

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6755486号
(P6755486)

(45) 発行日 令和2年9月16日(2020.9.16)

(24) 登録日 令和2年8月28日(2020.8.28)

| | | | | | |
|----------------|---------------|------------------|----------------|---------------|----------------|
| (51) Int. Cl. | | F I | | | |
| C 1 2 Q | 1/68 | (2018.01) | C 1 2 Q | 1/68 | |
| C 1 2 N | 15/11 | (2006.01) | C 1 2 N | 15/11 | Z N A Z |
| C 1 2 Q | 1/6876 | (2018.01) | C 1 2 Q | 1/6876 | Z |

請求項の数 3 (全 10 頁)

(21) 出願番号 特願2016-49097 (P2016-49097)
 (22) 出願日 平成28年3月14日 (2016.3.14)
 (65) 公開番号 特開2017-163848 (P2017-163848A)
 (43) 公開日 平成29年9月21日 (2017.9.21)
 審査請求日 平成31年3月14日 (2019.3.14)

特許法第30条第2項適用 (1) 平成27年9月22日 平成27年度公益社団法人日本水産学会秋季大会 発行 「平成27年度公益社団法人日本水産学会秋季大会 講演要旨集」において発表

特許法第30条第2項適用 (2) 平成27年9月24日 「平成27年度公益社団法人日本水産学会秋季大会 (東北大学 (宮城県仙台市青葉区川内41))」において発表

(73) 特許権者 598041566
 学校法人北里研究所
 東京都港区白金5丁目9番1号
 (73) 特許権者 504137912
 国立大学法人 東京大学
 東京都文京区本郷七丁目3番1号
 (73) 特許権者 501168814
 国立研究開発法人水産研究・教育機構
 神奈川県横浜市西区みなとみらい二丁目3番3号
 (73) 特許権者 391060535
 株式会社ミキモト
 東京都中央区銀座4丁目5番5号

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 白色系又は黄色系真珠形成遺伝子

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

下記の(a)又は(c)のDNAからなるコンティグの発現量を測定することを特徴とする、黄色系又は白色系真珠を形成する真珠貝の選別方法であって、配列番号1~3で表される塩基配列と95%以上の同一性を有し、白色系真珠形成に關与するDNAは白色系真珠と選別し、配列番号4~7で表される塩基配列と95%以上の同一性を有し、黄色系真珠形成に關与するDNAは黄色系真珠と選別する方法。

(a) 配列番号1、2、3、4、5、6又は7で表される塩基配列からなるDNA、

(c) 配列番号1、2若しくは3で表される塩基配列と95%以上の同一性を有し、白色系真珠形成に關与するDNA、又は、配列番号4、5、6若しくは7で表される塩基配列と95%以上の同一性を有し、黄色系真珠形成に關与するDNA。

【請求項2】

下記の(a1)又は(c1)のDNAからなり、白色系真珠形成に關与するコンティグからなるDNA。

(a1) 配列番号3で表される塩基配列からなるDNA、

(c1) 配列番号3で表される塩基配列からなるDNAと95%以上の同一性を有する塩基配列を有するDNA。

【請求項3】

下記の(a2)又は(c2)のDNAからなり、黄色系真珠形成に關与するコンティグからなるDNA。

(a 2) 配列番号 6 で表される塩基配列からなる DNA、

(c 2) 配列番号 6 で表される塩基配列からなる DNA と 95% 以上の同一性を有する塩基配列を有する DNA。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、白色系又は黄色系真珠形成遺伝子及びその利用方法に関する。

【背景技術】

【0002】

真珠の色調は真珠品質を決める主要因のひとつであり、なかでも黄色度は真珠表面に形成される真珠層に含まれる黄色色素の量で決まり、真珠の価格に大きく影響する。真珠層の黄色色素量は遺伝的に決まることが判っており、掛け合わせによって系統の保持が行われているが、原因遺伝子はわかっていない。なお、特許文献 1 には、真珠貝の貝殻、外套膜で発現する遺伝子が記載されている。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0003】

【特許文献 1】国際公開第 2007/148723 号

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

特許文献 1 に記載のチロシナーゼ遺伝子は、外套膜に特異的に発現する遺伝子であり、貝殻の色に関与している可能性はあるが、真珠の色に関与しているか否かは不明である。

