

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2014-36581

(P2014-36581A)

(43) 公開日 平成26年2月27日(2014.2.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00 A	4 B 0 2 4
<b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/68 A	4 B 0 6 3

審査請求 未請求 請求項の数 6 O L (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2012-178851 (P2012-178851)	(71) 出願人	500557048 学校法人日本医科大学 東京都文京区千駄木 1-1-5
(22) 出願日	平成24年8月10日 (2012.8.10)	(74) 代理人	100091096 弁理士 平木 祐輔
		(74) 代理人	100118773 弁理士 藤田 節
		(74) 代理人	100169579 弁理士 村林 望
		(72) 発明者	モハマッド ガジザデ 神奈川県川崎市中原区小杉町 1-396 日本医科大学 老人病研究所内
		(72) 発明者	土佐 眞美子 神奈川県川崎市中原区小杉町 1-396 日本医科大学 武蔵小杉病院内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 インターロイキン-6 遺伝子プロモーターの多型に基づくケロイド発症可能性の測定

(57) 【要約】

【課題】ケロイド発症可能性を診断できる方法を提供する。

【解決手段】インターロイキン-6(IL-6)遺伝子プロモーター中に存在する特定の多型に基づきケロイドの素因を判定するケロイドの素因の検査方法又は当該方法を実施するためのケロイド検査キット。

【選択図】なし

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

ヒトインターロイキン-6(IL-6)遺伝子の5'非翻訳領域中に存在する配列番号1に記載のヌクレオチド配列における120番目の塩基(一塩基多型国際番号rs1800796の多型部位の塩基)及び/又は299~319番目の塩基(一塩基多型国際番号rs56108454の多型部位の塩基)を同定することを含む、ケロイドの素因の検査方法。

**【請求項 2】**

前記120番目の塩基の遺伝子型がG/C型である場合に、C/C型及び/又はG/G型と比較してケロイドの素因が高いと判定するか、又は、

前記120番目の塩基の遺伝子型がC/C型又はG/G型である場合に、G/C型と比較してケロイドの素因が低いと判定する、請求項1記載の方法。

10

**【請求項 3】**

前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型である場合に、それ以外の遺伝子型と比較してケロイドの素因が高いと判定するか、又は、

前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型以外の遺伝子型である場合に、A10T10/A9T11型と比較してケロイドの素因が低いと判定する、請求項1又は2記載の方法。

**【請求項 4】**

前記120番目の塩基の遺伝子型がG/C型である場合で、更に前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型である場合に、前記120番目の塩基の遺伝子型がC/C型又はG/G型であり、且つ前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型以外の遺伝子型である場合と比較して多発性ケロイドの素因が高いと判定するか、又は、

20

前記120番目の塩基の遺伝子型がC/C型又はG/G型である場合で、更に前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型以外の遺伝子型である場合に、前記120番目の塩基の遺伝子型がG/C型であり、且つ前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型である場合と比較して多発性ケロイドの素因が低いと判定する、請求項1~3のいずれか1項記載の方法。

**【請求項 5】**

以下の(a)及び/又は(b)の成分を含む、請求項1~4のいずれか1項記載の方法を実施するためのケロイド検査キット。

(a)ヒトIL-6遺伝子の5'非翻訳領域中に存在する配列番号1に記載のヌクレオチド配列における120番目の塩基(一塩基多型国際番号rs1800796の多型部位の塩基)及び/又は299~319番目の塩基(一塩基多型国際番号rs56108454の多型部位の塩基)を含む領域を増幅することができるプライマー対

30

(b)ヒトIL-6遺伝子の5'非翻訳領域中に存在する配列番号1に記載のヌクレオチド配列における120番目の塩基(一塩基多型国際番号rs1800796の多型部位の塩基)及び/又は299~319番目の塩基(一塩基多型国際番号rs56108454の多型部位の塩基)を含む領域にハイブリダイズすることができるプローブ

**【請求項 6】**

前記プライマー対が配列番号2に記載の塩基配列から成るプライマーと配列番号3に記載の塩基配列から成るプライマーとのプライマー対である、請求項5記載のキット。

40

**【発明の詳細な説明】****【技術分野】****【0001】**

本発明は、例えばインターロイキン-6(以下、「IL-6」と称する)遺伝子プロモーターの多型を用いたケロイド発症可能性の診断方法に関する。

**【背景技術】****【0002】**

ケロイドは、原因不明で、且つ動物モデルが確立されていない特殊な難治性疾患である。ケロイドに対する特效薬はなく、放置すれば拡大していき、痛みや痒みを伴ってくるため、患者の苦痛は大きい。従って、ケロイドに対する効果的な治療法の開発は急務である

50

。しかしながら、ケロイド発生機序については、未だ不明な点が多く、特効薬の開発に至っていない。

【0003】

一方、ケロイドの発生率は、人種により異なることから、何かしらの遺伝子レベルの違いがケロイド発生素因の根底にあると考えられている。本願発明者等は、ケロイド発生にIL-6シグナル伝達経路が関与していることを報告してきた(非特許文献1及び2)。

【0004】

また、近年、IL-6シグナル伝達経路が関与する遺伝子多型が報告されている(非特許文献3及び4)。さらに、IL-6遺伝子における多型と疾患の素因との関係が報告されている。例えば、特許文献1は、IL-6遺伝子における多型に基づき骨粗鬆症の素因又は罹患性を診断する方法を開示する。

10

【0005】

しかしながら、ケロイドの素因とIL-6遺伝子の多型との関連については、従来において知られていなかった。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0006】

【特許文献1】米国特許第6,066,450号

【非特許文献】

【0007】

【非特許文献1】Tosa M.ら, The Journal of Investigative Dermatology, 2005年, 124, pp. 704-713

20

【非特許文献2】Ghazizadeh M.ら, Journal of Investigative Dermatology, 2007年, Vol. 127, pp. 98-105

【非特許文献3】Reich D.ら, The American Journal of Human Genetics, 2007年, Vol. 80, pp. 716-726

【非特許文献4】Rafiq S.ら, Genes and Immunity, 2007年, 8(7), pp. 552-559

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

上述のように、ケロイド発生機序については、未だ不明な点が多く、特効薬の開発に至っていない。出生時にケロイドがないものの、例えばBCG注射時、ニキビの跡、ピアスの穴、手術の傷等、様々な傷跡がケロイドになる可能性がある。現在のところ、ケロイドの遺伝的要因等は明らかになっていないため、ケロイドが発症して初めてその対症療法を行っている。

