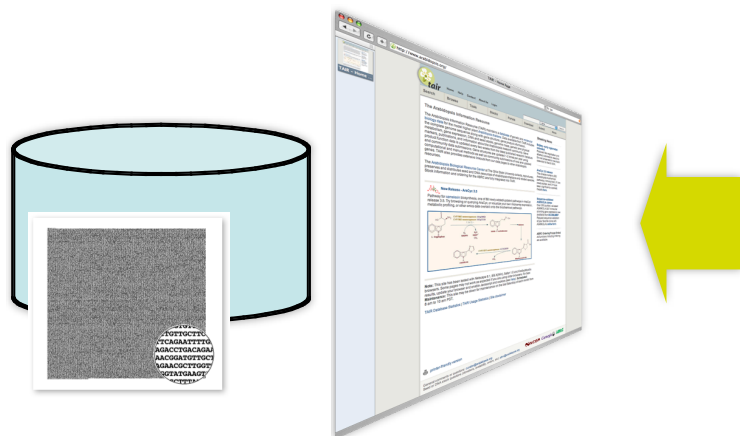
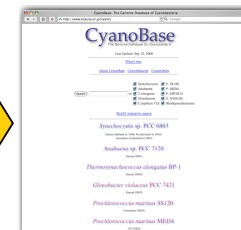
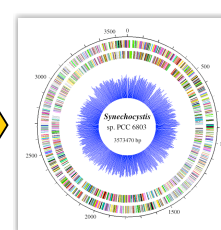
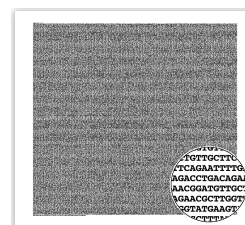


## DB インタフェース



ゲノムの注釈と提供に問題がありそうだ



測定

解釈

提供

不充足

## アノテーションの例

ORIGIN

```

1 aagcttttcg gtgtggtggc gtcgtgtttg atcaggtggt gcctgtcctg gcaaggggag
61 gttcccggtg tgggttcctg catggtgccg gtagtgcgat gtcggggcct gtgataaaat
121 tacaactgcc ccaggtcgtg atctgtgtgc gtagtgcgat gtcggggcct gtgataaaat
181 tgatgattat gatcggggag cgtgtgtgtg atctgtgtgc gtagtgcgat gtcggggcct
241 atgttttcgg aattacgccg catctgtgtg cgtgtgtgtg atctgtgtgc gtagtgcgat
301 cgtcttttgg gatatgtaag atctgtgtgc gtagtgttcc atgatgactg aagaatacaa
361 ttctccgacc gcaagtgagg tcgggcgacc ttcttttatg tcggtcattg cggcgatggg
421 aggggcgcag gtgcttccat ccacgggtgc gttgcgagc cccgcccccg atcggtggc
481 gcagcaatgg gccatcttc /translation="MSVMAAMGGAQVLSSTGAFADPAPDAVAQWAIKFRKYLKSGR
541 gggcaatggt ggcgaatcc VVDTGNGGESHSEGGYGMFAASAGDLASFQSMWARTNLQHTNDKLFWSWFLKGH
601 ggcgggggac cttgcgtcg MPGAVGFTKKDSVILNLSYYVPSLLQAFDLTADPRWRQVMDGIRLVSAGRFGQWRL
661 taccatgacg aagctgttt PPDLAVNRATGALSIASGWPPFSYDAIRVPLFYWAHMLAPNLADFTFRFNNFGA
721 caagaacaat gccacagat PPDWLVNRATGALSIASGWPPFSYDAIRVPLFYWAHMLAPNLADFTFRFNNFGA
781 gcgtttccag cgcccgatc NALPGWDLTTGARSYPNAPPGLAVAECTGLDSAGELPTLDHAPDYSAALTLLVYI
841 cctgatgacg atgaagcgcg ARAEETIK"
901 caagaaggac agcgtgtatc ccaactgtc ctattacgtg atgccttcgc tgcgcaggc
961 gttcgacctt acggccgacc cgcgtgggag tcaggtgatg gaagacggga ttgccttgc
1021 ttcccgccgg cgtttcgggc agtggcgctt gcccccgcac tggcttcgg tgaatcgccg
1081 taccatgacg ctatcaatca catcaaatca accaccagc ttttcattg atgcgattcg
1141 tgcgttcgtg atgatttcg gggcattgag ggcgttcgag tgcgcaggga tggatcgc tgacaacagg
1201 tgcgttcgtg atgatttcg gggcattgag ggcgttcgag tgcgcaggga tggatcgc tgacaacagg
1261 ggcgcgttcg ccgtacaacg ccccgcttgg atattctgct gttgcat gcacggggct
1321 tgattctgct ggggaactcc cgacactgga tcattgcgcc gattatcatt ccgcagcgct
1381 gacgctgctc gtttatcatc cgcgacaga ggaactata gaataatag ttcaaatct
1441 gatgaggtgg ctggggggag gcagcgcgcg ggcgcgcg ggcgcgcg ggcgcgcg
1501 tcttttgggt tcgaaggtgg gcagcgcgcg ggcgcgcg ggcgcgcg ggcgcgcg
    
```