従って、本発明の課題は、真珠の白色系又は黄色系の色調形成に関与する遺伝子を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0005】

そこで本発明者は、黄色と白色の明確に色調の異なる貝殻真珠層を持つアコヤガイを用い、これらから得たピースを同一母貝に移植し真珠を作らせることで、同一環境条件下で異なる色調の真珠を作る真珠袋を得た。ここから白色系と黄色系の真珠袋における遺伝子発現の網羅的な比較解析を行い、真珠の色調に応じて特異的に発現する遺伝子を探索したところ、白色系真珠袋に特異的に発現する遺伝子を 3 種、黄色系真珠袋に特異的に発現する遺伝子を 4 種見出し、これらの遺伝子が白色系又は黄色系真珠の形成に関与しており、これらの遺伝子を用いれば真珠貝における真珠の色調を選別できること、さらにこれらの遺伝子のうち 3 種は新規遺伝子であることも見出し、本発明を完成した。

【0006】

すなわち、本発明は、次の〔1〕～〔5〕を提供するものである。

【0007】

〔1〕下記の (a) ~ (c) の DNA からなる遺伝子の発現量又は当該遺伝子にコードされたタンパク質の量を測定することを特徴とする、黄色系又は白色系真珠を形成する真珠貝の選別方法。

(a) 配列番号 1、2、3、4、5、6 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA、

(b) 配列番号 1、2、3、4、5、6 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA とストリンジントな条件でハイブリダイズし、白色系又は黄色系真珠の形成に関与する DNA、

(c) 配列番号 1、2、3、4、5、6 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA と 80% 以上の同一性を有する塩基配列を有し、白色系又は黄色系真珠の形成に関与する DNA。

【0008】

〔2〕下記の (a 1) ~ (c 1) の DNA からなる白色系真珠形成に関与する遺伝子。

(a 1) 配列番号 1 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA、

(b 1) 配列番号 1 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA とストリンジントな条件でハイブリダイズし、白色系真珠の形成に關与する DNA、

(c 1) 配列番号 1 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA と 80% 以上の同一性を有する塩基配列を有し、白色系真珠の形成に關与する DNA。

【 0 0 0 9 】

〔 3 〕 下記の (a 2) ~ (c 2) の DNA からなる黄色系真珠形成に關与する遺伝子。

(a 2) 配列番号 6 で表される塩基配列からなる DNA、

(b 2) 配列番号 6 で表される塩基配列からなる DNA とストリンジントな条件でハイブリダイズし、黄色系真珠の形成に關与する DNA、

(c 2) 配列番号 6 で表される塩基配列からなる DNA と 80% 以上の同一性を有する塩基配列を有し、黄色系真珠の形成に關与する DNA。

【 0 0 1 0 】

〔 4 〕 〔 2 〕 に記載の DNA にコードされた白色系真珠形成に關与するタンパク質。

〔 5 〕 〔 3 〕 に記載の DNA にコードされた黄色系真珠形成に關与するタンパク質。

【 発明の効果 】

【 0 0 1 1 】

本発明の遺伝子は、黄色系真珠及び白色系真珠の遺伝子マーカーとして利用でき、また色調に特色のある真珠貝系統のマーカー選抜育種や系統保持に有用である。また、本発明の遺伝子を使用すれば、ゲノム編集などにより人為的に真珠貝の真珠の色調を変える技術の開発も可能となる。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 1 2 】

【 図 1 】 発現パターンの階層的クラスタ解析の結果を示す。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 1 3 】

本発明の黄色系又は白色系真珠を形成する真珠貝の選別方法に用いられる遺伝子は、下記 (a) ~ (c) の DNA からなる遺伝子である。

【 0 0 1 4 】

(a) 配列番号 1、2、3、4、5、6 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA、

(b) 配列番号 1、2、3、4、5、6 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA とストリンジントな条件でハイブリダイズし、白色系又は黄色系真珠の形成に關与する DNA、

(c) 配列番号 1、2、3、4、5、6 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA と 80% 以上の同一性を有する塩基配列を有し、白色系又は黄色系真珠の形成に關与する DNA。

