

(19) 日本国特許庁 ( J P )

(12) 公開特許公報 ( A )

(11) 特許出願公開番号  
特開2002-238571  
( P2002-238571A )

(43) 公開日 平成14年 8 月27日 (2002. 8. 27)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テームコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 Q 1/68	A 4 B 0 2 4
C 1 2 Q 1/68		C 1 2 N 15/00	Z N A A 4 B 0 6 3

審査請求 有 請求項の数 9 O L (全 11 頁)

(21) 出願番号 特願2001-38621(P2001-38621)

(22) 出願日 平成13年 2 月15日 (2001. 2. 15)

(71) 出願人 391012501

九州大学長

福岡県福岡市東区箱崎 6 丁目10番 1 号

(72) 発明者 井原 健二

福岡県福岡市東区貝塚団地アーベインルネ  
ス貝塚 9 棟906号

(72) 発明者 原 寿郎

福岡県福岡市中央区荒戸 3 - 3 - 15 - 403

(74) 代理人 100077517

弁理士 石田 敬 (外 4 名)

F ターム(参考) 4B024 AA11 BA80 CA01 CA09 HA12

4B063 QA01 QA17 QA19 QQ03 QQ42

QR08 QR14 QR42 QR62 QS16

QS25 QS34 QS36 QX02

(54) 【発明の名称】 1 型糖尿病感受性遺伝子同定用プライマー

(57) 【要約】

【課題】 1 型糖尿病の発症に關与する遺伝子の同定方法。

【解決手段】 T - b e t 遺伝子中の G T リピート多型 (多型 1 )、C A リピート多型 (多型 2 ) 又はアミノ酸 3 3 位のヒスチジンのコドン中の塩基置換多型 (多型 3 ) により、1 型糖尿病に關与する遺伝子が同定される。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 配列番号：1に示す第600位の塩基から第671位の塩基までに存在する「gt」リピート領域より上流に存在するヌクレオチド配列中連続する10～50個のヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチド又はその相補体、と前記リピート領域より下流に存在するヌクレオチド配列中連続する10～50個のヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチドとからなる、1型糖尿病感受性遺伝子同定用プライマー対。

【請求項2】 次のヌクレオチド配列：

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

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

を有する2個のオリゴヌクレオチドから成る、請求項1に記載のプライマー対。

【請求項3】 1型糖尿病にかかりやすい個体を同定するための請求項1又は2に記載のプライマー対。

【請求項4】 配列番号：4に示す第635位の塩基から第666位の塩基までに存在する「ca」リピート領域より上流に存在するヌクレオチド配列中連続する10～50個のヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチド又はその相補体、と前記リピート領域より下流に存在するヌクレオチド配列中連続する10～50個のヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチドとからなる、1型糖尿病感受性遺伝子同定用プライマー対。

【請求項5】 次のヌクレオチド配列：

フォワードプライマー：5'-AGGTGGGTTAGACAGAAATAG（配列番号：5）

リバースプライマー：5'-GAGAGGTTTTGCTTGCTT（配列番号：6）

を有する2個のオリゴヌクレオチドから成る、請求項3に記載のプライマー対。

【請求項6】 1型糖尿病にかかりやすい個体を同定するための請求項4又は5に記載のプライマー対。

【請求項7】 配列番号：7に示す33位のヒスチジンのコドンCAC（塩基番号1900～1902）より上流に存在するヌクレオチド配列中連続する10～50個の連続するヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチド又はその相補体と、前記ヒスチジンのコドンより下流に存在するヌクレオチド配列中10～50個の連続するヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチド又はその相補体とから成る、1型糖尿病感受性遺伝子同定用プライマー対。

【請求項8】 次のヌクレオチド配列：

フォワードプライマー：5'-CAGTCTATGGATGAGGCAC（配列番号：8）

リバースプライマー：5'-AACTTGGACCAACAGGTG（配列番号：9）

を有する2個のオリゴヌクレオチドから成る、請求項5

に記載のプライマー対。

【請求項9】 1型糖尿病にかかりやすい個体の同定のための請求項7又は8に記載のプライマー対。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、1型糖尿病感受性遺伝子又は1型糖尿病にかかりやすい個体の同定のためのプライマーに関する。

【0002】

【従来の技術】1型糖尿病の発症に關与する遺伝的背景因子の同定に関しては、その発生頻度の高いコーカサス人集団を中心に研究が進められており、これまでに証明された遺伝子座位はIDD M1-15のほかいくつかの染色体上の位置が報告されている。しかしながらそれぞれの座位における疾患感受性遺伝子についてはIDD M1（HLA遺伝子）とIDD M2のインスリン遺伝子を除きまだ証明されていない。

【0003】一方、1型糖尿病発症に關連する候補遺伝子疾患關連研究に関しては、これまで多くの遺伝子について報告がある。INF-、インターフェロン1受容体、CTLA-4、CD28、TNF、ケモカイン受容体などの關連性の報告があるが、民族集団により結果の相違を見るケースもある。Tリンパ球には、そのサブセットとしてTh1とTh2という異なった2つのタイプが存在することが証明されており、1型糖尿病や多発性硬化症などの疾患はTh1、アレルギーや全身性ループスエリテマトーデスなどはTh2優位の疾患であると考えられている。

