(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6094481号
(P6094481)
(45)発行日　平成29年3月15日(2017.3.15)　(24)登録日　平成29年2月24日(2017.2.24)

(51)Int.Cl.　F I
C12Q 1/68 (2006.01)　C１２Q　1/68　ZNAA
C12N 15/09 (2006.01)　C１２N　15/00　A
C１２N　15/00　F

請求項の数 5　(全 23 頁)

(21)出願番号　特願2013-521696(P2013-521696)
(86)(22)出願日　平成25年5月2日(2013.5.2)
(86)国際出願番号　PCT/JP2013/062779
(87)国際公開番号　WO2013/165018
(87)国際公開日　平成25年11月7日(2013.11.7)
審査請求日　平成27年8月20日(2015.8.20)
(31)優先権主張番号　特願2012-105085(P2012-105085)
(32)優先日　平成24年5月2日(2012.5.2)
(33)優先権主張国　日本国(JP)

(73)特許権者　000006035
三菱レイヨン株式会社
東京都千代田区丸の内一丁目１番１号
(74)代理人　100092783
弁理士　小林　浩
(74)代理人　100120134
弁理士　大森　規雄
(74)代理人　100153693
弁理士　岩田　耕一
(74)代理人　100104282
弁理士　鈴木　康仁
(72)発明者　生田　健次郎
神奈川県横浜市鶴見区大黒町１０番１号
三菱レイヨン株式会社横浜研究所内

最終頁に続く

(54)【発明の名称】皮膚に対する紫外線の影響を評価するためのプローブ又はプローブセット及び核酸マイクロアレイ

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

下記（ａ）、（ｂ）又は（ｃ）の核酸を含む、皮膚のハリ及び／又はシワに対する紫外線の影響を評価するためのプローブセット。

（ａ）ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１、ＡＳＡＨ１、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１の各遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸

（ｂ）前記（ａ）の核酸に対し相補的な塩基配列からなる核酸

（ｃ）前記（ａ）又は（ｂ）の核酸に対して９０％以上の同一性を有する塩基配列からなり、かつ皮膚構成関連遺伝子を検出することができる核酸

【請求項２】

下記（α）、（β）又は（γ）の核酸を含む、皮膚のハリ及び／又はシワに対する紫外線の影響を評価するためのプローブセット。

（α）配列番号２７、３０、５８、６３、７０、８４、８５及び１１２に示される塩基配列からなる核酸

（β）前記（α）の核酸に対し相補的な塩基配列からなる核酸

（γ）前記（α）又は（β）の核酸の塩基配列に対して９０％以上の同一性を有する塩基配列からなり、かつ皮膚構成関連遺伝子を検出することができる核酸

【請求項３】

請求項１又は２記載のプローブセットを含む、皮膚のハリ及び／又はシワに対する紫外線の影響を評価するための核酸マイクロアレイ。

【請求項４】
請求項１又は２記載のプローブセットを用いて、皮膚疾患治療薬又は化粧品に有用な化合物をスクリーニングする方法。
【請求項５】
請求項３に記載の核酸マイクロアレイを用いて、皮膚疾患治療薬又は化粧品に有用な化合物をスクリーニングする方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、シワやハリ等の皮膚の状態を評価する、具体的には、皮膚に対する紫外線の影響を評価することができるプローブ又はプローブセット及び核酸マイクロアレイ、並びに、これらを用いた皮膚に対する紫外線の影響を評価する方法等に関する。
【背景技術】
【０００２】
皮膚は、ヒトを含む動物の身体の最大かつ最も目に見える器官であり、主に上皮及び真皮から構成され、汗腺、脂腺及び毛嚢のようないくつかのアクセサリー構造を有する。
【０００３】
また、皮膚は体中の組織の中で、環境ストレス、ハザード及び病原体に最も頻繁に曝される器官である。そのため多くの機能を有しており、例えば、外部侵襲（例えば、熱、化学薬品、細菌）に対する保護障壁機能、熱調節機能、脱水防止機能、更には感覚機能を有する。従って、皮膚の健康維持及び確立は、動物の健康にとって重要である。
【０００４】
これまでに、皮膚の状態を評価する又は皮膚の状態を改善する成分を評価する方法のひとつとして、遺伝子発現レベルを測定して皮膚の老化状態や炎症状態を評価する方法が知られている（特許文献１及び２）。特に、シワや老化の状態については、皮膚に紫外線を照射し、特定のタンパク質及び遺伝子の発現等を評価する方法が知られている（特許文献３及び４）。
【先行技術文献】
【特許文献】
【０００５】
【特許文献１】特開２０１０－１１５１３１号公報
【特許文献２】特開２０１０－１７２２４０号公報
【特許文献３】特開２０１１－１７８７４７号公報
【特許文献４】特表２００５－５２０４８３号公報
【発明の概要】
【発明が解決しようとする課題】
【０００６】
しかしながら、これらの評価方法は、それぞれが単一の症状又は状態を計測できることに過ぎないものであり、特に紫外線による皮膚への影響を遺伝子発現レベルで客観的に評価できる方法ではなかった。
【０００７】
従って、本発明の主な目的は、皮膚又は皮膚細胞がどのような状態であり、その皮膚又は皮膚細胞に対する外部刺激（特に紫外線）が、ハリ（弾力）やシワ等の皮膚状態にどのような影響を及ぼすかを評価することができる、プローブ又はプローブセット及びそれを搭載した核酸マイクロアレイを提供することにある。
【課題を解決するための手段】
【０００８】
本発明者らは、上記課題を解決するために鋭意研究を行った結果、皮膚の構成に関連する遺伝子を中心に特定の遺伝子を選択し、当該遺伝子を構成する核酸（又はその一部）をプローブとして使用することにより、上記目的を達成できることを見出し、本発明を完成

するに至った。
【０００９】
　すなわち、本発明は以下の通りである。
（１）下記（ａ）、（ｂ）又は（ｃ）の核酸若しくはその一部を含む、皮膚に対する紫外線の影響を評価するためのプローブ又はプローブセット。
（ａ）ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１、ＡＳＡＨ１、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１からなる群より選択される少なくとも１種の遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸
（ｂ）前記（ａ）の核酸に対し相補的な塩基配列からなる核酸
（ｃ）前記（ａ）又は（ｂ）の核酸に対し相補的な塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ皮膚構成関連遺伝子を検出することができる核酸
【００１０】
上記（１）のプローブセットにおいて、（ａ）の核酸としては、例えば、下記（i）及び(ii)の核酸からなるものが挙げられる。
（i）ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１及びＡＳＡＨ１からなる群より選択される少なくとも１種の遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸
(ii) ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１からなる群より選択される少なくとも１種の遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸
【００１１】
また同様に、（ａ）の核酸としては、例えば、ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１及びＡＳＡＨ１の各遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸； ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１の各遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸；及び、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７、ＣＯＬ１８Ａ１、ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１及びＡＳＡＨ１の各遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸が挙げられる。
【００１２】
（２）下記（α）、（β）又は（γ）の核酸を含む、皮膚に対する紫外線の影響を評価するためのプローブ又はプローブセット。
（α）配列番号２７、３０、５８、６３、７０、８４、８５及び１１２に示される塩基配列のうちの少なくとも１種の塩基配列からなる核酸
（β）前記（α）の核酸に対し相補的な塩基配列からなる核酸
（γ）前記（α）又は（β）の核酸の塩基配列に対して７０％以上の相同性を有する塩基配列からなり、かつ皮膚構成関連遺伝子を検出することができる核酸
（δ）前記（α）、（β）又は（γ）の核酸の塩基配列において１から数個の塩基が付加、欠失又は置換された塩基配列からなり、かつ皮膚構成関連遺伝子を検出することができる核酸
【００１３】
上記（２）のプローブセットにおいて、（α）の核酸としては、例えば、配列番号２７、３０、５８、６３、７０、８４、８５及び１１２に示される塩基配列からなる核酸が挙げられる。
【００１４】
（３）下記（ｉ）及び／又は（ii）の核酸からなる、紫外線の皮膚に対する紫外線の影響を評価するためのプローブセット。
（i）配列番号１～１３０に示される塩基配列からなる核酸
（ii）配列番号１３１～２５７に示される塩基配列からなる核酸
【００１５】
（４）上記（１）～（３）のいずれかのプローブ又はプローブセットを含む、皮膚に対する紫外線の影響を評価するための核酸マイクロアレイ。
【００１６】
（５）検査対象に紫外線を照射後、上記（１）～（３）のいずれかのプローブ又はプローブセットを用いて遺伝子発現量を測定する工程を含む、皮膚に対する紫外線の影響を評価

する方法。
（６）検査対象に紫外線を照射後、上記（４）の核酸マイクロアレイを用いて遺伝子発現量を測定する工程を含む、皮膚に対する紫外線の影響を評価する方法。
【００１７】
（７）上記（１）～（３）のいずれかのプローブ又はプローブセットを用いて、皮膚疾患治療薬又は化粧品に有用な化合物をスクリーニングする方法。
（８）上記（４）の核酸マイクロアレイを用いて、皮膚疾患治療薬又は化粧品に有用な化合物をスクリーニングする方法。
【発明の効果】
【００１８】
本発明によれば、外部刺激、特に紫外線による皮膚への影響を、遺伝子発現レベルで客観的に評価することができるプローブ又はプローブセット、及びこれを搭載した核酸マイクロアレイを提供することができる。
また、本発明によれば、当該プローブ又はプローブセット及び核酸マイクロアレイを用いた、被験対象の皮膚に対する紫外線の影響の評価方法、及び、皮膚疾患治療薬（経皮吸収剤等）や化粧品の有効成分として有用な物質（化合物等）の効率的なスクリーニング方法を提供することができる。
【図面の簡単な説明】
【００１９】
【図１】中空繊維束（中空繊維配列体）製造用の配列固定治具を示す概略図である。
【図２】図２（図２Ａ～Ｈ）は、ケラチノサイトへのＵＶＢ（紫外線Ｂ波）照射に伴う遺伝子発現量の変化を示す図である。図２中のすべてのグラフにおいて、縦軸は蛍光強度（Intensity）、横軸は時間（ｈ）を表し、また、◆（UV-）はＵＶＢ照射無し、■（UV+）はＵＶＢ照射有り、を表す。
【発明を実施するための形態】
【００２０】
以下、本発明を詳細に説明する。本発明の範囲はこれらの説明に拘束されることはなく、以下の例示以外についても、本発明の趣旨を損なわない範囲で適宜変更し実施することができる。なお、本明細書は、本願優先権主張の基礎となる特願2012-105085号明細書（2012年5月2日出願）の全体を包含する。また、本明細書において引用された全ての刊行物、例えば先行技術文献、及び公開公報、特許公報その他の特許文献は、参照として本明細書に組み込まれる。
【００２１】

１．本発明の概要
本発明において、外部刺激、特に紫外線の皮膚への影響を評価することとは、皮膚のハリ（弾力）やシワ等の皮膚状態を、遺伝子の発現の有無又は発現量の変化により判断及び評価することをいう。ここで、遺伝子の発現とは、ｍＲＮＡの発現のことである。
【００２２】
本発明では、皮膚のハリやシワ等の皮膚の状態を評価するため、セラミド、コラーゲン、セレクチン、エラスチン等をコードする遺伝子、それらの合成酵素をコードする遺伝子、それらの分解酵素をコードする遺伝子、炎症に関連する遺伝子を選択し、プローブとして使用することができる。本明細書等では、これらの遺伝子を皮膚構成関連遺伝子という。特に、紫外線（ＵＶ）によるシワ、老化、ハリ等の皮膚状態への影響を評価する場合は、後に詳述する皮膚構成関連遺伝子のうち、ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１、ＡＳＡＨ１、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１からなる群より選択される少なくとも１種の遺伝子を選択し、当該遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸等をプローブとして使用することができる。
【００２３】
ここで、皮膚構成関連遺伝子としては、例えば、以下のものが挙げられる。

＜皮膚構成関連遺伝子＞
ＣＫＢ，ＣＫＭ，ＥＤＮ１，ＥＤＮ２，ＥＤＮ３，ＧＤＮＦ，ＮＰＰＢ，ＳＥＬＥ，ＳＥＬＬ，ＳＥＬＰ，ＴＮＮＴ２，ＨＡＰＬＮ１，ＨＡＳ１，ＨＡＳ２，ＨＡＳ３，ＦＮ１，ＬＡＭＡ１，ＭＭＰ１，ＭＭＰ２，ＭＭＰ３，ＭＭＰ７，ＭＭＰ９，ＭＭＰ１０，ＭＭＰ１１，ＭＭＰ１２，ＭＭＰ１３，ＭＭＰ１４，ＭＭＰ１５，ＭＭＰ１６，ＭＭＰ１７，ＭＭＰ２４，ＭＭＰ２５，ＴＩＭＰ１，ＴＩＭＰ２，ＴＩＭＰ３，ＴＩＭＰ４，ＭＭＥ，Ｆ２ＲＬ１，ＡＣＯ１，ＡＣＯ２，ＮＦＡＴＣ１，ＳＵＭＯ１，ＳＵＭＯ２，ＳＵＭＯ３，ＡＤＭ，ＰＴＧＥＳ，ＰＴＧＩＳ，ＡＮＧ，ＴＥＫ，ＴＩＥ１，ＩＣＡＭ１，ＶＣＡＭ１，ＫＤＲ，ＣＯＬ１Ａ１，ＣＯＬ１Ａ２，ＣＯＬ４Ａ１，ＣＯＬ１０Ａ１，ＣＯＬ１８Ａ１，ＰＯＭＣ，ＳＯＤ１，ＳＯＤ２，ＳＯＤ３，ＣＡＴ，ＧＰＸ，ＧＳＲ，ＴＴＰＡ，ＥＬＮ，ＥＭＩＬＩＮ１，ＥＭＩＬＩＮ２，ＧＬＢ１，ＭＭＲＮ２，ＥＬＡＮＥ，ＭＦＡＰ５，ＡＴＰ７Ａ，ＩＬ１Ａ，ＩＬ１Ｂ，ＧＭ－ＣＳＦ，ＰＴＧＳ２，ＴＮＦＡ，ＩＬ６，ＩＬ８，ＡＣＥＲ１，ＡＣＥＲ２，ＡＳＡＨ１，ＧＢＡ，ＳＧＭＳ１，ＣＥＬ，ＧＡＬＣ，ＳＰＴＬＣ１，ＬＡＳＳ１，ＬＡＳＳ６，ＤＥＧＳ１，ＦＬＧ，ＦＬＧ２，ＫＲＴ１，ＫＲＴ２，ＫＲＴ３，ＫＲＴ４，ＦＧＦ７，ＣＨＳＴ１，ＣＨＳＴ２，ＣＳＴＡ，ＫＬＦ１，ＥＧＦ，ＨＢＥＧＦ，ＡＲＥＧ，ＳＩＲＴ１，ＳＩＲＴ２，ＳＩＲＴ３，ＳＩＲＴ４，ＳＣＥＬ，ＯＬＦＭ１，ＴＥＲＴ，ＴＥＲＣ，ＢＣＬ２，ＤＥＦＡ１，ＤＥＦＢ１，ＩＴＧＡ１，ＩＴＧＡ２。