【 0 0 1 5 】

これらの遺伝子は、黄色系真珠形成に關与する遺伝子又は白色系真珠形成に關与する遺伝子である。配列番号 3 ~ 6 の DNA からなる遺伝子は、黄色系真珠形成に關与する遺伝子であり、配列番号 1、2 及び 7 の DNA からなる遺伝子は、白色系真珠形成に關与する遺伝子である。

【 0 0 1 6 】

また、配列番号 1、6 又は 7 の DNA からなる遺伝子は、新規遺伝子である。本発明の白色系真珠形成に關与する新規遺伝子は、下記の (a 1) ~ (c 1) の DNA からなる。

(a 1) 配列番号 1 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA、

(b 1) 配列番号 1 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA とストリンジントな条件でハイブリダイズし、白色系真珠の形成に關与する DNA、

(c 1) 配列番号 1 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA と 80% 以上の同一性を有する塩基配列を有し、白色系真珠の形成に關与する DNA。

【 0 0 1 7 】

10

20

30

40

50

本発明の黄色系真珠形成に關与する新規遺伝子は、下記の (a 2) ~ (c 2) の DNA からなる。

(a 2) 配列番号 6 で表される塩基配列からなる DNA、

(b 2) 配列番号 6 で表される塩基配列からなる DNA とストリンジェントな条件でハイブリダイズし、黄色系真珠の形成に關与する DNA、

(c 2) 配列番号 6 で表される塩基配列からなる DNA と 80% 以上の同一性を有する塩基配列を有し、黄色系真珠の形成に關与する DNA。

【 0 0 1 8 】

ここでストリンジェントな条件でハイブリダイズするとは、例えば、0.1% SDS を含む 0.2 × SSC 中 50 又は 0.1% SDS を含む 1 × SSC 中 60 の条件でハイブリダイズすることである。また、本発明の遺伝子には、配列番号 1 ~ 7 で表される塩基配列からなる DNA と 80% 以上の同一性を有する塩基配列を有するものが含まれるが、その同一性は 85% 以上が好ましく、90% 以上がより好ましく、95% 以上がさらに好ましい。

【 0 0 1 9 】

また、本発明においては、(a 1) ~ (c 1) 及び (a 2) ~ (c 2) の DNA にコードされたタンパク質も提供する。ここで、これらのタンパク質には、配列番号 1、6 又は 7 で表される塩基配列からなる DNA にコードされるアミノ酸配列を有するタンパク質だけでなく、それらのアミノ酸配列に 1 ~ 数個のアミノ酸が欠失、置換又は付加したアミノ酸配列を有するタンパク質が含まれる。また、それらのアミノ酸配列と 80% 以上、好ましくは 85% 以上、より好ましくは 90% 以上、さらに好ましくは 95% 以上の同一性を有するアミノ酸配列を有するタンパク質も含まれる。

【 0 0 2 0 】

本発明の遺伝子は、真珠母貝の真珠袋から採取した mRNA ライブラリーから、白色系又は黄色系真珠を形成する真珠において特異的に発現が増加している遺伝子を選択することによりクローニングできる。その手法としては、マイクロアレイ法、次世代シーケンス法、サブトラクション法等が挙げられるが、次世代シーケンス法によるのが好ましい。ここで次世代シーケンス法とは、従来のサンガー法とは異なる原理を用いた次世代型シーケンサーを用いた配列情報の取得法であり、まず解析する生物や組織から抽出した mRNA を酵素処理で数百 bp 程度の適当な長さに切断後、これを鋳型に cDNA ライブラリーを構築する。これをビーズやフローセルなどの基盤に結合させ、アレイ上に展開する。アレイ上の百万 ~ 数千万の cDNA につき、cyclic array sequencing により同時に配列情報の取得を行う。サンガー法と異なり、高度に並列化処理を行うことで、低コストかつ短時間で莫大な配列情報が取得できる。また、cDNA の 3' 末端を選択的にシーケンスすることで、各配列を有する遺伝子の発現頻度から発現量も推定できる。サブトラクション法よりも網羅的な解析が可能で、かつ各遺伝子の発現量情報も得ることができる。また、マイクロアレイ法と異なり、既存の遺伝子情報が少ない、あるいは全くない生物でも、網羅的な遺伝子発現解析ができることが大きな利点である。

