

(別添1)

AGGCCTCCCAGGAGCTCCAGTGACAGCCCCATCCCAGGATGGGTGTCTGGGGAGGGTCAAGGGCTGGGGCTGAGCTTT
AAAATGGTTCGACTTGTCCCTCTCTCAGCCCTCCATGGCCTGGCACGAGGGGATGGGATGCTTCGCTTTCCGGG
GCTGTGGCCTGGCCCTTGAGTGGGGCAGCCTCCTTGCTGGAACCTCACTCACTCTGGGTGCCTCCTCCCAGGTGGA
GGTGCCAGGAAGCTCCCTCCCTCACTGTGGGGCATTTCACCATTCAAACAGGTCGAGCTGTGCTCGGGTGTGCCAGC
TGCTCCCAATGTGCCGATGTCCGTGGGCAGAATGACTTTTATTGAGCTCTTGTTCGCTGCCAGGCATTCATCCCTCAG
GTCTCCACCAAGGAGGCAGGATTCTTCCCATGGATAGGGGAGGGGGCGGTAGGGGCTGCAGGGACAAACATCGTTGGG
GGGTGAGTGTGAAAGGTGCTGATGGCCCTCATCTCCAGCTAACTGTGGAGAAGCCCTGGGGGCTCCCTGATTAATGG
AGGCTTAGCTTTCTGGATGGCATCTAGCCAGAGGCTGGAGACAGGTGCGCCCTGGTGGTACAGGCTGTGCCCTGGT
TTCCTGAGCCACCTTTACTCTGCTCTATGCCAGGCTGTGTAGCAACACCCAAAGGTGGCCTGCGGGGAGCCATCACC
TAGGACTGACTCGGCAGTGTGCAGTGGTGCATGCACTGTCTCAGCCACCCGCTCCACTACCCGGCAGGGTACACATT
CGCACCCCTACTTCACAGAGGAAGAAACCTGGAACCAGAGGGGGCGTGCCTGCCAAGCTCACACAGCAGGAACAGC
CAGAAACGCAGATTGGGCTGGCTCTGAAGCCAAGCCTCTTCTTACTTCACCCGGCTGGGCTCCTCATTTTTACGGGTA
ACAGTGAGGCTGGGAAGGGGAACACAGACCAGGAAGCTCGGTGAGTGTGGCAGAACGATGCCGTGACGGCATGGAAC
TTTTCCGTTATCACCCAGGCTGATTCAGTGCCTGGCGGAGATGCTTCTAAGGCATGGTTCGGGGGAGAGGGCCAA
ACTGTCCTCCTTGAGCACCAGCCCCACCAAGCAAGCAGACATTTATCTTTTGGGCTGTCTCTCTGTGCTGCTTTT
TAGCCCACTTTCTAGACCTGTTTTGCTTTTGTAACTTGAAGATATTTATTCTGGGTTTTGCTAGCATTTTTATTAA
TATGGTGACTTTTTAAAATAAAAACAAACAAACGTTGTCTAACAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

カニクイザル

>gi|544405705|ref|XM_005543257.1| PREDICTED: *Macaca fascicularis* proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), transcript variant X1, mRNA カニクイザル