30

そこで、本発明は、上述した実情に鑑み、ケロイド発症可能性を診断できる方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

上記課題を解決するため鋭意研究を行った結果、ケロイドを多発する患者、ケロイドが1か所しか出来ない患者及び健常者において、IL-6遺伝子のプロモーターの遺伝子多型解析を行ったところ、ケロイド患者、特にケロイド多発患者において多く見られる遺伝子多型を見出し、本発明を完成するに至った。

40

【0010】

すなわち、本発明は以下を包含する。

(1) ヒトIL-6遺伝子の5'非翻訳領域中に存在する配列番号1に記載のヌクレオチド配列における120番目の塩基(一塩基多型国際番号rs1800796の多型部位の塩基)及び/又は299~319番目の塩基(一塩基多型国際番号rs56108454の多型部位の塩基)を同定することを含む、ケロイドの素因の検査方法。

(2) 前記120番目の塩基の遺伝子型がG/C型である場合に、C/C型及び/又はG/G型と比

50

較してケロイドの素因が高いと判定するか、又は、前記120番目の塩基の遺伝子型がC/C型又はG/G型である場合に、G/C型と比較してケロイドの素因が低いと判定する、(1)記載の方法。

(3) 前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型である場合に、それ以外の遺伝子型と比較してケロイドの素因が高いと判定するか、又は、前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型以外の遺伝子型である場合に、A10T10/A9T11型と比較してケロイドの素因が低いと判定する、(1)又は(2)記載の方法。

(4) 前記120番目の塩基の遺伝子型がG/C型である場合で、更に前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型である場合に、前記120番目の塩基の遺伝子型がC/C型又はG/G型であり、且つ前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型以外の遺伝子型である場合と比較して多発性ケロイドの素因が高いと判定するか、又は、前記120番目の塩基の遺伝子型がC/C型又はG/G型である場合で、更に前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型以外の遺伝子型である場合に、前記120番目の塩基の遺伝子型がG/C型であり、且つ前記299~319番目の塩基の遺伝子型がA10T10/A9T11型である場合と比較して多発性ケロイドの素因が低いと判定する、(1)~(3)のいずれか1記載の方法。

(5) 以下の(a)及び/又は(b)の成分を含む、(1)~(4)のいずれか1記載の方法を実施するためのケロイド検査キット。

(a) ヒトIL-6遺伝子の5'非翻訳領域中に存在する配列番号1に記載のヌクレオチド配列における120番目の塩基(一塩基多型国際番号rs1800796の多型部位の塩基)及び/又は299~319番目の塩基(一塩基多型国際番号rs56108454の多型部位の塩基)を含む領域を増幅することができるプライマー対

(b) ヒトIL-6遺伝子の5'非翻訳領域中に存在する配列番号1に記載のヌクレオチド配列における120番目の塩基(一塩基多型国際番号rs1800796の多型部位の塩基)及び/又は299~319番目の塩基(一塩基多型国際番号rs56108454の多型部位の塩基)を含む領域にハイブリダイズすることができるプローブ

(6) 前記プライマー対が配列番号2に記載の塩基配列から成るプライマーと配列番号3に記載の塩基配列から成るプライマーとのプライマー対である、(5)記載のキット。

【発明の効果】

【0011】

本発明によれば、ケロイドの素因又は罹患危険性を早期に、且つ簡便に判定することができる。

【図面の簡単な説明】

【0012】

【図1-1】 ヒトIL-6遺伝子の全塩基配列(配列番号4)である。

【図1-2】 図1-1の続きである。

【図1-3】 図1-2の続きである。

【図1-4】 図1-3の続きである。

【発明を実施するための形態】

【0013】

以下、本発明を詳細に説明する。

本発明は、ヒトIL-6遺伝子の5'非翻訳領域(5'UTR)(又は、「ヒトIL-6遺伝子の転写開始部位から5'側上流領域」ということもできる)中に存在する一塩基多型国際番号rs1800796の多型部位の塩基(以下、「rs1800796の多型部位の塩基」又は「-572G/C(rs1800796)」と称する場合がある)及び/又は一塩基多型国際番号rs56108454の多型部位の塩基(以下、「rs56108454の多型部位の塩基」又は「-373AmTn(rs56108454)」と称する場合がある)を同定することでケロイドの素因を判定することを含む、ケロイドの素因の検査方法である(以下、「本方法」と称する)。換言すれば、本方法は、ケロイド診断方法、ケロイドの素因を判定するための評価方法、又はケロイドの素因を判定するための情報を収集する方法とすることができる。本方法によれば、非侵襲性又は低侵襲性で得られる生物学的サンプル(例えば、血液サンプル)において、ケロイドの素因を早期に、且つ簡便に診断することが

10

20

30

40

50

できる。

【0014】

ここで、ケロイドの(遺伝的)素因とは、ケロイドに罹りやすい素質を意味する。あるいは、ケロイドの素因をケロイドの罹患危険性(リスク)ということもできる。

【0015】

また、ケロイドを、1つの部位にケロイドが発症するケロイド(「単発性ケロイド」)と、複数の部位にケロイドを発症するケロイド(「多発性ケロイド」)とに分類することができる。好ましくは、本方法を多発性ケロイドの素因を判定するのに使用することができる。

【0016】

本方法において同定する多型は、ヒトIL-6遺伝子の5'UTR中に存在する一塩基多型国際番号rs1800796の多型部位及び/又は一塩基多型国際番号rs56108454の多型部位である。これら多型部位は、ヒトIL-6遺伝子プロモーター領域に存在する。一塩基多型国際番号は、NCBI(National Center for Biotechnology Information)遺伝子データベース(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)において参照することができる。

【0017】

図1は、ヒトIL-6遺伝子の全塩基配列(配列番号4)を示す。図1において、四角で囲まれた(1)、(2)及び(3)のそれぞれの塩基配列は、ヒトIL-6遺伝子における5'UTR、コード領域及び3'非翻訳領域(3'UTR)である。また、(1)5'UTRにおいて、太文字且つ下線の塩基が多型部位の塩基であり、四角で囲まれた領域が下記で説明するフォワードプライマーIL6F010の塩基配列及びリバースプライマーIL6R010の塩基配列に相補的な塩基配列である。(2)コード領域において、イタリックの塩基配列がエキソンであり、それ以外の塩基配列がイントロンである。