構造アノテーション (Structural annotation)

機能アノテーション (Functional annotation)

homology to endoglucanases

データベースの  
「記述」が  
怪しくね？

## similar to similar to ナントカ



```

LOCUS       AL591981               347050 bp    DNA    linear    BCT 16-APR-2005
DEFINITION  Listeria monocytogenes strain EGD, complete genome, segment 9/12.
ACCESSION   AL591981
VERSION     AL591981.1
KEYWORDS    .
SOURCE      Listeria monocytogenes
  ORGANISM  Listeria monocytogenes
            Bacteria; Firmicutes; Bacillales; Listeriaceae; Listeria.
REFERENCE   2 (bases 1 to 347050)
  AUTHORS   Glaser, P., Frangeul, L. and Rusniok, C.
  JOURNAL   Submitted (06-JUN-2001) to the EMBL/GenBank/DBJ databases. Glaser
            P., Institut Pasteur, Genomique des Microorganismes Pathogenes, 25
            rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15, FRANCE.

...
CDS         complement(12915..14294)
            /transl_table=11
            /gene="Imo1703"
            /note="similar to similar to RNA methyltransferases"
            /db_xref="GOA:Q8Y6I1"
            /db_xref="InterPro:IPR001566"
            /db_xref="InterPro:IPR002792"
            /db_xref="InterPro:IPR010280"
            /db_xref="UniProtKB/Swiss-Prot:Q8Y6I1"
            /protein_id="CAC99781.1"
            /translation="MNQNPVEEGQKFLTIRRMINGEGIGYFKAVVFPVGAITGEEV
            VVEAVKVRDRPTEAKLNKIRKSPNRVTAPCPVYACGGCQLQHVAYSQAQLKRDIVI
            QSIEKHTKIDPTKLIRPTIGMEDPWRYNKSPQFTRMVGSGQVETGLFGANSHQLVPI
            EDCIVQQPVTIKVTNFVRDLLEKYGVFIYDEKAGSGIVRTIVVRTGVKTGETQLVFITN
            SKKLPKKREMLAEIEAALPEVTSIMQNVNQAKSSLI FGDETFLLAGKESIEEKLMELEF
            DLSARAFFQLNPFQTERLYQEVEKALVLTGSETLVDA YCGVGTIGQAFAGKVKEVRGMD
            IIPESIEDAKRNAEKNGIENVYEVGKAEDVLPKWVKEGFRPDAIVDPPRSGCDQGLI
            KSLLDVEAKQLVYVSCNPSTLARDLALLAKYRIRYMQPVDMPFQTAHVETVLLQLKD
            K"