【００２４】
これらの各遺伝子の塩基配列情報等は、ＮＣＢＩ（National Center for Biotechnology Information Search term Search database）から取得することができる。各遺伝子名の表記としては、ＮＣＢＩのオフィシャルシンボルを大文字で表記しているが、これにより生物種が限定されるものではない。例えば、ヒトのほか、マウス、ラット、ハムスター、ブタ、モルモット、サル、イヌ、ネコ等の哺乳類の遺伝子を使用することができる。

【００２５】

２．皮膚に対する紫外線の影響を評価するためのプローブ

プローブとは、一般に、検体（被験試料）中の標的とする遺伝子の核酸（ｍＲＮＡ）をハイブリダイゼーションにより捕捉し、当該標的核酸を検出するために使用されるものを言う。当該プローブは、通常、核酸プローブであるが、本発明においてプローブを構成する「核酸」としては、一般に、ＤＮＡ、ＲＮＡ、ＰＮＡなどを使用することができ、特に限定はされないが、ＤＮＡが好ましい。

【００２６】
本発明において、皮膚に対する紫外線の影響を評価するためのプローブ（又はプローブセット）としては、例えば、以下の（ａ）、（ｂ）及び（ｃ）の核酸を含むものが挙げられる。

【００２７】
（ａ）ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１、ＡＳＡＨ１、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１からなる群より選択される少なくとも１種（好ましくは複数種）の遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸
（ｂ）前記（ａ）の核酸に対し相補的な塩基配列からなる核酸
（ｃ）前記（ａ）又は（ｂ）の核酸に対し相補的な塩基配列からなる核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ皮膚構成関連遺伝子を検出することができる核酸

【００２８】
上記（ａ）の核酸は、前述の各種皮膚構成関連遺伝子の中から選択された、皮膚に対する紫外線の影響の評価に有用な遺伝子（ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１、ＡＳＡＨ１、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１）から選択される少なくとも１種の遺伝子の塩基配列からなる核酸であるが、例えば、以下の態様で用いることも好ましい。

【００２９】
例えば、上記（ａ）の核酸が、

[1] 下記（ｉ）及び(ii)の核酸からなる（下記（ｉ）及び(ii)の核酸の組合せからなる）もの：
（ｉ）ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１及びＡＳＡＨ１からなる群より選択される少なくとも１種の遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸；並びに
(ii) ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１からなる群より選択される少なくとも１種の遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸；
[2] ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１及びＡＳＡＨ１の各遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸であるもの；
[3] ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１の各遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸であるもの；
[4] ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７、ＣＯＬ１８Ａ１、ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１及びＡＳＡＨ１の各遺伝子を構成する塩基配列からなる核酸であるもの
などが好ましく挙げられる。
【００３０】
なお、本発明においては、コントロールとなる遺伝子の塩基配列からなる核酸（又はその一部）も、上記（ａ）の核酸と共に使用することができ、同様に、後述する（ｂ）及び（ｃ）の核酸と共に使用することもできる。例えば、ポジティブコントロールとなる遺伝子としては、ＡＣＴＢ、ＧＡＰＤＨ、ＲＰＬＰ０等の遺伝子を挙げることができる。
【００３１】
また、上記（ｂ）の核酸も、上記（ａ）の核酸と同様に、本発明における皮膚に対する紫外線の影響の評価等に用いることができる。上記（ｂ）の核酸については、上記（ａ）の核酸の相補鎖の塩基配列からなること以外は、上述した（ａ）の核酸に関する説明を同様に適用することができる。
【００３２】
さらに、上記（ｃ）の核酸も、上記（ａ）及び（ｂ）の核酸と同様に、本発明における皮膚に対する紫外線の影響の評価等に用いることができる。
ここで、上記（ｃ）の核酸において、「ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸」とは、例えば、前記（ａ）又は（ｂ）の核酸の塩基配列と相補的な塩基配列からなる核酸の、全部又は一部をプローブとして、コロニーハイブリダイゼーション法、プラークハイブリダイゼーション法又はサザンハイブリダイゼーション法などを用いることにより得られる核酸をいう。ハイブリダイゼーションの方法としては、例えば、“Sambrook & Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual Vol. 3, Cold Spring Harbor, Laboratory Press 2001”、“Ausubel, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons 1987-1997”などに記載されている方法を利用することができる。
【００３３】
　また、「ストリンジェントな条件」とは、低ストリンジェントな条件、中ストリンジェントな条件、及び高ストリンジェントな条件のいずれでもよい。「低ストリンジェントな条件」は、例えば、5×SSC、5×デンハルト溶液、0.5%SDS、50%ホルムアミド、32℃の条件が挙げられる。また、「中ストリンジェントな条件」は、例えば、5×SSC、5×デンハルト溶液、0.5%SDS、50%ホルムアミド、42℃の条件が挙げられる。「高ストリンジェントな条件」は、例えば、5×SSC、5×デンハルト溶液、0.5%SDS、50%ホルムアミド、50℃の条件が挙げられる。なお、本発明においては、具体的には、「ストリンジェントな条件」は、塩基鎖長が６５塩基の場合、バッファーの１価陽イオン濃度が９７．５～３２００ｍＭ、温度が３７～８０℃の条件が好ましく、より好ましくは、１価陽イオン濃度が９７．５～８００ｍＭ、温度が５０～７０℃の条件であり、さらに好ましくは、バッファーの１価陽イオン濃度が１９５ｍＭ、温度が６５℃等の条件であるが、これらに限定されるわけではない。
【００３４】
　このような「ストリンジェントな条件」においては、温度を上げるほど、高い相同性を

有する核酸を効率的に得ることができる。ただし、ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに影響する要素としては温度、プローブ濃度、プローブの長さ、反応時間、イオン強度、塩濃度など複数の要素が考えられ、当業者であればこれら要素を適宜選択することで同様のストリンジェンシーを実現することが可能である。

なお、ハイブリダイゼーションにおいて、市販のキットを用いる場合は、例えばAlkphos Direct Labelling Reagents（アマシャムファルマシア社製）を用いることができる。この場合は、キットに添付のプロトコールにしたがい、標識したプローブとのインキュベーションを一晩行った後、メンブレンを55℃の条件下で0.1% (w/v) SDSを含む1次洗浄バッファーで洗浄後、ハイブリダイズした核酸を検出することができる。

【００３５】

上記以外にハイブリダイズ可能な核酸としては、FASTA及びBLASTなどの相同性検索ソフトウェアにより、デフォルトのパラメーターを用いて計算したときに、前記（ａ）の核酸の塩基配列と、70%以上、71%以上、72%以上、73%以上、74%以上、75%以上、76%以上、77%以上、78%以上、79%以上、80%以上、81%以上、82%以上、83%以上、84%以上、85%以上、86%以上、87%以上、88%以上、89%以上、90%以上、91%以上、92%以上、93%以上、94%以上、95%以上、96%以上、97%以上、98%以上、99%以上、99.1%以上、99.2%以上、99.3%以上、99.4%以上、99.5%以上、99.6%以上、99.7%以上、99.8%以上又は99.9%以上の相同性を有する塩基配列からなる核酸を挙げることができる。

【００３６】

なお、塩基配列の相同性は、カーリン及びアルチュールによるアルゴリズムBLAST（Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 87, p. 2264-2268, 1990; Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 90, p. 5873, 1993）を用いて決定できる。BLASTのアルゴリズムに基づいたBLASTNやBLASTXと呼ばれるプログラムが開発されている（Altschul SF, et al., J. Mol. Biol., vol. 215, p. 403, 1990）。BLASTNを用いて塩基配列を解析する場合は、パラメーターは、例えばscore=100、word length=12とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合は、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。　さらに、上記（ｃ）の核酸において、「皮膚構成関連遺伝子を検出することができる」とは、前記（ａ）において列挙した皮膚構成関連遺伝子（ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１、ＡＳＡＨ１、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１）の塩基配列やその相補鎖の塩基配列のいずれかをハイブリダイゼーションにより捕捉することができることであることを意味する。

【００３７】

上記（ａ）、（ｂ）及び（ｃ）の核酸は、当該核酸の全長に限らず、その一部をプローブとして使用することもできる。当該核酸の一部とは、例えば、３０～５０００塩基からなる核酸、４０～１０００塩基からなる核酸、５０～５００塩基からなる核酸、さらには６０塩基～２００塩基からなる核酸などが挙げられるが、塩基長については特に限定はされない。

【００３８】

また、本発明においては、皮膚に対する紫外線の影響を評価するためのプローブ（又はプローブセット）としては、例えば、以下の（α）、（β）、（γ）及び（δ）の核酸を含むものも挙げられる。

【００３９】

（α）配列番号２７、３０、５８、６３、７０、８４、８５及び１１２に示される塩基配列のうちの少なくとも１種の塩基配列からなる核酸

（β）前記（α）の核酸に対し相補的な塩基配列からなる核酸

（γ）前記（α）又は（β）の核酸の塩基配列に対して７０％以上の相同性を有する塩基配列からなり、かつ皮膚構成関連遺伝子を検出することができる核酸

（δ）前記（α）、（β）又は（γ）の核酸の塩基配列において１から数個の塩基が付加、欠失又は置換された塩基配列からなり、かつ皮膚構成関連遺伝子を検出することができる核酸

【００４０】
上記（α）の核酸は、配列番号２７、３０、５８、６３、７０、８４、８５及び１１２に示される塩基配列を有する核酸であり、当該配列番号に示される塩基配列は、前述した（ａ）の核酸における皮膚構成関連遺伝子（ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１、ＡＳＡＨ１、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１）の塩基配列の一部に相当する塩基配列である。よって、上記（α）の核酸も、本発明における皮膚に対する紫外線の影響の評価等のためのプローブ（又はプローブセット）として有効に用いることができる。
また、上記（α）の核酸としては、例えば、配列番号２７、３０、５８、６３、７０、８４、８５及び１１２に示される各塩基配列からなる核酸を全て含む態様も好ましく挙げられる。
【００４１】
なお、配列表及び下記表１～４に列挙した、配列番号１～２７３に示される塩基配列のうち、配列番号１～２５７に示される塩基配列は、皮膚構成関連遺伝子（ヒト又はマウス由来）の塩基配列の一部に相当するものであり、配列番号２５８～２７３に示される塩基配列は、本発明における評価等の際にコントロールとして使用し得る遺伝子（ヒト又はマウス由来）の塩基配列の一部に相当するものである。なお、配列番号２５８～２７１に示される塩基配列は、ポジティブコントロールとなるものであり、配列番号２７２及び２７３に示される塩基配列は、ネガティブコントロールとなるものである。ここで、上記（α）の核酸における、配列番号２７、３０、５８、６３、７０、８４、８５及び１１２に示される塩基配列は、それぞれ順に、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７、ＣＯＬ１８Ａ１、ＣＡＴ、ＧＬＢ１、ＡＳＡＨ１、ＧＢＡ及びＯＬＦＭ１の遺伝子の塩基配列の一部に相当するものである。
【００４２】

