

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2017-163907

(P2017-163907A)

(43) 公開日 平成29年9月21日(2017.9.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 Z N A A	4 B O 6 3
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 A	
A O 1 K 67/027 (2006.01)	A O 1 K 67/027	
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	

審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 32 頁)

(21) 出願番号	特願2016-52805 (P2016-52805)	(71) 出願人	501203344
(22) 出願日	平成28年3月16日 (2016.3.16)		国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構
			茨城県つくば市観音台3-1-1
		(71) 出願人	000229519
			日本ハム株式会社
			大阪府大阪市北区梅田二丁目4番9号
		(74) 上記1名の代理人	110000109
			特許業務法人特許事務所サイクス
		(72) 発明者	新開 浩樹
			茨城県つくば市観音台2丁目1-2 国立研究開発法人農業生物資源研究所内
		(72) 発明者	上西 博英
			茨城県つくば市観音台2丁目1-2 国立研究開発法人農業生物資源研究所内
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 高免疫能ブタの判別方法、およびそのための多型マーカー

(57) 【要約】

【課題】ブタの抗病性に関する改良に役立つ遺伝的特性を明らかにする。

【解決手段】高免疫能ブタの判別方法であって、対象となるブタのゲノム中、(1)～(115)に示した染色体上の位置における塩基の少なくとも一つが、特定の塩基または塩基配列である場合に、高免疫ブタであると判別する。この判別方法は、抗病性の高いブタの育種、抗病性の高いブタの生産への応用が期待できる。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

高免疫能ブタの判別方法であって、対象となるブタのゲノム中、下記(1)～(115)に示した染色体上の位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列である場合に、高免疫ブタであると判別する、方法。

【表 1】

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
染色体_位置	9_136225014	9_136226551	9_136226580	9_136227605	9_136228153	9_136228815	9_136229254	9_136229261	9_136229299
配列番号:1 での位置	604	2141	2170	3195	3743	4405	4844	4851	4889
塩基	C	T	G	A	A	T	C	G	A

ただし(9)に関しては、配列番号:1において4889から始まる挿入配列AAGAGGCAAAGCの代わりにAである場合に高免疫能ブタであると判定できる。

【表 2】

	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
染色体_位置	17_45580310	17_45580423	17_45580482	17_45581237	17_45582918	17_45584682
配列番号:2 での位置	243	356	415	1170	2851	4615
塩基	G	C	G	T	A	A

【表 3】

	(16)	(17)	(18)	(19)	(20)	(21)	(22)	(23)	(24)	(25)	(26)	(27)	(28)	(29)	(30)
染色体_位置	12_20775600	12_20775911	12_20775952	12_20776180	12_20776238	12_20776514	12_20776648	12_20776974	12_20777055	12_20777104	12_20777179	12_20777268	12_20777509	12_20777549	12_20777551
配列番号:3 での位置	29	340	381	609	667	943	1077	1403	1484	1533	1608	1697	1938	1978	1980
塩基	A	C	G	G	C	A	A	A	T	C	G	C	A	T	A
	(31)	(32)	(33)	(34)	(35)	(36)	(37)	(38)	(39)	(40)	(41)	(42)	(43)	(44)	(45)
染色体_位置	12_20777654	12_20778194	12_20778314	12_20778693	12_20778769	12_20779252	12_20779407	12_20779473	12_20779501	12_20779605	12_20779646	12_20779791	12_20779954	12_20780288	12_20780540
配列番号:3 での位置	2083	2623	2743	3122	3198	3681	3836	3902	3930	4034	4075	4220	4383	4717	4969
塩基	A	G	C	C	A	T	A	G	A	C	A	A	A	T	A

10

20

【表 4】

	(46)	(47)	(48)	(49)	(50)	(51)	(52)	(53)	(54)	(55)	(56)	(57)	(58)	(59)	(60)	(61)	(62)	(63)	(64)	(65)
染色体_位置	8_14509892	8_14509902	8_14509923	8_145099412	8_145099416	8_145099457	8_145099508	8_145099572	8_145099601	8_145099730	8_145099783	8_145100154	8_145100625	8_145100758	8_145100799	8_145103199	8_145103205	8_145103206	8_145103283	8_145103344
配列番号:4 での位置	192	272	433	622	626	667	718	782	811	940	993	1364	1835	1968	2009	4409	4415	4416	4493	4554
塩基	G	T	A	G	G	G	C	G	A	G	T	G	T	T	C	A	T	G	G	G

30

40

【表 5】

	(66)	(67)	(68)	(69)	(70)	(71)	(72)	(73)	(74)	(75)	(76)	(77)	(78)	(79)	(80)	(81)	(82)	(83)	(84)	(85)
染色体_位置	9_6533752	9_6533772	9_6533786	9_6533788	9_6533816	9_6533844	9_6533860	9_6533871	9_6533922	9_6533966	9_6533992	9_6534024	9_6534037	9_6534199	9_6534211	9_6534387	9_6534475	9_6534504	9_6534516	9_6534568
配列番号:5 での位置	2632	2652	2666	2668	2696	2724	2740	2751	2802	2846	2872	2904	2917	3079	3091	3267	3355	3384	3396	3448
塩基	T	G	C	C	A	T	G	G	G	T	G	T	G	G	C	G	T	C	A	A
	(86)	(87)	(88)	(89)	(90)	(91)	(92)	(93)	(94)	(95)	(96)	(97)	(98)	(99)	(100)	(101)	(102)	(103)	(104)	(105)
染色体_位置	9_6534667	9_6534794	9_6534852	9_6534952	9_6534974	9_6534975	9_6534985	9_6535013	9_6535016	9_6535022	9_6535048	9_6535131	9_6535417	9_6535424	9_6535463	9_6535481	9_6535494	9_6535499	9_6535560	9_6535564
配列番号:5 での位置	3547	3674	3732	3832	3854	3855	3865	3893	3896	3902	3928	4011	4297	4304	4343	4361	4374	4379	4440	4444
塩基	G	C	T	T	A	T	G	C	A	*	C	A	T	T	A	C	A	A	G	G
	(106)	(107)	(108)	(109)	(110)	(111)	(112)	(113)	(114)	(115)										
染色体_位置	9_6535568	9_6535642	9_6535666	9_6535682	9_6535742	9_6536067	9_6536074	9_6536075	9_6536093	9_6536095										
配列番号:5 での位置	4448	4522	4546	4562	4622	4947	4954	4955	4973	4975										
塩基	G	C	A	C	A	C	G	C	T	T										

* は TCTCCG

【請求項 2】

請求項1に記載の方法であって、

対象となるブタのゲノムが、下記(A)～(F)の少なくとも一つを満たす場合に、高免疫ブタであると判別する、方法。

(A) 前記(1)～(9)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(B) 前記(10)～(15)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(C) 前記(16)～(45)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(D) 前記(46)～(65)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(E) 前記(66)～(115)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

【請求項 3】

10

20

30

50

高免疫能ブタの判別に利用するための、下記(a)～(e)のいずれか一のポリヌクレオチド

(a) 配列番号：1の塩基配列の、全部、または下記(1)～(9)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(1)～(9)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【表6】

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
染色体_位置	9_136225014	9_136226551	9_136226580	9_136227605	9_136228153	9_136228815	9_136229254	9_136229261	9_136229299
配列番号:1 での位置	604	2141	2170	3195	3743	4405	4844	4851	4889
塩基	C	T	G	A	A	T	C	G	A

ただし(9)に関しては、配列番号:1において4889から始まる挿入配列AAGAGGCAAAGCの代わりにAである場合に高免疫能ブタであると判定できる。

(b) 配列番号：2の塩基配列の、全部、または下記(10)～(15)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(10)～(15)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド

【表7】

	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
染色体_位置	17_45580310	17_45580423	17_45580482	17_45581237	17_45582918	17_45584682
配列番号:2 での位置	243	356	415	1170	2851	4615
塩基	G	C	G	T	A	A

(c) 配列番号：3の塩基配列の、全部、または下記(16)～(45)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(16)～(45)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【表 8】

	(16)	(17)	(18)	(19)	(20)	(21)	(22)	(23)	(24)	(25)	(26)	(27)	(28)	(29)	(30)
染色体_位置	12_20775600	12_20775911	12_20775952	12_20776180	12_20776238	12_20776514	12_20776648	12_20776974	12_20777055	12_20777104	12_20777179	12_20777268	12_20777509	12_20777549	12_20777551
配列番号:3 での位置	29	340	381	609	667	943	1077	1403	1484	1533	1608	1697	1938	1978	1980
塩基	A	C	G	G	C	A	A	A	T	C	G	C	A	T	A
	(31)	(32)	(33)	(34)	(35)	(36)	(37)	(38)	(39)	(40)	(41)	(42)	(43)	(44)	(45)
染色体_位置	12_20777654	12_20778194	12_20778314	12_20778693	12_20778769	12_20779252	12_20779407	12_20779473	12_20779501	12_20779605	12_20779646	12_20779791	12_20779954	12_20780288	12_20780540
配列番号:3 での位置	2083	2623	2743	3122	3198	3681	3836	3902	3930	4034	4075	4220	4383	4717	4969
塩基	A	G	C	C	A	T	A	G	A	C	A	A	A	T	A

10

20

(d) 配列番号：4 の塩基配列の、全部、または下記(46)～(65)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(46)～(65)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド

30

【表 9】

	(46)	(47)	(48)	(49)	(50)	(51)	(52)	(53)	(54)	(55)	(56)	(57)	(58)	(59)	(60)	(61)	(62)	(63)	(64)	(65)
染色体_位置	8_145098982	8_145099062	8_145099223	8_145099412	8_145099416	8_145099457	8_145099508	8_145099572	8_145099601	8_145099730	8_145099783	8_145100154	8_145100625	8_145100758	8_145100799	8_145103199	8_145103205	8_145103206	8_145103283	8_145103344
配列番号:4 での位置	192	272	433	622	626	667	718	782	811	940	993	1364	1835	1968	2009	4409	4415	4416	4493	4554
塩基	G	T	A	G	G	G	C	G	A	G	T	G	T	T	C	A	T	G	G	G

40

(e) 配列番号：5 の塩基配列の、全部、または下記(66)～(115)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(66)～(115)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

50

【表 10】

	(66)	(67)	(68)	(69)	(70)	(71)	(72)	(73)	(74)	(75)	(76)	(77)	(78)	(79)	(80)	(81)	(82)	(83)	(84)	(85)
染色体_位置	9_6533752	9_6533772	9_6533786	9_6533788	9_6533816	9_6533844	9_6533860	9_6533871	9_6533922	9_6533966	9_6533992	9_6534024	9_6534037	9_6534199	9_6534211	9_6534387	9_6534475	9_6534504	9_6534516	9_6534568
配列番号:5 での位置	2632	2652	2666	2668	2696	2724	2740	2751	2802	2846	2872	2904	2917	3079	3091	3267	3355	3384	3396	3448
塩基	T	G	C	C	A	T	G	G	G	T	G	T	G	G	C	G	T	C	A	A
	(86)	(87)	(88)	(89)	(90)	(91)	(92)	(93)	(94)	(95)	(96)	(97)	(98)	(99)	(100)	(101)	(102)	(103)	(104)	(105)
染色体_位置	9_6534667	9_6534794	9_6534852	9_6534952	9_6534974	9_6534975	9_6534985	9_6535013	9_6535016	9_6535022	9_6535048	9_6535131	9_6535417	9_6535424	9_6535463	9_6535481	9_6535494	9_6535499	9_6535560	9_6535564
配列番号:5 での位置	3547	3674	3732	3832	3854	3855	3865	3893	3896	3902	3928	4011	4297	4304	4343	4361	4374	4379	4440	4444
塩基	G	C	T	T	A	T	G	C	A	*	C	A	T	T	A	C	A	A	G	G
	(106)	(107)	(108)	(109)	(110)	(111)	(112)	(113)	(114)	(115)										
染色体_位置	9_6535568	9_6535642	9_6535666	9_6535682	9_6535742	9_6536067	9_6536074	9_6536075	9_6536093	9_6536095										
配列番号:5 での位置	4448	4522	4546	4562	4622	4947	4954	4955	4973	4975										
塩基	G	C	A	C	A	C	G	C	T	T										

* は TCTCCG

【請求項 4】

請求項 1 または 2 に記載の判別方法に使用するための、配列番号：1～5 のいずれかーに記載の塩基配列の一部に相補的であり、かつ 15 塩基以上の長さを有する、プローブまたはプライマー。

【請求項 5】

請求項 1 または 2 に記載の判別方法により、高免疫能ブタを選抜することを含む、抗病性の高いブタの育種方法。

【請求項 6】

請求項 1 または 2 に記載の判別方法により、高免疫能ブタを選抜し、選抜したブタまたはその後代を交配に用いることを含む、抗病性の高いブタの育種方法。

【請求項 7】

請求項 1 または 2 に記載の判別方法により、高免疫能ブタを選抜し、選抜したブタまたはその後代を交配に用いることを含む、抗病性の高いブタの生産方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

10

20

30

40

50

【 0 0 0 1 】

本発明は、ブタの免疫能判別のための多型を利用したマーカー、およびそのマーカーを用いたブタの判別方法に関する。

【 背景技術 】

【 0 0 0 2 】

ブタの育種は、これまで形質の表現型値を用いた統計学的手法により、測定が容易な肉質等に関して精力的に行われてきた。近年のブタゲノム塩基配列解読とそのデータを利用した集団遺伝学的解析により、椎骨数および体長と関連する遺伝子が含まれるゲノム領域において多様性の消失が起きた形跡が見つかる等、目的の表現型による選抜によるゲノム塩基配列の変化が明らかになりつつある。

10

【 0 0 0 3 】

一方、肺炎・下痢等の感染症への罹りにくさ、すなわち抗病性に関しては、疾病・病変等の程度の測定が困難であり、この点からの改良の試みはほとんど行われていなかった。

【 0 0 0 4 】

本出願人らの研究グループでは、大ヨークシャー種を対象として、白血球貧食能、補体代替経路活性、および豚丹毒ワクチン接種後の抗体価の3種類の形質値が同時に高くなるように、6世代にわたる改良を重ねた高免疫能ブタ集団を造成してきた。そして、この集団では、マイコプラズマ陽性農場における育成途中の死亡率が大きく下がることを示唆するデータを得た（非特許文献1）。

【 0 0 0 5 】

一方、ブタおよびイノシシの免疫系遺伝子、特に病原体認識に関わるToll様受容体（TLR）には、アミノ酸多型を含む非常に多くの一塩基多型（SNP）が存在することが知られており（非特許文献2）、これらのアミノ酸多型の中には病原体の認識能を変化させるものが存在することが報告されている（非特許文献3、4）。さらにブタの健康に悪影響を与える特定の病気が存在しない（Specific-Pathogen-Free, SPF）環境下で飼育されているブタ集団（デュロック種）において、TLRおよびブタ白血球抗原（SLA）クラスIIの遺伝子型と、ワクチン接種後の抗体応答との間に、有意な相関があることが報告されている（非特許文献5）。

20

【 先行技術文献 】

【 非特許文献 】

30

【 0 0 0 6 】

【 非特許文献 1 】 高萩ら，第9回国際獣医免疫学シンポジウム，2010

【 非特許文献 2 】 Shinkai, H. et al., Immunogenetics 58:324-330, 2006

【 非特許文献 3 】 Shinkai, H. et al., Mol. Immunol. 48:1114-1120. 2011

【 非特許文献 4 】 Shinkai H. et al., DNA Cell Biol. 31:575-581, 2012

【 非特許文献 5 】 Shinkai H. et al., Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 35: 523-532, 2012

【 発明の開示 】

【 発明が解決しようとする課題 】

【 0 0 0 7 】

40

近年の大規模集約的な養豚経営において、密飼い等に起因する感染症の流行は、ブタの損耗および薬剤の使用により生産コストを押し上げる主要な要因となっており、ブタの抗病性に関する遺伝的改良への期待は高い。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 0 8 】

本発明者らは、血液サンプルから測定可能な間接的免疫形質が、病変等の直接的形質の代替となる可能性について検討してきた。そして、白血球貧食能等の間接的形質値が高くなるように改良されたブタ集団について得た特定農場での死亡率低下を示唆するデータから、血液由来の間接的免疫形質がブタにおける耐病性改良のための選抜指標になりうると考えた。また、TLRにおけるSNPの存在と病原体の認識能の変化との関係、SPFブタ集団に

50

におけるTLR等の遺伝子型とワクチン接種後の抗体応答との相関から、免疫系遺伝子の多型は、感染症に対する感受性／抵抗性を判断するマーカーとなりうると考えた。

【 0 0 0 9 】

一方、本発明者らはマクロファージにおける発現変化の個体差に着目した。マクロファージは、感染初期において病原体の認識および貪食を担う細胞であり、自然免疫系および獲得免疫系の双方において、極めて重要な役割を有する。今般、高免疫ブタ集団およびその造成の基礎となったブタ集団それぞれの血液からマクロファージを単離して刺激し、集団間で刺激後の発現変化に差が見られた免疫系遺伝子を特定した。さらに遺伝子のプロモーター領域について集団間で偏りのある多型を見出し、本発明を完成した。

【 0 0 1 0 】

本発明は、以下を提供する。

[1] 高免疫能ブタの判別方法であって、対象となるブタのゲノム中、下記(1)～(115)に示した染色体上の位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列である場合に、高免疫ブタであると判別する、方法。

【 0 0 1 1 】

【表 1】

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
染色体_位置	9_136225014	9_136226551	9_136226580	9_136227605	9_136228153	9_136228815	9_136229254	9_136229261	9_136229299
配列番号:1 での位置	604	2141	2170	3195	3743	4405	4844	4851	4889
塩基	C	T	G	A	A	T	C	G	A

ただし(9)に関しては、配列番号:1において4889から始まる挿入配列AAGAGGCAAAGCの代わりにAである場合に高免疫能ブタであると判定できる。

【 0 0 1 2 】

【表 2】

	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
染色体_位置	17_45580310	17_45580423	17_45580482	17_45581237	17_45582918	17_45584682
配列番号:2 での位置	243	356	415	1170	2851	4615
塩基	G	C	G	T	A	A

10

20

30

40

50

【 0 0 1 3 】

【 表 3 】

	(16)	(17)	(18)	(19)	(20)	(21)	(22)	(23)	(24)	(25)	(26)	(27)	(28)	(29)	(30)
染色体_位置	12_20775600	12_20775911	12_20775952	12_20776180	12_20776238	12_20776514	12_20776648	12_20776974	12_20777055	12_20777104	12_20777179	12_20777268	12_20777509	12_20777549	12_20777551
配列番号:3 での位置	29	340	381	609	667	943	1077	1403	1484	1533	1608	1697	1938	1978	1980
塩基	A	C	G	G	C	A	A	A	T	C	G	C	A	T	A
	(31)	(32)	(33)	(34)	(35)	(36)	(37)	(38)	(39)	(40)	(41)	(42)	(43)	(44)	(45)
染色体_位置	12_20777654	12_20778194	12_20778314	12_20778693	12_20778769	12_20779252	12_20779407	12_20779473	12_20779501	12_20779605	12_20779646	12_20779791	12_20779954	12_20780288	12_20780540
配列番号:3 での位置	2083	2623	2743	3122	3198	3681	3836	3902	3930	4034	4075	4220	4383	4717	4969
塩基	A	G	C	C	A	T	A	G	A	C	A	A	A	T	A