【0018】

図1に示す転写開始部位(左側に示す塩基番号1の塩基)から-571の塩基がrs1800796の多型部位の塩基であり、-392~-373の塩基がrs56108454の多型部位の塩基である。rs1800796の多型部位の塩基は、G又はCである。rs56108454の多型部位の塩基は、AmTnで表すと、A8T12、A9T11、A10T10、A9T10、A10T11又はA10T9である。ここで、「AmTn」は、Aがm個とTがn個とから成る塩基配列を意味する。例えば、「A10T10」は、AAAAAAAAAATTTTTTTTTTの塩基配列である。なお、図1に示す左側の(1)5'UTRにおける転写開始部位からの「-」表示の塩基番号は、rs56108454の多型部位の塩基数が20塩基の場合である。

【0019】

rs1800796の多型部位の塩基は、「-572」の位置の塩基として知られている(例えば、Sun H. et al., *Neuroscience Letters*, 2008年, 440, pp. 1-3; Zhang G. et al., *Journal of the Neurological Sciences*, 2011年, 306, pp. 94-97)。しかしながら、図1に示すヒトIL-6遺伝子の塩基配列において、rs1800796の多型部位の塩基は、「-571」の塩基である。当該差異は、NCBIへの当該多型部位の登録時の従来のヒトIL-6遺伝子の塩基配列と現在のヒトIL-6遺伝子の塩基配列との差異に起因すると考えられる。他の多型部位についても、塩基番号にずれが生じる場合がある。

【0020】

あるいは、図1において、フォワードプライマーIL6F010とリバースプライマーIL6R010との間の破線で囲まれた塩基配列(配列番号1)における120番目の塩基がrs1800796の多型部位の塩基であり、299~319番目の塩基がrs56108454の多型部位の塩基である。

【0021】

被験者によっては、ヒトIL-6遺伝子の全塩基配列である配列番号4に記載の塩基配列及びヒトIL-6遺伝子の5'UTR中に存在する配列番号1に記載の塩基配列における多型部位の位置が他の部位における塩基の欠損や挿入によってずれる可能性がある。転写開始部位からの塩基数がずれていても、当業者は各配列番号に示した多型の前後の塩基配列との整列によって、遺伝子型を決定すべき塩基の位置を特定することができる。このようにして照合することができる塩基の位置を、相同な位置という。各多型部位に相同な位置の塩基の

10

20

30

40

50

遺伝子型決定によって、本方法を実施することもできる。

【0022】

本方法において、多型部位の塩基を同定する方法としては、限定されるものではないが、例えば(1)生物学的サンプルから抽出したゲノムDNA、又はPCR等の核酸増幅方法でゲノムDNAから増幅した多型部位を含むDNAを鋳型として遺伝子配列を決定する方法、(2)ゲノムDNA、又はPCR等の核酸増幅方法でゲノムDNAから増幅した多型部位を含むDNAに対する多型部位に特異的なプローブを用いたハイブリダイゼーションの強度を比較する方法が挙げられる。

【0023】

本方法では、先ず被験者由来の生物学的サンプルからゲノムDNAを抽出する。生物学的サンプルとしては、例えば体液(血液、リンパ液、汗、尿等)、皮膚や口腔粘膜等の組織又は分離された細胞(例えば、末梢血から分離した白血球、単球や皮膚組織から単離した線維芽細胞等)が挙げられる。市販のDNA抽出キットを用いて、生物学的サンプルからゲノムDNAを抽出することができる。次いで、必要に応じて、多型部位を含むDNAを単離する。当該DNAの単離は、多型部位を含むDNAにハイブリダイズすることができるプライマー対を用いて、ゲノムDNAを鋳型としてPCR等の核酸増幅方法によって行うことができる。

10

【0024】

次いで、ゲノムDNA又は核酸増幅方法によって得られた多型部位を含むDNAを、例えばシーケンス反応に供し、得られたシーケンスデータから多型部位の塩基配列を決定する。あるいは、ゲノムDNA又は核酸増幅方法によって得られた多型部位を含むDNAを、多型部位に特異的なプローブを用いたハイブリダイゼーションに供し、ハイブリダイゼーションの強度を比較することで、多型部位の塩基配列を決定することができる。

20

【0025】

さらに、本方法では、決定された多型部位の塩基配列に基づいて、ケロイドの素因を判定する。具体的には、rs1800796の多型部位の塩基における遺伝子型若しくはrs56108454の多型部位の塩基における遺伝子型又はその双方の遺伝子型に基づいて、ケロイドの素因を判定する。

【0026】

rs1800796の多型部位の塩基における遺伝子型がG/C型のヘテロ接合型である場合には、他の遺伝子型(C/C型及び/又はG/G型のホモ接合型)と比較してケロイドの素因が高いと判定することができる。換言すれば、rs1800796の多型部位の塩基における遺伝子型がC/C型又はG/G型のホモ接合型である場合に、他の遺伝子型(G/C型のヘテロ接合型)と比較してケロイドの素因が低いと判定することができる。

30

【0027】

また、rs56108454の多型部位の塩基における遺伝子型(AmTn)がA10T10/A9T11型のヘテロ接合型である場合に、他の遺伝子型(例えば、A8T12、A9T11、A10T10、A9T10、A10T11又はA10T9のホモ接合型、及び/又はA10T10/A9T11型以外のA8T12、A9T11、A10T10、A9T10、A10T11及びA10T9のいずれかの組合せから成るヘテロ接合型)と比較してケロイドの素因が高いと判定することができる。換言すれば、rs56108454の多型部位の塩基における遺伝子型(AmTn)がA10T10/A9T11型以外の遺伝型(例えば、A8T12、A9T11、A10T10、A9T10、A10T11又はA10T9のホモ接合型、A10T10/A9T11型以外のA8T12、A9T11、A10T10、A9T10、A10T11及びA10T9のいずれかの組合せから成るヘテロ接合型)である場合に、A10T10/A9T11型と比較してケロイドの素因が低いと判定することができる。

40

【0028】

さらに、rs1800796の多型部位の塩基における遺伝子型がG/C型のヘテロ接合型である場合で、更にrs56108454の多型部位の塩基における遺伝子型(AmTn)がA10T10/A9T11型のヘテロ接合型である場合に、rs1800796の多型部位の塩基における遺伝子型が他の遺伝子型(C/C型又はG/G型のホモ接合型)であり、且つrs56108454の多型部位の塩基における遺伝子型(AmTn)が他の遺伝子型(例えば、A8T12、A9T11、A10T10、A9T10、A10T11又はA10T9のホモ接合型、A10T10/A9T11型以外のA8T12、A9T11、A10T10、A9T10、A10T11及びA10T9のいずれか