TTCAGGAGCGGGAGGAAGATGAACTTTTCACTGTATAATCTTTCAAGCTATTACATTTAAAAATTTTTCATGTAAT
TTTTAAAAACTGAACATCCACACAAAAAGATGCCCCCTCCCTTGCAGAAAAGAGTATGTCTATTCAAAGTGTGAAAT
GTACACTAGCACCAATGGTGGCTGCAGGCTCCAAGTTTCGGAGGCTGGAGAAGGTAGCCAGGGAGCATAAAAGTGAGT
TCTGTCTACTCATTAGTCTGTGAGGGGGAGGCAATGGCTGGAAGAGCATTTTGAGGGAGAGTAAAAGCGGCATTTTT
AGAGGGGGAAGCCTTGAGGATGCTTGTGGGGTGAGGGGAAAGAATAACACAGGAAGAGGGATTTAGGGATAAGAAGAG
GAGAGGAGATAGTGGAGGCAGATGATCCTGCGGAGGCCAGATTGGGGCAGGGGAGTGTGAGTGTGAGTACAAGAGGAT
GGTCCCTCTGCCCTGAAGGAGGAAGGCAGGAGGGGAGAAGGAAGGTATTGACCCAGAAAGCACTGTAGTGGAGGG
GAGGCCCCAGAAGAGGTTTCTGACTTACCCTGATTGCTGGTACCTCTCAAGGGAGCCAGCTGGTTATTTGCTGGCCAG
GGTGTGAGGGACCCATTTGAGAAGAGGGAGGAGGTGACACAACCTCCTCAGGCACTTATGGGAGGGGTAATTTGGTGA
GGGATGAAAGCCCTGCCAAGTGGCAGGAGGCCAGCTGGAGCTGCCCTCAAAGAGTGCAGTGGAGGATGTGGGATGA
GAAGTGAATGCCCCCTGGTTCCATCTGTCAAGAGCCAGGGTGTCTCCTTCCCTCCCAACCTCCCTCAGAACACAC
CCACTGCACGCTGGACAGCGGGCCCCCTTCTGAGCCTGGGGACATCGGTGTCCCTCTGTGCACAGGCTTCATCCTC
CTGGGTGCACAGTAACAACCCCTGGTAGGTGAGAGGCCAAGGTCCCAAGAGCAGCAGCAGGGAAAGTTAGCTCCCAT
CCATTCTTTCTTAGGAGGAGGCCCTTTGATGAGGAAGCTGCCAAAAGCACATTCGAAATACAATTCAGTTACAGGCA
ACAGGAAGGAAAACCCCTCTGTGACGAAACAATGAGCTCCCACTCTGTGCTGCGATGGTGGCTCAATGCGGATAGCT
CTGACCTTACCTCATGGAGTCACTGTCAACCCACTGGTTGCACAGTCTTTGTGCCCTGGCTCTCTGGAGTGAGGTCTT
TGCAAAACAAAGTGGGAAATGCAGCAACTTTGGACTCCAGCACCTAGATTCGAGCAGGTCATTTCACTCAGAATATGC
TGTGCATCTGCAATGACGGATCATAAAGCCGCCTTTGTTTCTTCCAGTATTGACAGCCCTCCAGAAAGAGAGCC
TCATGGCATGCCACATGTACAATCTGAGGCCAGGAGCTCTCTTTCCCTTTTTCATCCTCCTGCCTAGTACACAATAGG
TGTTTACTGGATGCTTGTCCAGTTGAGTCTTGAACATGGTGTGTAAGGAATCTTTGCAAATGAAATCTTCTGGAA
CGCTGAGCTGTGCTTACCATAGAATCTGAACGTACCTATATGACATCTTTGCAAACCTAAAACCTGAATCTTTGCA
GTATAAATCCCTTGAAACGCATGGAGGCTGGGCATCAAAGCAAGCAGTATCTTCAAGGAACAGCTAGTCGGTAAGGT
CAGTGTGCAGGCTGCATAAAGAGCAGAGCCCGCGGGGTCCAAGATAAGTTTAGAAGTTGCCAGGTTAAGGTCCGTT
GGAAAGAAATTCGGTGGGCGAGGAGGAGTCCATAGTAGGATTCAGTTGATTCAGAAAGTCTCACTGGTGCAGGTCAG
GACCCAGGAAAACACTGAAAAGGTGGGCTGGGCAGAACTCGGAGTCTGGCATCCACGCAGGGTGAGAGGCGGGAGAGG
AGGTGCCCTFAGAGCGCCGACCCGCCCTCCAGCCCAGTFAAATTTGGGAGTTTTTTCTTCCCTCTGCACGTAATCTG
ACGCTGTTTGGGGAGGGCGAGGCCGAAACCTGATCCTCAGTCCGGGGGTCCGTTAATGTTAATCAGATAGGATCG
TCCGATGGGGCTCTGGTGGCGTGATCTGCGGGCCCCAGGCGTCAAGCACCCACCCCTAGAAGGTTTCCGCAGCGGGC
TCGAGGCGCTCGTGGTTGCAGGAGGGCGCCGCTCAGTTCAGGGTCCGAGCCTGGAGGAGTGAGCCAGGCAAGTGC
ACTGCTCAGGCGGGCGGGGACGTGTCTGTGACGGCGGGCTCCAGCTCCAGCCAGGATTCGCGCGCCCTTTCGC
GCGCCCTGAGCCTGAACCTCAGCTCCTGCACAGTCTCCCCACCGTAAGGCTCAAGGCGCGCCCGCTGGACCGTGC
ACGGCCTCTAGGTCTCCTCATCAGGACGGCAACCTCTCCCTGGCCCTGATGGGTACCGTGCAGCTCCAGGCGGTCTG
GTGGCCTCTGCCGCTGCCACTGCTGCTCCTGCTCCTGGGTCCCGCTGGCGCCCGTGCAGGAGGACGAGGACGG
CGACTACGAGGAGTGGTGTAGCCTTGGCTTCCGAGGAGGACGGCTGGCCGACGCACCCGAGCAGCGGAGCCACAGC
CACTTCCACCGCTGCAGCAAGGATCCGTGGAGGCTCCCGCACCTACGTGGTGGTGTGTAAGGAGGAGAGCCACCG
CTCGCAGTCAAGCGCACTGCCCGCCGCTGAGGCCAACAGTGCAGCCCGGGGATACCTCACAAAGATCCTGCATGT
CTTCCATCACCTTCTTCTGGCTTCTTGGTGAAGATGAGTGGCGACCTGCTGGAGCTGGCCCTGAAGTTGCCCCATGT
CGACTACATCGAGGAGGACTCCTCTGTCTTCGCCAGAGCATCCCATGGAACCTGGAGCGAATTACTCCTGCACGGTA
CCGGGCGGATGAATACCAGCCCCCAAAGGAGGCAGCCTGGTGGAGGTGATCTCTAGACACCAGCATAACAGAGTGA
CCACCGGGAATCGAGGGCAGGGTCAATGGTCAACCGACTTCGAGAGTGTGCCCGAGGAGGACGGGACCCGCTTCCACAG
ACAGCCGCAAGTGTGACAGCCATGGCACCCACTGGCAGGGGTGGTGCAGCGCCGGGATCCGCGCCGCTGGCCAGGG
CGCCGGCTGCGTAGCCTGCGCGTGCTCAACTGCCAAGGGAAGGGCACGGTGCAGCGCACCCCTCATAGGCTGGAGTT
TATTCGAAAAGCCAGCTGGTCCAGCCCTGGGGCCACTGGTTGTGCTGCTGCCCTGGCGGGTGGGTACAGCCGGGT
CTTCAACGCCGCTGCCAGCGCTGGCGAGGGCTGGGGTGGTGTGCTCAGCGTCCCGGCACTTCCGGGACGATGC

