(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2016-501530
(P2016-501530A)
(43)公表日　平成28年1月21日(2016.1.21)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	ZNAA	2B104
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4B024
A01K 61/00	(2006.01)	A01K	61/00	G	4B063

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 57 頁）

(21)出願番号　特願2015-547131 (P2015-547131)
(86)(22)出願日　平成25年12月17日 (2013.12.17)
(85)翻訳文提出日　平成27年7月28日 (2015.7.28)
(86)国際出願番号　PCT/FR2013/053144
(87)国際公開番号　WO2014/096688
(87)国際公開日　平成26年6月26日 (2014.6.26)
(31)優先権主張番号　1262140
(32)優先日　平成24年12月17日 (2012.12.17)
(33)優先権主張国　フランス(FR)

(71)出願人　512330983
イフレメー（インスティテュー　フランセ　ドゥ　ルシャルシェ　プー　ロクスプロタシオン　ドゥ　ラ　メー）
フランス国，エフ－９２１３８　イシ－レ－ムリノー，１５５　ル　ジーン－ジャック　ルソー
(71)出願人　515163634
ディレクション　デ　リソーシズ　マリーンズ　エ　ミニエレス
フランス国，エフ－９８７１３　パペーテ，ビーピー　２０

最終頁に続く

(54)【発明の名称】移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成能力を予測するサイン

(57)【要約】
本発明は、移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成能力を予測するサインであって、配列番号１～４２、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのバイオマーカーの発現プロファイルを含むサインに関する。本発明の別の目的は高い生体内鉱質形成能力を有する移植片ドナー真珠貝であって、本発明に係る予測サインを有することにより特徴付けられる真珠貝である。本発明はまた、移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成能力を予測するバイオマーカーであって、配列番号１～４２からなるリストから選択したバイオマーカーに関する。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ドナー真珠貝を使用して得られる真珠の商業的な品質および／または前記ドナー真珠貝を使用する核の周りの真珠層の堆積の比率を予測するサインであって、前記サインが、配列番号１、４、５、８、１１、１４、１８、２３、２６、２７、２８、３６、３９、４０、および４２、その変異体ならびにフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのバイオマーカーの前記ドナー真珠貝の外套膜での発現プロファイルを含む、サイン。
【請求項２】
前記サインが、配列番号３、４、５、１１および１４、その変異体ならびにフラグメントから選択した少なくとも１つのヌクレオチド配列の前記ドナー真珠貝の外套膜での発現プロファイルを含み、かつ前記サインが、前記ドナー真珠貝を使用して得られる真珠の商業的な品質を予測する、請求項１に記載の予測サイン。
【請求項３】
前記サインが、配列番号８、１８、２３、２６、２７、３６、３９または４０、その変異体およびフラグメントから選択した少なくとも１つのヌクレオチド配列の前記ドナー真珠貝での外套膜での発現プロファイルを含み、かつ前記サインが、前記ドナー真珠貝を使用する核の周りの真珠層の堆積の比率を予測する、請求項１または２に記載の予測サイン。
【請求項４】
前記サインが、配列番号２８または４２、その変異体およびフラグメントから選択した少なくとも１つのヌクレオチド配列の前記ドナー真珠貝の外套膜での発現プロファイルを含み、かつ前記サインが、前記ドナー真珠貝を使用して得られる真珠の表面欠損の数をも予測する、請求項１～３のいずれか１項に記載の予測サイン。
【請求項５】
生体内鉱質形成に関して高い能力を有する移植片ドナー真珠貝の同定および／または選択の工程であって、
（ａ）前記真珠貝の生物学的試料において、請求項１～４のいずれか１項に記載の少なくとも２つの予測バイオマーカーの発現レベルを決定し、かつ
（ｂ）ステップ（ａ）で得られる発現レベルを対照の発現レベルと比較する、
工程。
【請求項６】
請求項５の工程の実施を可能にするキットであって、請求項１～４のいずれか１項に記載の少なくとも１つのバイオマーカーの発現プロファイルを決定する手段を含み、前記手段がＲＴ－ＰＣＲ、ＲＴ－ｑＰＣＲ、または高速定量ＰＣＲによるトランスクリプトームレベルでの前記発現プロファイルの決定を可能にする、キット。
【請求項７】
請求項５の工程の実施を可能にするキットであって、請求項１～４のいずれか１項に記載の少なくとも１つのバイオマーカーの発現プロファイルを決定する手段を含み、かつ前記手段がタンパク質レベルでの発現プロファイルの決定を可能にする、キット。
【請求項８】
少なくとも１つの高品質の真珠の生産のための工程であって、請求項１～４のいずれか１項に記載されるか、または請求項５に記載の同定工程により同定される予測サインを含む少なくとも１つのレシピエント真珠貝の養殖を含む、工程。
【請求項９】
移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成に関する能力を決定するための、配列番号１、４、５、８、１１、１４、１８、２３、２６、２７、２８、３６、３９、４０および４２、その変異体ならびにフラグメントからなるリストから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのバイオマーカーの使用。
【請求項１０】

移植片ドナー真珠貝の能力を予測して商業的な品質の高い真珠を生産するための、配列番号３、４、５、１１および１４、好ましくは配列番号４の配列から選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのバイオマーカーの使用。
【請求項１１】
移植片ドナー真珠貝の能力を予測して表面欠損の数の少ない真珠を生産するための、請求項２８および４２、好ましくは配列番号２８の配列から選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのバイオマーカーの使用。
【請求項１２】
移植片ドナー真珠貝の能力を予測して表面欠損の数の少ない真珠を生産するための、配列番号８、１８、２３、２６、２７、３６、３９および４０の配列から選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのバイオマーカーの使用。

【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、真珠の養殖の分野に関する。具体的には、本発明は、移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成に関する能力の予測サインに関する。また本発明は、本発明に係るサインを含む、生体内鉱質形成に関して高い能力を有する真珠貝に関する。
【背景技術】
【０００２】
真珠の養殖は、養殖真珠の生産を目的とする、自然環境でのアコヤガイ属の真珠貝の養殖を含むヒトの活動である。第１のステップでは、ドナー真珠貝またはレシピエント真珠貝のいずれかに使用される真珠貝を回収して移植の成功に必要な発達レベルに達するまで育てる。移植は、移植片であるドナー真珠貝の外套膜の一部（約４mm^2）を、真珠層ビーズ、核と組み合わせてレシピエント真珠貝のパールポーチ（ｐｅａｒｌ　ｐｏｕｃｈ）に挿入する外科的作業である。一旦レシピエント真珠貝に挿入されると、移植片の鉱質形成上皮端が増幅し、パールポーチに沿って、真珠袋を形成する。真珠袋は核を囲む。次いでこの真珠袋は核の周りに真珠層を堆積し、それにより真珠を形成する（Ｃｏｃｈｅｎｎｅｃ－Ｌａｕｒｅａｕ　ｅｔ　ａｌ，　Ａｑｕａｔｉｃ　Ｌｉｖｉｎｇ　Ｒｅｓｏｕｒｃｅ，　２０１０：　２３，　１３１－１４０）。
【０００３】
平均して、生産される真珠の３～５％のみが非常に高品質であると推定される。大部分の真珠は、表面欠損、不均質な色を有し、または極端に真珠層の厚さが薄い。真珠の養殖は、特にフランス領ポリネシアで、経済的に重要であるため、高品質の真珠の生産のパーセンテージを上げることが可能なツールまたは方法が必要とされている。
【０００４】
高品質の真珠を生産できる特定の特性を有するドナー真珠貝またはレシピエント真珠貝を同定するために、遺伝的な、特にゲノム的およびトランスクリプトミクス的な手法が使用されている。
【０００５】
ＷａｄａおよびＫｏｍａｒｕの業績（Ａｑｕａｃｕｌｔｕｒｅ，　１９９６，　１４２：２５－３２）により、真珠の特徴、特に真珠の色および光沢に対する、ドナー真珠貝の影響に対応する「ドナー作用」を観察することが可能となった。
【０００６】
米国特許第７１６３７９５号は、タンパク質のナクレイン（ｎａｃｒｅｉｎ）（真珠層を構成し、かつ生体内鉱質形成過程に潜在的に関与するタンパク質）を発現できる真珠貝を同定する方法を記載しており、これは真珠養殖に使用される場合がある。またこの特許は、真珠の形成に最適な条件を同定する方法であって、ナクレインの発現の解析を含む方法を記載している。しかしながら、従来より真珠の養殖は外海で実施されているため、培養条件を適合することは困難であると考えられる。

【０００７】
２つの連続する研究で、Ｉｎｏｕｅらは、生産される真珠の品質と真珠袋における生体内鉱質形成に関与する６つの遺伝子の遺伝子発現プロファイルとの間の関係を記載した（Ｉｎｏｕｅ ｅｔ ａｌ．，Ｚｏｏｌｏｇｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅ，２０１１，２８：３２－６；Ｉｎｏｕｅ ｅｔ ａｌ．，Ｍａｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．，２０１１，１３：４８－５５）。Ｉｎｏｕｅらにより提示された結果は、生体内鉱質形成の過程に関与する遺伝子の発現レベルが得られる真珠の品質と相関し得ることを、最初に示したものである。

【０００８】
２０１１年に、Ｋｉｎｏｓｈｉｔａらは、トランスクリプトミクス的手法による、アコヤガイの生体内鉱質形成に関与する遺伝子の同定に関する大規模な試験結果を公開した（Ｋｉｎｏｓｈｉｔａ ｅｔ ａｌ．，ＰＬｏＳ Ｏｎｅ，２０１１；６（６）：ｅ２１２３８）。しかしながら、この試験は、遺伝子発現と真珠の品質との間の関連を確立するものではない。

【０００９】
生体内鉱質形成に関して高い能力を有する移植片ドナー真珠貝を同定するために、本発明者らは、大規模なトランスクリプトミクスおよびプロテオミクス研究を行い、（１）遺伝子発現プロファイルと（２）実験的な移植の最中の真珠の品質および成長（核の厚さ）との間の関係を解析した。この研究により、真珠の品質を予測する特定の遺伝子のサインを同定することができた。

【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【００１０】
したがって本発明は、移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成に関する能力の予測サインであって、配列番号１～配列番号４２、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも２つのバイオマーカーの発現プロファイルを含む、サインに関する。

【００１１】
１実施形態によると、このサインは、得られる真珠の商業的な品質および／またはドナー真珠貝を使用した核の周りの真珠層の堆積の比率に関して予測する。

【００１２】
本発明はまた、ドナー真珠貝を用いて得られる真珠の商業的な品質および／またはドナー真珠貝を使用した核の周りの真珠層の堆積の比率の予測サインであって、このサインは、配列番号１、４、５、８、１１、１４、１８、２３、２６、２７、２８、３６、３９、４０および４２、その変異体ならびにフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのバイオマーカーのドナー真珠貝の外套膜での発現プロファイルを含むサインに関する。

【００１３】
１実施形態によると、本発明のサインは、配列番号３、４、５、１１および１４、その変異体ならびにフラグメントから選択した少なくとも１つのヌクレオチドの配列発現プロファイルを含み、このサインは、ドナー真珠貝を使用して得られる真珠の商業的な品質を予測する。

【００１４】
１実施形態によると、本発明のサインは、配列番号８、１８、２３、２６、２７、３６、３９または４０、その変異体およびフラグメントから選択した少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含み、このサインは、ドナー真珠貝を使用した核の周りの真珠層の堆積の比率を予測する。

【００１５】
１実施形態によると、本発明のサインは、配列番号２８または４２、その変異体およびフラグメントから選択した少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含み

、このサインは、ドナー真珠貝を使用して得られる真珠の表面欠損の数をも予測する。

【００１６】

本発明はまた、上記に定義した予測サインを有することで特徴付けられる、生体内鉱質形成に関して高い能力を有する移植片ドナー真珠貝に関する。

【００１７】

本発明はまた、本発明に係るドナー真珠貝の同定の工程であって、この工程で、

（ａ）真珠貝の生物学的試料において、上述するような少なくとも２つの予測バイオマーカーの発現レベルを決定し、かつ

（ｂ）ステップ（ａ）で得られる発現レベルを対照の発現レベルと比較する

工程に関する。

【００１８】

本発明はまた、本発明に係るドナー真珠貝の選択の工程であって、この工程で、

（ａ）真珠貝の生物学的試料において、上述するような少なくとも２つの予測バイオマーカーの発現レベルを決定し、かつ

（ｂ）ステップ（ａ）で得られる発現レベルを対照の発現レベルと比較する

工程に関する。

【００１９】

本発明はまた、本発明に係る工程の実施を可能にするキットであって、本発明に記載するような少なくとも１つのバイオマーカーの発現プロファイルを決定する手段を含む、キットに関する。第１の実施形態によると、この手段によりＲＴ－ＰＣＲ、ＲＴ－ｑＰＣＲおよび高速定量ＰＣＲによるトランスクリプトームレベルでの発現プロファイルを決定できる。第２の実施形態によると、この手段によりタンパク質レベルでの発現プロファイルを決定できる。

【００２０】

本発明はまた、上記に定義したような予測サインを有することで特徴付けられる移植片であって、本発明に係るドナー真珠貝の外套膜の上皮の一部である、移植片に関する。

【００２１】

本発明はまた、上記に定義したような移植片を移植したレシピエント真珠貝であって、この中に核が存在する、真珠貝に関する。

【００２２】

本発明はまた、少なくとも１つの高品質の真珠を生産する工程であって、本発明に係る少なくとも１つのレシピエント真珠貝の養殖を含み、この真珠貝が、本発明の予測サインを含み、かつ／または本発明に係る真珠貝の同定および／もしくは選択の工程、ならびにこの工程により得た真珠により同定される、工程に関する。

【００２３】

本発明はまた、移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成の能力を予測するバイオマーカーであって、配列番号１～配列番号４２、その変異体およびフラグメントからなるリストから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなるバイオマーカーに関する。

【００２４】

本発明はまた、移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成に関する能力を決定するための、配列番号１～配列番号４２、その変異体およびフラグメントからなるリストから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのバイオマーカーの使用に関する。１実施形態によると、このバイオマーカーは、配列番号１、４、５、８、１１、１４、１８、２３、２６、２７、２８、３６、３９、４０および４２、その変異体ならびにフラグメントからなるリストから選択される。

【００２５】

本発明はまた、移植片ドナー真珠貝の能力を予測して商業的な品質の高い真珠を生産するための、配列番号３、４、５、１１および１４、好ましくは配列番号４の配列から選択した少なくとも１つのバイオマーカーの使用に関する。

【００２６】

本発明はまた、移植片ドナー真珠貝の能力を予測して表面欠損の数の少ない真珠を生産するための、配列番号２８および配列番号４２、好ましくは配列番号２８の配列から選択した少なくとも１つのバイオマーカーの使用に関する。

【００２７】

本発明はまた、移植片ドナー真珠貝の能力を予測して表面欠損の数の少ない真珠を生産するための、配列番号８、１８、２３、２６、２７、３６、３９および４０の配列から選択した少なくとも１つのバイオマーカーの使用に関する。

【００２８】

定義

本発明では、以下の用語は以下の意味を有する。

【００２９】

用語「真珠の養殖」は、一般的にアコヤガイ属に属する真珠貝から養殖した真珠の生産を意図するヒトの活動である。本発明の１実施形態によると、真珠貝は、アコヤガイ属に、好ましくは、Ｐｉｎｃｔａｄａ ｆｕｃａｔａ、Ｐｉｎｃｔａｄａ ｍａｘｉｍａまたはＰｉｎｃｔａｄａ ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａ種に属している。