```

## Copy & paste (コピー) ミス



```

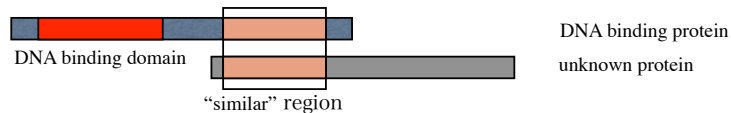
>gi|91204169|emb|CAJ71822.1| strongly imilar to
aspartate aminotransferase [Candidatus Kuenenia
stuttgartiensis]
MIASRMSNIDSSGIRKVPDLAQKMKSPVNLISIGQPDFDVPGEIKEVAIKSINEGANKYTLTQGIPELRNV
...

>gi|31541577|gb|AAP56877.1| predicted methyl
transferas [Mycoplasma gallisepticum R]
MSALYLVGLPIGNLSEINHRALEILNQLEI IYCENTDNFKLLNLLNINFRDKKLISYHKFNETNRFIMI
...

```

similar to  
transferase

## 部分一致の罠 “contains similarity” ?



automated annotation:

**“contains similarity to  
DNA-binding protein”**

↑ドメインないのに

## 機能アノテーションの方法

- 配列類似性によるアノテーション
  - 類似性検索 (BLAST)
- 配列類似性によらないアノテーション
  - モチーフ検索 (InterProScan, Pfam, SOSUI, TMHMM)
- 配列によらないアノテーション
  - 構造の類似性 (DALI, Rossetta)
  - 遺伝子発現の類似性 (クラスター解析)
  - コンテキスト (オペロン、遺伝子の並び)

## ホモロジー検索とは？

- 手持ちの配列と似ている配列を、データベースの中から探してくる

入力：配列

出力：似ている配列名とスコア・  
アラインメント・E-valueなど

## ホモロジー検索は何に使うのか？

①

機能未知の配列があったときに

データベースの中から似ている配列を探し出し、機能を予測する

これは

配列が似ている遺伝子やタンパク質は機能も似ているに違いない  
という仮定に基づく

②

機能がわかっている配列を詳細に解析するために

データベースから類似の配列を集める

DBの中から配列を探してくるので、  
「どのDBを使うか」が非常に重要！

## 代表的な塩基配列のデータベース

| データベース名 | 提供機関       | 備考  |
|---------|------------|---|
| GenBank | NCBI (USA) | 決定した塩基配列を登録する機関<br>国際DNAバンクとして相互に連携<br>(毎日データをやりとりしている) |
| EMBL    | EBI (EU)   |   |
| DDBJ    | 国立遺伝学研究所   |   |
| RefSeq  | NCBI (USA) | 上記DBをきれいにしたもの   |

## 代表的なアミノ酸配列のDB

| データベース名    | 提供機関                | 備考                        |
|------------|---------------------|---------------------------|
| GenPept    | NCBI (USA)          | GenBankから翻訳したアミノ酸配列を集めたDB |
| RefSeq     | NCBI (USA)          | 上記DBをきれいにしたもの             |
| Swiss-Prot | Uni-Prot consortium | 人手で整備されたDB<br>最も信頼性の高いDB  |
| trEMBL     | Uni-Prot consortium | 機械的に整備したDB                |
| Uni-Prot   | Uni-Prot consortium | 上記2DBをあわせたDB              |

## ホモロジー検索「ツール」

- 何種類かある
- 膨大な配列データに対して検索するため「正確性」と「速さ」のトレードオフ

正確

速い

SSERACH

FASTA

BLAST

(BLAT)

現在は計算時間などの関係からBLASTが最も使われている

BLAST: Basic Local Alignment Search Tool

13

## 入力データの形式

- FASTA形式が最も広く使われている
- ツールのFASTAと混同しないようにしましょう

### FASTA形式の例

```
>gi|18105037|ref|NP_004709.2| cytochrome c oxidase subunit VIIa polypeptide 2 like [Homo sapiens]
MYYKFSGFTQKLAGAWASEAYSPQGLKPVVSTEAPPIIFATPTKLTSDSTVYDYAGKNKVPELQKFFQKA
DGVVYLYKRGLPDQMLYRTTMALTVGGTIYCLIALYMASQPKNK
```

- > から始まる行はコメント
- > に続いて配列の名前またはIDが記載される
- 名前、IDのうしろには、スペースをはさんでいる書ける
- 2行目から配列が記載される

