

# 「多型マイクロサテライトの収集とヒトゲノム多様性に関する研究」

(H12年～H16年)

H14年度予算額：2.5億円(2.4億円)

研究代表者：猪子英俊(東海大学)

研究体制：東海大学(中核機関)他2機関

## 研究の概要・目標

### 1 何を目指しているのか

マイクロサテライトの繰り返し回数の多型検索技術の開発と、ゲノム全体へのヒト多型マイクロサテライトの設定を行い、遺伝的要因を効率的に明らかにする系を構築する。

#### 3年後の目標：

- 質量分析法によるマイクロサテライト多型の検索基盤技術の確立
- 30,000個の多型マイクロサテライトの設定

#### 5年後の目標：

- 多型マイクロサテライトのデータベースの構築
- マイクロサテライト多型検索技術の効率化

### 2 何を研究しているのか

- ・質量分析法でマイクロサテライトの分子量決定による繰り返し多型の検索技術開発
- ・ゲノム全体に密に30,000個の多型マイクロサテライトの設定
- ・日本人の多型マイクロサテライトのデータベースの構築

### 3 何が新しいのか

- ・DNAの分子量を質量分析法により測定し、多型マイクロサテライトを検索する技術
- ・ゲノム全体の多型マイクロサテライトの設定とゲノムマッピングへの適用

マイクロサテライト：ゲノム上に約百万個存在する、2から5塩基からなる繰り返し配列。繰り返しの回数に多型が存在。

## 諸外国の現状等

### 1 現状

マイクロサテライト多型に関する研究としては、1994年にフランスのグループが白人のマイクロサテライト6000個を設定した。しかし、数量的に少ないこと、効率的な検索技術開発が遅れていることもあり、ゲノム全体のマイクロサテライトを利用した相関解析は行われていない状況。

### 2 我が国の水準

我が国でもゲノムワイドのマイクロサテライトの設定は行われていない。しかし、東海大学のグループが一部の領域にマイクロサテライトを設定し、相関解析で成果をだし、また、質量分析法の技術としても、数十塩基のDNAをステンレス版上で、測定する技術を有している。

## 研究進展・成果がもたらす利点

### 1. 世界との水準の関係

多様性に富むマイクロサテライトの設定は、疾患原因遺伝子のマッピングを効率的に行うことを可能とし、世界に遅れをとっていた日本のゲノム多様性研究が、世界の中心となりうる。また、多検体、高分子量のDNAを質量分析法により決定する方法は、従来のハイブリダイゼーションを基本とするDNAチップ技術に対し、DNAチップ解析のブレークスルーとなるうる技術である。