【００３０】

用語「ドナー真珠貝の生体内鉱質形成に関して高い能力を予測するバイオマーカー」（以下では「予測バイオマーカー」と呼ばれる）は、ヌクレオチド配列、好ましくは遺伝子を意味し、ドナー真珠貝でのその発現プロファイルが、ドナー真珠貝の生体内鉱質形成に関する高い能力を予測し、かつ真珠貝を移植片ドナーとして用いて生産される真珠の品質を結果的に予測する。本発明の１実施形態によると、本発明の予測バイオマーカーは、以下の表１の４２のヌクレオチド配列、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。

【表１】

識別名（Ｉｄｅｎｔｉｆｉｅｒ）	名称	受入番号（ＧｅｎｅＢａｎｋ）
配列番号：１	ＣＬＥＣ２－２	
配列番号：２	Ｃ３	
配列番号：３	ＣＡＬＣ－１	ＨＱ６５４７７０
配列番号：４	ＣＬＥＣ３－１	
配列番号：５	ＤＥＲＭ－２	
配列番号：６	Ｃ９	
配列番号：７	１	
配列番号：８	ＭＵＣＯ－２	
配列番号：９	Ｃ８８ｂｉｓ	
配列番号：１０	ｓｈｅｍ５－１	ＨＥ６１０３７６
配列番号：１１	ｓｈｅｍ７－２	
配列番号：１２	Ｃ８５	
配列番号：１３	Ｃ１４	
配列番号：１４	Ｃ１８	
配列番号：１５	Ｃ２２	
配列番号：１６	Ｐｒｏｔｉｎｈ３－１	ＨＥ６１０４００
配列番号：１７	Ｃ２	
配列番号：１８	Ｃ４６	
配列番号：１９	Ｃｂｉｎｄ－３	
配列番号：２０	Ｃ６６ｔｅｒ	
配列番号：２１	Ｃ１７	
配列番号：２２	ＰＬＷ－２	
配列番号：２３	ＰＩＦ－２	ＨＥ６１０４０１
配列番号：２４	４６	
配列番号：２５	Ｃ６	
配列番号：２６	Ｃ２６ｂｉｓ	
配列番号：２７	Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）	
配列番号：２８	ｍｐ１１－２	ＨＥ６１０３７４
配列番号：２９	ＰＭＭＧ１－２	
配列番号：３０	７３	
配列番号：３１	Ｃ２３	
配列番号：３２	Ｃ１	

配列番号：３３	ＭＮＫ－１	
配列番号：３４	ＰＬＣ－２	
配列番号：３５	ｍｐ９－２	
配列番号：３６	Ｃ７５ｂｉｓ	
配列番号：３７	１３	
配列番号：３８	Ｃ３５ｂｉｓ	
配列番号：３９	２	
配列番号：４０	ｍｐ２－２	
配列番号：４１	Ｃ８	
配列番号：４２	Ｐｒｏｔｉｎｈ２－１	ＨＥ６１０３９９

表１

【００３１】
本発明の１実施形態によると、本発明の予測バイオマーカーは、以下の１５のヌクレオチド配列：ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、ｓｈｅｍ７－２（配列番号：１１）、Ｃ１８（配列番号：１４）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、ｍｐ１１－２（配列番号：２８）、Ｃ７５ｂｉｓ（配列番号：３６）、２（配列番号：３９）、ｍｐ２－２（配列番号：４０）、およびＰｒｏｔｉｎｈ２－１（配列番号：４２）、その変異体ならびにフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。
【００３２】
本発明の１実施形態によると、フラグメントは、２５超のヌクレオチド、好ましくは、５０超、１００超、１５０超、２００超または５００超のヌクレオチドの核酸配列である。本発明の１実施形態によると、配列番号Ｘの配列のフラグメントは、配列番号Ｘの２５超の連続ヌクレオチド、好ましくは、５０超、１００超、１５０超、２００超、または５００超の連続ヌクレオチドであるヌクレオチド配列に対応する。
【００３３】
１実施形態によると、「配列番号Ｘの配列の変異体」との文言は、配列番号Ｘのヌクレオチド配列の２５超のヌクレオチド、好ましくは５０超、１００超、１５０超、２００超、または５００超の連続ヌクレオチドを含む任意の核酸配列を意味する。
【００３４】
本発明の別の実施形態によると、「配列番号Ｘの配列の変異体」との文言は、１～５００の、好ましくは１～２００の、より好ましくは１～１００の追加的な核酸を、５′および／または３′に含む配列を意味する。
【００３５】
本発明の別の実施形態によると、「配列番号Ｘの配列の変異体」との文言は、微小の構造改変を有し、かつ配列番号Ｘの機能を保存している配列を意味する。このような微小の構造改変の例として、限定するものではないが、１、２、３、４、５、６、７、８、９もしくは１０つの核酸に影響を及ぼす、塩基の欠損、置換または追加が挙げられる。
【００３６】
本発明の別の実施形態によると、「配列番号Ｘの配列の変異体」との文言は、配列番号Ｘと７５％超、８０％超、９０％超、９５％超、もしくは９６％超、９７％超、９８％超または９９％超の同一性を有する２５超の、好ましくは５０超、１００超、１５０超、２００超、３００超、４００超、５００超、１０００超、１５００超、２０００超または３

０００超のヌクレオチドを含むヌクレオチド配列を意味する。

【００３７】

本発明の意味では、用語「同一性」は、２つ以上のヌクレオチド配列の配列間の関係を指すために使用される際、２つ以上の塩基の鎖の間の対応の数により決定されるような、このヌクレオチド配列の間の類似性の度合いを指す。

【００３８】

本発明によると、「同一性」は、２つ（または２超）の配列間の同一性のパーセンテージに対応する。このパーセンテージは、配列が最適に整列される際に塩基が同一である位置の数を、２つの配列の最も小さい塩基の総数で除算することにより定義される。配列間の差異はランダムに分布されていてもよく、かつ、それらの配列全体にわたっていてもよい。

【００３９】

同一性のパーセンテージが最大である場合、２つの配列は最適に整列されていると言われる。さらに、当業者にとってより明らかなように、２つの配列間に最適なアライメントを得るためにギャップ位置の追加を使用することが必要であってもよい。したがって、２つの核酸配列間の同一性のパーセンテージは、比較すべき核酸配列が、２つの配列間での最適な整列に関して、参照配列に対して追加または欠損を含み得る２つの最適に配列された配列を比較することにより決定してもよい。次いで、同一性のパーセンテージは、ヌクレオチドが２つの配列間で同一である、同一の位置の数を決定し、比較ウィンドウで位置の合計の数により同一位置の数を除算し、かつ、得られた結果を１００で乗算することにより計算して、２つの配列間の同一性のパーセンテージを得る。

【００４０】

好ましくは、同一性を決定する方法は、比較される配列間で可能な一致が最大となるように設計される。

【００４１】

同一性のパーセンテージは、特定の数学モデルまたはコンピュータプログラム（一般的に、用語「アルゴリズム」）と呼ばれる）により決定できる。ヌクレオチド配列間の同一性を計算する方法は当業者に良く知られている。このような方法の非限定的な例として、以下の文書：Computations Molecular Biology, Lesk, A. M., ed., Oxford University Press, New York, １９８８; Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D. W., ed., Academic Press, New York, １９９３; Computer Analysis of Sequence Data Part １, Griffin, A. M., and Griffin H. G., eds. Humana Press, New Jersey, １９９４; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, １９８７; Sequence Analysis Primer, Grivskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York, １９９１; and Carillo et al., SIAM J. Applied Math., ４８, １０７３ （１９８８）に記載される方法が挙げられる。

【００４２】

同一性を決定する方法は、公衆にアクセス可能なコンピュータプログラムに記載されている。コンピュータプログラムを使用する方法の好ましい例として、限定するものではないが、ＧＡＰを含むソフトウェアパッケージＧＣＧ（Devereux et al., Nucl. Acid. Res. ２, ３８７ （１９８４）; Genetics Computer Group, University of Wisconsin, Madison, ＷＩ）、ＢＬＡＳＴＰ、ＢＬＡＳＴＮ、およびＦＡＳＴＡ（Altschul et al., J. Mol. Biol. ２１５, ４０３－４

１０（１９９０））が挙げられる。ＢＬＡＳＴＸプログラムは、国立生物工学情報センター（ＮＣＢＩ）および他の供給源（ＢＬＡＳＴ Ｍａｎｕａｌ Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．ＮＣＢ／ＮＬＭ／ＮＩＨ Ｂｅｔｈｅｓｄａ，Ｍｄ．２０８９４；Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．，ｓｕｐｒａ）で入手可能である。Ｓｍｉｔｈ－Ｗａｔｅｒｍａｎのアルゴリズムもまた、当業者に良く知られており、２つの配列間の同一性のパーセンテージを決定するために使用できる。

【００４３】

用語「予測サイン」は、特定の遺伝子発現プロファイルを指し、ドナー真珠貝におけるその存在が、ドナー真珠貝の生体内鉱質形成に関する高い能力を予測し、このドナー真珠貝を使用して生産される真珠の品質および／または核の周りの真珠層の堆積の比率を結果的に予測する。本発明の１実施形態によると、本発明の予測サインは、上述のような１～４２の予測バイオマーカーを含む。

【００４４】

「生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝」との文言は、高品質の真珠が得られ、かつ／または高品質の真珠がより迅速に得られる移植片ドナー真珠貝を指す。したがって、１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、０．８ｍｍ以上、好ましくは１．５ｍｍ以上である、核の周りの真珠層の厚さを有する真珠を、２４か月未満で、好ましくは２１か月未満で、より好ましくは１８か月未満で得ることを可能にする。本発明の１実施形態によると、本発明の生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、得られる真珠の１００％が、養殖から１８か月後に０．８ｍｍ超の真珠層の厚さを有し、かつ／または得られる真珠の３０．２％が、養殖してから１８か月後に１．５ｍｍ超の真珠層の厚さを有することとなる。ドナー真珠貝を選択しない場合、比較してこれらのパーセンテージは、それぞれ８０．９％および１３．４％である。

【００４５】

用語「高品質の真珠」は、核の周りの真珠層の厚さ（同一の養殖時間内により大きい核の周りの真珠層の堆積が得られる）、および／または表面欠損の数および／または所定の閾値に対して高いもしくは低い商業的な品質の特徴を有する真珠を指す。本発明の文脈では、真珠の品質は、３つの変数である、「真珠層の厚さ」の変数、「真珠の表面での欠損の数」の変数、および「商業的な品質」の変数により評価されてもよい。本発明によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、本発明に係る少なくとも１つの予測バイオマーカーおよび／または本発明の少なくとも１つの予測サインを有する真珠貝である。

【００４６】

本発明の１実施形態によると、真珠の真珠層の厚さは、真珠の核の周りの真珠層のミリメートルでの厚さに対応する。これは、たとえば、真珠の最小の直径から核の直径を減算し、直径の差異を２で除算することにより測定されてもよい。本発明の１実施形態によると、真珠および核の直径は、スキャンした真珠および核の画像に基づいてコンピュータにより測定されてもよい。真珠および核の寸法を測定するために使用し得る解析ソフトウェアの非限定的な例は、ＩｍａｇＪソフトウェアである。本発明の１実施形態によると、高品質の真珠は、０．８ｍｍ超の、好ましくは１．２ｍｍ超の、さらにより好ましくは１．５ｍｍ超の真珠層の厚さを有する。

【００４７】

本発明の１実施形態によると、欠損の数に基づく真珠の品質の評価は、真珠の表面で観察される欠損の数に基づく、４つのクラスを含む分類システムにおける各真珠の分類に対応する。この分類で考慮される欠損は、くぼみ（ｐｉｔ）、気泡（ｂｌｉｓｔｅｒ）、および斑点（ｓｐｏｔ）である。本発明の１実施形態によると、第１のクラスは欠損のない真珠を含み、第２のクラスは１～５の欠損を有する真珠を含み、第３のクラスは５超の欠損を有する真珠を含み、第４のクラスは全体的に欠損で覆われている真珠を含む。本発明の１実施形態によると、高品質の真珠は、欠損の数に関連する第１のクラスに属しており

、すなわち全く欠損を有していない。

【００４８】

１実施形態によると、真珠の商業的な品質は、２００５年２月４日の審議番号第２００５－４２号（フランス領ポリネシアの公式ジャーナル）に提供された定義にしたがって、真珠の表面の状態（欠点のありまたはなし）および光沢（輝度または明度）により評価される。この審議によると、真珠の品質の評価は、クラスＡ～クラスＤのおよび「リジェクト」クラスといった５つの質のカテゴリへの真珠の分類に対応する。本発明の１実施形態によると、高品質の真珠はクラスＡに属する。

【００４９】

本発明の意味では、数の前に置かれる用語「約」は、この数の公称値の±１０％を意味する。

【００５０】

発明の詳細な説明

本発明は、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝に関する。

【００５１】

本発明の１つの実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、２４か月未満の養殖、好ましくは２１か月未満の養殖、より好ましくは１８か月未満の養殖で、約０．８ｍｍ以上、好ましくは約１．２ｍｍ以上、より好ましくは約１．５ｍｍ以上の真珠層の厚さを有する真珠を、約２５％超、好ましくは約３０％超、より好ましくは約４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、またはさらにより好ましくは約９５％超得ることを可能にする。

【００５２】

本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、約１５か月、好ましくは約１６か月、およびより好ましくは約１８か月の養殖期間の後に、約０．８ｍｍ以上の真珠層の厚さを有する真珠を１００％得ることを可能にする。

【００５３】

本発明の別の実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、約１５か月、好ましくは約１６か月、およびより好ましくは約１８か月の養殖期間の後に、約１．５ｍｍ以上の真珠層の厚さを有する真珠を約３０％得ることを可能にする。

【００５４】

本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、表面に欠損のない真珠を、５％超、好ましくは１０％超、より好ましくは１５％超、２０％超、２５％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、９０％超得ることを可能にする。本発明の１実施形態によると、生体内鉱質に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、表面欠損のない真珠を約１０～２０％、好ましくは１２．５～１７．５％、より好ましくは約１４．３％得ることを可能にする。比較により、本発明者らは、通常使用される移植片ドナー真珠貝が、表面欠損のない真珠を約５．２％のみ得ることを可能にすることを示した。

【００５５】

本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、カテゴリＡおよび／またはＢの真珠を５％超、好ましくは１０％超、２０％超、より好ましくは３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、９０％超得ることを可能にする。本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、カテゴリＡの真珠を約１０～５０％超、好ましくは約２０～３０％、より好ましくは約２４．３％得ることを可能にする。本発明の別の実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、カテゴリＡまたはＢの真珠を約２５～７０％、好ましくは約４０～６０％、より好ましくは約５１．４％得ることを可能にする。比較により、本発明者らは、通常使用される移植片ドナー真珠貝が、カテゴリＡの真珠を約４．６％のみ、かつカテゴリＡまたはＢの真珠を約１９．５％のみ得るこ