(別添 1)

CTGCCTCTACTCCCCAGCCTCGGCTCCCGAGGTTCATCACAGTTGGGGCCACCAATGCCAGGACCAGCCGGTGACCCT
GGGACTTTGGGGACCAACTTTGGCCGCTGTGTGGACCTTTTGGCC**PAGGGGAGGACATC**ATTGGTGCCTCCAGCGA
CTGCAGCACCTGCTTTGTGTACCGAGTGGGACATCGCAGGCTGCTGCCACGTGGCTGGCATTGCAGCCATGATGCT
GTCTGCCAGCCGGAGCTCACTCTGGCCGAGTTGAGGACAGACTGATCCACTTCTCTGCCAAAGATGTCATCAATGA
GGCCTGGTTCCCTGAGGACCAGCGGGTACTGACCCCCAACCTGGTGGCCGCCCTGCCCCCCAGCACCCACAGGGCAGG
TTGGCAGCTGTTTTGCAGGACTGTGTGGTCAGCACACTCGGGTCTACACGGATGGCCACAGCCGTAGCCCGCTGCGC
CCAGGATGAGGAGCTGCTGAGCTGCTCCAGTTTCTCCAGGAGTGGGAAGCGGCGGGGCGAGCGCATCGAGGCCAAGG
GGCAAGCGGGTCTGCCGGGCCACAACGCTTTTGGGGTGGAGGTTGTCTACGCCATTGCCAGGTGCTGCTGCTACC
CCAGGTCAACTGCAGCGTCCACACAGCTCCACCAGTGGGGCCAGCATGGGGACCCGTGTCCACTGCCATCAGCAGGG
CCACGTCCTCACAGGCTGCAGCTCCCACTGGGAGGTGGAGACCTTGGCACCCACAAGCCGCTGTGTGAGGCCACG
AGGTCAGCCCCAACAGTGTGTGGGC**CACAGGGAGGCCAG**CATCCACGCTTCTGCTGCCATGCCCCAGGTCTGGAATG
CAAAGTCAAGGAGCATGGAATCCCGGCCCTCAGGAGCAGGTTATCGTGGCCTGTGAGGACGGCTGGACCCTGACCGG
CTGCAGTGCCCTCCCTGGGACTCCCATGTCTGGGGCTACGCTGTAGACAACACGTGTGTGGTCAGGAGCCGGGA
CCTCAGCACCCAGGCGAGCACCCAGCAAAGAAGCCGTGGCAGCCGTTGCCATCTGCTGCCGGAGCCGGCACCTGGTGA
GGCCTCCAGGAGCTCCAGTGACAGCCCATCCAGGATGGTGCCTGGGTAGGGTCAGGGGCTGGGGCTGAGCTTTAA
AATGGTTCCAACCTGTGCCATAGCCAGAGGCTGGAGATCAACGCCTCCCTGGTGGTCATGGGCTGTGCCCTGTGTTTCC
TGCTGGCCTGGCCCTTGTAGTGGGGCAGGCTCCTTGCCAGAACTCACTCTGGATGCCCCCTCCCTGGTGGAGGTGCC
AGGAAGCTCCCTCCCTCACTGTGGGGCATTTACCATTGAAACAGGTTGAGCTGTGCTGGTGTGCCAGCTGTCTCC
AACATGCCAACATCTGTGGGAGAAGCGCTTTTATTGAGTCTTGTTCGTTGCCAGGCATTACGTCCACGCTCTCCA
CCAAGGAGGCAGGATTTCTCCATGGGTAGGGGAGGAGTGGTAGGGGCAGCAGGGACAAGCATCGTCAGGGGGCGAG
TGTGAAAGATGCTGATGGCCCTCATCTCCAGCTCACTGTGGGGAAGCCCTTGGGGCTCCCTTGATTAGTGGAGGCTC
AGCTTTTGGATGGCATAGCCAGAGGCTGGAGATCAACGCCTCCCTGGTGGTCATGGGCTGTGCCCTGTGTTTCCCTG
AGTGACCTTTACTCTGCTCTATGCCAGGCTGTGCTAACAACACCCAAAGGTTGGCCTGCAGGGAGCCGTCACCTAGCAC
TGACTCTGCAGTGTGCAATGGTGCACGCACCGTCTCAGCAACCCGCTCCACTACCCAGCAGACTACACATTTGCACC
CCTGCTTTACAGGGGAAGCAACCTGGAACCAGAGGAGGCATGCCAGCTCACACAGCAGGAACAGGAGCCAGAAA
CCCAGATTGGGCTGCCTCTGAAGCCAAGCCCTCTTCTTACTTTACCCCGCAGGTAACAGTGAGGCTGGGAAGGGGAACA
CAGACCAGGAAGCTCAGTGAGTGTGTTGGAACGATGGCTGCAGGCACGGAACCTTTCCCGTATCATCTAGGCCATGAT
TCAGTGTGGCCCTGATGGAGATGCTTCTAAGGATGGTGGGAGGAGAGGACAACCTGTCCTCCTTGGACACCAGCCCC
ACCCAAGCAAGCAGACATTTATCTTTTGGGCTGTCTCTGTTGGCTTTTACAGCCAGCTTTCTAGACCTGTGTT
TGCTTTTGTAACCTGAAGATAATTTATCTGGGTTTTGTAGCATTTTTATTAATATAGTACTTTTTAAATAAAAACA
AACTTTGCTCTGAC