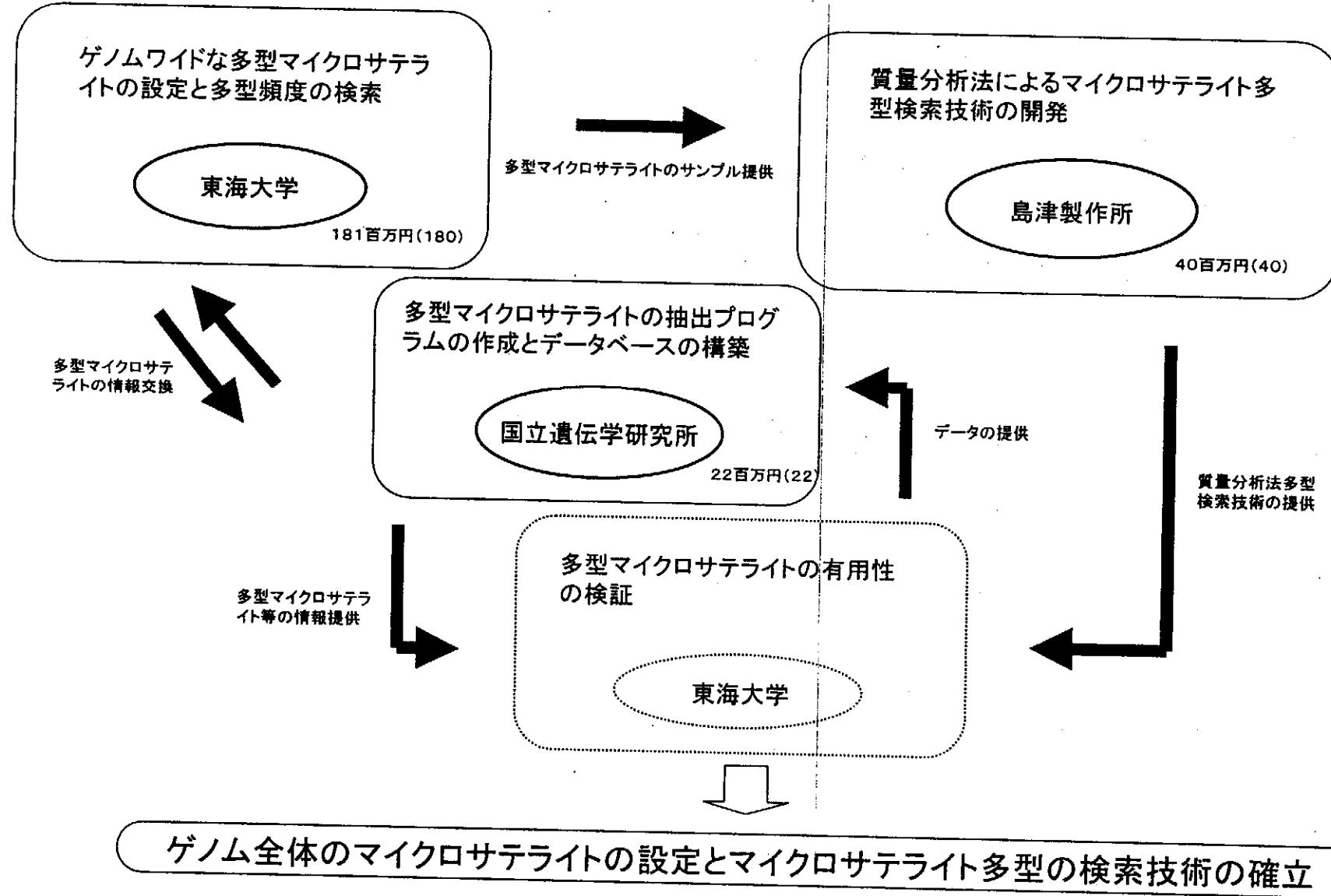
### 2 波及効果

マイクロサテライトのヒトゲノム上の高密度の設定は、多因子性の身長、体重などの量的形質や学習、性格などの行動に関係するヒト遺伝子の同定という、生物種としてのヒトの生命現象を分子レベルで理解する可能性が開かれる。また、マイクロサテライトの多くは、ヒトゲノムの95%を占めるjunk DNA(機能不明の塩基配列)に存在するので、その多型が特定の表現型をしめせば、junk DNAの機能も探ることが可能となる。さらに、分子量の差を質量分析により検出する技術は、将来DNA診断法に活用できる。

# 多型マイクロサテライトの収集とヒトゲノム多様性に関する研究

H12年度～H16年度

研究代表者：猪子 英俊（東海大学） 研究体制：東海大学（中核機関）他2機関



第Ⅰ期研究における所用経費

「多型マイクロサテライトの収集とヒトゲノム多様性に関する研究に関する研究」

(単位:千円) (単位:千円)

| 研究項目   | 担当機関等              | 研究担当者  |         |         |         | 所用経費    |
|--|--------------------|--------|---------|---------|---------|---------|
|  |                    |        | 12年度    | 13年度    | 14年度    |         |
| 1.高分子量検体用の精度の高い質量分析法を用いたDNAチップ(MSチップ)の開発に関する研究 | 株式会社島津製作所<br>分析機器部 | 川畠 慎一郎 | 39,824  |         |         | 39,824  |
|  |                    | 権田 誠   |         | 39,844  |         | 39,844  |
|  |                    | 藤分 秀司  |         |         | 40,192  | 40,192  |
| 2.ゲノムワイドな多型マイクロサテライト30,000個の設定に関する研究           | 東海大学医学部            | 安藤 麻子  | 179,663 |         |         | 179,663 |
|  |                    | 猪子 英俊  |         | 180,442 | 181,346 | 361,788 |
| 3.ドラフト配列の情報の各染色体毎の整理や管理に適したデータベースの構築に関する研究     | 国立遺伝学研究所           | 五條堀 孝  | 22,497  | 21,999  | 22,433  | 66,929  |
| 4.研究推進   | 東海大学医学部            | 猪子 英俊  | 1,244   | 1,344   | 1,209   | 3,797   |
| 合 計  |                    |        | 243,228 | 243,629 | 245,180 | 732,037 |