とを可能にすることを示した。

【００５６】

本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、（１）２４か月未満の養殖、好ましくは２１か月未満の養殖、より好ましくは１８か月未満の養殖で、約０．８ｍｍ以上の真珠層の厚さを有する真珠を約２５％超、好ましくは約３０％超、より好ましくは約４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、またはさらにより好ましくは約９５％超得ることを可能にし、かつ（２）表面に欠損のない真珠を５％超、好ましくは１０％超、より好ましくは１５％超、２０％超、２５％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超または９０％超得ることを可能にする。

【００５７】

本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、（１）２４か月未満の養殖、好ましくは２１か月未満の養殖、より好ましくは１８か月未満の養殖で、約０．８ｍｍ以上の厚さの真珠層を有する真珠を約２５％超、好ましくは約３０％超、より好ましくは約４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、またはさらにより好ましくは約９５％超得ることを可能にし、かつ（２）カテゴリＡおよび／またはＢの真珠を５％超、好ましくは１０％超、２０％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超または９０％超得ることを可能にする。

【００５８】

本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、（１）表面に欠損のない真珠を５％超、好ましくは１０％超、より好ましくは１５％超、２０％超、２５％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超または９０％超得ることを可能にし、かつ（２）カテゴリＡおよび／またはＢの真珠を５％超、好ましくは１０％超、２０％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超または９０％超得ることを可能にする。

【００５９】

本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、（１）２４か月未満の養殖、好ましくは２１か月未満の養殖、より好ましくは１８か月未満の養殖で、約０．８ｍｍ以上の厚さの真珠層を有する真珠を約２５％超、好ましくは約３０％超、より好ましくは約４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、またはさらにより好ましくは約９５％超得ることを可能にし、かつ（２）表面に欠損のない真珠を５％超、好ましくは約１０％超、より好ましくは約１５％超、２０％超、２５％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超または９０％超得ることが可能であり、かつ（３）カテゴリＡおよび／またはＢの真珠を５％、好ましくは１０％超、２０％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超または９０％超得ることを可能にする。

【００６０】

本発明によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、生体内鉱質形成の質の予測バイオマーカー、および／または生体内鉱質形成の質の予測サインを含む。

【００６１】

したがって、本発明はまた、真珠貝の生体内鉱質形成に関する能力の予測バイオマーカーに関する。

【００６２】

したがって本発明はまた、移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成に関する能力の予測サインに関する。

【００６３】

本発明によると、真珠貝の生体内鉱質形成に関する能力の予測バイオマーカーは、表１に提示される配列番号１～配列番号４２の配列、その変異体およびフラグメントを含むリストから選択したヌクレオチド配列を含み、または配列からなるヌクレオチド配列である

。本発明の１実施形態によると、本発明の予測バイオマーカーは、以下の１５のヌクレオチド配列：ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、ｓｈｅｍ７－２（配列番号：１１）、Ｃ１８（配列番号：１４）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、ｍｐ１１－２配列番号：２８）、Ｃ７５ｂｉｓ（配列番号：３６）、２（配列番号：３９）、ｍｐ２－２（配列番号：４０）、およびＰｒｏｔｉｎｈ２－１（配列番号：４２）、その変異体ならびにフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。

【００６４】

本発明によると、本発明の予測サインは、表１に提示される配列番号１～配列番号４２の配列、その変異体およびフラグメントを含むリストから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。本発明の１実施形態によると、本発明の予測サインは、以下の１５のヌクレオチド配列：ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、ｓｈｅｍ７－２（配列番号：１１）、Ｃ１８（配列番号：１４）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、ｍｐ１１－２（配列番号：２８）、Ｃ７５ｂｉｓ（配列番号：３６）、２（配列番号：３９）、ｍｐ２－２（配列番号：４０）、およびＰｒｏｔｉｎｈ２－１（配列番号：４２）、その変異体ならびにフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【００６５】

本発明の１実施形態によると、本発明の予測サインは、表１に提示される配列番号１～配列番号４２の配列、その変異体およびフラグメントを含むリストから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１または４２のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。本発明の１実施形態によると、本発明の予測サインは、以下の１５のヌクレオチド配列：ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、ｓｈｅｍ７－２（配列番号：１１）、Ｃ１８（配列番号：１４）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、ｍｐ１１－２（配列番号：２８）、Ｃ７５ｂｉｓ（配列番号：３６）、２（配列番号：３９）、ｍｐ２－２（配列番号：４０）、およびＰｒｏｔｉｎｈ２－１（配列番号：４２）、その変異体ならびにフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。

【００６６】

１実施形態によると、本発明による生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、２４か月未満の養殖、好ましくは２１か月未満の養殖、より好ましくは１８か月未満の養殖で、約０．８ｍｍ以上、好ましくは約１．２ｍｍ以上、より好ましくは約１．５ｍｍ以上の真珠層の厚さを有する真珠を約２５％超、好ましくは約３０％超、より好ましくは約４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、またはさらにより好ましくは約９５％超得ることを可能にする。

【００６７】

この実施形態によると、予測バイオマーカーは核の周りの真珠層の厚さを予測し、かつ、表２のヌクレオチド配列、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配

列を含む、または配列からなる。

【表２】

識別名	名称
配列番号：１	ＣＬＥＣ２－２
配列番号：２	Ｃ３
配列番号：３	ＣＡＬＣ－１
配列番号：４	ＣＬＥＣ３－１
配列番号：５	ＤＥＲＭ－２
配列番号：６	Ｃ９
配列番号：７	１
配列番号：８	ＭＵＣＯ－２
配列番号：９	Ｃ８８ｂｉｓ
配列番号：１０	ｓｈｅｍ５－１
配列番号：１１	ｓｈｅｍ７－２
配列番号：１２	Ｃ８５
配列番号：１３	Ｃ１４
配列番号：１４	Ｃ１８
配列番号：１５	Ｃ２２
配列番号：１６	Ｐｒｏｔｉｎｈ３－１
配列番号：１７	Ｃ２
配列番号：１８	Ｃ４６
配列番号：１９	Ｃｂｉｎｄ－３
配列番号：２０	Ｃ６６ｔｅｒ
配列番号：２１	Ｃ１７
配列番号：２２	ＰＬＷ－２
配列番号：２３	ＰＩＦ－２
配列番号：２４	４６
配列番号：２５	Ｃ６
配列番号：２６	Ｃ２６ｂｉｓ
配列番号：２７	Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）
配列番号：２８	ｍｐ１１－２
配列番号：２９	ＰＭＭＧ１－２
配列番号：３０	７３
配列番号：３１	Ｃ２３
配列番号：３２	Ｃ１
配列番号：３３	ＭＮＫ－１

配列番号：３４	ＰＬＣ－２
配列番号：３５	ｍｐ９－２
配列番号：３６	Ｃ７５ｂｉｓ
配列番号：３７	１３
配列番号：３８	Ｃ３５ｂｉｓ
配列番号：３９	２
配列番号：４０	ｍｐ２－２
配列番号：４１	Ｃ８

表２

【００６８】
１実施形態によると、予測バイオマーカーは、核の周りの真珠層の厚さを予測し、かつ、以下のヌクレオチド配列：ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、Ｃ７５ｂｉｓ（配列番号：３６）、２（配列番号：３９）、ｍｐ２－２（配列番号：４０）、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。
【００６９】
この実施形態によると、予測サインは、核の周りの真珠層の厚さを予測し、かつ、表２、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。
【００７０】
１実施形態によると、予測サインは、表２、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９または４０のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。
【００７１】
１実施形態によると、予測サインは、以下のヌクレオチド配列：ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、Ｃ７５ｂｉｓ（配列番号：３６）、２（配列番号：３９）、ｍｐ２－２（配列番号：４０）、その変異体およびフラグメントから選択した１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。
【００７２】
本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、表面欠損のない真珠を５％超、好ましくは１０％超、より好ましくは１５％超、２０％超、２５％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、９０％超得ることを可能にする。
【００７３】
この実施形態によると、予測バイオマーカーは真珠の表面欠損の数を予測し、かつ表３のヌクレオチド配列、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。

【表３】

識別名	遺伝子名
配列番号：１	ＣＬＥＣ２－２
配列番号：２	Ｃ３
配列番号：３	ＣＡＬＣ－１
配列番号：４	ＣＬＥＣ３－１
配列番号：５	ＤＥＲＭ－２
配列番号：６	Ｃ９
配列番号：７	１
配列番号：８	ＭＵＣＯ－２
配列番号：９	Ｃ８８ｂｉｓ
配列番号：２１	Ｃ１７
配列番号：２２	ＰＬＷ－２
配列番号：２３	ＰＩＦ－２
配列番号：２４	４６
配列番号：２５	Ｃ６
配列番号：２６	Ｃ２６ｂｉｓ
配列番号：２７	Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）
配列番号：２８	ｍｐ１１－２
配列番号：４２	Ｐｒｏｔｉｎｈ２－１

表３

【００７４】

この実施形態によると、予測バイオマーカーは真珠の表面欠損の数を予測し、かつヌクレオチド配列ｍｐ１１－２（配列番号：２８）およびＰｒｏｔｉｎｈ２－１（配列番号：４２）から選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。

【００７５】

この実施形態によると、予測サインは、欠損の数を予測し、かつ表３、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【００７６】

本発明の別の実施形態によると、予測サインは、欠損の数を予測し、かつ表３、その変異体またはフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７または１８のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。

【００７７】

本発明の別の実施形態によると、予測サインは、表面欠損の数を予測し、かつヌクレオチド配列ｍｐ１１－２（配列番号：２８）およびＰｒｏｔｉｎｈ２－１（配列番号：４２）、その変異体ならびにフラグメントから選択した１または２つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【００７８】

本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、カテゴリＡおよび／またはＢの真珠を５％超、好ましくは１０％超、２０％超、より好ましくは３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、９０％超得

ることを可能にする。

【００７９】

この実施形態によると、予測バイオマーカーは、真珠の商業的な品質を予測し、表４のヌクレオチド配列、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。

【表４】

識別名	遺伝子名
配列番号：１	ＣＬＥＣ２－２
配列番号：２	Ｃ３
配列番号：３	ＣＡＬＣ－１
配列番号：４	ＣＬＥＣ３－１
配列番号：５	ＤＥＲＭ－２
配列番号：６	Ｃ９
配列番号：７	１
配列番号：８	ＭＵＣＯ－２
配列番号：９	Ｃ８８ｂｉｓ
配列番号：１０	ｓｈｅｍ５－１
配列番号：１１	ｓｈｅｍ７－２
配列番号：１２	Ｃ８５
配列番号：１３	Ｃ１４
配列番号：１４	Ｃ１８
配列番号：１５	Ｃ２２
配列番号：１６	Ｐｒｏｔｉｎｈ３－１
配列番号：１７	Ｃ２
配列番号：１８	Ｃ４６
配列番号：１９	Ｃｂｉｎｄ－３
配列番号：２０	Ｃ６６ｔｅｒ
配列番号：２８	ｍｐ１１－２

表４

【００８０】

この実施形態によると、予測バイオマーカーは、真珠の商業的な品質を予測し、かつヌクレオチド配列ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ｓｈｅｍ７－２（配列番号：１１）、Ｃ１８（配列番号：１４）、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。

【００８１】

この実施形態によると、予測サインは、真珠の商業的な品質を予測し、かつ表４、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【００８２】

本発明の別の実施形態によると、予測サインは、真珠の商業的な品質を予測し、かつ表４、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１

２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０または２１のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。

【００８３】

本発明の別の実施形態によると、予測サインは、ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ｓｈｅｍ７－２（配列番号：１１）、Ｃ１８（配列番号：１４）、その変異体およびフラグメントから選択した１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。

【００８４】

本発明の別の実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、（１）２４か月未満の養殖、好ましくは２１か月未満の養殖、より好ましくは１８か月未満の養殖で、約０．８ｍｍ以上の真珠層の厚さを有する真珠を約２５％超、好ましくは約３０％超、より好ましくは約４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、さらにより好ましくは約９５％超得ることを可能にし、かつ（２）表面欠損のない真珠を５％超、好ましくは１０％超、より好ましくは１５％超、２０％超、２５％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、９０％超得ることを可能にする。

【００８５】

本発明のこの実施形態によると、予測バイオマーカーは、真珠の核の周りの真珠層の厚さおよび表面欠損の数を予測し、かつ表５のヌクレオチド配列、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。

【表５】

識別名	遺伝子名
配列番号：１	ＣＬＥＣ２－２
配列番号：２	Ｃ３
配列番号：３	ＣＡＬＣ－１
配列番号：４	ＣＬＥＣ３－１
配列番号：５	ＤＥＲＭ－２
配列番号：６	Ｃ９
配列番号：７	１
配列番号：８	ＭＵＣＯ－２
配列番号：９	Ｃ８８ｂｉｓ
配列番号：２１	Ｃ１７
配列番号：２２	ＰＬＷ－２
配列番号：２３	ＰＩＦ－２
配列番号：２４	４６
配列番号：２５	Ｃ６
配列番号：２６	Ｃ２６ｂｉｓ
配列番号：２７	Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）

表５

【００８６】

この実施形態によると、予測サインは、真珠の核の周りの真珠層の厚さおよび表面欠損の数を予測し、かつ表５、その変異体およびフラグメントをから選択したヌクレオチド配列含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含

む。

【００８７】

本発明の別の実施形態によると、予測サインは、真珠の核の周りの真珠層の厚さおよび表面欠損の数を予測し、かつ表５、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５または１６のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。

【００８８】

別の実施形態によると、予測サインは、真珠の核の周りの真珠層の厚さおよび表面欠損の数を予測し、かつ（１）表２、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９または４０のヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイル、ならびに（２）表３、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７または１８のヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【００８９】

本発明の別の実施形態によると、予測サインは、真珠の核の周りの真珠層の厚さおよび表面欠損の数を予測し、かつ（１）ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、Ｃ７５ｂｉｓ（配列番号：３６）、２（配列番号：３９）、ｍｐ２－２（配列番号：４０）、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８つのヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイル、ならびに（２）ヌクレオチド配列ｍｐ１１－２（配列番号：２８）およびＰｒｏｔｉｎｈ２－１（配列番号：４２）、その変異体およびフラグメントから選択した１または２つのヌクレオチド配列のヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【００９０】

本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、（１）２４か月未満の養殖、好ましくは２１か月未満の養殖、より好ましくは１８か月未満の養殖で、約０．８ｍｍ以上の真珠層の厚さを有する真珠を約２５％超、好ましくは約３０％超、より好ましくは約４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、またはさらにより好ましくは約９５％超得ることを可能にし、かつ（２）カテゴリＡおよび／またはＢの真珠を５％超、好ましくは１０％超、２０％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超または９０％超得ることを可能にする。

【００９１】

本発明のこの実施形態によると、予測バイオマーカーは真珠の厚さおよび商業的な品質を予測し、かつ表６のヌクレオチド配列、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。

【表６】

識別名	遺伝子名
配列番号：１	ＣＬＥＣ２－２
配列番号：２	Ｃ３
配列番号：３	ＣＡＬＣ－１
配列番号：４	ＣＬＥＣ３－１
配列番号：５	ＤＥＲＭ－２
配列番号：６	Ｃ９
配列番号：７	１
配列番号：８	ＭＵＣＯ－２
配列番号：９	Ｃ８８ｂｉｓ
配列番号：１０	ｓｈｅｍ５－１
配列番号：１１	ｓｈｅｍ７－２
配列番号：１２	Ｃ８５
配列番号：１３	Ｃ１４
配列番号：１４	Ｃ１８
配列番号：１５	Ｃ２２
配列番号：１６	Ｐｒｏｔｉｎｈ３－１
配列番号：１７	Ｃ２
配列番号：１８	Ｃ４６
配列番号：１９	Ｃｂｉｎｄ－３
配列番号：２０	Ｃ６６ｔｅｒ