10

20

30

【 0 0 1 4 】

【 表 4 】

	(46)	(47)	(48)	(49)	(50)	(51)	(52)	(53)	(54)	(55)	(56)	(57)	(58)	(59)	(60)	(61)	(62)	(63)	(64)	(65)
染色体_位置	8_145098982	8_145099062	8_145099223	8_145099412	8_145099416	8_145099457	8_145099508	8_145099572	8_145099601	8_145099730	8_145099783	8_145100154	8_145100625	8_145100758	8_145100799	8_145103199	8_145103205	8_145103206	8_145103283	8_145103344
配列番号:4 での位置	192	272	433	622	626	667	718	782	811	940	993	1364	1835	1968	2009	4409	4415	4416	4493	4554
塩基	G	T	A	G	G	G	C	G	A	G	T	G	T	T	C	A	T	G	G	G

40

【 0 0 1 5 】

【表 5】

	(66)	(67)	(68)	(69)	(70)	(71)	(72)	(73)	(74)	(75)	(76)	(77)	(78)	(79)	(80)	(81)	(82)	(83)	(84)	(85)
染色体_位置	9_6533752	9_6533772	9_6533786	9_6533788	9_6533816	9_6533844	9_6533860	9_6533871	9_6533922	9_6533966	9_6533992	9_6534024	9_6534037	9_6534199	9_6534211	9_6534387	9_6534475	9_6534504	9_6534516	9_6534568
配列番号:5 での位置	2632	2652	2666	2668	2696	2724	2740	2751	2802	2846	2872	2904	2917	3079	3091	3267	3355	3384	3396	3448
塩基	T	G	C	C	A	T	G	G	G	T	G	T	G	G	C	G	T	C	A	A
	(86)	(87)	(88)	(89)	(90)	(91)	(92)	(93)	(94)	(95)	(96)	(97)	(98)	(99)	(100)	(101)	(102)	(103)	(104)	(105)
染色体_位置	9_6534667	9_6534794	9_6534852	9_6534952	9_6534974	9_6534975	9_6534985	9_6535013	9_6535016	9_6535022	9_6535048	9_6535131	9_6535417	9_6535424	9_6535463	9_6535481	9_6535494	9_6535499	9_6535560	9_6535564
配列番号:5 での位置	3547	3674	3732	3832	3854	3855	3865	3893	3896	3902	3928	4011	4297	4304	4343	4361	4374	4379	4440	4444
塩基	G	C	T	T	A	T	G	C	A	*	C	A	T	T	A	C	A	A	G	G
	(106)	(107)	(108)	(109)	(110)	(111)	(112)	(113)	(114)	(115)										
染色体_位置	9_6535568	9_6535642	9_6535666	9_6535682	9_6535742	9_6536067	9_6536074	9_6536075	9_6536093	9_6536095										
配列番号:5 での位置	4448	4522	4546	4562	4622	4947	4954	4955	4973	4975										
塩基	G	C	A	C	A	C	G	C	T	T										

* は TCTCCG

【 0 0 1 6 】

[2] 1に記載の方法であって、

対象となるブタのゲノムが、下記(A)～(F)の少なくとも一つを満たす場合に、高免疫ブタであると判別する、方法。

(A) 前記(1)～(9)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(B) 前記(10)～(15)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(C) 前記(16)～(45)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(D) 前記(46)～(65)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(E) 前記(66)～(115)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

[3] 高免疫能ブタの判別に利用するための、下記(a)～(e)のいずれか一のポリヌクレオ

10

20

30

40

50

チド。

(a) 配列番号：1の塩基配列の、全部、または下記(1)～(9)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(1)～(9)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【0017】

【表6】

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
染色体_位置	9_136225014	9_136226551	9_136226580	9_136227605	9_136228153	9_136228815	9_136229254	9_136229261	9_136229299
配列番号:1 での位置	604	2141	2170	3195	3743	4405	4844	4851	4889
塩基	C	T	G	A	A	T	C	G	A

ただし(9)に関しては、配列番号:1において4889から始まる挿入配列AAGAGGCAAAGCの代わりにAである場合に高免疫能ブタであると判定できる。

【0018】

(b) 配列番号：2の塩基配列の、全部、または下記(10)～(15)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(10)～(15)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【0019】

【表7】

	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
染色体_位置	17_45580310	17_45580423	17_45580482	17_45581237	17_45582918	17_45584682
配列番号:2 での位置	243	356	415	1170	2851	4615
塩基	G	C	G	T	A	A

【0020】

(c) 配列番号：3の塩基配列の、全部、または下記(16)～(45)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(16)～(45)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【0021】

【表 8】

	(16)	(17)	(18)	(19)	(20)	(21)	(22)	(23)	(24)	(25)	(26)	(27)	(28)	(29)	(30)
染色体_位置	12_20775600	12_20775911	12_20775952	12_20776180	12_20776238	12_20776514	12_20776648	12_20776974	12_20777055	12_20777104	12_20777179	12_20777268	12_20777509	12_20777549	12_20777551
配列番号:3 での位置	29	340	381	609	667	943	1077	1403	1484	1533	1608	1697	1938	1978	1980
塩基	A	C	G	G	C	A	A	A	T	C	G	C	A	T	A
	(31)	(32)	(33)	(34)	(35)	(36)	(37)	(38)	(39)	(40)	(41)	(42)	(43)	(44)	(45)
染色体_位置	12_20777654	12_20778194	12_20778314	12_20778693	12_20778769	12_20779252	12_20779407	12_20779473	12_20779501	12_20779605	12_20779646	12_20779791	12_20779954	12_20780288	12_20780540
配列番号:3 での位置	2083	2623	2743	3122	3198	3681	3836	3902	3930	4034	4075	4220	4383	4717	4969
塩基	A	G	C	C	A	T	A	G	A	C	A	A	A	T	A

10

20

30

【0022】

(d) 配列番号：4 の塩基配列の、全部、または下記(46)～(65)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(46)～(65)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【0023】

【表 9】

	(46)	(47)	(48)	(49)	(50)	(51)	(52)	(53)	(54)	(55)	(56)	(57)	(58)	(59)	(60)	(61)	(62)	(63)	(64)	(65)
染色体_位置	8_14509882	8_14509902	8_14509923	8_14509941	8_14509946	8_14509947	8_14509950	8_14509957	8_14509960	8_14509973	8_14509978	8_14510015	8_14510062	8_14510075	8_14510079	8_14510319	8_14510320	8_14510326	8_14510328	8_14510334
配列番号:4 での位置	192	272	433	622	626	667	718	782	811	940	993	1364	1835	1968	2009	4409	4415	4416	4493	4554
塩基	G	T	A	G	G	G	C	G	A	G	T	G	T	T	C	A	T	G	G	G

40

【0024】

(e) 配列番号：5 の塩基配列の、全部、または下記(66)～(115)に示した位置の塩基を少

50

なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(66)～(115)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【 0 0 2 5 】

【 表 1 0 】

	(66)	(67)	(68)	(69)	(70)	(71)	(72)	(73)	(74)	(75)	(76)	(77)	(78)	(79)	(80)	(81)	(82)	(83)	(84)	(85)
染色体_位置	9_6533752	9_6533772	9_6533786	9_6533788	9_6533816	9_6533844	9_6533860	9_6533871	9_6533922	9_6533966	9_6533992	9_6534024	9_6534037	9_6534199	9_6534211	9_6534387	9_6534475	9_6534504	9_6534516	9_6534568
配列番号:5 での位置	2632	2652	2666	2668	2696	2724	2740	2751	2802	2846	2872	2904	2917	3079	3091	3267	3355	3384	3396	3448
塩基	T	G	C	C	A	T	G	G	G	T	G	T	G	G	C	G	T	C	A	A
	(86)	(87)	(88)	(89)	(90)	(91)	(92)	(93)	(94)	(95)	(96)	(97)	(98)	(99)	(100)	(101)	(102)	(103)	(104)	(105)
染色体_位置	9_6534667	9_6534794	9_6534852	9_6534952	9_6534974	9_6534975	9_6534985	9_6535013	9_6535016	9_6535022	9_6535048	9_6535131	9_6535417	9_6535424	9_6535463	9_6535481	9_6535494	9_6535499	9_6535560	9_6535564
配列番号:5 での位置	3547	3674	3732	3832	3854	3855	3865	3893	3896	3902	3928	4011	4297	4304	4343	4361	4374	4379	4440	4444
塩基	G	C	T	T	A	T	G	C	A	*	C	A	T	T	A	C	A	A	G	G
	(106)	(107)	(108)	(109)	(110)	(111)	(112)	(113)	(114)	(115)										
染色体_位置	9_6535568	9_6535642	9_6535666	9_6535682	9_6535742	9_6536067	9_6536074	9_6536075	9_6536093	9_6536095										
配列番号:5 での位置	4448	4522	4546	4562	4622	4947	4954	4955	4973	4975										
塩基	G	C	A	C	A	C	G	C	T	T										

* は TCTCCG

【 0 0 2 6 】

〔 4 〕 1 または 2 に記載の判別方法に使用するための、配列番号： 1 ～ 5 のいずれかに記載の塩基配列の一部に相補的であり、かつ 1 5 塩基以上の長さを有する、プローブまたはプライマー。