【表１】

配列番号	Accession No.	Gene symbol	核酸プローブの塩基配列
1	NM_001823	CKB	CGCCGTCTGGCGAGCCCTTAGCCTTGCTGTAGAGACTTCCGTCACCCTTGGTAGAGTTTATTTTT
2	NM_001824	CKM	TGGGGGCTCTCTCCACCCTTCTCAGAGTTCCAGTTTCAACCAGAGTTCCAACCAATGGGCTCCAT
3	NM_001955	EDN1	AGGAGATTCCACACAGGGGTGGAGTTTCTGACGAAGGTCCTAAGGGAGTGTTTGTGTCTGACTCA
4	NM_001956	EDN2	TTCTGCCACTTGGACATCATCTGGGTGAACACTCCTGAACAGACAGCTCCTTACGGCCTGGGAAA
5	NM_000114	EDN3	CCCGTGCAGCAGAAGCATGCGACTTTCATATCCTTGCCTAGAATAGGCTGCATGGTGTATGTCAG
6	NM_000514	GDNF	CACCATCTGATACCGTAAGGAGTGCACTTGTTTGGAAGTTCTGACTTCTCTGATCTGTCTTGGTC
7	NM_002521	NPPB	CTGCTTCTGATTCCACAAGGGGCTTTTTCCTCAACCCTGTGGCCGCCTTTGAAGTGACTCATTTT
8	NM_000450	SELE	CTAGCCTTGAGGAGTGTGAGAATCAAAACTCTCCTACACTTCCATTAACTTAGCATGTGTTGAAA
9	NM_000655	SELL	CACCTCTCTTTTTCAGTTGGCTGACTTCCACACCTAGCATCTCATGAGTGCCAAGCAAAAGGAGA
10	NM_003005	SELP	TCTACGATAGGTCTGATAATGGGTGGGACGCTCCTGGCTTTGCTAAGAAAGCGTTTCAGACAAAA
11	NM_000364	TNNT2	ACTTTGAGAACAGGAAGAAAGAGGAGGAGGAGCTCGTTTCTCTCAAAGACAGGATCGAGAGACGT
12	NM_001884	HAPLN1	ACATCGTTTTGTTAAGAAGTTAACTGTATCGTAGCTCACTACTGCCAGAGCGGCAATGGATGTAC
13	NM_001523	HAS1	CGGGCTTGTCAGAGCTACTTCCACTGTGTATCCTGCATCAGCGGTCCTCTAGGCCTATATAGGAA
14	NM_005328	HAS2	GACGTTTGCAGTCACACACAACACCTTAGTTCCTCTAGGGGCTGTACAGTATTGTGGCATCAGAT
15	NM_005329	HAS3	GGGTCTTCAGCTTTATCCCCGTTTCTTGCAAGGGAAGAGCCTTTATACAATTGGACGCATTTTGG
16	NM_002026	FN1	CCCAAACACTTCTGCTTTCACTTAAGTGTCTGGCCCGCAATACTGTAGGAACAAGCATGATCTTG
17	NM_005559	LAMA1	AAGCTAACAAAAGCAAACACCGTATCACTCTGATTGTTGACGGGAACGCAGTTGGCGCTGAAAGT
18	NM_001145938	MMP1	ATGCAACTCTGACGTTGATCCCAGAGAGCAGCTTCAGTGACAAACATATCCTTTCAAGACAGAAA
19	NM_001127891	MMP2	TCACTCTACTTAGCATGTCCCTACCGAGTCTCTTCTCCACTGGATGGAGGAAAACCAAGCCGTGG
20	NM_002422	MMP3	TTCCCAAGAGAAGGGGAAGCACTCGTGTGCAACAGACAAGTGACTGTATCTGTGTAGACTATTTG
21	NM_002423	MMP7	CTTGGCCATTCTTTGGGTATGGGACATTCCTCTGATCCTAATGCAGTGATGTATCCAACCTATGG
22	NM_004994	MMP9	ACGTCTTCCAGTACCGAGAGAAAGCCTATTTCTGCCAGGACCGCTTCTACTGGCGCGTGAGTTCC
23	NM_002425	MMP10	CACACATATTAAAGAGTAACAGCTGGTTACATTGCTAGGCGAGATAGGGGGAAGACAGATATGGG
24	NM_005940	MMP11	TGTCTCAGACTGGGCAGGGAGGCTTTGGCATGACTTAAGAGGAAGGGCAGTCTTGGGCCCGCTAT
25	NM_002426	MMP12	AGGAGGCACAAACTTGTTCCTCACTGCTGTTCACGAGATTGGCCATTCCTTAGGTCTTGGCCATT
26	NM_002427	MMP13	GGGGAGGGTGCTTGGCACTTATTGAATATATGATCGGCCATCAAGGGAAGAACTATTGTGCTCAG
27	NM_004995	MMP14	GCACGGGGTAGGGGAAATGGGGTGAACGGTGCTGGCAGTTCGGCTAGATTTCTGTCTTGTTTGTT
28	NM_002428	MMP15	GGTGGGGCTGCGGGGGTTCCGTGTCCACCCCCATACATTTATTTCTGTAAATAATGTGCACTGAA
29	NM_005941	MMP16	GGGCCAAGAAAGCAAGAAATGAGAACCAGAGTCAGCCCTGTAGCTTTACTTCAGTGCTTCCATTC
30	NM_016155	MMP17	ATTTCTTTAAGGACCAGCTGTACTGGCGCTACGATGACCACACGAGGCACATGGACCCCGGCTAC
31	NM_006690	MMP24	TTATTAGCTCACACCTGTCCACTCACATGAAACTCGTGTTAGGCCCTGGGAGGCCGACGGTAACT
32	NM_022468	MMP25	ATGGCCTGAACCCCATGGGTAGAGTCACTTAGGGGCCACTTCCTAAGTTGCTGTCCAGCCTCAGT
33	NM_003254	TIMP1	TTCCCTGTTTATCCATCCCCTGCAAACTGCAGAGTGGCACTCATTGCTTGTGGACGGACCAGCTC
34	NM_003255	TIMP2	TGACAAGCAGACTGCGCATGTCTCTGATGCTTTGTATCATTCTTGAGCAATCGCTCGGTCCGTGG
35	NM_000362	TIMP3	TTGGGGGTAGAGGCTTCTTAGATTCTCCCAGCATCCGCCTTTCCCTTTAGCCAGTCTGCTGTCCT
36	NM_003256	TIMP4	GCCCCTGCCTCCCAAACCCCATTAGTCTAGCCTTGTAGCTGTTACTGCAAGTGTTTCTTCTGGCT
37	NM_000902	MME	CCCATGAATCTGTCTCCCAGTTATGAATCAGTGGGCAGGATAAACTGAAAACTCCCATTTACGTG
38	NM_005242	F2RL1	CCTGCATGGTGTTTATGCACACAGAGATTTGAGAACCATTGTTCTGAATGCTGCTTCCATTTGAC
39	NM_002197	ACO1	AACCTTCTCAGGAGGTGTCTCCTACCCTCTTATTGTTCCTCTTACGCTCTGCTCAATGAAACCTT
40	NM_001098	ACO2	ACCTTCAACGAGACGCAGATTGAGTGGTTCCGCGCTGGCAGTGCCCTCAACAGAATGAAGGAACT
41	NM_172390	NFATC1	AAAACTGACCGGGACCTGTGCAAGCCGAATTCTCTGGTGGTTGAGATCCCGCCATTTCGGAATCA
42	NM_003352	SUMO1	AGGCGTAGCGGAAGTTACTGCAGCCGCGGTGTTGTGCTGTGGGGAAGGGAGAAGGATTTGTAAAC
43	NM_006937	SUMO2	TCTTCTGCCGCTCCTGGTGCTGCTTGTGTGCTCGTTTGGTGCGGACCTGGTACCTCTTTTGTGAA
44	NM_006936	SUMO3	CCCATGGAATGATGACTTCATGTTCTTCTCGTGGGTTTGTGCCGTGCTGCTTTCCAAATAGGTAT
45	NM_001124	ADM	CCCACAAACTGATTTCTCACGGCGTGTCACCCCACCAGGGCGCAAGCCTCACTATTACTTGAACT
46	NM_004878	PTGES	CCTAGACCCGTGACCTGAGATGTGTGATTTTTAGTCATTAAATGGAAGTGTCTGCCAGCTGGGCC
47	NM_000961	PTGIS	GGGAGAGATGAGTGGGTTAGCTACCTGCTATGCGCTAGTTAGGAAGTTACCTGGATGCCATTGTA
48	NM_001145	ANG	AACCTAAGAATAAGCAAGTCTTCTTTCCAGGTCACCACTTGCAAGCTACATGGAGGTTCCCCCTG
49	NM_000459	TEK	CTCACCTGTAGCAGCCAGTCCCGTTTCATTTAGTCATGTGACCACTCTGTCTTGTGTTTCCACAG
50	NM_005424	TIE1	GCATGCTGGAAGCCAGGAAGGCCTATGTGAACATGTCGCTGTTTGAGAACTTCACTTACGCGGGC
51	NM_000201	ICAM1	GACGGATGCCAGCTTGGGCACTGCTGTCTACTGACCCCAACCCTTGATGATATGTATTTATTCAT
52	NM_001078	VCAM1	GGGAGCACTGGGTTGACTTTCAGGTACTAAATACCTCAACCTATGGTATAATGGTTGACTGGGTT
53	NM_002253	KDR	GGCATGGGGTCTGTTCTGAAATGTAAAGGGTTCAGACGGGGTTTCTGGTTTTAGAAGGTTGCGTG
54	NM_000088	COL1A1	CTGTTCCTTGTGTAACTGTGTTGCTGAAAGACTACCTCGTTCTTGTCTTGATGTGTCACCGGGGC
55	NM_000089	COL1A2	AGGAGCTCCAAGGACAAGAAACACGTCTGGCTAGGAGAAACTATCAATGCTGGCAGCCAGTTTGA
56	NM_001845	COL4A1	TCAGCAGGGCATCGCATGGACCGCAGGAGGGCAGATTCGGACCACTAGGCCTGAAATGACATTTC
57	NM_000493	COL10A1	ATCAGACCAACAAACCTTCCCCCTGAAAAGTGAGCAGCAACGTAAAAACGTATGTGAAGCCTCTC
58	NM_030582	COL18A1	TGTGCACAAAACCCAGACCTGTTAGCAGACAGGCCCCGTGAGGCAATGGGAGCTGAGGCCACACT
59	NM_001035256	POMC	GGGGGTCGTGGCAGATAATCAGCCTCTTAAAGCTGCCTGTAGTTAGGAAATAAAACCTTTCAAAT
60	NM_000454	SOD1	GCCCAATAAACATTCCCTTGGATGTAGTCTGAGGCCCCTTAACTCATCTGTTATCCTGCTAGCTG
61	NM_000636	SOD2	GGCAGCTCATGCTTGAGACCCAATCTCCATGATGACCTACAAGCTAGAGTATTTAAAGGCAGTGG
62	NM_003102	SOD3	ACTCAGTAGGTCTGAAGGCCTCCATTTGTACCGAAACACCCCGCTCACGCTGACAGCCTCCTAGG
63	NM_001752	CAT	GCCTTCTGCCCTGGAGCACAGCATCCAATATTCTGGAGAAGTGCGGAGATTCAACACTGCCAATG
64	NM_000581	GPX	ACGAGGGAGGAACACCTGATCTTACAGAAAATACCACCTCGAGATGGGTGCTGGTCCTGTTGATC
65	NM_000637	GSR	GTGAAGTGCATCAAACTTGGGAAAGATTTGAGGAGGCTGGGAACCTCCTGGAAAACCACTCCTTG
66	NM_000370	TTPA	GCCTGGCCGTGATAGAAACTTTCAGCTGAGGAGTCTATATGCCATACTACTCTATGTGGCATCTT
67	NM_000501	ELN	AATAGCCACCTTGCCCTTGTAGAATCCATCCGCCCATCCGTCCATTCATCCATCGGTCCGTCCAT
68	NM_007046	EMILIN1	TGATCTGGCTGACCTGGGGGCAACCAAGGACCGTATCATTTCTGAGATTAACAGGCTGCAGCAGG
69	NM_032048	EMILIN2	CGGTTTGTATGTAATGGAAGCACGGGGCTAGAGTTTCCACATAGGCCCCAACATAAAGGCCTTCC
70	NM_000404	GLB1	ATGAAGCCTGGGCCCACAACTCATCCAACTACACGCTCCCGGCCTTTTATATGGGGAACTTCTCC