チンパンジー

>gi|162138900|ref|NM_00111122.1| Pan troglodytes proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), mRNA チンパンジー

ATGGGCACCGTACAGTCCAGGGGTCTGGTGGCCGCTGCCACTGCTGTGCTGCTGCTGCTGCTCCTGGGTCCC
GGCGCCCGTGGCAGGAGGACGAGGACGGCGACTACGAGGAGCTGGTGTAGCCTTGGCTTCGAGGAGGACGGCCTG
GCCGAAGCACCCGAGCACGGAACACAGCCACCTTCCACCCTGCGCCAAAGGATCCGTGGAGGTTGCCCTGGCACCTAC
GTGGTGGTTCGTAAGGAGGAGACCCACCTCTCGAGCTCAGCCAGCTGCGCCGCGCTGCAGGCCCAAGCTGAGG
CGAGGATACCTACCAAGATCTGCATGCTTCCATGGCCCTTCTTCTGGCTTCTGTTGAAAGATGAGTGGTGACCTG
CTGGAGCTGGCCTTGAAGTTGCCCATGTGACTACATCGAGGAGGACTCCTCTGTCTTTGCCAGAGCATCCCGTGG
AACCTGGAGCGGATTACCCCTCACGGTACCGGGCGGATGAATACAGCCCGCGATGGAGGCAGCCGTTGGTGGAGGTG
TATCTCCTAGACACCAGCATAACAGAGTGACCACCGGAAATCGAGGGCAGGGTCAATGGTACCCGACTTCGAGAATGTC
CCCGAGGAGGACGGGACCCGCTTCCACAGACAGGCAGCAAGTGTGACAGTCAATGGCACCCACCTGGCAGGGGTGGTC
AGCGCCGGGATGCCGGCGTGGCCAAGGTTGCCAGCATGGCAGCTGCGCGTGTCAACTGCCAAGGGAAGGGCACG
GTTAGCGGCACCTCATAGGCTGGAGTTTATTTCGAAAAGCCAGCTGGTCCAGCCTGTGGGGCCACTGGTGGTGCTG
CTGCCCTGGCGGGTGGGTACAGCCGCTCCTCAACCGCCCTGCCAGCGCTGGCGAGGCTGGGGTTGTGCTGGTC
ACCGCTGCCGGCAACTTCCGGGACGATGCCCTGCTTCTTCCCCAGCTCAGCTCCCGAGGTATCACAGTTGGGGCC
ACCAATGCCAGGACCAGCCGGTGACCCTGGGGACTTTGGGGACCAACTTTGGCCGCTGTGTGGACTCTTTGGCC**PAG**
GGGAGGACATCATTGGTGCCTCCAGGACTGCAGCACCTGGCTTTGTGTCAAGAGTGGGACATCACAGGCTGTGCTGCC
CAGCTGGCTGGCATTGCAGCCATGATGCTGTCTGCGAGCCGAGCTCACCTGGCCGAGTTGAGGCAGAGACTGATC
CACTTCTCTGCCAAAGATGTATCAATGAGGCTGGTTCCCTGAGGACCAGCGGTACTGACCCCTAACCTGGTGGCC
GCCCTGCCCCAGCACCATGGGGCAGGTTGGCAGCTGTTTTCAGGACTGTGTGGTCAGCACACTCGGGCCTTACA
CGGATGGCCACAGCCGCTCGCCGCTGCGCCAGATGAGGAGCTGCTGAGCTGCTCCAGTTTCTCCAGGAGTGGGAAG
CGCGGGGGCAGCGCATGGAGGCCAAGGGGCAAGCTGCTGCGGGGCCACAACGCTTTTGGGGGTGAGGGTGTCT
TAGCCATTGCCAGGTGCTGCTTACCACAGGCCAAGTGCAGCATCCACAGCTCCACCAGTGGAGCCGGCATG
GGACCTTGTCCACTGCCAACACAGGGCCACGTCTCAGAGCTGCAGCTGCCACTGCCAGCTGCCACTGGGAGGTGGAGCTTGGC
ACCCACAAGCCGCTATGCTGAGGCCACGAGGTAGCCCAACCAGTGGCTGGGC**CACAGGGAGGCCAG**CATCCACGCT
TCTGCTGCCGTGCCCCAGGCTTGAATGCAAAGTCAAGGAGCATGGAATCCCGGCCCTCAGGAGCAGGTTGACCGTG
GCTTGGCAGGAGGCTGGACCTGACTGGTGCAGTGCCTCCCTGGGACTCCCACGCTTGGGGGCTACGCCGTA
GACAACAGTGTGTAGTCAGGAGCCGGGAGCTCAGCAGTGCAGGCAGCACAGTGAAGAGGCGGTGGCAGCCGTTGCC
ATCTGCTGCCGGAGCCGGCACCTGGCACAGGCTCCAGGAGCTCCAGTGA

(別添 1)