【0004】T-bet遺伝子は、最近同定された転写因子でTh1系の細胞に特異的に発現し、かつTh2系細胞に強制的にT-bet遺伝子を発現させるとTh1の性質を持つようになることから、Th1系への分化に重要な働きを有することが示唆されている（O'Garra A., Nature. 404 : 719-720 ; Szabo SJ, Kim ST, Cosn GL, et al. ; Cell. 100 : 655-669）。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】しかしながら、T-bet遺伝子と1型糖尿病感受性との関係は知られていない。従って、本発明は、T-bet遺伝子の領域と1型糖尿病感受性との關連を解明し、1型糖尿病感受性に關連する遺伝子又は1型糖尿病にかかりやすい個体を同定するためのプライマーを提供しようとするものである。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者は、上記の課題を解決すべくゲノムT-bet遺伝子をクローニングし、その配列を決定した結果、ヒトT-bet遺伝子は6個のエキソンと5個のイントロンを有し、エキソン1にGTリピート（多型1と称する）が存在し、3'-非翻訳領域にCAリピート（多型2と称する）、そしてエキソン1のアミノ酸番号33のコドン中に1塩基遺伝子

多型が存在し、これらの多型が日本人集団における1型糖尿病と関連することを見出し、本発明を完成した。

【0007】従って本発明は、配列番号：1に示す第600位の塩基から第671位の塩基までに存在する「gt」リピート領域より上流に存在するヌクレオチド配列中連続する10～50個のヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチド又はその相補体、と前記リピート領域より下流に存在するヌクレオチド配列中連続する10～50個のヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチドとからなる、1型糖尿病感受性遺伝子同定用プライマー対を提供する。

【0008】上記のプライマー対の具体例として、次のヌクレオチド配列：

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

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

を有する2個のオリゴヌクレオチドから成る、請求項5に記載のプライマー対が挙げられる。

【0009】本発明はまた、配列番号：4に示す第635位の塩基から第666位の塩基までに存在する「ca」リピート領域より上流に存在するヌクレオチド配列中連続する10～50個のヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチド又はその相補体、と前記リピート領域より下流に存在するヌクレオチド配列中連続する10～50個のヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチドとからなる、1型糖尿病感受性遺伝子同定用プライマー対が挙げられる。

【0010】上記プライマー対の具体例として、次のヌクレオチド配列：

フォワードプライマー：5'-AGGTGGGTTAGACAGAAATAG（配列番号：5）

リバースプライマー：5'-GAGAGGTTTTGCTTGCTT（配列番号：6）

を有する2個のオリゴヌクレオチドから成る、請求項3に記載のプライマー対が挙げられる。

【0011】本発明はさらに、配列番号：7に示す33位のヒスチジンのコドンCAC（塩基番号1900～1902）より上流に存在するヌクレオチド配列中連続する10～50個の連続するヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチド又はその相補体と、前記ヒスチジンのコドンより下流に存在するヌクレオチド配列中10～50個の連続するヌクレオチドに対応するオリゴヌクレオチド又はその相補体とから成る、1型糖尿病感受性遺伝子同定用プライマー対を提供する。

【0012】上記プライマー対の具体例として、次のヌクレオチド配列：

フォワードプライマー：5'-CAGTCTATGGATGAGGCAC（配列番号：8）

リバースプライマー：5'-AACTTGACCACAACAGGTG（配列

番号：9）

を有する2個のオリゴヌクレオチドから成る、請求項5に記載のプライマー対が挙げられる。

【0013】

【発明の実施の形態】本発明においては、まず、ヒトT-bet遺伝子はそのcDNA情報しか登録されておらずゲノム情報は未発表のため、GenBankに登録されているクローンをT-bet遺伝子cDNA情報を用いてスクリーニングした結果、ゲノムクローンを同定し（cloneHIT.211#P#7, accession no.AC003665）この中にヒトt-bet遺伝子が存在することを確認した。その結果、遺伝子の構造としては、6個のエキソンと5つのイントロンからなると推定された。イントロン領域にはいくつかのマイクロサテライトの可能性のあるリピート配列が存在し、我々はそれらの解析の結果、エキソン1にGTリピート（多型1）と3'UTR領域にCAリピート（多型2）マイクロサテライト多型が存在することを同定した。

【0014】またエキソン1内のアミノ酸番号33のヒスチジンはグルタミンに置換した1塩基遺伝子多型（多型3）があることが同定された。これらt-bet遺伝子内の3カ所を遺伝子多型を日本人集団における1型糖尿病への関与を疾患関連研究法で解析し、その結果、3カ所の遺伝子多型のそれぞれ特定の遺伝子多型が1型糖尿病患者において統計学的に有意に多く、疾患感受性遺伝子であることが強く示唆された。すなわち疾患感受性遺伝子と同定された。

【0015】従って、本発明における多型1のGTリピート数を決定するための増幅用プライマーとしては、GTリピートの上流の任意の位置にあるヌクレオチド配列に対応するホワードプライマーとGTリピートの下流の任意の位置にあるヌクレオチド配列に対応するリバースプライマーとから成るプライマー対が使用される。同様に、多型2のCAリピート数を決定するための増幅用プライマーとしては、CAリピートの上流の任意の位置にあるヌクレオチド配列に対応するホワードプライマーと、ACリピートの下流の任意の位置にあるヌクレオチド配列に対応するリバースプライマーとから成るプライマー対が使用される。