【 0 0 2 1 】

本発明の遺伝子は、例えばピオチン等で標識した dT プライマーを用いて mRNA の 3' 末端配列を集めたライブラリーを構築し、これを鋳型に cDNA ライブラリーを構築する。これを次世代シーケンサーにかけて、配列情報を得、配列情報をアセンブルしてもとの cDNA の配列を再成形する。さらに 5' RACE により完全長 cDNA 配列を得る。

【 0 0 2 2 】

また、本発明の遺伝子は、前記 (a) の塩基配列に基づいて、真珠袋由来 mRNA を鋳型にした逆転写 PCR によっても製造することができる。ここから 5' および 3' RACE により完全長 cDNA 配列を得ることができる。

【 0 0 2 3 】

真珠母貝としては、真珠の養殖に使用される貝であればよく、例えばアコヤガイ (*Pinctada fucata*)、イケチョウガイ (*Hyriopsis schlegel*)

ii)、ヒレイケチヨウガイ (*Hyriopsis cumingii*)、マベ (*Pteria penguin*)、シロチヨウガイ (*Pinctada maxima*)、クロチヨウガイ (*Pinctada margaritifera*) 等が挙げられるが、アコヤガイが好ましい。

【0024】

得られた本発明の遺伝子を用いれば、公知の組換えDNA技術により、本発明の組換えタンパク質を製造することができる。組換えタンパク質の製法としては、前記の(a)~(c)のDNAを含有するベクターを作製し、該ベクターによって宿主細胞を形質転換し、当該形質転換体を培養してその培養物から回収する方法が挙げられる。

上記宿主細胞としては、原核生物及び真核生物のいずれも用いることができ、例えば原核生物の宿主としては、大腸菌や枯草菌といった一般的に用いられるものが広く挙げられ、好適には大腸菌を例示できる。また、真核生物の宿主細胞には、脊椎動物、酵母等の細胞が含まれる。

原核生物細胞を宿主とする場合は、該宿主細胞中で複製可能なベクターを用いて、このベクター中に本発明の遺伝子が発現できるように該遺伝子の upstream にプロモーター及びSD塩基配列、さらに蛋白合成開始に必要な開始コドン(例えばATG)を付与した発現プラスミドを好適に利用できる。

脊椎動物細胞を宿主とする場合の発現ベクターとしては、通常、発現しようとする本発明遺伝子の upstream に位置するプロモーター、ポリアデニル化部位及び転写終了配列を保有するものが挙げられ、これはさらに必要により複製起点を有していてもよい。

所望の組換えDNA(発現ベクター)の宿主細胞への導入法及びこれによる形質転換法としては、特に限定されず、一般的な各種方法を採用することができる。

また得られる形質転換体は、常法に従い培養でき、該培養により所望のように設計した遺伝子によりコードされる本発明の目的タンパク質が、形質転換体の細胞内、細胞外又は細胞膜上に発現、生産(蓄積、分泌)される。

該培養に用いられる培地としては、採用した宿主細胞に応じて慣用される各種のものを適宜選択利用でき、培養も宿主細胞の生育に適した条件下で実施できる。

かくして得られる本発明の組換えタンパク質は、所望により、その物理的性質、化学的性質などを利用した各種の分離操作[「生化学データブックII」、1175-1259頁、第1版第1刷、1980年6月23日株式会社東京化学同人発行; *Biochemistry*, 25(25), 8274(1986); *Eur. J. Biochem.*, 163, 313(1987)など参照]により分離、精製できる。

【0025】

本発明の(a)~(c)のDNAからなる遺伝子は、白色系真珠を形成する真珠袋又は黄色系真珠を形成する真珠袋で、それぞれ特異的に発現し、白色系真珠又は黄色系真珠の形成に関与する遺伝子である。従って、これらの遺伝子の発現量又は当該遺伝子にコードされたタンパク質の量を測定すれば、白色系又は黄色系真珠を形成する真珠貝を選別することができる。

