

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200880011636.9

[51] Int. Cl.
C12N 15/09 (2006.01)
C12N 15/12 (2006.01)
C12N 15/24 (2006.01)
C12N 15/28 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)

[43] 公开日 2010年2月17日

[11] 公开号 CN 101652478A

[51] Int. Cl. (续)

G01N 33/566 (2006.01)

[22] 申请日 2008.10.3

[21] 申请号 200880011636.9

[30] 优先权

[32] 2007.10.9 [33] JP [31] 263713/2007

[86] 国际申请 PCT/JP2008/068090 2008.10.3

[87] 国际公布 WO2009/048027 日 2009.4.16

[85] 进入国家阶段日期 2009.10.10

[71] 申请人 爱科来株式会社

地址 日本京都府

[72] 发明人 平井光春 间岛智史

[74] 专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事务所

代理人 刘新宇 李茂家

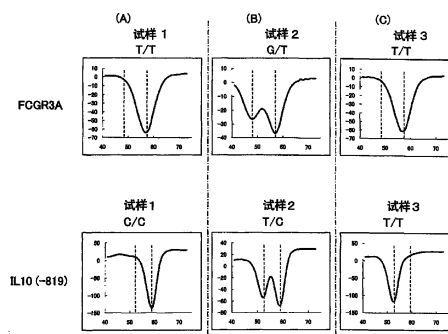
权利要求书 7 页 说明书 51 页 序列表 100 页
附图 3 页

[54] 发明名称

免疫相关基因的多态性的检测用探针及其用途

[57] 摘要

本发明提供一种多态性检测用探针，其能够判断只有一个碱基不同的多态性。将选自于由序列号 4、23、30、47、57 和 64 组成的组中的至少一个寡核苷酸作为 T_m 分析中的探针使用。通过使用这些探针的 T_m 分析，能简便地检测影响抗体药物等的药效的 FCGR3A 基因、FCGR2A 基因、IL-10 基因、TNF α 基因和 TNF β 基因的特定的多态性。而且，根据这些探针，通过使两种以上的前述探针共存于反应体系中，能在同一反应体系中检测两种以上的多态性。



1. 一种多态性检测用探针，其特征在于，其为用于检测免疫相关基因的多态性的探针，由选自于下述(A)~(H)构成的组中的至少一个寡核苷酸构成：

(A)与以序列号1中第193位的鸟嘌呤为第一位碱基，向3'方向直到第13~21位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为3'末端，

(B)与以序列号2中第191位的鸟嘌呤为第一位碱基，向3'方向直到第15~24位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为3'末端，

(C)与以序列号3中第311位的鸟嘌呤为第一位碱基，向5'方向直到第16~21位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为5'末端，

(D)与以序列号4中第391位的鸟嘌呤为第一位碱基，向3'方向直到第16~22位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为3'末端，

(E)与以序列号5中第426位的鸟嘌呤为第一位碱基，向5'方向直到第15~24位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为5'末端，

(F)与以序列号6中第165位的胞嘧啶为第一位碱基，向3'方向直到第16~27位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以前述胞嘧啶为5'末端，

(G)与以序列号7中的第394位的鸟嘌呤为第一位碱基，向3'方向直到第12~16位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为3'末端，

(H)与以序列号300中第393位的鸟嘌呤作为第一位碱基，向3'方向直到第15~22位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为3'末端。

2. 根据权利要求1所述的多态性检测用探针，其中前述(A)~(H)的寡核苷酸分别为下述(A1)~(H1)的寡核苷酸：

(A1) 序列号14的碱基序列构成的寡核苷酸，
(B1) 序列号23的碱基序列构成的寡核苷酸，
(C1) 序列号30的碱基序列构成的寡核苷酸，
(D1) 序列号36的碱基序列构成的寡核苷酸，
(E1) 序列号47的碱基序列构成的寡核苷酸，
(F1) 序列号57的碱基序列构成的寡核苷酸，
(G1) 序列号64的碱基序列构成的寡核苷酸，
(H1) 序列号306或序列号307的碱基序列构成的寡核苷酸。

3. 根据权利要求1所述的多态性检测用探针，前述探针是用于检测免疫相关基因FCGR3A基因的多态性的、由前述(A)的寡核苷酸构成的探针。

4. 根据权利要求1所述的多态性检测用探针，前述探针是用于检测免疫相关基因FCGR2A基因的多态性的、由前述(B)的寡核苷酸构成的探针。

5. 根据权利要求1所述的多态性检测用探针，前述探针是用于检测免疫相关基因IL-10基因的多态性的、由选自于前述(C)、(D)、(E)和(F)构成的组中的至少一个寡核苷酸构成的探针。

6. 根据权利要求1所述的多态性检测用探针，前述探针是用于检测免疫相关基因TNF α 基因的多态性的、由前述(G)的寡核苷酸构成的探针。

7. 根据权利要求1所述的多态性检测用探针，前述探针是用于检测免疫相关基因TNF β 基因的多态性的、由前述(H)的

寡核苷酸构成的探针。

8. 根据权利要求1所述的多态性检测用探针，前述探针是在前述寡核苷酸上结合了标记物质的标记探针。

9. 根据权利要求8所述的多态性检测用探针，前述探针是单独显示信号且由于形成杂交体而不显示信号的标记探针，或单独不显示信号但由于形成杂交体而显示信号的标记探针。

10. 根据权利要求8所述的多态性检测用探针，前述探针为在前述寡核苷酸上结合了作为前述标记物质的荧光色素的标记探针，其单独显示荧光且由于形成杂交体而荧光减少。

11. 根据权利要求8所述的多态性检测用探针，前述探针是在前述寡核苷酸中具有胞嘧啶的末端核苷酸残基上结合了前述标记物质的标记探针。

12. 根据权利要求1所述的多态性检测用探针，前述探针是 T_m 分析用的探针。

13. 一种多态性检测用试剂，其特征在于，其为用于检测免疫相关基因的多态性的多态性检测用试剂，含有权利要求1所述的多态性检测用探针。

14. 根据权利要求13所述的多态性检测用试剂，其含有两种以上的权利要求1所述的前述探针。

15. 根据权利要求14所述的多态性检测用试剂，其含有：用于检测FCGR3A基因的多态性的、由前述(A)的寡核苷酸构成的探针，和用于检测IL-10基因的多态性的、由前述(D)的寡核苷酸构成的探针。

16. 根据权利要求14所述的多态性检测用试剂，其含有：用于检测FCGR2A基因的多态性的、由前述(B)的寡核苷酸构成的探针，用于检测IL-10基因的多态性的、由前述(C)的寡核苷酸构成的探针，和用于检测TNF α 基因的多态性的、由前述

(G)的寡核苷酸构成的探针。

17. 根据权利要求14所述的多态性检测用试剂，其含有用于检测IL-10基因的多态性的、由前述(E)的寡核苷酸构成的探针和由前述(F)的寡核苷酸构成的探针。

18. 根据权利要求13所述的多态性检测用试剂，其还含有用于扩增前述免疫相关基因中含有检测目标的多态性的序列的引物。

19. 根据权利要求18所述的多态性检测用试剂，前述探针和引物的组合为选自于以下组合构成的组中的至少一个组合：由前述寡核苷酸(A)构成的探针及下述引物对(a)的组合，由前述寡核苷酸(B)构成的探针和下述引物对(b)的组合，由前述寡核苷酸(C)构成的探针和下述引物对(c)的组合，由前述寡核苷酸(D)构成的探针和下述引物对(d)的组合，由前述寡核苷酸(E)构成的探针和下述引物对(e)的组合，由前述寡核苷酸(F)构成的探针和下述引物对(f)的组合，由前述寡核苷酸(G)构成的探针和引物对(g)的组合，以及由前述寡核苷酸(H)构成的探针和下述引物对(h)的组合，

引物对(a)：

含有由选自于序列号67~序列号86构成的组中的至少一个碱基序列构成的正向引物、和由选自于序列号87~序列号103构成的组中的至少一个碱基序列构成的反向引物的引物对，

引物对(b)：

含有由选自于序列号122~序列号137构成的组中的至少一个碱基序列构成的正向引物、和由选自于序列号104~序列号121构成的组中的至少一个碱基序列构成的反向引物的引物对，

引物对(c)：

含有由选自于序列号138~序列号156构成的组中的至少一

个碱基序列构成的正向引物、和由选自于序列号157~序列号171构成的组中的至少一个碱基序列构成的反向引物的引物对，

引物对 (d):

含有由选自于序列号172~序列号187构成的组中的至少一个碱基序列构成的正向引物、和由选自于序列号188~序列号205构成的组中的至少一个碱基序列构成的反向引物的引物对，

引物对 (e):

含有由选自于序列号206~序列号216构成的组中的至少一个碱基序列构成的正向引物、和由选自于序列号217~序列号233构成的组中的至少一个碱基序列构成的反向引物的引物对，

引物对 (f):

含有由选自于序列号234~序列号251构成的组中的至少一个碱基序列构成的正向引物、和由选自于序列号252~序列号266构成的组中的至少一个碱基序列构成的反向引物的引物对，

引物对 (g):

含有由选自于序列号267~序列号282构成的组中的至少一个碱基序列构成的正向引物、和由选自于序列号283~序列号299构成的组中的至少一个碱基序列构成的反向引物的引物对，

引物对 (h):

含有由选自于序列号330~序列号349构成的组中的至少一个碱基序列构成的正向引物、和由选自于序列号309~序列号329构成的组中的至少一个碱基序列构成的反向引物的引物对。

20. 根据权利要求19所述的多态性检测用试剂，前述引物对 (a) ~ (h) 分别为下述引物对 (a1) ~ (h1):

引物对 (a1):

含有由序列号77的碱基序列构成的正向引物和由序列号97的碱基序列构成的反向引物的引物对，

引物对 (b1):

含有由序列号132的碱基序列构成的正向引物和由序列号114的碱基序列构成的反向引物的引物对,

引物对 (c1):

含有由序列号148的碱基序列构成的正向引物和由序列号167的碱基序列构成的反向引物的引物对,

引物对 (d1):

含有由序列号182的碱基序列构成的正向引物和由序列号198的碱基序列构成的反向引物的引物对,

引物对 (e1):

含有由序列号213的碱基序列构成的正向引物和由序列号227的碱基序列构成的反向引物的引物对,

引物对 (f1):

含有由序列号244的碱基序列构成的正向引物和由序列号260的碱基序列构成的反向引物的引物对,

引物对 (g1):

含有由序列号277的碱基序列构成的正向引物和由序列号293的碱基序列构成的反向引物的引物对,

引物对 (h1):

含有由序列号337的碱基序列构成的正向引物和由序列号312的碱基序列构成的反向引物的引物对。

21. 一种多态性检测方法, 其特征在于, 其为免疫相关基因的多态性的检测方法, 包括下述(1)~(3)工序:

(1) 准备反应体系的工序, 所述反应体系含有检测前述多态性的待测核酸和权利要求1所述的多态性检测用探针,

(2) 改变前述反应体系的温度, 测定显示前述待测核酸和前述探针的杂交产物的熔解状态的信号值的工序,

(3) 根据伴随温度变化的前述信号值的变动, 决定前述待测核酸中的前述多态性的工序。

22. 根据权利要求21所述的多态性检测方法, 其中, 前述(1)工序包括下述(1a)工序:

(1a) 在含有前述探针的反应体系中, 通过核酸扩增法, 由模板核酸生成作为前述待测核酸的扩增产物的工序。

23. 根据权利要求22所述的多态性检测方法, 其中, 前述(1a)工序中使用用于扩增前述免疫相关基因中的含有检测目标的多态性的序列的引物。

免疫相关基因的多态性的检测用探针及其用途

技术领域

本发明涉及用于检测免疫相关基因的多态性的探针及其用途。

背景技术

作为在基因水平上分析所有疾病的原因、个体间的疾病易患病性（患病的容易程度）、个体间的药效的差异等的方法，点突变，即所谓的单核苷酸多态性（SNP）的检测被广泛进行。

作为多态性的一般的检测方法，可以例举（1）对于试样的目标DNA，通过PCR（Polymerase Chain Reaction）扩增检测目标区域，分析其扩增产物的全序列的直接测序法，（2）与前述（1）同样进行PCR，对扩增产物进行限制性酶处理，通过DNA杂交（southern hybridization）对由于限制性片段长度多态性导致的变化进行分型的PCR-RFLP（限制性片段长度多态性，Restriction Fragment Length Polymorphism）法等。

然而，前述（1）的方法例如需要在PCR之后进行测序，再通过测序仪进行电泳等。因此，检测时极费时间和劳动力。而且，由于在PCR后需要处理所获得的扩增产物，在该处理时存在产生污染的危险。前述（2）的方法中，也需要在PCR后，对获得的扩增产物用各种限制性酶进行处理，并进行分析，也耗费时间和精力。而且，对获得的扩增产物的限制性酶处理，需要临时取出扩增产物再进行。因此，存在着第1次反应中获得的扩增产物飞散，并混入到第2次的其它反应中的危险。由于这样的问题，前述（1）和（2）的方法中，存在着难以实现点突变检测自动化的问题。

由于这些问题，近年来，作为SNP的检测方法， T_m （解链温度, Melting Temperature）分析受到关注。其首先使用与含有检测目标的SNP的区域互补的探针，使待测核酸和前述探针形成杂交体（双链核酸）。并且，对杂交产物实施加热处理，通过吸光度等信号测定检测伴随温度上升的杂交体向单链核酸的解离（熔解）。该方法为基于该检测结果来确定 T_m 值并判断SNP的方法。 T_m 值随杂交产物的同源性越高而越高，同源性越低而越低。因此，在检测对象位点的多态性为X或Y时，对于含有目标多态性（例如Y）的核酸和与其100%互补的探针形成的杂交产物，预先求出其 T_m 值（评价基准值）。接着，测定待测核酸和前述探针的 T_m 值（测定值）。并且，如果该测定值与前述评价基准值相同，则待测核酸与探针为完全匹配，即，可以判断待测核酸的检测对象位点为目标多态性（Y）。另一方面，如果前述测定值比前述评价基准值低，则待测核酸与探针错配，即，可以判断待测核酸的检测对象位点为其它的多态性（X）。如果为这种方法，例如，只对添加了前述探针的PCR反应液实施温度处理，进行信号测定，就可以检测SNP，因此也能实现检测装置的自动化。

然而，采用这种 T_m 分析的检测方法存在以下问题。基因的多态性中一般存在纯合体（例如，X/X或Y/Y）和杂合体（例如，X/Y）。多态性的检测中，为纯合体（X/X或Y/Y），或为杂合体（X/Y），以及为纯合体时为X/X的纯合体和Y/Y的纯合体中的哪一个，上述判断很重要。但是，为杂合体时，含有多态性为X的基因和多态性为Y的基因，二者的差异只不过是点突变即一个碱基的差异。这样的话，会发生这样的现象，即，与含有一种多态性（例如，Y）的序列完全杂交（完全匹配）的探针进而也会与含有其它多态性（X）的序列杂交（1个碱基的错配）。

这种情况下，一旦通过Tm分析制成显示信号强度与温度之间的关系的溶解曲线，则存在着由于显示完全匹配序列的高温侧的峰的存在，而难以检测显示错配序列的低温侧的峰的问题。也就是说，即使在试样中存在错配序列的情况下，由于存在完全匹配序列，其判断有可能变得困难，检测灵敏度有可能降低。而且，即使就纯合体来说，在多态性X的纯合体（X/X）和多态性Y的纯合体（Y/Y）中，仍旧只是一个碱基序列的差异。因此，如前所述，如果难以判断完全匹配的峰和错配的峰，其结果为，难以判断是显示前者（X/X）的峰，还是显示后者（Y/Y）的峰。也就是说，即使可以判断是纯合体，但也存在难以确定多态性种类的情况。

近年来，利用人所具有的免疫机能的抗体药物在医药领域备受关注。作为前述抗体药物，可以例举例如，恶性淋巴瘤治疗药Rituxan（商品名；一般名Rituximab），乳腺癌的治疗药Herceptin（商品名；一般名Trastuzumab）等。然而，人的免疫力存在个人差异，人们认为这对前述抗体药物的药效有影响。而且，有报道指出基因的变异（例如，SNP）是影响药效的因子。具体而言，报道了与免疫相关的基因FCGR3A基因（非专利文献1）的多态性。该基因编码IgG的片段C受体（FcRs）中的1种即FcγRIIIa。因此，在治疗中使用前述抗体药物时，例如，检测这种基因的多态性（SNP），考虑其结果，再确定抗体药物的给药量和治疗药的变更等治疗方针被认为是有帮助的。

非专利文献1：Buillaume Cartron et al. BLOOD, 1 FEBRUARY 2002,第99卷，第3期

发明内容

由于这样的理由，FCGR3A基因的多态性的检测例如在使

用抗体药物的治疗中非常重要。而且，前述的问题，不仅对于FCGR3A基因，而且对于其它免疫相关基因，例如FCGR2A基因，IL-10基因，TNF α 基因和TNF β 基因也可同样考虑。因此，本发明的目的在于提供一种多态性检测方法，其能简便且高可信性地对免疫相关基因的只有一个碱基不同的多态性进行判断。

为了实现前述目的，本发明的多态性检测用探针的特征在于，由选自于下述(A)~(H)构成的组中的至少一个寡核苷酸构成：

(A)与以序列号1中第193位的鸟嘌呤为第一位碱基，向3'方向直到第13~21位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为3'末端

(B)与以序列号2中第191位的鸟嘌呤为第一位碱基，向3'方向直到第15~24位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为3'末端

(C)与以序列号3中第311位的鸟嘌呤为第一位碱基，向5'方向直到第16~21位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为5'末端

(D)与以序列号4中第391位的鸟嘌呤为第一位碱基，向3'方向直到第16~22位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为3'末端

(E)与以序列号5中第426位的鸟嘌呤为第一位碱基，向5'方向直到第15~24位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为5'末端

(F)与以序列号6中第165位的胞嘧啶为第一位碱基，向3'方向直到第16~27位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以前述胞嘧啶为5'末端

(G)与以序列号7中第394位的鸟嘌呤为第一位碱基，向3'

方向直到第12~16位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为3'末端

(H)与以序列号300中第393位的鸟嘌呤作为第一位碱基, 向3'方向直到第15~22位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶为3'末端

本发明的多态性检测用试剂, 其特征在于, 其为一种用于检测免疫相关基因的多态性的试剂, 含有本发明的多态性检测用探针。

本发明的多态性检测方法, 其特征在于, 其是一种免疫相关基因的多态性的检测方法, 含有下述(1)~(3)工序:

(1)准备反应体系的工序, 所述反应体系含有检测前述多态性的待测核酸和本发明的多态性检测用探针

(2)改变前述反应体系的温度, 测定显示前述待测核酸和前述探针的杂交产物的熔解状态的信号值的工序

(3)根据伴随温度变化的前述信号值的变动, 决定前述待测核酸中的前述多态性的工序。

通过本发明的多态性检测用探针, 利用 T_m 分析, 可以简便且高可信度地判断免疫相关基因FCGR3A基因、FCGR2A基因、IL-10基因、TNF α 基因和TNF β 基因的后述规定的多态性。具体而言, 即使免疫相关基因的多态性是杂合体(X/Y), 也可以判断并检测多态性X和多态性Y。而且, 即使免疫相关基因的多态性是纯合体(X/X或Y/Y)时, 也可以判断是X/X还是Y/Y。如前所述, 在通过 T_m 分析进行的杂合体(X/Y)的检测中, 如前所述, 以往的探针中, 由于前述探针与含有一个多态性(X)的序列和含有只有1个碱基不同的其它多态性(Y)的序列这两者杂交, 因此前述熔解曲线中二者的信号峰重叠, 难以判断多态性。与之相对, 通过本发明的探针, 尽管与这两个序列杂交,