14

## BLASTのオプション

| オプション名    | 入力配列    | 対象DB    | 概要   |
|-----------|---------|---------|--|
| blastn    | DNA塩基配列 | DNA塩基配列 | 入力配列(DNA塩基配列)と類似のDNA塩基配列を検索                              |
| blastp    | アミノ酸配列  | アミノ酸配列  | 入力配列(アミノ酸配列)と類似のアミノ酸配列を検索                                |
| blastx    | DNA塩基配列 | アミノ酸配列  | 入力DNA塩基配列をアミノ酸に翻訳した配列で、類似のアミノ酸配列を検索                      |
| tblastn   | アミノ酸配列  | DNA塩基配列 | 入力アミノ酸配列を、DNA塩基配列のデータベースをアミノ酸配列に翻訳したものに対して、類似の配列を検索      |
| tblastx   | DNA塩基配列 | DNA塩基配列 | 入力DNA塩基配列をアミノ酸配列に翻訳したものを、DNA塩基配列DBをアミノ酸配列に翻訳したものとの類似を検索  |
| psi-blast | アミノ酸配列  | アミノ酸配列  | 入力配列(アミノ酸配列)とアミノ酸データベースとの検索を繰り返すことで、弱い類似しかない配列を検索可能にする方法 |
| phi-blast | アミノ酸配列  | アミノ酸配列  | 配列の「パターン」で類似の配列を検索する                                     |

15

## マルチプルアラインメント

- BLASTは2本の配列をアラインメント(=整列)
  - ペアワイズアラインメント
- 3本以上の配列を整列させることを マルチプルアラインメントと呼ぶ
  - アミノ酸配列に対して実行される
- 計算が大変なため100配列くらいが限度
  - データベースに対して実行できない
  - あらかじめ類似の配列をBLAST等で集めてから使う

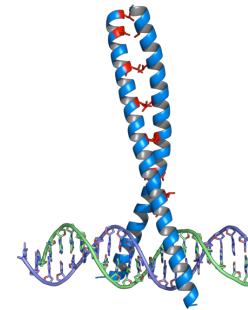
16

## マルチプルアラインメントで わかること

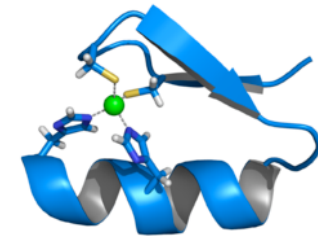
- いろいろな生物種で保存されているアミノ酸がわかる
  - たくさんの生物種で保存されているアミノ酸は、そのタンパク質が機能する上で重要に違いない
- タンパク質の進化的な関係がわかる
  - 進化系統樹の作成

17

## 有名なドメイン・モチーフ



ロイシンジッパー



Zincフィンガー

モチーフ L-x(6)-L-x(6)-L-x(6)-L

C-x(2,4)-C-x(3)-F-x(5)-L-x(2)-H-x(3)-H

18

## モチーフとは？

- ドメインに特徴的な局所的に保存された配列のパターン
- マルチプルアラインメントから見つける

|                                  |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|----------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ath:AT2G13680_out4/1-728         | K | L | P | G | P | A | - | K | I | G |
| dwi:GSVIVP00034810001_out4/1-751 | K | L | P | G | S | A | - | K | V | G |
| dpop:782672_out4/1-745           | R | L | P | G | T | A | - | K | L | G |
| ath:AT3G59100_out5/1-718         | K | L | P | G | P | P | A | E | I | G |
| ath:AT1G06490_out4/1-721         | K | L | P | G | P | P | T | E | I | G |
| dpop:205261_out4/1-719           | K | L | P | G | P | P | T | D | I | G |
| dpop:754371_out4/1-730           | K | L | P | G | P | P | T | D | I | G |
| dwi:GSVIVP00018885001_out5/1-711 | K | L | P | G | P | P | T | E | I | G |
| ath:AT2G31960_out4/1-760         | K | L | P | G | P | A | - | I | L | G |
| ath:AT1G05570_out3/1-831         | K | L | P | G | P | A | - | I | L | G |