表６

【００９２】
この実施形態によると、予測サインは、真珠の厚さおよび商業的な品質を予測し、かつ表６、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【００９３】
本発明の別の実施形態によると、予測サインは、真珠の厚さおよび商業的な品質を予測し、かつ表６、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、または２０のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。

【００９４】
本発明の別の実施形態によると、予測サインは、真珠の厚さおよび商業的な品質を予測し、かつ（１）表２、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９または４０のヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイル、ならびに（２）表４、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１

０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０または２１のヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【００９５】

別の実施形態によると、予測サインは、真珠の厚さおよび商業的な品質を予測し、かつ（１）ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、Ｃ７５ｂｉｓ（配列番号：３６）、２（配列番号：３９）、ｍｐ２－２（配列番号：４０）、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８つのヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイル、ならびに（２）ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ｓｈｅｍ７－２（配列番号：１１）、Ｃ１８（配列番号：１４）、その変異体およびフラグメントから選択した１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５つのヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【００９６】

本発明の別の実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、（１）表面に欠損のない真珠を５％超、好ましくは１０％超、より好ましくは１５％超、２０％超、２５％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、９０％超得ることを可能にし、かつ（２）カテゴリＡおよび／またはＢの真珠を５％超、好ましくは１０％超、２０％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、９０％超得ることを可能にする。

【００９７】

本発明のこの実施形態によると、予測バイオマーカーは、真珠の表面欠損の数および真珠の商業的な品質を予測し、かつ表７のヌクレオチド配列、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。

【表７】

識別名	名称
配列番号：１	ＣＬＥＣ２－２
配列番号：２	Ｃ３
配列番号：３	ＣＡＬＣ－１
配列番号：４	ＣＬＥＣ３－１
配列番号：５	ＤＥＲＭ－２
配列番号：６	Ｃ９
配列番号：７	１
配列番号：８	ＭＵＣＯ－２
配列番号：９	Ｃ８８ｂｉｓ
配列番号：２８	ｍｐ１１－２

表７

【００９８】

本発明のこの実施形態によると、予測サインは、真珠の欠損の数および商業的な品質を予測し、かつ表７、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【００９９】
本発明の別の実施形態によると、予測サインは、真珠の厚さおよび商業的な品質を予測し、かつ表７、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９または１０のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。
【０１００】
本発明の別の実施形態によると、予測サインは、真珠の欠損の数および商業的な品質を予測し、かつ（１）表３、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、または１８のヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイル、ならびに（２）表４、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０または２１のヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。
【０１０１】
本発明の別の実施形態によると、予測サインは、真珠の欠損の数および商業的な品質を予測し、かつ（１）ヌクレオチド配列ｍｐ１１－２（配列番号：２８）およびＰｒｏｔｉｎｈ２－１（配列番号：４２）、その変異体およびフラグメントから選択した１または２つのヌクレオチド配列のヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイル、ならびに（２）ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ｓｈｅｍ７－２（配列番号：１１）、Ｃ１８（配列番号：１４）、その変異体およびフラグメントから選択した１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５つのヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。
【０１０２】
本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、（１）２４か月未満の養殖、好ましくは２１か月未満の養殖、より好ましくは１８か月未満の養殖で、約０．８ｍｍ以上の真珠層の厚さを有する真珠を約２５％超、好ましくは約３０％超、より好ましくは約４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、またはさらにより好ましくは約９５％超得ることを可能にし、かつ（２）表面に欠損のない真珠を５％超、好ましくは１０％超、より好ましくは１５％超、２０％超、２５％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、または９０％超得ることを可能にし、かつ（３）カテゴリＡおよび／またはＢの真珠を５％超、好ましくは１０％超、２０％超、３０％超、４０％超、５０％超、６０％超、７０％超、８０％超、９０％超得ることを可能にする。
【０１０３】
本発明のこの実施形態によると、予測バイオマーカーは、真珠の厚さ、表面欠損の数、および商業的な品質を予測し、かつ、表８のヌクレオチド配列、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる。

【表８】

同定物	遺伝子名
配列番号：１	ＣＬＥＣ２－２
配列番号：２	Ｃ３
配列番号：３	ＣＡＬＣ－１
配列番号：４	ＣＬＥＣ３－１
配列番号：５	ＤＥＲＭ－２
配列番号：６	Ｃ９
配列番号：７	１
配列番号：８	ＭＵＣＯ－２
配列番号：９	Ｃ８８ｂｉｓ

表８

【０１０４】
本発明のこの実施形態によると、予測サインは、真珠の核の周りの真珠層の厚さ、欠損の数および商業的な品質を予測し、かつ表８、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【０１０５】
本発明の別の実施形態によると、予測サインは、真珠の核の周りの真珠層の厚さ、欠損の数および商業的な品質を予測し、かつ表８、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、または９のヌクレオチド配列の組み合わせの発現プロファイルを含む。

【０１０６】
この実施形態によると、予測サインは、真珠の欠損の数、厚さおよび商業的な品質を予測し、かつ（１）表２、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０、２１、２２、２３、２４、２５、２６、２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９または４０のヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイル、（２）表３、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７または１８のヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイル、ならびに（３）表４、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４、１５、１６、１７、１８、１９、２０または２１のヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【０１０７】
この実施形態によると、予測サインは、真珠の欠損の数、厚さ、および商業的な品質を予測し、かつ（１）ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、Ｃ７５ｂｉｓ（配列番号：３６）、２（配列番号：３９）、ｍｐ２－２（配列番号：４０）、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を

含む、または配列からなる１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５、６、７、８つのヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイル、（２）ヌクレオチド配列ｍｐ１１－２（配列番号：２８）およびＰｒｏｔｉｎｈ２－１（配列番号：４２）、その変異体およびフラグメントから選択した１または２つのヌクレオチド配列のヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイル、ならびに（３）ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ｓｈｅｍ７－２（配列番号：１１）、Ｃ１８（配列番号：１４）、その変異体およびフラグメントから選択した１つのヌクレオチド配列または２、３、４、５のヌクレオチド配列の組み合わせのヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。

【０１０８】

１実施形態によると、本発明の予測サインは、配列番号２８および配列番号４２の発現プロファイルにより構成されていない。

【０１０９】

１実施形態によると、本発明の予測サインは、配列番号４２または配列番号２８の発現プロファイルにより構成されない。

【０１１０】

１実施形態によると、本発明の予測サインは、配列番号４の発現プロファイルを含み、またはこのプロファイルにより構成される。１実施形態によると、予測サインは、このサインを備えたドナー真珠貝を使用して得た真珠の商業的な品質を予測する。

【０１１１】

１実施形態では、本発明の予測サインは、配列番号２８の発現プロファイルを含み、またはこの発現プロファイルにより構成される。１実施形態によると、予測サインは、このサインを備えたドナー真珠貝を使用して得られる真珠の表面欠損の数を予測する。

【０１１２】

１実施形態によると、本発明の予測サインは、配列番号２８および配列番号４の発現プロファイルを含み、またはこれらのプロファイルにより構成される。１実施形態によると、予測サインは、このサインを備えたドナー真珠貝を使用して得られる真珠の表面欠損の数および得られる真珠の商業的な品質を予測する。

【０１１３】

本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、対照試料に対して、少なくとも１つの予測バイオマーカーの過剰発現または過小発現を有する。

【０１１４】

本発明の１実施形態によると、本発明の予測サインは、以下に定義するように、対照試料に対して、移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成組織における少なくとも１つの予測バイオマーカーの過剰発現または過小発現に対応する。

【０１１５】

本発明の１実施形態によると、対照試料に対するヌクレオチド配列の過剰発現または過小発現は、対照試料に対して２倍以上、好ましくは５倍以上、より好ましくは１０倍以上、およびさらにより好ましくは２５倍以上の発現レベルの差異に対応する。

【０１１６】

１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、以下の表９にしたがって、以下に定義されるように、対照試料に対して少なくとも１つの予測バイオマーカーの過剰発現または過小発現を有する。

【表９】

識別名	名称	影響を受ける変数	過剰発現/過小発現
配列番号：１	CLEC2-2	厚さ	+
		欠損数	+
		商業的な品質	-
配列番号：２	C3	厚さ	+
		欠損数	+
		商業的な品質	-
配列番号：３	CALC-1	厚さ	+
		欠損数	+
		商業的な品質	-
配列番号：４	CLEC3-1	厚さ	+
		欠損数	+
		商業的な品質	-
配列番号：５	DERM-2	厚さ	+
		欠損数	-
		商業的な品質	-
配列番号：６	C9	厚さ	+
		欠損数	-
		商業的な品質	-
配列番号：７	1	厚さ	-
		欠損数	-
		商業的な品質	-
配列番号：８	MUCO-2	厚さ	+
		欠損数	+
		商業的な品質	+
配列番号：９	C88bis	厚さ	+
		欠損数	-
		商業的な品質	+
配列番号：１０	shem5-1	厚さ	+
		商業的な品質	+
配列番号：１１	shem7-2	厚さ	+
		商業的な品質	+
配列番号：１２	C85	厚さ	+
		商業的な品質	+

配列番号：１３	C14	厚さ	+
		商業的な品質	-
配列番号：１４	C18	厚さ	+
		商業的な品質	-
配列番号：１５	C22	厚さ	+
		商業的な品質	-
配列番号：１６	Protinh3-1	厚さ	+
		商業的な品質	-
配列番号：１７	C2	厚さ	+
		商業的な品質	-
配列番号：１８	C46	厚さ	-
		商業的な品質	+
配列番号：１９	Cbind-3	厚さ	-
		商業的な品質	-
配列番号：２０	C66ter	厚さ	+
		商業的な品質	+
配列番号：２１	C17	厚さ	+
		欠損数	+
配列番号：２２	PLW-2	厚さ	+
		欠損数	-
配列番号：２３	PIF-2	厚さ	+
		欠損数	+
配列番号：２４	46	厚さ	+
		欠損数	+
配列番号：２５	C6	厚さ	+
		欠損数	-
配列番号：２６	C26bis	厚さ	+
		欠損数	+
配列番号：２７	C54(C53bis)	厚さ	+
		欠損数	+
配列番号：２８	mp11-2	商業的な品質	-
		欠損数	+
配列番号：２９	PMMG1-2	厚さ	+
配列番号：３０	73	厚さ	+

配列番号：３１	C23	厚さ	＋
配列番号：３２	C1	厚さ	＋
配列番号：３３	MNK-1	厚さ	＋
配列番号：３４	PLC-2	厚さ	＋
配列番号：３５	mp9-2	厚さ	＋
配列番号：３６	C75bis	厚さ	＋
配列番号：３７	13	厚さ	＋
配列番号：３８	C35bis	厚さ	-
配列番号：３９	2	厚さ	-
配列番号：４０	mp2-2	厚さ	-
配列番号：４１	C8	厚さ	＋
配列番号：４２	Protinh2-1	欠損数	-

＋：対照試料に対し過剰発現

－：対照試料に対し過小発現

表９

【０１１７】

本発明の１実施形態によると、対照試料は、真珠養殖の専門家にとって入手可能であり、かつ商業的な目的のための移植片に使用されるドナー真珠貝の天然の（野生の）集合を表す移植片ドナー真珠貝のグループに対応する。

【０１１８】

本発明の１実施形態によると、予測バイオマーカーの相対発現レベルは、以下のドナー真珠貝の２つのグループである、

-平均して高品質の真珠（真珠層が厚く、表面欠損がほとんどなく、かつ／または良好な品質に分類される）を生産するドナー真珠貝に対応する、本発明のこの実施形態に係る「グループＡ」（標的）、および

-真珠養殖の専門家にとって入手可能であり、商業的な目的のための移植片に使用されるドナー真珠貝の天然の（野生の）集合を表す移植片ドナー真珠貝のグループに対応する、この実施形態に係るグループＢ（対照または標準物質）

を比較することにより、以下の式：倍数＝２＾－ΔΔＣｔ＝＾－［ＤＣｔ　標的－ＤＣｔ　標準物質］にしたがって、２＾－ΔΔＣｔの方法（Ｌｉｖａｋ　ａｎｄ　Ｓｃｈｍｉｔｔｇｅｎ，　２００１）による定量ＰＣＲにより決定される。

【０１１９】

本発明の１実施形態によると、定量ＰＣＲ法は、蛍光プローブの使用に基づく。Ｃｔは、このプローブにより発光した蛍光が所定の閾値を超える、ＰＣＲ周期の数に対応する。

【０１２０】

第１の実施形態によると、標的Ｄｃｔは、対象の予測バイオマーカーと、標的グループ「Ａ」の移植片またはパールポーチ試料の参照遺伝子１８ＳおよびＳＡＧＥ１との間のＣｔの差異の平均値に対応し、かつ標準物質Ｄｃｔは、対象となる予測バイオマーカーと、標準物質グループ「Ｂ」の移植片またはパールポーチ試料の参照遺伝子１８ＳおよびＳＡＧＥ１との間のＣｔの差異の平均値に対応する。

【０１２１】

第２の実施形態によると、標的ＤＣｔは、予測バイオマーカーと、標的グループ「Ａ」

の移植片またはパールポーチ試料の参照遺伝子１８ＳおよびＳＡＧＥ１との間のＣｔの差異の中央値に対応し、かつ標準物質ＤＣｔは、予測バイオマーカーと、標準物質グループ「Ｂ」の移植片またはパールポーチの試料の参照遺伝子１８ＳおよびＳＡＧＥ１との間のＣｔの差異の中央値に対応する。

【０１２２】

本発明はまた、本発明に係る生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝由来の移植片に関する。

【０１２３】

したがって、本発明は、本発明に係る予測バイオマーカーおよび／または本発明に係る予測サインを含む移植片に関する。

【０１２４】

本発明はまた、本発明の同定工程により同定されたドナー真珠貝由来の移植片を含む移植されたレシピエント真珠貝に関する。

【０１２５】

１実施形態によると、本発明に係るドナー真珠貝由来の移植片をレシピエント真珠貝に移植した後、本発明に係る予測サインを、このレシピエント真珠貝の真珠袋で見出すことができる。

【０１２６】

１実施形態によると、レシピエント真珠貝における予測サインは、真珠の表面欠損の数を予測し、かつ、ＣＬＥＣ２－２（配列番号：１）、Ｃ９（配列番号：６）、ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、Ｃ１８（配列番号：１４）およびＣｂｉｎｄ－３（配列番号：１９）、その変異体ならびにフラグメントから選択した少なくとも１つのヌクレオチド配列、好ましくは１、２、３、４、５、６、７または８つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。本発明の１実施形態によると、この予測サインは、ＣＬＥＣ２－２（配列番号：１）、Ｃ９（配列番号：６）、ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）および／もしくはＣ５４（Ｃ５３ｂｉｓ）（配列番号：２７）、その変異体およびフラグメントの過剰発現、ならびに／またはＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、Ｃ１８（配列番号：１４）、および／もしくはＣｂｉｎｄ－３（配列番号：１９）、その変異体およびフラグメントの過小発現に対応する。