但在前述溶解曲线中能充分分离二者的信号峰。因此，根据本发明，能简便地判断并检测只有一个碱基不同的多态性。而且，根据本发明，例如，在同一反应体系中添加两种以上的探针，也能在前述同一反应体系中判断各探针所对应的免疫相关基因的多态性。因此，例如，对于一个待测试样，使用一个反应体系，能检测多个多态性。这样一来，根据本发明能容易地且可信度高地判断免疫相关基因的多态性，因此例如，检测结果也可以反映到通过前述抗体药物的给药而进行的治疗上。因此，本发明可以说在医疗领域等中极为有用。

附图说明

图1是表示本发明的实施例1中的Tm分析结果的图。

图2是表示本发明的实施例2中的Tm分析结果的图。

图3是表示本发明的实施例3中的Tm分析结果的图。

具体实施方式

本发明中，以下，将发生检测目标的多态性的位点称为“检测对象位点”，将探针可以杂交的序列，即含有前述检测对象位点的前述序列称为“检测对象序列”。前述检测对象序列中，将与探针完全匹配的检测对象序列称为“完全匹配序列”，将与探针错配的检测对象序列称为“错配序列”。在本发明中，所谓完全匹配是指前述检测对象位点的碱基与前述探针中的对应碱基互补，优选是指前述检测对象序列和前述探针完全互补。本发明中，所谓错配是指前述检测对象位点的碱基与前述探针中的对应碱基非互补，优选是指前述检测对象位点与前述探针在前述检测对象位点以外完全互补。而且，将具有完全匹配序列的核酸、DNA或基因称为“完全匹配核酸、完全匹配DNA或完全

匹配基因”，将具有错配序列的核酸、DNA或基因称为“错配核酸、错配DNA或错配基因”。而且，将进行多态性检测的核酸、DNA或基因称为“待测核酸、待测DNA或待测基因”。

< 探针 >

如前所述，本发明的多态性检测用探针，其特征在于，其是用于检测免疫相关基因的多态性的探针，由选自于下述(A)~(H)构成的组中的至少一个寡核苷酸构成。而且，如后所述，本发明的多态性检测探针例如除以下的各种寡核苷酸以外，还可以具有例如标记物质等。

FCGR3A探针

由下述(A)的寡核苷酸构成的探针是用于检测免疫相关基因FCGR3A基因的多态性的探针。以下，将该探针称为“FCGR3A探针”：

(A)与以序列号1中第193位的鸟嘌呤(g)为第一位碱基，向3'方向直到第13~21位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶(c)为3'末端。

本发明的FCGR3A探针是用于检测序列号1所示的FCGR3A基因的部分序列中的第201位碱基(k)的多态性(g/t; 祖先型等位基因(ancestral allele)“g”)的探针。该多态性，例如，以登录号No. rs396991登录于NCBI。在本发明中，以下将该多态性称为“FCGR3A多态性”。

本发明的FCGR3A探针与FCGR3A基因的有义链(正向链)互补，通过与有义链的杂交，能检测有义链中的多态性。前述寡核苷酸(A)中，与序列号1的第201位碱基(k)对应的互补碱基用m表示，前述m是腺嘌呤或胞嘧啶。m为腺嘌呤时，探针与多态性(t)完全匹配，m为胞嘧啶时，探针与多态性(g)完全匹配。因此，根据是否完全匹配，能检测FCGR3A多态性。

m优选为腺嘌呤。

FCGR3A探针的具体例子示于下表。序列号8~16表示的探针由与含有序列号1中的第201位(k)的区域互补的序列构成,碱基m为与序列号1中的第201位碱基(k)对应的互补碱基。以下所示的各序列中,碱基m可以是腺嘌呤(a)和胞嘧啶(c)中的任意一种,优选为腺嘌呤(a)。下表中“T_m(°C)”是下表的序列和与其完全互补的序列杂交时的T_m(°C),通过MELTCALC软件(<http://www.meltcalc.com/>),将参数设为寡核苷酸浓度0.2μM、钠当量(Na eq.)50mM而计算出的值(以下,同样)。前述T_m值,例如,可以通过前述MELTCALC软件(<http://www.meltcalc.com/>)等计算,另外也可以通过毗邻法(Nearest Neighbor Method)确定。下述探针中,优选由序列号14的碱基序列构成的寡核苷酸(A1)。

[表1]

探针	序列	T _m (°C)	序列号
FCGR3A 探针 m = a, c	tttactccaamaagcccc-(荧光物质)	54.6	8
	tttactccaamaagcccc-(荧光物质)	54	9
	ttactccaamaagcccc-(荧光物质)	53.4	10
	tactccaamaagcccc-(荧光物质)	52.7	11
	actccaamaagcccc-(荧光物质)	52.9	12
	ctccaamaagcccc-(荧光物质)	50.8	13
	tccaamaagcccc-(荧光物质)	49.1	14
	ccaamaagcccc-(荧光物质)	46.9	15
	ccaamaagcccc-(荧光物质)	42.8	16

另外,本发明的FCGR3A探针也可以是由与前述(A)的寡核苷酸互补的寡核苷酸(A')构成的探针。这样,通过与反义链(相反链)的杂交,能够检测反义链中的多态性。

FCGR2A探针

由下述(B)的寡核苷酸构成的探针是用于检测免疫相关基因FCGR2A基因的多态性的探针。以下,将该探针称为“FCGR2A探针”。

(B)与以序列号2中第191位的鸟嘌呤(g)为第一位碱基,向3'方向直到第15~24位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸,该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶(c)为3'末端

本发明的FCGR2A探针是用于检测序列号2所示的FCGR2A基因的部分序列中第201位的碱基(y)的多态性(t/c;祖先型等位基因“t”)的探针。该多态性,例如,以登录号No. rs1801274登录于NCBI。以下,将该多态性称为“FCGR2A多态性”。

本发明的FCGR2A探针与FCGR2A基因的有义链(正向链)互补,通过与有义链的杂交,能检测有义链中的多态性。前述寡核苷酸(B)中,与序列号2的第201位碱基(y)对应的互补碱基用r表示,前述r为腺嘌呤或鸟嘌呤。r为鸟嘌呤时,探针与多态性(c)完全匹配,r为腺嘌呤时,探针与多态性(t)完全匹配。因此,根据是否完全匹配,能检测FCGR2A多态性。r优选为腺嘌呤。

FCGR2A探针的具体例子示于下表。序列号17~26表示的探针由与含有序列号2中的第201位(y)的区域互补的序列构成,碱基r为与序列号2中的第201位碱基(y)对应的互补碱基。以下所示的各序列中,碱基r可以是腺嘌呤(a)和鸟嘌呤(g)中的任意一种,优选为腺嘌呤(a)。下述探针中,优选由序列号23的碱基序列构成的寡核苷酸(B1)。

[表2]

探针	序列	T _m (°C)	序列号
FCGR2A 探针 r = a, g	cagaaattctccortttggatccc-(荧光物质)	55.3	17
	agaaattctccortttggatccc-(荧光物质)	54.1	18
	gaaattctccortttggatccc-(荧光物质)	52.9	19
	aaattctccortttggatccc-(荧光物质)	51.8	20
	aattctccortttggatccc-(荧光物质)	51	21
	attctccortttggatccc-(荧光物质)	50.2	22
	ttctccortttggatccc-(荧光物质)	49.7	23
	tctccortttggatccc-(荧光物质)	48.7	24
	ctccortttggatccc-(荧光物质)	46.8	25
	tccortttggatccc-(荧光物质)	44.7	26

另外，本发明的FCGR2A探针也可以是由与前述(B)的寡核苷酸互补的寡核苷酸(B')构成的探针。这样，通过与反义链(相反链)的杂交，能检测反义链中的多态性。

IL-10 (-592) 探针

由下述(C)的寡核苷酸构成的探针是用于检测免疫相关基因IL-10基因的第592位的位点的多态性的探针。以下，将该探针称为“IL-10 (-592) 探针”。

(C)与以序列号3中第311位的鸟嘌呤(G)为第一位碱基，向5'方向直到第16~21位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶(C)为5'末端。

本发明的IL-10(-592)探针是用于检测序列号3所示的IL-10基因的部分序列中第301位的碱基(m)的多态性(a/c; 祖先型等位基因“c”)的探针。该多态性，例如，以登录号No. rs1800872登录于NCBI。以下，将该多态性称为“IL-10 (-592) 多态性”。

本发明的IL-10 (-592) 探针与IL-10基因的有义链互补，通过与有义链的杂交，能检测有义链中的多态性。前述寡核苷酸(C)中，与序列号3的第301位碱基(m)对应的互补碱基用k表示，前述k为胸腺嘧啶或鸟嘌呤。k为胸腺嘧啶时，探针与多态性(a)完全匹配，k为鸟嘌呤时，探针与多态性(c)完全匹配。因此，根据是否完全匹配，能检测IL-10 (-592) 多态性。

k优选为胸腺嘧啶。

本发明的IL-10 (-592) 探针的具体例子示于下表。序列号27~32表示的探针由与含有序列号3中的第301位(m)的区域互补的序列构成, 碱基k为与序列号3中的第301位碱基(m)对应的互补碱基。以下所示的各序列中, 碱基k可以是胸腺嘧啶(t)和鸟嘌呤(g)中的任意一种, 优选为胸腺嘧啶(t)。下述探针中, 优选由序列号30的碱基序列构成的寡核苷酸(C1)。

[表3]

探针	序列	T _m (°C)	序列号
IL10(-592)探针 k = t, g	(荧光物质)-cttcctacagkacaggcggg-P	57.9	27
	(荧光物质)-cttcctacagkacaggcggg-P	55.7	28
	(荧光物质)-cttcctacagkacaggcgg-P	53.2	29
	(荧光物质)-cttcctacagkacaggcg-P	50.6	30
	(荧光物质)-cttcctacagkacaggc-P	47	31
	(荧光物质)-cttcctacagkacagg-P	42.7	32

另外, 本发明的IL-10 (-592) 探针也可以是由与前述(C)的寡核苷酸互补的寡核苷酸(C')构成的探针。这样, 通过与反义链的杂交, 能检测反义链中的多态性。

IL-10 (-819) 探针

由下述(D)的寡核苷酸构成的探针是用于检测免疫相关基因IL-10基因的第819位的位点的多态性的探针。以下, 将该探针称为“IL-10 (-819) 探针”。

(D)与以序列号4中第391位的鸟嘌呤(G)为第一位碱基, 向3'方向直到第16~22位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶(C)为3'末端。

本发明的IL-10(-819)探针是用于检测序列号4所示的IL-10基因的部分序列中第401位的碱基(y)的多态性(c/t; 祖先型等位基因“c”)的探针。该多态性, 例如, 以登录号No. rs1800871登录于NCBI。以下, 将该多态性称为“IL-10 (-819) 多态性”。

本发明的IL-10(-819)探针与IL-10基因的有义链互补,通过与有义链的杂交,能检测有义链中的多态性。前述寡核苷酸(D)中,与序列号4的第401位碱基(y)对应的互补碱基用r表示,前述r为鸟嘌呤或腺嘌呤。r为鸟嘌呤时,探针与多态性(c)完全匹配,r为腺嘌呤时,探针与多态性(t)完全匹配。因此,根据是否完全匹配,能检测多态性。r优选为鸟嘌呤。

本发明的IL-10(-819)探针的具体例子示于下表。序列号33~39所示探针由与含有序列号4中的第401位(y)的区域互补的序列构成,前述r是对应于序列号4中第401位的碱基(y)的互补碱基。以下所示的各序列中,碱基r可以是鸟嘌呤(g)和腺嘌呤(a)中的任意一种,优选为鸟嘌呤(g)。下述探针中,优选由序列号36的碱基序列构成的寡核苷酸(D1)。

[表4]

探针	序列	T _m (°C)	序列号
IL10(-819)探针 r = g, a	ggcacagagatrttacatcacc-(荧光物质)	55	33
	gcacagagatrttacatcacc-(荧光物质)	52.8	34
	cacagagatrttacatcacc-(荧光物质)	49.6	35
	acagagatrttacatcacc-(荧光物质)	47.9	36
	cagagatrttacatcacc-(荧光物质)	45.8	37
	agagatrttacatcacc-(荧光物质)	43.6	38
	gagatrttacatcacc-(荧光物质)	41.5	39

而且,本发明的IL-10(-819)探针也可以是由与前述(D)的寡核苷酸互补的寡核苷酸(D')构成的探针。这样,通过与反义链的杂交,能检测反义链中的多态性。

IL-10(-1082)探针

由下述(E)的寡核苷酸构成的探针是用于检测免疫相关基因IL-10基因的第1082位的位点的多态性的探针。以下,将该探针称为“IL-10(-1082)探针”。

(E)与以序列号5中第426位的鸟嘌呤(G)为第一位碱基,

向5'方向直到第15~24位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶（C）为5'末端。

本发明的IL-10（-1082）探针是用于检测序列号5所示的IL-10基因的部分序列中第414位的碱基（r）的多态性（a/g；祖先型等位基因“a”）的探针。该多态性，例如，以登录号No. rs1800896登录于NCBI。以下，将该多态性称为“IL-10（-1082）多态性”。

本发明的IL-10（-1082）探针与IL-10基因的有义链互补，通过与有义链的杂交，能检测有义链中的多态性。前述寡核苷酸（E）中，与序列号5的第414位的碱基（r）互补的碱基用y表示，前述y为胸腺嘧啶或胞嘧啶。y为胸腺嘧啶时，探针与多态性（a）完全匹配，y为胞嘧啶时，探针与多态性（g）完全匹配。因此，根据是否完全匹配，能检测多态性。y优选为胞嘧啶。

本发明的IL-10（-1082）探针的具体例子示于下表。序列号40~49所示的探针由与含有序列号5中的第414位（r）的区域互补的序列构成，碱基y是与序列号5中的第414位的碱基（r）互补的碱基。以下所示的各序列中，碱基y可以是胸腺嘧啶（t）和胞嘧啶（c）中的任意一种，优选为胞嘧啶（c）。下述探针中，优选为由序列号47的碱基序列构成的寡核苷酸（E1）。

[表5]

探针	序列	T _m (°C)	序列号
IL10 (-1082) 探针 y = t, c	(荧光物质)-ccctacttccccytcccaaagaag-P	59.5	40
	(荧光物质)-ccctacttccccytcccaaagaa-P	58.9	41
	(荧光物质)-ccctacttccccytcccaaaga-P	58.5	42
	(荧光物质)-ccctacttccccytcccaaag-P	57.4	43
	(荧光物质)-ccctacttccccytcccaaaa-P	56.5	44
	(荧光物质)-ccctacttccccytcccaa-P	56	45
	(荧光物质)-ccctacttccccytccca-P	55.4	46
	(荧光物质)-ccctacttccccytccc-P	53.5	47
	(荧光物质)-ccctacttccccytcc-P	50.4	48
	(荧光物质)-ccctacttccccytc-P	46.9	49

另外，本发明的IL-10(-1082)探针也可以是由与前述(E)的寡核苷酸互补的寡核苷酸(E')构成的探针。这样，通过与反义链的杂交，能检测反义链中的多态性。

IL-10(-3575)探针

由下述(F)的寡核苷酸构成的探针是用于检测免疫相关基因IL-10基因的第3575位的位点的多态性的探针。以下，将该探针称为“IL-10(-3575)探针”。

(F)与以序列号6中第165位的胞嘧啶(C)为第一位碱基，向3'方向直到第16~27位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以前述胞嘧啶(C)为5'末端

本发明的IL-10(-3575)探针是用于检测序列号6所示的IL-10基因的部分序列中第179位的碱基(w)的多态性(a/t; 祖先型等位基因“t”)的探针。该多态性，例如，以登录号No. rs1800890登录于NCBI。以下，将该多态性称为“IL-10(-3575)多态性”。

本发明的IL-10(-3575)探针与IL-10基因的反义链互补，通过与反义链的杂交，能检测反义链中的多态性。前述寡核苷酸(F)中，与序列号6中第179位的碱基(w)对应的碱基用w表示，前述w是胸腺嘧啶或腺嘌呤。w为胸腺嘧啶时，探针与反义链的多态性(a)完全匹配，w为腺嘌呤时，探针与反义链的多态性(t)完全匹配。因此，根据是否完全匹配，能检测多态性。w优选为胸腺嘧啶。

本发明的IL-10(-3575)探针的具体例子示于下表。序列号50~61所示的探针由与含有序列号6中的第179位(w)的区域相同的序列构成，碱基w是与序列号6中的第179位的碱基(w)对应的碱基。以下所示的序列中，碱基w是胸腺嘧啶(t)和腺嘌呤(a)中的任意一种，优选为胸腺嘧啶(t)。下述探针中优

选由序列号57的碱基序列构成的寡核苷酸 (F1)。

[表6]

探针	序列	T _m (°C)	序列号
IL10 (-3575)探针 w = t, a	(荧光物质)-cccactggaaaaatwcatttaaataca-P	53.2	50
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwcatttaaatac-P	51.9	51
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwcatttaaata-P	50.9	52
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwcatttaa-P	50.5	53
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwcatttaa-P	49.8	54
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwcatttaa-P	49	55
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwcattta-P	48.2	56
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwcattt-P	48.2	57
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwcatt-P	47.3	58
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwcat-P	46.3	59
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwca-P	45.4	60
	(荧光物质)-cccactggaaaaatwc-P	43	61

另外，本发明的IL-10 (-3575) 探针也可以是由与前述 (F) 的寡核苷酸互补的寡核苷酸 (F') 构成的探针。这样，通过与有义链的杂交，能检测有义链中的多态性。

TNF α (-308) 探针

由下述 (G) 的寡核苷酸构成的探针是用于检测免疫相关基因TNF α 基因的多态性的探针。以下，将该探针称为“TNF α (-308) 探针或TNF α 探针”。

(G) 与以序列号7中的第394位的鸟嘌呤 (G) 为第一位碱基，向3'方向直到第12~16位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶 (C) 为3'末端。

本发明的TNF α 探针是用于检测序列号7所示的TNF α 基因的部分序列中第401位的碱基 (r) 的多态性 (a/g; 祖先型等位基因“g”) 的探针。该多态性，例如，以登录号No. rs1800629登录于NCBI。以下，将该多态性称为“TNF α (-308) 多态性或TNF α 多态性”。

本发明的TNF α 探针与TNF α 基因的有义链互补，通过与有义链的杂交，能检测有义链中的多态性。前述寡核苷酸 (G) 中，

与序列号7的第401位的碱基 (r) 互补的碱基用y表示, 前述y为胸腺嘧啶或胞嘧啶。y为胸腺嘧啶时, 探针与多态性 (a) 完全匹配, y为胞嘧啶时, 探针与多态性 (g) 完全匹配。因此, 根据是否完全匹配, 能检测多态性。y优选为胞嘧啶。

本发明的TNF α 探针的具体例子示于下表。序列号62~66所示的探针由与含有序列号7中的第401位 (r) 的区域互补的序列构成, 碱基y是与序列号7中的第401位的碱基 (r) 互补的碱基。以下所示的各序列中, 碱基y可以是胸腺嘧啶 (t) 和胞嘧啶 (c) 中的任意一种, 优选为胞嘧啶 (c)。下述探针中, 优选为由序列号64的碱基序列构成的寡核苷酸 (G1)。