50

の組合せから成るヘテロ接合型)である場合と比較して多発性ケロイドの素因が高いと判定することができる。換言すれば、rs1800796の多型部位の塩基における遺伝子型がC/C型又はG/G型のホモ接合型である場合で、更にrs56108454の多型部位の塩基における遺伝子型(AmTn)がA10T10/A9T11型以外の遺伝子型(例えば、A8T12、A9T11、A10T10、A9T10、A10T11又はA10T9のホモ接合型、A10T10/A9T11型以外のA8T12、A9T11、A10T10、A9T10、A10T11及びA10T9のいずれかの組合せから成るヘテロ接合型)である場合に、rs1800796の多型部位の塩基における遺伝子型がG/C型のヘテロ接合型であり、且つrs56108454の多型部位の塩基における遺伝子型(AmTn)がA10T10/A9T11型のヘテロ接合型である場合と比較して多発性ケロイドの素因が低いと判定することができる。

#### 【0029】

以上に説明する本方法によれば、例えば血液検査によってケロイドになりやすい体質であるか否かを判定することができ、ケロイドの素因が高いと判定した場合には、BCG等のケロイドになりやすい注射をケロイドが発症し難い上腕部の内側に打つ、ピアスの穴はあけない等、様々な予防措置をとることができる。また、本方法により妊婦である被験者においてケロイドの素因が高いと判定した場合には、妊婦に対して帝王切開等を行う際に、その傷口を縫う方法を予めケロイドを予防する術技で行えば、妊婦の帝王切開後のケロイドを防ぐことが可能となる。

#### 【0030】

さらに、本方法において、rs1800796の多型部位の塩基における遺伝子型がG/C型のヘテロ接合型であり、及び/又はrs56108454の多型部位の塩基における遺伝子型(AmTn)がA10T10/A9T11型のヘテロ接合型であると決定し、ケロイドの素因が高いと判定した場合には、生物学的サンプルが由来する被験体にケロイドの遅延、低減又は予防に適した治療剤の有効量を投与し、ケロイドを遅延、低減又は予防することができる。

#### 【0031】

一方、本発明は、また、上記に説明した本方法を実施するためのケロイド検査キット(以下、「キット」と称する)に関する。キットは、ケロイドの素因検査キット、ケロイド診断キット、ケロイドの素因を判定するための評価キット、又はケロイドの素因を判定するための情報収集キットということもできる。

#### 【0032】

キットは、以下の(a)及び/又は(b)の成分を含む：

(a)rs1800796の多型部位の塩基及び/又はrs56108454の多型部位の塩基を含む領域を増幅することができるプライマー対；

(b)rs1800796の多型部位の塩基及び/又はrs56108454の多型部位の塩基を含む領域にハイブリダイズすることができるプローブ。

#### 【0033】

プライマー対又はプローブは、rs1800796の多型部位の塩基及びrs56108454の多型部位の塩基のそれぞれを含む領域、又は双方の多型部位の塩基を含む領域に対して設計することができる。

#### 【0034】

プライマー又はプローブの塩基長としては、限定されるものではないが、例えば少なくとも15塩基長、好ましくは15~100塩基長、15~50塩基長、15~30塩基長が挙げられる。

#### 【0035】

プライマー対は、多型部位を含むDNAを鋳型として、多型部位を含むように相補鎖合成を開始できるように設計される。また、プライマーがハイブリダイズする領域と多型部位との間隔は、任意に選択することができる。あるいは、多型部位上にプライマーがハイブリダイズするようにプライマーを設計することもできる。

#### 【0036】

プライマー対としては、例えば図1に示すrs1800796の多型部位の塩基とrs56108454の多型部位の塩基とを含む領域を増幅することができる、フォワードプライマー(IL6F010)：5'-ACCTCCTCTAAGTGGGCTGAA-3'(配列番号2)とリバースプライマー(IL6R010)：5'-CTCAT

10

20

30

40

50

GGGAAAATCCCACATT-3' (配列番号3)とから成るプライマー対が挙げられる。

【0037】

一方、プローブは、多型部位を含む領域の塩基配列を有するポリヌクレオチドとハイブリダイズすることができるものであればよく、多型部位を含む領域の塩基配列を有するDNAにストリンジентな条件下でハイブリダイズするものが好ましい。ここで「ストリンジентな条件」とは、例えば、いわゆる特異的なハイブリッドが形成され、非特異的なハイブリッドが形成されない条件をいう。ハイブリダイゼーションは、例えば、J. Sambrook et al. Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory (1989)に記載の方法に準じて行うことができる。

【0038】

また、プローブは、例えば通常の方法により固相に固定され、DNAアレイとして提供することもできる。固相としては、例えばマイクロタイタープレート、プラスチックビーズ、磁性粒子、基板等が挙げられる。

【0039】

キットにおいて、プライマー対及び/又はプローブは、容器(例えば、チューブ、バイアル、アンプル等)に入れ、提供することができる。

【0040】

また、キットは、プライマー対及び/又はプローブ以外に、例えばPCR等の核酸増幅反応やハイブリダイゼーションに使用する試薬(例えば、バッファー、ポリメラーゼ、dNTPミックス等)、取扱い説明書、ケロイドの素因の判定のための説明書等を含むことができる。

【実施例】

【0041】

以下、実施例を用いて本発明をより詳細に説明するが、本発明の技術的範囲はこれら実施例に限定されるものではない。

【0042】

〔実施例1〕IL-6遺伝子プロモーターの多型とケロイドとの相関関係の分析

日本医科大学武蔵小杉病院形成外科に来院するケロイド発症患者に対して、インフォームドコンセントを行い、同意を得られたケロイドを多発する患者3名、ケロイドが1か所しか出来ない患者2名及び健常者5名のケロイド組織及び正常皮膚組織から線維芽細胞を培養した。

【0043】

得られた線維芽細胞からゲノムDNAを抽出し、抽出したゲノムDNAを鋳型としてPCRを行った。PCRは、滅菌水にて約10ng/μLに希釈した鋳型を2μL用い、20μLの反応系にて行った。また、PCRに使用したプライマーセットは、以下のプライマーセットであった。

フォワードプライマー(IL6F010) : 5'-ACCTCCTCTAAGTGGGCTGAA-3' (配列番号2)

リバースプライマー(IL6R010) : 5'-CTCATGGGAAAATCCCACATT-3' (配列番号3)

【0044】

さらに、PCR反応液組成(20μL当たり)は、以下の通りであった：

鋳型DNA : 2μL(約20ng)、ポリメラーゼ(TaKaRa Ex Taq Hot Start Version DNA polymerase(タカラバイオ)) : 0.2μL(1.0 unit)、10×Ex Taq Buffer(20 mM Mg<sup>2+</sup> plus) : 2μL、dNTP Mixture(2.5 mM each) : 2μL、2.5pmol/μLフォワードプライマー : 1μL、2.5pmol/μLリバースプライマー : 1μL、滅菌水 : 11.8μL。

【0045】

また、PCRの反応条件は以下の通りであった：最初に95℃で5分熱変性後、95℃で30秒(熱変性)、55℃で30秒(アニーリング)及び72℃で30秒(伸長)の35サイクル、並びに最終の伸長として72℃で10分。

【0046】

次いで、得られたPCR産物を、酵素的に精製した。

精製PCR産物を鋳型とし、上記プライマーセット及びBigDye(登録商標) Terminator V3.