【0026】

これらの遺伝子の発現量を測定するには、これらの遺伝子の一部又は全部をプローブ又はプライマーを使用する方法が採用できる。具体的には、公知の方法、例えば、前記プローブやプライマーを使用したドットプロット法、ノーザンハイブリダイゼーション法、RT-PCR法、定量的リアルタイムPCR法、*in situ*ハイブリダイゼーション法等が挙げられる。

また、前記タンパク質の量を測定するには、当該タンパク質又はその部分ペプチドに対する抗体を使用する公知の免疫学的な方法、具体的には酵素免疫測定法などによって測定することができる。

【実施例】

【0027】

次に実施例を挙げて本発明を更に詳細に説明する。

【 0 0 2 8 】

実施例 1

ミキモト真珠研究所で保持されている白色系と黄色系のアコヤ貝からピースを採り、同一の母貝に挿核して、色調以外の条件をできるだけ均一にした真珠袋を作らせた。母貝 100 個体にそれぞれ色調の異なる 2 個のピースの挿核を行い、3 か月の飼育後、母貝 100 個体から 200 個の真珠と真珠袋をサンプリングした。得られた真珠の色調を確認したところ、母貝が同じでも、ピース貝の色調に依存して、黄色と白色が明確に分かれることが示された。本研究では同一個体内で黄色度の差が明確でかつ綺麗な真珠層を作っている真珠袋を 6 個体分計 12 サンプル（白色系 6 サンプル、黄色系 6 サンプル）を選別し、遺伝子解析用試料とした。真珠袋から全 RNA を抽出しバーコードを付与した cDNA ライブラリーを構築後、Ion Proton シーケンサーでシーケンシングを行った。得られた配列データを CLC Genomics Workbench によってトリミング後、Trinity による de novo アセンブリで contig を形成し、発現量データを取得、R ソフトウェアの TCC パッケージを用いて、白色系と黄色系で発現が異なる遺伝子を抽出した。

【 0 0 2 9 】

(1) de novo アセンブリの結果 97,663 個の contig が得られた。全 12 サンプルにおける 97,663 個の contig の発現パターンの階層的クラスタ解析を行った結果、同一の母貝から得られたサンプルがクラスタを作り、色調によるクラスタは作らないことが示された（図 1）。このことから色調によって発現変動する遺伝子はごく少数であると予想された。これは色調以外の条件をできるだけ揃えるという、本研究の実験設定が上手く行っていることを示している。

【 0 0 3 0 】

(2) 97,663 個の contig のうち、白色系と黄色系間で統計的に有意に発現量が異なるものは 7 個検出された。3 個は白色系で 4 個は黄色系で特異的に発現しており、色調が異なるとほとんど発現は検出されない。また 4 つは既報の遺伝子と相同性がみられたが、3 つは新規遺伝子であった（表 1）。

