 8: e1002441
- Rosario K. and Breitbart M. (2011) Exploring the viral world through metagenomics. *Curr Opin Virol* 1: 289-297
- Rosewick N., Momont M., Durkin K., Takeda H., Caiment F., et al. (2013) Deep sequencing reveals abundant noncanonical retroviral microRNAs in B-cell leukemia/lymphoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 2306-2311
- Rossetto C. C., Tarrant-Elorza M., Verma S., Purushothaman P. and Pari G. S. (2013) Regulation of viral and cellular gene expression by Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus polyadenylated nuclear RNA. *J Virol* 87: 5540-5553
- Rowe J. M., Dunigan D. D., Blanc G., Gurnon J. R., Xia Y., et al. (2013) Evaluation of higher plant virus resistance genes in the green alga, *Chlorella variabilis* NC64A, during the early phase of infection with *Paramecium bursaria* chlorella virus-1. *Virology* 442: 101-113
- Roy A., Choudhary N., Guillermo L. M., Shao J., Govindarajulu A., et al. (2013) A novel virus of the genus *Cilevirus* causing symptoms similar to citrus leprosis. *Phytopathology* 103: 488-500
- Roy A., Stone A., Otero-Colina G., Wei G., Choudhary N., et al. (2013) Genome assembly of citrus leprosis virus nuclear type reveals a close association with orchid fleck virus. *Genome Announc* 1: 1-6
- Rutvisuttinunt W., Chinnawirotpisan P., Simasathien S., Shrestha S. K., Yoon I. K., et al. (2013) Simultaneous and complete genome sequencing of influenza A and B with high coverage by Illumina MiSeq Platform. *J Virol Methods* 193: 394-404
- Sabehi G., Shaulov L., Silver D. H., Yanai I., Harel A., et al. (2012) A novel lineage of myoviruses infecting cyanobacteria is widespread in the oceans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 2037-2042