【０１２７】

１実施形態によると、レシピエント真珠貝における予測サインは、真珠の商業的な品質を予測し、かつ、Ｃ３（配列番号：２）、ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、ＣＬＥＣ３１－（配列番号：４）、ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ２（配列番号：１７）、Ｃ４６（配列番号：１８）およびＣｂｉｎｄ－３（配列番号：１９）、その変異体およびフラグメントから選択した少なくとも１つのヌクレオチド配列、好ましくは１、２、３、４、５、６または７つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。本発明の１実施形態によると、予測サインは、Ｃ３（配列番号：２）、ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ２（配列番号：１７）、Ｃ４６（配列番号：１８）および／またはＣｂｉｎｄ－３（配列番号：１９）、その変異体およびフラグメントの過小発現に対応する。

【０１２８】

１実施形態によると、レシピエント真珠貝における予測サインは、核の周りの真珠層の厚さを予測し、かつ、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ８８ｂｉｓ（配列番号：９）、Ｃ１８（配列番号：１４）、Ｐｒｏｔｉｎｈ３－１（配列番号：１６）、Ｃ１７（配列番号：２１）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ６（配列番号：２５）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）、Ｃ５４（配列番号：２７）、ＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＭＭＧ１－２（配列番号：２９）およびＣ３５ｂｉｓ（配列番号：３８）、その変異体およびフラグメントから選択した少なくとも１つのヌクレオチド配列、好ましくは１、

２、３、４、５、６、７、８、９、１０、１１、１２、１３、１４または１５のヌクレオチド配列の発現プロファイルを含む。本発明の１実施形態によると、予測サインは、ＣＬＥＣ３－１（配列番号：４）、ＤＥＲＭ－２（配列番号：５）、ＭＵＣＯ－２（配列番号：８）、Ｃ８８ｂｉｓ（配列番号：９）、Ｃ１８（配列番号：１４）、Ｐｒｏｔｉｎｈ３－１（配列番号：１６）、Ｃ１７（配列番号：２１）、ＰＩＦ－２（配列番号：２３）、Ｃ６（配列番号：２５）、Ｃ２６ｂｉｓ（配列番号：２６）および／もしくはＣ５４（配列番号：２７）、その変異体およびフラグメントの過剰発現、ならびに／またはＣＡＬＣ－１（配列番号：３）、Ｃ４６（配列番号：１８）、ＰＭＭＧ１－２（配列番号：２９）、およびＣ３５ｂｉｓ（配列番号：３８）、その変異体およびフラグメントの過小発現に対応する。

【０１２９】

本発明はまた、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝の同定工程に関する。

【０１３０】

本発明によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝の同定工程は、

（ａ）移植片ドナー真珠貝の試料での予測サインを形成する１つの予測バイオマーカーまたは複数の予測バイオマーカーの発現プロファイルの決定であって、このサインが、生体内鉱質形成の質を予測することと、

（ｂ）天然の集合（「標準物質」グループＢ）を表す移植片ドナー真珠貝のグループで得られる対照発現プロファイルと、ステップ（ａ）で得られる発現プロファイルの比較と

を含む。

【０１３１】

本発明の１実施形態によると、本発明の工程は、上述するような、核の周りの真珠層の厚さ、真珠の表面欠損の数、および／または真珠の商業的な品質を予測するサインの存在の決定を含む。

【０１３２】

本発明の１実施形態によると、本発明の工程は、２つのグループのドナー真珠貝（「標的」グループＡおよび「標準物質」グループＢ）の生体内鉱質形成の能力の比較を可能にし、かつ、ドナー真珠貝の「標準物質」Ｂグループの発現レベルは、高い生体内鉱質形成の特性を有するドナー真珠貝の「標的」Ａグループでの発現プロファイルの確立のための参照として扱われる。

【０１３３】

本発明の１実施形態によると、発現プロファイルの解析はドナー真珠貝の移植片に関して実施され、好ましくは回収ステップの後に実施される。

【０１３４】

本発明の１実施形態によると、発現プロファイルの解析は、移植ステップの前に、移植片ドナー真珠貝の外套膜に関して実施される。

【０１３５】

本発明の１実施形態によると、発現プロファイルの解析は、移植ステップの後に、受け入れた移植片を有する真珠貝の真珠袋に関して実施される。

【０１３６】

本発明の１実施形態によると、発現プロファイルの決定は、ＲＮＡ、ＤＮＡおよび／またはタンパク質のレベルで実施される。

【０１３７】

本発明の１実施形態によると、発現プロファイルの決定は、考慮される予測バイオマーカーの転写レベルの決定に対応する。ヌクレオチド配列の転写レベルを決定する方法は当業者に良く知られており、限定するものではないが、以下の、ＲＴ－ＰＣＲ、定量ＲＴ－ＰＣＲ（ＲＴ－ｑＰＣＲ）、高速ＲＴ－ｑＰＣＲ、ＤＮＡチップ、ＲＮＡチップといった方法が挙げられる。

【０１３８】
本発明の１実施形態によると、発現プロファイルの決定はタンパク質のレベルで実施され、かつ、考慮される予測バイオマーカーの翻訳レベルに対応する。ヌクレオチド配列の翻訳（すなわち翻訳されたタンパク質の発現）のレベルを決定する方法は当業者に良く知られており、限定するものではないが、以下の、ウェスタンブロット、免疫化学、ＥＬＩＳＡ、ＥＬＩＳＡサンドイッチ、ＰＡＧＥといった方法が挙げられる。
【０１３９】
本発明はまた、本発明の同定工程により同定される真珠貝に関する。この実施形態によると、同定される真珠貝は、配列番号１～配列番号４２、その変異体およびフラグメントから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列に特異的な発現プロファイルを有する。
【０１４０】
本発明はまた、本発明に係る予測バイオマーカーまたは本発明に係る予測サインの存在を決定するためのキットに関する。
【０１４１】
したがって、本発明に係るキットは、本発明の同定工程の実施を可能にする。
【０１４２】
本発明によると、本キットは、配列番号１～配列番号４２の配列、その変異体およびフラグメントを含むリストから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列の発現プロファイルを決定することを可能にする少なくとも１つの手段を含む。
【０１４３】
１実施形態によると、本発明に係るキットは、天然の集合由来の移植片ドナー真珠貝の生体内鉱質形成組織（外套膜）の生物学的物質に対応する対照試料を含む。
【０１４４】
本発明の１実施形態によると、本発明に係るキットは、ＲＴ－ＰＣＲ、ＲＴ－ｑＰＣＲ、または高速定量ＰＣＲによるトランスクリプトームレベルでの発現プロファイルを決定することを可能にする手段を含む。
【０１４５】
この実施形態によると、本キットは、総ＲＮＡを抽出する手段、逆転写手段、および／または配列番号１～配列番号４２の配列、その変異体およびフラグメントを含むリストから選択したヌクレオチド配列を含む、または配列からなる少なくとも１つのヌクレオチド配列を増幅する手段を含む。
【０１４６】
本発明の１実施形態によると、この増幅手段はポリメラーゼおよび緩衝液、遊離ヌクレオチドおよび少なくとも１対のプライマーを含み、その各プライマーは、配列番号１～配列番号４２、その変異体およびフラグメントから選択した配列と、特異的かつ効率的にハイブリッドを形成する（ｈｙｂｒｉｄｉｓｅ）。
【０１４７】
本発明の１実施形態によると、プライマーの対は、以下の表１０の対から選択される。

【表１０】

識別名	名称	センスプライマー	アンチセンスプライマー
配列番号: 1	CLEC2-2	AGCTACTGGCGCTCG ATG (配列番号: 43)	TGCAGATGAAGCCATG TGAG (配列番号: 44)
配列番号: 2	C3	ATTTCCACCACAGCCA GTAAAC (配列番号: 45)	CGTGGTACGGTGTGTC CTAAC (配列番号: 46)
配列番号: 3	CALC-1	CTCCATGCACAGACAT GACC (配列番号: 47)	GCCAGTAATACGGACC TTGG (配列番号: 48)
配列番号: 4	CLEC3-1	CATCGGTGACCATAG CCATAC (配列番号: 49)	CGTCTTTCAAGGAAGC TGTTG (配列番号: 50)
配列番号: 5	DERM-2	CACAGTGGTCACGAG GACAG (配列番号: 51)	TGATGCAACTTGGGGT CAG (配列番号: 52)
配列番号: 6	C9	CCGGACACTGGAAGT CATTAG (配列番号: 53)	TGCTCTGCACCCAGAA TATG (配列番号: 54)
配列番号: 7	1	CAATAAATAAAATACG GCACAGTTC (配列番号: 55)	AGAAAATGCTGCTATT AAATGGTG (配列番号: 56)
配列番号: 8	MUCO-2	AGTGGAACCGGAACT GGTG (配列番号: 57)	CACATCTCCAACTCCA GCAAG (配列番号: 58)
配列番号: 9	C88bis	CCGGCTCCGTTACCA CTAC (配列番号: 59)	CCTATGGGCTGGTCGT ACTC (配列番号: 60)
配列番号: 10	shem5-1	GTCCGAAACCAAATC GTCTG (配列番号: 61)	CTGTGGTGATGGTGAC TTCG (配列番号: 62)
配列番号: 11	shem7-2	TAGCAAGCGCCAAATA TGC (配列番号: 63)	AAGTGATGCCGAACCT AACC (配列番号: 64)
配列番号: 12	C85	AGTTCGTTTTGGTCCA CCTG (配列番号: 65)	TTCAGGGTGCCATCTT GTC (配列番号: 66)
配列番号: 13	C14	TGCATTTCGCATTGTT GTATG (配列番号: 67)	CATGTGCAGCCTCAAG GTATC (配列番号: 68)
配列番号: 14	C18	CCGCGTCAAGACCAT ATACG (配列番号: 69)	GCAGCATTTGTAAACC ATTCG (配列番号: 70)
配列番号: 15	C22	CAACAAACCATCGGT CCTTAC (配列番号: 71)	TGCATAGGTCCCGGTA AAATAG (配列番号: 72)
配列番号: 16	Protinh3-1	TATGCGTGTGACTGTC CTGA (配列番号: 73)	TCAATGCAAACGATCT GTCC (配列番号: 74)

配列番号: 17	C2	TGTTGGGTGGTCATC GTAAG (配列番号: 75)	CCACATGCGGCAGATA CTC (配列番号: 76)
配列番号: 18	C46	CCTGTTTGCCTGATGT TGTG (配列番号: 77)	CGACAGCCATACTCAT CCAG (配列番号: 78)
配列番号: 19	Cbind-3	CATTGTGCGTGAGTTT GGAG (配列番号: 79)	TGCTGATTGGTTCATT GAGG (配列番号: 80)
配列番号: 20	C66ter	GGCTGGTGGAGCCAA TATG (配列番号: 81)	TGACTTGAAATTCCCT TTTGTTG (配列番号: 82)
配列番号: 21	C17	CCCTTGGGAACAAAG GTACAG (配列番号: 83)	CATTGAATAAACGCCA ACAAGTAG (配列番号: 84)
配列番号: 22	PLW-2	AATTCTTCAGCCCGGA TATTG (配列番号: 85)	TCCTGACCTCCAGGGT GTAG (配列番号: 86)
配列番号: 23	PIF-2	tgataacggagacgacgatg (配列番号: 87)	aggcacaatcacgagaactg (配列番号: 88)
配列番号: 24	46	TGAACAAACAAATTG CAAAGTC (配列番号: 89)	TCAAAGCAAAGAAACA GTAAAGC (配列番号: 90)
配列番号: 25	C6	GCGATGACGACGTTT CTACC (配列番号: 91)	GGATTGGTTCGTTGTA AGCTATG (配列番号: 92)
配列番号: 26	C26bis	GGGAGTTTGTCAGGG ATTACTCC (配列番号: 93)	GGTTCTCGCAAATTCC TTTCTG (配列番号: 94)
配列番号: 27	C54(C53bis)	TGCAACCCTGATCCTA CTCC (配列番号: 95)	CGGAGATTGAACCAAA GCAG (配列番号: 96)
配列番号: 28	mp11-2	GTCCGAGGAATCATG GTAGC (配列番号: 97)	GTGCAGAGGTCCCGA CAG (配列番号: 98)
配列番号: 29	PMMG1-2	CGGAAACTGGAAAGT TCAGG (配列番号: 99)	CATAGGACTGAAGGTC ACATGG (配列番号: 100)
配列番号: 30	73	TTGAGCGTATCCACAT CCAG (配列番号: 101)	GCAACACATTTGGAAT GCAC (配列番号: 102)
配列番号: 31	C23	CCCAACCCTCCTATTA TATGTCC (配列番号: 103)	TGACCGCGTCCTTATG ATTAC (配列番号: 104)
配列番号: 32	C1	ACCCAAAGGCTGGAG ATACG (配列番号: 105)	TTCACCGTCAGGTCTT ACGTAGTAG (配列番号:

			106)
配列番号: 33	MNK-1	TAGGAAATCGTGAGG GCAAC (配列番号: 107)	TCGCTTAGCCAATCCT GAAC (配列番号: 108)
配列番号: 34	PLC-2	CAGCGCCGACGAATT TAC (配列番号: 109)	AACCATAGCGTCCGTA GCAC (配列番号: 110)
配列番号: 35	mp9-2	TGGTTTGTTGGGTCA GATTG (配列番号: 111)	TTGCTACCCCTTGGCA TC (配列番号: 112)
配列番号: 36	C75bis	TTCATTTTGGTGGTTA TGGAATG (配列番号: 113)	CCGTTTCCACCTCCGT TAC (配列番号: 114)
配列番号: 37	13	TTCTCTTGACTTCAGT TCTTCATTG (配列番号: 115)	CAGTCAGGGACCATTT TGTG (配列番号: 116)
配列番号: 38	C35bis	TGTGTCGGATTTGGC ACTG (配列番号: 117)	GGGGTGTTTGTGTGTA TTTGTTC (配列番号: 118)
配列番号: 39	2	TCTGTGACCCACTCTT TCTGG (配列番号: 119)	ACAACAACGGCAATG GAATC (配列番号: 120)
配列番号: 40	mp2-2	AGCTGATCCCGTCTTC ACAG (配列番号: 121)	ATGCAAGGGGAAGAC AGATG (配列番号: 122)
配列番号: 41	C8	GGCTCCCAACATCTTT GTAC (配列番号: 123)	GTGGTTGCTGATTTGT CACTATC (配列番号: 124)
配列番号: 42	Protinh2-1	TGCAGGTTTTCGTATG TCCA (配列番号: 125)	GCCCAGGAAAACAAA GTCAG (配列番号: 126)

表１０

【０１４８】

本発明の１実施形態によると、本発明に係るキットは、タンパク質レベルでの発現プロファイルを決定することにより（プロテオミクス解析により）発現プロファイルを決定することを可能にする手段を含む。

【０１４９】

この実施形態によると、本キットは、配列番号１～配列番号４２、その変異体およびフラグメントを含むまたはそれらからなるヌクレオチド配列によりコードされる１つ以上のタンパク質を特異的に認識する１つ以上の抗体を含む。

【０１５０】

１実施形態によると、本キットはまた、総タンパク質抽出手段を含む。

【０１５１】

本発明はまた、本発明に係る同定工程を実施するための、配列番号１～配列番号４２、その変異体およびフラグメントの数の下で同定した１つ以上のヌクレオチド配列に特異的な１つ以上のプローブを含む支持体を含む装置に関する。