19

## モチーフの使い方

- 大きく分けて2種類
  - アミノ酸配列を入力してモチーフデータベースを検索
    - 入力した配列がどのようなモチーフを持つかによって機能を類推する
    - ホモロジー検索と似ているが、モチーフを使った方がより詳細な情報が得られることが多い
  - モチーフを入力してアミノ酸データベースを検索
    - 同じ機能のタンパク質をまとめ取りしたいとき

20

## モチーフの表現方法

- コンセンサス配列
  - モチーフに現れる平均的・典型的な配列（共通配列）
- パターン
  - 正規表現を使って配列のパターンを表現
- プロファイル (PSSM=Position Specific Score Matrix)
  - 各位置でのアミノ酸の出現頻度をスコア化
- 隠れマルコフモデル (HMM=Hidden Markov Model)
  - ギャップを考慮したプロファイル

低  
↑  
感 度  
↓  
高

21

## モチーフのデータベース

- ProDom
  - コンセンサス配列
- PROSITE
  - パターン
- Pfam
  - 隠れマルコフモデル Hidden Markov Model
- InterPro
  - 上記を含むモチーフデータベースを集めたデータベース

22

## モチーフ検索ツール

- HMMER
  - Pfamデータベースを検索
- InterProScan
  - InterProのデータを全検索（主要なモチーフデータベースをまとめて検索）
  - 欠点：検索に時間がかかる、データが最新でない場合もある

23

## モチーフ検索ツール

- 膜貫通モチーフ予測
  - SOSUI
    - 物理化学パラメータ
  - TMHMM
    - 隠れマルコフモデル

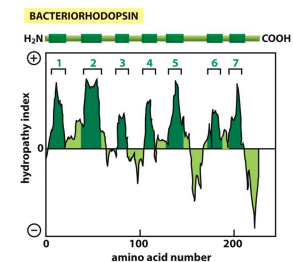
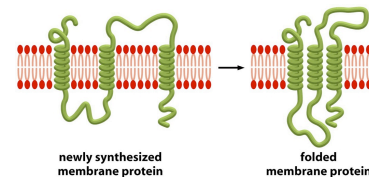


Figure 10-20 Molecular Biology of the Cell (6th Edition) Garland Science 2008

24

## タンパク質の立体構造を知ることの意義

- タンパク質の機能を原理的に理解する
  - どうしてそのタンパク質が働くのか？
    - アミノ酸配列の中でどこが重要か？
    - どこでどういう化合物と結合するか？
    - どこでほかのタンパク質とくっつくのか？
      - ➡ どういう薬をつくれればよいか
- タンパク質の進化を理解する
  - 立体構造は配列よりも保存されやすい

25

## 立体構造データベース

- wwPDB - World Wide Protein Data Bank
  - RCSB PDB
    - RCSB - Research Collaboratory for Structural Bioinformatics (アメリカ)
      - The State University of New Jersey
      - The University of California, San Diego
      - The University of Wisconsin-Madison
  - MSD - Molecular Structure Database
    - EBI - European Bioinformatics Institute (ヨーロッパ)
  - PDBj
    - 大阪大学蛋白質研究所 (日本)

26

## 立体構造分類データベース

- SCOP - Structural Classification of Proteins
  - 4階層で分類
    - Class (クラス)
      - All alpha proteins (すべて $\alpha$ ヘリックスからなる)
      - All beta proteins (すべて $\beta$ シートからなる)
      - Alpha and beta proteins (a/b) ( $\alpha$ ヘリックスと平行ベータシートからなる)
      - Alpha and beta proteins (a+b) ( $\alpha$ ヘリックスと逆平行ベータシートからなる)
    - Fold (フォールド)
    - Superfamily (スーパーファミリー)
    - Family (ファミリー)
- CATH

27

## 立体構造ビューワ

- データベースには原子の座標が登録されているだけなので、表示するソフトが必要
  - RasMol
  - Chime
  - Jmol
  - PyMol
  - CHIMERA
  - VMD
  - Swiss PDB Viewer
  - SPICE