【００４３】

【表２】

配列番号	Accession No.	Gene symbol	核酸プローブの塩基配列
71	NM_024756	MMRN2	CCTTGCCTTACATAGGGTAAAGACCAAGAAATGCCAAACGTGAACTAAAATATGTAGGGCCTTCA
72	NM_001972	ELANE	TCGCCGTGCAGCGCATCTTCGAAAACGGCTACGACCCCGTAAACTTGCTCAACGACATCGTGATT
73	NM_003480	MFAP5	CAAGTGCACGGTCGAATTATTGTGCAAGTGGCTTTTGGATATCCTGATTGGGGCCTAAGAAGGGC
74	NM_000052	ATP7A	GCCAAATGGATTTAGAAATTCCCTTGTGAGTGCCTGGTAGCTAATACACTGGTCAGAGATCTGGT
75	NM_000575	IL1A	GGCGTAGGTCTGGAGTCTCACTTGTCTCACTTGTGCAGTGTTGACAGTTCATATGTACCATGTAC
76	NM_000576	IL1B	AATCCCCAGCCCTTTTGTTGAGCCAGGCCTCTCTCACCTCTCCTACTCACTTAAAGCCCGCCTGA
77	NM_000758	GM-CSF	GGCCCGGCGTCTCCTGAACCTGAGTAGAGACACTGCTGCTGAGATGAATGAAACAGTAGAAGTCA
78	NM_000963	PTGS2	GATCTGCTGACAAAACCTGGGAATTTGGGTTGTGTATGCGAATGTTTCAGTGCCTCAGACAAATG
79	NM_000594	TNFA	CCTAGAAATTGACACAAGTGGACCTTAGGCCTTCCTCTCTCCAGATGTTTCCAGACTTCCTTGAG
80	NM_000600	IL6	ACAGCCACTCACCTCTTCAGAACGAATTGACAAACAAATTCGGTACATCCTCGACGGCATCTCAG
81	NM_000584	IL8	GTTTCTCCTTTATTTCTAAGTGGAAAAAGTATTAGCCACCATCTTACCTCACAGTGATGTTGTGA
82	NM_133492	ACER1	ACTATCCAACCACCCAACAACTTGCCTGTGTCTTGAGAAGATAGCCCCGGTCAGGACTTGCACCT
83	NM_001010887	ACER2	CCAGGAACTCTTACTCTAGTTAGAATTTGTACCAGATCCAAGGTGAAAACCCCAATAAGCAACTG
84	NM_177924	ASAH1	GCTGTCTGACCTTCCAAAGACTAAGACTCGCGGCAGGTTCTCTTTGAGTCAATAGCTTGTCTTCG
85	NM_000157	GBA	GACATCACCAAGGACACGTTTTACAAACAGCCCATGTTCTACCACCTTGGCCACTTCAGCAAGTT
86	NM_147156	SGMS1	CCTCCCTAATCCTATTATCTTTCAATGGTTACCTTGACTTAACCTATTGAGTTACCTGGTCAGCA
87	NM_001807	CEL	CAACATGGACGGCCACATCTTCGCCAGCATCGACATGCCTGCCATCAACAAGGGCAACAAGAAAG
88	NM_000153	GALC	CCATACCCTTAGGAGTGGTTTGAGTAGTACAGACCTCGAAGCCTTGCTGCTAACACTGAGGTAGC
89	NM_006415	SPTLC1	GGTGGGTTTGCCTAGGGACGTGTAACTACAGGCTTTTACTAAGCCAAGGAAAAAGAGAATTTTTC
90	NM_021267	LASS1	CACCCTTATGAACCTCTACTGGTTCCTGTACATCGTGGCGTTTGCAGCCAAGGTGTTGACAGGCC
91	NM_203463	LASS6	CGGGACCTAAGAAAGTCTCTGCAGCCAGATAGTACATGGTGTCTCCACAAAACTAGGCATTCTGG
92	NM_003676	DEGS1	CCAGTGATGCTCAGAAGCTCCCCTGGCACAATTTCAGAGTAAGAGCTCGGTGATACCAAGAAGTG
93	NM_002016	FLG	GGCAGCTATGGTAGTGCAGATTATGATTATGGTGAATCCGGGTTTAGACACTCTCAGCACGGAAG
94	NM_001014342	FLG2	GTGGGGGAGACAAAGGCAAGAGTCAGAGTCAAGTCTGTCAGGAGGTATCAGAATATACGGTGAGG
95	NM_006121	KRT1	AGCTCTAGTTCTCCCCCAGCATCACTAACAAATATGCTTGGCAAGACCGAGGTCGATTTGTCCCA
96	NM_000423	KRT2	TTTCATCAAATGTGGCATCCAAGGCTGCCTTTGGAGGTTCTGGAGGTAGAGGGTCCAGTTCCGGA
97	NM_057088	KRT3	TCTTTTTGAGAATCACATCAACTACCTGCGGAGCTACCTGGACAACATCCTCGGGGAGAGAGGGC
98	NM_002272	KRT4	TCTCCCACTAGATCCTGTATTATCCATCTACATCAGAACCAAACTACTTCTCCAACACCCGGCAG
99	NM_002009	FGF7	CACGCAGCTGGGTAGATATACAGCTGTCACAAGAGTCTAGATCAGTTAGCACATGCTTTCTACTC
100	NM_003654	CHST1	GGCACTCGCGAGGCGACTTCTCAAGCTTTTGAATGGGTGAGTGGTCGGGTATCTAGTTTTTGCAC
101	NM_004267	CHST2	GCCCCATTGGGCATGATAAGCCGAGGAGGCATTCTTCTAAAGCAGACTTTTGTGTAAAAAGCAAA
102	NM_005213	CSTA	GTTCCCTGTGGCTGCTGATAACCCAACATTCCATCTCTACCCTCATACTTCAAAATTAAATCAAG
103	NM_006563	KLF1	GCTTCCCAGAGACCCTGGGTCTAGAAAGCGGCTCCTGAAGGTCCCTTATTGTGGCTGATATTAAC
104	NM_001963	EGF	CCTGCAGCCCCAGAAGAAATTAGGGGTTAAAGCAGACAGTCACACTGGTTTGGTCAGTTACAAAG
105	NM_001945	HBEGF	GGATGTAGGGGTTAACTTGGTCAGAGCCACTCTATGAGTTGGACTTCAGTCTTGCCTAGGCGATT
106	NM_001657	AREG	GCCAAGTCATAGCCATAAATGATGAGTCGGTCCTCTTTCCAGTGGATCATAAGACAATGGACCCT
107	NM_012238	SIRT1	GGCGGCTTGATGGTAATCAGTATCTGTTTTTGCCACCAAATCGTTACATTTTCCATGGCGCTGAG
108	NM_012237	SIRT2	GGCTAAGTAAACCATACCTAACCTACCCCAGTGTGGGTGTGGGCCTCTGAATATAACCCACACCC
109	NM_012239	SIRT3	CTTTCTGTGCCTAGTTGAACGGCAAGCTCGGCATCTGTTGGTTACAAGATCCAGACTTGGGCCGA
110	NM_012240	SIRT4	TACTGAACATTGGGCCCACACGGTCGGATGACTTGGCGTGTCTGAAACTGAATTCTCGTTGTGGA
111	NM_144777	SCEL	AATTGAAGTAAATTCTCATGTGTCTGAAAACAAGAATGGAAGCTCTAACACTGGAGCCAAGCAGG
112	NM_014279	OLFM1	GGCCCACGTCCTCACCACAAAGGGACTCCTGTGAAACTGCTGCCAAAAAGATACCAATAACACTA
113	NM_198253	TERT	AGACGGTGTGCACCAACATCTACAAGATCCTCCTGCTGCAGGCGTACAGGTTTCACGCATGTGTG
114	NR_001566	TERC	TTTTTGTCTAACCCTAACTGAGAAGGGCGTAGGCGCCGTGCTTTTGCTCCCCGCGCGCTGTTTTT
115	NM_000633	BCL2	CTCCAGTTGGCCACCATTAGCTATAATGGCACTTTGTTTGTGTTGTTGGAAAAAGTCACATTGCC
116	NM_004084	DEFA1	ATGGCCTGCTATTGCAGAATACCAGCGTGCATTGCAGGAGAACGTCGCTATGGAACCTGCATCTA
117	NM_005218	DEFB1	ACCTGTTACAGAGGGAAGGCCAAGTGCTGCAAGTGAGCTGGGAGTGACCAGAAGAAATGACGCAG
118	NM_181501	ITGA1	TGACCCAAAGAAAGAGTTGTCTCAACTCCTTGGTACAGGGTTCATTCAAACCCCCAAGCTGTGAG
119	NM_002203	ITGA2	GGAACTTGAAAGCTTTGGTTAGCCTTGCCTTAGGTAATCAGCCTAGTTTACACTGTTTCCAGGGA
120	NM_007312	HYAL1	ATCAAGGAGTATATGGACACTACACTGGGGCCCTTCATCCTGAACGTGACCAGTGGGGCCCTTCT
121	NM_003773	HYAL2	CAACTTTGTGAGCTTCCGTGTTCAGGAGGCCCTTCGTGTGGCTCGCACCCACCATGCCAACCATG
122	NM_004132	HABP2	AAAATGCAGACTGTCATATCCAGCGAGTCCCTGACCCTTTCTGCGAATGTAACGAGCAAGCAGTC
123	NM_014282	HABP4	CTCACTTAGTCCTGGCTCCAGTTCTAGAGTTCCTCTTTATTGCTTTTGGTGAAAGTTTGGGGTTG
124	NM_001884	HAPLN1	ACATCGTTTTGTTAAGAAGTTAACTGTATCGTAGCTCACTACTGCCAGAGCGGCAATGGATGTAC
125	NM_002204	ITGA3	TCCATCTTGAGCCACAGTCACTGGATTGACTTTGCTGTCAAAACTACTGACAGGGAGCAGCCCCC
126	NM_000885	ITGA4	GCAAAAGAGTGCAATGCAGACCTTGAAAGGCATAGTCCGGTTCTTGTCCAAGACTGATAAGAGGC
127	NM_005353	ITGAD	ACCCAGGGACCTGAGTGCCTCTCTGGGAATAGTCGGGGGAACCTATTTGTGGGCATTGAAAAAGT
128	NM_001114380	ITGAL	CCCTGTTTAATGATTGACGTACTTAGCAGCTATCTCTCAGTGAACTGTGAGGGTAAAGGCTATAC
129	NM_000632	ITGAM	CCTCTCGTTTGACTGGTACATCAAGACCTCGCATAACCACCTCCTGATCGTGAGCACAGCTGAGA
130	NM_000211	ITGB2	ATTAACCAGAAATCCAGTTATTTTCCGCCCTCAAAATGACAGCCATGGCCGGCCGGGTGCTTCTG
131	NM_021273	Ckb	AAGTCCAAGAACTATGAGTTCATGTGGAATCCTCACCTGGGCTACATCCTCACATGCCCATCCAA
132	NM_007710	Ckm	ATGCCCGTGGCATCTGGCACAACGACAACAAAAGCTTCCTTGTGTGGGTGAACGAGGAGGACCAC
133	NM_010104	Edn1	CTTGACCTTGGGAAACACAATGGTTTAGAGTTGTTTGTGTACATGTTGAAAACCTGGTCTGTGCT
134	NM_007902	Edn2	TGGTTGCTAGCTACTGTACCTGCTTGGAGGAGCTATGTGAGGACAAATGAACATGCTGACTGTAT
135	NM_007903	Edn3	CAAAGCATCTGAGAATTATCTCCAGAAGTGATCACAGTAGCAAGGCCACACAGGACATAAAAGCA
136	NM_010275	Gdnf	TTGTCTGGCAGCCAACAAACAGGTCATGCCTTGAGTCCTATGTTAGAGCCTTGAGTCCTATGTTA
137	NM_008726	Nppb	TGGATCTCCTGAAGGTGCTGTCCCAGATGATTCTGTTTCTGCTTTTCCTTTATCTGTCACCGCTG
138	NM_011345	Sele	GTCCTGGCACTGAAGCCAGCATGAGATCCATCATTCTTATGTCAGCTCAAGGGTCAAAAGGACTT
139	NM_011346	Sell	ATTGGAAAATAACGTCAAGTCCTCCCGTGAAGATTTTACACGCAGGCATCTCCCACATTAGAGAT
140	NM_011347	Selp	TATGACCCAACCCCTTAAGAAACCCGGTCTGCCAATGTCTCATTCGATTTCTCAGGATTCCACAT

【００４４】

【表３】

配列番号	Accession No.	Gene symbol	核酸プローブの塩基配列
141	NM_011619	Tnnt2	AAAACTCGTGGGAAGGCCAAAGTCACCGGGCGTTGGAAATAGATGAAACTGTTCTCGTCAAAGCT
142	NM_013500	Hapln1	CCTTTTTGAGAAGTATGTCATTGCTCAAGACTGCCAGCACAGTGTACAGCAAAAGCTATGAATAA
143	NM_008215	Has1	ATGCACCACTCTACATGTGCGGCCTCCTGCCTGCCAAATTCCTAGCGTTGGTTACCATGAATCAA
144	NM_008216	Has2	CCCTTACTGTGCATCTGCCTGACAGTGTTTGTTCTAAATACCTCACTTGCCATGCTTTGTGTGGG
145	NM_008217	Has3	TGAGTTTCTGTCACCCCGTAGCCCCACCTGTTGTCCACTGTAGGTGCCATTCCGGTGCTGTTTTT
146	NM_010233	Fn1	GAACAAACACTAACGTAAATTGCCCCATTGAGTGCTTCATGCCGCTAGATGTGCAAGCTGACAGA
147	NM_008480	Lama1	TTGTAGATGGCAAGGTCTTATTTCACGTCAACAACGGTGCCGGAAGGATAACAGCCACCTACCAG
148	NM_008610	Mmp2	CCTCCTCTGTAGTTAACCAGCCTTCTCCTTCACCTGGTGACTTCAGATTTAAGAGGGTGGCTTCT
149	NM_010809	Mmp3	GTGCTTTGTTCAGCATGTGCTATGGCAGAACCAAACAGGAGCTATGGATGACACCAGTCAACGTC
150	NM_010810	Mmp7	CACCTACAGAATTGTATCCTATACTTCAGACTTACCTCGGATCGTAGTGGATCAAATCGTGAAAA
151	NM_013599	Mmp9	GGGCGCGGCTCCAACCGCTGCATAAATATTAAGGTATTCAGTTGCCCCTACTGGAAGGTATTATG
152	NM_019471	Mmp10	CTCTCGGTTTTCCTCCCACCGTGAAGAAGATTGATGCAGCTGTTTTTGAAAAGGAGAAGAAGAAA
153	NM_008606	Mmp11	TTTCCTGGTAAGTCAGCTCTGGAGAGATAGTGAACTGATCATATTCTGGCAGGTGATTCAGACAA
154	NM_008605	Mmp12	ATCAACTTCATGAGATCCAGAGTCATGTAAGAGACATGTGAGCACTACTTCAAAGAAGGTAAATG
155	NM_008607	Mmp13	CCATGTTTGTTAATCCCTCTCTGCTTTCCTTAGCGAGTAACACTTGGTGCTTACTGATGTGTGAA
156	NM_008608	Mmp14	CCTAGTTGGCTGCCTCCCGCCACTCTGACTAAAAGGAATCTTAAGAGTGTACATTTGGAGGTGGA
157	NM_008609	Mmp15	ACTTAACATTTGGTAGTGATAAGAGGAGAGGACAGCCCAGCTTCCCAAATGACTCCACATCTGGC
158	NM_019724	Mmp16	GAAAGCCATAGCTATTGTCATTCCCTGCATCTTGGCCTTATGCCTCCTTGTATTGGTTTACACTG
159	NM_011846	Mmp17	TAAGTGTCAGGGTCCTCGGGGAGTCATGACAATGTTACCGCCTAACTTGGAGATGTAGGAGCTGT
160	NM_011985	Mmp23	GTGGACAGAAGATCCTACACAAGAAAGGGAAAGTATACTGGTACAAGGACCAGGAACCCCTGGAG
161	NM_010808	Mmp24	TCAACAGCTGCAGGAGCTGACCCTGGTTCTGGGGGCGGATGCAAGTTTGTGACCATTCTCTACTC
162	NM_001033339	Mmp25	CTAGGGTCATCACCCTGAACTCAGGATTGCCCCATTCATTTGGAAGGGATCTTATGATTCCTGTC
163	NM_011593	Timp1	GTGAAGAGTTTCTCATCACGGGCCGCCTAAGGAACGGGAAATTTCACATCAATGCCTGCAGCTTC
164	NM_011594	Timp2	CCTCCCTCCCTTACTCCCGTCATGCCAGCAACTCGCAATATTTCAGATGACGTTTACATGGTAGC
165	NM_011595	Timp3	TAGATCTAAGTCAGCTGTTTGGGTTGAGGAGGAGAGAACCCGAGGAAATGACCATGCTCTGGGGA
166	NM_080639	Timp4	AACCACATCCTTGGAAGCATTCTGAAGACCAAGCCAGTTCTCTGTGGTCCTTTGACCATCACCAC
167	NM_008604	Mme	CTACAGCTCATGGACTCTAATTGGATTTCCTGAGGCACTCATATGCCTTCCTTGTCCTTCTGCTT
168	NM_007974	F2RL1/PAR2	AACAAGGGGCCATTGCAGGAGTACATGGCTCCAGGCTTACTTTATATACTGCCTGTATTTGTGGC
169	NM_007386	Aco1/IRP1	CTTACCATTTTCAACGATTGTTGACAGGGGTCCTTTGTTTGAAAATAACTGGGGAGAGATACGGG
170	NM_080633	Aco2/Irp2/Mtf1	AGCCTCAGCCCAGTGAACCACCATTGAGGGCGTTTAAGATAATGTTCCAGCCCCGCCTTCCTGTT
171	NM_001164109	Nfatc1	CCACCACCATTGTGGTCTCGGGGACCAACCGTATTTCCACACCATTAGACTGTGAGCTCCTTCAG
172	NM_009460	Sumo1	CTGAACTGTGGAAAATGACCTTTCCTCAGCTTGAAGCTACTTTTAAAATCTGCGGGTCTGGACCA
173	NM_133354	Sumo2	CTGGGGAAAAATACTGGGTTTGTGAAAATACCCCCTTCTCCACTAGTGGCATGCTCATTCAGCTC
174	NM_019929	Sumo3	CTCCAGGCATTTAATTGACTTAAGTTTCTTATCGGCCTGACACCCAAGTACATCATTGTAGAACC
175	NM_009627	Adm	ACATTTCAGAAATTGGCCCACCAGATCTACCAGCTAACAGACAAAGACAAGGACGGCATGGCTCC
176	NM_022415	Ptges	GGGCAGGGAGGTGAGTTACGCTAATGCTGGCCAGGATGTATAAAGAAATTCAAGTGTGCACACCT
177	NM_008968	Ptgis	AGGACACAGAGGTTCCTGAGTTTGACCTCAGCAGATATGGCTTCGGTCTGATGCAGCCAGAGGAA
178	NM_001161731	Ang	CTTTTTATCTCCCCTCATAGCCCAGAACACTGGTTCCATCGTTCATTGTCAGGGGCCAGAAAAAC
179	NM_013690	Tek	ATGTGGGTTACTACACAAGAGGCCGAACATTCCAAGTAGCAGAAGAGAGGGTCTCTCAACTCTGC
180	NM_011587	Tie1	CACCTAAAGCAGCATGCATGTTACTAACACCCTGTTTAGCCCCCGACTCTCTGCTTATACTCAGA
181	NM_010493	Icam1	CTACTTTTGTTCCCAATGTCAGCCACCATGCCTTAGCAGCTGAACAATCGAGCCTCATGCTCATG
182	NM_011693	Vcam1	TGATCCCTTGCTGAATGCAAGGAGCTAACCAGAAAAGTTCTGCTTGACAAGTCCCCATCGTTGAA
183	NM_010612	Flk1	TGGTCTCACTACCAGTTAAAGCAAAAGACTTTCAAACAGTGGCTCTGTCCTCCAAGAAGTGGCAA
184	NM_007742	Col1a1	AGGAATTCGGACTAGACATTGGCCCTGCCTGCTTCGTGTAAACTCCCTCCACCCCAATCTGGTTC
185	NM_007743	Col1a2	GGTGGCAGCCAGTTTGAATACAACGTAGAAGGGGTGTCCTCCAAGGAAATGGCAACTCAGCTCGC
186	NM_009931	Col4a1	TCAGGGTTTGCAACACTAACCACAGACTGAATGACTGACTTCCCGTACGACAGCCAAGGCCTTTG
187	NM_009925	Col10a1	ATCCTATTCTCCGCTTAGAAAGGCTTTCCACCCAATTCCATCGCGCCCTCCCTGGAGATGCATTT
188	NM_001109991	Col18a1	GACATCAGCTTGAAGTCCAGAAATCTCACAGCAGCCACATGAAGCACTTGTCCTATGAAGGGACT
189	NM_008895	Pomc	TTCCTGGCAACGGAGATGAACAGCCCCTGACTGAAAACCCCCGGAAGTACGTCATGGGTCACTTC
190	NM_011434	Sod1	ACTCTAAGAAACATGGTGGCCCGGCGGATGAAGAGAGGCATGTTGGAGACCTGGGCAATGTGACT
191	NM_013671	Sod2	TAATAAGATCTCTTTAGATCAGCGAAGCCCCTGTTTATCTGAGAGGCGCCGCCTGCCATGAGTAC
192	NM_011435	Sod3	AAGTTCCATGTTCCCGATCACCTCCTGCGGAGGCCCCAGGTTCTGTTTTCATCTGTTTCCCATAT
193	NM_009804	Cat	TCTTCTGGACAAGTACAACGCTGAGAAGCCTAAGAACGCAATTCACACCTACACGCAGGCCGGCT
194	NM_001083929	Gpx	GCCCAAAGGAAACACAAGTTCTAGGTCCAATGGTTCTGCTCAAACCTGAACATCATTCTTGGGGC
195	NM_010344	Gsr	TGAGGCTGGTTAGGTAAAGGAGAAATGACAGTACATGCAAGACGGAAGGCTGAGGCACTCGGGAG
196	NM_015767	Ttpa	CCTTCAGTGTCTTTGCTAGATCAAGTGCAGACGCTGCACACAATCTCTAGTTCCTCTAGTTCTGG
197	NM_007925	Eln	TTGGTACCCAAATACCGGAAGCCTTGACGATGGATTTGGTGACATGATCCCTCTCTCTTTGGTTC
198	NM_133918	Emilin1	AATCGGTCACTCCGTACGTTGTGACTGCGTGGTCTATGGGACCGAGGCATCTCCTCTTGACCTTT
199	NM_145158	Emilin2	GGCAGACTGGCTCACACAGACTTTGATGAAATGTACTCCACCTTCAGTGGTGTTTTCTTGTACCC
200	NM_009752	GLB1	GACGGTCGACCTCCAATTCTTCGGACCTCATACTCCCCACCTTTTACGTGGGCAACTTCTCCATC
201	NM_153127	MMRN2	ACGCCCTGCTTCACTCTGTAAAGGCCAACATATCAAATAGGGACAATGTTGTGCATGGCCTTCAC
202	NM_015779	Elane	ACTTCGTCATGTCAGCAGCCCACTGTGTGAACGGCCTAAATTTCCGGTCAGTGCAGGTAGTGCTG
203	NM_015776	Mfap5	CCGGCTTCCTACCCTACTCTAATTTTCACTGGTGCTGGTAACGTTTGTCTCATTTTGCGGTACTG
204	NM_001109757	Atp7a	AATCTGTTGTCTCTCAGATCCCGCTGCCCTGCTGCTGTCACTTAGAACACGAAACAAAGGAATGT
205	NM_010554	IL1a	GGAACATCCTTAAATCCTCTGAGCTTGACAGGCATCCTCACAGCAGGATTTTCTAGGTGGTCAGT
206	NM_008361	IL1b	CATTAGGCAGCACTCTCTAGAACAGAACCTAGCTGTCAACGTGTGGGGGATGAATTGGTCATAGC
207	NM_009969	GM-CSF	CCCCAACTCCGGAAACGGACTGTGAAACACAAGTTACCACCTATGCGGATTTCATAGACAGCCTT
208	NM_011198	Ｐｔｇｓ２	GGCTGTTGGAATTTACGCATAAAGCAGACTGCATAGATCCAATATTGACTGACCCAAGCATGTTA
209	NM_013693	Tnfa	CTGAACCTCTGCTCCCCACGGGAGCCGTGACTGTAATCGCCCTACGGGTCATTGAGAGAAATAAA
210	NM_031168	IL6	ATCTACTCGGCAAACCTAGTGCGTTATGCCTAAGCATATCAGTTTGTGGACATTCCTCACTGTGG