【０１５２】

本発明で、用語「プローブ」は、任意の単一鎖ＤＮＡまたは単一鎖ＲＮＡフラグメントを意味し、この配列は探索される配列に相補的であり、したがって、それは標識したプロ

ーブ（放射性原子／アイソトープまたは蛍光／蛍光色素のグループに結合したヌクレオチドの組み込みにより）を用いたハイブリッド形成法により検出されてもよく、分子状の「フック」として作用する。

【０１５３】

好ましい実施形態によると、この装置の支持体は、ガラス膜、金属膜、ポリマー膜、またはシリカ膜から選択される。

【０１５４】

このような装置は、たとえば、配列番号１～配列番号４２、その変異体およびフラグメントの数の下で同定した１つ以上のヌクレオチド配列、または配列番号１～配列番号４２、その変異体およびフラグメントの数の下で同定したヌクレオチド配列と相補的な１つ以上の配列を含むＤＮＡまたはＲＮＡチップである。

【０１５５】

本発明はまた、レシピエント真珠貝を移植する工程であって、ドナー真珠貝の外套膜の上皮に対応する、本発明に係る生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝からの移植片を、核と組み合わせて受け取る真珠貝のパールポーチにおける挿入を含む、工程に関する。本発明の１実施形態によると、生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝は、本発明の工程により同定される。

【０１５６】

本発明の１実施形態によると、移植工程は、（ｉ）レシピエント真珠貝を開けることと、（ｉｉ）パールポーチにアクセスして第３のステップを可能にするためにレシピエント真珠貝の組織に切り込みを作製することと、（ｉｉｉ）レシピエント真珠貝のパールポーチにおいて、本発明に係るドナー真珠貝の外套膜の上皮の一部（約４ｍｍ^2）に対応する移植片を核と組み合わせて挿入することとを含む。

【０１５７】

本発明はまた、高品質の真珠を生産する工程であって、本発明に係る生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝由来の移植片のレシピエント真珠貝での移植を含む、工程に関する。レシピエント真珠貝は核を含むことが理解される。本発明の１実施形態によると、真珠生産工程（ｐｅａｒ　ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ　ｐｒｏｃｅｓｓ）は、レシピエント真珠貝のパールポーチにおける核の移植、および本発明に係る生体内鉱質形成に関して高い能力を有するドナー真珠貝の外套膜の上皮の一部の移植を含む。

【０１５８】

本発明の１実施形態によると、この真珠生産工程は、本発明に係るドナー真珠貝およびレシピエント真珠貝を得るための、真珠貝の回収および養殖を含む第１のステップを含む。次いで有利に本発明に係るドナー真珠貝を、可能性のあるいかなる寄生生物も除去するように洗浄し、次いでレシピエント真珠貝を養殖場に、好ましくは１０～２４か月の期間、好ましくは１２～２０か月の、さらにより好ましくは１６～１８か月の期間配置する。養殖期間の間、核を含む真珠袋を生成するために、移植片の上皮端の外側で鉱質形成が増加してパールポーチを一列に並べ、かつ核の周りに真珠層を堆積し、したがってその結果真珠が生産される。

【０１５９】

本発明はまた、本発明に係る生体内鉱質形成に関して高い能力を有する真珠貝を移植片ドナー真珠貝として使用して、上述のように真珠を得る工程により得られる真珠に関する。

【図面の簡単な説明】

【０１６０】

【図１】確立した実験的手法の提示。

【図２】Ｐ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａにおける真珠の成長および質の候補バイオマーカーを検証するために使用したプロトコル。

【０１６１】

実施例

本発明は、以下の実施例を参照してより容易に理解かつ解釈される。

【０１６２】

この試験の目的は、「高品質の鉱質形成」を有する移植片ドナー真珠貝を選択するために、収集される真珠の品質の予測サインを開発することであった。

【０１６３】

実験手法

使用した手法は、シェル（外套膜）および真珠（パールポーチに含まれる移植片および真珠袋）の生体内鉱質形成に関与する組織の上皮細胞において差次的に発現されるヌクレオチド配列を同定するために、トランスクリプトームの解析に対する包括的な手法を開発することを含んだ（図１）。この手法は、鉱質形成組織（外套膜、移植片および真珠袋）に関する２つの補完的なトランスクリプトミクス手法、ならびにＰ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａの鉱質化組織（シェルおよび真珠）上で並行する包括的なプロテオミクス手法の開発を含んだ。対比される真珠の品質に潜在的に関連する異なる移植片ドナー真珠貝により差次的に発現されるヌクレオチド配列を同定するために、４つのＳＡＧＥデータバンクを真珠鉱質形成組織、移植片およびパールポーチに関して確立した。シェルの生物鉱質形成組織である外套膜について、ピロシーケンスにより並行してＥＳＴ外套膜バンクも開発した。最後に、シェルおよび真珠を含むタンパク質を同定するために、Ｐ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａの鉱質化組織に関して並行して包括的なプロテオミクス手法を開発した。包括的なトランスクリプトミクスおよびプロテオミクス手法の確立により、Ｐ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａにおいて生体内鉱質形成の工程に関与するタンパク質をコードする、候補となる真珠の品質のバイオマーカーの、「候補となる手法」または「盲検」による選択が可能となった。バイオマーカーの検証を、一方で、収集した真珠の品質を評価しかつ「ドナー作用」を同定することを可能にし、かつ、他方で、対比される品質の真珠の生産の開始時に生物学的な物質（移植片およびパールポーチ）を提供することを可能にした実験用移植片を生産することにより、実施した。候補バイオマーカーの検証は次いで高速定量ＰＣＲにより実施され、かつ候補バイオマーカーの発現レベルを生物学的事実（真珠の品質）と統計的に相関させることを含んだ。ドナー真珠貝の移植片およびレシピエント真珠貝のパールポーチにおける候補となる予測バイオマーカーの発現レベルの解析は、ドナー作用に関連して、真珠の品質を予測するバイオマーカーの同定をもたらした。

【０１６４】

物質および方法

真珠貝

真珠貝Ｐ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａを包括的なトランスクリプトミクス解析、包括的なプロテオミクス解析および実験用移植片に使用して、真珠の品質を予測するバイオマーカーを検証した。

【０１６５】

実験用移植片（Ｇ１）

フランス領ポリネシア由来であり、約３年貝のＰ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａ真珠貝４０個を、移植片ドナー真珠貝として使用した。約３０の移植片を、各ドナー真珠貝のそれぞれの殻片の外套膜から切断した。各ドナーから最低２つの移植片を保存した。各ドナー真珠貝のそれぞれの殻片に由来する残りの移植片を、レシピエント真珠貝に移植した。合計１９７８のレシピエント真珠貝に、２．４の生体核（ｂｉｏ　ｎｕｃｌｅｉ）を移植した。パールポーチおよび真珠の試料を８つの時点である、１日目、７日目、２１日目、２か月目、３か月目、６か月目、１２か月目および１８か月目に回収した。

【０１６６】

ＲＮＡ抽出、ｃＤＮＡ合成および定量ＰＣＲプロトコル

総ＲＮＡの抽出

実験用移植片由来の外套膜、移植片、またはパールポーチの試料からＲＮＡを単離し、ＲＮＡｌａｔｅｒ（登録商標）（Ａｍｂｉｏｎ）中で保存した。組織を１ｍｌのＰＢＳですすぎ、氷上のペトリ皿中でメスを用いて切開し、次いで１ｍｌのＴｒｉｚｏｌ（登録商

標）（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）中に置いた。抽出を４℃で１晩、攪拌機上で実施した。次いでチューブを、二重ボイラーで、３０℃で５分インキュベートし、次いで３０秒間ボルテックスを行った。すりつぶされた物質を、１２０００ｇで１０分間、周囲温度で遠心し、１ｍｌの上清を回収して新しいチューブに移した。核酸およびタンパク質の分離を、チューブあたり２００μｌのクロロホルムを添加し、かつ逆さにして混合（ｉｎｖｅｒｓｉｏｎ　ｍｉｘｉｎｇ）することにより実施した。周囲温度で１５分インキュベートした後、チューブを４℃で１０分間、１２０００ｇで遠心した。ＲＮＡを含む約５００μｌの上相を新しいチューブに移した。ＲＮＡを、２５０μｌのイソプロパノールおよび２５０μｌの「高塩」生理食塩水溶液（０．８　Ｍクエン酸ナトリウム；１．２Ｍ　塩化ナトリウム）により－８０℃で一晩沈殿させた。試料を、１５０００ｇで３０分間遠心した。上清を排出し、ＲＮＡ塩基を、１ｍｌの７０％　エタノールでボルテックスにより２回洗浄し、１５０００ｇ、４℃で１５分間遠心した。次いで、塩基を、覆いの下で、１０分間周囲温度で乾燥させ、５０μｌのＲＮＡｓｅフリー水の中に置いた。次いで、チューブを二重ボイラーで、５５℃で１０分間インキュベートした後、手で均質化した。ＲＮＡを８０℃で保存した。得られたＲＮＡの質および量を、ＴＡＥ　０．５Ｘ中１％のアガロースゲル上１００ｍＶでの電気泳動により、ならびにＮａｎｏｄｒｏｐ　ＮＤ１０００およびＡｇｉｌｅｎｔ　２１００　バイオアナライザ（Ｂｉｏａｎａｌｙｓｅｒ）（ＲＮＡ　６０００　ナノキット）を用いた分光光度アッセイにより評価した。

【０１６７】

逆転写

真珠の品質を予測する候補バイオマーカーの相対発現レベルを決定するために、移植片およびパールポーチのｃＤＮＡ合成を、ＳｕｐｅｒＳｃｒｉｐｔＴＭ　ＩＩ逆転写キット（ＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎＴＭ－Ｃａｔ．Ｎｏ：１８０６４－０１４）を供給者の説明にしたがい使用して、８００ｎｇの移植片およびパールポーチのＲＮＡを用いて実施した。

【０１６８】

定量ＰＣＲ

真珠の品質を予測する候補バイオマーカーの発現レベルの測定を、供給者の説明にしたがい、前増幅ステップ用の２ＸＴａｑＭａｎＰｒｅＡｍｐ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘキット（アプライドバイオシステムズ－Ｐ／Ｎ　４３８４２６６）および増幅ステップ用の２ＸＴａｑＭａｎ　Ｇｅｎｅ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　Ｍａｓｔｅｒ　Ｍｉｘキット（アプライドバイオシステムズ－Ｐ／Ｎ　４３６９０１６）を使用して、ＢｉｏＭａｒｋ（商標）ＨＤシステム（Ｆｌｕｉｄｉｇｍ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）での高速ｑＰＣＲにより実施した。４つのＦｌｕｉｄｉｇｍ　９６．９６　ＤｙｎａｍｉｃＡｒｒａｙリアルタイムＰＣＲチップ（ＢＭＫ－Ｍ－９６．９６）を使用した。使用する増幅プログラムは、以下のように：５０℃で２分、次いで９５℃での１０分の変性、３５の増幅周期（９５℃での１５秒の変性、６０℃での１分のハイブリッド形成およびエロンゲーション）を行い、各周期の終わりに蛍光を測定し、連続した蛍光測定での６０℃から９５℃の解離曲線を、１℃ごとに測定した。データを、Ｆｌｕｉｄｉｇｍリアルタイム解析ソフトウェア（Ｆｌｕｉｄｉｇｍ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）およびＢｉｏｍａｒｋ融解曲線分析（Ｍｅｌｔｉｎｇ　Ｃｕｒｖｅ　ａｎａｌｙｓｉｓ）（Ｆｌｕｉｄｉｇｍ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ）を使用して抽出かつ解析した。遺伝子の相対発現レベルを、以下の式：倍数＝２＾－ＤＤＣｔ＝＾－［ＤＣｔ　標的－ＤＣｔ　標準物質］による２＾－ＤＤＣｔの方法（Ｌｉｖａｋ　ａｎｄ　Ｓｃｈｍｉｔｔｇｅｎ，　２００１）により決定した。ＤＣｔ　標的は、予測バイオマーカーと、標的グループ「Ａ」の移植片試料またはパールポーチの参照遺伝子１８ＳおよびＳＡＧＥ１との間のＣｔの差異の平均値に対応する。ＤＣｔ　標準物質は、本発明に記載するように、予測バイオマーカーと、標準物質グループ「Ｂ」の移植片試料またはパールポーチの参照遺伝子１８ＳおよびＳＡＧＥ１との間のＣｔの差異の平均値に対応する。

【０１６９】

真珠の品質の評価

評価の前に、実験用移植片に即して収集した真珠を、粗い塩を用いて洗浄し、新鮮な水ですすぎ、清潔な布で磨いて光沢を出した。

【０１７０】

真珠の品質の包括的な評価を実施するために、真珠の品質のパラメータを、以下の、「真珠の表面の真珠層の厚さ」の変数、「真珠の表面欠損の数」の変数、および「商業的な品質」の変数といった異なる変数に分けた。

【０１７１】

「真珠の表面での真珠層の厚さ」の変数は、核の表面に存在する最小の真珠層の厚さのミリメートル単位での測定値に対応する。これを、真珠の最小の直径から核の直径を減算し、直径の差異を２で除算することにより得た。真珠および核の直径を、真珠および核をスキャンした画像を使用して測定し（３００ピクセル／ｃｍ、Ｅｐｓｏｎ　Ｐｅｒｆｅｃｔｉｏｎ　４９９０フォトスキャナ）、画像解析ソフトウェアＩｍａｇｅＪ（バージョン１．４４）を用いて処理した。

【０１７２】

「真珠の表面での欠損の数」の変数は、表面に観察される欠損の数に基づく４つの品質クラス（欠損のない真珠、１～５の欠損がある真珠、５超の欠損がある真珠、および欠損で完全に覆われた真珠）への各真珠の分類に対応する。考慮される欠損は、くぼみ（ｐｉｔ）、気泡（ｂｌｉｓｔｅｒ）および斑点（ｓｐｏｔ）である。第２の段階では、真珠が属する欠損クラスに基づき、０～３の範囲のグレードを各真珠に割り当てた（欠損で覆われた真珠は０～欠損のない真珠は３）。

【０１７３】

「商業的な品質」の変数は、５つの品質カテゴリ（Ａ、Ｂ、Ｃ、Ｄ、およびリジェクト）への真珠の分類に対応する。この分類を、２００５年２月４日の審議番号第２００５－４２号（フランス領ポリネシアの公式ジャーナル）により定義された基準にしたがい、２段階で実施した。第２の段階では、真珠が属するカテゴリに基づき、０～４の範囲のグレードを各真珠に割り当てた（「リジェクト」のカテゴリの真珠は０～カテゴリ「Ａ」の真珠はリジェクト」は４）。

【０１７４】

ドナー作用を同定するために、移植片ドナー真珠貝を、各変数に基づき質の等級が増大する順に分類した。この分類を、実験用移植片に即して１８か月目に収集した真珠の品質の評価に基づき、各ドナー真珠貝にグレードを割り当てることにより実施した。「真珠の表面での真珠層の厚さ」の変数では、このグレードは、収集した真珠の厚さのドナーごとの平均値に対応する。「真珠の表面での欠損の数」および「商業的な品質」の変数では、各ドナー真珠貝のグレードは、収集した真珠のグレードのドナーごとの平均値に対応する。