[表7]

探针	序列	T _m (°C)	序列号
TNF α (-308) 探针 y = t, c	ccccgtccycatgccc-(荧光物质)	58.6	62
	cccggtccycatgccc-(荧光物质)	55.7	63
	ccgtccycatgccc-(荧光物质)	52.5	64
	cgtccycatgccc-(荧光物质)	48.8	65
	gtccycatgccc-(荧光物质)	43.6	66

另外, 本发明的TNF α 探针可以由与前述 (G) 的寡核苷酸互补的寡核苷酸 (G') 构成的探针。这样, 通过与反义链的杂交, 能检测反义链中的多态性。

TNF β 探针

由下述 (H) 的寡核苷酸构成的探针是用于检测免疫相关基因TNF β 基因的多态性的探针。以下, 将该探针称为“TNF β (+252) 探针或TNF β 探针”。

(H) 与以序列号300中第393位的鸟嘌呤 (G) 作为第一位碱基, 向3'方向直到第15~22位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以与前述鸟嘌呤互补的胞嘧啶 (C) 为3'末端。

本发明的TNF β 探针是用于检测序列号300所示的TNF β 基因的部分序列中第401位的碱基(y)的多态性(t/c)的探针。该多态性,例如,以登录号No. rs909253登录于NCBI。以下,将该多态性称为“TNF β (+252)多态性或TNF β 多态性”。

本发明的TNF β 探针与TNF β 基因的有义链互补,通过与有义链的杂交,能检测有义链的多态性。前述寡核苷酸(H)中,与序列号300的第401位的碱基(y)对应的互补碱基用r表示,前述r是腺嘌呤或鸟嘌呤。r为鸟嘌呤时,探针与多态性(c)完全匹配,r为腺嘌呤时,探针与多态性(t)完全匹配。因此,根据是否完全匹配,能检测多态性。r优选为鸟嘌呤。

TNF β 探针的具体例子示于下表。序列号301~308表示的探针由与含有序列号300中的第401位(y)的区域互补的序列构成,碱基r为与序列号300中的第401位的碱基(y)对应的互补碱基。以下所示的各序列中,碱基r可以是腺嘌呤(a)和鸟嘌呤(g)中的任意一种,优选为鸟嘌呤(g)。下述探针中,优选由序列号306或序列号307的碱基序列构成的寡核苷酸(H1)。

[表8]

探针	序列	T _m (°C)	序列号
TNF β (+252) 探针 r = a, g	tgttctgccatgrttcctctc-(荧光物质)	56.4	301
	gtttctgccatgrttcctctc-(荧光物质)	54.9	302
	tttctgccatgrttcctctc-(荧光物质)	53.6	303
	ttctgccatgrttcctctc-(荧光物质)	52.9	304
	tctgccatgrttcctctc-(荧光物质)	52.2	305
	ctgccatgrttcctctc-(荧光物质)	50.6	306
	tgccatgrttcctctc-(荧光物质)	48.9	307
	gccatgrttcctctc-(荧光物质)	46.5	308

另外,本发明的TNF β 探针还可以是由与前述(H)的寡核苷酸互补的寡核苷酸(H')构成的探针。这样,通过与反义链的杂交,能检测反义链中的多态性。

本发明的探针包括:前述的各寡核苷酸中,除与检测对象

位点对应的碱基位点以外，缺失、置换或添加了1个或多个碱基的碱基序列所构成的、能与检测对象序列杂交的寡核苷酸构成的探针。

本发明的探针优选在前述的寡核苷酸上结合了标记物质的标记探针。作为前述标记探针，例如，可以例举单独显示信号且由于形成杂交体而不显示信号的标记探针，或单独不显示信号但由于形成杂交体而显示信号的标记探针。如果为前者这样的探针，则在与检测对象序列形成杂交体（双链核酸）时不显示信号，而由于加热探针游离时显示信号。另外，如果为后者的探针，则由于与检测对象序列形成杂交体（双链核酸）时显示信号，由于加热探针游离时信号就减少（消失）。

前述标记物质没有限制，例如，可以例举荧光色素（荧光团）。作为前述标记探针的具体例子，例如，优选用荧光色素标记，单独显示荧光且由于形成杂交体荧光减少（例如，猝灭）的探针。利用这种荧光猝灭现象（Quenching phenomenon）的探针被称为荧光猝灭探针。前述标记探针优选寡核苷酸的3'末端或5'末端被荧光色素标记，更优选3'末端和5'末端中碱基为胞嘧啶的核苷酸末端被标记。此时，优选将前述标记探针的碱基序列设计成：在前述标记探针杂交的检测对象序列中，与前述标记探针的末端碱基的胞嘧啶配对的碱基或距离前述配对碱基1~3碱基的碱基为鸟嘌呤。这种探针一般被称为鸟嘌呤猝灭探针，已知为所谓的QProbe（注册商标）。这种鸟嘌呤猝灭探针一旦与检测对象序列杂交，被荧光色素标记的末端胞嘧啶由于靠近前述检测对象序列中的鸟嘌呤，因此出现前述荧光色素的发光变弱（荧光强度减少）的现象。

前述荧光色素没有限制，例如，可以例举荧光素、磷光体、罗丹明、聚甲炔染料衍生物等，作为市售的荧光色素，例如，

可以例举BODIPY FL (商标名, Molecular Probes公司制)、FluorePrime (商品名, Amersham Pharmacia公司制)、Fluoredate (商品名, Millipore公司制)、FAM (ABI公司制)、Cy3及Cy5 (Amersham Pharmacia公司制)、TAMRA (Molecular Probes公司制)、Pacific Blue (Becton, Dickinson 公司制)等。探针的检测条件没有特别限定,可以根据所使用的荧光色素适当确定。例如,太平洋蓝 (Pacific Blue)可以在检测波长450~480nm下检测, TAMRA可以在检测波长585~700nm下检测, BODIPY FL可以在检测波长515~555nm下检测。若使用这种探针,则可以根据信号的变动,容易地确认杂交与其的分离。

另外,本发明的探针例如可以在3'末端上添加磷酸基。如后所述,待测核酸可以通过PCR等核酸扩增法进行制备,此时,可以使本发明的探针共存于核酸扩增反应的反应体系中。此时,如果预先在前述探针的3'末端上添加磷酸基,例如则能充分防止探针自身通过核酸扩增反应而伸长。而且,即使通过在3'末端上添加如上前所述的标记物质,也可以获得同样效果。

本发明的探针可以分别用于各种免疫相关基因中的多态性的检测。而且,在多态性检测时,既可以使用本发明的探针中的一种,只检测一种多态性,也可以使用两种以上的探针,检测两种以上的多态性。使用两种以上的本发明的探针时,例如,可以使之共存于同一反应体系中,使用前述同一反应体系而检测两种以上的多态性。此时,优选检测条件不同的荧光色素标记各探针。

此外,在采用本发明的探针的多态性的检测中,检测方法没有任何限制,只要是利用检测对象序列与探针的杂交的方法即可。作为使用本发明的探针的方法的一例,对于利用T_m分析的多态性的检测方法,说明如下。

< 多态性检测方法 >

本发明的多态性检测方法如前所述，其特征在于，其是免疫相关基因的多态性的检测方法，包括下述（1）~（3）工序。而且，本发明的多态性检测方法的特征在于，其使用本发明的探针，其它构成和条件等不受以下所述限制。

（1）准备反应体系的工序，所述反应体系含有检测前述多态性的待测核酸和本发明的多态性检测用探针

（2）改变前述反应体系的温度，测定显示前述待测核酸和前述探针的杂交产物的熔解状态的信号值的工序

（3）根据伴随温度变化的前述信号值的变动，决定前述待测核酸中的前述多态性的工序

本发明的多态性检测方法中使用的本发明的探针，如前所述，可以是一种，也可以是两种以上。为前者的情况下，在一个反应体系中能检测所希望的一种多态性，为后者的情况下，通过在反应体系中添加两种以上的本发明的探针，就能在一个反应体系中分别检测各探针对应的所希望的两种以上的多态性。在一个反应体系中检测两种以上的多态性时，本发明的探针的组合没有特别限定，但例如可以例举以下组合：

（1）FCGR3A探针和IL-10（-819）探针的组合，优选含有序列号14的序列的探针和含有序列号36的序列的探针的组合

（2）FCGR2A探针、IL-10（-592）探针和TNF α （-308）探针的组合，优选含有序列号23的序列的探针、含有序列号30的序列的探针和含有序列号64的序列的探针

（3）IL-10（-1082）探针和IL-10（-3575）探针的组合，优选含有序列号47的序列的探针和含有序列号57的序列的探针的组合

（4）IL-10（-592）探针和IL-10（-1082）探针的组合，优

选含有序列号30的序列的探针和含有序列号47的序列的探针的组合

在一个反应体系中添加两种以上的探针时，优选各探针分别被检测条件不同的标记物质标记。由此，只改变检测条件，即便使用同一个反应体系，也可以简便地检测两种以上的多态性。

本发明中，前述待测核酸既可为单链核酸，也可为双链核酸。前述待测核酸为双链核酸时，例如，如后所述，优选在前述(2)工序中包括加热前述反应体系而使双链的待测核酸解离的工序。通过将双链核酸解离成单链核酸，使得与本发明的探针的杂交成为可能。

本发明中，前述待测核酸，例如可以是生物体试样中原本含有的核酸，也可以是以前述核酸作为模板核酸，通过核酸扩增法扩增出的扩增产物，此时可以提高检测精度。前述扩增产物，例如可以是以生物体试样中的DNA作为模板的扩增产物，也可以是以由生物体试样中的总RNA、mRNA等RNA通过逆转录-PCR合成的cDNA作为模板的扩增产物。

前述待测核酸为前述扩增产物时，可以在前述(1)工序中，例如，使用预先制备的扩增产物，准备含有本发明的探针和前述扩增产物的反应体系，也可以在本发明的探针的存在下，由模板核酸通过核酸扩增法扩增目标扩增产物，准备含有前述探针和扩增产物的反应体系。

在后者的情况下，前述(1)工序优选包括下述(1a)工序。

(1a)在含有前述探针的反应体系中，通过核酸扩增法，由模板核酸生成作为前述待测核酸的扩增产物的工序。

前述核酸扩增法不受限制，例如，可以例举PCR(聚合酶链式反应，Polymerase Chain Reaction)法、NASBA(依赖核

酸序列的扩增，Nucleic acid sequence based amplification) 法、TMA (转录介导的扩增，Transcription-mediated amplification) 法、SDA (链置换扩增，Strand Displacement Amplification) 法等，其中优选PCR法。

在前述(1a)工序中优选使用用于扩增含有前述免疫相关基因中的检测目标的多态性的序列的引物。引物的序列没有特别限定，只要能扩增含有检测对象位点的检测对象序列即可，例如，可以根据检测对象序列和其周边序列等，通过以往公知的方法适当设定。引物的长度没有特别限定，可以设定为一般的长度，例如，可以例举10~30mer。如前所述，在检测两种以上的多态性时，可以分别并用用于扩增各多态性的检测对象序列的引物。另外，通过使这些引物共存于同一反应体系中，能同时扩增两种以上的检测对象序列。

作为前述引物，例如，可以使用扩增基因的有义链的正向引物(以下，也称为“F引物”)和扩增反义链的反向引物(以下，也称为“R引物”)中的任意一种，但优选将这两者作为一对引物对使用。以下，示出引物对的一个例子，但其仅为示例，本发明并不限于此。

FCGR3A引物对(a)

FCGR3A多态性的检测中，作为引物对，例如，可以例举包括由下述(F1)的寡核苷酸构成的正向引物和由下述(R1)的寡核苷酸构成的反向引物的引物对(a)。

(F1)与以序列号1的碱基序列中的第173位的胞嘧啶(c)为第1位碱基，向5'方向直到第27~46位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以前述胞嘧啶(c)作为3'末端

(R1)与以序列号1的碱基序列中的第307位的腺嘌呤(a)为第1位碱基，向3'方向直到第23~29位碱基的区域互补的至少

一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述第307位的腺嘌呤（a）互补的胸腺嘧啶（t）作为3'末端

以下，示出正向引物和反向引物的具体例子，但本发明并不限于此。而且，这些正向引物和反向引物的组合没有任何限制，但其中特别优选包括由序列号77的碱基序列构成的正向引物和由序列号97的碱基序列构成的反向引物的引物对。

[表9]

引物	序列	T _m (°C)	序列号
FCGR3A F 引物	tcatcataattctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	64.3	67
	catcataattctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	63.9	68
	atcataattctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	63.5	69
	tcataattctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	63.6	70
	cataattctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	63.1	71
	ataattctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	62.7	72
	taattctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	62.7	73
	aattctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	63	74
	attctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	63	75
	ttctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	63	76
	tctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	62.9	77
	ctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	62.3	78
	tgacttctacattccaaaagccacactcaaagac	62	79
	gacttctacattccaaaagccacactcaaagac	61.2	80
	acttctacattccaaaagccacactcaaagac	60.8	81
	cttctacattccaaaagccacactcaaagac	59.9	82
	ttctacattccaaaagccacactcaaagac	59.4	83
	tctacattccaaaagccacactcaaagac	59.2	84
	ctacattccaaaagccacactcaaagac	58.3	85
	tacattccaaaagccacactcaaagac	57.7	86
FCGR3A R 引物	aatcaggaatctcctcccaactcaacttccagtgat	66.3	87
	atcaggaatctcctcccaactcaacttccagtgat	66.4	88
	tcaggaatctcctcccaactcaacttccagtgat	66.5	89
	caggaatctcctcccaactcaacttccagtgat	66	90
	aggaatctcctcccaactcaacttccagtgat	65.6	91
	ggaatctcctcccaactcaacttccagtgat	65	92
	gaatctcctcccaactcaacttccagtgat	63.8	93
	aatctcctcccaactcaacttccagtgat	63.5	94
	atctcctcccaactcaacttccagtgat	63.4	95
	tctcctcccaactcaacttccagtgat	63.5	96
	ctcctcccaactcaacttccagtgat	62.8	97
	tctcctcccaactcaacttccagtgat	62.4	98
	cctcccaactcaacttccagtgat	61.6	99
	ctcccaactcaacttccagtgat	60	100
	tcccaactcaacttccagtgat	59.4	101
	ccaactcaacttccagtgat	58.4	102
	ccaactcaacttccagtgat	56.5	103

FCGR2A引物对 (b)

FCGR2A多态性的检测中，作为引物对，例如，可以例举包括由下述 (F2) 的寡核苷酸构成的正向引物和由下述 (R2) 的寡核苷酸构成的反向引物的引物对 (b)。

包括由下述 (F2) 的寡核苷酸构成的正向引物和由下述 (R2) 的寡核苷酸构成的反向引物的引物对

(F2) 与以序列号2的碱基序列中的第189位的鸟嘌呤 (g) 为第1位碱基，向5'方向直到第23~38位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以前述鸟嘌呤 (g) 作为3'末端

(R2) 与以序列号2的碱基序列中的第206位的鸟嘌呤 (g) 为第1位碱基，向3'方向直到第31~48位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述第206位的鸟嘌呤 (g) 互补的胞嘧啶 (c) 作为3'末端

以下，示出正向引物和反向引物的具体例子，但本发明并不限于此。而且，这些正向引物和反向引物的组合没有任何限制，但其中特别优选包括由序列号132的序列构成的F2引物和由序列号114的碱基序列构成的R2引物的引物对。

[表10]

引物	序列	T _m (°C)	序列号
FCGR2A F 引物	accactgtgactgtggtttgcttgtgggatggagaagg	68.9	122
	ccactgtgactgtggtttgcttgtgggatggagaagg	68.3	123
	cactgtgactgtggtttgcttgtgggatggagaagg	67.3	124
	actgtgactgtggtttgcttgtgggatggagaagg	67	125
	ctgtgactgtggtttgcttgtgggatggagaagg	66.3	126
	tgtgactgtggtttgcttgtgggatggagaagg	66.1	127
	gtgactgtggtttgcttgtgggatggagaagg	65.4	128
	tgactgtggtttgcttgtgggatggagaagg	65	129
	gactgtggtttgcttgtgggatggagaagg	64.1	130
	actgtggtttgcttgtgggatggagaagg	63.8	131
	ctgtggtttgcttgtgggatggagaagg	62.9	132
	tgtggtttgcttgtgggatggagaagg	62.5	133
	gtggtttgcttgtgggatggagaagg	61.5	134
	tggtttgcttgtgggatggagaagg	60.7	135
	ggtttgcttgtgggatggagaagg	59.6	136
	gtttgcttgtgggatggagaagg	57.7	137
	FCGR2A R 引物	cctctggcaagggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc	67.2
ctctggcaagggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		66.5	105
tctggcaagggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		66.3	106
ctggcaagggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		65.9	107
tggcaagggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		65.7	108
ggtcaagggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		65.2	109
gtcaagggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		64.3	110
tcaagggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		63.9	111
caagggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		63.4	112
aagggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		63	113
aggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		62.9	114
ggtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		62.3	115
gtcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		61.2	116
tcacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		60.6	117
cacattctccagaatggaaaatcccagaaattc		60	118
acattctccagaatggaaaatcccagaaattc		59.4	119
cattctccagaatggaaaatcccagaaattc		58.4	120
attctccagaatggaaaatcccagaaattc	57.7	121	

IL-10 (-592) 引物对 (c)

IL-10 (-592) 多态性的检测中, 作为引物对, 例如, 可以例举包括由下述 (F3) 的寡核苷酸构成的正向引物及由下述 (R3) 的寡核苷酸构成的反向引物的引物对 (c)。

(F3) 与以序列号3的碱基序列中的第291位的胞嘧啶 (c) 作为第1位碱基, 向5'方向直到第23~41位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以前述胞嘧啶 (c) 作为3'末端

(R3) 与以序列号3的碱基序列中的第311位的鸟嘌呤 (g) 作为第1位碱基, 向3'方向直到第27~41位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以与前述第311位的鸟嘌呤 (g) 互补的胞嘧啶 (c) 作为3'末端

以下, 示出正向引物和反向引物的具体例子, 但本发明并不限于此。而且, 这些正向引物和反向引物的组合没有任何限制, 但其中特别优选包括由序列号148的碱基序列构成的正向引物和由序列号167的碱基序列构成的反向引物的引物对。

[表11]

引物	序列	Tm(°C)	序列号
IL10(-592) F 引物	atgaaatcgggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	68.2	138
	tgaaatcgggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	68.3	139
	gaaatcgggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	67.7	140
	aaatcgggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	67.6	141
	aatcgggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	67.7	142
	atcgggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	67.7	143
	tgggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	67.9	144
	cgggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	67.4	145
	gggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	66.1	146
	ggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	64.9	147
	gtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	63.6	148
	gtaaaggagcctggaacacatcctgtgac	62.2	149
	taaaggagcctggaacacatcctgtgac	61.6	150
	aaaggagcctggaacacatcctgtgac	62.1	151
	aaggagcctggaacacatcctgtgac	61.9	152
	aggagcctggaacacatcctgtgac	61.8	153
	aggagcctggaacacatcctgtgac	60.9	154
ggagcctggaacacatcctgtgac	59	155	
gagcctggaacacatcctgtgac	58.3	156	
IL10(-592) R 引物	gtccaagcagcccttccattttactttccagagactggc	68.8	157
	ttccaagcagcccttccattttactttccagagactggc	68.6	158
	tccaagcagcccttccattttactttccagagactggc	68.7	159
	ccaagcagcccttccattttactttccagagactggc	68.2	160
	ccaagcagcccttccattttactttccagagactggc	67.2	161
	caagcagcccttccattttactttccagagactggc	66.2	162
	aagcagcccttccattttactttccagagactggc	65.9	163
	agcagcccttccattttactttccagagactggc	65.9	164
	gcagcccttccattttactttccagagactggc	65.3	165
	cagcccttccattttactttccagagactggc	63.8	166
	agcccttccattttactttccagagactggc	63.3	167
	gcccttccattttactttccagagactggc	62.6	168
	cccttccattttactttccagagactggc	60.7	169
	ccttccattttactttccagagactggc	59.2	170
	cttccattttactttccagagactggc	57.6	171