【００４５】

【表４】

配列番号	Accession No.	Gene symbol	核酸プローブの塩基配列
211	NM_175731	Acer1	TGAACAGATGGGTGTGTGGCTGATACAGCACCTGCCTGAAGCATAATGCTTGCTCTCTGTCAGCT
212	NM_139306	Acer2	ATGGTCTCTGGGGACACCCAGCTAGGGCCTTCCCCAACTCCTTATCCAGCTGAACTTGGATTCTT
213	NM_019734	Asah1	CTCCTTCCATAGGCTAAGGCTCAAGGCCTCTTGTCTTTAGTCAGGACTGTCCTCATCATGTTACA
214	NM_001077411	Gba	TCTGCAGTTGTGGTCGTGTTAAACCGATCTTCGGAGGATGTCCCTCTTACCATCAGTGATCCTGA
215	NM_001168525	Sgms1	GTGCTTCTTGGGAGAGAAATTTGTCTATGTTTCTAGTGCCTTTCTTGTCTTGATTGTATGGTCGG
216	NM_009885	Cel	AGCGCCAAGACCTATTCTTACCTGTTTTCCCACCCTTCACGGATGCCTATCTACCCCAAATGGAT
217	NM_008079	Galc	CCCATATAAGCTGGTGCCGTAGGCGAATCTAACTGCTTCCCTGTTCATTTCTTGTGCCTTTTGCA
218	NM_009269	Sptlc1	CTCTATAAATTCCAGATGCCTCCGAAAAATAGGGATGCTCTAAACGTGATTTCCGAGCTCTACAC
219	NM_138647	Lass1	TTCCTGTACATTGTGGCTTTCGCAGCCAAGGTGCTGACTGGTCAGATGCGTGAACTGGAAGACTT
220	NM_172856	Lass6	CTGTCCGCGGAATCGTATCCACATATGGCAGGCCATAGCTCTCAGAAAGTCTGACTTGTAAATCC
221	NM_007853	Degs1	CTCTCTGGTTTACTAAGCTAGCCTTAGTGGAATTTCTTTGGTCTGTCTCTGGTACCCCACGTGAT
222	XM_485270	Flg	GTGGTCAGGGAGGATATGAGTCCATATTTACAGCAAAGCACCTTGATTTTAATCAATCTCACAGC
223	XM_485270	Flg2	GTGGTCAGGGAGGATATGAGTCCATATTTACAGCAAAGCACCTTGATTTTAATCAATCTCACAGC
224	NM_008473	KRT1	ATCCAGCTCAGGTGGCGGTGGCGTTAAGTCCTCTGGCAGTTCTACCGTGAAGTTTGTTTCCACCA
225	NM_010668	KRT2	TCATCTGTGGCATCTAAGACTGGCTTCGGCTCTGGGGGTCAAAGTTCTGGAGGAAGAGGGTCTTA
226	NM_008475	KRT4	TCTTCTGGGGGCTTCGGCAGCAGAAGTCTTTACAACCTCGGGGGTCACAAGAGTATCTCCATGAG
227	NM_008008	FGF7	ACCTATGCATCAGCTAAATGGACACACAGCGGAGGGGAAATGTTCGTTGCCTTAAATCAAAAGGG
228	NM_023850	Chst1	ACAACTGGTAGTTTTGCAATTGTCTTCTCAAGGTAAGAGGATGGACACAAAGGGGCCGTACCTCC
229	NM_018763	Chst2	AGACTGAAGAATCGTGGTGTAGACTGTGGCCAAACAGAGCAATGGCCACTGTCAGAAAGTCCATC
230	NM_001033239	Csta	CCCCCTTTTAGTCCAGGAGGGATTTGCACTAGTGAGTACCAGGATTCTAATAAAAGGCTCTTTTC
231	NM_010635	Klf1	GCACAAGGACTGGGGATGAAATAAGAGTGGATCCAAGGACCGTATCCCAAAAGATGGGCCATTAT
232	NM_010113	Egf	AACCAGGCTGATGATGGTAGAGTGCTACAGACTTGGTACTCCAGTTTCCACGGCTAATCACTGCT
233	NM_010415	Hbegf	TGAGTTGGACTGCAGTCTTGCCTAGGTGATTTTTGTCTACCGTTCGTGTTCCGAAAGCCCAAGGT
234	NM_009704	Areg	CTTCAGGGAATATGAAGGAGAAACAGAAGAAAGAAGGAGGCTTCGACAAGAAAACGGGACTGTGC
235	NM_019812	Sirt1	CCAGTTAGGACCATTACTGCCAGAGGAGAAAAGTATTAAGTAGCTCATTTCCCTACCTAAAAGAT
236	NM_022432	Sirt2	CATAGCCTCTAACCACCATAGCCTCTAACCACCCAGGCAAGAAGCAGCCTTCCCTAACTTCTAAT
237	NM_022433	Sirt3	CATATGGCTGACTTCGCTTTGGCAGATCTGCTACTCATTCTTGGGACCTCCCTGGAGGTGGAGCC
238	NM_001167691	Sirt4	TACTCTGGTTACAGGTTCATCCTCACCGCCCGCGAGCAAAAGCTCCCAATAGCCATTCTGAATAT
239	NM_022886	Scel	ACGCCGACACGTGGAAATGAAGATGAGCACCTTCATCGAGGAATTTAAAGCTACATTTAAGAATA
240	NM_001038612	Ｏｌｆｍ1/Amy	GAAGAAGCAGTCCCCCATGTAACCATGAGAGAGCCAGAGAGCTTTTTGCACCATGCATTTTTACG
241	NM_009354	Tert	GTGATTCAGCTTCCCTTTGACCAGCGTGTTAGGAAGAACCTCACATTCTTTCTGGGCATCATCTC
242	NM_009741	Bcl2	ATTATTCAATCCGCTATAGACATCTGTGCACTGTGCATCTCTCCAGGCATGAAGAAAACCAGGTA
243	NM_010031	Defa1	GAACAAGACGAGCATGAGTACTGAGGCCACTGATGCTGGTGCCTGATGACCACTTCTCAATAAAT
244	NM_007843	Defb1	CTCTTCCACAGTCTTAGCAGTCAGTTCTATGACACCCCATCTGCAACCTTAGCAATAGAAACTCC
245	NM_001033228	Itga1	TGAATGTACGGTATCATCGTGTGTGAACTACTGCTGTAAAATGTGCTGATCCTCCTGCCCCAAAC
246	NM_008396	Itga2	CCCCTCATGATAATGAAACCCACGGAGAAAGCAGAAGTACCGACAGGGGTTATCATAGGCAGCAT
247	NM_008317	Hyal1	CAAGCACTAGAAGTGGGCTAACTCATTCAGTCTTTGCAATGGACATGCAGGGAAGCTGAGCCTTT
248	NM_010489	Hyal2	ACCTGCCAATACCTCAAGAATTACCTAACTCAGCTGCTGGTTCCCTACATAGTCAACGTGTCCTG
249	NM_146101	Habp2	TGAGGCCTTTTCTCTCTGGGAACCAACAAGAAATACATTATCTTTGCCCCCGTTCTGACAAGTGT
250	NM_019986	Habp4	ATTTCAGGACACGTGGAGAACCGCTCATGTAGAGCAGTCCCACCCCTAATTTTCATACCATTCAC
251	NM_013500	Hapln1	CCTTTTTGAGAAGTATGTCATTGCTCAAGACTGCCAGCACAGTGTACAGCAAAAGCTATGAATAA
252	NM_013565	Itga3	ATATATCATGGAGGGTGCCGTATCCAAGTCTCTGTCTGTGCCAAAACCAAGCCAAAGCGCCTCTA
253	NM_010576	Itga4	TTAAGGTGGAATCAAGTTTACAGACAATCACCTGAATGCTGACTCATTCCTTGTTCACAACCACT
254	NM_001029872	Itgad	CTCCCCAGAGCTCACTGTGACAGTAACAGTTTGGAATGAGGGTGAGGACAGCTATGGAACCTTAA
255	NM_008400	Itgal	TCTGCTAGCCTGCCTTGTCCCTCTGAGAGAATCTTTGAAATAAACTCGGAGAAACTGCCATCTCA
256	NM_001082960	Itgam	CTTCCTAGCTGTTGGGGGTCTCTCCTTAGGGATATTAAAGGGTATATGTTTAGAATCTATTCCAC
257	NM_008404	Itgb2	CTGCCAAGGATCCAAAAGCCTGCTCGGTTTCTTTCCGCCATTATATCAAGTCTGCCAGGGTTTCC
258	NM_001101	ACTB	AGTCCTCTCCCAAGTCCACACAGGGGAGGTGATAGCATTGCTTTCGTGTAAATTATGTAATGCAA
259	NM_001688	ATP5F1	GAGACAATTGCCAAGTGCATTGCGGACCTAAAGCTGCTGGCAAAGAAGGCTCAAGCACAGCCAGT
260	NM_002046	GAPDH	AGTTGCCATGTAGACCCCTTGAAGAGGGGAGGGGCCTAGGGAGCCGCACCTTGTCATGTACCATC
261	NM_001514	GTF2B	GAGCCTTTCATGAGGAAAAACAAAAGACATGGTACGCATTCCAGGGCTGAATACTATTGCTTGGC
262	NM_000929	PLA2G5	CAACACAGAGTACTGACTCTGCCTGGTTCCTGAGAGAGGCTCCTAAGTCACAGACCTCAGTCTTT
263	NM_001009	RPS5	AACAACGGCAAGAAGCTCATGACTGTGCGCATCGTCAAGCATGCCTTCGAGATCATACACCTGCT
264	NM_006082	TUBA1B	TGCAGCATGTCATGCTCCCAGAATTTCAGCTTCAGCTTAACTGACAGACGTTAAAGCTTTCTGGT
265	NM_000181	GUSB	TGGAAAACAGCCCGTTTACTTGAGCAAGACTGATACCACCTGCGTGTCCCTTCCTCCCCGAGTCA
266	NM_053275	RPLP0	GTCGGACGAGGATATGGGATTTGGTCTCTTTGACTAATCACCAAAAAGCAACCAACTTAG
267	NM_007393	Actb	CCATCGTGCACCGCAAGTGCTTCTAGGCGGACTGTTACTGAGCTGCGTTTTACACCCTTTCTTTG
268	NM_008084	GAPDH	GGGCTGCCATTTGCAGTGGCAAAGTGGAGATTGTTGCCATCAACGACCCCTTCATTGACCTCAAC
269	NM_010368	GUSB	GGTCCTCCATTTCCCAGGTGATCCAAATGCCCTTTTGGCCCCTGCGGGTACCACATGTATGTGGT
270	NM_008828	PGK1	TTCTGCCTGAGAAAGGAAGTGAGCTGTAAAGGCTGAGCTCTCTCTCTGACGTATGTAGCCTCTGG
271	NM_007475	Arbp	ATCAGATGAGGATATGGGATTCGGTCTCTTCGACTAATCCCGCCAAAGCAACCAAGTCAGCCTGC
272	YPL088W-713	YPL088W-713	GCATGTTGACTCGTCCTCTGAACCAAAGCACGGACAGGATTAAGAGTGATCCAACTTTCAAGTCG
273	OmpA	OmpA	GTGTCGGCATAAGCCGAAGATATCGGTAGAGTTATATTGAGCAGATCCCCCGGTGAAGGATTTAA