## 研究目標の概要・成果の概要〈課題全体〉

課題名（研究代表者）：多型マイクロサテライトの収集とヒトゲノム多様性に関する研究  
(猪子 英俊)

### 【研究目標の概要】

ヒトゲノムの全塩基配列決定の完了が間近にせまった現在、今後の「ポストゲノムシーカーング」としての大きな課題の一つは、同定された遺伝子の機能解析であることは間違いない。そのための有力なアプローチである、ある遺伝的多型とヒトでみられる個性的な生物現象との相関を追及することによって、遺伝子とヒトが示す表現型の機能的因果関係、例えば疾患についてはその遺伝要因を解明することが可能となる。このような多様性検索こそが、実験動物で行われる遺伝子のノックアウト操作や交配実験が許されないヒトについての、ゲノム機能の解析の突破口を開く、と期待される。

そこで本研究では、世界的に進行しようとしているヒトゲノム多様性プロジェクトの標的であるSNP (single nucleotide polymorphism : 単一ヌクレオチド多型；遺伝子内の一塩基置換、欠失、挿入による差異にもとづく多型) に比べ、多型に富み、したがってより精度の高いマッピングが可能なマイクロサテライトに注目した。マイクロサテライトは、我々の解析から連鎖不平衡の長さが、平均100 kbをしめすので、100 kbに1個、すなわち、ゲノムワイドには30,000個（ヒトゲノムサイズ 3 Gb ÷ 100 kb = 30,000個）の多型マイクロサテライトを設定すれば、ゲノムワイドな相関解析が可能となる。これらの考察をもとに、本プロジェクトではまず大量のマイクロサテライトについて、その繰り返し多型を質量分析法により検索しうるDNAチップ技術 (MS チップ) を開発する。続いて、この技術を用いてゲノムワイドにヒトの多型マイクロサテライト 30,000個を収集し、さらにマイクロサテライトを多型遺伝マーカーとする相関解析により、生活習慣病などの複合遺伝性疾患の感受性遺伝子を同定することを目的とした。このような多型マイクロサテライトを用いたゲノム多様性に関する大規模な研究は、疾患に関する感受性遺伝子の多型（変異）の同定を効率的に推進し、疾患の治療と予防、創薬に役立つのみならず、学習、記憶、性格などの表現型などのヒト高次行動に関与するヒトの遺伝子やそれらのゲノム機能を同様のマッピングにより明らかにしえる可能性があり、生物種としてヒトの「ヒト」たる生命現象の分子レベルでの理解へと展開するであろう。

本プロジェクトでは、この最終目標を達成するため、平成12年度より現在まで、次の3つの項目について研究計画と目標を設定した。1) 質量分析法を用いたDNAチップによるマイクロサテライト繰り返し多型の検索技術を開発する。2) 多型マイクロサテライトマーカーをゲノムワイドに収集し、30,000個の多型マイクロサテライトマーカーの設定 (100 kbに1個の密度) を行い、それぞれの多型マイクロサテライトマーカーについて対立遺伝子の頻度を調査する。3) 2) の項目を円滑に進めるために、マイクロサテライト配列を抽出するプログラムの作成とデータベースの構築に関するバイオインフォマティックスの充実を図る。

### 【研究成果の概要】

上記の3項目の研究計画を遂行し、それぞれ次に掲げる研究成果が得られた。

#### 1. 高分子検体用の精度の高い質量分析法を用いたDNAチップ (MSチップ) に関する研究

マイクロサテライト繰り返し多型の検索を正確かつ迅速に行うべく、分子量の差を非常に高感度で検出でき、かつ低コストなMALDI-TOF型質量分析法に着目して高分子DNA測定技術の開発を進めてきた。まず、長鎖長DNAを高精度に測定するために、質量分析の至適条件の検討および測定精度に重要な役割を果たすマトリックスの探索を進めた。その結果、至適条件を設定し、汎用マ