【 0 0 3 1 】

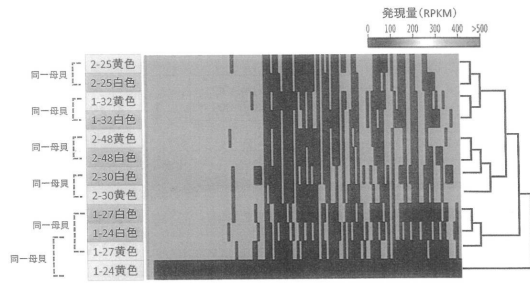
【 表 1 】

| 遺伝子名 | 配列番号 | 塩基配列 (5'-3') | 新規遺伝子が既知遺伝子か | 発現の特異性 | 白色系に対する黄色系での発現量比 |
|-------------------------------------|------|--|---------------------|--------|------------------|
| contig_20100 | 1 | AGTGTGGTGAAGAGGTGGAAAGATATAGAGTGGTGGCAAGAAAGGCTTTTTTGGGGA GAAGGGCTTTGTGAGAGTAGAAAGTGGCAAGAAAGAACTCCGGCAAAAGATTTCCCCC GTACGAAGACCTCATAAAAAGCTTTATCATTAATGTGAATTAGCAAGCTCTCAAAATT TAGTTAAAGAAATGGCGAGCCCAAACTTTGGCAGAAGCTGGCAACAAGCCCGGAATA GGCATGGCCTTACAATATCTATGTATTTGAAAGAAATTTCTCAAAITGTGAAGCAAAITGCA ACAGAAGAACTTAGTGGCCGAGCTGACAGAGCCGAGTGAAT TGATGCAGAAATATAGTGAAGCTCTGGAGCCAGAGATGGCCACAAAAGTGGCCAAATGATG GCATCAAAATGGCAAAATGGCAACTCCCAAAATGATGGCAATGTCTCAAGTAGAGCC AAATGCAACATCCGGAGTTCAACACAGATGGCTCCACCTCAACCAAAATGCAAGATGCG GAAATAAATGGCAGGCTTAATAACAAACCAAAAACCAAAATGGGAAATGTGTAATCCGCCA CTACACGGCTGTGGATCATATACTCAGAGACATCCAAITCCGGTACCTGGCTTTGTC AAAGSAAAGTTGTCAACAACACCCCAAAATACTCTCCATCACTCATTAATGACG CGAAATTCGTTTCTACAATAATATAGTTTCGACGAGATAGAGAGATCAGCCGTGTGGA GATCTTCGATGGCCGGTAGCGGAGGAGCCCTTGTACTGAGGAAAGATGACAGTCAAAAC GGCATGGTTGTACAGCTTTGAATACCCCTCTTACAGTAAAGCTGGCTAAACGAAATTGAGAT TATAACTGG | 新規遺伝子 | 白色系特異的 | 0.021 |
| proline-rich protein (contig_25850) | 2 | TGATGCAGAAATATAGTGAAGCTCTGGAGCCAGAGATGGCCACAAAAGTGGCCAAATGATG GCATCAAAATGGCAAAATGGCAACTCCCAAAATGATGGCAATGTCTCAAGTAGAGCC AAATGCAACATCCGGAGTTCAACACAGATGGCTCCACCTCAACCAAAATGCAAGATGCG GAAATAAATGGCAGGCTTAATAACAAACCAAAAACCAAAATGGGAAATGTGTAATCCGCCA CTACACGGCTGTGGATCATATACTCAGAGACATCCAAITCCGGTACCTGGCTTTGTC AAAGSAAAGTTGTCAACAACACCCCAAAATACTCTCCATCACTCATTAATGACG CGAAATTCGTTTCTACAATAATATAGTTTCGACGAGATAGAGAGATCAGCCGTGTGGA GATCTTCGATGGCCGGTAGCGGAGGAGCCCTTGTACTGAGGAAAGATGACAGTCAAAAC GGCATGGTTGTACAGCTTTGAATACCCCTCTTACAGTAAAGCTGGCTAAACGAAATTGAGAT TATAACTGG | 既知遺伝子(色調との関わりは報告なし) | 白色系特異的 | 0.009 |
| contig_46237 | 3 | TACACGGCTGTGGATCATATACTCAGAGACATCCAAITCCGGTACCTGGCTTTGTC AAAGSAAAGTTGTCAACAACACCCCAAAATACTCTCCATCACTCATTAATGACG CGAAATTCGTTTCTACAATAATATAGTTTCGACGAGATAGAGAGATCAGCCGTGTGGA GATCTTCGATGGCCGGTAGCGGAGGAGCCCTTGTACTGAGGAAAGATGACAGTCAAAAC GGCATGGTTGTACAGCTTTGAATACCCCTCTTACAGTAAAGCTGGCTAAACGAAATTGAGAT TATAACTGG | 新規遺伝子 | 白色系特異的 | 0 |
| contig_82315 | 4 | AAGACACTCCATCATCAACATCTGCCACCCACTTGGTGTAGTACAGACAGAAAGAG GTTGAAAGCATCCCACTTCATGGGGTGTGTTTCATAACAGTGGCCAGTTGGAAATCAA ATTGTTTTGCAATTACGTTAGGTACATTTAGTAAAGTTAACAGTTCGGAGCAATTTGGT ACATATTATGCAATCAAGTGTACTTCGTCGTTGGACAATTACAGCTTTGGTTTGTCTCGG CAATTGTCAITTAGCTAGACAGCTTTCCGTAGCAAGTGGCGACGTTACTACTATA AACAAATCAATGTAAACATGGGACCTATGGGCATGATGGGTGGCTCGGCAATGGGAAAT GAACAACAACAGATGCAGAGATCATGATAGTACTAGCGCAACACATGGTGTATCTGCCAT TCCTGAAAGAAGAATGTGTACATGCTGCTAAAGTAGCGCTCCAGCCAAATGGTCAAAITGG CTCCCTCCACCTCACTGTACGGAAATGGGATTCAGAGATCAGGAAATCGGGAAATGGTTTC AGTCACGATCTTGACTG | N16と部分的に一致 | 黄色系特異的 | 115 |