- Sanchez-Sampedro L., Gomez C. E., Mejias-Perez E., Perez-Jimenez E., Oliveros J. C., et al. (2013) Attenuated and replication-competent vaccinia virus strains M65 and M101 with distinct biology and immunogenicity as potential vaccine candidates against pathogens. *J Virol* 87: 6955-6974
- Santini S., Jeudy S., Bartoli J., Poirot O., Lescot M., et al. (2013) Genome of *Phaeocystis globosa* virus PgV-16T highlights the common ancestry of the largest known DNA viruses infecting eukaryotes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110: 10800-10805
- Sauvage V., Foulongne V., Cheval J., Ar Gouilh M., Pariente K., et al. (2011) Human polyomavirus related to African green monkey lymphotropic polyomavirus. *Emerg Infect Dis* 17: 1364-1370
- Schnettler E., Ratniner M., Watson M., Shaw A. E., McFarlane M., et al. (2013) RNA interference targets arbovirus replication in *Culicoides* cells. *J Virol* 87: 2441-2454
- Seed K. D., Lazinski D. W., Calderwood S. B. and Camilli A. (2013) A bacteriophage encodes its own CRISPR/Cas adaptive response to evade host innate immunity. *Nature* 494: 489-491
- Squire M. M., Carter G. P., Mackin K. E., Chakravorty A., Noren T., et al. (2013) Novel molecular type of *Clostridium difficile* in neonatal pigs, Western Australia. *Emerg Infect Dis* 19: 790-792
- Stenglein M. D., Sanders C., Kistler A. L., Ruby J. G., Franco J. Y., et al. (2012) Identification, characterization, and in vitro culture of highly divergent arenaviruses from boa constrictors and annulated tree boas: candidate etiological agents for snake inclusion body disease. *MBio* 3: e00180-00112
- Stern A., Mick E., Tirosh I., Sagy O. and Sorek R. (2012) CRISPR targeting reveals a reservoir of common phages associated with the human gut microbiome. *Genome Res* 22: 1985-1994
- Stik G., Dambrine G., Pfeffer S. and Rasschaert D. (2013) The oncogenic microRNA OncomiR-21 overexpressed during Marek's disease lymphomagenesis is transactivated by the viral oncoprotein Meq. *J Virol* 87: 80-93
- Subramaniam S., Johnston J., Preeyanon L., Brown C. T., Kung H. J., et al. (2013) Integrated Analyses of Genome-Wide DNA Occupancy and Expression Profiling Identify Key Genes and Pathways Involved in Cellular Transformation by a Marek's Disease Virus Oncoprotein, Meq. *J Virol* 87: 9016-9029
- Szpara M. L., Parsons L. and Enquist L. W. (2010) Sequence variability in clinical and laboratory isolates of herpes simplex virus 1 reveals new mutations. *J Virol* 84: 5303-5313
- Vaccari M., Halwani R., Patterson L. J., Boasso A., Beal J., et al. (2013) Antibodies to gp120 and PD-1 expression on virus-specific CD8+ T cells in protection from simian AIDS. *J Virol* 87: 3526-3537
- Vasilakis N., Forrester N. L., Palacios G., Nasar F., Savji N., et al. (2013) Negevirus: a proposed new taxon of insect-specific viruses with wide geographic distribution. *J Virol* 87: 2475-2488
- Vasilakis N., Widen S., Mayer S. V., Seymour R., Wood T. G., et al. (2013) Niakha virus: A novel member of the family Rhabdoviridae isolated from phlebotomine sandflies in Senegal. *Virology*
- Vereide D. T., Seto E., Chiu Y. F., Hayes M., Tagawa T., et al. (2013) Epstein-Barr virus maintains lymphomas via its miRNAs. *Oncogene*
- Vignuzzi M., Stone J. K., Arnold J. J., Cameron C. E. and Andino R. (2006) Quasispecies diversity determines pathogenesis through cooperative interactions in a viral population. *Nature* 439: 344-348
- Wang J., Qi J., Zhao H., He S., Zhang Y., et al. (2013) Metagenomic sequencing reveals microbiota and its functional potential associated with periodontal disease. *Sci Rep* 3: 1843
- Weinstock G. M. (2012) Genomic approaches to studying the human microbiota. *Nature* 489: 250-256
- Whisnant A. W., Bogerd H. P., Flores O., Ho P., Powers J. G., et al. (2013) In-depth analysis of the interaction of HIV-1 with cellular microRNA biogenesis and effector mechanisms. *MBio* 4: e000193
- Wilkie G. S., Davison A. J., Watson M., Kerr K., Sanderson S., et al. (2013) Complete genome sequences of elephant endotheliotropic herpesviruses 1A and 1B determined directly from fatal cases. *J Virol* 87: 6700-6712
- Wright C. F., Morelli M. J., Thebaud G., Knowles N. J., Herzyk P., et al. (2011) Beyond the consensus: dissecting within-host viral population diversity of foot-and-mouth disease virus by using next-generation genome sequencing. *J Virol* 85: 2266-2275
- Wu L., Zhou P., Ge X., Wang L. F., Baker M. L., et al. (2013) Deep RNA sequencing reveals complex transcriptional landscape of a bat adenovirus. *J Virol* 87: 503-511
- Wylie K. M., Weinstock G. M. and Storch G. A. (2012) Emerging view of the human virome. *Transl Res* 160: 283-290
- Wylie K. M., Weinstock G. M. and Storch G. A. (2013) Virome genomics: a tool for defining the human virome. *Curr Opin Microbiol* 16: 479-484
- Yamamoto T., Johnson M. J., Price D. A., Wolinsky D. I., Almeida J. R., et al. (2012) Virus inhibition activity of effector memory CD8(+) T cells determines simian immunodeficiency virus load in vaccinated monkeys after vaccine breakthrough infection. *J Virol* 86: 5877-5884
- Yang H., Zhu J., Li H., Xiao L., Wang J., et al. (2012) Full genome sequence of bluetongue virus serotype 4 from China. *J Virol* 86: 13122-13123
- Yongfeng H., Fan Y., Jie D., Jian Y., Ting Z., et al. (2011) Direct pathogen detection from swab samples using a new high-throughput sequencing technology. *Clin Microbiol Infect* 17: 241-244
- Yozwiak N. L., Skewes-Cox P., Gordon A., Saborio S., Kuan G., et al. (2010) Human enterovirus 109: a novel interspecies recombinant enterovirus isolated from a case of acute pediatric respiratory illness in Nicaragua. *J Virol* 84: 9047-9058
- Yu G., Greninger A. L., Isa P., Phan T. G., Martinez M. A., et al. (2012) Discovery of a novel polyomavirus in acute diarrheal samples from children. *PLoS ONE* 7: e49449
- Zhang J., Rouillon C., Kerou M., Reeks J., Brugger K., et al. (2012) Structure and mechanism of the CMR complex for CRISPR-mediated antiviral immunity. *Mol Cell* 45: 303-313
- Zhang Z., Zhang P., Li W., Zhang J., Huang F., et al. (2013) De novo transcriptome sequencing in *Frankliniella occidentalis* to identify genes involved in plant virus transmission and insecticide resistance. *Genomics* 101: 296-305
- Zust R., Dong H., Li X. F., Chang D. C., Zhang B., et al. (2013) Rational design of a live attenuated dengue vaccine: 2'-O-methyltransferase mutants are highly attenuated and immunogenic in mice and macaques. *PLoS Pathog* 9: e1003521

イルミナ株式会社

www.illumina.co.jp

本製品の使用目的は研究に限定されます。

© 2013 Illumina, Inc. All rights reserved.

Illumina, illuminaDx, BaseSpace, BeadArray, BeadXpress, cBot, CSPPro, DASL, DesignStudio, Eco, GAllx, Genetic Energy, Genome Analyzer, GenomeStudio, GoldenGate, HiScan, HiSeq, Infinium, iSelect, MiSeq, Nextera, NuPCR, SeqMonitor, Solexa, TruSeq, TruSight, VeraCode, the pumpkin orange color, the Genetic Energy streaming bases design は Illumina, Inc. の商標または登録商標です。その他の会社名や商品名は、各社の商標または登録商標です。予告なしに仕様を変更する場合があります。

Pub. No. 1270-2013-J004 20NOV2013

illumina[®]