IL-10 (-819) 引物对 (d)

IL-10 (-819) 多态性的检测中, 作为引物对, 例如, 可以例举包括由下述 (F4) 的寡核苷酸构成的正向引物及由下述 (R4) 的寡核苷酸构成的反向引物的引物对 (d)。

(F4) 与以序列号4的碱基序列中的第351位的鸟嘌呤 (g) 为第1位碱基, 向5'方向直到第24~39位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以前述鸟嘌呤 (g) 作为3'末端

(R4) 与以序列号4的碱基序列中第420位的鸟嘌呤 (g) 为第1位碱基, 向3'方向直到第29~46位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以与前述第420位的鸟嘌呤 (g) 互补的胞嘧啶 (c) 作为3'末端

以下, 示出正向引物和反向引物的具体例子, 但本发明并不限于此。而且, 这些正向引物和反向引物的组合没有任何限制, 但其中特别优选包括由序列号182的碱基序列构成的正向引物和由序列号198的碱基序列构成的反向引物的引物对。

[表12]

引物	序列	T _m (°C)	序列号
IL10(-819) F 引物	tcattctatgtgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	66.1	172
	cattctatgtgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	65.6	173
	attctatgtgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	65.2	174
	ttctatgtgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	65.3	175
	tctatgtgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	65.3	176
	ctatgtgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	64.7	177
	tatgtgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	64.5	178
	atgtgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	65	179
	tgtgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	65.1	180
	gtgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	64.2	181
	tgctggagatgggtgtacagtagggtgagg	63.7	182
	gctggagatgggtgtacagtagggtgagg	62.8	183
	ctggagatgggtgtacagtagggtgagg	60.8	184
	tggagatgggtgtacagtagggtgagg	60.3	185
	ggagatgggtgtacagtagggtgagg	59.2	186
	gagatgggtgtacagtagggtgagg	57.4	187
	IL10(-819) R 引物	aggtagtgtcaccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc	67.9
ggtagtgtcaccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		67.5	189
gtagtgtcaccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		66.7	190
tagtgtcaccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		66.5	191
agtgtcaccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		66.9	192
gtgtcaccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		66.4	193
tgctcaccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		66.1	194
gctcaccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		65.5	195
ctcaccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		64.2	196
tcaccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		63.9	197
caccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		63.4	198
accatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		62.9	199
ccatgaccctaccgtctctatttatagtgagc		62.1	200
catgaccctaccgtctctatttatagtgagc		60.9	201
atgaccctaccgtctctatttatagtgagc		60.3	202
tgaccctaccgtctctatttatagtgagc		60.2	203
gaccctaccgtctctatttatagtgagc		59.3	204
accctaccgtctctatttatagtgagc		58.8	205

IL-10 (-1082) 用引物对 (e)

IL-10 (-1082) 多态性的检测中, 作为引物对, 例如, 可以例举包括由下述 (F5) 的寡核苷酸构成的正向引物及由下述 (R5) 的寡核苷酸构成的反向引物的引物对 (e)。

(F5) 与以序列号5的碱基序列中的第329位的胞嘧啶 (c) 为第1位碱基, 向5'方向直到第22~32位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以前述胞嘧啶 (c) 作为3'末端

(R5) 与以序列号5的碱基序列中第447位的鸟嘌呤 (g)

为第1位碱基，向3'方向直到第23~39位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述447位的鸟嘌呤（g）互补的胞嘧啶（c）作为3'末端

以下，示出正向引物和反向引物的具体例子，但本发明并不限于此。而且，这些正向引物和反向引物的组合没有任何限制，但其中特别优选包括由序列号213的碱基序列构成的正向引物和由序列号227的碱基序列构成的反向引物的引物对。

[表13]

引物	序列	T _m (°C)	序列号
IL10(-1082) F引物	ctctcgccgcaaccaactggctctccttac	69.2	206
	tcctcgccgcaaccaactggctctccttac	69.2	207
	cctcgccgcaaccaactggctctccttac	68.6	208
	ctcgccgcaaccaactggctctccttac	67.4	209
	tcgccgcaaccaactggctctccttac	67.2	210
	cgccgcaaccaactggctctccttac	66.6	211
	gccgcaaccaactggctctccttac	65	212
	ccgcaaccaactggctctccttac	63	213
	cgcaaccaactggctctccttac	61.4	214
	gcaaccaactggctctccttac	59.3	215
	caaccaactggctctccttac	56.7	216
IL10(-1082) R引物	aaagaagtcaggattccatggaggctggataggaggtcc	67.4	217
	aagaagtcaggattccatggaggctggataggaggtcc	67.5	218
	agaagtcaggattccatggaggctggataggaggtcc	67.5	219
	gaagtcaggattccatggaggctggataggaggtcc	67	220
	aagtcaggattccatggaggctggataggaggtcc	66.8	221
	agtcaggattccatggaggctggataggaggtcc	66.9	222
	gtcaggattccatggaggctggataggaggtcc	66.3	223
	tcaggattccatggaggctggataggaggtcc	65.9	224
	caggattccatggaggctggataggaggtcc	65.3	225
	aggattccatggaggctggataggaggtcc	64.8	226
	ggattccatggaggctggataggaggtcc	64.2	227
	gattccatggaggctggataggaggtcc	62.7	228
	attccatggaggctggataggaggtcc	62.3	229
	ttccatggaggctggataggaggtcc	62.3	230
	tccatggaggctggataggaggtcc	62.2	231
	ccatggaggctggataggaggtcc	61.3	232
	catggaggctggataggaggtcc	59.5	233

IL-10(-3575)用引物对(f)

IL-10(-3575)多态性的检测中，作为引物对，例如，可以例举包括由下述(F6)的寡核苷酸构成的正向引物及由下述

(R6)的寡核苷酸构成的反向引物的引物对。

(F6)与以序列号6的碱基序列中的第139位的胞嘧啶(c)作为第1位碱基,向5'方向直到第25~42位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸,该寡核苷酸以前述胞嘧啶(c)作为3'末端

(R6)与以序列号6的碱基序列中第223位的鸟嘌呤(g)作为第1位碱基,向3'方向直到第19~33位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸,该寡核苷酸以与前述第223位的鸟嘌呤(g)互补的胞嘧啶(c)作为3'末端

以下,示出正向引物和反向引物的具体例子,但本发明并不限于此。而且,这些正向引物和反向引物的组合没有任何限制,但其中特别优选包括由序列号244的碱基序列构成的正向引物和由序列号260的碱基序列构成的反向引物的引物对。

[表14]

引物	序列	T _m (°C)	序列号	
IL10 (-3575) F引物	agaggagcagggatggaagaagagaggtattccccttccac	69.8	234	
	gaggagcagggatggaagaagagaggtattccccttccac	69.4	235	
	aggagcagggatggaagaagagaggtattccccttccac	69.3	236	
	ggagcagggatggaagaagagaggtattccccttccac	68.8	237	
	gagcagggatggaagaagagaggtattccccttccac	67.9	238	
	agcagggatggaagaagagaggtattccccttccac	67.8	239	
	gcagggatggaagaagagaggtattccccttccac	67.3	240	
	cagggatggaagaagagaggtattccccttccac	65.9	241	
	agggatggaagaagagaggtattccccttccac	65.5	242	
	gggatggaagaagagaggtattccccttccac	64.9	243	
	ggatggaagaagagaggtattccccttccac	63.7	244	
	gatggaagaagagaggtattccccttccac	62.4	245	
	atggaagaagagaggtattccccttccac	62	246	
	tggaagaagagaggtattccccttccac	62	247	
	ggaagaagagaggtattccccttccac	61	248	
	gaagaagagaggtattccccttccac	59.5	249	
	aagaagagaggtattccccttccac	58.9	250	
	agaagagaggtattccccttccac	58.6	251	
	IL10 (-3575) R引物	gcctgagtccagttgccctcaagcccagatgc	69.6	252
		cctgagtccagttgccctcaagcccagatgc	68.2	253
ctgagtccagttgccctcaagcccagatgc		67	254	
tgagtccagttgccctcaagcccagatgc		66.8	255	
gagtccagttgccctcaagcccagatgc		66	256	
agtccagttgccctcaagcccagatgc		65.8	257	
gtccagttgccctcaagcccagatgc		65.1	258	
tccagttgccctcaagcccagatgc		64.5	259	
ccagttgccctcaagcccagatgc		63.8	260	
cagttgccctcaagcccagatgc		62.1	261	
agttgccctcaagcccagatgc		61.4	262	
gttgccctcaagcccagatgc		60.4	263	
ttgccctcaagcccagatgc		59.5	264	
ttgccctcaagcccagatgc		59.2	265	
tgccctcaagcccagatgc		58.8	266	

TNF α 引物对 (g)

TNF α 多态性的检测中，作为引物对，例如，可以例举包括由下述 (F7) 的寡核苷酸构成的正向引物及由下述 (R7) 的寡核苷酸构成的反向引物的引物对。

(F7) 与以序列号7的碱基序列中的第386位的鸟嘌呤 (g) 为第1位碱基，向5'方向直到第26~41位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸，该寡核苷酸以前述鸟嘌呤 (g) 作为3'末端

(R7) 与以序列号7的碱基序列中第418位的胞嘧啶 (c) 为第1位碱基，向3'方向直到第24~40位碱基的区域互补的至少

一个寡核苷酸，该寡核苷酸以与前述第418位的胞嘧啶（c）互补的鸟嘌呤（g）作为3'末端

以下，示出正向引物和反向引物的具体例子，但本发明并不限于此。而且，这些正向引物和反向引物的组合没有任何限制，但其中特别优选包括由序列号277的碱基序列构成的正向引物和由序列号293的碱基序列构成的反向引物的引物对。

[表15]

引物	序列	T _m (°C)	序列号
TNF α (-308) F 引物	agaccacagacctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	68.9	267
	gaccacagacctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	68.5	268
	accacagacctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	68.4	269
	ccacagacctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	67.8	270
	cacagacctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	66.8	271
	acagacctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	66.5	272
	cagacctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	65.8	273
	agacctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	65.4	274
	gacctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	64.8	275
	acctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	64.6	276
	cctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	63.7	277
	ctggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	62.4	278
	tggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	62	279
	ggtcccaaaaagaatggaggcaatagg	61	280
	gtcccaaaaagaatggaggcaatagg	59.5	281
tcccaaaaagaatggaggcaatagg	58.6	282	
TNF α (-308) R 引物	gtttctgggccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	69.3	283
	tcttctgggccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	69.1	284
	cttctgggccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	68.7	285
	ttctgggccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	68.6	286
	tctgggccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	68.7	287
	ctgggccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	68.2	288
	tgggccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	68	289
	gggccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	67.4	290
	ggccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	66.2	291
	gccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	65	292
	ccaactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	63.3	293
	cactgactgatttgtgtgtaggaccctgg	62	294
	actgactgatttgtgtgtaggaccctgg	61.3	295
	ctgactgatttgtgtgtaggaccctgg	60.3	296
	tgactgatttgtgtgtaggaccctgg	59.8	297
	gactgatttgtgtgtaggaccctgg	58.6	298
	actgatttgtgtgtaggaccctgg	57.9	299

TNF β 引物对 (h)

TNF β 多态性的检测中，作为引物对，例如，可以例举包括

由下述 (F8) 的寡核苷酸构成的正向引物及由下述 (R8) 的寡核苷酸构成的反向引物的引物对。

(F8) 与以序列号300的碱基序列中的第350位的胞嘧啶(c)为第1位碱基, 向5'方向直到第18~37位碱基的区域序列相同的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以前述胞嘧啶(c)作为3'末端

(R8) 与以序列号300的碱基序列中第443位的鸟嘌呤(g)为第1位碱基, 向3'方向直到第17~37位碱基的区域互补的至少一个寡核苷酸, 该寡核苷酸以与前述第443位的鸟嘌呤(g)互补的胞嘧啶(c)作为3'末端

以下, 示出正向引物和反向引物的具体例子, 但本发明并不限于此。而且, 这些正向引物和反向引物的组合没有任何限制, 但其中特别优选包括由序列号337的碱基序列构成的正向引物和由序列号312的碱基序列构成的反向引物的引物对。

[表16]

引物	序列	T _m (°C)	序列号
TNF β (+252) F引物	cgacagagaaggggacaagatgcagtcagagaaaacc	67.6	330
	gacagagaaggggacaagatgcagtcagagaaaacc	66.4	331
	acagagaaggggacaagatgcagtcagagaaaacc	66.3	332
	cagagaaggggacaagatgcagtcagagaaaacc	65.5	333
	agagaaggggacaagatgcagtcagagaaaacc	65.1	334
	gagaaggggacaagatgcagtcagagaaaacc	64.5	335
	agaaggggacaagatgcagtcagagaaaacc	64.2	336
	gaaggggacaagatgcagtcagagaaaacc	63.6	337
	aaggggacaagatgcagtcagagaaaacc	63.2	338
	aggggacaagatgcagtcagagaaaacc	63.1	339
	ggggacaagatgcagtcagagaaaacc	62.4	340
	gggacaagatgcagtcagagaaaacc	60.8	341
	ggacaagatgcagtcagagaaaacc	59.1	342
	gacaagatgcagtcagagaaaacc	57.3	343
	acaagatgcagtcagagaaaacc	56.6	344
	caagatgcagtcagagaaaacc	55.2	345
	aagatgcagtcagagaaaacc	53.9	346
	agatgcagtcagagaaaacc	53.3	347
	gatgcagtcagagaaaacc	51.9	348
	atgcagtcagagaaaacc	50.5	349
TNF β (+252) R引物	tttgtttctctctgtctctgactctccatctgtc	64.2	309
	ttggttctctctgtctctgactctccatctgtc	64.2	310
	tggttctctctgtctctgactctccatctgtc	64.1	311
	ggtttctctctgtctctgactctccatctgtc	63.4	312
	gtttctctctgtctctgactctccatctgtc	62.2	313
	tttctctctgtctctgactctccatctgtc	61.6	314
	ttctctctgtctctgactctccatctgtc	61.5	315
	tctctctgtctctgactctccatctgtc	61.3	316
	cctctctgtctctgactctccatctgtc	60.6	317
	cttctctgtctctgactctccatctgtc	59.1	318
	ttctctgtctctgactctccatctgtc	58.5	319
	tctctgtctctgactctccatctgtc	58.2	320
	ctctgtctctgactctccatctgtc	57.3	321
	tctgtctctgactctccatctgtc	56.5	322
	ctgtctctgactctccatctgtc	55.4	323
	tgtctctgactctccatctgtc	54.5	324
	gtctctgactctccatctgtc	53	325
	tctctgactctccatctgtc	51.5	326
	ctctgactctccatctgtc	50	327
	tctgactctccatctgtc	48.5	328
ctgactctccatctgtc	46.7	329	

在前述(1)工序中,本发明的探针相对于前述待测核酸的添加比例(摩尔比)没有特别限制,但为了能充分确保检测信号,优选为1倍以下,更优选为0.1倍以下。此时,前述待测核酸,例如,可以是具有完全匹配序列的完全匹配核酸和具有错配序列的错配核酸的总计,也可以是包括完全匹配序列的扩增

产物和包括错配序列的扩增产物的总计。而且，待测核酸中完全匹配DNA的比例通常不明，但从结果看，前述探针的添加比例（摩尔比）优选为完全匹配核酸（含有完全匹配序列的扩增产物）的10倍以下，更优选为5倍以下，进一步优选为3倍以下。而且，其下限没有特别限定，例如，为0.001倍以上，优选为0.01倍以上，更优选为0.1倍以上。本发明的探针相对于前述待测核酸的添加比例，例如，可以为相对于双链核酸的摩尔比，也可以为相对于单链核酸的摩尔比。

作为使用本发明的多态性检测方法的试样，没有特别限定，但可以列举生物体试样。作为前述生物体试样的具体例子，例如，可以列举白细胞等血细胞、全血、口腔粘膜等口腔内细胞、指甲或毛发等体细胞、生殖细胞、吐出的痰、羊水、石蜡包埋组织、尿、胃液、胃清洗液等。本发明中，前述试样的采集方法和从前述试样制备待测核酸的方法等没有限制，可以采用以往公知的方法。

就 T_m 值进行说明。逐步加热含有双链核酸（例如，双链DNA）的溶液时，260nm处的吸光度上升。这是因为双链核酸中双链间的氢键因加热而解离，解离（DNA的熔解）成单链核酸（例如，单链DNA）。而且，所有的双链核酸均解离成单链核酸时，其吸光度呈现出加热开始时的吸光度（仅双链核酸的吸光度）的约1.5倍左右，由此可以判断熔解结束。基于这种现象，熔解温度 T_m 一般定义为吸光度达到吸光度总上升量的50%时的温度。

本发明中，用于测定 T_m 值的伴随温度变化的信号变动，其测定也可以根据前述原理通过260nm处的吸光度测定而进行，但优选测定添加于探针上的标记物质的信号。因此，作为本发明的探针，优选使用前述标记探针。作为前述标记探针，例如，

可以例举单独显示信号且由于形成杂交体而不显示信号的标记探针，或者单独不显示信号但由于形成杂交体而显示信号的标记探针。如果为前者的探针，则在与检测对象序列形成杂交体（双链核酸）时不显示信号，而由于加热探针游离则显示信号。此外，如果为后者探针，则由于与检测对象序列形成杂交体（双链核酸）而显示信号，而由于加热探针游离则信号减少（消失）。因此，通过在信号特有的条件（吸光度等）下检测由该标记物质产生的信号，可以与前述260nm处的吸光度测定同样，进行熔解的进行和 T_m 值的确定。标记探针中的标记物质，例如，如前所述。

以下，就本发明的多态性检测方法，以待测核酸为核酸扩增物，使用经荧光色素标记的标记探针作为本发明的探针为例进行说明。另外，本发明的多态性检测方法的特征在于使用本发明的探针本身，其它工序和条件没有任何限制。

首先，从全血中分离基因组DNA。从全血中分离基因组DNA可以通过以往公知的方法进行。作为具体例子，例如，可以使用市售的基因组DNA分离试剂盒（商品名GFX Genomic Blood DNA Purification kit; GE Healthcare Bio-Science公司制）等。

随后，在含有分离的基因组DNA的试样中添加标记探针，制备反应液。如前所述，添加的标记探针可以是一种，也可以为两种以上。作为前述标记探针，例如，优选QProbe。前述QProbe一般为用荧光色素标记探针末端的胞嘧啶的探针，其通过与检测对象序列杂交，前述荧光色素和检测对象序列的鸟嘌呤相互作用，其结果为荧光减少（或猝灭）。标记探针的碱基序列如前所述，可以根据检测目标的多态性而适当选择。