| MRNP (contig_9541) | 5 | AACAAATCAATGTAAACATGGGACCTATGGGCATGATGGGTGGCTCGGCAATGGGAAAT GAACAACAACAGATGCAGAGATCATGATAGTACTAGCGCAACACATGGTGTATCTGCCAT TCCTGAAAGAAGAATGTGTACATGCTGCTAAAGTAGCGCTCCAGCCAAATGGTCAAAITGG CTCCCTCCACCTCACTGTACGGAAATGGGATTCAGAGATCAGGAAATCGGGAAATGGTTTC AGTCACGATCTTGACTG | 既知遺伝子(色調との関わりは報告なし) | 黄色系特異的 | 102 |
| contig_2969 | 6 | AAAAATCAAGAGGCGAACTAAAATACCAAGGAGATTAATAGAAATACATCTCTCTGTCTA TCGTATGAGTTGGTCTTGTAAAAGCTTTGAAACAAAATTAATAATCAATCATCATATAA CTTAAAGATTATCTTCATGGCATCTTGATGTTTGAATTAACCAAGTGAATTTTCTCGA AATTTGAAATTAATCACTCTTATGGGCATATGTTGACAGATACAATTTTAAATTCATC ACGAACAGTTTATATGTTCCCTTGTATGGTGGGATTTATCTCAGTGAAGTCAAAATCAG AACAAAATCAAAATTAACACAGCTGTGGGTATTTGGAACTAAATAAAAATTTCTGGAT CAGGAATATCCGACTGATGACATCCCGTTCACCACCAAGAAAGAAATGCTCGAGT CAGAGTATAGATTTGAAATCGATGTTCCCTTTTCCCTGCTAATTTCTCGTGGAAAT AACGTAAATCGAAAATTTTTTTTTGAAATGACACACAGGAGTGAATCAACAACTTCTA GATAAGTAAATGGTGGTACCCGTTAAGTGCAAAACAACAAACAAACAATAAGTGAACGAA GGAAAACAACAGATCAAAACGAAACCAACAACAGACAGAACTGATAGCCGAAACGAA ACAAATACATACATCGTAACTAAAAGTCTTCAGACAAATAGTATAGACAGAAATTTGG CTGATACATTTATAGGATTAAGACAATATGATGAACATCTGAAATTTTAAATACGCTC TCGGCAATTTTCTCCAAATAACTTTTCTCAAGTACCCTAAATTTTGTCTGTTGTTGGA TCGTTTTGTTGGTGTGTTGGTTTGTGTTTGTGTTTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT CGTTTCGATTTGTTTTGGTTTTGTTGTTTTGTTGTTTTGTTGTTTTGTTGTTTTTACTT TTACTTTTTCCCTGTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT TTCTGTATCATTTTGCATTTTATCAAAATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG TTTTGTCAGTAAATTTTGGACATTTCTCAATAATGATGATGATGATGATGATGATGATG TAGTAGTGTCTCCACTAAATATATTTTTTAAATTTTAAATTTTAAATTTTAAATTTTAA AAATGTCACCAAGATCCCTGCTGGACCCATCATCCAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG TCTTAGACCTGAAAGGAGACATAGAGCCACCCAGGTTGACCTTGCAGATGTACAT AACACGGAGATCAGCTGATCTATGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTG GAACTAGATGACCTGACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACTTAACT CCAGAACACTGGAAGACGCTTAGACAAGGCTTTCACCTCCAGGATGAACCTCA | N24と部分的に一致 | 黄色系特異的 | 23.3 |
| contig_8596 | 7 | AAAAATGCGGTTGTACTGCTGTTCTGCAAGCTCAGACAGACAAAGAAATGTACTA GTGGCAAAATCGCATTTGTGACATCACTAGGAAATCTTAGAACGAAATCCCTTAAT AAAAATTAAGAGCAGCAAAAAGAAAGAACTCTGTGCTATGGCCCTTCAAGAGATGTACT TTTTCTGAAAACATGCCATTAGATAAGAAAGAGGAGCACAACAACAATTAATTTAAATGGGAT ACTTCCAAAACCTTAAAATCTACATGCTCCGTGGAAATTTGCTATTATCATTTAACTTAC | 新規遺伝子 | 黄色系特異的 | 78.2 |