10

20

30

40

50



1 Cycle Sequencing Kit(Life Technologies社)を用いて、Dye Terminator法によりシーケンス反応を行った。シーケンス反応には、GeneAmp(登録商標) PCR System9700(Life Technologies社)を使用し、Kitの取扱説明書に準じた条件下で行った。また、シーケンス反応後の精製は、BigDye XTerminator(登録商標)(Life Technologies社)を使用した。

【0047】

シーケンスを、96wellプレートフォーマットのキャピラリーシーケンサーApplied Biosystems 3730xl DNA Analyzer(Life Technologies社)を用いて行った。また、シーケンスデータを、機器付属のKBベースコーラを用いて波形データに変換した。

【0048】

次いで、解析ソフトSEQUENCHER™(Gene Code)にてアセンブル及び解析を行った。解析の結果、rs56108454の多型部位の塩基(「-373AmTn(rs56108454)」)及びrs1800796の多型部位の塩基(「-572G/C(rs1800796)」)についてのみ、特徴的な遺伝子多型を発見した。

この実験の結果を表1に示す。

【0049】

【表1】

被験者	-572G/C(rs1800796) 遺伝子型	-373AmTn(rs56108454) 遺伝子型
多発性ケロイド患者(1)	G/C	A10T10/A9T11
多発性ケロイド患者(2)	G/C	A10T10/A9T11
多発性ケロイド患者(3)	G/C	A10T10/A9T11
単発性ケロイド患者(1)	C/C	A10T10/A10T10
単発性ケロイド患者(2)	C/C	A10T10/A10T10
健常者(1)	C/C	A10T10/A10T10
健常者(2)	C/C	A10T10/A10T10
健常者(3)	G/C	A10T10/A9T11
健常者(4)	C/C	A10T10/A10T10
健常者(5)	C/C	A10T10/A10T10

【0050】

具体的には、ケロイドを多発する患者(多発性ケロイド患者)3名については、-373AmTn(rs56108454)の遺伝子型はA10T10/A9T11型というヘテロ型を示し、且つ-572G/C(rs1800796)の遺伝子型はG/C型というヘテロ型を示した。

【0051】

一方、ケロイドが1か所しか出来ない患者(単発性ケロイド患者)2名については、-373AmTn(rs56108454)の遺伝子型はA10T10/A10T10型というホモ型を示し、且つ-572G/C(rs1800796)の遺伝子型はC/C型というホモ型を示した。

【0052】

また、健常者5名については、4名において-373AmTn(rs56108454)の遺伝子型はA10T10/A10T10型というホモ型を示し、且つ-572G/C(rs1800796)の遺伝子型はC/C型というホモ型を示した。一方、1名において、-373AmTn(rs56108454)の遺伝子型はA10T10/A9T11型というヘテロ型を示し、且つ-572G/C(rs1800796)の遺伝子型はG/C型というヘテロ型を示した。この1名は、検査時点では、ケロイドの発生を認めていないが、将来ケロイドが発生する可能性を否定できず、ケロイド素因の保有者と考えられた。

【0053】

以上より、ケロイド組織及び正常皮膚組織から培養した線維芽細胞よりDNAを抽出し、遺伝子多型の検査を行った結果、IL-6遺伝子プロモーターの-373AmTn(rs56108454)の遺伝子型がA10T10/A9T11型のヒトは、その他の遺伝子多型のヒトよりもケロイドを発症する可能性が高く、また、-572G/C(rs1800796)の遺伝子型がG/C型という遺伝子多型をもつヒト

もその他の遺伝子多型を持つヒトよりもケロイドを発症する可能性が高い。更に、IL-6遺伝子プロモーターの-373AmTn(rs56108454)の遺伝子型がA10T10/A9T11型であって、且つ-572G/C(rs1800796)の遺伝子型がG/C型という遺伝子多型をもつヒトはその他の遺伝子多型を持つヒトよりも、ケロイドを多発する可能性が高い。

【 0 0 5 4 】

〔参考例 1〕 IL-6遺伝子プロモーター領域に関するSNPの調査

NCBI(National Center for Biotechnology Information)遺伝子データベース(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)を用いて、IL-6遺伝子プロモーター領域に関するSNPについて調査を行った。結果を以下の表 2 に示す。

【 0 0 5 5 】

なお、表 2 において、-597G/A(rs1800797)は、図 1 に示すヒトIL-6遺伝子(配列番号 4)における転写開始部位から-596の塩基(配列番号 1 の塩基配列における95番目の塩基)におけるSNPである。-174G/C(rs1800795)は、図 1 に示すヒトIL-6遺伝子(配列番号 4)における転写開始部位から-172の塩基(配列番号 1 の塩基配列における520番目の塩基)におけるSNPである。

【 0 0 5 6 】

【表 2】

一塩基多型 (SNP)	欧米人					アジア人				
	遺伝子型 (Genotype)			対立遺伝子 (Allele)		遺伝子型 (Genotype)			対立遺伝子 (Allele)	
-597G/A (rs1800797)	G/G	G/A	A/A	G	A	G/G	G/A	A/A	G	A
	0.257	0.434	0.31	0.473	0.527	1			1	
-572G/C (rs1800796)	G/G	G/C	C/C	G	C	G/G	<u>G/C</u>	C/C	G	C
	0.914	0.086		0.957	0.043	0.023	<u>0.227</u>	0.75	0.136	0.864
-174G/C (rs1800795)	G/G	G/C	C/C	G	C	G/G	G/C	C/C	G	C
	0.248	0.434	0.319	0.465	0.535	1			1	
-373AmTn (rs56108454)	報告なし					報告なし				