アカゲザル

>gi|162952003|ref|NM_001112660.1| Macaca mulatta proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), mRNA アカゲザル

```
ATGGGTACCGCTCAGCTCCAGGCGGTCTGGTGGCCCTGCGCGCTGCCACTGCTGCTGCTCCTGCTCCTGGGTCCCCTG
GGCGCCCGTGGCGAGGAGGACGAGGACGGCGACTACGAGGAGCTGGTGTAGCCTTGGCTTCCGAGGAGGACGGCCTG
GCCGACGCACCCGAGCAGGAGCCACAGCCACCTTCCACCGCTGCGCAAGGATCCGTGGAGGCTGCCCGGCACCTAC
GTGGTGGTGTGAAGGAGGAGACCCACCGCTCGCAGTCAGAGCGCACTGCCCGCCGCTGCAGGCCAAAGCTGCCCGC
CGGGGATACCTACCAAGATCCTGCATGTCTTCCATCACCTTCTTCTGGCTTCTTGGTGAAGATGAGTGGCGACCTG
CTGGAGCTGGCCCTGAAGTTGCCCATGTGACTACATCGAGGAGGACTCCTCTGTCTTTGCCAGAGCATCCCATGG
AACCTGGAGCGAATTACTCTGCACGGTACCGGGCGGATGAATACCAGCCCCCAAAGGAGGCAGCCTGGTGGAGGTG
TATCTCCTAGACACCAGCATAACAGAGTGACCACCGGAAATCGAGGGCAGGGTCATGGTCACCGACTTCGAGAGTGTG
CCCGAGGAGGACGGGACCCGCTTCCACAGACAGGCCAGCAAGTGTGACAGCCATGGCACCCACCTGGCAGGGGTGGTC
AGCGGCCGGGATGCCGGCGTGGCCAAGGGTGCCGGCTGCGTAGCCTGCGCGTGTCAACTGCCAAGGGAAGGGCAGG
GTCAGCGGCACCCCTCATAGGTCTGGAGTTTATTCGAAAAGCCAGCTGGTCCAGCCCGTGGGGCCACTGGTTGTGCTG
CTGCCCTGGCCCGGAGCACCACAGGGCAGGTTGGCAGCTGTTTTGCAGGACTGTGTGGTCAGCACACTCGGGGCTACA
CCCGCTGCCGGCAACTTCCGGGACGATGCCTGCCTTACTCCCAGCCTCGGCTCCCGAGGTATCACAGTTGGGGCC
ACCAATGCCAGGACCAGCCGGTGACCTGGGGACTTTGGGGACCAACTTTGGCCGCTGTGTGGACTCTTTGCCCA
GGGGAGGACATCAATTGGTGCCTCCAGGACTGCAGCACTGCTTTGTGTACGGAGTGGGACATCGCAGGCTGCTGCC
CACGTGGCTGGCATTGCAGCCATGATGTGTCTGCCGAGCCGGAGCTCACTCTGGCCGAGTTGAGGCAGAGACTGATC
CACTTCTCTGCCAAAGATGTATCAATGAGGCCTGGTTCCCTGAGGACCAGCGGGTACTGACCCCAACCTGGTGGCC
GCCCTGCCCCCGCAGCACCACAGGGCAGGTTGGCAGCTGTTTTGCAGGACTGTGTGGTCAGCACACTCGGGGCTACA
CGGATGGCCACAGCCGTAGCCCGCTGCGCCAGGATGAGGAGCTGCTGAGCTGCTCCAGTTTCTCCAGGAGTGGGAAG
CGGCGGGGCGAGCGCATCGAGGCCAAGGGGCAAGCGGGTCTGCCGGGCCACAACGCTTTTGGGGGTGAGGGTGTG
TACGCCATTGCCAGGTGTGCTGCTTACCCAGGTCAACTGCAGCGTCCACACAGCTCCACCAGCTGGGGCCAGCATG
GGGACCCGTGTCCACTGCCATCAGCAGGGCCAGCTCTCACAGGCTGCAGCTCCCACTGGGAGGTGGAGGACCTTGGC
ACCCACAAGCCGCTGTGCTGAGGCCACGAGTGCAGCCCAACCAAGTGTGTGGGCACAGGGGAGCCAGCATCCAGCT
TCCTGTCTGCATGCCCCAGGTCTGGAATGCAAAGTCAAGGAGCATGGAATCCCGCCCTCAGGAGCAGGTTATCGTG
GCCTGTGAGGACGGCTGGACCCTGACCGGCTGCAGTCCCTCCCTGGGACCTCCCATGTCTGGGGGCTACGCTGTA
GACAACACGTGTGTGGTCCAGGAGCCGGGACGTCAGCACCACAGGCAGCACCAGCAAAGAAGCCGTGGCAGCCGTTGCC
ATCTGCTGCCGGAGCCGGCACCTGGTGCAGGCCTCCAAGAGCTCCAGTGA
```