【0016】さらに、多型3の検出用プライマーとしては、塩基置換多型部位であるCAC（His）/CAG（Gln）部位より上流の任意の位置のヌクレオチド配列に対応するホワードプライマーと、前記多型部位より下流にあるヌクレオチド配列に対応するリバースプライマーとから成るプライマー対が使用される。

【0017】多型1及び多型2のリピート数を決定するためのホワードプライマーが対応するゲノム配列の位置としては、リピートの上流末端からおよそ600塩基の位置にある塩基と、リピートの上流末端からすぐ上流の塩基との間にある任意の配列であることができる。また、多型1及び多型2のリピート数を決定するためのリ

バースプライマーが対応するゲノム配列の位置としては、リピートの下流末端からおよそ600塩基の位置にある塩基と、リピートの下流末端のすぐ下流の塩基との間にある任意の配列であることができる。

【0018】しかしながら、ホワードプライマーに対応するゲノム上の位置としては、リピートの上流末端から上流方向に300塩基以内にあることが好ましく、150塩基以内にあることがさらに好ましく、例えば50塩基以内にあることが好ましい。また、リバースプライマーに対応するゲノム上の位置としては、リピートの下流末端から下流方向に300塩基以内にあることが好ましく、150塩基以内にあることがさらに好ましく、例えば50塩基以内にあることが好ましい。

【0019】多型3検出用のホワードプライマーに対応するゲノム上の位置としては、多型部位から上流1500ヌクレオチドの範囲内が好ましく、1000ヌクレオチドの塩基がさらに好ましく、例えば500ヌクレオチド以内にあるのが好ましい。多型3検出用のリバースプライマーに対応するゲノム上の位置としては、多型部位から下流1500ヌクレオチドの範囲内が好ましく、1000ヌクレオチドの範囲内がさらに好ましく、例えば500ヌクレオチドの範囲内が好ましい。

【0020】プライマーの長さは、常用のPCR技術に関する知見に基いて定められ、通常10～50ヌクレオチドの長さ、より一般的には15～40ヌクレオチドの長さ、例えば15～30ヌクレオチドの長さである。プライマーの塩基配列としては、対応するゲノム上の配列と完全に同一であるか、又は正確な相補体であることが好ましいが、完全に一致しなくても特定の配列を増幅するためのプライマーとして機能し得ることは明らかである。従って、ゲノム配列のある領域に「対応する」プライマーの配列としては、ゲノム配列の対応領域と完全に同一の配列及び正確な相補体である配列（これらを含めて、完全に一致する配列と称する）のほかに、これらの完全に一致する配列に対して10ヌクレオチド当たり、1～3ヌクレオチド異なる程度の相同性ヌクレオチド配列

も含まれる。

【0021】

【実施例】次に、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。

#### 実施例

(1)多型1を同定するために、ゲノムクローンの塩基配列をもとにして、PCRプライマーセットの塩基配列を決定し、PCRでこの多型を含む領域を増幅後にアプライドバイオシステム社の310 PRISM装置並びに解析ソフトGeneScanを用いて、各個人のマイクロサテライトマーカの長さを同定した。

【0022】(2)多型2を同定するために、多型1と同様にゲノムクローンの塩基配列をもとにして、PCRプライマーセットの塩基配列を決定し、PCRでこの多型を含む領域を増幅後各個人のマイクロサテライトマーカの長さを同定した。

(3)多型3を同定するため、この多型を含む領域を増幅するPCRプライマーセット塩基配列を決定し、PCRで増幅後に制限酵素Eco47 IIIIで処理することで多型を同定した。

【0023】まず、各試料から鑄型DNAを次のようにして調製した。末梢血約0.5mlより、DNA抽出キット(QIAamp blood kit、キアゲン社)を用いてDNAを抽出した。得られたDNA量は、吸光度を測定(Spectrophotometer、島津社製)することで定量した。

(1)多型1を解析するためのPCRプライマーセットの塩基配列

ホワードプライマー：5'-AAGTTTCCTTTCCGGTCTTA (配列番号：2)

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

上記のプライマーにより増幅されたPCR産物は、GTリピートの繰り返し数により、日本人集団では配列番号：1に示す多型を含めて26種類の多型性を有していた。

【0024】結果を次の表1及び表2に示す。

【表1】

表 1

対立遺伝子 NO.	反復数 (n)	正常者		1型糖尿病(全数)		1型糖尿病(発病が10歳以下)	
		対立遺伝子数(頻度)		対立遺伝子数(頻度)	P値	対立遺伝子数(頻度)	P値
(TG) <sub>n</sub>							
対立遺伝子1	15	1 (0.3)		1 (0.3)	---	1 (0.5)	---
対立遺伝子2	20	0 (0.0)		2 (0.7)	0.19	0 (0.0)	---
対立遺伝子3	21	0 (0.0)		1 (0.3)	0.43	1 (0.5)	0.35
対立遺伝子4	23	2 (0.5)		1 (0.3)	---	1 (0.5)	---
対立遺伝子5	24	0 (0.0)		2 (0.7)	0.19	2 (0.9)	0.12
対立遺伝子6	25	4 (1.0)		2 (0.7)	0.70	2 (0.9)	---
対立遺伝子7	26	7 (1.7)		6 (2.0)	0.83	2 (0.9)	0.50
対立遺伝子8	27	4 (1.0)		5 (1.6)	0.51	2 (0.9)	---
(TG) <sub>1,4</sub> TA(TG) <sub>n</sub>							
対立遺伝子9	13	1 (0.3)		1 (0.3)	---	1 (0.5)	---
対立遺伝子10	14	22 (5.5)		22 (7.2)	0.36	17 (7.8)	0.26
対立遺伝子11	15	2 (0.5)		5 (1.6)	0.25	3 (1.4)	0.35