28



## 立体構造の比較

- 配列の比較
  - 2本の配列を並べて（アラインメント）点数を付ける（点数が高ければ似ている）
- 立体構造の比較
  - 2個の構造を重ね合わせて、両者の「ずれ」を計算する（ずれが小さければ似ている）
    - RMSD (Root Mean Square Deviation)
    - Zスコア（タンパク質の長さを考慮：BLASTでのE-valueに相当）

29

## 立体構造比較プログラム

計算がとても大変なので結果はメールで受け取るものも多い

- DALI
  - EBI: European Bioinformatics Institute（ヨーロッパ）
    - <http://www.ebi.ac.uk/dali/>
- CE
  - SDSC: San Diego Supercomputer Center（アメリカ）
    - <http://cl.sdsc.edu/ce.html>
- VAST
  - NCBI: National Center for Biotechnology Information（アメリカ）
    - <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/VAST/vast.shtml>
- MARAS
  - 奈良先端科学技術大学院大学（日本）
    - <http://biunit.naist.jp/martras/>

30

## 立体構造の予測方法

- *ab initio*（アブイニシオ）法（ラテン語）
  - 最初から非経験的に立体構造を計算
- fragment assembly 法
  - 経験的（今までわかっている立体構造の情報を使う）に立体構造を計算
- threading 法
  - 配列が似てなくても構造が似てそうなものを探す
- homology modeling 法
  - 配列が似ていれば、構造も似ている（はず）



難しい

簡単



31

## 立体構造の予測方法

- *ab initio* 法
  - 物理化学的なパラメータを使って構造を1から計算（微分方程式を解いたりとか）
    - スーパーコンピュータが必要
    - 最近では分散コンピューティングも使われる（Folding@Home）
  - 長所：うまくいけば立体構造だけでなくフォールディングの過程もわかる
  - 短所：計算大変、小さいタンパク質のみ
  - program: Gaussian等専用のプログラム

32



## 立体構造の予測方法

### • fragment assembly 法

- 経験的（今までわかっている立体構造の情報を使う）に立体構造を計算
  - 配列にあてはまる部分的な立体構造を探す
  - 部分的な構造を組み合わせて、全体の構造を計算
- 長所：似ている配列がないタンパク質にも使える。
- 短所：ab initio法ほどではないが計算がそれなりに大変
- program: Rossetta

33

## 立体構造の予測方法

### • threading 法

- PDBから予測したいタンパク質に対応する立体構造を探し出す
  - 立体構造中のアミノ酸を、周りの構造を反映させた別の文字（ $\alpha$ ヘリックスの中にあって周りに水分子が多い、とか）に置き換えて、構造未知の配列とアラインメントさせる
- 長所：似ていない配列にも使える。計算も（*ab initio*法と比べて）そんなに大変でない
- 短所：データベース中になく構造は予測不可能
- program: LIBRA

34

## 立体構造の予測方法

### • homology modeling 法

- 配列が似ていれば構造も似ている（だろう）
  - PDBの中から似ている構造を探す
  - その構造のアミノ酸残基を置き換えて構造最適化
- 長所：配列が30%くらい似ていれば予測可能。計算もそんなに大変でない
- 短所：似ている配列がないと使えない。似ていても類似性が低下すると予測精度も低下。データベース中になく構造は予測できない。
- program: swiss-model, MODELLER

35

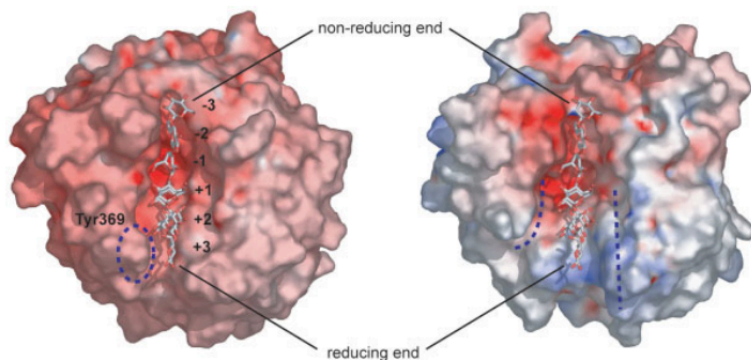
## 立体構造からの機能解析

- タンパク質が機能するためには他の物質との相互作用が必要
  - タンパク質のどこで相互作用するか？
    - ポケット
    - 表面の電荷
  - なにと相互作用するか？
    - 化合物などの立体構造をあてはめてみる