数値は、全体(1)に対する割合を示す。

【 0 0 5 7 】

表 2 に示すように、-572G/C(rs1800796)に関する遺伝子型のうち、G/C型を示すアジア人は、22.7%であった(太文字/下線箇所)。

【 0 0 5 8 】

〔実施例 2〕 IL-6遺伝子プロモーターのSNP：-572G/C(rs1800796)における遺伝子型とケロイドとの相関関係の分析

実施例 1 の結果から、-572G/C(rs1800796)に関して、更にサンプルを増やして実験を行った。

【 0 0 5 9 】

現在までケロイドを発症したことがない60歳以上の健常者及びケロイド患者に対して、インフォームドコンセントを行い、同意を得られた健常者13名及びケロイド患者85名から5mlの採血を行い、当該血液検体を用いて、実施例 1 に記載の方法に準じて、分析を行った。

分析の結果、-572G/C(rs1800796)においてG/C型の遺伝子型を示す割合は、以下の表 3 の通りであった。

【 0 0 6 0 】

10

20

30

40

【表 3】

ケロイド患者	健常者
0.494	0.230

数値は、全体(1)に対する割合を示す。

## 【0061】

表3に示すように、健常者に対して、ケロイド患者の方が2倍以上の割合で、-572G/C(rs1800796)においてG/C型の遺伝子型を持っていた。

## 【0062】

健常者の23.0%という数は、アジア人全体の22.7%(表2)とほぼ同等であり、この検査が正しく行われていることを検証できた。 10

## 【0063】

さらに、下記の表4に示すように、ケロイド患者85名の中で、多発性ケロイド患者63名のうち35名(55.6%)が-572G/C(rs1800796)においてG/C型の遺伝子型を持っており、単発性ケロイド患者22名のうち7名(31.8%)がこの遺伝子型を持っていた。

## 【0064】

【表 4】

多発性ケロイド患者		単発性ケロイド患者	
G/C型	その他	G/C型	その他
35	28	7	15

数値は、人数を示す。

## 【0065】

このように、ケロイド患者の中でも、多発性ケロイド患者の方が、-572G/C(rs1800796)においてG/C型の遺伝子型を持つ確率が高いことが判明した。

## 【0066】

なお、-373AmTn(rs56108454)については、実施例1において3例(ケロイドを多発する患者)全てがA10T10/A9T11型の遺伝子型を有し、且つ-572G/C(rs1800796)においてG/C型の遺伝子型を示していることから、双方の多型が連鎖していることが考えられた。 20

【 図 1 - 1 】

```

-1200 TAGAGCCCAT TTGCATGAGA CCAAGGATCC TCCGTCAGAA GACACCATCC TGAGGGGAAGA (1)
-1140 GGGCTTCTGA ACCAGCTTGA CCAATAAGA AATTCITGGG TGCCGACGGG GAAGCAGATT
-1080 CAGAGCCTAG AGCCCTGCCG GCGTCCGTAG TTCCCTCTTA GCTTCTTTTG ATTTCAAATC
-1020 AAGACTTACA GGGAGAGGGA GCGATAAGA CAAACTCTGC AAGATGCCAC AAGGTCTCTCC
-960 TTGACATCC CCAACAGGA GGTGACTAGT ATTCCTCCCC TTCTGCCCT GAACCAAGTG
-900 GCTTTCAGTA ATTTCAAGG TCCAGGAGAC CTGGGGCCCA TCGAGGTGCC CAGTGAAC
-840 AGTGGTAAAG AGACTCAGT GCAATGGGA GAGCACTGGC AGCACAAGGC AAACCTCTGG
-780 CACAGAGAGC AAAGTCTCA CTGGGAGAT TCCCAAGGGG TCACTTGGGA GA6GGCAGGG

      IL6F010
      1
-720 CAGCAGCCAA CTTCTCTTAA CTGGGCTGAA GCGAGTGAAG AAAGTGGCAG AAGCCAGCGG
-660 GTGGCAAAA GGAGTCAAC ACTCCACTTG GAGAOGCCTT GAAGTAACTG CACGAAATTT
      95      120
-600 GAGGTGGCC AGGCACTT ACACAGCCS CTACAGGGA GAGCCAGAAC ACAGAAGAAC
      G      G
      A      C
-540 TCAGATGACT GGTAGTATA CCTTCTCAT AATCCAGGC TTGGGGGCT GCGATGGABT
-480 CAGAGGAAC TCAGTACGA ACATCTTGT TTTTACAAA TACAATTA TCGGAAGCCT
      299      319
-420 AAATCTAGC CTGTAATCT GGTCACTGAA AAAAAAATTT TTTTTTNNCA AAAAAATAG
      AA AAAAAATTT TTTTTTTT
      AA AAAAAATTT TTTTTTTT
      AA AAAAAATTT TTTTTTTT
      AA AAAAAATTT TTTTTTTT
      AA AAAAAATTT TTTTTTTT
      AA AAAAAATTT TTTTTTTT
-360 CTTTAGCTTA TTTTTTTTCT CTITGTAAA CTTGGTCAAT GACTTCAGCT TFACTCTTGG
-300 TCAGACATG CCAAGTGTCT GAGTCACTAA TAAAAGAAA AAAGAAGTA AAGGAAGAT
-240 GGTCTGCTT CTTAGGCTTA GCGTCAATGA AGCCTAAGC TGCACTTTTC CCCC247G
      320
-180 TGTCTTCSA TGCTAAAGGA CGTCACATTG CACAATCTA ATAAGGTTTC CAATCAGCC
      G      G
      C      C
-120 TCACCCGCTCT GGGCCACCC TGACCTTGA ACAAGATTT ATCAATGTC GBAITTTCCC
-60 ATGAGTCTCA ATATTAGAT CTACACCCC AATAAATAA GAACTGGAGA TGCTGAGGC
      1
      1
      61
      121
      181
      241
      301
      361
      421
      481
      541
      601
      661
      721
      781
      841
      901
      961
      1021
      1081
      1141
      1201
      1261
      1321
      1381
      1441
      1501
      1561
      1621
      1681
      1741
      1801
      1861
      1921
      1981
      2041
      2101
      2161
      2221
      2281
      2341
      2401
      2461
      2521
  