〔 5 〕 1 または 2 に記載の判別方法により、高免疫能ブタを選抜することを含む、抗病性の高いブタの育種方法。

〔 6 〕 1 または 2 に記載の判別方法により、高免疫能ブタを選抜し、選抜したブタまたはその後代を交配に用いることを含む、抗病性の高いブタの育種方法。

〔 7 〕 1 または 2 に記載の判別方法により、高免疫能ブタを選抜し、選抜したブタまたはその後代を交配に用いることを含む、抗病性の高いブタの生産方法。

【 発明の効果 】

【 0 0 2 7 】

本発明により免疫能が高いブタを効率的に選抜できる。

本発明により得られた高免疫ブタにより、他の優れた形質を有するブタに高免疫能を付与することができ、抗病性に優れたブタの新品種が育種できる。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 2 8 】

【 図 1 A 】 刺激後の発現変化に3倍以上の差が検出された遺伝子。Gene Ontology解析を行い、免疫応答に関連すると想定される遺伝子（[GO:0002376] immune system process、[GO:0001071] Nucleic acid binding transcription factory activity、[GO:0006914] autophagy、[GO:0061630] ubiquitin protein ligase activity）を抽出した。

10

【 図 1 B 】 刺激後の発現変化に3倍以上の差が検出された遺伝子。Gene Ontology解析を行い、免疫応答に関連すると想定される遺伝子（[GO:0002376] immune system process、[GO:0001071] Nucleic acid binding transcription factory activity、[GO:0006914] autophagy、[GO:0061630] ubiquitin protein ligase activity）を抽出した。

【 発明を実施するための形態 】

【 0 0 2 9 】

数値範囲を「 $m \sim n$ 」は、特に記載した場合を除き、その範囲は両端 m および n を含む。

【 0 0 3 0 】

〔 判別方法 〕

本発明は、高い免疫能を有するブタ（高免疫能ブタということもある。）を、ブタのゲノム上に存在する多型を検出することにより、判別する方法を提供する。免疫能は、直接的または間接的な免疫形質を含む。直接的な免疫形質は、肺炎や下痢等の感染症へのかかりにくさおよび疾病や病変の程度の少なさを含む。間接的な免疫形質は、白血球貧食能、補体代替経路活性および豚丹毒ワクチン接種後の抗体価等、ブタの抗病性を直接的には裏付けないが、その形質と抗病性との関係が推認できる形質を指す。

20

【 0 0 3 1 】

判別は、対象ブタ（本発明の判別方法に供するブタ）が高免疫能ブタであると技術的に意義のある確からしさで判別すること、対象ブタが非高免疫能ブタ（高免疫能を有さないブタ）ではないと技術的に意義のある確からしさで判別することを含む。また、高免疫能ブタとその他のブタ（例えば、黒豚、一般豚等）とを区別することをいう。判別は、識別、鑑定、鑑別、判定、検査等と表現されることもある。判別の確からしさは、用いる多型の種類、数、組合せ等を検討することにより、高めることができると考えられる。

30

【 0 0 3 2 】

多型とは、同じ生物種の集団のうちに遺伝子型の異なる個体が存在すること、またはその異なる遺伝子・DNA配列のことをいう。多型には一塩基多型（SNP）、Insertion/Deletion（挿入／欠失）多型、制限断片長多型、タンデム反復数多型（variable number of tandem repeats：VNTR）、超可変領域、ミニサテライト、ジヌクレオチド反復、トリヌクレオチド反復、テトラヌクレオチド反復、および単純配列反復が含まれる。

【 0 0 3 3 】

一塩基多型（SNP）は1個のヌクレオチドからなる多型部位において、その1個のヌクレオチドが別のもの（ヌクレオチド、またはジ～テトラヌクレオチド、オリゴもしくはポリヌクレオチド）で置換されて起こる。一塩基多型は、参照対立遺伝子と比較して1個のヌクレオチドが欠失するか、または1個のヌクレオチドが挿入されるかによっても起こる。なお多型を表す場合に、関与するヌクレオチドの種類を便宜上そのヌクレオチドを構成する塩基の種類（A、G、TまたはC）を用いて示すことがある。

40

【 0 0 3 4 】

本発明の判別方法においては、ブタゲノム中に存在する多型をマーカーとして利用する。

【 0 0 3 5 】

好ましい態様の一つにおいては、多型マーカー（多型を利用したマーカー）として、高

50

免疫ブタ集団およびその造成に用いた基礎集団（対照集団ということもある。）それぞれから採取したマクロファージを刺激し、遺伝子発現を比較した結果、発現量が数倍、好ましくは2倍以上、より好ましくは3倍以上変化する遺伝子のプロモーター領域中に存在する多型を用いることができる。

【0036】

より好ましい態様の一つにおいては、多型マーカーとして、上記の発現量が変化する遺伝子であって、免疫応答に関与すると想定される遺伝子のプロモーター領域中に存在する多型を用いることができる。免疫応答に関与すると想定される遺伝子の例は、Gene Ontologyで[GO:0002376] immune system process、[GO:0001071] Nucleic acid binding transcription factory activity、[GO:0006914] autophagy、または[GO:0061630] ubiquitin protein ligase activityの階層に属する遺伝子である。免疫応答に関与すると想定される遺伝子の、特に好ましい例は、TRIM21（ユビキチンリガーゼE3の一つ。シェーグレン症候群の原因遺伝子。）、STAT3（サイトカインのシグナル伝達等に関与。）、RNASEL（RNA分解酵素の一つ。RNAウイルスに対する抵抗性に関与。）、またはSAMHD1（HIV-1等のウイルス感染の防御に関与。）、およびTMEM150Cである。

10

【0037】

いずれの場合であっても、多型マーカーとして、高免疫能ブタ集団における頻度が、基礎集団における頻度よりも高いものを用いることが好ましい。

【0038】

本発明に用いられる多型マーカー（本明細書において「本発明の多型マーカー」と記載する場合がある。）の具体例を以下に示す。なお本明細書および特許請求において、染色体および位置（position）に関する情報、ならびにSNPのrs番号を示す場合は、特に記載した場合を除き、米国バイオテクノロジー情報センター（NCBI）の提供する情報に基づく。

20

【0039】

RNASELのプロモーター領域に存在する多型（下表の(1)～(9)）

表の中段に、多型の存在する染色体とその位置（多型部位）を示す。下段に、その位置における、高免疫能ブタ集団において出現頻度の高い塩基を示す。すなわち、その位置の塩基が表の対応する下段に示した塩基である場合に、高免疫能ブタであると判別できる。

30

【0040】

【表11】

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
染色体_位置	9_136225014	9_136226551	9_136226580	9_136227605	9_136228153	9_136228815	9_136229254	9_136229261	9_136229299
配列番号:1 での位置	604	2141	2170	3195	3743	4405	4844	4851	4889
塩基	C	T	G	A	A	T	C	G	A

40

ただし(9)に関しては、配列番号:1において4889から始まる挿入配列AAGAGGCAAGCの代わりにAである場合に高免疫能ブタであると判定できる。

【0041】

SAMHD1のプロモーター領域に存在する多型（下表の(10)～(15)）

表の中段に、多型の存在する染色体とその位置（多型部位）を示す。下段に、その位置

50

における、高免疫能ブタ集団において出現頻度の高い塩基を示す。すなわち、その位置の塩基が表の対応する下段に示した塩基である場合に、高免疫能ブタであると判別できる。

【 0 0 4 2 】

【 表 1 2 】

	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
染色体_位置	17_45580310	17_45580423	17_45580482	17_45581237	17_45582918	17_45584682
配列番号:2 での位置	243	356	415	1170	2851	4615
塩基	G	C	G	T	A	A

10

20

【 0 0 4 3 】

STAT3のプロモーター領域に存在する多型（下表の(16)～(45)）

表の各中段に、多型の存在する染色体とその位置（多型部位）を示す。各下段に、その位置における、高免疫能ブタ集団において出現頻度の高い塩基を示す。すなわち、その位置の塩基が表の対応する下段に示した塩基である場合に、高免疫能ブタであると判別できる。

【 0 0 4 4 】

【表 1 3】

	(16)	(17)	(18)	(19)	(20)	(21)	(22)	(23)	(24)	(25)	(26)	(27)	(28)	(29)	(30)
染色体_位置	12_20775600	12_20775911	12_20775952	12_20776180	12_20776238	12_20776514	12_20776648	12_20776974	12_20777055	12_20777104	12_20777179	12_20777268	12_20777509	12_20777549	12_20777551
配列番号:3 での位置	29	340	381	609	667	943	1077	1403	1484	1533	1608	1697	1938	1978	1980
塩基	A	C	G	G	C	A	A	A	T	C	G	C	A	T	A
	(31)	(32)	(33)	(34)	(35)	(36)	(37)	(38)	(39)	(40)	(41)	(42)	(43)	(44)	(45)
染色体_位置	12_20777654	12_20778194	12_20778314	12_20778693	12_20778769	12_20779252	12_20779407	12_20779473	12_20779501	12_20779605	12_20779646	12_20779791	12_20779954	12_20780288	12_20780540
配列番号:3 での位置	2083	2623	2743	3122	3198	3681	3836	3902	3930	4034	4075	4220	4383	4717	4969
塩基	A	G	C	C	A	T	A	G	A	C	A	A	A	T	A

10

20

30

【0045】

TMEM150Cのプロモーター領域に存在する多型(下表の(46)~(65))

表の中段に、多型の存在する染色体とその位置(多型部位)を示す。下段に、その位置における、高免疫能ブタ集団において出現頻度の高い塩基を示す。すなわち、その位置の塩基が表の対応する下段に示した塩基である場合に、高免疫能ブタであると判別できる。