トリックスよりも10倍以上も高い精度での測定が可能な新規マトリックス 2, 4-Dehydroxyaceto phenon (2, 4-DHAP)を見出した。また、7-デアザプリンヌクレオチドを使用することにより、DNA試料のフラグメンテーション(断片化)による精度低下の抑制方法を確立した。新規マトリックスおよび7-デアザプリンヌクレオチドを用いてマイクロサテライト配列を想定した長鎖長DNAを分析したところ、マイクロサテライト繰り返し多型の検索に十分な精度での測定に成功した。これらの成功によって、過去の既報では数塩基差を識別するには、30塩基程度のオリゴマーの検出が限界であったが、今回の研究では100塩基程度の分子量を検出することに成功した。

また、解析系のハイスループット化を目指して多数の微量サンプルをスポットしたDNAチップ (MSチップ) を安価なガラスプレートで作製した。このMSチップを用いて基礎検討を行い、マイクロサテライト繰り返し多型の検索のみならず一塩基多型(SNPs)の解析にも応用できる、極めて高精度の測定技術を確立した。さらには、長鎖長DNAの測定に適すると考えられるIRレーザーを搭載したMALDI-TOF型質量分析機器を開発し、その有効性を検討した。

## 2. ゲノムワイドな多型マイクロサテライトマーカー 30,000 個の設定と各対立遺伝子の頻度の検索に関する研究

我々の研究室で確立した、DNAサンプル100～150人分のDNAを混合したpooled DNAを鋳型としたPCR産物について、DNA自動DNAシークエンサーにてその鎖長を測定することにより、効率よく多型を検定できるPooled DNA法を利用して、多型性マーカーの設定に関する研究を行った。具体的には下記3項目の研究完遂を目標とした。

(1)ヒトゲノム ドラフト配列からの日本人で多型をしめすマイクロサテライト30,000 個の抽出  
DNA データバンクに登録されているヒトゲノムドラフト配列データより、2～5 塩基の繰り返しをもつマイクロサテライトを抽出し、日本人で多型をしめすマイクロサテライトマーカーを検索した。現在までに合計61,147個のプライマーセットにて多型の有無を調べ、多型を有するものとして31,135個の多型マイクロサテライトマーカーの設定に成功し、当初の目標を達成した。またこれらの設定したマーカーについて、平均のヘテロ接合率とアリル数はそれぞれ0.6と6.0個であった。さらにこの多型マイクロサテライトマーカー間の物理距離の平均は100.9kbであったことから、ゲノムワイドな遺伝的相関解析に適した密度を確保することができた。現時点における、ヒトゲノムシークエンシングの進捗状況を鑑みると、マーカー設定はその目標を達成したといえる。また、これらのマーカーは染色体上の物理的位置情報に従って、後のゲノムワイド遺伝的相関解析に即時使用可能な状態にカタログ化を行った。

### (2)多型マイクロサテライトマーカー 30,000 個の各対立遺伝子頻度の検索

上記で収集した計31,135個の多型マイクロサテライトマーカーについて、日本人健常者100から由来するDNAを使用して、pooled DNA法にて各対立遺伝子の数と頻度を明らかにした。

### (3)多型マイクロサテライトマーカーを用いた日本人の遺伝的特性の検討

複合遺伝性疾患の感受性遺伝子を同定することが本研究の最終目標であるが、研究対象となる日本人集団の遺伝的特性の理解が重要な前提となる。日本人集団の染色体中に、どの程度の連鎖不平衡が維持されているのかといった調査や、その遺伝的均質性に関する検討が必要である。特に、日本人集団内部に遺伝的構成の異なる分集団 (subpopulation) が存在する階層化 (stratification) と呼ばれる現象が生じている場合には、遺伝的相関解析の結果に高い偽陽性が含まれかねないという重大な問題が生じる。そこで本研究サブテーマでは、Y染色体・X染色体・常染色体という遺伝様式の異なる複数の領域に設定した多型マイクロサテライトマーカーを用いて、日本人集団における連鎖不平衡強度の測定と、日本人集団における階層化の検討を行った。その結果、日本人集団では、遺伝的に非常に均質とされるフィンランド人集団よりも長い範囲にわたって連鎖不平衡が維持されていることが分かった。また、日本人集団では顕著な階層化は観察さ

れず、日本人集団を用いた複合性疾患の遺伝的相関解析において、異なる分集団の混合に由来する階層化を考慮する必要はないということが分かった。したがって現在我々が収集している健常人のサンプル（500人）が、ゲノムワイドな相関解析にコントロールとして、使用できることが確かめられた。