36

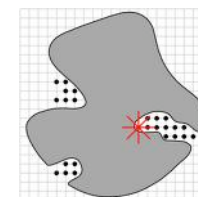
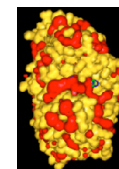
## ポケット

- 低分子化合物などはポケットに結合する傾向がある



## ポケットの検出

- SURFNET**
  - プローブ球をタンパク質の原子の間に  
ていく方法
- LIGSITE**
  - 格子点のうちタンパク質原子に  
まれた領域を抽出
- CASTp**
  - 多面体とタンパク質との間をポケットとする



## 表面電荷の計算

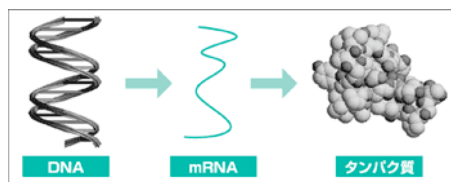
- 例えばDNAは負電荷を持つので、立体構造中でDNAと結合する部分は正の電荷が多いと考えられる
  - DelPhi: タンパク質の表面電荷を計算するプログラム
  - eF-site: タンパク質表面の電荷を計算したデータベース

## 立体構造と化合物のドッキング

- タンパク質に結合する化合物を探す
  - 結合するタンパク質がわかっている場合
    - 本当にその場所に結合するか?
    - どのように結合するか?
  - 結合するタンパク質がわからない場合
    - 化合物のデータベースに収録されている化合物をひたすら探す
- program: GOLD, UCSF DOCK, AutoDock

## 遺伝子発現情報とは？

- 細胞内のmRNAの量を測定する
  - どの遺伝子がどこでどれくらい発現しているか？
- ゲノム中での遺伝子の位置を調べる
  - 遺伝子の構造アノテーション



セントラルドグマ

41

## 遺伝子発現情報の使い道

- サンプル間の遺伝子発現の違いを見つける
  - 例：正常細胞とがん細胞で発現が違う遺伝子は？
- 機能未知遺伝子の機能アノテーション
  - 発現パターンが似ていれば、同じような現象にかかわっているかも
- 遺伝子の構造アノテーション
  - ゲノム中でmRNAに対応する部分が遺伝子
    - 真核生物の場合、エキソン・イントロンもわかる

42

## 遺伝子発現情報のデータベース

- さまざまな測定結果を集めたDB
  - GEO: Gene Expression Omnibus
    - NCBI
  - ArrayExpress
    - EBI
  - CIBEX
    - 国立遺伝学研究所

DNA塩基配列のDBや立体構造のDBとは違い、データの交換はしていない

43

## 遺伝子発現情報のデータベース

- 特定のサンプル、実験法でのデータを集めたDB
  - BioGPS (GNF SymAtlas)
    - GNF: Genomics Institute of the Novartis Research Foundation
    - ヒト、マウス、ラットの組織・細胞毎の発現情報
  - BODYMAP
    - 大阪大学、九州大学、東京大学
    - SAGEデータ