前述标记探针的添加时机没有特别限定，例如，可以在后

述的核酸扩增反应后添加到PCR扩增产物中，也可以在核酸扩增反应之前添加。这样在PCR等核酸扩增反应前添加前述标记探针时，例如，如前所述，优选在探针的3'末端上添加荧光色素或添加磷酸基。

前述标记探针可以添加于含有分离的基因组DNA的试样，也可以在溶剂中与基因组DNA混合。作为前述溶剂，没有特别限定，例如，可以例举Tris-HCl等缓冲液，含有KCl、MgCl₂、MgSO₄、丙三醇等的溶剂，PCR用反应液等核酸扩增用反应液这些以往公知的溶剂。

接着，以分离的基因组DNA作为模板，在前述标记探针的存在下，通过PCR等核酸扩增法，对含有发生检测目标多态性的检测对象位点的序列进行扩增。以下，作为核酸扩增法，以PCR为例，对本发明进行说明，但不限于此。而且，PCR的条件没有特别限定，可以通过以往公知的方法进行。

具体而言，对含有前述基因组DNA和前述标记探针的前述反应液进行PCR。该反应液的组成没有特别限定，只要是本领域技术人员即可适当设定，例如，除了前述基因组DNA和前述标记探针外，还可以列举DNA聚合酶等聚合酶、dATP、dTTP、dCTP、dGTP及dUTP等dNTP、缓冲液、各种催化剂、引物等。

然后，进行获得的扩增产物（双链DNA）的解离以及使通过解离获得的单链DNA与前述标记探针杂交。例如，其可以根据前述反应液的温度变化而进行。

前述双链DNA的解离可以通过例如加热来进行。该解离工序中的加热温度只要为前述扩增产物可以解离的温度即可，没有特别限定，例如为85~95℃。加热时间也没有特别限定，通常是1秒~10分钟，优选为1秒~5分钟。

另外，解离的单链DNA与前述标记探针的杂交，例如，可

以在前述解离工序后通过使前述解离工序中的加热温度下降而进行。该杂交工序中的温度条件没有特别限定，但优选比前述标记探针的 T_m 值更低的温度，例如为 $40 \sim 50^\circ\text{C}$ 。而且，前述温度下的处理时间没有特别限定，例如为 $1 \sim 600$ 秒。

杂交工序中，前述反应液的各组成的体积和浓度没有特别限定。作为具体例子，前述反应液中的DNA的浓度是例如为 $0.01 \sim 1\mu\text{mol/L}$ ，优选为 $0.1 \sim 0.5\mu\text{mol/L}$ ，前述标记探针的浓度，例如，优选满足前述的DNA的添加比例的范围，例如为 $0.001 \sim 10\mu\text{mol/L}$ ，优选为 $0.001 \sim 1\mu\text{mol/L}$ 。

然后，改变前述反应液的温度，测定显示前述扩增产物（前述单链DNA）和前述标记探针的杂交产物的熔解状态的信号值。具体而言，例如，通过加热前述反应液而加热前述单链DNA和前述标记探针的杂交产物，测定伴随温度上升的信号值的变动。如前所述，例如，在使用末端的胞嘧啶被标记的探针（鸟嘌呤猝灭探针）时，在与单链DNA杂交的状态下荧光减少（或猝灭），在解离的状态下发出荧光。因此，例如，可以缓慢加热荧光减少（或猝灭）的杂交产物，测定伴随温度上升的荧光强度的增加即可。

测定荧光强度的变动时的温度范围没有特别限定，例如，开始温度为室温 $\sim 85^\circ\text{C}$ ，优选为 $25 \sim 70^\circ\text{C}$ ，例如，终止温度为 $40 \sim 105^\circ\text{C}$ 。而且，温度的上升速度没有特别限定，例如为 $0.1 \sim 20^\circ\text{C/秒}$ ，优选为 $0.3 \sim 5^\circ\text{C/秒}$ 。

使用两种以上的标记探针来检测两种以上的多态性时，只要在适应于各标记探针的标记物质的条件下，基于各标记探针测定信号变动即可。

然后，分析前述信号的变动，确定 T_m 值。具体而言，例如，根据获得的荧光强度计算各温度下每单位时间的荧光强度变化

量。变化量为 ($-d$ 荧光强度增加量/ dt) 时, 例如, 可以将显示最低值的温度确定为 T_m 值。而且, 变化量为 (d 荧光强度增加量/ dt) 时, 例如, 可以将最高点确定为 T_m 值。此外, 作为标记探针, 不使用猝灭探针而使用单独不显示信号但由于形成杂交体而显示信号的探针时, 相反地测定荧光强度的减少量即可。

并且, 根据这些 T_m 值, 确定目标检测对象位点的多态性(基因型)。在 T_m 分析中, 例如可获得这样的结果: 完全互补的杂交体(匹配)与一个碱基不同的杂交体(错配)相比, 表示解离的 T_m 值要高。因此, 通过预先确定前述探针的完全互补的杂交体的 T_m 值和一个碱基不同的杂交体的 T_m 值, 可以确定目标检测对象位点的多态性。例如, 目标检测对象位点的多态性为 X 或 Y 时, 使用与检测对象位点为 X 的检测对象序列完全互补的探针时, 形成的杂交体的 T_m 值若与完全互补的杂交体的 T_m 值相同, 则可以判断检测对象位点的碱基为 X。另外, 如果形成的杂交体的 T_m 值与一个碱基不同的杂交体的 T_m 值相同, 或比完全互补的杂交体的 T_m 值低, 则可以判断检测对象位点的碱基为 Y。

另外, 在本发明中, 代替如前所述的使前述反应液的温度上升以加热杂交产物来测定伴随温度上升的信号变动的方法, 例如, 可以进行杂交体形成时的信号变动的测定。也就是说, 可以在使含有前述探针的反应液的温度下降以形成杂交产物时, 测定伴随前述温度下降的信号变动。

作为具体例子, 就使用单独显示信号且由于形成杂交体而不显示信号的标记探针(例如、QProbe)的情况进行说明。在单链DNA与探针解离的状态下发出荧光, 但随温度下降而形成杂交体时, 前述荧光则减少(或猝灭)。因此, 例如, 可以使前述反应液的温度缓慢下降, 测定伴随温度下降的荧光强度的减

少即可。另一方面，使用单独不显示信号但由于形成杂交体而显示信号的标记探针时，在单链DNA与探针解离的状态下不发出荧光，但由于温度下降而形成杂交体时，则发出荧光。因此，例如，可以使前述反应液的温度缓慢下降，测定伴随温度下降的荧光强度的增加即可。

<多态性检测用试剂>

本发明的多态性检测用试剂，其特征在于，其是用于检测免疫相关基因的多态性的多态性检测用试剂，含有本发明的多态性检测用探针。本发明的特征在于含有前述的本发明的多态性检测用探针，其它构成和条件没有任何限制。而且，本发明的多态性检测用试剂，例如，也可以称为用于免疫相关基因的多态性的检测的探针试剂盒。

在本发明的多态性检测用试剂中，本发明的多态性检测用探针可以为一种也可以为两种以上。探针为两种以上时，其组合没有特别限定，例如可以例举前述那样的组合。另外，两种以上的探针例如可以分别收纳于容器中，而且如前所述，由于能够进行同一反应体系中的多态性的检测，因此也可以以混合状态收纳于同一容器中。而且，含有两种以上的探针时，各探针优选被不同标记物质标记。通过这样改变标记物质的种类，即使是同一反应体系，也可以进行各个探针的检测。作为前述标记物质，例如优选为检测波长不同的物质。

据报道，如前所述免疫相关基因FCGR3A基因、FCGR2A基因、IL-10基因、TNF α 基因及TNF β 基因中，例如分别存在与商品名Rituxan等恶性淋巴瘤治疗药、商品名Herceptin等乳腺癌治疗药（例如，商品名Herceptin）等抗体药物的药效相关的多态性。而且，根据本发明的探针，可以分别检测这些多态性。另外，对于这些多态性，例如存在只检测到某一个种类的突变

型的情况，但也存在检测到多种突变型的情况。本发明中作为检测目标的各多态性，分别显示了与前述抗体药物的药效之间的关系，可认为分别显示出特有的特征。因此，例如，检测多个多态性，通过综合判断这些结果，可以进行更好的诊断和治疗。因此，通过使本发明的多态性检测试剂或探针试剂盒中含有两种以上的本发明的探针，可以更简便地进行用于诊断和治疗等的多态性检测。

本发明的检测用试剂还可以进一步含有用于扩增含有免疫相关基因中的检测目标位点的区域的引物或引物对。作为引物对，例如，根据使用的本发明的探针的种类，可以例举如前所述的引物对。具体而言，优选分别含有FCGR3A探针和FCGR3A引物对、FCGR2A探针和FCGR2A引物对、IL-10(-592)探针和IL-10(-592)引物对、IL-10(-819)探针和IL-10(-819)引物对、IL-10(-1082)探针和IL-10(-1082)引物对、IL-10(-3575)探针和IL-10(-3575)引物对、TNF α 探针和TNF α 引物对、TNF β 探针和TNF β 引物对的组合。

本发明的探针的组合没有特别限定，例如可以例举如前所述的例子。而且，就引物或引物对的组合而言，也可以根据本发明的探针的组合来确定。

本发明的检测用试剂，除此之外例如还可以含有核酸扩增反应所必需的成分。作为具体例子，例如可以例举DNA聚合酶等聚合酶、dATP、dTTP、dCTP、dGTP及dUTP等dNTP、缓冲液、各种催化剂等。而且，本发明的检测用试剂可以是检测试剂试剂盒，还可以进一步含有使用说明书。

接着，就本发明的实施例进行说明。但是，本发明并不限于下述实施例。而且，%表示w/v%。

实施例

[实施例1]

FCGR3A多态性及IL-10 (-819) 多态性的检测

使用本发明的探针，通过Tm分析，检测FCGR3A多态性和IL-10 (-819) 多态性。

从FCGR3A多态性和IL-10 (-819) 多态性为已知的3名健康者中，通过EDTA采血管采集血液（试样1~试样3）。各试样的FCGR3A多态性和IL-10 (-819) 多态性分别如下。

	<u>FCGR3A多态性</u>	<u>IL-10 (-819) 多态性</u>
试样1	T/T	C/C
试样2	G/T	T/C
试样3	T/T	T/T

将前述各试样10 μ L与70 μ L下述试样稀释液1混合，将混合液10 μ L再与70 μ L下述试样稀释液2混合。将该混合液17 μ L于95 $^{\circ}$ C加热10分钟后，添加到46 μ L下述PCR反应液中进行PCR。前述PCR，通过热循环仪于95 $^{\circ}$ C处理60秒后，以95 $^{\circ}$ C下1秒和62 $^{\circ}$ C下15秒作为1个循环，重复进行50个循环，再进行95 $^{\circ}$ C下1秒、40 $^{\circ}$ C下60秒的处理。然后，继续将温度上升速度设为1 $^{\circ}$ C/3秒，使前述PCR反应液由40 $^{\circ}$ C逐渐加热到75 $^{\circ}$ C，测定经时的荧光强度的变化（波长515~555nm、585~700nm）。

（试样稀释液1）

10mmol/L	Tris-HCl
0.1mmol/L	EDTA
0.05%	NaN ₃
0.3%	SDS

（试样稀释液2）

10mmol/L	Tris-HCl
0.1mmol/L	EDTA

0.05%	NaN ₃	
[表 17]		
(PCR反应液: 单位 μL)		
蒸馏水		28.02
10% NaN ₃		0.23
20% BSA		0.5
50% 丙三醇		2.5
10×Gene Taq缓冲液*		5
2.5mmol/L dNTPs		4
5 μmol/L FCGR3A探针		2
100 μmol/L FCGR3A F引物		0.5
100 μmol/L FCGR3A R引物		0.25
5 μmol/L IL-10 (-819) 探针		2
100 μmol/L IL-10 (-819) F引物		0.5
100 μmol/L IL-10 (-819) R引物		0.25
<u>5U/μL Gene Taq FP*</u>		<u>0.25</u>

总计 46 μL

* 商品名 Gene Taq FP: NIPPON GENE公司制

FCGR3A探针 (序列号14)

5'-tcccaaAaagcccc- (BODIPY FL) -3'

FCGR3A F引物 (序列号77)

5'-tctgacttctacattccaaaagccacactcaaagac-3'

FCGR3A R引物 (序列号97)

5'-ctctcccactcaacttcccagtgat-3'

IL-10 (-819) 探针 (序列号36)

5'-acagagatGttacatcacc- (TAMRA) -3'

IL-10 (-819) F引物 (序列号182)

5'-tgctggagatggtgtacagtaggggtgagg-3'

IL-10 (-819) R引物 (序列号198)

5'-caccatgaccctaccgtctctatatttatagtgagc-3'

这些结果示于图1。图1为表示伴随温度上升的荧光强度变化的T_m分析图。在图1中，(A)为试样1的结果，(B)为试样2的结果，(C)为试样3的结果，上面部分表示FCGR3A多态性的结果，下面部分表示IL-10 (-819)多态性的结果。

本实施例中，使用与有义链的FCGR3A多态性(t)完全匹配的探针作为FCGR3A探针，使用与有义链的IL-10 (-819)多态性(c)完全匹配的探针作为IL-10 (-819)探针。其结果是，在FCGR3A多态性的检测中，如图1的上部分所示，纯合体(T/T)的试样1和3仅在表示完全匹配的57.0℃处出现峰。另一方面，杂合体(G/T)的试样2在表示完全匹配的57.0℃和表示1个碱基错配的48.0℃处出现峰。而且，在IL-10 (-819)多态性的检测中，如图1的下面部分所示，纯合体(C/C)的试样1仅在表示完全匹配的59.0℃处出现峰，纯合体(T/T)的试样3仅在表示错配的52.5℃出现峰。另一方面，杂合体(T/C)的试样2在表示完全匹配的59.0℃和表示1个碱基错配的52.5℃出现峰。根据此结果可知，通过本发明的探针可以充分判断与检测对象序列杂交的是完全匹配还是错配，而且可以在一个反应体系中判断两种多态性。

[实施例2]

FCGR2A多态性、IL-10 (-592)多态性和TNF α 多态性的检测

使用本发明的探针，通过T_m分析，检测FCGR2A多态性、IL-10 (-592)多态性和TNF α (-308)多态性。

从FCGR2A多态性、IL-10 (-592)多态性及TNF α (-308)

多态性为已知的1名健康者中，通过EDTA采血管采集血液（试样1）。并且，准备具有TNF α （-308）多态性为纯合体（A/A）的TNF α 基因的质粒（试样2）。各试样的FCGR2A多态性、IL-10（-592）多态性及TNF α （-308）多态性如下。

	<u>FCGR2A多态性</u>	<u>IL-10（-592）多态性</u>	<u>TNFα多态性</u>
试样1	C/T	C/A	G/G
试样2	-	-	A/A

将10 μ L的试样1与70 μ L的前述试样稀释液1混合，将混合液10 μ L再与70 μ L前述试样稀释液2混合。将该混合液17 μ L于95 $^{\circ}$ C加热10分钟后，添加到46 μ L下述PCR反应液中进行PCR。另一方面，将1 μ L的试样2（3.5pg）添加到46 μ L下述PCR反应液中进行PCR。前述PCR，通过热循环仪于95 $^{\circ}$ C处理60秒后，以95 $^{\circ}$ C下1秒和62 $^{\circ}$ C下15秒作为1个循环，重复进行50个循环，再进行95 $^{\circ}$ C下1秒、40 $^{\circ}$ C下60秒的处理。而且，继续将温度上升速度设为1 $^{\circ}$ C/3秒，将前述PCR反应液由40 $^{\circ}$ C逐渐加热到75 $^{\circ}$ C，测定经时的荧光强度的变化（波长450~480nm、515~555nm、585~700nm）。

[表18]

（PCR反应液：单位 μ L）

蒸馏水	17.77
10% NaN ₃	0.23
20% BSA	0.5
50% 丙三醇	10
10 \times Gene Taq缓冲液*	5
2.5mmol/L dNTPs	4
5 μ mol/L IL-10（-592）探针	2
100 μ mol/L IL-10（-592）F引物	0.5

100 μ mol/L IL-10 (-592) R引物	0.25
5 μ mol/L FCGR2A探针	2
100 μ mol/L FCGR2A F引物	0.25
100 μ mol/L FCGR2A R引物	0.5
5 μ mol/L TNF α (-308) 探针	2
100 μ mol/L TNF α (-308) F引物	0.5
100 μ mol/L TNF α (-308) R引物	0.25
<u>5U/μL Gene Taq FP*</u>	<u>0.25</u>

总计 46 μ L

* 商品名 Gene Taq FP: NIPPON GENE公司制

IL-10 (-592) 探针 (序列号30)

5'- (Pacific Blue) -cttcctacagTacaggcg-P-3'

IL-10 (-592) F引物 (序列号148)

5'-ggtaaaggagcctggaacacatcctgtgac-3'

IL-10 (-592) R引物 (序列号167)

5'-agcccttccattttactttccagagactggc-3'

FCGR2A探针 (序列号23)

5'-ttctcccAttggateccc- (BODIPY FL) -3'

FCGR2A F引物 (序列号132)

5'-ctgtggtttgcttgtgggatggagaagg-3'

FCGR2A R引物 (序列号38)

5'-aggtcacattcttccagaatggaaaatcccagaaattc-3'

TNF α (-308) 探针 (序列号64)

5'-ccgtccCcatgccc- (TAMRA) -3'

TNF α (-308) F引物 (序列号277)

5'-cctggtcccccAAAagaaatggaggcaatagg-3'

TNF α (-308) R引物 (序列号293)

5'-ccactgactgatttgtgtgtaggaccctgg-3'

这些结果示于图2。图2为表示伴随温度上升的荧光强度变化的T_m分析图。在图2中，(A)为试样1的结果，(B)为试样2的结果，上面部分表示IL-10(-592)多态性的结果，中间部分表示FCGR2A多态性的结果，下面部分表示TNF α (-308)多态性的结果。

本实施例中，使用与有义链IL-10(-592)多态性(a)完全匹配的探针作为IL-10(-592)探针，使用与有义链FCGR2A多态性(t)完全匹配的探针作为FCGR2A探针，使用与有义链TNF α (-308)多态性(g)完全匹配的探针作为TNF α (-308)探针。其结果是，在IL-10(-592)多态性的检测中，如图2的上面部分所示，杂合体(C/A)的试样1在表示完全匹配的58.0℃和表示1个碱基错配的50.0℃处出现峰。而且，在FCGR2A多态性的检测中，如图2的中间部分所示，杂合体(C/T)的试样1在表示完全匹配的57.0℃和表示1个碱基错配的48.0℃处出现峰。而且，在TNF α (-308)多态性的检测中，如图2的下面部分所示，纯合体(G/G)的试样1仅在表示完全匹配的61.0℃处出现峰，纯合体(A/A)的试样2仅在表示1个碱基错配的49.0℃处出现峰。根据此结果可知，通过本发明的探针可以充分判断与检测对象序列杂交的是完全匹配还是错配，而且可以在一个反应体系中判断三种多态性。

[实施例3]