【０１７５】

真珠の成長および品質バイオマーカーの検証のための、移植片およびパールポーチのサンプリングプランの開発

対比される質の真珠の生産に使用されるドナー真珠貝からの移植片およびパールポーチをサンプリングするためのグループを形成するために、実験用移植片に即して収集した１８か月目の真珠のドナー作用および質に基づき、「厚さ」、「質」および「欠損」の各変数に関して移植片ドナー真珠貝の２つのグループを形成した。「グループＡ」（標的）は、平均して、高品質の真珠（真珠層が厚く、表面欠損がほとんどなく、かつ／またはより良好な品質に分類される）を生産するドナー真珠貝に対応する。「グループＢ」（対照または標準物質）は、真珠養殖の専門家にとって入手可能であり、かつ商業的な目的のための移植片に使用されるドナー真珠貝の天然の（野生の）集合を表す移植片ドナー真珠貝のグループに対応する。

【０１７６】

「グループＡ」（標的）の開発を、真珠の品質および移植片ドナー真珠貝の分類、ペア法によるＤｕｎｎ多重比較法および尊属ヒエラルキー分類（ａｓｃｅｎｄａｎｔ　ｈｉｅ

ｒａｒｃｈｉｃａｌ　ｃｌａｓｓｉｆｉｃａｔｉｏｎ）に関する生データの解析を実施することにより実行した。次いで、これらのドナー真珠貝のグループの開発により、グループＡおよびＢを構成するドナー真珠貝から移植片をサンプリングする計画、ならびにグループＡおよびＢを構成するドナー真珠貝の移植片の移植からパールポーチをサンプリングする計画といった、対比される真珠の生産の開始時に移植片およびパールポーチをサンプリングする２つの計画を各変数に関して定義することが可能となった。

【０１７７】

統計解析

真珠の品質を予測するバイオマーカーの検証に即して実施した全ての統計解析は、シャピロ－ウィルク検定、Ｋｒｕｓｋａｌｌ－Ｗａｌｌｉｓ検定、Ｄｕｎｎ多重比較手法および尊属ヒエラルキー分類ではＸｌｓｔａｔソフトウェア（バージョン２００９．４．０２）を使用し、Ｗｉｌｃｏｘｏｎ検定ではＲソフトウェア（バージョン２．１０．０）を使用して実施した。シャピロ－ウィルク検定は、閾値α５％で用いた。Ｋｒｕｓｋａｌｌ－Ｗａｌｌｉｓ検定は、閾値α５％で実施した。Ｄｕｎｎ多重比較手法は、有意レベルにＢｏｎｆｅｒｒｏｎｉの補正を適用することにより実施した（補正した閾値α＝０．０１％）。この尊属ヒエラルキー分類を、非類似度としての距離ｘ２および集計法としてウォード法を使用して実施した。分類番号は割り当てず、切り捨てのレベルを自動的に定義した。Ｗｉｌｃｏｘｏｎ検定を閾値α５％で、片側で用いた。

【０１７８】

結果

トランスクリプトーム解析に対する包括的な手法により、シェルおよび真珠の生体内鉱質形成に関与する組織中で発現される多くのヌクレオチド配列を同定できた。ＥＳＴ外套膜バンクの開発によって、本出願人はＰ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａでのシェルの生体内鉱質形成に潜在的に関与するタンパク質をコードする８２のヌクレオチド配列を同定できた。ＳＡＧＥ移植片およびパールポーチのバンクの開発により、注釈を付けられ、かつ真珠の生体内鉱質形成の工程に関わる組織中で発現される５０００超の遺伝子配列を同定できた。最後に、シェルおよび真珠の構成要素に関して確立した包括的なプロテオミクス手法により、Ｐ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａでの鉱質化構造を構成する１３０のタンパク質配列を同定できた。最終的に、これらのプロテオミクスおよびトランスクリプトミクスのデータバンクの使用により、真珠の品質を予測する２６８の候補バイオマーカーのグループであって、この内の２０５がＰ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａで今のところ未知のタンパク質をコードしているグループを選択できた。同定した２６８のバイオマーカーのうちの、２２４の有効かつ特異的なプライマー対を同定し、１８８の候補予測バイオマーカーを選択かつ試験した。

【０１７９】

真珠の品質を予測するバイオマーカーとしての候補となる予測バイオマーカーの検証は、移植片に即して得られる真珠の商業的な品質、厚さおよび欠損の数と予測バイオマーカーの発現レベルの相関を含むものであった（図２）。

【０１８０】

したがって、候補バイオマーカーの発現レベルの解析を、真珠の生体内鉱質形成組織中で実施し、収集した真珠の品質に基づき差次的に発現されるヌクレオチド配列を同定できた。ヌクレオチド配列は、本発明に記載されるように、グループＡのヌクレオチド配列の相対発現が、グループＢにおける同一のヌクレオチド配列の発現に対して、１より多いまたは少ない因数、または２以上の「倍数」である場合、差次的に発現されると考えられる。

【０１８１】

真珠の品質と相関するヌクレオチド配列の発現レベルの解析の併用解析は、Ｐ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａでの真珠の成長および質を予測する４２のバイオマーカーのグループの検証をもたらした（表１１）。

【表１１】

変数	バイオマーカーの発現レベルの動向（グループＡ対グループＢ）	移植片で差次的に発現されるバイオマーカーの数	変数間で重複しないバイオマーカーの合計数
厚さ	過剰発現	37	42
	過小発現	6	
欠損	過剰発現	11	
	過小発現	7	
商業的な品質	過剰発現	7	
	過小発現	14	

表１１：２以上の倍数を有する、Ｐ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａにおける真珠の品質のバイオマーカーの数。

【０１８２】

得られる真珠の品質を予測する４２のバイオマーカーの完全なリストを表１および１２に提示する。

【表１２】

		基準に関するグループＡの真珠貝およびグループＢの真珠貝の間での発現の差異					
		厚さ		商業的な品質		欠損	
識別名	名称	移植片	ポーチ	移植片	ポーチ	移植片	ポーチ
配列番号: 1	CLEC2-2	4.986	0.581	0.040	0.847	2.626	19.279
配列番号: 2	C3	9.535	1.000	0.254	0.229	2.707	1.097
配列番号: 3	CALC-1	3.990	0.335	0.003	0.004	2.218	0.024
配列番号: 4	CLEC3-1	3.399	6.109	0.067	0.202	15.906	1.507
配列番号: 5	DERM-2	3.245	3.649	0.188	1.171	0.188	1.781
配列番号: 6	C9	9.793	1.482	0.094	0.960	0.094	2.672
配列番号: 7	1	0.210	1.608	0.136	0.569	0.206	0.569
配列番号: 8	MUCO-2	19.752	2.164	2.128	0.245	8.262	3.504
配列番号: 9	C88bis	11.366	2.350	4.244	1.323	0.193	1.563
配列番号: 10	shem5-1	45.682	1.478	10.583	0.784	0.528	1.516
配列番号: 11	shem7-2	7.064	1.825	7.670	0.905	0.918	0.972
配列番号: 12	C85	6.565	1.959	2.523	1.224	0.633	1.640
配列番号: 13	C14	29.368	1.612	0.211	0.978	1.723	0.581
配列番号: 14	C18	17.062	2.323	0.173	0.733	0.925	0.242
配列番号: 15	C22	12.098	1.714	0.427	0.560	1.722	2.742
配列番号: 16	Protinh3-1	8.790	2.573	0.439	1.340	0.572	2.265
配列番号: 17	C2	6.480	1.091	0.257	0.433	0.643	0.998
配列番号: 18	C46	0.199	0.040	2.902	0.462	0.517	1.217
配列番号: 19	Cbind-3	0.470	1.508	0.135	0.131	1.136	0.118
配列番号: 20	C66ter	5.562	1.777	2.696	0.762	0.925	1.541

配列番号: 21	C17	22.072	2.210	0.990	1.040	3.654	0.388
配列番号: 22	PLW-2	19.542	1.336	0.823	0.942	0.317	1.789
配列番号: 23	PIF-2	7.020	5.150	0.642	1.303	3.094	1.310
配列番号: 24	46	6.497	1.936	0.623	0.719	3.023	1.465
配列番号: 25	C6	6.153	2.619	0.563	1.198	0.260	0.565
配列番号: 26	C26bis	5.437	6.844	1.156	1.257	2.553	2.880
配列番号: 27	C54(C53bis)	9.155	4.211	0.965	0.448	6.646	2.288
配列番号: 28	mp11-2	1.178	3.283	0.441	1.618	5.525	2.593
配列番号: 29	PMMG1-2	12.967	0.268	0.502	0.129	1.296	3.741
配列番号: 30	73	8.999	1.052	0.869	1.004	0.936	0.509
配列番号: 31	C23	7.991	1.515	0.721	0.816	0.788	0.760
配列番号: 32	C1	6.654	1.289	0.985	0.650	0.736	0.867
配列番号: 33	MNK-1	6.218	1.294	1.674	0.745	1.384	1.030
配列番号: 34	PLC-2	6.153	1.316	1.338	0.747	0.856	0.107
配列番号: 35	mp9-2	6.140	1.569	1.169	0.978	1.169	1.248
配列番号: 36	C75bis	5.703	1.512	0.604	1.155	0.604	0.882
配列番号: 37	13	5.210	1.724	1.129	0.990	1.129	1.501
配列番号: 38	C35bis	0.198	0.364	0.986	0.589	0.566	1.269
配列番号: 39	2	0.153	1.061	1.012	0.716	0.593	1.586
配列番号: 40	mp2-2	0.056	1.054	1.839	1.007	1.220	1.007
配列番号: 41	C8	5.595	1.280	1.163	0.543	0.808	0.950
配列番号: 42	Protinh2-1	1.175	1.335	0.619	0.972	0.025	1.022

表１２：Ｐ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａにおける真珠の品質を予測するバイオマーカー遺伝子のリスト（結果は、グループＡの真珠貝およびグループＢの真珠貝の間での発現の差異に対応する）。

【０１８３】
したがって、この試験により、ドナー真珠貝の生体内鉱質形成に関する能力を予測するサインを同定できた。
【０１８４】
次いで、配列番号１～４２の４２のバイオマーカーのうち１５のバイオマーカーを、上述のものとは無関係の２つの追加的な移植プロジェクトからもたらされたデータセットに基づき評価した。
【０１８５】
実験用移植片
移植片Ｇ２では、６７の移植片ドナー真珠貝を使用した。移植片Ｇ３では、Ｇ２の真珠貝のバッチ以外のバッチから６４の移植片ドナー真珠貝を使用した。５０の移植片を、各ドナー真珠貝のそれぞれの殻片の外套膜から切断した。配列番号１～４２の４２のバイオマーカーのうち１５の発現レベルを、本発明に記載される方法にしたがって決定するために、各ドナーから２つの移植片（殻片あたり１つの移植片）を保存した。各ドナー真珠貝のそれぞれの殻片に由来する残りの移植片をレシピエントの真珠貝に移植し、Ｇ２では３２０８の真珠貝およびＧ３では３０５１の真珠貝に、同一の直径の核を使用して移植した。Ｇ２の真珠を移植後１５か月目に回収し、Ｇ３の真珠を移植後１６か月目に回収した。
【０１８６】
移植片Ｇ２およびＧ３に関する移植片ドナーの分類
各ドナー真珠貝に対し、収集した真珠の品質の評価に基づき、かつ本発明に記載される計算方式にしたがって、グレードを割り当てた。移植片Ｇ２およびＧ３からの、それぞれ合計２０７４および１８７９の真珠を、３つの変数「真珠の表面での真珠層の厚さ」、「真珠の表面での欠損の数」および「商業的な品質」のそれぞれに関して解析した。移植片Ｇ２およびＧ３のそれぞれにつき、平均して、高品質の真珠（真珠層の厚さが厚く、表面欠損がほとんどなく、かつ／または良好な品質に分類される）を産生してグループＡ（標的）を構成する、４つのドナー真珠貝を選択した（表１３）。グループＢ（対照または標準物質）は、移植片Ｇ２およびＧ３に使用した真珠貝の集合を表す２３の移植片ドナー真珠貝のグループに対応する。
【表１３】
表１３：移植片Ｇ２およびＧ３に使用したドナー真珠貝のグループに関する、変数「真珠の表面での真珠層の厚さ」、「真珠の表面での欠損の数」、および「商業的な品質」の平均値の比較。グループＢに対するグループＡのドナーにより産生された真珠の品質の増加分はパーセンテージとして表され、太字で括弧の間に示される。

	移植片Ｇ２およびＧ３のそれぞれについての試験したドナー真珠貝グループによる質の変数の平均値					
移植片	G2			G3		
変数の平均／ドナー	全てのドナー	B	A	全てのドナー	B	A
厚さ	1.707	1.688	2.196 **(+30%)**	1.597	1.585	2.022 **(+28%)**
欠損数	1.529	1.447	0.771 **(+47%)**	1.688	1.673	0.970 **(+42%)**
商業的な品質	1.557	1.594	2.429 **(+52%)**	1.356	1.276	2.118 **(+66%)**

【０１８７】
結果
移植片Ｇ２の真珠の解析に関して、変数「真珠の表面での真珠層の厚さ」、「真珠の表面での欠損の数」および「商業的な品質」のそれぞれに関する、グループＢに対するグループＡのドナーにより産生された真珠の品質の増加分は、それぞれ３０％、４７％および５２％であった（表１３）。移植片Ｇ３では、グループＡのドナーにより産生された真珠の品質の増加分は、それぞれ２８％、４２％および６６％であった。グループＢおよび移植片で使用したドナーのすべてを含むグループで得られた各変数の平均値は、移植片Ｇ２またはＧ３であるかを考慮することなく、類似していた。これらの結果は、２つの独立した移植片Ｇ２およびＧ３で使用したドナーの集合から選択したグループＢのドナーの代表性を示す。
【０１８８】
Ｐ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａでの真珠の品質を予測する１５のバイオマーカーの相対発現レベルを、本発明に記載される方法によるリアルタイムＰＣＲにより決定した。したがって、ドナーグループＡおよびＢの発現レベルを、移植片Ｇ２およびＧ３のそれぞれについて、ならびに対象となる３つの変数（厚さ／商業的な品質／欠損）に関して計算した。
【０１８９】
測定した発現レベルを、第１の移植片（Ｇ１）で得られたレベルと比較し、以前に得た結果を確認した。移植片Ｇ１、Ｇ２、およびＧ３で得られた、生体内鉱質形成に関して高い能力を有する１５のバイオマーカーのそれぞれについて、意味のあるレベルの過剰発現または過小発現（２倍以上、それぞれ「＋」および「－」で示される）を表１４に示す。

【表１４】

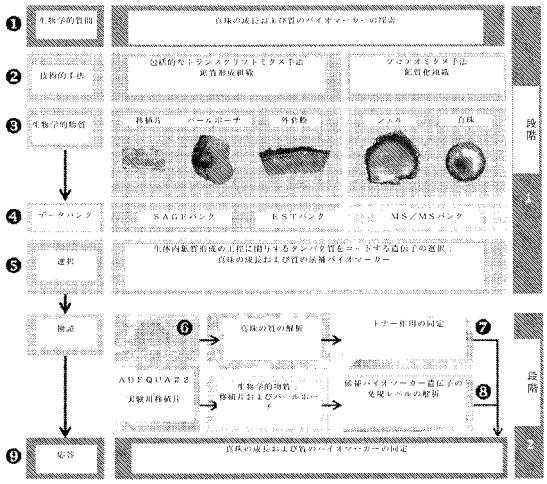
表１４：考慮される移植片による、グループＡのドナー真珠貝の生体内鉱質形成に関して高い能力があるバイオマーカーの、対照試料に対する過剰発現または過小発現のレベルの比較。