【0025】

【表2】

表 2

対立遺伝子 NO.	反復数 (n)	正常者		1型糖尿病(全数)		1型糖尿病(発病が10歳以下)	
		対立遺伝子数(頻度)		対立遺伝子数(頻度)	P値	対立遺伝子数(頻度)	P値
(TG) <sub>n</sub> TA(TG) <sub>4</sub> CG(TG) <sub>5</sub>							
対立遺伝子12	20	1 (0.3)		0 (0.0)	---	0 (0.0)	---
対立遺伝子13	21	19 (4.7)		12 (3.9)	0.59	10 (4.5)	0.93
対立遺伝子14	22	22 (5.5)		32 (10.5)	0.01	25 (11.5)	0.007
対立遺伝子15	23	15 (3.8)		19 (6.2)	0.13	14 (6.4)	0.13
対立遺伝子16	24	34 (8.5)		30 (9.8)	0.55	24 (11.0)	0.31
対立遺伝子17	25	72 (18.0)		34 (11.0)	0.01	26 (11.9)	0.04
対立遺伝子18	26	36 (9.0)		25 (8.2)	0.69	17 (7.8)	0.61
対立遺伝子19	27	41 (10.2)		28 (9.2)	0.63	16 (7.3)	0.23
対立遺伝子20	28	36 (9.0)		25 (8.2)	0.69	16 (7.3)	0.48
対立遺伝子21	29	34 (8.5)		18 (5.9)	0.18	13 (6.0)	0.26
対立遺伝子22	30	33 (8.2)		19 (6.2)	0.3	13 (6.0)	0.30
対立遺伝子23	31	7 (1.7)		7 (2.3)	0.61	5 (2.3)	0.64
対立遺伝子24	32	0 (0.0)		3 (1.0)	0.08	2 (0.9)	0.12
対立遺伝子25	33	6 (1.5)		5 (1.6)	0.89	5 (2.3)	0.48
対立遺伝子26	34	1 (0.3)		1 (0.3)	---	0 (0.0)	---

【0026】表1及び表2は、正常者からの試料200個(対立遺伝子数400個)、1型糖尿病患者からの全試料153個(対立遺伝子数306個)、及び発病が10歳以下の1型糖尿病患者からの試料109個(対立遺伝子数218個)について、多型1の各対立遺伝子型(GT反復数)に属する対立遺伝子の個数及び頻度分布(%)、並びにこれらを正常者からの試料と1型糖尿病患者からの試料について比較したP値を示す。なお、検定は、カイ自乗検定にて行い、P値が0.05以下を有意と判定した。

【0027】以上の結果から、対立遺伝子14における対立遺伝子頻度において、正常者と1型糖尿病患者間、また正常者と10歳以下の発症の1型糖尿病患者間で統計学

的に有意な差異を認めた。

【0028】(2)多型2を解析するためのPCRプライマーセットの塩基配列  
 ホワードプライマー: 5'-AGGTGGGTTAGACAGAAATAG(配列番号: 4)  
 リバースプライマー: 5'-GAGAGGTTTTGCTTGTCTT(配列番号: 5)  
 上記のプライマーにより増幅されたPCR産物は、CAリピートの繰り返し数により、日本人集団では配列番号: 3に示す多型を含めて6種類の多型性を有する。結果を次の表3に示す。

【0029】

【表3】

表3

対立遺伝子 NO.	反復数 (n)	正常者	1型糖尿病(全数)		1型糖尿病(発病が10歳以下)	
		対立遺伝子数(頻度)	対立遺伝子数(頻度)	P値	対立遺伝子数(頻度)	P値
対立遺伝子1	13	0 (0.0)	1 (0.3)	0.43	1 (0.5)	0.35
対立遺伝子2	14	27 (6.7)	38 (12.4)	0.0098	30 (13.7)	0.0040
対立遺伝子3	15	4 (1.0)	5 (1.6)	0.51	1 (0.5)	0.66
対立遺伝子4	16	240 (80.0)	177 (57.9)	0.56	124 (56.9)	0.45
対立遺伝子5	17	122 (30.5)	82 (26.8)	0.28	61 (27.9)	0.51
対立遺伝子6	18	7 (1.7)	3 (1.0)	0.53	1 (0.5)	0.27

【0030】表3は、正常者からの試料200個(対立遺伝子数400個)、1型糖尿病患者からの全試料153個(対立遺伝子数306個)、及び発病が10歳以下の1型糖尿病患者からの試料109個(対立遺伝子数218個)について、多型2の各対立遺伝子型(AC反復数)に属する対立遺伝子の個数及び頻度分布(%)、並びにそれらを正常者からの試料と1型糖尿病患者からの試料について比較したP値を示す。以上の結果から、対立遺伝子2における対立遺伝子頻度において、正常者と1型糖尿病患者間、また正常者と10歳以下の発症の1型糖尿病患者間で統計学的に有意な差異を認めた。