44

## 遺伝子発現情報の解析方法

### 統計解析

–t検定とか

•ソフト：EXCEL, OpenOffice calc, S, R

### クラスタリング

–パターンごとに遺伝子を分類

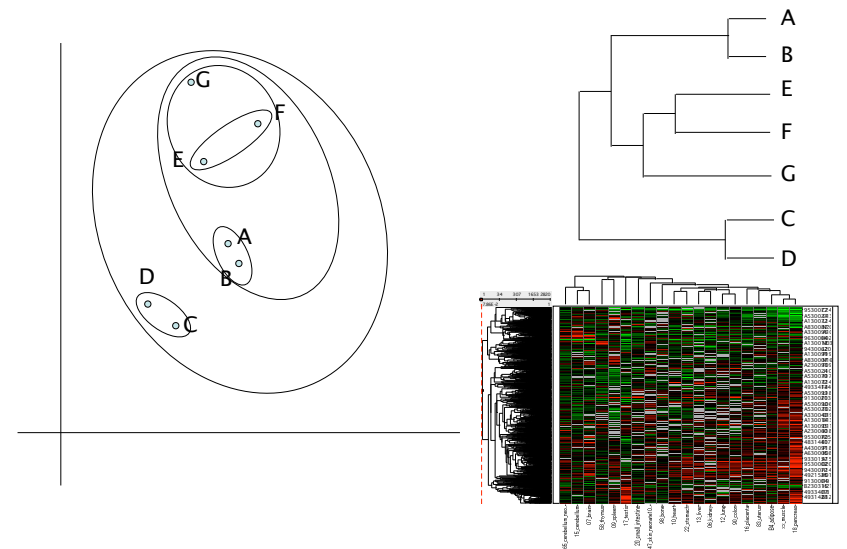
•ソフト：Cluster, R

### パスウェイ解析

–パスウェイデータベースへのマッピングや GO  
エンリッチメント解析

45

## クラスタリング



距離の計算方法とクラスタの代表点の取り方によって木の形が変わります

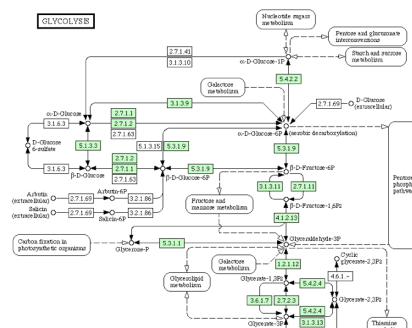
46

## パスウェイへのマッピング

### どの代謝系や制御系が活性化／不活性化しているか

–パスウェイのデータベース

- KEGG PATHWAY
- Reactome
- BioCyc



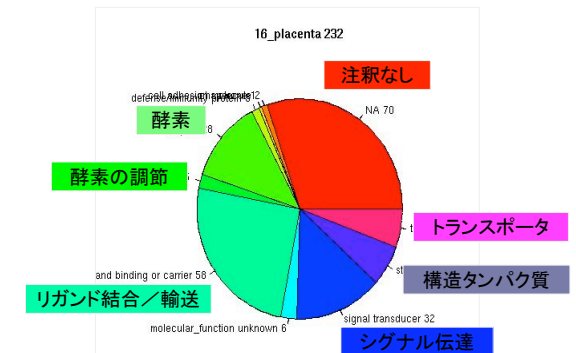
47

## GOエンリッチメント解析

### GO: Gene Ontology

–遺伝子機能の用語集とその階層的分類

–どういう機能の遺伝子の発現が活性化／不活性化しているか



## EMBOSS

- The European Molecular Biology Open Software Suite
- DNA塩基配列、アミノ酸配列を操作する際に便利なツールを集めたパッケージ
  - 250以上のツール
    - ドットプロット、アラインメント、モチーフ検索なんかもできる
- 無料
- 本当は自分のパソコンにインストールして使うが、インターネット経由でも利用できる
  - <http://emboss.dbcls.jp/> とかいろいろ

49

## Primer3

- PCRで使うPrimerの設計を支援してくれるツール
- パラメータの詳細な設定が可能
- あくまでも参考程度に

50

## NEBcutter

- NEW ENGLAND BioLabs社が提供する制限酵素地図作製ツール
  - DNA塩基配列上に制限酵素を表示
  - DNAを制限酵素で切断すると、どのような電気泳動パターンになるのかも表示できる
- クローニングする際にプライマー設計の参考になる
- PCR増副産物が意図したものか確認できる
- 企業によって運用されているが無料

51

<http://www.dragonsnakers.com/tcb/>

52