【 0 0 3 2 】

表 1 に記載の遺伝子の塩基配列を配列表に示す。

【图 1】



【配列表】

0006755486000001.app

フロントページの続き

特許法第30条第2項適用 (3)平成27年12月6日 バイオミネラリゼーションワークショップ実行委員会 発行 「第10回バイオミネラリゼーションワークショップ 講演要旨集」において発表

特許法第30条第2項適用 (4)平成27年12月6日 「第10回バイオミネラリゼーションワークショップ(東京大学理学部小柴ホール(東京都文京区本郷七丁目3番1号))」において発表

(73)特許権者 000166959

御木本製薬株式会社

三重県伊勢市黒瀬町1425番地

(74)代理人 110000084

特許業務法人アルガ特許事務所

(74)代理人 100077562

弁理士 高野 登志雄

(74)代理人 100096736

弁理士 中嶋 俊夫

(74)代理人 100117156

弁理士 村田 正樹

(74)代理人 100111028

弁理士 山本 博人

(72)発明者 渡部 終五

神奈川県相模原市南区北里1丁目15番1号 学校法人北里研究所内

(72)発明者 木下 滋晴

東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内

(72)発明者 浅川 修一

東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大学法人東京大学内

(72)発明者 淡路 雅彦

三重県度会郡南伊勢町中津浜浦422-1 国立研究開発法人水産総合研究センター増養殖研究所内

(72)発明者 永井 清仁

三重県志摩郡阿児町鶴方3077-1 エスパーニャ花菱506号

(72)発明者 岡本 暉公彦

三重県伊勢市黒瀬町1425番地 御木本製薬株式会社内

(72)発明者 前山 薫

三重県伊勢市黒瀬町1425番地 御木本製薬株式会社内

審査官 宮岡 真衣

(56)参考文献 淡路 雅彦, 課題番号: 23658169 アコヤガイ外套膜上皮細胞移植による真珠生産法と真珠黄色

度調節技術の開発, 科学研究費助成事業 研究成果報告書, 2015年 6月25日
Accession No. FS941179.1, FS941179 Pinctada fucata mantle adult Pinctada fucata cDNA clone 8808F1, mRNA sequence., Database GenBank [online], 2011年 3月25日, [Retrieved on 2019.12.20], Retrieved from the Internet, URL, <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/FS941179>>

Accession No. KP216699.1, Pinctada fucata mantle protein N24 mRNA, complete cds., Database GenBank [online], 2015年 4月15日, [Retrieved on 2019.12.20], Retrieved from the Internet, URL, <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/FS941179>>

LEMER S. et al., BMC Genomics, 2015年, 16:568

Accession No. JZ845582.1, METH SSH Pinctada margaritifera Albinos vs. Black mantle Pinctada margaritifera cDNA similar to Methionine rich nacre protein, mRNA sequence., Dat

abase GenBank [online], 2015年 8月 7日, [Retrieved on 2019.12.20], Retrieved from the Internet, URL, <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/JZ845582>>

八杉 龍一 他, 岩波 生物学辞典 第4版, 株式会社 岩波書店, 1997年, p.75頁, 『遺伝子』項

淡路 雅彦, アコヤガイ外套膜から分離した外面上皮細胞の移植による真珠形成, 日本水産学会誌, 80(4)(2014), p.578-588

篠原 幹拓 他, 白色系および黄色系アコヤガイ真珠袋のトランスクリプトーム解析, 第17回マリンバイオテクノロジー学会大会講演要旨集, 2015年 5月30日, p.87-041

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12Q 1/68 - 1/6897

C12N 15/09 - 15/90

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS/WPIDS(STN)

GenBank/EMBL/DDBJ/GenSeq