### 3. マイクロサテライト配列の抽出プログラムの作成とデータベースの構築に関する研究

マイクロサテライト・データベースの構築とその公開準備として、これまでに収集済みの多型マイクロサテライトマーカーの情報を整理し、データベース化の作業を行った。これらの情報はSQL言語を使った関連型データベースとして整理しており、また、今後のデータ利用に向けて高速な検索システムやWWWのインターフェイスの開発に成功した。これらのデータベースにおいては、得られた多型マイクロサテライトマーカーの情報を利用し、統計解析によるマイクロサテライトDNAの性質の解明を目指して、リピート単位の塩基の種類、リピート長、周辺配列の塩基組成、ゲノム上の位置、多型対立遺伝子数、ヘテロ接合率、単塩基置換多型（SNP）の頻度などに関する情報を収集・整理した。これによりヒトのマイクロサテライトDNAの多型に関する基本的な性質を明らかにするための基盤が構築された。さらに、疾患感受性遺伝子探索に向けて、関連ソフトウェアの収集およびマイクロサテライト・データベースとの連携について調査研究を行った。

以上により、現在までの調査研究において、計画した3つの項目は極めて順調に各目標が達成された。この成果をふまえ、今後の調査研究の発展のための基盤となる、重要な進捗を果たすことができたといえる。

研究成果公表等の状況<課題全体>

課題名（研究代表者）：多型マイクロサテライトの収集とヒトゲノム多様性に関する研究（猪子英俊）

**【研究成果発表等】**

|    | 原著論文による発表 | 左記以外の誌上発表 | 口頭発表 | 合 計        |
|----|-----------|-----------|------|------------|
| 国内 | 件         | 40 (1) 件  | 47 件 | 87 (1) 件   |
| 国外 | 70 (11) 件 | 6 (3) 件   | 28 件 | 104 (14) 件 |
| 合計 | 70 (11) 件 | 46 (4) 件  | 75 件 | 191 (15) 件 |

(注：既発表論文について記載し、投稿中の論文については括弧書きで記載のこと)

**【特許出願等】 13 件 (国内 10 件、国外 3 件)**

**【受賞等】 2 件 (国内 1 件、国外 1 件)**

【主要雑誌への研究成果発表】

| Journal                    | Impact Factor | サブテーマ | 合計      |
|----------------------------|---------------|-------|---------|
| Nature Genetics            | 29.600        | 1     | 29.600  |
| Nature                     | 27.955        | 1     | 27.955  |
| J Clinical Investigation   | 14.118        | 1     | 14.118  |
| Proc Natl Acad Sci U S A   | 10.896        | 3     | 32.688  |
| Am J Hum Genet             | 10.542        | 2     | 21.084  |
| Blood                      | 9.273         | 2     | 18.546  |
| Genome Res                 | 8.559         | 2     | 17.118  |
| Nucleic Acids Res          | 6.373         | 4     | 25.492  |
| J Virol                    | 5.622         | 1     | 5.622   |
| Dev Biol                   | 5.558         | 1     | 5.558   |
| Genomics                   | 4.803         | 3     | 14.409  |
| Int J Cancer               | 4.233         | 1     | 4.233   |
| Invest Ophthalmol Vis Sci  | 4.172         | 1     | 4.172   |
| J Mol Evol                 | 4.011         | 5     | 20.055  |
| J Clinical Immunology      | 3.442         | 2     | 6.884   |
| Gene                       | 3.041         | 7     | 21.287  |
| Biochem Biophys Res Commun | 2.946         | 1     | 2.946   |
| Tissue Antigens            | 2.864         | 19    | 54.416  |
| J Neurovirol               | 2.701         | 1     | 2.701   |
| Bone Marrow Transplant     | 2.554         | 1     | 2.554   |
| Hum Immunol                | 2.373         | 2     | 4.746   |
| Immunogenetics             | 2.268         | 4     | 9.072   |
| その他                        |               | 6     | 5.846   |
| 主要雑誌小計                     |               | 65    | 345.256 |
| 発表論文合計                     |               | 71    | 351.102 |