IL-10(-1082)多态性及IL-10(-3575)多态性的检测

使用本发明的探针，通过T_m分析，检测IL-10(-1082)多态性及IL-10(-3575)多态性。

从IL-10(-1082)多态性及IL-10(-3575)多态性为已知的1名健康者中，通过EDTA采血管采集血液(试样1)。并且，使

用商品名 GFX Genomic Blood DNA Purification kit (GE Healthcare Bio-Science社制), 纯化IL-10(-1082)多态性和IL-10(-3575)多态性为已知的基因组, 将其稀释10倍作为试样2。而且, 准备IL-10(-3575)多态性为纯合体(A/A)的合成DNA(试样3)。各试样的IL-10(-1082)多态性及IL-10(-3575)多态性分别如下。

	IL-10	
	<u>(-1082) 多态性</u>	<u>(-3575) 多态性</u>
试样1	A/A	T/T
试样2	A/G	T/T
试样3	-	A/A

将10 μ L的试样1与70 μ L的前述试样稀释液1混合, 将混合液10 μ L再与70 μ L前述试样稀释液2混合。将该混合液17 μ L于95 $^{\circ}$ C加热10分钟后, 添加到46 μ L下述PCR反应液中进行PCR。另一方面, 将1 μ L的试样2或1 μ L的试样3(3.5pg)分别添加到46 μ L下述PCR反应液中, 进行PCR。前述PCR反应, 通过热循环仪于95 $^{\circ}$ C处理60秒后, 以95 $^{\circ}$ C下1秒及64 $^{\circ}$ C下15秒作为一个循环, 重复进行50个循环, 再进行95 $^{\circ}$ C下1秒、40 $^{\circ}$ C下60秒的处理。而且, 继续将温度上升速度设为1 $^{\circ}$ C/3秒, 将前述PCR反应液由40 $^{\circ}$ C逐渐加热到75 $^{\circ}$ C, 测定经时的荧光强度的变化(波长515~555nm、585~700nm)。

[表19]

(PCR反应液: 单位 μ L)

蒸馏水	20.27
10% NaN ₃	0.23
20% BSA	0.5
50% 丙三醇	10

10×Gene Taq缓冲液*	5
2.5mmol/L dNTPs	4
100mmol/L MgCl ₂	0.25
5μmol/L IL-10 (-1082) 探针	2
100μmol/L IL-10 (-1082) F引物	0.5
100μmol/L IL-10 (-1082) R引物	0.25
5μmol/L IL-10 (-3757) 探针	2
100μmol/L IL-10 (-3757) F引物	0.25
100μmol/L IL-10 (-3757) R引物	0.5
<u>5U/μL Gene Taq FP*</u>	<u>0.25</u>

总计 46μL

* 商品名 Gene Taq FP: NIPPON GENE公司制

IL-10 (-1082) 探针 (序列号47)

5'-(BODIPY FL)-ccctacttccccCtccc-P-3'

IL-10 (-1082) F引物 (序列号213)

5'-ccgcaaccaactggctctccttac-3'

IL-10 (-1082) R引物 (序列号227)

5'-ggattccatggaggctggataggaggtcc-3'

IL-10 (-3575) 探针 (序列号57)

5'-(TAMRA)-cccactggaaaaatTcattt-P-3'

IL-10 (-3575) F引物 (序列号244)

5'-ggatggaagaagagaggtattccccttcccac-3'

IL-10 (-3575) R引物 (序列号260)

5'-ccagtttgccctcaagcccagatgc-3'

这些结果示于图3。图3为表示伴随温度上升的荧光强度变化的T_m分析图。在图3中，(A)为试样1的结果，(B)为试样2的结果，(C)为试样3的结果，上面部分表示IL-10 (-1082)多

态性的结果，下面部分表示IL-10 (-3575)多态性的结果。

本实施例中，使用与有义链的IL-10 (-1082)多态性 (g)完全匹配的探针作为IL-10(-1082)探针。使用与反义链的IL-10 (-3575)多态性 (a)完全匹配的探针作为IL-10 (-3575)探针。这或与有义链的IL-10 (-3575)多态性 (t)完全匹配的含义相同。其结果是，在IL-10 (-1082)多态性的检测中，如图3的上面部分所示，纯合体 (A/A)的试样1仅在表示错配的49.0℃处出现峰，另一方面，杂合体 (A/G)的试样2在表示完全匹配的60.0℃和表示1个碱基错配的49.0℃处出现峰。而且，在IL-10 (-3575)多态性的检测中，如图3的下面部分所示，纯合体 (T/T)的试样1及2仅在表示完全匹配的56.0℃处出现峰，纯合体 (A/A)的试样3仅在表示错配的49.0℃处出现峰。根据此结果可知，通过本发明的探针可以充分判断与检测对象序列杂交的是完全匹配还是错配，而且可以在一个反应体系中判断两种多态性。

根据以上结果可知，通过本发明的探针可以充分判断与检测对象序列杂交的是完全匹配还是错配。因此，根据本发明，例如，可以高精度地判断检测目标位点是多态性 (X)还是多态性 (Y)。而且，由于这样可以判断完全匹配和错配，因此例如可以判断出检测目标的多态性是纯合体 (X/X或Y/Y)还是杂合体 (X/Y)，进而还可以判断是X/X的纯合体还是Y/Y的纯合体。另外，还可以在一个反应体系中判断两种以上的多态性。

产业上的可利用性

如上所述，根据本发明，就免疫相关基因FCGR3A基因、FCGR2A基因、IL-10基因、TNF α 基因及TNF β 基因而言，即使为仅一个碱基不同的多态性也可以判断。因此，例如通过在Tm分析等中使用本发明的探针，可以简便地检测多态性。而且，根据本发明，即使使两种以上的探针共存于一个反应体系中，

也可以判断其分别对应的基因的多态性。因此，可以使用一个反应体系进行多个多态性的检测。这样一来，根据本发明可以容易地判断免疫相关基因的多态性，例如，还可以将检测结果反映到前述那样的抗体药物的治疗给药中。因此，可以说本发明在医疗领域等方面极为有用。

<110> 爱科来株式会社 (ARKRAY Inc.)

<120> 免疫相关基因的多态性的检测用探针及其用途

<130> TF08021-01

<150> JP 2007-263713

<151> 2007-10-09

<160> 349

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 401

<212> DNA

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 1

tgttgctcca ggcccctcgg tgggtgttca aggaggaaga ccctattcac ctgaggtgtc 60

acagctggaa gaacctgct ctgcataagg tccatattt acagaatggc aaagcagga 120

agtattttca tcataattct gacttctaca ttccaaaagc cacactcaa gacagcggct 180

cctacttctg caggggctt kttgggagta aaaatgtgtc ttcagagact gtgaacatca 240

ccatcactca aggtgagaca tgtgccacc tggaatgcc agggacgcct gtgtgtggaa 300

cctgcaatca cactgggaag ttgagttggg aggagattcc tgattcttac acgcacttet 360

tcatatgtgg ttcctcctg gtgatcacca ggaggtcccc a 401

<210> 2

<211> 501

<212> DNA

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 2

acctccatgt aggcccatgt gacctcagcc cttgtccatc ccctcttctc ccctccctac 60

atcttggcag actccccata ccttggacag tgatggtcac aggcttggat gagaacagcg	120
tgtagcctat gtttctgtg cagtggtaat caccactgtg actgtggttt gcttgtggga	180
tggagaaggt gggatccaaa ygggagaatt tctgggattt tccattctgg aagaatgtga	240
ccttgaccag aggcttgtcc ttccagctgt ggcacctcag catgatggtt tctccctcct	300
ggaactccag gtgaggggtc tggagcacca gccattctga aagacacaaa tatgataaga	360
aaaagttgta aggatagatt ccaagggttt ttcagtctca gaggtacgtt actcacagaa	420
cttgacatga tgtctggcag acagaaatga agatgcttca tgacagatgt gagcattctc	480
ttataggcaa tatatggtat t	501

<210> 3

<211> 601

<212> DNA

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 3

gagatggtgt acagtagggt gaggaaacca aattctcagt tggcactggt gtacccttgt	60
acaggtgatg taacatctct gtgcctcagt ttgctcacta taaaatagag acggtagggg	120
tcatggtgag cactacctga ctagcatata agaagctttc agcaagtga gactactctt	180
accacattcc cccaagcaca gttgggggtgg gggacagctg aagagggtga aacatgtgcc	240
tgagaatcct aatgaaatcg gggtaaagga gcctggaaca catcctgtga ccccgctgt	300
mctgtaggaa gccagtctct ggaaagtaa atggaagggc tgcttgggaa ctttgaggat	360
atthagccca cccctcatt tttacttggg gaaactaagg cccagagacc taagtgact	420
gcctaagtta gcaaggagaa gtcttgggta ttcattccag gttgggggga cccaattatt	480
tctcaatccc attgtattct ggaatgggca atttgtccac gtcactgtga cctaggaaca	540
cgcgaatgag aaccacagc tgagggcctc tgcgcacaga acagctgttc tccccaggaa	600
a	601

<210> 4
 <211> 801
 <212> DNA
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 4
 ccttccccag gtagagcaac actcctcgcc gcaacccaac tggctcccet taccttctac 60
 acacacacac acacacacac acacacacac acacacacac acaaatcaa gacaacacta 120
 ctaaggcttc ttgggaagg ggaagtaggg ataggtaaga ggaaagtaag ggacctccta 180
 tccagcctcc atggaatcct gacttctttt ccttgttatt tcaacttctt ccacccatc 240
 ttttaaactt tagactccag ccacagaagc ttacaactaa aagaaactct aaggccaatt 300
 taatccaagg ttccattcta tgtgctggag atgggtgaca gtagggtgag gaaaccaaat 360
 tctcagttgg cactgggtga cccttgtaga ggtgatgtaa yatctctgtg cctcagtttg 420
 ctactataa aatagagacg gtaggggtca tggtagcac tacctgacta gcatataaga 480
 agctttcagc aagtgcagac tactcttacc cacttcccc aagcacagtt ggggtggggg 540
 acagctgaag aggtggaac atgtgcctga gaatcctaata gaaatcgggg taaaggagcc 600
 tggaacacat cctgtgacc cgcctgtact gtaggaagcc agtctctgga aagtaaaatg 660
 gaagggtgc ttgggaactt tgaggatatt tagcccacc cctcattttt acttggggaa 720
 actaaggccc agagacctaa ggtgactgcc taagttagca aggagaagtc ttgggtattc 780
 atcccaggtt ggggggacc a 801

<210> 5
 <211> 913
 <212> DNA
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<220>
 <221> misc_feature

<222> (800)..(899)

<223> n 表示任意碱基

<220>

<221> misc_feature

<222> (226)..(227)

<223> n 表示任意碱基

<400> 5

```
tcaatgctcc ctggcaggca ggaggacagg tgctattgcc ctggtgggac agatgaaaaa    60
cagacacagg gaggatgagt gatttgcctt gactatagag tggcagggcc aaggcagagc    120
ccaggcctcc tgcacctagg tcagtgttcc tcccagttac agtctaaact ggaatggcag    180
gcaaagcccc tgtggaaggg gaaggtgaag ctcaaatcaa agctcnncca gagactttcc    240
agatatctga agaagtcctg atgtcactgc cccggtcctt cccaggtag agcaaacctc    300
ctcgcgcaa cccaactggc tctccttact ttctacacac acacacacac acacacacac    360
acacacacac acacacacaa atccaagaca aactactaa ggcttctttg ggarggggaa    420
gtagggatag gtaagaggaa agtaagggac ctctatcca gcctccatgg aatcctgact    480
tcttttcctt gttatttcaa cttcttccac cccatctttt aaactttaga ctccagccac    540
agaagcttac aactaaaaga aactctaagg ccaatttaat ccaaggtttc attctatgtg    600
ctggagatgg tgtacagtag ggtgaggaaa ccaattctc agttggcact ggtgtaccct    660
tgtacaggtg atgtaatatc tctgtgcctc agtttgctca ctataaata gagacggtag    720
gggtcatggt gagcactacc tgactagcat ataagaagtt tcagcaagtg ggggatcctc    780
tagagtcgcg acctcagcan nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn    840
nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnnn nnnnnnnnng    900
gattttggat tca                                                    913
```

<210> 6
 <211> 465
 <212> DNA
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 6
 gagtgagaca gaaaataaaa tacaaccccc tctttaawa gccatgctta ctcaggtttt 60
 cttcatttg cagctaaata cagaaatgag agaataat tttt ggagcagga tggaagaaga 120
 gaggtattcc ccttcccaca awcttctgat ttcccagtac atccccact ggaaaaatwc 180
 atttaaaatc agtataataa gcattgattr gatgcctact atgcatctgg gcttgagggc 240
 aaactggact caggcctttt ggctcaaga agctcacagt gtgagagtgg catttgtgtc 300
 ctcttgaat tcacaggact aaattgtgcc caggctgaca ttctatccat ccataggtgc 360
 ctgccttctc acttccctct ctcatgggc tcttgcttg taccaaaatc caaacccaaa 420
 tctcctcaca tgtgagtgtt ggcattcatg tctcagacat gacct 465

<210> 7
 <211> 801
 <212> DNA
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 7
 ttccttgaa gccaaactg aaaccagcat tatgagtctc cgggtcagaa tgaaagaaga 60
 aggcctgccc cagtggggtc tgtgaattcc cgggggtgat ttactcccc ggggctgtcc 120
 caggettgtc cctgtaccc ccaccagcc tttcctgagg cctcaagcct gccaccaagc 180
 ccccagctcc ttctccccgc agggacccaa acacaggcct caggactcaa cacagctttt 240
 ccctccaacc cgttttctc tccctcaagg actcagcttt ctgaagcccc tcccagttct 300
 agttctatct tttcctgca tctgtctgg aagttagaag gaaacagacc acagacctgg 360
 tccccaaaag aatggaggc aataggtttt gagggcatg rggacgggt tcagcctcca 420
 gggctctaca cacaaatcag tcagtggccc agaagacccc cctcggaatc ggagcagga 480

ggatggggag tgtgaggggt atccttgatg ctgtgtgtc cccaacttc caaatcccc 540
 cccccgat ggagaagaaa ccgagacaga aggtgcaggg ccactaccg ctctctccag 600
 atgagctcat gggtttctcc accaaggaag tttccgctg gttgaatgat tctttcccc 660
 ccctctctc gccccagga catataaagg cagttgttg cacaccagc cagcagacgc 720
 tcctcagca aggacagcag aggaccagct aagagggaga gaagcaacta cagaccccc 780
 ctgaaaacaa ccctcagacg c 801

<210> 8
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 8
 tttactccc aaaagcccc c 21

<210> 9
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 9
 ttactccca aaaagcccc 20

<210> 10
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 10

ttactcccaa aaagcccc

19

<210> 11

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 11

tactccaaa aagcccc

18

<210> 12

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 12

actccaaaa agcccc

17

<210> 13

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 13

ctccaaaaa gcccc

16

<210> 14

<211> 15

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 探针	
<400> 14	
tcccaaaaag ccccc	15
<210> 15	
<211> 14	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 探针	
<400> 15	
ccccaaaagc cccc	14
<210> 16	
<211> 13	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 探针	
<400> 16	
ccaaaagcc ccc	13
<210> 17	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 探针	
<400> 17	
cagaaattct cccatttga tccc	24

<210> 18
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 18
 agaaattctc ccatttggat ccc 23

<210> 19
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 19
 gaaattctcc catttggatc cc 22

<210> 20
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 20
 aaattctccc atttggatcc c 21

<210> 21
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 21

aattctccca ttggatccc

20

<210> 22

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 22

attctcccat ttggatccc

19

<210> 23

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 23

ttctcccatt tggatccc

18

<210> 24

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 24

tctcccattt ggatccc

17

<210> 25

<211> 16

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 探针	
<400> 25	
ctcccatttg gatccc	16
<210> 26	
<211> 15	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 探针	
<400> 26	
tcccatttgg atccc	15
<210> 27	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 探针	
<400> 27	
cttcctacag tacaggcggg g	21
<210> 28	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 探针	
<400> 28	
cttcctacag tacaggcggg	20

<210> 29
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 29
cttctacag tacaggcgg 19

<210> 30
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 30
cttctacag tacaggcg 18

<210> 31
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 31
cttctacag tacaggc 17

<210> 32
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 32

cttcctacag tacagg

16

<210> 33

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 33

ggcacagaga tgttacatca cc

22

<210> 34

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 34

gcacagagat gttacatcac c

21

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 35

cacagagatg ttacatcacc

20

<210> 36

<211> 19

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 36
acagagatgt tacatcacc 19

<210> 37
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 37
cagagatggtt acatcacc 18

<210> 38
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 38
agagatgtta catcacc 17

<210> 39
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 39
gagatgttac atcacc 16

<210> 40
 <211> 24
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 40
 ccctacttcc ccctcccaaa gaag 24

<210> 41
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 41
 ccctacttcc ccctcccaaa gaa 23

<210> 42
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 42
 ccctacttcc ccctcccaaa ga 22

<210> 43
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 43

ccctacttcc ccctccc aaa g

21

<210> 44

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 44

ccctacttcc ccctccc aaa

20

<210> 45

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 45

ccctacttcc ccctccc aa

19

<210> 46

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 46

ccctacttcc ccctccc a

18

<210> 47

<211> 17

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 47
ccctacttcc ccctccc

17

<210> 48
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 48
ccctacttcc ccctccc

16

<210> 49
<211> 15
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 49
ccctacttcc ccctc

15

<210> 50
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 50
cccactggaa aaattcattt aaaatca

27

<210> 51
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 51
cccactggaa aaattcattt aaaatc

26

<210> 52
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 52
cccactggaa aaattcattt aaaat

25

<210> 53
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 53
cccactggaa aaattcattt aaaa

24

<210> 54
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 54

cccactggaa aaattcattt aaa

23

<210> 55

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 55

cccactggaa aaattcattt aa

22

<210> 56

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 56

cccactggaa aaattcattt a

21

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 57

cccactggaa aaattcattt

20

<210> 58

<211> 19

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 58
cccactggaa aaattcatt 19

<210> 59
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 59
cccactggaa aaattcat 18

<210> 60
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 60
cccactggaa aaattca 17

<210> 61
<211> 16
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 61
cccactggaa aaattc 16

<210> 62
 <211> 16
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 62
 ccccgctcccc atgccc

16

<210> 63
 <211> 15
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 63
 cccgtccccca tgccc

15

<210> 64
 <211> 14
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 探针

<400> 64
 ccgtccccat gccc

14

<210> 65
 <211> 13
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 65

cgtcccatg ccc

13

<210> 66

<211> 12

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针

<400> 66

gtcccatgc cc

12

<210> 67

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 67

tcatcataat tctgacttct acattcctaaa agccacactc aaagac

46

<210> 68

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 68

catcataatt ctgacttcta cattcctaaa gccacactca aaagac

45

<210> 69

<211> 44

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 69	
atcataattc tgacttctac attccaaaag ccacactcaa agac	44
<210> 70	
<211> 43	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 70	
tcataattct gacttctaca ttccaaaagc cacactcaa gac	43
<210> 71	
<211> 42	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 71	
cataattctg acttctacat tccaaaagcc acactcaaag ac	42
<210> 72	
<211> 41	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 72	
ataattctga ctctacatt caaaagcca cactcaaaga c	41

<210> 73
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 73
 taattctgac ttctacattc caaaagccac actcaaagac 40

<210> 74
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 74
 aattctgact ttctacattcc aaaagccaca ctcaaagac 39

<210> 75
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 75
 attctgactt ctacattcca aaagccacac tcaaagac 38