【0031】(3)多型3を同定のPCRプライマーセットの塩基配列

ホワードプライマー: 5'-CAGTCTATGGATGAGGCAC(配列番号: 8)

リバースプライマー: 5'-AACTTGGACCAACAGGTG(配列番号: 9)

上記のプライマーにより増幅されたPCR産物は、ヒスチジン対立遺伝子型はEco47 IIIで消化されないがグルタミン対立遺伝子型は2本に消化される。このことを利用して、アミノ酸番号33のヒスチジン・グルタミン遺伝子多型の区別が可能である。

【0032】PCR法にて上記の下線の塩基配列で増幅される1484塩基対のフラグメントは、制限酵素Eco47 III処理にて、His対立遺伝子は680塩基対と804塩基対に消化されたが、Gln対立遺伝子は新たなEco47 III消化部位

の出現により330塩基対、350塩基対と804塩基対に消化された。

【0033】

【表4】

表4

#### 塩基置換によるアミノ酸の変化

His Arg Tyr  
CAC CGC TAC  
↓  
Gln  
CAG

#### 制限酵素部位

CAC CGC TAC  
↓  
CAG CGC TAC

AGC/GCT = Eco47 III

His(33)型対立遺伝子及びGln(33)型対立遺伝子のヌクレオチド配列の例を配列番号: 10及び配列番号: 11に示す。結果を、表5に示す。

【0034】

【表5】

表5

遺伝子型	試料数	アミノ酸33位における遺伝子型			P
		His33/ His33	His33/ Gln33	Gln33/ Gln33	
正常者	200	162 (81.0%)	34 (17.0%)	4 (2.0%)	
1型糖尿病 全体	153	108 (70.6%)	43 (28.1%)	2 (1.3%)	0.02
病歴10年以下	109	74 (67.9%)	33 (30.3%)	2 (1.8%)	0.009
病歴10年以上	44	34 (77.3%)	10 (22.7%)	0 (0.0%)	0.57

表5は、正常者からの試料200個(対立遺伝子数400個)、1型糖尿病患者からの全試料153個(対立遺伝子数306個)、発病が10歳以下の1型糖尿病患者

からの試料109個(対立遺伝子数218個)及び発病が10歳以上の糖尿病患者からの試料44個(対立遺伝子数88個)について、遺伝子型His33/His33

3、His33/Gln33、及びGln33/Gln33に属する遺伝子型の数及び頻度(%)、並びにそれらの比較により得られるP値を示す。検定は、カイ自乗検定にて行い、P値が0.05以下を有意と判定した。

【0035】上記の表より、正常患者に比べて1型糖尿病患者において、His33/Gln33の比率が高いことがわかる。以上の結果から、多型1においてGT反

復数が49の個体、多型2においてAC反復数が12の個体、及び多型3において遺伝子型Gln33を有する個体は、1型糖尿病にかかる可能性が高いと予想される。

【0036】

【配列表】

```

<;110>; Ihara Kenji
<;120>; Primers for identification or Type 1 diabetes-revsitive genes
<;160>; 11
<;210>; 1
<;211>;
<;212>; DNA
<;213>; Homo sapiens
<;223>; Nucleotide sequence comprising polymorphism 1
<;400>; 1
cgcgccggcc cttggggcct ctgtgccgc gccggaaca gaacgtctcg tctgttttc 60
tggctcgaca atgcttctga ctccgtgtcc ctactgctt tggcttcagc gtagggagac 120
aggggaatgg ggttgttagg aggacagga aagctccga ggggcgtctg tgcccaggct 180
gttgcaccaa cagccagagg actcacaagg gagacgggtg agtgcgggac agtgagaagt 240
caccttgatt taggggaagg gtgactgtgg cttcacctag aattggtgtg cgccccgcc 300
ccactctcta ctgtagagga gtcgcagcgg gcagtgaag cctgtgctct gggcggacag 360
gacgcctggg cctcctgtgt gggaaactgg aggggaaggg agccccttat ctccggggccc 420
cctgcgccca cctcccccg ctcctttgct gctgggtgtc tcaggtcagc tttagtggtg 480
gtagtgtgtg tggtagcggg ggtggtggtg tgtgtgtacg gggggagatt gggatttggg 540
gacatggaga agcagtcgcc aagtttcctt tccggtctta ctttgagatc atatgtctgg 600
tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgtg tgtgtgtgta tgtgtgtgtg 660
ggtgtgtgtg tatggggct agtgcagtaa agctttagg gggcacagat cccttccagg 720
cacaaatgcc cacgggctgg gcagatgaag ctcccagg ggtccagcct ggtagccagc 780
cccacactgc accctttgag gctgttccag taaaacctt cccacactc ctgtccagaa 840
attcacgggt tcagcctgga gaagtggga aggggtgtcc catggcttca tggctcaggg 900
ttcctgagcc ccgtgcgtga tggggagagt ttggggctga ggggtctgct tccgataga 960
gcctcctgcg caaggaaaga aacagaaacc tgtgacttgt gtggtatttg tttagtaagc 1020
aaccgccgga gtaggactgt tctgatgtgg gctgtgcgca cccacccttc ccagtgccgc 1080
ccatgtgagc aggggaccag cgaggaccag tgtggaaggg ctgttgtcat tggtaggacct 1140
gggatgctgg gtcccaggtc cgagaggtgt ggataccaaa cgtggggctt ggggtggagg 1200
ggagagggag aaggccatgt tggacccag aggttgta 1239