マウス

>gi|163644257|ref|NM_153565.2| Mus musculus proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (Pcsk9), mRNA マウス

```
TGGGGATTAAGAGGGGGGAATGTAACAGGTCCCCTTTGACGCCAATTAGGATTTGGGGTTTTGTCTCACTCTGAGC
GTCATTTGACGCTGTCTGGGGAGGGCGAGGCCGAAACCTGATCCTTTAGTACCGGGGCCCGTTAATGTTAATCAGAG
AGGATCTCCGATGGGGCTCGGGGTGGCGTGATCTCCCGGCCCCAGGCGTCCAGTACCCACACCCAGAAGGCTTCC
ACCTTACAGTGGACGCGCAGGCTGCCGCTGGGCTCAGCTTCTCTCTCTTTCTGAGGCTAGAGGACTGGAGCCCTC
TTGGCTCCCCAGAGACATCACGGCCCGCAGCCCGGAGCCAAGTGCCTCCAGGCTCCAGGCGTCCATGTCTTCCCGAG
GCCGCGCACCTCTCTCGCCCCGATGGGCACCCACTGCTCTGCGTGGCTGCGGTGGCCGCTGTGCGGCTGTTGCC
GCCGCTGCTGCTGCTGTTGCTGCTACTGTGCCCCACCGCGCTGGTGCACAGGACGAGGATGGAGATATGAAGAGCT
GATGCTCGCCCTCCCGTCCAGGAGGATGGCCTGGCTGATGAGGCCGCACATGTGGCCACCGCCACCTTCCGCCGTTG
CTCCAAGGAGGCTGGAGGCTGCCAGGAACCTACATTTGGTGTGATGGAGGAGACCCAGAGGCTACAGATTGAACA
AAGTCCCAAGCCGCTGACGACCCCGGCTGCCCGGCTGCCCCGCGGCTATGTATCAAGGTTCTACATATCTTTATGACCTCT
CCCTGGCTTCTTGGTGAAGATGAGCAGTGACCTGTTGGGCTGGCCCTGAAGTTGCCCATGTGGAGTACATTGAGGA
AGACTCCTTTGCTTTCGCCAGAGCATCCATGGAACCTGGAGCGAATATCCAGCATGGCACCAGACAGAGGAAGA
CCGCTCCCTGATGGAAGCAGCCAGGTGGAGGTGTATCTCTTAGATACCAGCATCCAGGGTGCCCATCGGGAGATTGA
GGGACGGGTACCATCCGACTTCAACAGCGTGCCTGGAGGAGGATGGGACACGCTTCCACAGACAGGGCAGCAAGTG
TGACAGCCACGCGCACCCACTGGCAGGTGTGGTGCAGCGCCGGGATGCTGGTGTGGCCAAGGGCACCCAGCTGCACAG
CCTGCGTGTCTCAACTGTCAAGGGAAGGGCACAGTCAAGGCAACCCATCATAGGCCCTGGAGTTTATTCGGAAGAGTCA
GCTAATCCAGCCCTCGGGGCCACTCGTGGTTCTGCTGCCCTGGCCGTTGGGTATAGCCGATCTCAACGCTGCCTG
CCGGCACCTGGCGAGGACTGGGGTGGTGTGGTTGCAGCAGCTGGGAACTTCCGGGACGACGCTGCTTACTCCCC
AGCTTCTGCTCCAGAGGTATCACAGTCCGGGCCACGAATGCCAGGACCAGCCAGTTACCTTGGGGACTTTGGGGAC
TAATTTGGACGCTGTGTGGATCTCTTTGCCCCCGGGAAGGACATCATCGGAGCGTCCAGTGCAGCAGCATGCTT
CATGTCACAGATGGGACTCACAGGCTGTGCCCCAGTGGCCGGCATGTGTGGCTCCGATGCTGAGCCGGGAGCCAC
ACTTACCCTGGCCGAGCTGCGGCAGAGGCTGATCCACTTCTTACCAAAGACGTCATCAACATGGCTGGTTCCCTGA
GGACCAGCAGGTGCTGACCCCAACCTGGTGGCCACACTGCCCCAGCACCATGAGACAGGGGGCAGCTGCTCTG
TAGGACGGTGTGGTGGCAGACTCGGGGCCCACTCGAAAGCTACAGCTACAGCCCGTGTGCCCCAGAAGAGGAGCT
GCTGAGCTGTCCAGCTTCTCCAGGAGCGGGAGGCGTCTGTTGATTGGATTGAGGCCATAGGAGGCCAGCAGGCTG
CAAGGCCCTCAATGCATTTGGGGGTGAGGGTGTCTATGCCCTGCGGAGATGCTGCCGTTCCCGTGCACCACTGCAG
CATCCACAACACCCCTGCAGCCAGAGCTGGCCTGGAGACCCATGTCCACTGCCACCAGGACCATGTTCTCACAGG
CTGCAGCTTCCATTGGGAAGTGAAGACCTTAGTGTCCGGAGGCAGCCTGCGCTGAGGTCCAGACGTCAGCCTGGCCA
GTGGCTTGGCCACCAGGCGGCCAGTGTCTATGCTTCTGCTGCCATGCCCCAGGGCTGGAATGCAAATCAAGGAGCA
TGGGATCTCAGGCTCTCAGAGCAGGTCAGTGTGGCTGCGAAGCAGGATGGACCCCTGACTGGATGCAATGTGCTCCC
```

(別添 1)