```

【 図 1 - 2 】

```

301 CCTTCCCTGC CCCAGTACC CCAGGAGAG ATTCAAAAG TGTAGCCCC CCACAGAGAC
361 AGCCACTCAC CTCTTCAAG CBAATGACI AACAHAATTC GTACTCTCT GATGGCATCT
421 CAGCCCTGAG AAAGGAGTG GGTAGGCTTG GCGATGGGT TGAAGGGCC GGTGCCCATG
481 GGTCCCTCT GCGCTGCGT GTGGCCGGGG GCTGCTGCA TTAGAGGCTT TTGTG06GT
541 TCTAGAGCAC TGTAGATTG A6GCCAAAG GCGCCACTAG ACTGACTCT GIATTTATCC
601 TTGTCTGGT TCAGGAAGT CTTTCTTCT CTGGAAGAT CAGATGGGT CTGAAATFCA
661 TGCCACCTT TGGGTGAGC TGAGGTTAT TCTTCTCAG GCTTCTTCT TCCCTITFCA
721 AAAAAATGG TGTGTAAGC TCCITTTTGT CCCC666CT TTGGAAGAC TAGAAAAGTG
781 CCACCTGAA GGCATGTTA GCTTCTCAG CAGTGTGAC TACTTTTGG TTAGTAAAC
841 TCAATGGCTA GGATTCCTA AAGCAATTC AGCTAAGAT CATACCTAG AGCCCAACAA
901 AGTGGCAAT CATAAATAG TTAAGCATC TCCCACTTT CAITGCAAG TATTTTGGTC
961 CTGTTTGTIA GAAAGAAAAG AACACAGGAG GGGAGATTG GAGCCACAC TCGAATTCGT
1021 GTTCTGCCA ACCAGCCTG TGAICTGGG TAAATFCCCT ACACCTCTG GACTCATCA
1081 GTAAAATGG CCGTGGACTA GGTATCTCA TAGATCTTC CCGTGGAAC ATTCTATGGC
1141 TTGAATATA TCTCTAAT TATTGTCAA ATTGCTGTA TTAGATATCT ACTGTGTGCC
1201 AGGCATTTA AATAAATAT TGTCTAATC TTCAAAAAC ATTTGCAAGG AAGGTTTTTG
1261 GAGATAAGGA AACTGAGACT CAGGATTAAG TAACACACT AAAGTACAG GTGACTTGG
1321 AACTGAACC AAGTGTGCC CCACTCCAT GGAATTTGT TGCCAGGATG CCAATGAGTT
1381 TAGCTTCAAT TTTCTTAGA GACTTTCTG GCTGTGGTG AACATGAAA AGGCCCTCTA
1441 GTGGTGTGG TTTTAGGAC ACTTAGGTA TAACAATCT GGTATCTTT CCGACAGATG
1501 TAACAGAGT AACTGTGTG AAAGCAGCA AGAGCCACTG CAGAAAACA ACTGAACTT
1561 TCTAAGATG CTTGAAAAG ATGGTGTCT CCAATCTGA TCAATGAG TACCACCTG
1621 TCGCATCAC TTTTCACTT TCTTAGGCA AACTTCTCC CTUTGCAATG CAGTGGCTGT
1681 ATACATATAG ATCCAGGAC CAACAAAAG TGGTAAATG TAAAGAATG TATGAAATT
1741 TCAATGAGG GCCAATCTA AGCTTTTAA AAGGCATTT ATTTCTGGAC AGGTATGGCC
1801 AGAGATGGT CCACTGTGT GAGATTTAA CACTGTCAA GATTTTAAA CTTCCACAGG
1861 TTTAATTAG TCACTCTGG AAAGTACTC TCAAGCTCT TTTCTCTCT GGTCCGCCCT
1921 GGCAGGGTCC AGGTCTGCC TCCCTCCCT CCGACTCAT CCCCCTCTT GAGATAACCT
1981 GCACGTCTT CTGATTAIT TATAAAGGA GGTTCAGCC CAGCATTAAC AAGGCAAGA
2041 GTGCAAGAG AACATCAAG GGGCAATCA GAGAGGACT CCAATGGCA CATCTAGCA
2101 TCTGTGGCC TTGATAAAA ACTAATTA TGGGCCCTC GATTTCCAG TATTTTAAA
2161 TGGTGTGTC CAATGTCCA AAACATGCT CTAAGAGGT ACTTAAAGT CTCTAGAGGA
2221 GCAGAGGAA AAGATGTGA ACTGTGCAA TTTAATCTT TCAATTAGT TCTATCTCT
2281 GGGCAATCC AATTTTCCA CCACTTCCC TCTTAGGGA CTGCGGTGT GAAATCTATC
2341 ACTGGCTTT TGAAGTTGA GGTATACCTA GAGTACCTC AGAAGAGAT TGAAGTAGT
2401 GAGGACAGC CAGACTCTG GCAGATGAGT ACAAGTCC TGAATCTGT CTTGAGAAA
2461 AAGTGGGTG TGTCTCAIT CCTCAACTT GGTGTGGGG AAGACAGGT CAAGAGACT
2521 GTCTGGACA ACTCAGGGAT GCAATGCCAC TTCCAAAAG GAAGCTACA CGTAAACAAA
  