```

【0037】

```

<;210>; 2
<;211>; 20
<;212>; DNA
<;213>; Artificial Sequence
<;220>;
<;223>; Forward primer for polymorphism 1
<;400>; 2
aagtttcctt tccggtctta

```

【0038】

```

<;210>; 3
<;211>; 22
<;212>; DNA

```

<;213>; Artificial Sequence

<;220>;

<;223>; Reverse primer for polymorphism 1

<;400>; 3

ctacaagctt tactgcacta gc

22

【 0 0 3 9 】

<;210>; 4

<;211>;

<;212>;

<;213>; Homo sapiens

<;223>; Nucleotide sequence comprising polymorphism 2

<;400>; 4

taatacatgt aaagggttta agaacattgc ctgacaaaca gtaagcactc actgtgtaag 60  
 ctactgttac caacagtttc tagctgttcc tgtctgtctt tttatacaca ctgaattgtg 120  
 tttgtaaaat aatacactact tttttttttt ttttttgaga cagagttttg ctctgtgtgc 180  
 ccaggctgga atgcaatggt gcgatctcag ctactgaaa ccttcgcctc ccaggttcaa 240  
 gtgattctcc tgcctcacc cctctgagtag ctgggattac agatgtgcac caccatgcct 300  
 ggctaatttt tgtattttta gtagagacgg tgtttcgcca tattggccag gctggctctg 360  
 aactcctgac gtcaggatgat ctaccacct tggcttccca aagtgtctggg attacaggcg 420  
 tgcgtcacca cactcagcct atacatgctt cttttaaata attcaagcaa ggaagaaaag 480  
 tataaagaca acaataaatt atctcaaatc ttacccatca agaattatca ttaacattag 540  
 gtgggttaga cagaaatagt tttataaatt ggaaccatac tgaaaaggct ttttctaat 600  
 gaaaatgggt aaatttttagc ttatagaatt tagtcacaca cacacacaca cacacacaca 660  
 cacacatcaa gacaagcaaa acctctcaaa ctctcaagtg aaatgaaggg agttgctaaa 720  
 cttaagataa atttttcttc actacaagaa atattttctt ggtttttttt ttttttgaga 780  
 cagagtctcg ctctgttggc caggctggag tgcagtggca cgatctcagc tcaactgcaac 840  
 ctccacctcc tgggttcaag cagttctcct gcctcagcct cccgagtagc tgagactaca 900  
 ggogtgtgcc accacgccc gctttttttg tgttttttgg agagacgggg ttttcacat 960  
 attagccagg atggtctcga tctcttgacc tctgtatctg tctgcctcgg cctcccaaag 1020  
 tgctaggatt ataggcgtga gccaccgtgc ccaggcaaga aatagtt 1067

【 0 0 4 0 】

<;210>; 5

<;211>; 21

<;212>; DNA

<;213>; Artificial Sequence

<;220>;

<;223>; Forward primer for polymorphism 2

<;400>; 5

aggtgggtta gacagaaata g

21

【 0 0 4 1 】

<;210>; 6

<;211>; 19

<;212>; DNA

<;213>; Artificial Sequence

<;220>;

<;223>; Reverse primer for polymorphism 2

<;400>; 6

gagaggtttt gcttgtctt

19

【 0 0 4 2 】

<;210>; 7



&lt;;211&gt;;