TGGGGCATCCCTCACTCTGGGAGCCTACAGCGTGGACAACCTGTGTGTGGCAAGAGTCCATGACACTGCCAGAGCAGA
CAGGACCAGTGGAGAAGCCACAGTAGCTGCTGCCATCTGCTGCCGGAGCCGGCCTTACAGCAAAGGCCTCCTGGGTTCA
GTGACAGCCTCAGGCAGGGATGGTGTCTTGGGCTGGGTGGCAGAGATATGCCCTGCATGGCTCTCTTGTAGCCAAAGGTG
GGGAGATTCTGCTGGGAGAATCTGGTGTCTCACCTGGGTACCCATTCTGGTGTATGGAAGCACCTCCTTACAGGT
CAGGGGCTGTCTGGCTTTCTGCCATCAGACATTAAGCTGTAGCTGGCTCTGGCCAGCTGCTCCAGTGATACCAGA
ACCTGAGGATGCTCGCTGCAAGGCCTCAGTCTCAGGCCTTAGGGTGTATTTGTCTTTTCAGGAAGATCATAATGGACA
GAGATCCTTGGAGGTTCAAAGACCAAGTACCAGACTGGAAAATTGAGTCTGAAAGCCACAAGGACAGTCAACTCACAG
CCAGCTCACATTCAGACACCATTGGGCTCCCTGATTAATGCAGATCAGTTCTGCACACCTCCAGGGGTGGATCC
AGCTGTAAGGCCATACCTATATCTTCCAGATGTCTCATCTGCTGCAGGGCTTTGGCCCTGCTCAGGATAATGTGCTA
TGACCCCTCATCTGACTCTCAGTTGTACTGGAGAACCATACAGACTTACCGCACCTTACCCCATCACTACCATGT
GCACTGACTGGCTCATTTTTATGAAGGAAGAGACAGGACCAGAGAGGCGATGTACACAGCCAGTGATGTCAGGACAT
AAATTCAGAGTGGCTGGCCCTGAATAATGCCAGGCTGGGCAGCGAGAGGACAGGCTATGGCTTGCTCCTGGACCTATA
CTCCCTTAGCCCCAGTCCCACAGATCAGGTGGAGACTGGAGTGACAGAGGGCGACTGTACCAAGGCCACACCAGCTGA
CCAGCACACCTCTATCCTTTTGTAGCTCTTCTGTCTTTTTATAGTAAGCTTCCTCCACCTGTGTTGCTTTTGTAACTTG
ATATTTATGCAGGGTTTTGTAGTTTTTATATAGTAGTACTTTTCAGAATAAAAGCAGCTGATGTGACTGACTGCATC
CG

ラット

>gi|77020249|ref|NM_199253.2| Rattus norvegicus proprotein convertase subtilisin/kexin type 9
(Pcsk9), mRNA ラット