## 原著論文による発表の内訳

### 1. 国外 [発表題名、発表者名、発表誌名等（雑誌名、巻、号、頁、年等）]

1. Large scale duplications in vertebrate evolution: insights from amphioxus. L. Abi-Rached, A. Gilles, T. Shiina, P. Pontarotti, H. Inoko. *Nature Genetics* 31:100-105, 2002.
2. A basolateral sorting motif in the MICA cytoplasmic tail. Suemizu H, S. Bharam, H. Inoko. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:2971-2976, 2002.
3. Genetic isolates in East Asia: A study of linkage disequilibrium in the X chromosome, Katoh T, Mano S, Ikuta T, Munkhbat B, Tounai K, Ando H, Munkhtuvshin N, Imanishi T, Inoko H, Tamiya G. *Am J Hum Genet* 71:395-400, 2002.
4. Genomic anatomy of a premiar Major Histocompatibility Complex paralogous region onchromosome 1q21-22. Shiina T, Ando A, Suto Y, Kasai , Shigenari A, Takishima N, Kikkawa E, Iwata K, Kuwano Y, Kitamura Y, Matsuzawa Y, Sano K, Nogami M, Kawata H, Li S, Fukuzumi Y, Yamazaki M, Tashiro H, Tamiya G, Kohda A, Okumura K, Ikemura T, Soeda E, Mizuki N, Kimura M, Bahram S, Inoko H. *Genome Research* 11: 789-802, 2001.
5. A second susceptibility gene for developing rheumatoid arthritis in the human MHC is localized within a 70 kb interval telomeric of the TNF genes in the HLA class III region. Ota M, Katsuyama Y, Kimura A, Tsuchiya K, Kondo M, Naruse T, Mizuki N, Sasazuki T, Inoko H. *Genomics* 71: 263-270, 2001.
6. A microfilament formation inhibitor, cytochalasin strongly enhances the low-affinity Fc receptor II (CD23) expression on the human monocyte-like cell line, U937. Ikewaki I, Tamauti H, Yamada A, Aoki M, Yamamoto R, Sawada A, Inoko H. *J Clinical Immunology* 20 : 424-433, 2001.
7. Genomic and phylogenetic analysis of the human CD1 and HLA class I multicopy genes. Kulski JK, Dunn DS, Garidieri S, Shiina T, Inoko. *J Mol Evo* 53: 642-650, 2001.
8. Microsatellite mapping of a susceptible locus within the HLA region for Behcet's disease using Jordanian patients, Mizuki N, Yabuki K, Ota M, Verity D, Katsuyama Y, Ando H, Onari K, Goto K, Imagawa Y, Mandnat W, Fayyad F, Stanford M, Ohno S, Inoko H. *Hum Immunol* 62: 186-190, 2001.
9. New microsatellitemarkers in the human MHC class III region, Matsuzaka K, Makino S, Nakajima K, Tomizawa M, Oka A, Bahram S, Kulski JK, Tamiya G, Inoko H. *Tissue Antigens* 57: 397-404, 2001.
10. The beta 1,3-galactosyltransferase-4 (B3GALT4) gene is located in the centromeric segment of the human MHC class II region. Shiina T, Kikkawa E, Iwasaki H, Kaneko M, Narimatsu H, Sasaki K, Bahram S, Inoko H. *Immunogenetics* 51: 75-78, 2000.
11. Microsatellite mapping of a susceptible locus within the HLA region for Behcet's disease using Jordanian patients. Mizuki N, Yabuki K, Ota M, Verity D, Katsuyama Y, Ando H, Onari K, Goto K, Imagawa Y, Mandnat W, Fayyad F, Stanford M, Ohno S, Inoko H. *Hum Immunol* 62: 186-190, 2001.
12. Genetic polymorphisms in the cell growth regulated gene, SC1 telomeric of the HLA-C gene and lack of association of psoriasis vulgaris. Teraoka Y, Naruse TK, Oka A, Matsuzawa Y, Shiina T, Iizuka M, Iwashita K, Ozawa A, Inoko H. *Tissue Antigens* 55: 206-211, 2000.
13. Mapping of the HLA-linked genes controlling the susceptibility to Takayasu's arthritis, Kimura A, Ota M, kastuyama Y, Ohbuci N, Takahashi M, Kobayashi Y, Inoko H. *Int J Cardiology* 75: S105-S110, 2000.
14. Localization of the pathogenic gene of Behcet's disease by microsatellite analysis of three different populations, Mizuki N, Ota M, Yabuki K, Katsuyama Y, Ando H, Palmeris GD, Kaklamani E, Accorinti M, Pivetti-Pezzi P, Ohno S, Inoko H. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 41: 3702-3708, 2000.
15. New polymorphic microsatellite markers in the human MHC class II region, Matsuzaka Y, Makino S, Nakajima K, Tomizawa M, Oka A, Kimura M, Bahram S, Tamiya G, Inoko H. *Tissue Antigens* 56: 492-500, 2000.
16. HLA-DQ1\*0601 is primarily associated with the susceptibility to cardiac sarcoidosis. Naruse TK, Mastuzawa Y, Ota M, Kastuyama Y, Matsumori A, Hara M, Nagai S, Morimoto S, Sasayama S, Inoko H. *Tissue Antigens* 56: 52-57, 2000.
17. DNA Data Bank of Japan (DDBJ) for genome scale research in life science. Tateno Y, Imanishi T, Miyazaki S, Fukami-Kobayashi K, Saitou N, Sugawara H, Gojobori T. *Nucleic Acids Res.* 30: 27-30, 2002.