<210> 76
 <211> 37
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 76

ttctgacttc tacattccaa aagccacact caaagac

37

<210> 77

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 77

tctgacttct acattccaaa agccacactc aaagac

36

<210> 78

<211> 35

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 78

ctgacttcta cattccaaaa gccacactca aagac

35

<210> 79

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 79

tgacttctac attccaaaag ccacactcaa agac

34

<210> 80

<211> 33

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 80	
gacttctaca ttccaaaagc cacactcaaa gac	33
<210> 81	
<211> 32	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 81	
acttctacat tccaaaagcc acactcaaag ac	32
<210> 82	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 82	
cttctacatt ccaaagcca cactcaaaga c	31
<210> 83	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 83	
ttctacattc caaaagccac actcaaagac	30

<210> 84
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 84
tctacattcc aaaagccaca ctcaaagac

29

<210> 85
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 85
ctacattcca aaagccacac tcaaagac

28

<210> 86
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 86
tacattccaa aagccacact caaagac

27

<210> 87
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 87

aatcaggaat ctctcccaa ctcaacttcc cagtgtgat

39

<210> 88

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 88

atcaggaatc tcctcccaac tcaacttccc agtgtgat

38

<210> 89

<211> 37

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 89

tcaggaatct cctcccaact caacttccca gtgtgat

37

<210> 90

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 90

caggaatctc ctcccaactc aacttcccag tgtgat

36

<210> 91

<211> 35

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 91
aggaatctcc tccaactca acttcccagt gtgat 35

<210> 92
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 92
ggaatctcct cccaactcaa cttcccagtg tgat 34

<210> 93
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 93
gaatctctc ccaactcaac ttcccagtg gat 33

<210> 94
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 94
aatctctcc caactcaact tcccagtg at 32

<210> 95
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 95
atctcctccc aactcaactt cccagtgtga t

31

<210> 96
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 96
tctcctccca actcaacttc ccagtgtgat

30

<210> 97
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 97
ctcctcccaa ctcaacttcc cagtgtgat

29

<210> 98
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 98

tcttccaac tcaacttccc agtgtgat

28

<210> 99

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 99

cctccaact caacttcca gtgtgat

27

<210> 100

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 100

ctccaactc aacttcccag tgtgat

26

<210> 101

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 101

tccaactca acttcccagt gtgat

25

<210> 102

<211> 24

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 102	
cccaactcaa cttcccagtg tgat	24
<210> 103	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 103	
ccaactcaac ttcccagtg gat	23
<210> 104	
<211> 48	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 104	
cctctggtca aggtcacatt ctccagaat ggaaaatccc agaaattc	48
<210> 105	
<211> 47	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 105	
ctctggtcaa ggtcacattc ttccagaatg gaaaatccca gaaattc	47

<210> 106
<211> 46
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 106
tctggccaag gtcacattct tccagaatgg aaaatcccag aaattc

46

<210> 107
<211> 45
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 107
ctggccaagg tcacattctt ccagaatgga aaatcccaga aattc

45

<210> 108
<211> 44
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 108
tggccaaggt cacattcttc cagaatgga aatcccagaa attc

44

<210> 109
<211> 43
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 109

ggtcaaggtc acattcttcc agaatggaaa atcccagaaa ttc 43

<210> 110

<211> 42

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 110

gtcaaggtca cattcttcca gaatggaaaa tcccagaaat tc 42

<210> 111

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 111

tcaaggtcac attcttccag aatggaaaat cccagaaatt c 41

<210> 112

<211> 40

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 112

caaggtcaca ttcttccaga atggaaaatc ccagaaattc 40

<210> 113

<211> 39

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 113	
aaggtcacat tcttcagaa tggaaaatcc cagaaattc	39
<210> 114	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 114	
aggtcacatt ctccagaat ggaaaatccc agaaattc	38
<210> 115	
<211> 37	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 115	
ggtcacattc ttccagaatg gaaaatccca gaaattc	37
<210> 116	
<211> 36	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 116	
gtcacattct tccagaatgg aaaatcccag aaattc	36

<210> 117
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 117
tcacattcctt ccagaatgga aaatcccaga aattc

35

<210> 118
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 118
cacattcttc cagaatggaa aatcccagaa attc

34

<210> 119
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 119
acattcttcc agaatggaaa atcccagaaa ttc

33

<210> 120
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 120

cattcttcca gaatgaaaa tcccagaaat tc

32

<210> 121

<211> 31

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 121

attcttccag aatggaaaat cccagaaatt c

31

<210> 122

<211> 38

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 122

accactgtga ctgtggtttg ctgtgggat ggagaagg

38

<210> 123

<211> 37

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 123

ccactgtgac tgtggtttgc ttgtgggatg gagaagg

37

<210> 124

<211> 36

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 124	
cactgtgact gtggtttgct tgtgggatgg agaagg	36
<210> 125	
<211> 35	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 125	
actgtgactg tggtttgctt gtgggatgga gaagg	35
<210> 126	
<211> 34	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 126	
ctgtgactgt ggtttgcttg tgggatggag aagg	34
<210> 127	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 127	
tgtgactgtg gtttgcttgt gggatggaga agg	33

<210> 128
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 128
 gtgactgtgg ttgcttgtg ggatggagaa gg

32

<210> 129
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 129
 tgactgtggt ttgcttgtgg gatggagaag g

31

<210> 130
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 130
 gactgtggtt tgcttgtggg atggagaag

30

<210> 131
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 131

actgtggttt gcttgtggga tggagaagg

29

<210> 132

<211> 28

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 132

ctgtggtttg cttgtgggat ggagaagg

28

<210> 133

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 133

tgtggtttgc ttgtgggatg gagaagg

27

<210> 134

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 134

gtggtttgct tgtgggatgg agaagg

26

<210> 135

<211> 25

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 135	
tggtttgctt gtgggatgga gaagg	25
<210> 136	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 136	
ggtttgcttg tgggatggag aagg	24
<210> 137	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 137	
gtttgcttgt gggatggaga agg	23
<210> 138	
<211> 40	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 138	
atgaaatcgg ggtaaaggag cctggaacac atcctgtgac	40

<210> 139
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 139
tgaaatcggg gtaaaggagc ctggaacaca tcctgtgac 39

<210> 140
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 140
gaaatcgggg taaaggagcc tggaacacat cctgtgac 38

<210> 141
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 141
aaatcggggt aaaggagcct ggaacacatc ctgtgac 37

<210> 142
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 142

aatcggggta aaggagcctg gaacacatcc tgtgac

36

<210> 143

<211> 35

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 143

atcggggtaa aggagcctgg aacacatcct gtgac

35

<210> 144

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 144

tcggggtaaa ggagcctgga acacatcctg tgac

34

<210> 145

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 145

cggggtaaag gagcctggaa cacatcctgt gac

33

<210> 146

<211> 32

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 146
ggggtaaagg agcctggaac acatcctgtg ac

32

<210> 147
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 147
gggtaaagga gcctggaaca catcctgtga c

31

<210> 148
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 148
ggtaaaggag cctggaacac atcctgtgac

30

<210> 149
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 149
gtaaaggagc ctggaacaca tcctgtgac

29

<210> 150
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 150
taaaggagcc tggaacacat cctgtgac

28

<210> 151
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 151
aaaggagcct ggaacacatc ctgtgac

27

<210> 152
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 152
aaggagcctg gaacacatcc tgtgac

26

<210> 153
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 153

aggagcctgg aacacatcct gtagc

25

<210> 154

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 154

aggagcctgg aacacatcct gtagc

25

<210> 155

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 155

ggagcctgga acacatcctg tgac

24

<210> 156

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 156

gagcctggaa cacatcctgt gac

23

<210> 157

<211> 41

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 157	
gttccaagc agcccttcca ttttactttc cagagactgg c	41
<210> 158	
<211> 40	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 158	
ttccaagca gcccttccat ttactttcc agagactggc	40
<210> 159	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 159	
tccaagcag cccttcatt ttactttcca gagactggc	39
<210> 160	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 160	
ccaagcagc ccttcattt tactttccag agactggc	38

<210> 161
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 161
ccaagcagcc cttccatttt actttccaga gactggc

37

<210> 162
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 162
caagcagccc ttccatttta ctttccagag actggc

36

<210> 163
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 163
aagcagccct tccattttac tttccagaga ctggc

35

<210> 164
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 164

agcagccctt ccattttact ttccagagac tggc

34

<210> 165

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 165

gcagcccttc cattttactt tccagagact ggc

33

<210> 166

<211> 32

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 166

cagcccttcc attttacttt ccagagactg gc

32

<210> 167

<211> 31

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 167

agcccttcca ttttactttc cagagactgg c

31

<210> 168

<211> 30

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 168	
gcccttccat ttactttcc agagactggc	30
<210> 169	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 169	
cccttccatt ttactttcca gagactggc	29
<210> 170	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 170	
ccttccattt tactttccag agactggc	28
<210> 171	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 171	
cttccatttt actttccaga gactggc	27

<210> 172
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 172
tcattctatg tgctggagat ggtgtacagt agggtgagg 39

<210> 173
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 173
cattctatgt gctggagatg gtgtacagta gggtgagg 38

<210> 174
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 174
attctatgtg ctggagatgg tgtacagtag ggtgagg 37

<210> 175
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 175

ttctatgtgc tggagatggt gtacagtagg gtgagg

36

<210> 176

<211> 35

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 176

tctatgtgct ggagatggtg tacagtaggg tgagg

35

<210> 177

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 177

ctatgtgctg gagatggtgt acagtagggt gagg

34

<210> 178

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 178

tatgtgctgg agatggtgta cagtagggtg agg

33

<210> 179

<211> 32

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 179	
atgtgctgga gatggtgtac agtagggtga gg	32
<210> 180	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 180	
tgtgctggag atggtgtaca gtagggtgag g	31
<210> 181	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 181	
gtgctggaga tgggttacag tagggtgagg	30
<210> 182	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 182	
tgctggagat ggtgtacagt agggtgagg	29

<210> 183
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 183
gctggagatg gtgtacagta gggtgagg

28

<210> 184
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 184
ctggagatgg tgtacagtag ggtgagg

27

<210> 185
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 185
tggagatggt gtacagtagg gtgagg

26

<210> 186
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 186

ggagatggtg tacagtaggg tgagg

25

<210> 187

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 187

gagatggtgt acagtagggt gagg

24

<210> 188

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 188

aggtagtgct caccatgacc cctaccgtct ctattttata gtgagc

46

<210> 189

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 189

ggtagtgctc accatgaccc ctaccgtctc tattttatag tgagc

45

<210> 190

<211> 44

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 190	
gtagtgctca ccatgacccc taccgtctct attttatagt ggc	44
<210> 191	
<211> 43	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 191	
tagtgctcac catgaccct accgtctcta ttttatagtg agc	43
<210> 192	
<211> 42	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 192	
agtgtcacc atgacccta ccgtctctat tttatagtg gc	42
<210> 193	
<211> 41	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 193	
gtgtcacca tgaccctac cgtctctatt ttatagtgag c	41

<210> 194
 <211> 40
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 194
 tgctcacat gaccctacc gtctctatTT tatagtgagc 40

<210> 195
 <211> 39
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 195
 gtcacatg acccctaccg tctctatTT atagtgagc 39

<210> 196
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 196
 ctccacatga cccctaccgt ctctatTTta tagtgagc 38

<210> 197
 <211> 37
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 197

tcacatgac ccctaccgtc tctattttat agtgagc

37

<210> 198

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 198

cacatgacc cctaccgtct ctattttata gtgagc

36

<210> 199

<211> 35

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 199

accatgaccc ctaccgtctc tattttatag tgagc

35

<210> 200

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 200

ccatgacccc taccgtctct attttatagt gagc

34

<210> 201

<211> 33

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 201	
catgaccct accgtctcta tttatagtg agc	33
<210> 202	
<211> 32	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 202	
atgacccta cgtctctat tttatagtg gc	32
<210> 203	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 203	
tgaccctac cgtctctatt ttatagtgag c	31
<210> 204	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 204	
gaccctacc gtctctattt tatagtgagc	30

<210> 205
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 205
accctaccg tctctatattt atagtgagc

29

<210> 206
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 206
ctcctgcgcg caaccact ggctctcctt ac

32

<210> 207
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 207
tctcgcgcg aaccactg gctctcctta c

31

<210> 208
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 208

cctgcccga acccaactgg ctctccttac

30

<210> 209

<211> 29

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 209

ctgcccgcaa cccaactggc tctccttac

29

<210> 210

<211> 28

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 210

tcgccgaac ccaactggct ctccttac

28

<210> 211

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 211

cgccgcaacc caactggctc tccttac

27

<210> 212

<211> 26

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 212	
gccgcaaccc aactggctct cttac	26
<210> 213	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 213	
ccgcaacca actggctctc cttac	25
<210> 214	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 214	
cgcaacccaa ctggctctcc ttac	24
<210> 215	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 215	
gcaacccaac tggtctctct tac	23

<210> 216
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 216
caacccaact ggctctcctt ac 22

<210> 217
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 217
aaagaagtcg ggattccatg gaggctggat aggaggtcc 39

<210> 218
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 218
aagaagtcag gattccatg aggctggata ggaggtcc 38

<210> 219
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 219

agaagtcagg attccatgga ggctggatag gaggtcc

37

<210> 220

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 220

gaagtcagga ttccatggag gctggatagg aggtcc

36

<210> 221

<211> 35

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 221

aagtcaggat tccatggagg ctggatagga ggtcc

35

<210> 222

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 222

agtcaggatt ccatggaggc tggataggag gtcc

34

<210> 223

<211> 33

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 223
gtcaggattc catggaggct ggataggagg tcc 33

<210> 224
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 224
tcaggattcc atggaggctg gataggaggt cc 32

<210> 225
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 225
caggattcca tggaggctgg ataggaggtc c 31

<210> 226
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 226
aggattccat ggaggctgga taggaggtcc 30

<210> 227
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 227
 ggattccatg gagctggat aggaggtcc

29

<210> 228
 <211> 28
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 228
 gattccatgg aggctggata ggaggtcc

28

<210> 229
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 229
 attccatgga ggctggatag gaggtcc

27

<210> 230
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 230

ttccatggag gctggatagg aggtcc

26

<210> 231

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 231

tccatggagg ctggatagga ggtcc

25

<210> 232

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 232

ccatggaggc tggataggag gtcc

24

<210> 233

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 233

catggaggct ggataggagg tcc

23

<210> 234

<211> 42

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 234	
agaggagcag g gatggaaga agagaggtat tccccttccc ac	42
<210> 235	
<211> 41	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 235	
gaggagcagg gatggaagaa gagaggtatt ccccttccca c	41
<210> 236	
<211> 40	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 236	
aggagcaggg atggaagaag agaggtattc cccttcccac	40
<210> 237	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 237	
ggagcagga tggaagaaga gaggtattcc ccttcccac	39

<210> 238
 <211> 38
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 238
 gagcagggat ggaagaagag aggtattccc cttcccac

38

<210> 239
 <211> 37
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 239
 agcagggatg gaagaagaga ggtattcccc ttcccac

37

<210> 240
 <211> 36
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 240
 gcagggatgg aagaagagag gtattcccct tcccac

36

<210> 241
 <211> 35
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 241

cagggatgga agaagagagg tattcccctt cccac

35

<210> 242

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 242

agggatggaa gaagagaggt attccccttc ccac

34

<210> 243

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 243

gggatggaag aagagaggta ttccccttcc cac

33

<210> 244

<211> 32

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 244

ggatggaaga agagaggtat tccccttccc ac

32

<210> 245

<211> 31

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 245
gatggaagaa gagaggtatt ccccttccca c 31

<210> 246
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 246
atggaagaag agaggtattc cccttcccac 30

<210> 247
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 247
tggaagaaga gaggtattcc ccttcccac 29

<210> 248
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 248
ggaagaagag aggtattccc cttcccac 28

<210> 249
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 249
 gaagaagaga ggtattcccc ttcccac

27

<210> 250
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 250
 aagaagagag gtattcccct tcccac

26

<210> 251
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 251
 agaagagagg tattcccctt cccac

25

<210> 252
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 252

gcctgagtcc agtttgcct caagcccaga tgc

33

<210> 253

<211> 32

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 253

cctgagtcca gtttgcctc aagcccagat gc

32

<210> 254

<211> 31

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 254

ctgagtccag ttgacctca agcccagatg c

31

<210> 255

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 255

tgagtccagt ttgacctcaa gcccagatgc

30

<210> 256

<211> 29

<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 256
gagtccagtt tgcctcaag cccagatgc 29

<210> 257
<211> 28
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 257
agtccagttt gccctcaagc ccagatgc 28

<210> 258
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 258
gtccagtttg ccctcaagcc cagatgc 27

<210> 259
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 259
tccagtttgc cctcaagccc agatgc 26

<210> 260
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 260
ccagtttgcc ctcaagccca gatgc

25

<210> 261
<211> 24
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 261
cagtttgccc tcaagcccag atgc

24

<210> 262
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 262
agtttgccct caagcccaga tgc

23

<210> 263
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 263

gtttgcctc aagcccagat gc

22

<210> 264

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 264

tttgcctca agcccagatg c

21

<210> 265

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 265

ttgcctcaa gccagatgc

20

<210> 266

<211> 19

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 266

tgcctcaag cccagatgc

19

<210> 267

<211> 41

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 267	
agaccacaga cctggtcccc aaaagaaatg gaggcaatag g	41
<210> 268	
<211> 40	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 268	
gaccacagac ctggtcccca aaagaaatgg aggcaatagg	40
<210> 269	
<211> 39	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 269	
accacagacc tggccccaa aagaaatgga ggcaatagg	39
<210> 270	
<211> 38	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 270	
ccacagacct ggtccccaaa agaaatggag gcaatagg	38

<210> 271
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 271
cacagacctg gtccccaaaa gaaatggagg caatagg

37

<210> 272
<211> 36
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 272
acagacctgg tccccaaaag aatggaggc aatagg

36

<210> 273
<211> 35
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 273
cagacctggt cccccaaaaga aatggaggca atagg

35

<210> 274
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 274

agacctggtc cccaaaagaa atggaggcaa tagg

34

<210> 275

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 275

gacctgtcc ccaaaagaaa tggaggcaat agg

33

<210> 276

<211> 32

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 276

acctgtccc caaaagaaat ggaggcaata gg

32

<210> 277

<211> 31

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 277

cctgggtccc aaaagaaatg gaggcaatag g

31

<210> 278

<211> 30

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 278	
ctggtcccca aaagaaatgg aggcaatagg	30
<210> 279	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 279	
tggtcccca aagaaatgga ggcaatagg	29
<210> 280	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 280	
ggtccccaaa agaaatggag gcaatagg	28
<210> 281	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 281	
gtccccaaaa gaaatggagg caatagg	27

<210> 282
<211> 26
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 282
tccccaaaag aaatggaggc aatagg

26

<210> 283
<211> 40
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 283
gtcttctggg ccaactgactg atttgtgtgt aggaccctgg

40

<210> 284
<211> 39
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 284
tcttctgggc cactgactga tttgtgtgta ggaccctgg

39

<210> 285
<211> 38
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 285

cttctgggcc actgactgat ttgtgtgtag gaccctgg

38

<210> 286

<211> 37

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 286

ttctgggccca ctgactgatt tgtgtgtagg accctgg

37

<210> 287

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 287

tctggccac tgactgattt gtgtgtagga ccctgg

36

<210> 288

<211> 35

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 288

ctgggccact gactgatttg tgtgtaggac cctgg

35

<210> 289

<211> 34

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 289	
tgggccactg actgatttgt gtgtaggacc ctgg	34
<210> 290	
<211> 33	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 290	
gggccactga ctgatttgtg tgtaggaccc tgg	33
<210> 291	
<211> 32	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 291	
ggccactgac tgatttgtgt gtaggaccct gg	32
<210> 292	
<211> 31	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 292	
gccactgact gatttgtgtg taggaccctg g	31