【0046】

【表 1 4】

	(46)	(47)	(48)	(49)	(50)	(51)	(52)	(53)	(54)	(55)	(56)	(57)	(58)	(59)	(60)	(61)	(62)	(63)	(64)	(65)
染色体_位置	8_145098982	8_145099062	8_145099223	8_145099412	8_145099416	8_145099457	8_145099508	8_145099572	8_145099601	8_145099730	8_145099783	8_145100154	8_145100625	8_145100758	8_145100799	8_145103199	8_145103205	8_145103206	8_145103283	8_145103344
配列番号:4 での位置	192	272	433	622	626	667	718	782	811	940	993	1364	1835	1968	2009	4409	4415	4416	4493	4554
塩基	G	T	A	G	G	G	C	G	A	G	T	G	T	T	C	A	T	G	G	G

40

【0047】

TRIM21のプロモーター領域に存在する多型(下表の(66)~(115))

50

表の各中段に、多型の存在する染色体とその位置（多型部位）を示す。各下段に、その位置における、高免疫能ブタ集団において出現頻度の高い塩基を示す。すなわち、その位置の塩基が表の対応する下段に示した塩基である場合に、高免疫能ブタであると判別できる。

【表 15】

	(66)	(67)	(68)	(69)	(70)	(71)	(72)	(73)	(74)	(75)	(76)	(77)	(78)	(79)	(80)	(81)	(82)	(83)	(84)	(85)
染色体_位置	9_6533752	9_6533772	9_6533786	9_6533788	9_6533816	9_6533844	9_6533860	9_6533871	9_6533922	9_6533966	9_6533992	9_6534024	9_6534037	9_6534199	9_6534211	9_6534387	9_6534475	9_6534504	9_6534516	9_6534568
配列番号:5 での位置	2632	2652	2666	2668	2696	2724	2740	2751	2802	2846	2872	2904	2917	3079	3091	3267	3355	3384	3396	3448
塩基	T	G	C	C	A	T	G	G	G	T	G	T	G	G	C	G	T	C	A	A
	(86)	(87)	(88)	(89)	(90)	(91)	(92)	(93)	(94)	(95)	(96)	(97)	(98)	(99)	(100)	(101)	(102)	(103)	(104)	(105)
染色体_位置	9_6534667	9_6534794	9_6534852	9_6534952	9_6534974	9_6534975	9_6534985	9_6535013	9_6535016	9_6535022	9_6535048	9_6535131	9_6535417	9_6535424	9_6535463	9_6535481	9_6535494	9_6535499	9_6535560	9_6535564
配列番号:5 での位置	3547	3674	3732	3832	3854	3855	3865	3893	3896	3902	3928	4011	4297	4304	4343	4361	4374	4379	4440	4444
塩基	G	C	T	T	A	T	G	C	A	*	C	A	T	T	A	C	A	A	G	G
	(106)	(107)	(108)	(109)	(110)	(111)	(112)	(113)	(114)	(115)										
染色体_位置	9_6535568	9_6535642	9_6535666	9_6535682	9_6535742	9_6536067	9_6536074	9_6536075	9_6536093	9_6536095										
配列番号:5 での位置	4448	4522	4546	4562	4622	4947	4954	4955	4973	4975										
塩基	G	C	A	C	A	C	G	C	T	T										

* は TCTCCG

【0048】

本発明においては、多型マーカーを1つ用いることができ、複数個用いることもできる。用いられる多型マーカーは、上記の多型マーカーのうち、高免疫能ブタ集団と基礎集団との間の頻度の差が大きいものであることが好ましいと考えられる。当業者であれば、本明細書の記載および技術常識を参酌し、判別に使用する多型マーカーの数、および種類を適宜設計することができる。

【0049】

高免疫能ブタ集団と基礎集団との頻度の差が大きい多型マーカーの場合には、1または数個の多型マーカーを用いることにより、高免疫能ブタの技術的に意義のある確からしさでの判別が可能であると考えられる。高免疫能ブタ集団と基礎集団との頻度の差が比較的小さい多型マーカーの場合でも、複数の多型マーカーを用いることにより、高免疫能ブタ

の技術的に意義のある確からしさで判別が可能であると考えられる。

【 0 0 5 0 】

一般的には、多くの多型マーカーを用いるほど判別の精度が向上する。したがって、本発明では、複数の多型マーカーを用いることが好ましいであろう。本発明の方法において用いる多型マーカーの数は、1または数個（1～9個）とすることができ、例えば5個以上、8個以上、10個以上とすることができ、また20個以上、30個以上、40個以上、50個以上、60個以上、70個以上とすることもできる。

【 0 0 5 1 】

好ましい態様の一つにおいては、上記の一の表に示した染色体上の位置における塩基のいずれか（1個であってもよく、複数個であってもよい。以下同じ。）と他のいずれか表に示した染色体上の位置における塩基のいずれかとの組合せが、各々対応する下段に示した塩基である場合に、高免疫能ブタであると判別してもよい。例えば、上記(1)～(9)に示した染色体上の位置における塩基のいずれかが対応する下段に示した塩基である場合に、上記(10)～(15)に示した染色体上の位置における塩基のいずれか、上記(16)～(45)に示した染色体上の位置における塩基のいずれか、上記(46)～(65)に示した染色体上の位置における塩基のいずれか、または上記(66)～(115)に示した染色体上の位置における塩基のいずれかが、各々対応する下段に示した塩基である場合に、高免疫能ブタであると判別してもよい。

【 0 0 5 2 】

好ましい態様の一つにおいては、下記の(A)～(E)の少なくとも一つを満たす場合に、高免疫能ブタであると判別することができる。

(A) 上記(1)～(9)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(B) 上記(10)～(15)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(C) 上記(16)～(45)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(D) 上記(46)～(65)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

(E) 上記(66)～(115)に示した染色体上の位置における塩基が、各々対応する下段に示した塩基である。

【 0 0 5 3 】

好ましい態様の一つにおいては、(A)～(E)のうち、いずれか2つを満たす場合（例えば、(A)および(B)、(A)および(C)、(A)および(D)、(A)および(E)、(B)および(C)、(B)および(D)、(B)および(E)、(C)および(D)、(C)および(E)、または(D)および(E)）、いずれか3つを満たす場合（例えば、(A)および(B)および(C)、(A)および(B)および(D)、(A)および(B)および(E)、(A)および(C)および(D)、(A)および(C)および(E)、(A)および(D)および(E)、(B)および(C)および(D)、(B)および(D)および(E)、(C)および(D)および(E)）、いずれか4つを満たす場合（例えば、(A)および(B)および(C)および(D)、(A)および(B)および(C)および(E)、(A)および(B)および(D)および(E)、(A)および(C)および(D)および(E)、(B)および(C)および(D)および(E)）、またはすべて、すなわち(A)および(B)および(C)および(D)および(E)を満たす場合に、高免疫能ブタであると判別してもよい。

【 0 0 5 4 】

好ましい態様の一つにおいては、対象ブタにおける目的の多型部位の塩基を決定する方法として、公知の種々の方法を利用できる。多型部位の塩基を決定する方法は、通常、多型部位を含む領域を増幅する工程を含む。増幅の際の鋳型となる核酸試料は、対象ブタの、例えば末梢血、臓器組織、血清、血漿、血球、骨髓、骨髄単核球、口腔細胞、毛（毛根細胞）、爪、血痕、臍帯、脳脊髄液、患部擦過物、患部ぬぐい液、眼房水、リンパ節、気管支肺胞洗浄液、胸水、腹水、心嚢液、脾液、喀痰、骨、膿、尿、糞便、吐瀉物、胃液、リンパ節、皮膚、腸組織、固形組織（生検手術）、パラフィン包埋ブロック、凍結切片用

10

20

30

40

50

包埋ブロック、剖検材料（組織）、培養細胞から得ることができる。

【 0 0 5 5 】

このようにして得られる試料中に含まれる核酸を鋳型とし、増幅して多型を検出するために用いることができる。多型の検出のためには、既存の方法を適宜利用できる。例えば、PCR法、SDA法、TMA法、NASBA法、TRC法、ICAN法、SmartAmp法、RCA法、LAMP法、およびそれらの改良法が挙げられる。

【 0 0 5 6 】

[多型マーカー、およびそれを検出するためのプローブ]

また本発明は、上記（1）～（115）のいずれかに記載の多型マーカー、およびそのような多型マーカーを含む、高免疫能ブタの判別に利用するためのポリヌクレオチド、並びにそのようなポリヌクレオチドの増幅物、そのようなポリヌクレオチドを含む組成物（例えば、そのようなポリヌクレオチドと緩衝剤とを含む。）、キット、試薬、または製品等を提供する。

10

【 0 0 5 7 】

本明細書の配列表には、配列番号：1～5の配列として、本明細書の実施例の項において多型検索を行った各遺伝子の転写開始点より上流5000bpの塩基配列を掲載した。具体的には下記の通り。

配列番号：1 RNACSELの転写開始点より上流5000bpの塩基配列（Sscrofa10.2:9:136224411:136229410）

配列番号：2 SAMHD1の転写開始点より上流5000bpの塩基配列（Sscrofa10.2:17:45580068:45585067）

20

配列番号：3 STAT3の転写開始点より上流5000bpの塩基配列（Sscrofa10.2:12:20775572:20780571）

配列番号：4 TMEM150Cの転写開始点より上流5000bpの塩基配列（Sscrofa10.2:8:145098791:145103790）

配列番号：5 TRIM21の転写開始点より上流5000bpの塩基配列（Sscrofa10.2:9:6531121:6536120）

括弧内は、公開されているブタゲノム塩基配列の最新版（Sscrofa10.2）における染色体番号と塩基の位置である。

【 0 0 5 8 】

30

本発明により多型マーカーを含む以下(a)～(e)のポリヌクレオチドが提供される。

(a)配列番号：1の塩基配列の、全部、または下記(1)～(9)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(1)～(9)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【 0 0 5 9 】