&lt;;212&gt;; DNA

&lt;;213&gt;; Homo sapiens

&lt;;223&gt;; Nucleotide sequence comprising polymorphism 3

&lt;;400&gt;; 7

```

gtcccatag gccctaagg gtgaagccct gtcaggctgg gacagaaatg tagagctggg 60
gccagtccc aggggagaac tggggaggac tggggtgaag gtagagagag gagaagttaa 120
actttaacat gacaaaaata ttaaagtatt ttcaaagta ctcttaaaaa tgtaaatctt 180
tatctatata ctgatatgca aaatatcca tgacacctg tggagtgaaa aaaaagtaca 240
cattataaag cagcatgtgt agtgttata taaattatat atttgtgcat gtgtgcaaaa 300
gacagagaca gagagtatat aaggagttag gtctcagagg gtgttactg aaatgtaat 360
cctgtttggc tttaggggtt ggaatttggg gtgatttata cagtctgtt ttacttttc 420
tgtgtgctt aaatttccta tataagtatg ttcatcttt atacacagga aaactccaa 480
tgatgctatt ttcaattggg ggggggaaa cggatagtt tcatcataaa aggagtctaa 540
tacattagtt aacataaaag gaaaaaggag aaagaaaagc ctccatcgtc ctatctccga 600
ggcagccctt cagagcatgt ggtgggtttc ctctctgtca gccggctctg aatctgttca 660
aagcagcttt tccatccagg tataataata gatggaaag tgctgcacac gtacaccctc 720
tcatgtaagg ctgcagccc ccctgaaaag tagatctgtt tatttcccc agtctatgga 780
tgaggcacgt gaggttact ttcaggcaag gaaatgact tgccctgggtc acatatacct 840
ggcaggcaga gccagacctg ggactctcag cactggcagc ccaatgctac ttccagtgcc 900
catgactgcc atgcagggta ggggagcttt tgtggccct gccaggcca gctcagggcc 960
ctgcaaacc ctggctgctg ctgatgcagt gcgctttaag gaacatttc tgtgtccat 1020
caggttccag gctgcccc agggctagag ctacaagatg cagccaactc agcacatgtg 1080
gacctctgtt ggggagaaag agggcaacc gaaaggtcac ttagcacaga gcttgggcac 1140
acagtaggta tcaataaaga tcgattgaat gttcatggtc aaagtgtct ctagtgtgcc 1200
cgtgtccga gcctctgagt gccaggagaa tgcccagcga gtcccactg ggccatctcg 1260
gaaggcttcc ttaggagag ggcctttgag ctgagacttc aaagctgggc tgaatttccc 1320
cgagggcca gaagagagcc acgggctgtt gtgtcaggca gcggagctga cactcccaga 1380
aagcaagatc ttgaaactac agggctgcgc caggctctcg ctctctcca ccatggggg 1440
ccctgcagta ctgccaaga gcgtagaatt tccttagtat tagccacgag agggcgggt 1500
ggggcgaggc ggagcagggc cgagggtggc gagtgggggg gagccggaga gcttcataaa 1560
gccacagcaa agcgtcga ctctagtac agcggcccgc tggagaggaa gcccgagagc 1620
tgccgcgc ctgccgacg agggcgtaga agccaggct cagagcccgg gctccggtg 1680
ggtccccac ccggccctcg ggtccccgc ccctgtctc ctgccatcc cagcccacgc 1740
gaccctctcg cgcgaggag ggcgggtcct cgacggctac ggaaggtgc cagcccgcc 1800
cggatggca tcgtggagc gggttgcgga gacatgtga cgggaccga gccgatgcc 1860
gggagcgagc agggccggc gcctggcgcc gaccgcagc accgctact ctaccggag 1920
ccggcgcgc aggacgcgga cgagcgtgc gggggcgca gcctgggtc tcctaccg 1980
ggggcgccct tggtgccgc ccgcccagc cgcttcttg gagctacgc ctaccgccc 2040
cgaccccagg cggccgctt cccggcgcg ggcgagctt tcccggcc cgcgagcgc 2100
gagggctacc agccggcga gggctacgc gcccggacc cgcgcgccc gctctaccg 2160
gggcccgtg aggactacg gctaccgcg ggactggagg tgtcgggaa actgagggc 2220
gcgctcaaca accacctgt gtgtccaag ttaatcagc accagacaga gatgatc 2280
accaagcagg gacggtgagt gcggcgcc ggcccttgg gcctctgtc ccgcccga 2340
acaagaactc ctgctgtt ttcttgctc gacaatgct ctgactccgt gtccctact 2400
gctttggctt cagcgtagg agacagggga atgggttgt taggaggaca gggaaagtc 2460
cggagggcg tctgtgcca ggctgtgca ccaacagca gaggactcac aaggagagc 2520
ggtgagtgc ggacagtg aagtcacct gatthaggg aagggtgact gtggctcac 2580
ctagaattg tgtgcgccc tgcccactc tctacttag aggagtgcga gcgggcagt 2640
aaagcctgt ctctggcg acaggagcc tggcctct gtgtgggaa ctggagggg 2700

```

agggagcccc ttatctccgg gccccctgcg cccacctccc ccggctcctt tgctgctggt 2760  
 gtgctcaggt cagctttagt ggtgtagtg gtggtgta 2799

【 0 0 4 3 】

<;210>; 8  
 <;211>; 19  
 <;212>; DNA  
 <;213>; Artificial Sequence  
 <;220>;  
 <;223>; Forward primer for polymorphism 3  
 <;400>; 8  
 cagtctatgg atgaggcac 19

【 0 0 4 4 】

<;210>; 9  
 <;211>; 21  
 <;212>; DNA  
 <;213>; Artificial Sequence  
 <;220>;  
 <;223>; Reverse primer for polymorphism 3  
 <;400>; 9  
 aaacttggac cacaacaggt g 21