<210> 293	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 293	
ccactgactg atttgtgtgt aggaccctgg	30
<210> 294	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 294	
cactgactga tttgtgtgta ggaccctgg	29
<210> 295	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 295	
actgactgat ttgtgtgtag gaccctgg	28
<210> 296	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	

<223> 引物

<400> 296

ctgactgatt tgtgtgtagg accctgg

27

<210> 297

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 297

tgactgattt gtgtgtagga ccctgg

26

<210> 298

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 298

gactgatttg tgtgtaggac cctgg

25

<210> 299

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 299

actgatttgt gtgtaggacc ctgg

24

<210> 300

<211> 801

<212> DNA	
<213> 智人 (Homo sapiens)	
<400> 300	
agggagcccc taggggagaa cagagttgag gggggctcta gggctcaagg tttggctgag	60
ccaccccagc agccccatt ctctgctgc ctcacctggg cccaggcag cagaaccagc	120
agcagcccca gaaggaggag gtgtagggtg gtgccacaca ccctggggag gaagagacgt	180
tcaggtggtg tcatggggag aacctgcaga gaaagagaga gagagagaga gacagtgagc	240
ggggcggggc acgcggcggg agacagacct cccgccctgg gagacagcac cccccgacct	300
ccgagagaga gatcgacaga gaaggggaca agatgcagtc agagaaacct caaggtgagc	360
agagggagac agagagagac aggaaggga cagagaggaa ycatggcaga aacagagaat	420
gtgtgacaga gacaatgaga ctgacagatg gagagtcaga gacagagaag gaaacccaaa	480
ccaaacccac caaggcccag gccagggcag gccggggatc caggcagcag gtgcaggagg	540
gaccgaggcc caggcagagg gcaggacact gcggggcggg agtccaaagc acgaagcacg	600
ggcagcccaa ggagatgggg caggagagcc tcacctgctg tgtggagccc ctgggccggg	660
acgtcaggt ccctttatag aggaagcggc agtggcagcg tggcaggcag cgggcggggt	720
ctaggtcggg gctggggccc ggggaagccc ccagggctta gaagatactg ctgtttcagt	780
caaaggcagg aaaggctgag g	801
<210> 301	
<211> 22	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 探针	
<400> 301	
tgtttctgcc atggttctc tc	22

<210> 302
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 302
gtttctgccg tggttcctct c

21

<210> 303
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 303
tttctgccat ggttcctctc

20

<210> 304
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 304
tttctgccatg gttcctctc

19

<210> 305
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 探针

<400> 305 tctgccatgg ttctcttc	18
<210> 306 <211> 17 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 探针	
<400> 306 ctgccatggt tcctctc	17
<210> 307 <211> 16 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 探针	
<400> 307 tgccatggtt cctctc	16
<210> 308 <211> 15 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 探针	
<400> 308 gccatggtc ctctc	15
<210> 309 <211> 37 <212> DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 309

tttggtttcc ttctctgtct ctgactctcc atctgtc

37

<210> 310

<211> 36

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 310

ttggtttcc tctctgtctc tgactctcca tctgtc

36

<210> 311

<211> 35

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 311

tggtttccct ctctgtctct gactctccat ctgtc

35

<210> 312

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 312

ggtttccctc tctgtctctg actctccatc tgtc

34

<210> 313
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 313
 gtttcettct ctgtctctga ctctccatct gtc 33

<210> 314
 <211> 32
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 314
 ttctcttctc tgtctctgac tctccatctg tc 32

<210> 315
 <211> 31
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 315
 ttcttctctc gtctctgact ctccatctgt c 31

<210> 316
 <211> 30
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 316	
tccttctctg tctctgactc tccatctgtc	30
<210> 317	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 317	
ccttctctgt ctctgactct ccatctgtc	29
<210> 318	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 318	
cttctctgtc tctgactctc catctgtc	28
<210> 319	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 引物	
<400> 319	
ttctctgtct ctgactctcc atctgtc	27
<210> 320	
<211> 26	
<212> DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 320

tctctgtctc tgactctcca tctgtc

26

<210> 321

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 321

ctctgtctct gactctccat ctgtc

25

<210> 322

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 322

tctgtctctg actctccatc tgtc

24

<210> 323

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 323

ctgtctctga ctctccatct gtc

23

<210> 324
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 324
tgtctctgac tctccatctg tc 22

<210> 325
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 325
gtctctgact ctccatctgt c 21

<210> 326
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 326
tctctgactc tccatctgtc 20

<210> 327
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 327
ctctgactct ccatctgtc 19

<210> 328
<211> 18
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 328
tctgactctc catctgtc 18

<210> 329
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 329
ctgactctcc atctgtc 17

<210> 330
<211> 37
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 330
cgacagagaa ggggacaaga tgcagtcaga gaaacc 37

<210> 331
<211> 36
<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 331

gacagagaag gggacaagat gcagtcagag aaaccc

36

<210> 332

<211> 35

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 332

acagagaagg ggacaagatg cagtcagaga aaccc

35

<210> 333

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 333

cagagaaggg gacaagatgc agtcagagaa accc

34

<210> 334

<211> 33

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 334

agagaagggg acaagatgca gtcagagaaa ccc

33

<210> 335
<211> 32
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 335
gagaagggga caagatgcag tcagagaaac cc 32

<210> 336
<211> 31
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 336
agaaggggac aagatgcagt cagagaaacc c 31

<210> 337
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 337
gaaggggaca agatgcagtc agagaaaccc 30

<210> 338
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 引物

<400> 338 aaggggacaa gatgcagtca gagaaaccc	29
<210> 339 <211> 28 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 引物	
<400> 339 aggggacaag atgcagtcag agaaaccc	28
<210> 340 <211> 27 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 引物	
<400> 340 ggggacaaga tgcagtcaga gaaaccc	27
<210> 341 <211> 26 <212> DNA <213> 人工序列	
<220> <223> 引物	
<400> 341 gggacaagat gcagtcagag aaaccc	26
<210> 342 <211> 25 <212> DNA	

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 342

ggacaagatg cagtcagaga aacct

25

<210> 343

<211> 24

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 343

gacaagatgc agtcagagaa acct

24

<210> 344

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 344

acaagatgca gtcagagaaa ccc

23

<210> 345

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 345

caagatgcag tcagagaaac cc

22

<210> 346
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 346
 aagatgcagt cagagaaacc c 21

<210> 347
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 347
 agatgcagtc agagaaacc 20

<210> 348
 <211> 19
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 348
 gatgcagtca gagaaacc 19

<210> 349
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 引物

<400> 349
atgcagtcag agaaaccc

18

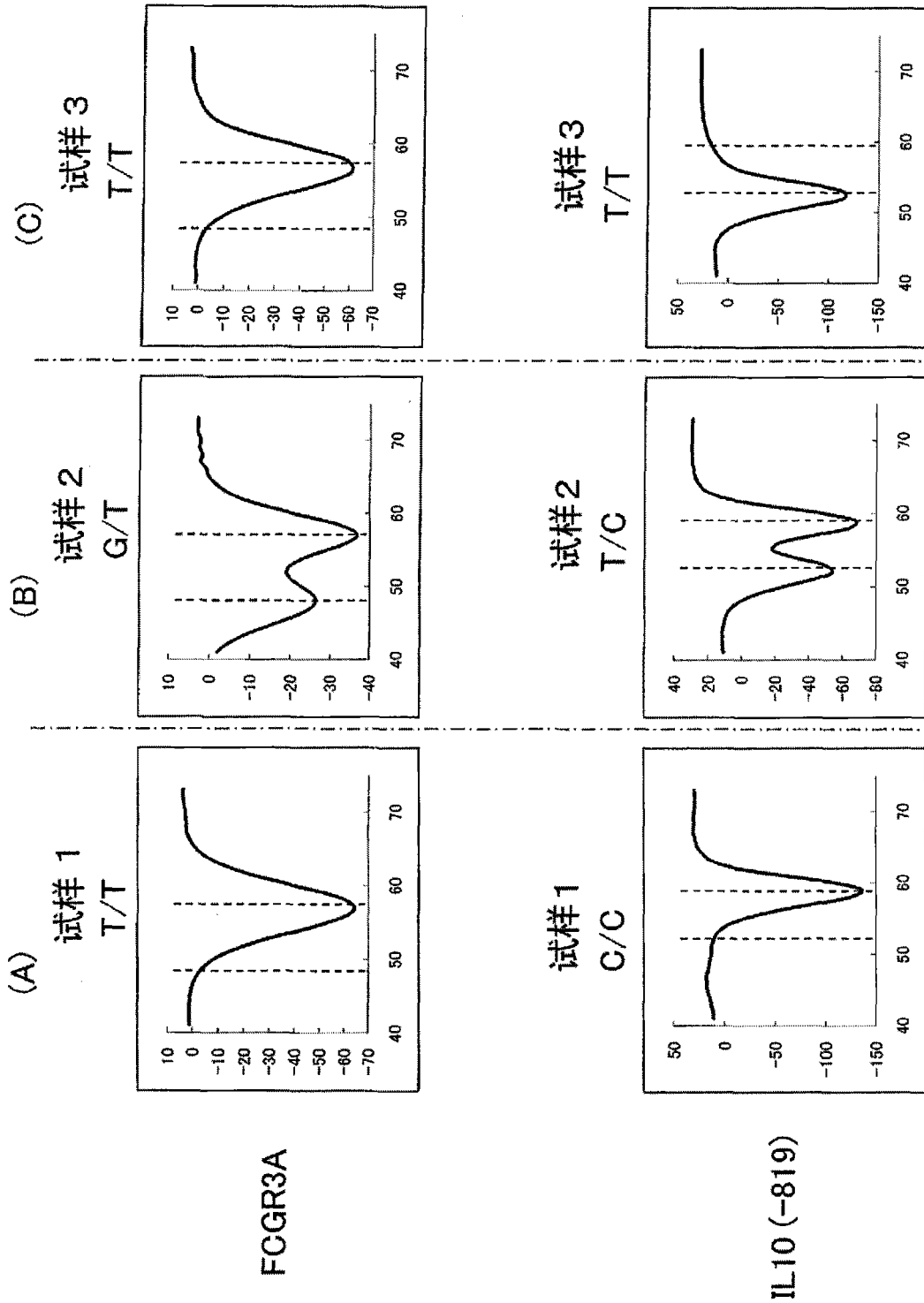


图 1

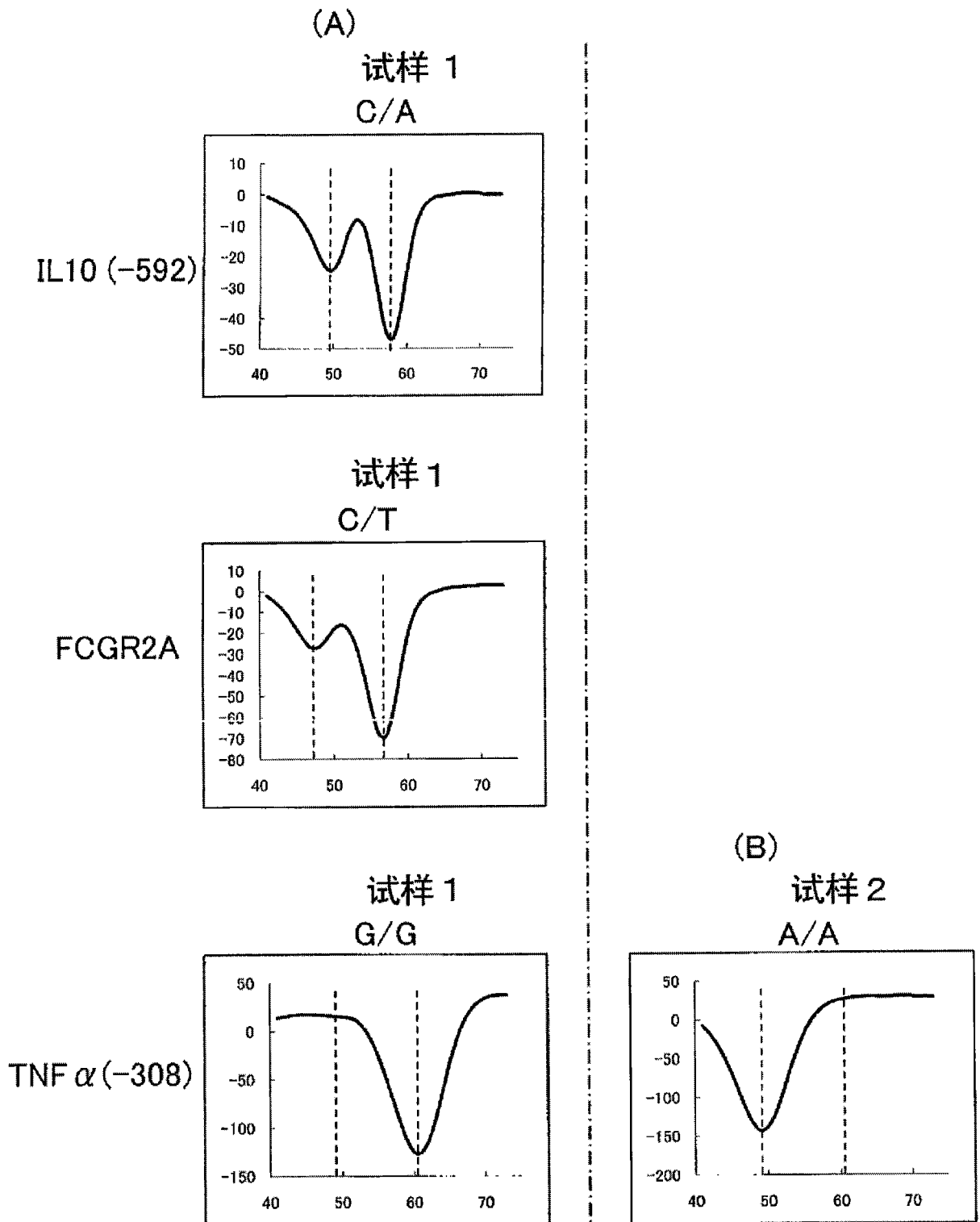


图 2

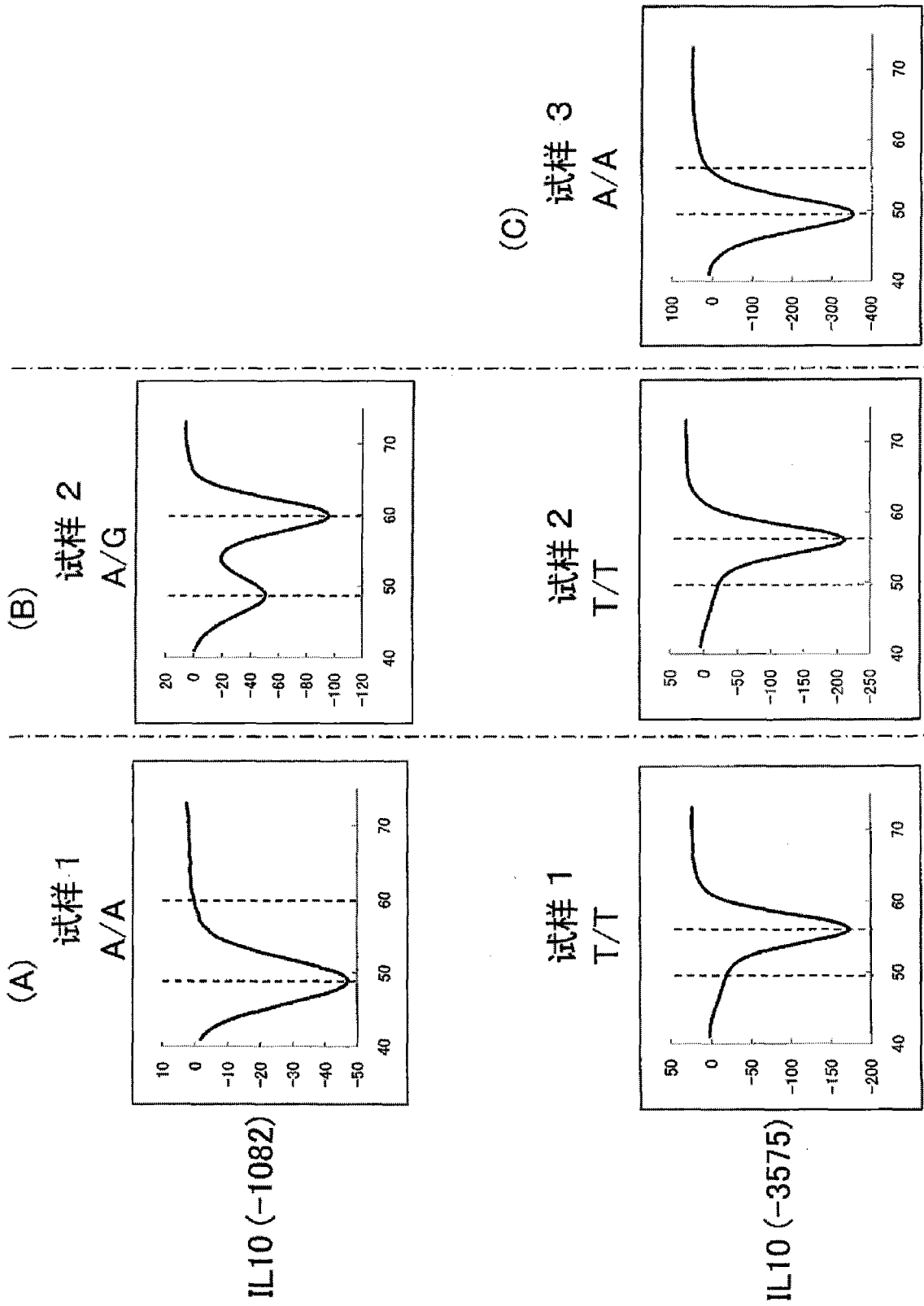


图 3

专利名称(译)	免疫相关基因的多态性的检测用探针及其用途		
公开(公告)号	CN101652478A	公开(公告)日	2010-02-17
申请号	CN200880011636.9	申请日	2008-10-03
[标]申请(专利权)人(译)	爱科来株式会社		
申请(专利权)人(译)	爱科来株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	爱科来株式会社		
[标]发明人	平井光春 间岛智史		
发明人	平井光春 间岛智史		
IPC分类号	C12N15/09 C12N15/12 C12N15/24 C12N15/28 C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	C12Q2600/156 C12Q1/6827 C12Q1/6883		
代理人(译)	刘新宇		
优先权	2007263713 2007-10-09 JP		
其他公开文献	CN101652478B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种多态性检测用探针，其能够判断只有一个碱基不同的多态性。将选自于由序列号4、23、30、47、57和64组成的组中的至少一个寡核苷酸作为Tm分析中的探针使用。通过使用这些探针的Tm分析，能简便地检测影响抗体药物等的药效的FCGR3A基因、FCGR2A基因、IL - 10基因、TNF α 基因和TNF β 基因的特定的多态性。而且，根据这些探针，通过使两种以上的前述探针共存于反应体系中，能在同一反应体系中检测两种以上的多态性。