【表 1 6】

	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)	(9)
染色体_位置	9_136225014	9_136226551	9_136226580	9_136227605	9_136228153	9_136228815	9_136229254	9_136229261	9_136229299
配列番号:1 での位置	604	2141	2170	3195	3743	4405	4844	4851	4889
塩基	C	T	G	A	A	T	C	G	A

ただし(9)に関しては、配列番号:1において4889から始まる挿入配列
AAGAGGCAAAGCの代わりにAである場合に高免疫能ブタであると判定できる。

【0060】

(b) 配列番号:2の塩基配列の、全部、または下記(10)～(15)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(10)～(15)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【0061】

【表 1 7】

	(10)	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
染色体_位置	17_45580310	17_45580423	17_45580482	17_45581237	17_45582918	17_45584682
配列番号:2 での位置	243	356	415	1170	2851	4615
塩基	G	C	G	T	A	A

【0062】

(c) 配列番号:3の塩基配列の、全部、または下記(16)～(45)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(16)～(45)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【0063】

10

20

30

40

【表 18】

	(16)	(17)	(18)	(19)	(20)	(21)	(22)	(23)	(24)	(25)	(26)	(27)	(28)	(29)	(30)
染色体_位置	12_20775600	12_20775911	12_20775952	12_20776180	12_20776238	12_20776514	12_20776648	12_20776974	12_20777055	12_20777104	12_20777179	12_20777268	12_20777509	12_20777549	12_20777551
配列番号:3 での位置	29	340	381	609	667	943	1077	1403	1484	1533	1608	1697	1938	1978	1980
塩基	A	C	G	G	C	A	A	A	T	C	G	C	A	T	A
	(31)	(32)	(33)	(34)	(35)	(36)	(37)	(38)	(39)	(40)	(41)	(42)	(43)	(44)	(45)
染色体_位置	12_20777654	12_20778194	12_20778314	12_20778693	12_20778769	12_20779252	12_20779407	12_20779473	12_20779501	12_20779605	12_20779646	12_20779791	12_20779954	12_20780288	12_20780540
配列番号:3 での位置	2083	2623	2743	3122	3198	3681	3836	3902	3930	4034	4075	4220	4383	4717	4969
塩基	A	G	C	C	A	T	A	G	A	C	A	A	A	T	A

【0064】

(d) 配列番号：4 の塩基配列の、全部、または下記(46)～(65)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(45)～(65)に示した位置における塩基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【0065】

【表 19】

	(46)	(47)	(48)	(49)	(50)	(51)	(52)	(53)	(54)	(55)	(56)	(57)	(58)	(59)	(60)	(61)	(62)	(63)	(64)	(65)
染色体_位置	8_145093982	8_145093062	8_145093223	8_145093412	8_145093416	8_145093457	8_145093508	8_145093572	8_145093601	8_145093730	8_145093783	8_145100154	8_145100625	8_145100758	8_145100799	8_145103199	8_145103205	8_145103206	8_145103283	8_145103344
配列番号:4 での位置	192	272	433	622	626	667	718	782	811	940	993	1364	1835	1968	2009	4409	4415	4416	4493	4554
塩基	G	T	A	G	G	G	C	G	A	G	T	G	T	T	C	A	T	G	G	G

【0066】

(e) 配列番号：5 の塩基配列の、全部、または下記(66)～(115)に示した位置の塩基を少なくとも一つ含む連続した一部であって、かつ下記(66)～(115)に示した位置における塩

基の少なくとも一つが、対応する下段に示した塩基または塩基配列であるポリヌクレオチド。

【 0 0 6 7 】

【 表 2 0 】

	(66)	(67)	(68)	(69)	(70)	(71)	(72)	(73)	(74)	(75)	(76)	(77)	(78)	(79)	(80)	(81)	(82)	(83)	(84)	(85)
染色体_位置	9_6533752	9_6533772	9_6533786	9_6533788	9_6533816	9_6533844	9_6533860	9_6533871	9_6533922	9_6533966	9_6533992	9_6534024	9_6534037	9_6534199	9_6534211	9_6534387	9_6534475	9_6534504	9_6534516	9_6534568
配列番号:5 での位置	2632	2652	2666	2668	2696	2724	2740	2751	2802	2846	2872	2904	2917	3079	3091	3267	3355	3384	3396	3448
塩基	T	G	C	C	A	T	G	G	G	T	G	T	G	G	C	G	T	C	A	A
	(86)	(87)	(88)	(89)	(90)	(91)	(92)	(93)	(94)	(95)	(96)	(97)	(98)	(99)	(100)	(101)	(102)	(103)	(104)	(105)
染色体_位置	9_6534667	9_6534794	9_6534852	9_6534952	9_6534974	9_6534975	9_6534985	9_6535013	9_6535016	9_6535022	9_6535048	9_6535131	9_6535417	9_6535424	9_6535463	9_6535481	9_6535494	9_6535499	9_6535560	9_6535564
配列番号:5 での位置	3547	3674	3732	3832	3854	3855	3865	3893	3896	3902	3928	4011	4297	4304	4343	4361	4374	4379	4440	4444
塩基	G	C	T	T	A	T	G	C	A	*	C	A	T	T	A	C	A	A	G	G
	(106)	(107)	(108)	(109)	(110)	(111)	(112)	(113)	(114)	(115)										
染色体_位置	9_6535568	9_6535642	9_6535666	9_6535682	9_6535742	9_6536067	9_6536074	9_6536075	9_6536093	9_6536095										
配列番号:5 での位置	4448	4522	4546	4562	4622	4947	4954	4955	4973	4975										
塩基	G	C	A	C	A	C	G	C	T	T										

* は TCTCGG

【 0 0 6 8 】

上記多型マーカーを含むポリヌクレオチドの長さは特に制限されないが、例えば4000塩基長以下であり、3000塩基長以下、2000塩基長以下、1000塩基長以下、500塩基長以下、300塩基長以下、100塩基長以下、50塩基長以下、30または20塩基長以下であってもよい。

【 0 0 6 9 】

本発明はまた、高免疫能ブタを判別する方法に用いるための識別もしくは判別用試薬を提供する。試薬の好ましい態様としては、以下の(a)または(b)のいずれかの物質を有効成分とする、高免疫能ブタ判別用検査薬が挙げられる。

(a) 配列番号: 5 ~ 10のいずれかに記載の塩基配列もしくはその相補鎖にストリンジент条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであって、該塩基配列中に存在する前述の(1) ~ (115)のいずれかの多型部位を含む領域を増幅するためのPCRプラ

10

20

30

40

50

イマー用オリゴヌクレオチド。

(b) 配列番号：5～10のいずれかに記載の塩基配列またはその相補鎖にストリンジェント条件下でハイブリダイズするオリゴヌクレオチドであって、該塩基配列中に存在する前述の(1)～(115)のいずれかの多型部位を含むDNA領域とハイブリダイズすることを特徴とするプローブ用オリゴヌクレオチド。

【0070】

ここで「ハイブリダイズする」とは、通常のハイブリダイゼーション条件下、好ましくはストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下(例えば、サンプブックら, Molecular Cloning, Cold Spring Harbour Laboratory Press, New York, USA, 第2版 1989に記載の条件)において、目的以外のDNAとクロスハイブリダイゼーションを有意に生じないことを意味する。特異的なハイブリダイズが可能であれば、該ポリヌクレオチドは、検出する上記塩基配列に対し完全に相補的である必要はない。

10

【0071】

ハイブリダイゼーションの条件は、当業者であれば適宜選択することができる。ハイブリダイゼーションの条件としては、例えば、低ストリンジェントな条件が挙げられる。低ストリンジェントな条件とは、ハイブリダイゼーション後の洗浄において、例えば42℃、0.1×SSC、0.1% SDSの条件であり、好ましくは50℃、0.1×SSC、0.1% SDSの条件である。より好ましいハイブリダイゼーションの条件としては、高ストリンジェントな条件が挙げられる。高ストリンジェントな条件とは、例えば65℃、5×SSCおよび0.1% SDSの条件である。これらの条件において、温度を上げる程に高い相同性を有するDNAが効率的に得られることが期待できる。但し、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに影響する要素としては温度や塩濃度など複数の要素が考えられ、当業者であればこれら要素を適宜選択することで同様のストリンジェンシーを実現することが可能である。

20

【0072】

このようなポリヌクレオチドは、本発明の判別方法におけるプローブやプライマーとして利用することができる。ポリヌクレオチドをプライマーとして用いる場合、その長さは、通常15塩基長～100塩基長であり、好ましくは17塩基長～30塩基長である。プライマーは、本発明の多型マーカを含むDNAを増幅しうるものであれば、特に制限されない。またポリヌクレオチドをプローブとして使用する場合、プローブは、本発明の多型マーカを含むDNA領域に特異的にハイブリダイズするものであれば、特に制限されない。プローブは、合成ポリヌクレオチドであってもよく、通常少なくとも15塩基長以上を有する。プライマーおよびプローブは、従来のプライマーの設計方法やプローブの設計方法を参考に、適宜設計できる。プライマーの設計方法のためには、ソフトウェアが市販されており、本発明のためにも使用できる。

30

【0073】

プライマーまたはプローブとして用いるポリヌクレオチドは、例えば市販のポリヌクレオチド合成機により作製することができる。プローブは、制限酵素処理等によって取得される二本鎖DNA断片として作製することもできる。

【0074】

本発明のポリヌクレオチドをプローブとして用いる場合は、適宜標識して用いることが好ましい。標識する方法としては、T4ポリヌクレオチドキナーゼを用いて、ポリヌクレオチドの5'端を³²Pでリン酸化することにより標識する方法、およびクレノウ酵素等のDNAポリメラーゼを用い、ランダムヘキサマーポリヌクレオチド等をプライマーとして³²P等のアイソトープ、蛍光色素、またはビオチン等によって標識された基質塩基を取り込ませる方法(ランダムプライム法等)を例示することができる。