```

【 図 1 - 3 】

```

2581 AGAGTCTGAG AAATGATTC TGATGTTAT TGTTAAATCT TTTTITGTTI GTTGGTGG
2641 TTGGCTCTCT TCTGCAAGG ACATCAATA CTGTATTTTA AACTATATAT TAAGTGAAGT
2701 GGAATTTAAC ATCAATTTT AATAGTGCA GAGATTTAAA ACCAAAAGCC GGGGGCCGCG
2761 CAGAAAAAAG TGATCCAAC TCCAGCCAGT GATCCACAGA AACAAAGACC AAGGAGCACA
2821 AAATGATTTT AAGATTTTAG TCAITGCCAA GTGACATICT TCTCAGTGTG GTTGTTCAAA
2881 TTCTTTTCCC TACTTTTAC CAGAGAGTTA GTTCAGAGAA ATGGTCAGAG ACTCAAGGGT
2941 GGAAGAGGTT ACCAAGGCTT TTGGCACCBA GTAGCTGGCT ATTCAGACAG CAGGCAAGT
3001 ACTTGTGGC TAGCATGTGG AGGAGCCAAA GCTCAATAG AGGGGGCTTA GAATGAACCC
3061 CTTGGTGGT ATCCTGCCCT TGCCATTTCT ACTTAAAGCCA GGGTITCTCA TATGTTAACA
3121 TGATGGGAA TTCCCTGGCC ATCTTCTTGT GGTGTGGAGT CTGACTTAGC AAGCCTGGGG
3181 TGGFTTGGG GGTCAAAAT CTACAGGCT TATATCCCTG GTGATGCTC AGAATTTCCAG
3241 GACCACACTT GGAAGTTTAA GGCCTTCCAC AAGTFACTTA TCCCATATGG TGGTCTATG
3301 GAAAGGTGTT TCCCAGTCC TTTTACACCA CCGGATFCAG GGTCTTTCAA CAGATCTTAA
3361 AGGATGGTG AGAGGAAAC TGGAGAAAAG TATCAGATT AGAGGCCACT GAAGAACCBA
3421 TAITAAAATG CCTTAAATA TGGGCTCTTC ATTCATATAC TAAATATGAA CTATGTCCBA
3481 GGCATTAAT CATATGACAG AATACAACA AATAAGATG TGATGTGGT CAGGCTTGGT
3541 GGCATATGCC TGATTTCCCT AAATTTGGG AGCCTAAGGT GAGAATCTCT TGAATCTCTA
3601 AGCCAGGAG TTCAAGACCA CCGTGATAA CATAGCAAGA CCCCATCTCT ACAAAAAACC
3661 AAAACCAAC AAACAAAAAT GATAGTGGTG CTTCCTCCAG GATGCTTGTG GTCTAATGGG
3721 AGACAGAAC GCAAAGGGAT GATTAAGAT TGGTGTCTGT GAGCCAGGCA CAGTGTGAT
3781 AATATCCAG CACTATGGGA GGTGAGGTT GGTGGATCAT TTGAGGCCAG GAGTTAAGA
3841 CCAGCTGGT CACATGGTA AAACCCATC TACTATAAA AATACAAAA AGTTAGCCAG
3901 GCAATGGTC ATACACCTGT AACCCAGCTA CTCAGGAGGC TGAGGCACAT GAATCACTTG
3961 AACCCAGGAG GCAGAGGTTG CTGTGCACCA CTGCACCTCA GCTTGGGTTA CAGAAGCAGA
4021 CTTGACTCA AAAAAAATA AAAGAAGTTT GTTGTATGG AAGGCTCTA CTCAGAGCAG
4081 GCACCCAGT TAATCTCAT CACCACCAT TTGACATTTG AACATCACT CATAGCCOAG
4141 AGCATCCCT CACTGCAAG GATTATTCA ACATTTAAAC AATCTTTTT ACTTTGATTT
4201 TCTTTCAGC AAGAAATTA GATGCAATA CCAACCTGGA CCAACACCA ATGACAGCC
4261 TCTGACGA GCTGACGCA CAGAACATG GCTGCAGGA CATGCAACT CATCTATTC
4321 TGCCAGCTT TAAGGATTC CTGAGTCCA GCTTGAAGGC TCTTCCGAA ATGATGATG
4381 GGCACCTCAG ATTTGTGTT TAAATGGGCA TTCTTCTTCT TGGTCAAGAA CCGTCCACT
4441 GGGCAGAGAA CTATGTTGT TCTCTATGGA GAACATAAAG TATGAGCGTT AGCAGACTAT
4501 TTAATTAAT TTAATTAAT TAATTTTAA ATATGTGAAG CTGAGTAAAT TTAGTAAGT
4561 CAIATTTATA TTTTAAAGAA CTACCACTG AAACATTTTA TGTATTAGT TTGAATAAT
4621 AATGAAAGT GCTATGCGAG TTTGAAATC CTTTGTTCG GAGCCAGATC ATTTCTTGA
4681 AAGTGTAGC TTACCTCAA TAAATGGCTA ACTTATACAT ATTTTAAAG AAATATTAAT
4741 ATGTATITA TATAATGTA AAATGGTTT TATACCAATA AATGGCAIT TAAAAATTC
4801 AGCAACTTG AGTGTCTAC GTAAAGCTTA ATATAAACA GTTCTTGTCT ACTGCCACCA (3)
  
```

【 図 1 - 4 】

```

CCAGACCAA AAAAAAGTAA TCAATCACTA TATATAATC ATATATATAC TATATATAAT
AAATATATAT ACTATATATA ATACATATAT ACATATATA TAATAGATAT ATACTATATA
TACACATATA TACTATATAT ACACATATAT ATTAGAATG TATATATATA GTATATATAG
TATATATACT ATGATATAT ATATATAGTA TATATAGTAT ATATACTATG TATGTATATA
TATAGTATAT ATAGTATATA TAGTATATAT ACTATGTATG TATATATATA GTATATATAG
TATATATACT GTATATGAT ATATATAGTA TATATATACT ATATAGCAT ACATAGTATA
TATGATATA TACTATATAT ACTATATAT TATATATACT ATACTATA TACTATATAT
ACTGTATATA TACTATATAT GTATATATAC GATATATATA TACTATATAT ATGACACAC
ACACATATAT ATACATATAT AAGCACTAC TACATGCCAG GCATCAITAA ATGTGTGCA
TCCATCACTG CATTTAACC CAGCCTCTG ACACCTCTTT CTGGTGTGGG AAGACTAAGT
AATTTATCTA AGTCAACCAG CTGGAAGGTC AGGCAGGAC CAGATTTGA AATCAAGTCT
TACCTACCTA CAGGTCCCTC ACTTTAACC TGTAGGTCCT ACTGCCATCC CAGGAACATG
GGGATGATGT AGAAAAATCC AAACATGTT AATATAGGGA ATACCTATA ACATGCAATC
AAAGTCTTGG GGAATATACA ACCACTGTAT AAAGCATAAC AATGTACAG CTTCGAAACA
ATACTAGAA GTTCTGCTC CCTTCTTGG GTTCTAAG CACTGCAAT CTCACTGT
CAAGCAICT ACCACATTT ACCAGACTT AAATCAAGT GTTTTITTT TCTCAGCCAG
CATGTGGATG CCTCAATA GCGAGCTCT TTCATGACT AAAATTAAT TCAGGGGGGA
AAAAAGAGC AGCTGGGGC AGTGGCTCAG GCCTATAATC CCAGACTTT GGAAGCTGA
GGCCGGAGGA TCACTTGAAG TCAGAAAGCC AGCCTGCCA ACATGGCAA ACCCCGTCTC
TAC
  
```

【配列表】

2014036581000001.app

フロントページの続き

Fターム(参考) 4B024 AA11 CA09 CA20 HA12  
4B063 QA07 QA12 QQ49 QR55 QR62 QS14 QX10