- 1 8. In silico chromosome staining: reconstruction of Giemsa bands from the whole human genome sequence. Niimura Y, Gojobori T. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **99**: 797-802, 2002
- 1 9. Metabolic efficiency and amino acid composition in the proteomes of *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*. Akashi H, Gojobori T. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **99**: 3695-3700, 2002.
- 2 0. Dissecting planarian central nervous system regeneration by the expression of neural-specific genes. Cebria F, Nakazawa M, Mineta K, Ikeo K, Gojobori T, Agata K. *Dev Growth Differ*. **44**: 135-146, 2002.
- 2 1. A polymerase chain reaction-based method for cloning novel members of a gene family using a combination of degenerate and inhibitory primers. Kunihiro S, Kawanishi Y, Sano M, Naito K, Matsuura Y, Tateno Y, Gojobori T, Yamagata Y, Abe K, Machida M. *Gene*. **289**: 177-184, 2002.
- 2 2. Molecular Characterization of the Pb Recombination Hotspot in the Mouse Major Histocompatibility Complex Class II Region. Isobe T, Yoshino M, Mizuno K, Lindahl K, Koide T, Gaudieri S, Gojobori T, Shiroishi T. *Genomics*. **80**: 229, 2002.
- 2 3. Functional annotation of a full-length mouse cDNA collection. Kawai J, Shinagawa A, Shibata K, Yoshino M, Itoh M, Ishii Y, Arakawa T, Hara A, Fukunishi Y, Konno H, Adachi J, Fukuda S, Aizawa K, Izawa M, Nishi K, Kiyosawa H, Kondo S, Yamanaka I, Saito T, Okazaki Y, Gojobori T, Bono H, Kasukawa T, Saito R, Kadota K, Matsuda H, Ashburner M, Batalov S, Casavant T, Fleischmann W, Gaasterland T, Gissi C, King B, Kochiwa H, Kuehl P, Lewis S, Matsuo Y, Nikaido I, Pesole G, Quackenbush J, Schriml LM, Staubli F, Suzuki R, Tomita M, Wagner L, Washio T, Sakai K, Okido T, Furuno M, Aono H, Baldarelli R, Barsh G, Blake J, Boffelli D, Bojunga N, Carninci P, de Bonaldo MF, Brownstein MJ, Bult C, Fletcher C, Fujita M, Gariboldi M, Gustincich S, Hill D, Hofmann M, Hume DA, Kamiya M, Lee NH, Lyons P, Marchionni L, Mashima J, Mazzarelli J, Mombaerts P, Nordone P, Ring B, Ringwald M, Rodriguez I, Sakamoto N, Sasaki H, Sato K, Schonbach C, Seya T, Shibata Y, Storch KF, Suzuki H, Toyo-oka K, Wang KH, Weitz C, Whittaker C, Wilming L, Wynshaw-Boris A, Yoshida K, Hasegawa Y, Kawaji H, Kohtsuki S, Hayashizaki Y. *Nature*. **409**: 685-690, 2001.
- 2 4. Positively selected amino acid sites in the entire coding region of hepatitis C virus subtype 1b. Suzuki Y, Gojobori T. *Gene*. **276**: 83-87, 2001
- 2 5. Intragenic variation of synonymous substitution rates is caused by nonrandom mutations at methylated CpG. Tsunoyama K, Bellgard MI, Gojobori T. *J Mol Evol*. **53**: 456-464, 2001.
- 2 6. Early detection of G + C differences in bacterial species inferred from the comparative analysis of the two completely sequenced *Helicobacter pylori* strains. Bellgard M, Schibeci D, Trifonov E, Gojobori T. *J Mol Evol*. **53**: 465-468, 2001.
- 2 7. Codon usage tabulated from international DNA sequence databases: status for the year 2000. Nakamura Y, Gojobori T, Ikemura T. *Nucleic Acids Res*. **28**: 292, 2000.
- 2 8. Comparative molecular analysis of HTLV-I proviral DNA in HTLV-I infected members of a family with a discordant HTLV-I-associated myelopathy in monozygotic twins. Nakane S, Shirabe S, Moriuchi R, Mizokami A, Furuya T, Nishiura Y, Okazaki S, Yoshizuka N, Suzuki Y, Nakamura T, Katamine S, Gojobori T, Eguchi K. *J Neurovirol*. **6**: 275-283, 2000.
- 2 9. SNP profile within the human major histocompatibility complex reveals an extreme and interrupted level of nucleotide diversity. Gaudieri S, Dawkins RL, Habara K, Kulski JK, Gojobori T. *Genome Res*. **10**: 1579-1586, 2000.
- 3 0. Reevaluation of amino acid variability of the human immunodeficiency virus type 1 gp120 envelope glycoprotein and prediction of new discontinuous epitopes. Yamaguchi-Kabata Y, Gojobori T. *J Virol*. **74**: 4335-4350, 2000.
- 3 1. Evolutionary aspects of gobioid fishes based upon a phylogenetic analysis of mitochondrial cytochrome B genes. Akihito, Iwata A, Kobayashi T, Ikeo K, Imanishi T, Ono H, Umehara Y, Hamamatsu C, Sugiyama K, Ikeda Y, Sakamoto K, Fumihito A, Ohno S, Gojobori T. *Gene*. **259**: 5-15, 2000
- 3 2. Evolution of heteromorphic sex chromosomes in the order Aulopiformes. Ota K, Kobayashi T, Ueno K, Gojobori T. *Gene* **259**: 25-30, 2000.
- 3 3. Pigment cell-specific expression of the tyrosinase gene in ascidians has a different regulatory mechanism from vertebrates. Toyoda R, Sato S, Ikeo K, Gojobori T, Numakunai T, Goding CR, Yamamoto H. *Gene*. **259**: 159-170, 2000.
- 3 4. How can human and simian immunodeficiency viruses utilize chemokine receptors as their coreceptors? Shimizu N, Gojobori T. *Gene*. **259**: 199-205, 2000.