40

【0075】

上記の識別もしくは判別用試薬(本発明の検査薬)においては、有効成分であるポリヌクレオチド以外に、例えば、滅菌水、生理食塩水、植物油、界面活性剤、脂質、溶解補助剤、緩衝剤、タンパク質安定剤(BSAやゼラチンなど)、保存剤等が必要に応じて混合されていてもよい。

50

【 0 0 7 6 】

また、本発明の試薬を少なくとも含有する高免疫能ブタ判別用キットもまた、本発明に含まれる。該キットには、上記 (a) または (b) のいずれかに記載の物質の他に、例えば、本発明の方法に用いるための各種試薬類、反応液、対照標品、反応容器、操作器具等を含めることができる。

【 0 0 7 7 】

[育種方法]

以上のように、本発明により、高免疫能ブタの判別方法が提供される。したがって、本発明により、目的の形質 (高免疫能または抗病性) を有するブタを予測することが幼少期の段階で可能となるため、効率的に所望の形質を有するブタ集団または系統を造成するの10に役立つ。よって本発明は、本発明の判別方法により、高免疫能ブタを選抜することを含む、抗病性の高いブタの育種方法を提供する。

【 0 0 7 8 】

所定の形質のブタを選択し、育成、または繁殖するブタの育種方法として、例えば、ある系統に、本発明により選抜された高免疫能ブタまたはその後代を、ある好ましい形質 (例えば産肉能力が高いこと、強健性であること、繁殖能力が高いこと、等) を有するブタとの交配に用いることにより、ある形質を有し、かつ抗病性を有するブタの系統が造成可能である。よって本発明は、本発明の判別方法により、高免疫能ブタを選抜し、選抜したブタまたはその後代を交配に用いることを含む、抗病性の高いブタの育種方法、並びに本発明の判別方法により、高免疫能ブタを選抜し、選抜したブタまたはその後代を交配に用20いることを含む、抗病性の高いブタの生産方法を提供する。なお、本発明の判別方法により、高免疫能ブタを選抜し、選抜したブタを交配に用いることを含む、抗病性の高いブタの生産方法により生産されたブタを繁殖させ、後代を得ることもまた、後代について本発明の判別方法により高免疫能ブタを選抜する / しないに関わらず、本発明により提供される多型マーカーと関連した抗病性の高い後代が得られる限り、本発明の生産方法の範疇に含まれる。

【 0 0 7 9 】

[多型効果の検証、その他]

本願によって開示される多型が目的の効果を有するものであることは、種々の方法により検証できる。例えば、多型を導入した発現ベクターを作成し、ブタ由来培養細胞、またはHEK293細胞等に遺伝子を導入後、レポーターアッセイにより、リガンド、例えば、リポ多糖 (Lipid A、TLR4のリガンド) およびpolyinosinic-polycytidylic acid (poly (I : C))、TLR3やRIG-I/MDA-5といったRNAセンサー分子のリガンド) 等を用いた病原体刺激に対する応答性の変化を解析することにより、検証できる。また、高免疫能ブタ集団および基礎集団以外の集団を用いた、免疫能や疾病関連形質 (例えば、肺炎罹患率等) と多型との関連を調査することにより、検証することができる。このような検証手段は当業者にはよく知られており、当業者であれば、適宜実験を計画し、実施することができる。

【 0 0 8 0 】

従来、ブタの抗病性に関しては、その形質測定が困難であることから、遺伝的改良の試みはほとんど行われてこなかった。本発明者らにより、間接的免疫形質が抗病性改良のための選抜指標となる可能性と、免疫系遺伝子に関連する多型が感染症に対する感受性 / 抵抗性のマーカーとなる可能性とが見出された。その上でなされた本発明は、高免疫能ブタを判別するための多型マーカーとその利用を提供するものであり、抗病性育種の実現に役立つと考えられる。

【 0 0 8 1 】

また本発明は、本発明により提供される新規なポリヌクレオチドを有する高免疫能を有するブタまたは抗病性の高いブタを提供する。さらに本発明は、本発明により得られた高免疫能を有するブタまたは抗病性の高いブタから得られる、肉および肉の加工品 (例えば、ハム、ソーセージ、ベーコン、焼豚等) を提供する。

【 実施例 】

10

20

30

40

50

【0082】

以下、本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが、本発明はこれら実施例に制限されるものではない。

【0083】

[高免疫能ブタ集団での遺伝子発現変化の解析]

【0084】

(腎臓からのマクロファージ単離)

高免疫能ブタ集団およびその基礎集団に属する、同じ性別のそれぞれ4頭ずつの実験ブタから腎臓を採材した。マクロファージの単離は、混合培養系による繰り返しの細胞回収が可能なる方法により行った(非特許文献6)。具体的には、人組織をコラゲナーゼ処理により系球体/尿細管の単位にまで分散させた後、培養フラスコに播種すると、2~3週間後に

10

フィーダーである人実質細胞の上層にマクロファージが増殖してくるので、これを回収して実験に供した。撈取後のフラスコに培地を追加して培養することにより、繰り返しマクロファージの増殖・回収が可能であり、実験に必要な細胞数を確保した。

【0085】

(免疫系分子の発現解析)

全8頭の実験ブタに由来するマクロファージに対して、0(非刺激)、1、および4時間刺激の3点の時系列で解析を行った。刺激は、細菌感染およびウイルス感染を想定して、リポ多糖(Lipid A、TLR4のリガンド)およびpolyinosinic-polycytidylic acid(poly(I:C))、TLR3やRIG-I/MDA-5といったRNAセンサー分子のリガンド)により行った。4時間刺激後の細胞からトータルRNAを抽出し、マイクロアレイによるmRNAの網羅的発現解析を行った。

20

【0086】

発現変化についてのデータセットについて、Gene Ontology解析を行い、免疫応答に関連すると想定される遺伝子([GO:0002376] immune system process、[GO:0001071] Nucleic acid binding transcription factor activity、[GO:0006914] autophagy、[GO:0061630] ubiquitin protein ligase activity)を抽出した。高免疫ブタ集団と基礎集団と間で3倍以上の差が検出された遺伝子を、図1Aおよび図1Bに示した。

30

【0087】

高免疫ブタ集団において、基礎集団と比較して発現が3倍以上上昇していた遺伝子は、Lipid A刺激で42個、poly(I:C)刺激で27個であった。これらのうち25個の遺伝子が重複して検出され、刺激による差は大きくないことが示唆された。検出された遺伝子のうち情報の乏しいFOXS1遺伝子とPLSCR1遺伝子を除く42個の遺伝子について、プロモーター多型の検出を行った。

【0088】

[発現差のある免疫系分子のプロモーター多型の検出]

(多型の検出)

各集団から10頭ずつについて、プロモーター領域5kbの多型検索を行った。国際ブタゲノムシーケンシングコンソーシアムにより解読されたブタゲノム塩基配列(Sscrofa10.2)(非特許文献7)を利用して、転写開始点から約5kb上流までを抽出し、シークエンス用のプライマーを合成した。

40

【0089】

その結果、42個の遺伝子のプロモーター領域200.48kbにおいて合計1654個のSNPと577個のInsertion/Deletion(挿入/欠失)が検出された。これらのうち、TRIM21、STAT3、TMEI50C、RNASEL、SAMHD1において、それぞれ50、30、20、9、6個が集団間で分布パターンが有意に異なる多型として同定された。高免疫ブタ集団と基礎集団との間で分布の偏りが見られたプロモーター多型に関し、下表にまとめた。All行は、検出された全ての多型の数、Complete genotype行は、そのうち20頭全てでデータが取得できた多型の数、 $P<0.01$ と $P<0.001$ の行は、そのうち集団間で有意に分布パターンが異なることが示された(カイ

50

二乗独立性の検定) 多型の数を示す。

【 0 0 9 0 】

【 表 2 1 】

Gene	Polymorphism	SNP	In/del	Total
RNASEL	All	48	13	61
	Complete genotype	46	9	55
	P<0.01	7	2	9
SAMHD1	All	12	5	17
	Complete genotype	8	3	11
	P<0.01	6	0	6
STAT3	All	54	5	59
	Complete genotype	48	5	53
	P<0.01	30	0	30
	P<0.001	29	0	29
TMEM150C	All	29	8	37
	Complete genotype	27	6	33
	P<0.01	19	1	20
TRIM21	All	68	10	78
	Complete genotype	65	10	75
	P<0.01	46	4	50
	P<0.001	17	2	19

10

20

【 0 0 9 1 】

(ハプロタイプの推定)

プロモーター多型で構成されるハプロタイプを推定し、下表に示した。

30

【 0 0 9 2 】

【 表 2 2 】

Gene	Haplotype	Sequence						Normal	Immune competent	P value (Chi squared test)
		rs335785383	rs3344515185	rs333458730	rs338651007	rs344582534	rs711743249	rs693137938		
RNASEL	Reference	T	A	C	G	G	0	T	A	0
	1	C	T	G	A	A	1	C	G	1 2
	2	T	A	C	G	G	0	T	A	0 18
9_136228815 0:TCCCGCA, 1:T										
9_136229299 0:AAGAGGCAAAGC, 1:A										

40

【 0 0 9 3 】

【表 2 3】

Gene	Haplotype	Sequence						Normal	Immune competent	P value (Chi squared test)
		rs329462181	rs320352723	rs339018911	rs333640044	rs334576092	rs325504200			
SAMHD1	Reference	A	T	A	C	G	C			
	1	A	T	A	C	G	C	10	2	0.0058
	2	G	C	G	T	A	A	10	18	