【００４６】

本発明においては、上記コントロールとしての塩基配列からなる核酸も、上記（α）の核酸と共に使用することができ、同様に、後述する（β）、（γ）及び（δ）の核酸と共に使用することもできる。

【００４７】

また、上記（β）の核酸も、上記（α）の核酸と同様に、本発明における皮膚に対する紫外線の影響の評価等に用いることができる。上記（β）の核酸については、上記（α）の核酸の相補鎖の塩基配列からなること以外は、上述した（α）の核酸に関する説明を同様に適用することができる。

【００４８】

また、上記（γ）の核酸も、上記（α）及び（β）の核酸と同様に、本発明における皮膚に対する紫外線の影響の評価等に用いることができる。

上記（γ）の核酸は、前記（α）又は（β）の核酸の塩基配列に対して、70％以上の相同性を有する塩基配列からなる核酸であるが、さらに、71％以上、72％以上、73％以上、74％以上、75％以上、76％以上、77％以上、78％以上、79％以上、80％以上、81％以上、82％以上、83％以上、84％以上、85％以上、86％以上、87％以上、88％以上、89％以上、90％以上、91％以上、92％以上、93％以上、94％以上、95％以上、96％以上、97％以上、98％以上、99％以上、99.1％以上、99.2％以上、99.3％以上、99.4％以上、99.5％以上、99.6％以上、99.7％以上、99.8％以上又は99.9％以上の相同性を有する塩基配列からなる核酸であることが好ましい。なお、塩基配列の相同性に関する説明については、前述した（ｂ）の核酸における説明を同様に適用することができる。

【００４９】

なお、上記（γ）の核酸において、「皮膚構成関連遺伝子を検出することができる」とは、前述した（ａ）において列挙した皮膚構成関連遺伝子（ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１、ＡＳＡＨ１、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１）の塩基配列やその相補鎖の塩基配列のいずれかをハイブリダイゼーションにより捕捉することができることであることを意味する。

【００５０】

さらに、上記（δ）の核酸も、上記（α）、（β）及び（γ）の核酸と同様に、本発明における皮膚に対する紫外線の影響の評価等に用いることができる。

上記（δ）の核酸は、上記（α）、（β）及び（γ）の核酸の塩基配列において１から数個（例えば、１～１５個、１～１０個、又は１～５個、あるいは１～２個）の塩基が付加、欠失又は置換された塩基配列である。例えば、上記（α）、（β）及び（γ）の核酸の塩基配列の末端に、リンカーとなる塩基（ポリＴなど）を修飾したものや、当該塩基配列の一部に別の塩基を挿入したり、当該塩基配列の一部の塩基を欠失させたり、当該塩基配列の一部の塩基を別の塩基に置換したもの等が挙げられる。

【００５１】

このように、所望の塩基を付加、欠失又は置換した変異配列、特に変異置換型の核酸については、例えば、上記「Moleculer cloning, A Laboratory Manual 3rd ed.」や「Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987-1997)」等に記載の部位特異的変位誘発法に準じて調製することができる。具体的には、Kunkel法や Gapped duplex法等の公知手法により、部位特異的突然変異誘発法を利用した変異導入用キットを用いて調製することができ、当該キットとしては、例えば、QuickChange™ Site-Directed Mutagenesis Kit（ストラタジーン社製）、GeneTailor™ Site-Directed Mutagenesis System（インビトロジェン社製）、TaKaRa Site-Directed Mutagenesis System（Prime STAR(登録商標) Mutagenesis Basal kit、Mutan(登録商標)-Super Express Km等：タカラバイオ社製）等が好ましく挙げられる。

なお、上記（δ）の核酸において、「皮膚構成関連遺伝子を検出することができる」とは、上記（γ）の核酸に関する説明を同様に適用することができる。

【００５２】

上記（α）、（β）、（γ）及び（δ）の核酸は、前述した（ａ）、（ｂ）及び（ｃ）の核酸と同様に、当該核酸の全長に限らず、その一部をプローブとして使用することができる。

【００５３】

また、本発明においては、皮膚に対する紫外線の影響を評価するためのプローブセットとしては、例えば、下記（ｉ）及び／又は（ii）の核酸からなるものも使用することができる。

【００５４】

（i）配列番号１～１３０に示される塩基配列からなる核酸

（ii）配列番号１３１～２５７に示される塩基配列からなる核酸

ここで、上記（ｉ）の核酸は、ヒト由来の皮膚構成関連遺伝子の塩基配列からなる核酸の一部に相当するものであり、上記（ii）の核酸は、マウス由来の皮膚構成関連遺伝子の塩

基配列からなる核酸の一部に相当するものである。
【００５５】
本明細書において記載した各種核酸の入手方法は、特に限定はされず、公知の遺伝子工学的手法又は公知の合成手法によって取得することが可能であり、例えば、市販のＤＮＡ合成機を用いる等して得ることができる。
また、プローブとして使用し得る各種核酸は、適宜、修飾されたものであってもよく、例えば、末端ビニル化（アクリロイル化、メタクリロイル化）又は末端アミノ化がなされたものや、リンカーとなる塩基（ポリＴなど）で修飾されたもの等が挙げられる。また、各種核酸の塩基配列の一部へ別の塩基を挿入したり、当該塩基配列の一部の塩基を欠失させたり、又は別の塩基に置換したり、あるいは塩基以外の物質に置換して、使用することもできる。ここで、塩基以外の物質としては、例えば、色素（蛍光色素、インターカレーター）、消光基、塩基架橋剤が挙げられる。
【００５６】

３．核酸マイクロアレイ
核酸マイクロアレイとは、担体上に多数の核酸プローブを高密度にそれぞれ独立に固定化したものである。核酸マイクロアレイは、複数の核酸塩基配列に関する発現量や、特定の核酸塩基配列の配列自体を解析するために利用されるシステムである。
【００５７】
本発明の核酸マイクロアレイは、上述した本発明のプローブが搭載されたものである。本発明の核酸マイクロアレイは、支持体上に、本発明のプローブが固定されたものであれば、限定はされない。例えば、前述した皮膚構成関連遺伝子に由来する各々のｍＲＮＡとハイブリダイズし得るプローブをそれぞれ支持体に固定しておくことにより、複数の皮膚構成関連遺伝子の発現の検出や定量を同時に行うことができる。
【００５８】
核酸マイクロアレイについて、その支持体の形態は特には限定されず、平板、棒状、ビーズ等のいずれの形態も使用できる。支持体として、平板を使用する場合は、その平板上に、所定の間隔をもって、所定のプローブを種類毎に固定することができる（スポッティング法等；Ｓｃｉｅｎｃｅ　２７０，４６７－４７０（１９９５）等参照）。また、平板上の特定の位置で、所定のプローブを種類毎に逐次合成していくこともできる（フォトリソグラフィー法等；Ｓｃｉｅｎｃｅ　２５１，　７６７－７７３（１９９１）等参照）。
【００５９】
他の好ましい支持体の形態としては、中空繊維を使用するものが挙げられる。支持体として中空繊維を使用する場合は、プローブを種類毎に各中空繊維に固定し、すべての中空繊維を集束させ固定した後、繊維の長手方向で切断を繰り返すことにより得られる核酸マイクロアレイが好ましく例示できる。この核酸マイクロアレイは、貫通孔基板にプローブを固定化したタイプのものと説明することができ、いわゆる「貫通孔型マイクロアレイ」とも言われる（特許第３５１０８８２号公報等、本願図１を参照）。
【００６０】
支持体へのプローブの固定化方法は特には限定されず、どのような結合様式でもよい。また、支持体に直接固定化することに限定はされず、例えば、予め支持体をポリリジン等のポリマーでコーティング処理し、処理後の支持体にプローブを固定することもできる。さらに、支持体として中空繊維等の管状体を使用する場合は、管状体にゲル状物を保持させ、そのゲル状物にプローブを固定化することもできる。
【００６１】
以下、中空繊維による貫通孔型核酸マイクロアレイについて、詳細に説明する。このマイクロアレイは、例えば、下記（ｉ）～（ｉｖ）の工程を経て作製することができる。
（ｉ）複数本の中空繊維を、中空繊維の長手方向が同一方向となるように３次元に配列して配列体を製造する工程
（ｉｉ）前記配列体を包埋し、ブロック体を製造する工程

（ｉｉｉ）プローブを含むゲル前駆体重合性溶液を前記ブロック体の各中空繊維の中空部に導入して重合反応を行い、プローブを含むゲル状物を中空部に保持させる工程
（ｉｖ）中空繊維の長手方向と交差する方向で切断して、ブロック体を薄片化する工程中空繊維に使用される材料としては、限定はされないが、例えば、特開２００４－１６３２１１号公報等に記載の材料が好ましく挙げられる。
【００６２】
　中空繊維は、その長手方向の長さが同一となるように３次元に配列される（工程（ｉ））。配列方法としては、例えば、粘着シート等のシート状物に複数本の中空繊維を所定の間隔をもって平行に配置し、シート状とした後、このシートを螺旋状に巻き取る方法（特開平１１－１０８９２８号公報を参照）や、複数の孔が所定の間隔をもって設けられた多孔板２枚を孔部が一致するように重ね合わせ、それらの孔部に中空繊維を通過させ、その後２枚の多孔板の間隔を開いて仮固定し、２枚の多孔板間における中空繊維の周辺に硬化性樹脂原料を充満させて硬化させる方法（特開２００１－１３３４５３号公報を参照）等が挙げられる。
【００６３】
　製造された配列体はその配列が乱れないように包埋される（工程（ｉｉ））。包埋の方法としては、ポリウレタン樹脂及びエポキシ樹脂等を繊維間の隙間に流し込む方法のほか、繊維どうしを熱融着により接着する方法等が好ましく挙げられる。
包埋された配列体には、各中空繊維の中空部に、プローブを含むゲル前駆体重合性溶液（ゲル形成溶液）を充填し、中空部内で重合反応を行う（工程（ｉｉｉ））。これにより、各中空繊維の中空部に、プローブが固定されたゲル状物を保持させることができる。
【００６４】
　ゲル前駆体重合性溶液とは、ゲル形成重合性モノマー等の反応性物質を含有する溶液であって、該モノマー等を重合、架橋させることにより該溶液がゲル状物となることが可能な溶液をいう。そのようなモノマーとしては、例えば、アクリルアミド、ジメチルアクリルアミド、ビニルピロリドン、メチレンビスアクリルアミド等が挙げられる。この場合溶液には重合開始剤等が含まれていてもよい。中空繊維内にプローブを固定した後、中空繊維の長手方向と交差する方向（好ましくは直交する方向）で、ブロック体を切断して薄片化する（工程（ｉｖ））。このようにして得られた薄片は、核酸マイクロアレイとして使用できる。当該アレイの厚みは、０．０１ｍｍ～１ｍｍ程度であることが好ましい。ブロック体の切断は、例えば、ミクロトーム及びレーザー等により行うことができる。当該貫通孔型マイクロアレイとしては、例えば、三菱レイヨン社製の核酸マイクロアレイ（Genopal^{TM}）等が好ましく挙げられる。
【００６５】

　４．皮膚の状態の評価
　本発明によれば、前述した本発明のプローブ又はプローブセットあるいは核酸マイクロアレイを用いて皮膚構成関連遺伝子の発現量を測定することにより、検査対象（被験対象）の皮膚に対する外部刺激、特に紫外線による、ハリやシワ等の皮膚の状態への影響を、包括的に評価することができる。
【００６６】
　皮膚構成関連遺伝子の発現量の測定は、例えば、外部刺激を、検査対象としての動物の皮膚又はその培養細胞に加えた後（特に、紫外線を、動物の皮膚又はその培養細胞に照射した後）、当該皮膚又は培養細胞からｍＲＮＡを抽出することにより行うことができる。当該ｍＲＮＡは、検査対象中に含まれているものをそのまま使用することもでき、また、当該ｍＲＮＡから逆転写（又は逆転写及び増幅）して得たｃＤＮＡや、当該ｃＤＮＡを転写増幅して得たａＲＮＡ（amplified RNA）を使用することもできる。更に、当該増幅産物には、ｂｉｏｔｉｎを初めとする蛍光標識剤、インターカレーター、金属粒子、発光反応する酵素等により標識しておくことが好ましい。
【００６７】

皮膚又はその培養細胞の由来動物は限定されないが、例えば、ヒト、マウス、ラット、ハムスター、ブタ、モルモット、サル、イヌ、ネコ等を挙げることができる。培養細胞の種類は、皮膚に関連する細胞であれば特には限定されず、例えば、正常上皮細胞、正常メラノサイト、正常ケラチノサイト細胞、上皮繊維芽細胞、メラノーマ細胞等を挙げることができる。

【００６８】

ハイブリダイゼーション反応は、上述のようにして得られたｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ａＲＮＡがマイクロアレイに搭載されたプローブとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし得るよう、反応条件（緩衝液の種類、ｐＨ、温度等）を適宜設定して行うことができる。なお、ここで言う「ストリンジェントな条件」については、前述したとおりである。

【００６９】

洗浄後は、プローブに結合したｍＲＮＡ、ｃＤＮＡ、ａＲＮＡの標識を検出できる装置により、プローブごとに検出強度を測定する。標識剤等から得られた検出結果（シグナル強度）に基づいて、公知の処理方法により、ターゲットとなる各種遺伝子の発現量の有意性を評価することができる。

【００７０】

５．スクリーニング方法

本発明においては、本発明のプローブ又はプローブセットあるいは核酸マイクロアレイを用いて、皮膚疾患治療薬又は化粧品に有用な化合物をスクリーニングする方法を提供することができる。

【００７１】

当該スクリーニングは、具体的には、例えばＵＶＢといった外部刺激を動物の皮膚又はその培養細胞に加えた後、候補物質を動物又は培養細胞へ接触させ、皮膚構成関連遺伝子の発現量を測定し、対照（候補物質を接触させない場合など）の遺伝子発現量と比較解析することによってスクリーニングをすることができる。または、場合によっては、外部刺激の前に候補物質を接触させることもある。ここでいう接触とは、動物であれば、候補物質を経皮投与（皮膚に塗布、貼付等）、経口投与、腹腔投与、皮下投与、静脈投与すること等を指し、培養細胞であれば、培養液中に候補物質を添加することを指す。