識別名	名称	影響した変数	過剰発現 / 過小発現
配列番号：３	CALC-1	商業的な品質	-
配列番号：４	CLEC3-1	商業的な品質	-
配列番号：５	DERM-2	商業的な品質	-
配列番号：８	MUCO-2	厚さ	+
配列番号：１１	shem7-2	商業的な品質	+
配列番号：１４	C18	商業的な品質	-
配列番号：１８	C46	厚さ	-
配列番号：２３	PIF-2	厚さ	+
配列番号：２６	C26bis	厚さ	+
配列番号：２７	C54(C53bis)	厚さ	+
配列番号：２８	mp11-2	欠損数	+
配列番号：３６	C75bis	厚さ	+
配列番号：３９	2	厚さ	-
配列番号：４０	mp2-2	厚さ	-
配列番号：４２	Protinh2-1	欠損数	-

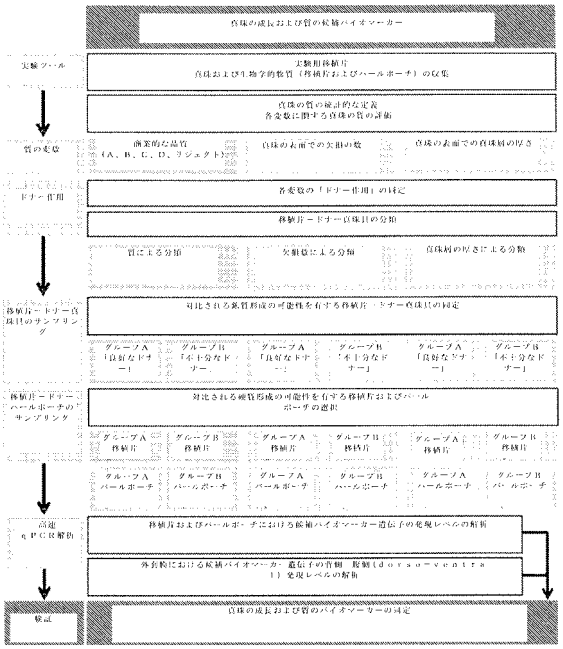
【０１９０】

したがって、３つの独立した実験用移植片において得られる真珠の品質と相関する配列番号１～４２の４２のバイオマーカーのうち１５の発現レベルの解析の併用解析は、Ｐ．ｍａｒｇａｒｉｔｉｆｅｒａで真珠の成長および質を予測する１５のバイオマーカーの正確なリストの定義をもたらした（表１４）。

【図１】



【図２】



【配列表】

2016501530000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2013/053144

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12Q1/68
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	NARIAKI INOUE ET AL: "Comparison of Expression Patterns of Shell Matrix Protein Genes in the Mantle Tissues between High- and Low-Quality Pearl-Producing Recipients of the Pearl Oyster, Pinctada fucata", ZOOLOGICAL SCIENCE, vol. 28, no. 1, 1 January 2011 (2011-01-01), pages 32-36, XP055070381, ISSN: 0289-0003, DOI: 10.2108/zsj.28.32 cited in the application figures 2-4; table 2 ----- -/--	1,5,8,9

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
19 February 2014	07/07/2014

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Santagati, Fabio

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/FR2013/053144

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see extra sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Claims 1, 5-9 (all in part)

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/FR2013/053144

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	NARIAKI INOUE ET AL: "Can the Quality of Pearls from the Japanese Pearl Oyster (Pinctada fucata) be Explained by the Gene Expression Patterns of the Major Shell Matrix Proteins in the Pearl Sac?", MARINE BIOTECHNOLOGY, SPRINGER-VERLAG, NE, vol. 13, no. 1, 20 March 2010 (2010-03-20) , pages 48-55, XP019887877, ISSN: 1436-2236, DOI: 10.1007/S10126-010-9267-1 cited in the application figures 2-5; table 2	1,5,8,9
A	COCHENNEC-LAUREAU NATHALIE ET AL: "A histological examination of grafting success in pearl oyster Pinctada margaritifera in French Polynesia", AQUATIC LIVING RESOURCES, EDITIONS SCIENTIFIQUES ET MEDICALES ELSEVIER, vol. 23, no. 1, 1 January 2010 (2010-01-01), pages 131-140, XP009148723, ISSN: 0990-7440, DOI: 10.1051/ALR/2010006 paragraph [2.2.2]	8
A	TAYALE ALEXANDRE ET AL: "Evidence of donor effect on cultured pearl quality from a duplicated grafting experiment on Pinctada margaritifera using wild donors", AQUATIC LIVING RESOURCES, vol. 25, no. 3, July 2012 (2012-07), pages 269-280, XP008163542, paragraph [02.1]	8
A	WO 2007/148723 A1 (UNIV KINKI [JP]; JAPAN SCIENCE & TECH AGENCY [JP]; MIYAMOTO HIROSHI [J) 27 December 2007 (2007-12-27) the whole document	1,5,8,9
A	US 2003/027258 A1 (CHANG FANG-TSEH FRANK [US] ET AL) 6 February 2003 (2003-02-06) the whole document	1,5,8,9

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/FR2013/053144

The International Searching Authority has found that the international application contains multiple (groups of) inventions, as follows:

1. Claims 1, 5-9 (all in part)

A signature predictive of the biomineralisation capacity of a graft-donor oyster, said signature having the expression profile of at least one biomarker comprising SEQ ID NO: 1, and the variants and fragments thereof. A method for identifying a donor oyster, comprising the steps of: (a) determining the expression level of at least said predictive biomarker in a biological sample of said oyster, and (b) comparing the expression level obtained in step (a) with a control expression level. A kit comprising means for determining the expression profile of SEQ ID NO: 1 at the transcriptome or protein level. A method for producing at least one pearl of superior quality, comprising the signature of at least said biomarker. The use of said biomarker comprising or consisting of SEQ ID NO: 1, the variants or fragments thereof, to predict the capacity of a graft-donor oyster to produce high-commercial grade pearls or to predict the capacity of a graft-donor oyster to produce pearls with a low amount of surface defects.

2-16. Claims 1-12 (in part)

The same as invention 1, but with each invention characterised as follows:

- inv 2 = SEQ ID NO: 3
- inv 3 = SEQ ID NO: 4
- .....
- inv 16 = SEQ ID NO: 42

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/FR2013/053144

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007148723 A1	27-12-2007	JP 2009254234 A	05-11-2009
		WO 2007148723 A1	27-12-2007
US 2003027258 A1	06-02-2003	AU 2002361467 B2	05-06-2008
		US 2003027258 A1	06-02-2003
		US 2005282183 A1	22-12-2005
		WO 03020019 A2	13-03-2003

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2013/053144

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. C12Q1/68
ADD.

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
C12Q

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, EMBASE, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	NARIAKI INOUE ET AL: "Comparison of Expression Patterns of Shell Matrix Protein Genes in the Mantle Tissues between High- and Low-Quality Pearl-Producing Recipients of the Pearl Oyster, Pinctada fucata", ZOOLOGICAL SCIENCE, vol. 28, no. 1, 1 janvier 2011 (2011-01-01), pages 32-36, XP055070381, ISSN: 0289-0003, DOI: 10.2108/zsj.28.32 citê dans la demande figures 2-4; tableau 2 ----- -/--	1,5,8,9

[X] Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

[X] Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale
19 février 2014	07/07/2014

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Santagati, Fabio

Formulaire PCT/ISA/210 (deuxième feuille) (avril 2005)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2013/053144

Cadre N° I Séquence(s) de nucléotides ou d'acides aminés (suite du point 1.c de la première feuille)

1. En ce qui concerne la ou les séquences de nucléotides ou d'acides aminés divulguées dans la demande internationale, le cas échéant, la recherche internationale a été effectuée sur la base des éléments suivants:

   a. (support)

   - [ ] sur papier
   - [x] sous forme électronique

   b. (moment)

   - [x] dans la demande internationale telle que déposée
   - [ ] avec la demande internationale, sous forme électronique
   - [ ] ultérieurement à la présente administration aux fins de la recherche

2. [ ] De plus, lorsque plus d'une version ou d'une copie d'un listage des séquences ou d'un ou plusieurs tableaux y relatifs a été déposée, la déclarations requises selon lesquelles les informations fournies ultérieurement ou au titre de copies supplémentaires sont identiques à celles initialement fournies et ne vont pas au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle que déposée initialement, selon le cas, ont été remises.

3. Commentaire complémentaires:

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2013/053144

Cadre n°. II Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 2 de la première feuille)

Le rapport de recherche internationale n'a pas été établi en ce qui concerne certaines revendications conformément à l'article 17.2)a) pour les raisons suivantes :

1. ☐ Les revendications n°[s]
se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration chargée de la recherche internationale n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir :

2. ☐ Les revendications n°[s]
parce qu'elles se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier :

3. ☐ Les revendications n°[s]
parce qu'elles sont des revendications dépendantes et ne sont pasrédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre n°. III Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 3 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles exigées ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.

2. ☐ Comme toutes les revendications qui se prêtent à la recherche ont pu faire l'objet de cette recherche sans effort particulier justifiant des taxes additionnelles, l'administration chargée de la recherche internationale n'a sollicité le paiement d'aucunes taxes de cette nature.

3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°[s]:

4. ☒ Aucunes taxes additionnelles demandées n'ont été payées dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est couverte par les revendications n°[s]:
1, 5-9(toutes en partie)

Remarque quant à la réserve

☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant et, le cas échéant, du paiement de la taxe de réserve.

☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant mais la taxe de réserve n'a pas été payée dans le délai prescrit dans l'invitation.

☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°
PCT/FR2013/053144

C(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie*	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	NARIAKI INOUE ET AL: "Can the Quality of Pearls from the Japanese Pearl Oyster (Pinctada fucata) be Explained by the Gene Expression Patterns of the Major Shell Matrix Proteins in the Pearl Sac?", MARINE BIOTECHNOLOGY, SPRINGER-VERLAG, NE, vol. 13, no. 1, 20 mars 2010 (2010-03-20), pages 48-55, XP019887877, ISSN: 1436-2236, DOI: 10.1007/S10126-010-9267-1 cité dans la demande figures 2-5; tableau 2	1,5,8,9
A	COCHENNEC-LAUREAU NATHALIE ET AL: "A histological examination of grafting success in pearl oyster Pinctada margaritifera in French Polynesia", AQUATIC LIVING RESOURCES, EDITIONS SCIENTIFIQUES ET MEDICALES ELSEVIER, vol. 23, no. 1, 1 janvier 2010 (2010-01-01), pages 131-140, XP009148723, ISSN: 0990-7440, DOI: 10.1051/ALR/2010006 alinéa [2.2.2]	8
A	TAYALE ALEXANDRE ET AL: "Evidence of donor effect on cultured pearl quality from a duplicated grafting experiment on Pinctada margaritifera using wild donors", AQUATIC LIVING RESOURCES, vol. 25, no. 3, juillet 2012 (2012-07), pages 269-280, XP008163542, alinéa [02.1]	8
A	WO 2007/148723 A1 (UNIV KINKI [JP]; JAPAN SCIENCE & TECH AGENCY [JP]; MIYAMOTO HIROSHI [J) 27 décembre 2007 (2007-12-27) le document en entier	1,5,8,9
A	US 2003/027258 A1 (CHANG FANG-TSEH FRANK [US] ET AL) 6 février 2003 (2003-02-06) le document en entier	1,5,8,9

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale n°
PCT/FR2013/053144

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 2007148723 A1	27-12-2007	JP 2009254234 A	05-11-2009
		WO 2007148723 A1	27-12-2007
US 2003027258 A1	06-02-2003	AU 2002361467 B2	05-06-2008
		US 2003027258 A1	06-02-2003
		US 2005282183 A1	22-12-2005
		WO 03020019 A2	13-03-2003

Formulaire PCT/ISA/210 (annexe familles de brevets) (avril 2005)

Demande internationale No. PCT/ FR2013/ 053144

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs (groupes d') inventions dans la demande internationale, à savoir:

1. revendications: 1, 5-9(toutes en partie)

Signature prédictive de la capacité de biominéralisation d'une huître donneuse de greffons, ladite signature comprenant le profil d'expression d'au moins un biomarqueur comprenant SEQ ID NO:1, ses variants et ses fragments. Procédé d'identification d'une huître donneuse, dans lequel: (a) on détermine, dans un échantillon biologique de ladite huître, le niveau d'expression d'au moins le biomarqueur prédictif et (b) on compare le niveau d'expression obtenu à l'étape (a) à un niveau d'expression témoin. Kit comprenant des moyens de détermination du profil d'expression de SEQ ID NO:1 au niveau transcriptomique ou protéique. Procédé de production d'au moins une perle de qualité supérieure, comprenant la signature d'au moins ce biomarqueur Utilisation du biomarqueur comprenant ou consistant en SEQ ID NO: 1, ses variants et ses fragments pour pour prédire la capacité d'une huître donneuse de greffon à produire des perles de haute qualité commerciale ou pour prédire la capacité d'une huître donneuse de greffon à produire des perles présentant un faible nombre de défauts de surface.

2-16. revendications: 1-12(en partie)

Idem que l'invention 1, mais dans quoi chaque invention est caractérisée comme ci-dessous
- inv 2 = SEQ ID NO:3
- inv 3 = SEQ ID NO:4
.....
- inv 16 = SEQ ID NO:42

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(71)出願人 515163645
アコビオム
フランス国，エフ－３４７９０ グラベルス，ザック ユーロメディスィン ツー，１６８２ ルー デ ラ ヴァルシエルーキャプ デルタ
(74)代理人 100114775
弁理士 高岡 亮一
(74)代理人 100121511
弁理士 小田 直
(74)代理人 100202751
弁理士 岩堀 明代
(74)代理人 100191086
弁理士 高橋 香元
(72)発明者 ジョウバート，カロライン
中華人民共和国，シーエイチ－２３００ ラ チョークスーデーフォンズ，２７，ルー デュ プイツ
(72)発明者 タヤル，アレクサンドレ
中華人民共和国，シーエイチ－２３００ ラ チョークスーデーフォンズ，２７，ルー デュ プイツ
(72)発明者 モンタグナニ，カロライン
フランス国，エフ－３４８３０ ジャコウ，１８ ルー デ ルハーマッタン
(72)発明者 サウルニエル，デニス
フランス国，エフ－９８７１９ タラヴァオ（タヒチ），ビーピー ７００４
(72)発明者 グエグエン，ヤンニック
フランス国，エフ－９４１００ セイントーマウルーデーフォッセス，９ ルー デ チェミン ヴァート
(72)発明者 ピクエマル，デイビッド
フランス国，エフ－３０３８０ セイント クリストル レス アレス，８２６ビー チェミン デ ペンションズ

Ｆターム(参考) 2B104 AA23 DA15
4B024 AA11 CA01 CA04 CA09 CA11 CA20 HA12
4B063 QA01 QA13 QA18 QQ01 QQ02 QQ08 QQ42 QQ52 QR32 QR35
QR55 QR62 QR71 QR72 QR77 QS25 QS32 QS36 QX02