【0 0 9 4】

【表 2 4】

Gene	Haplotype	Sequence																				Normal	Immune competent	P value (Chi squared test)								
		rs322400358	rs323551092	rs333704989	rs345806666	rs327720240	rs342234986	rs337439973	rs321389521	rs339947474	rs323337238	rs333767064	rs325248313	rs335470846	rs346025600	rs321007682	rs336602207	rs327234400	rs336588669	rs320612748	rs343331900				rs322656227	rs332095737	rs333178620	rs343984165	rs320506836	rs335649261		
STAT3	Reference	G	A	T	A	C	G	G	G	A	T	G	C	A	C	A	G	G	T	T	G	C	G	A	T	G	T	G	G	C	G	
	1	A	C	G	G	C	A	A	A	T	C	G	C	A	T	A	A	G	C	C	A	T	A	G	A	C	A	A	A	T	A	4
	2	G	A	T	A	C	G	G	G	A	T	G	C	A	C	A	G	C	C	G	C	G	A	T	C	T	G	T	A	4	1	
	3	G	A	T	A	T	G	G	G	A	T	A	T	G	C	G	A	T	C	A	C	G	A	T	G	T	G	G	C	G	1	0
	4	G	A	T	A	T	G	G	G	A	T	A	T	G	C	G	A	T	T	G	C	G	A	T	G	T	G	G	C	G	10	1
5	G	C	G	A	C	G	G	A	T	G	C	A	C	A	G	G	C	C	G	C	A	G	T	G	A	A	A	T	A	1	0	

【0 0 9 5】

【表 2 5】

Gene	Haplotype	Sequence																		Normal	Immune competent	P value (Chi squared test)
		rs339621207	rs324370749	rs336546880	rs346168385	rs328517558	rs338002930	rs318439449	rs337310563	rs328698336	rs324068316	rs322180376	rs345937406	rs321088654	rs329133937	rs343025481	rs705391583	rs323929109	rs338770226			
TMEM150C	Reference	G	T	G	G	G	C	G	A	G	T	G	T	T	C	A	T	G	G	G		
	1	G	T	G	G	G	C	G	A	G	T	G	T	T	C	A	T	G	G	G		
	2	T	C	1	A	A	A	T	A	C	A	G	A	C	G	T	T	C	A	A		
	3	T	C	1	A	A	A	T	A	C	G	G	A	C	G	T	T	C	A	A		

8_145099223 0:A, 1:AT

【0 0 9 6】

【表 2 6】

Gene	Haplotype	Sequence																													Normal	Immune competent	P value (Chi squared test)
		rs20185093	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752	rs333752
TRM21	Reference	G	T	A	T	A	C	A	A	C	A	A	T	A	C	T	T	G	A	T	A	G	C	A	A	T	A	G	C	A	A	T	C
	1	G	T	A	T	A	C	A	A	C	A	A	T	A	C	T	T	G	A	T	A	G	C	A	A	T	A	G	C	A	A	T	C
	2	G	T	A	T	A	C	A	A	C	A	A	T	A	C	T	T	G	A	T	A	G	C	A	A	T	A	G	C	A	A	T	C
	3	G	T	A	T	A	C	A	A	C	A	A	T	A	C	T	T	G	A	T	A	G	C	A	A	T	A	G	C	A	A	T	C

9_65337720:GT, 1G
 9_65350130:CGA, 1C
 9_65350220:T, 1TCTCCG
 9_65354630:AG, 1A

10

20

30

40

50

【 0 0 9 7 】

[実施例で引用した文献]

非特許文献 6 : Kitani, H., T. Takenouchi, M. Sato, M. Yoshioka, M. Yamanaka, J. V
is Exp.51 e2757, 2011

非特許文献 7 : Groenen, M. A. M., A. L. Archibald, H. Uenishi, et al., Nature 491
:393-398, 2012

【 配列表フリーテキスト 】

【 0 0 9 8 】

SEQ ID NO.: 1 RNASELの転写開始点より上流5000bpの塩基配列

SEQ ID NO.: 2 SAMHD1の転写開始点より上流5000bpの塩基配列

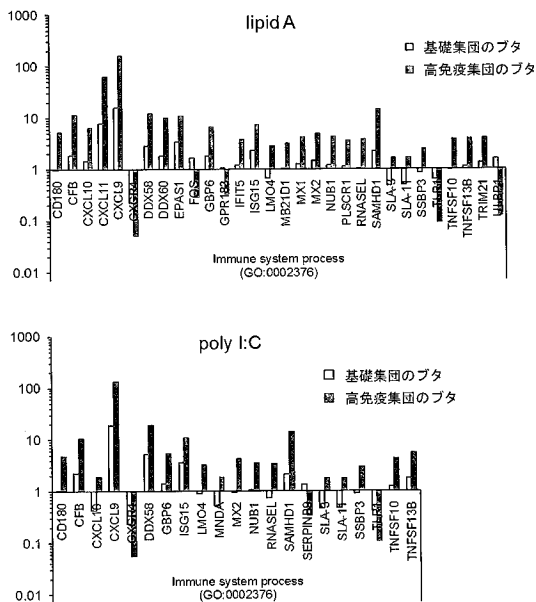
SEQ ID NO.: 3 STAT3の転写開始点より上流5000bpの塩基配列

SEQ ID NO.: 4 TMEM150Cの転写開始点より上流5000bpの塩基配列

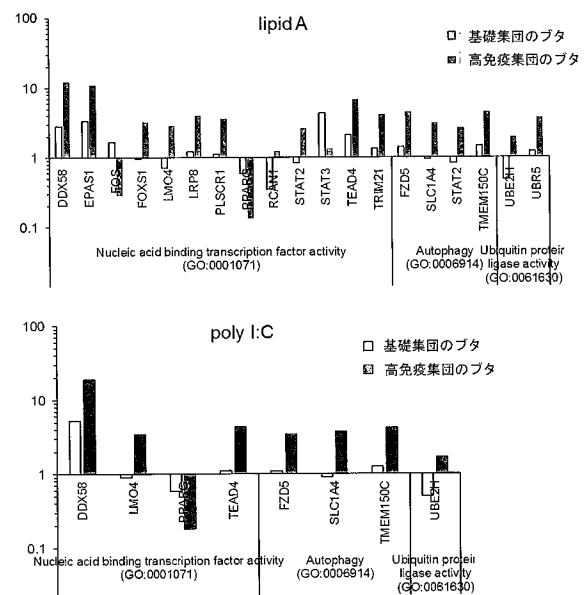
SEQ ID NO.: 5 TRIM21の転写開始点より上流5000bpの塩基配列

10

【 図 1 A 】



【 図 1 B 】



【配列表】

2017163907000001.app

フロントページの続き

(72)発明者 ▲高▼萩 陽一

茨城県つくば市緑ヶ原 3 丁目 3 番地 日本ハム株式会社中央研究所内

(72)発明者 助川 慎

茨城県つくば市緑ヶ原 3 丁目 3 番地 日本ハム株式会社中央研究所内

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA12 QA13 QA20 QQ02 QQ42 QQ53 QR62 QS24 QS25

专利名称(译)	鉴别超免疫猪的方法及其多态标记		
公开(公告)号	JP2017163907A	公开(公告)日	2017-09-21
申请号	JP2016052805	申请日	2016-03-16
[标]申请(专利权)人(译)	日本火腿股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	国立研究开发法人农业·食品产业技术総合研究机构 日本火腿公司		
[标]发明人	新開浩樹 上西博英 助川慎		
发明人	新開 浩樹 上西 博英 ▲高▼萩 陽一 助川 慎		
IPC分类号	C12Q1/68 C12N15/09 A01K67/027 G01N33/53		
FI分类号	C12Q1/68.ZNA.A C12N15/00.A A01K67/027 G01N33/53.M C12Q1/68.AZN.A		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA12 4B063/QA13 4B063/QA20 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QQ53 4B063/QR62 4B063/QS24 4B063/QS25		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

由遗传特征解决的问题被改善以改善贫困的抗生素 本发明提供了用于鉴别高免疫猪，在感兴趣猪的基因组中的方法，（ 1 ）在染色体上的位置的至少一个碱，如图 - （ 115 ），所述特定碱基或碱基序列在这种情况下，它被确定为高免疫力的猪。可以预期这种鉴别方法可用于高度抗菌猪的繁殖和高度抗菌猪的生产。

(19) 日本国特許庁 (JP)		(12) 公 開 特 許 公 報 (A)	(11) 特許出願公開番号 特開2017-163907 (P2017-163907A)
			(43) 公開日 平成29年9月21日 (2017. 9. 21)
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考) 4 B 0 6 3	
C 1 2 Q 1/68 (2006. 01)	C 1 2 Q 1/68	Z N A A	
C 1 2 N 15/09 (2006. 01)	C 1 2 N 15/00	A	
A O 1 K 67/027 (2006. 01)	A O 1 K 67/027		
G O 1 N 33/53 (2006. 01)	G O 1 N 33/53	M	
審査請求 未請求 請求項の数 7 O L (全 32 頁)			
(21) 出願番号 特願2016-52805 (P2016-52805)	(71) 出願人 501203344	(71) 出願人 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 茨城県つくば市観音台3-1-1 000229519 日本ハム株式会社 大阪府大阪市北区梅田二丁目4番9号 (74) 上記1名の代理人 110000109 特許業務法人特許事務所サイクス (72) 発明者 新開 浩樹 茨城県つくば市観音台2丁目1-2 国立研究開発法人農業生物資源研究所内 (72) 発明者 上西 博英 茨城県つくば市観音台2丁目1-2 国立研究開発法人農業生物資源研究所内 最終頁に続く	
(22) 出願日 平成28年3月16日 (2016. 3. 16)			
(54) 【発明の名称】 高免疫能ブタの判別方法、およびそのための多型マーカー			