対照としては、候補物質を接触させずに外部刺激を加えた場合、外部刺激を加えずに候補物質を接触させた場合、または外部刺激を加えず候補物質の接触もさせない場合等が挙げられる。

【００７２】

なお、用い得る候補物質としては、任意の各種化合物が挙げられ、天然由来のものであっても人工的に作製したものであってもよく、限定はされない。

対照となる遺伝子の発現量データは、同一の被験対象から取得したものであっても複数の異なる同一種の被験対象から取得したものであってもよく、またデータベースに予め蓄積されたものであってもよい。また、測定された被験対象由来の発現量データを母集団（被験対象）の値に組み込んで発現量レベルを再度データ処理し（平均値化等）、母集団の例数を増やすこともできる。例数を増やすことにより、発現量の臨界値の精度を高め、場合により臨界値を適宜修正することにより、スクリーニングの精度を高めることができる。

【００７３】

遺伝子発現量の比較解析としては、候補物質の接触により、遺伝子発現量が外部刺激を与えない場合の遺伝子発現量に近づくかどうかで評価することができる。その評価の方法としては、遺伝子発現量の経時変化や条件による変化をパターンとして評価することができ、具体的には、多変量解析を用いて行うことができる。多変量解析としては、例えば、主成分分析、因子分析、判別分析、数量化理論（I類，II類，III類，IV類）、クラスター分析、多次元尺度構成法（MDS）、重回帰分析、コンジョイント分析、マハラノビス・タグチシステム（MT法）を用いたパターンの比較及び効果の予測等が挙げられる。

【００７４】
　動物や培養細胞に接触させる候補物質の濃度や量は、候補物質や被験対象の種類等に応じて適宜設定及び選択することができるが、核酸抽出に障害となる影響を及ぼさないよう、候補物質による毒性が被験対象に生じない濃度や量で行うのが好ましい。毒性が生じないとは、動物の場合は、少なくとも死亡しない、又は部分的な壊死が観測されないこと、培養細胞では、少なくとも細胞生存率が９０％以上であることが挙げられる。
【００７５】
　核酸の抽出方法、抽出した核酸の処理方法は限定されず、公知の方法で行うことができるが、使用するマイクロアレイの種類に適した方法で行うことが好ましい。例えば、Ｔｏｔａｌ　ＲＮＡを単離する場合は市販品の試薬キットであるＲＮｅａｓｙ　ｍｉｎｉ　ｋｉｔ（ＱＩＡＧＥＮ）などを使用することができ、付属のプロトコールにしたがって抽出を行うことができる。また、場合によりＲＮＡを増幅する場合は、市販品でのキットであるＭｅｓｓａｇｅ　ＡｍｐＩＩ－Ｂｉｏｔｉｎ　Ｅｎｈａｎｃｅｄキット（アプライドバイオシステムズ社製）を使用して、付属のプロトコールに従って増幅したａＲＮＡを調製し、測定することができる。
【００７６】
　測定結果で評価に使用するデータは、判定値以上の値のみを使用する。判定値はネガティブコントロールの平均値Ｘを用いることができ、さらにはＸに標準偏差σを足した値、さらにはＸ＋２σ、さらにはＸ＋３σが望ましい。なお、ネガティブコントロールとは、被験対象から検出されるはずのない遺伝子であり、例えば、被験対象と異なる他種生物の遺伝子などである。
【００７７】
得られたデータの各サンプル間の誤差をハウスキーピング遺伝子（ｇａｐｄｈ、ａｃｔｉｎ、ａｒｂｐ等）の値で補正し、補正したデータを用いてｍＲＮＡ量の変動を判定する（ｍＲＮＡ量の変動は検定により統計的に判定する。各被験対象からサンプル数（ｎ）を３以上取得し、ｔ検定を行う。Ｐ値が０．０５以下の場合に、さらには０．０１以下の場合に有意に変動したと判定する。）。当該判定の結果、有意に変動したと判定されなかった場合に用いた候補物質が、前述のように、遺伝子発現量が外部刺激を与えない場合の遺伝子発現量に近づけることができた候補物質と判断でき、皮膚疾患治療薬又は化粧品に有用な化合物としてスクリーニングされたものと判断できる。
【００７８】
［実施例］
以下、実施例により本発明をさらに具体的に説明する。但し、本発明はこれら実施例によって何ら限定されるものではない。
【実施例１】
【００７９】
　<u>（１）中空繊維束の製造</u>
　図１に示す配列固定器具を利用して中空繊維束を製造した。なお、図中のｘ、ｙ、ｚは直交の３次元軸であり、ｘ軸は繊維の長手方向と一致する。
【００８０】
　まず、直径０．３２ｍｍの孔が、孔の中心間距離を０．１２ｍｍとして、縦横各１６列で合計２５６個設けられた厚さ０．１ｍｍの多孔板２枚を準備した。これらの多孔板を重ね合わせて、そのすべての孔に、外径２８０μｍ、内径１８０μｍ、長さ１５０ｍｍのポリカーボネート中空繊維を１本ずつ、通過させた。
【００８１】
　Ｘ軸方向に各繊維に０．１Ｎの張力をかけた状態で２枚の多孔板の位置を移動させて、中空繊維の一方の端部から２０ｍｍの位置と１００ｍｍの位置の２ヶ所に固定した。即ち、２枚の多孔板の間隔を８０ｍｍとした。次いで、多孔板間の空間の周囲３面を板状物で囲った。このようにして上部のみが開口状態にある容器を得た。
【００８２】

次に、この容器の上部から容器内に樹脂原料を流し込んだ。樹脂としては、ポリウレタン樹脂接着剤（日本ポリウレタン工業（株）ニッポラン４２７６、コロネート４４０３）の総質量に対し、２．５質量％のカーボンブラックを添加したものを使用した。２５℃で１週間静置して樹脂を硬化させた。次いで多孔板と板状物を取り除き、中空繊維束を得た。得られた中空繊維束をデシケーター中に入れ内部を窒素置換した後、１６時間静置した。

【００８３】

（２）中空糸内へのプローブの固定化とスライス

配列表より選択した遺伝子のプローブ（ＢＥＸ社よりビニル化核酸を購入）を含む組成のゲル重合前駆体溶液（表５：単位はｍＬ）をマイクロウェルプレートの各ウェルに３６μＬ分注した。該ウェルプレートをデシゲーター内に設置し、端部から各ウェルに分注したゲル前駆体溶液を吸引し、中空繊維の中空部に導入した。

【００８４】

【表５】

組成	質量比 （プローブ：濃度）
Ｎ，Ｎ’－ジメチルアクリルアミド	3.42
Ｎ，Ｎ－メチレンビスアクリルアミド	0.38
２，２’－アゾビス（２－メチルプロピオンアミジン）ジヒドロクロライド	0.01
プローブ水溶液（ｐｍｏｌ／μＬ）	5
超純水	96.19

【００８５】

次いで、前記の中空繊維束を前記デシケーター内に設置し、デシケーター内を窒素雰囲気下、５５℃まで昇温して、５５℃で３時間、重合反応を実施した。

【００８６】

重合反応終了後、ミクロトームを用い、中空繊維束を中空繊維の長手方向に直角方向に厚さ２５０μｍで薄片化した。このようにして、２２８個のキャプチャープローブを含むゲルスポットを搭載した厚さ２５０μｍの核酸マイクロアレイを３００枚作製した。

【００８７】

（３）作製した核酸マイクロアレイを用いたサンプル測定

フィブロサイト（ＲＩＫＥＮ　ＢＲＣ　ＣＥＬＬ　ＢＡＮＫ）を９６ｗｅｌｌプレートに2.0×10^{4}ｃｅｌｌｓ／ｗｅｌｌとなるように播種し、１０％ＦＢＳ含有ＤＭＥＭ培地(シグマ アルドリッチ)で２４時間培養した。ＵＶＢ（紫外線Ｂ波）照射前を０時間とし、一方には培地を除去してＰＢＳ　を加えＵＶＢ（３０　ｍＪ／ｃｍ２）を照射した。ＵＶＢ照射後、ＰＢＳ　を除去し、再び培地を加え３、６、９，１２、２４、３６、４８、７２時間培養した。

【００８８】

各培養時間の細胞をＰＢＳ（－）で洗浄し、核酸マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行った。核酸マイクロアレイによる遺伝子発現解析ためのサンプル調製はＲｎｅａｓｙ　Ｍｉｎｉ　Ｋｉｔ（Ｑｉａｇｅｎ社製）のプロトコールの通りに行った。

【００８９】

細胞をＰＢＳ（－）で洗浄後、トリプシン処理で回収し、１０００ｒｐｍで沈殿させ、上清を除去後にＰＢＳ（－）１７５μＬを添加した。細胞サンプル溶液１７５μＬにキットに付属のＲＬＴ溶液１７５μＬを添加し、１ｍＬシリンジで５回出し入れして、細胞を破砕した。破砕液に７０％エタノールを添加し、ピペッティング５回行ったあと、その溶液を添付のカラムに添加して遠心し（１３０００ｒｐｍ　１分）、次いで付属のＲＷ１７００μＬ、ＲＰＥ５００μＬで洗浄し（各１３０００ｒｐｍ、１分）、ＲＮａｓｅ　ｆｒｅｅ　Ｗａｔｅｒ　３０μＬで溶出してＲＮＡの精製を行った。

【００９０】

次に、Ｍｅｓｓａｇｅ　Ａｍｐ　ＩＩ－Ｂｉｏｔｉｎ　Ｅｎｈａｎｃｅｄキット（アプ

ライドバイオシステムズ社製）を用い、添付のプロトコールに従ってＴｏｔａｌ　ＲＮＡ　１ｍｇからａＲＮＡの調製を行った。ａＲＮＡ　５μｇをプラスチックチューブに入れ、Ｍｅｓｓａｇｅ　ＡｍｐＩＩ－Ｂｉｏｔｉｎ　Ｅｎｈａｎｃｅｄキット（アプライドバイオシステムズ社製）付属の５ｘ　Ａｒｒａｙ　Ｆｒａｇｍｅｎｔａｔｉｏｎ　Ｂｕｆｆｅを４μＬ添加し、２０μＬにメスアップしてよく混合した後、９４℃で７．５分間加熱してａＲＮＡの断片化を行った。断片化後の溶液２０μＬに、１８μＬの1Ｍ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ溶液（インビトロジェン社製）、１８μＬの1Ｍ　ＮａＣｌ溶液（ナカライテスク社製）及び１５μＬの０．５％　Ｔｗｅｅｎ２０溶液をそれぞれ混合し、Ｎｕｃｌｅａｓｅ－ｆｒｅｅ　ｗａｔｅｒで１５０μＬにメスアップして、検体液を調製した。

【００９１】

調製した検体液に、核酸マイクロアレイ（三菱レイヨン株式会社製 核酸マイクロアレイ（Genopal™））を浸漬し、６５℃で１６時間ハイブリダイゼーション反応を行った。当該アレイからハイブリダイゼーションに用いた検体液を除去した後、当該アレイを６５℃の０．１２Ｍ　ＴＮＴ溶液（０．１２Ｍ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、０．１２Ｍ　ＮａＣｌ、０．５％、Ｔｗｅｅｎ２０溶液）中に浸漬し（２０分間×２回）、次いで、６５℃に温めた０．１２Ｍ　ＴＮ溶液（０．１２Ｍ　Ｔｒｉｓ－ＨＣｌ、０．１２Ｍ　ＮａＣｌ）に１０分間浸漬して洗浄した。その後、核酸マイクロアレイのシグナルを検出した。

【００９２】

核酸マイクロアレイにおけるシグナルの検出は、核酸マイクロアレイ検出装置（横河電機製：ＭＢ－Ｍ３Ａ、レーザー波長：６３３ｎｍ）を用い、Ｃｙ５の蛍光強度を測定した（露光時間：０．１秒、１秒、４秒、４０秒）。なお、結果はバックグランドを減算後、β－Ａｃｔｉｎ、Ａｒｂｐ、Ｇａｐｄｈの値を用いて補正し、そのシグナル値の経時返歌を示した。

【００９３】

その結果を図２（図２Ａ～Ｈ）に示す。図２の結果より、ネガティブコントロールと比べて、３８時間後以降でＵＶＢ照射の条件の違いで発現差が有意に変動している遺伝子として、ＧＢＡ、ＧＬＢ１、ＣＡＴ、ＯＬＦＭ１、ＡＳＡＨ１、ＭＭＰ１４、ＭＭＰ１７及びＣＯＬ１８Ａ１（それぞれ順に、図2F: No.85、図2E: No.70、図2D: No.63、図2G: No.112、図2E: No.84、図2B: No.27、図2B: No.30、及び図2D: No.58の各グラフを参照）が挙げられる。これらの遺伝子はＵＶＢ照射の影響を反映していると示唆され、これらの遺伝子を用いて皮膚への影響を評価することができる。

【００９４】

これらの結果から、ハリ、シワ、キメといった皮膚構成へ影響を与える条件を定量的に評価することができることが示された。

【産業上の利用可能性】

【００９５】

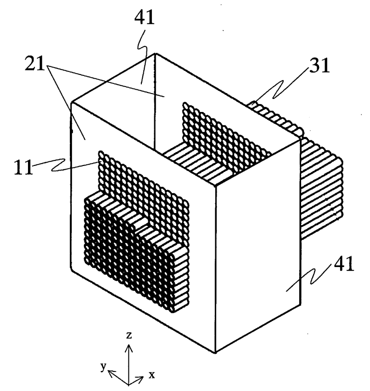
本発明によれば、外部刺激、特に紫外線による皮膚への影響を、遺伝子発現レベルで客観的に評価することができるプローブ又はプローブセット、及びこれを搭載した核酸マイクロアレイを提供することができる。当該プローブ又はプローブセット、及び核酸マイクロアレイは、被験対象の皮膚に対する紫外線の影響の評価方法、及び、皮膚疾患治療薬（経皮吸収剤等）や化粧品の有効成分として有用な物質（化合物等）の効率的なスクリーニング方法に用いることができる点で、極めて有用なものである。