【 0 0 4 5 】

<;210>; 10  
 <;211>;  
 <;212>; DNA  
 <;213>; Homo sapiens  
 <;223>; Nucleotide sequence comprising polymorphism 3 genotype His33  
 <;400>; 10  
 cagtctatgg atgaggcacg tgaggttgac tttcaggcaa ggaaatgac ttgcctgggt 60  
 cacatatacc tggcaggcag agccagacct gggactctca gcaactggcag cccaatgcta 120  
 cttccagtgc ccatgactgc catgcagggt aggggagctt ttgtgggccc tgccaggccc 180  
 agctcagggc cctgcaaacc cctggctgct gctgatgcag tgcgctttaa ggaacatttc 240  
 ctgtttgtcca tcaggttcca ggtctgcccc cagggctaga gctacaagat gcagccaact 300  
 cagcacatgt ggacctctgg tggggagaaa gagggcaacc cgaaaggtca cttagcacag 360  
 agtctgggca cacagtaggt atcaataaag atcgattgaa tgttcatggt caaagttgct 420  
 tctagtgtgc ccgtgctccg agcctctgag tgccaggaga atgcccagcg agtcccactt 480  
 gggccatctc ggaaggcttc ctgtaggaga gggccttga gctgagactt caaagctggg 540  
 ctgaatttcc ccgaggttcc agaagagagc cacgggctgg tgtgtcaggc agcggagctg 600  
 acaactcccag aaagcaagat cttcgaacta caggggtgcg gcaggctctc gcttctctcc 660  
 accatggggg gccctgcagt actcgccaag agcgtagaat ttgcctagta ttagccacga 720  
 gagggcgggg tggggcgagg cggagcaggg ccgaggtggc ggagtggggg ggagccggag 780  
 agcttataa agccacagca aagcgtgcg actctagtga cagcggcccg ctggagagga 840  
 agcccagagag ctgccgcgag cctgccggac gagggcgtag aagccaggcg tcagagcccg 900  
 ggctccggtg gggccccca cccggccctc gggcccccg cccctgctc cctgccatc 960  
 ccagcccacg cgaccctctc gcgcgcggag gggcgggtcc tcgacggcta cgggaagggt 1020  
 ccagcccgcc ccgatgggc atcgtggagc cgggttgcgg agacatgctg acgggcaccg 1080  
 agccgatgcc ggggagcgac gagggccggg cgcttgcgcg cgaccgcag caccgctact 1140  
 tctaccgga gccgggcgag caggacgagg acgagcgtcg cgggggaggc agcctggggt 1200  
 ctccctaccc ggggggagcc ttggtgccc ccccgccgag ccgcttctt ggagcctacg 1260  
 cctaccgcc gcgaccccag gcggccggct tccccggcg gggcgagtcc ttcccgccg 1320  
 ccgcgagcgc cgagggctac cagccgggag agggctacgc cgccccggac ccgcgcccg 1380

ggctctacc ggggccgct gaggactacg cgctaccgc gggactggag gtgtcgggga 1440  
aactgagggt cgcgctcaac aaccacctgt tgtgttcaa gttt 1484

【 0 0 4 6 】

<;210>; 11

<;211>;

<;212>; DNA

<;213>; Homo sapiens

<;223>; Nucleotide sequence comprising polymorphism 3 genotype Gln33

<;400>; 11

cagtctatgg atgaggcagc tgaggttgac tttcaggcaa ggaaaatgac ttgcctgggt 60  
cacatatacc tggcaggcag agccagacct gggactctca gcactggcag cccaatgcta 120  
cttccagtg ccatgactgc catgcagggt aggggagctt ttgtgggccc tggcaggccc 180  
agctcagggc cctgcaaacc cctggctgct gctgatgcag tgcgctttaa ggaacatttc 240  
ctgtttgcca tcaggttcca ggtctgcccc cagggttaga gctacaagat gcagccaact 300  
cagcacatgt ggacctctgg tggggagaaa gagggcaacc cgaaaggtca cttagcacag 360  
agtctgggca cacagtaggt atcaataaag atcgattgaa tgttcatggt caaagttgct 420  
tctagtgtgc ccgtgctccg agcctctgag tgccaggaga atgccacgcg agtcccactt 480  
gggccatctc ggaaggcttc ctgtaggaga gggcctttga gctgagactt caaagctggg 540  
ctgaatttcc ccgagggtcc agaagagagc cacgggtcgg tgtgtcaggc agcggagctg 600  
acactcccag aaagcaagat ctctgaacta cagggtgcgc gcaggctctc gcttctctcc 660  
accatggggg gccctgcagt actcgccaag agcgtagaat ttgcctagta ttagccacga 720  
gagggcgggg tggggcgagg cggagcaggg ccgaggtggc ggagtggggg ggagccggag 780  
agcttcataa agccacagca aagcgtcgcg actctagtga cagcggcccg ctggagagga 840  
agccccgagag ctgccgcgag cctgcccggc gagggcgtag aagccaggcg tcagagcccg 900  
ggctccggtg gggccccca cccggccctc gggcccccg ccccctgctc cctgcccatac 960  
ccagcccacg cgaccctctc gcgcgcggag gggcgggtcc tcgacggcta cgggaaggtg 1020  
ccagcccgcc ccggtatggc atcgtggagc cgggttgcgg agacatgctg acgggcaccg 1080  
agccgatgcc ggggagcagc gagggccggg cgcctggcgc cgaccgcag cagcgtact 1140  
tctaccgga gccgggcgag caggacgcgc acgagcgtcg cggggcggcg agcctggggt 1200  
ctccctacc ggggggcgcc ttggtgccc ccccgccgag ccgcttctt ggagcctacg 1260  
cctaccgccc gcgaccccag gcggccggct tccccggcgc gggcgagtcc ttcccgccgc 1320  
ccgcgacgc cgagggtac cagccgggcg agggctacgc cgccccggac ccgcgccgcg 1380  
ggctctacc ggggccgct gaggactacg cgctaccgc gggactggag gtgtcgggga 1440  
aactgagggt cgcgctcaac aaccacctgt tgtgttcaa gttt 1484