\* 紙面の都合上、他多数は割愛した。

## 2. 特許出願等 [件名、出願者氏名、出願年月日、特許番号 等]

| NO.               | 出願人       | 名称                            |
|-------------------|-----------|-------------------------------|
| 特願 2000-164798    | 猪子英俊、東海大学 | HLA タイプを決定するためのキット及び方法        |
| 特願 2000-32690     | 猪子英俊、東海大学 | ペーチェット病治療薬                    |
| 特願 2000-112699    | 猪子英俊、東海大学 | 遺伝子マッピング法                     |
| 特願 2000-378108    | 猪子英俊、東海大学 | ヒト白血球型抗原領域に存在する新規遺伝子          |
| 国際 JP01'10893     |           |                               |
| 特願 2000-378107    | 猪子英俊、東海大学 | 新規な遺伝子的多型による慢性関節リウマチの検査法      |
| 特願 2000-378091    | 猪子英俊、東海大学 | 質量分析を利用して DNA の多型を検出する方法      |
| 国際 09'713616      | 猪子英俊、東海大学 | HLA クラス II 領域の新規マイクロサテライト     |
| 特願 2002-160285    | 猪子英俊、東海大学 | 炎症性皮膚疾患に関連する SLURP-2 遺伝子および応用 |
| 特願 2001-145934    | 猪子英俊、東海大学 | 遺伝子チップ                        |
| 国際 PCT'JP01'08699 |           |                               |
| 特開 2002-153300    | 猪子英俊、東海大学 | 無精子症検査法                       |
| 特願 2002-140810    | 猪子英俊、東海大学 | 炎症性皮膚疾患に関連する RDH-E2 遺伝子および応用  |