【符号の説明】

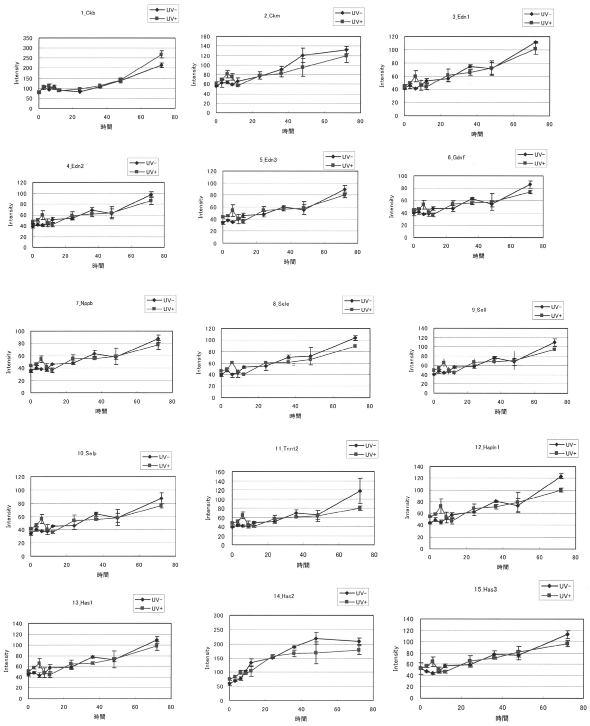
【００９６】

１　配列固定器具
１１　孔部
２１　多孔板
３１　中空繊維
４１　板状物

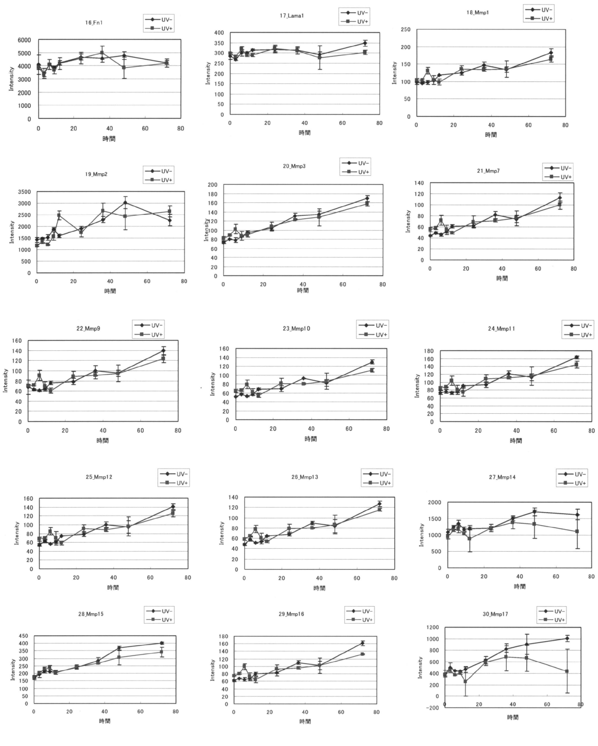
【図１】



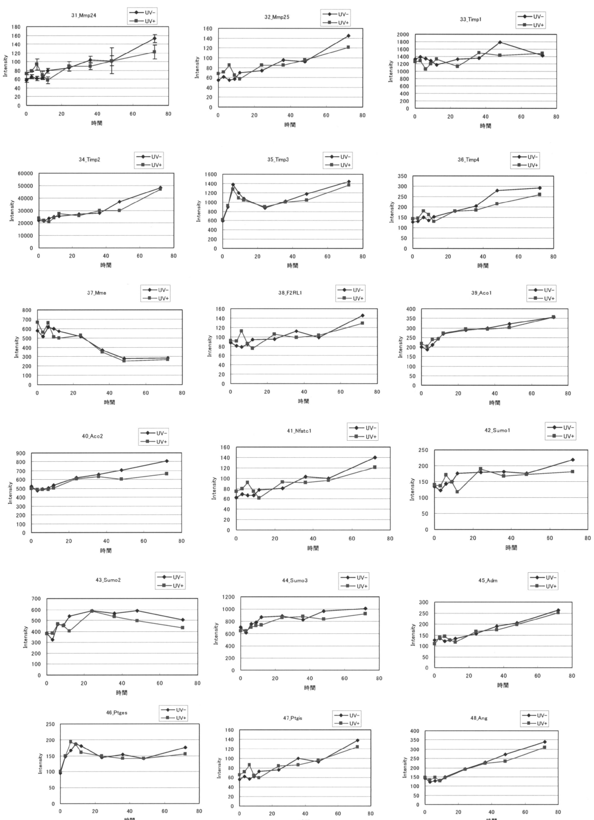
【図２Ａ】



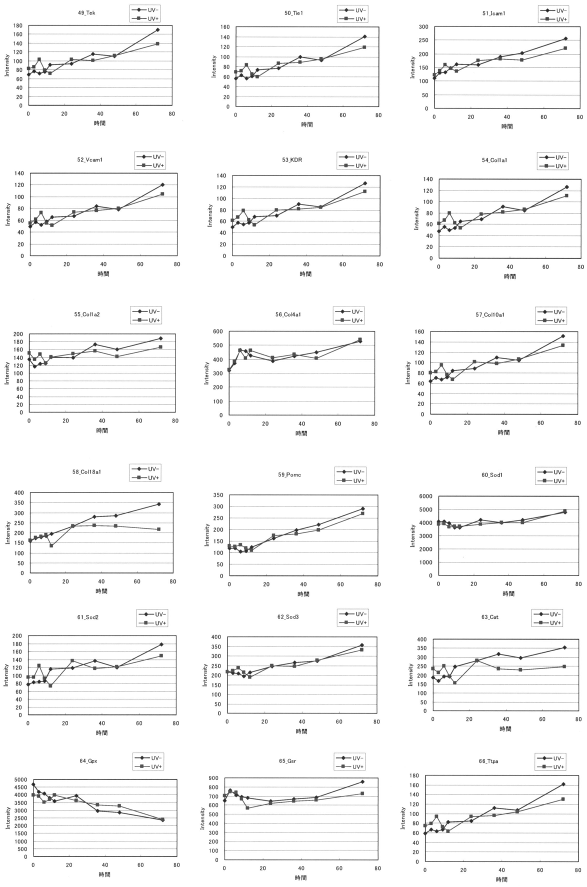
【図２Ｂ】



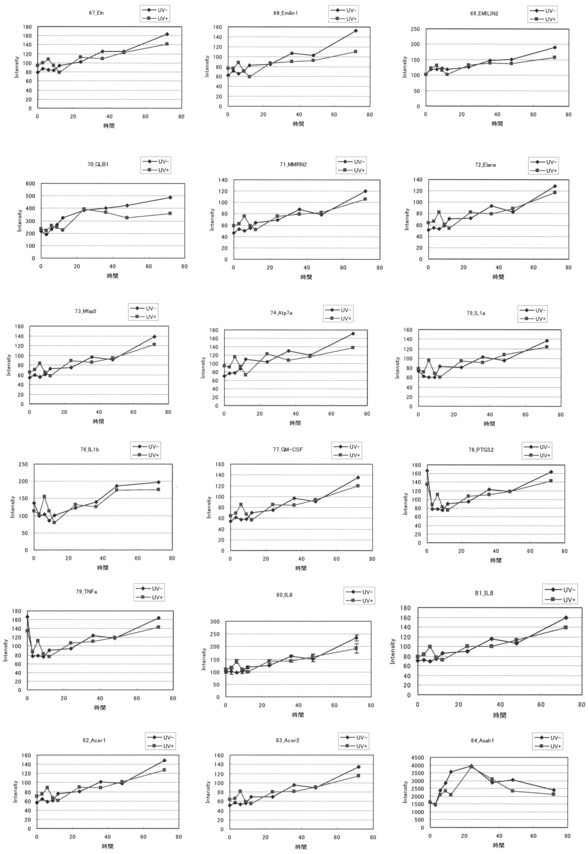
【図２Ｃ】



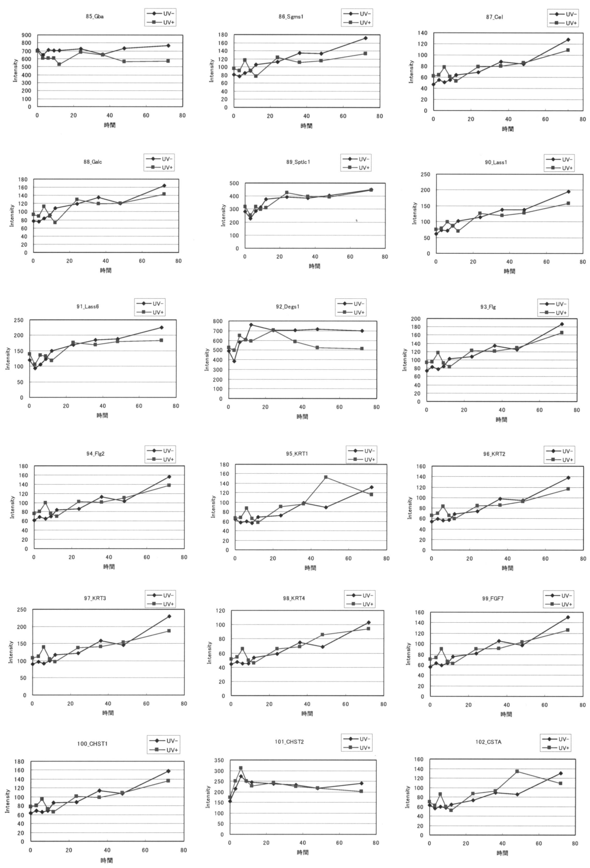
【図２Ｄ】



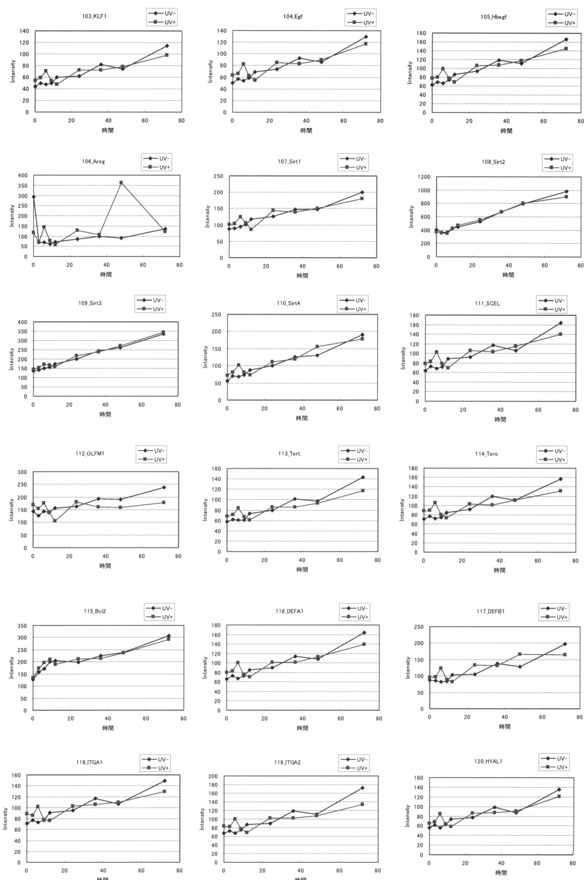
【図２Ｅ】



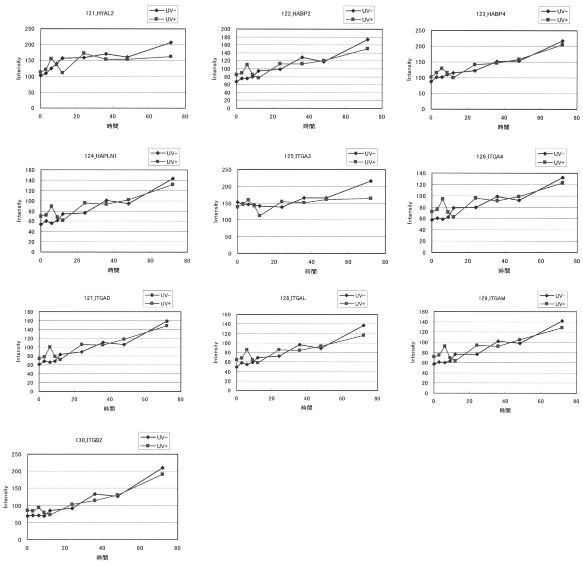
【図２Ｆ】



【図２Ｇ】



【図２Ｈ】



【配列表】
<u>0006094481000001.app</u>

フロントページの続き

(72)発明者　原　あい
　　　　神奈川県横浜市鶴見区大黒町１０番１号　三菱レイヨン株式会社横浜研究所内
(72)発明者　福島　達伸
　　　　神奈川県横浜市鶴見区大黒町１０番１号　三菱レイヨン株式会社横浜研究所内

審査官　坂崎　恵美子

(56)参考文献　国際公開第２０１１／０９７５７２（WO，Ａ１）
特表２００５－５２０４８３（ＪＰ，Ａ）
Database DDBJ/EMBL/GenBank [online], Accession No. NM_A000157, 31-MAR-2012 uploaded, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/284807148>, DEFFINITION: Homo sapiens glucosidase, beta, acid (GBA), transcript variant 1, mRNA
Database DDBJ/EMBL/GenBank [online], Accession No. NM_000404, 12-FEB-2012 uploaded, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/119372307>, DEFFINITION: Homo sapiens galactosidase, beta 1 (GLB1), transcript variant 1
Database DDBJ/EMBL/GenBank [online], Accession No. NM_001752, 01-APR-2012 uploaded, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/260436906>, DEFFINITION: Homo sapiens catalase (CAT), mRNA
Database DDBJ/EMBL/GenBank [online], Accession No. NM_014279, 25-MAR-2012 uploaded, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/150456422>, DEFFINITION: Homo sapiens olfactomedin a (OLFM1), transcript variant 1, mRNA
Database DDBJ/EMBL/GenBank [online], Accession No. NM_177924, 26-MAR-2012 uploaded, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/CP002666#>, DEFFINITION: Homo sapiens N-acylsphingosine amidohydrolase (acid ceramidase) 1 (ASAH1), transcript variant 1, mRNA
Database DDBJ/EMBL/GenBank [online], Accession No. NM_004995, 25-MAR-2012 uploaded, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/13027797>, DEFFINITION: Homo sapiens matrix metallopeptidase 14 (membrane-inserted) (MMP14), mRNA
Database DDBJ/EMBL/GenBank [online], Accession No.NM_016155, 23-JAN-2012 uploaded, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/112382269>, DEFFINITION: Homo sapiens matrix metallopeptidase 17 (membrane-inserted) (MMP17), mRNA
Database DDBJ/EMBL/GenBank [online], Accession No. NM_030582, 24-MAR-2012 uploaded, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/110611234>, DEFFINITION: Homo sapiens collagen, type XVIII, alpha 1 (COL18A1), transcript variant 1, mRNA
FASEB J., 2004年, Vol.18, No.13, p.1559-1561
J. Invest. Dermatol., 2010年, Vol.130, No.10, p.2472-2480
Photochem. Photobiol., 2005年, Vol.81, No.3, p.581-587
J. Dermatol. Sci., 2001, Vol.27, No.2, p.121-129
Biol. Pharm. Bull., 2009年, Vol.32, No.2, p.203-208
Okajimas Folia Anat. Jpn., 1990年, Vol.67, No.2-3, p.195-202

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｃ１２Ｑ　　　１／００－　１／７０
Ｃ１２Ｎ　　１５／００－１５／９０
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＥＭＢＡＳＥ／ＢＩＯＳＩＳ／ＷＰＩＤＳ（ＳＴＮ）
ＰｕｂＭｅｄ
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）
日経テレコン