ACACCTAAAAGGCTTTCCATCTTTATGTGGACGCGCAGTCTGCCACTGGGCTCCCGTTCTCTCTGTCTGAGACCT
GAGGACTGAGCCAGTGTGGCTCCCCTAGGGACATCACAGCCTGCAGTCCAGAGCCAGTGCCCCGCTTACAGTC
CTTCCCAGGGCTCGTGCACCTCTCCTCGCCCCGATGGGCATCCGCTGCTCTACATGGTTGCGGTGGCCGCTGTGCC
GCAGCTGCTGTTGTTGCTGCTACTGTGCCCCACAGGCTCCCGTGCCAGGACGAGGACGGAGACTACGAAGAGCTGAT
GCTCGCCCTCCCGTCCCAGGAGGATAGCCTGGTTGATGAGGCCTCACACGTGGCCACCGCCACCTTCCGCCGTTGCTC
CAAGGAGGCTGGAGGCTGCCAGGAACCTACGTGGTGGTGTGATGGAGGAGACCCAGCGGCTGCAGGTTGAACAAAC
TGCCCATCGCCTGCAGACCTGGGCGGCCGCCGGGGCTATGTCATCAAGTTCTGCATGCTTTTTATGACCTCTTCCC
TGCTTCTTGGTGAAGATGAGCAGTGACCTGTTGGCCCTGGCCCTGAAGTTGCCCATGTGGAGTACATCGAGGAAGA
CTCATTAGTCTTCGCCCAGAGCATCCCATGGAACCTGGAGCGGATTATCCAGCGTGGCAGCAGACAGAGGAAGATAG
CTCCCTGACGGAAGTAGCCAGGTGGAGGTGATCTCTTATAGATACCAGCATCCAGAGTGGCCACCAGGAGATCGAGGG
CAGAGTTACCATCACTGACTTCAACAGTGTGCTGAGGAGGACGGGACACGTTTCCACAGACAGGCGAGCAAGTGTGA
CAGGATGGCACCCACCTAGCAGGTGTGGTACGCGGGGATGCTGGTGTGGCCAAGGCGCACAGTGTGCACAGTCT
GCGTGTGCTCAACTGTCAAGGGAAGGGCACAGTCAAGCCACCTCATAGGCTGGAGTTTATTCGGAAGAGCAGCT
AATCCAGCCTTCGGGGCCACTCGTGGTGTGCTGCCCTGGCGGGTGGGTATAGCCGGATCCTTAACACTGCCTGCCA
GCGCTGGCAAGGACTGGGGTAGTGTGGTGGCAGCAGCTGGGAATTCGAGATGATGCTGCTTACTCCCAGC
CTCTGCTCCAGAGGTATTACAGTTGGGGCCACTAATGCCAGGACCAGCCAGTACCCTGGGGACTTTGGGGACAAA
CTTTGGACGCTGTGTGGATCTTTGCCCCGGGAAGGACATCATCGGAGCCTCCAGTACTGTAGCAGCTGCTACAT
GTCACAGAGTGGGACGTCACAAGCTGCTGCCACGTGGCTGGCATTGTGGCTATGATGCTGAACCCGGGATCCAGC
TACCCTGGCTGAGCTGCGGCAGAGGTTGATCCTCTTCTTACCAAAGATGTCATCAACATGGCCTGGTTCCCTGAGGA
CCAGCGGTGCTGACCCCAACCGGGTGGCCACACTGCCCCAGCACCAGGAGACAGGCGGGCAGCTGCTTGCCG
GACAGTGTGGTCCGCCACTCAGGGCCACCCGTACAGCAACAGCCACAGCCCGCTGTGCCCTGAAGAGGAAGTGT
GAGCTGCTCCAGCTTCTCCAGGAGCGGGAGGCGACGGGTGATCGAATTGAGGCCATAGGGGGCCAGCAGGTCTGCAA
GGCCCTCAATGCATTTGGGGGTGAGGGTGTCTATGCTGTGCGAAGGTGCTGCTGCTTCCCCTGTCAACTGCAGCAT
CCAACAACCTCCTGCAGCCAGAGCTGGTCCGAGACCCCGTCCACTGCCACCAGAAAGGACCATGTTCTCACAGGCTG
CAGCTTCCACTGGGAAGTGGAAAACCTTAGAGCCAGCAGCAGCCTCTGCTGAGGTCCAGACATCAACTGGCCAATG
CGTTGGCCACCAGGAGGCCAGTGTCCACGCTTCCTGCTGCCATGCTCCAGGCTGGAATGCAAAATCAAGGAGCATGG
CATCGCAGGTCTGCAGAGCAGGTACCGTGGCCTGTGAGGACAGGATGGACCTGACTGGATGCAACGTTCTCCCTGG
GGCATCCCTCCCTCTGGGGGCTACAGTGTGGACAACGTGTGTGGCAGCAATCCGTGATGCTGGTAGAGCGGACAG
GACCAGTGAAGAAGCCACGGTAGTGTGCCATCTGCTGCCGGAGCCGGCCTTCGGCAAAGGCCTCCTGGGTTACCA
GTGACAGCCTCAGGCAGGCATTGTACTGTGGCTGGAGCCAGAGATGGACGCTCCTGGCTCTCTTGTGTCTAGCCAAAG
GTGGGGAGACTCTGCCTGGGGGAACCTGGCGTCTCATCTGGGTACCCATTCTGGTGTATGTGTGGGGAAGCACCTC
CTTCATGGTCAAGGGGCTGTGCTTGGCCCTTCTGCCATCGAAGATGTTAAGCTATAGTTGGCTTTGGCCAGCTGCTCC
AGTATATCAGAACCTGAGAGCACTTGCTACAAGGCTAGTGTTCAGGCCCTTAGGCCTCCAGAGTGAATGTATCCTGCAG
GAAGATAATGATGGATCGTGACCTTGACGGTCAACCCCTCCCCAGGTCAGATGTCAACAGACTAGAACAGTATCT
GAAAGCTGCTGGGGCCACTACAGCTTGTACTCTGGAGACAGCATTTTGGGCTCCCTGATTAATGCAGATCAGTTC
TGCCACCTCCTGGGGTGGATCCAGCTGTGAGGCTCACTTCCAGATGTTCTCATCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
CTGGCCCTGCTCAGGAGAACACGCTACGAACCTTAGCTGACTCTGTTTGCCTGGAGAACCACACAGGGCTTACCCC
ACTACCCTGTGCACTGACTGGCTTCACTTTATGAAGGAAGAGACAGGGCCAGAGAAGCAATGTGATGCAGCCAGTGAT
GCTAGGACATAAATCCAGAGTGGCTGGCCCTGAAGCCATGCTCTTGGCAATGCCAGGCTGGGCATCCTATTTTTGAA
GCAAAACAAAATGAGAGGACAGGCTGTGCTTCAAGGCTTGTTCCTGGACCTATGCTCCCTTAGCCCCAGTCCCACG
GATATGTGGAGTGGAGGACAGGAGGCGACTGTACTAAGGCCACAAAGTGCAGCAAGAACCTATATCCCTT
TTGACTCTTCTGCTTTTTTATAGTAAGCTTCCCTACCTCGTTGCTTTTGTAACTCGATATTTATGCTGGGTTTTA
TAGAGTTTTTATATAGTAGTACTTTTCAGAATAAAAGAAGCTGATGTGACTGCCTGAAAAAAAAAAAAAAAAA

(別添 1)

赤色野鶏

>gi|513198256|ref|XM_003641691.2| PREDICTED: Gallus gallus proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), mRNA 赤色野鶏

ACAGCCGATCCCCAGCCCCCGGCAGCCTCCTCACTGAGAAAACCACTCCTGCCTCCCCCGGAGGAGTGCTCGGGCGGGA
GCTCCCCGGTGTACGCCCTCCACTGCCTGCCATGGCCGAGGAGAAGACGTTTCGCTATGGGTTTCATCATGCTGGGCT
TCTTCTTGGTGTGATGACGGGGATGTTTCATCATGAGCGTGGAGAAGCCCCAGATCTACGCCACCTTCTGTGCCGGGGCA
TCCTGCTCATTTGCCGTGGGCGTCACTTGAGCATGTGCCAGTGCTACCCAGGGTGACATTTGTCCCCGTGCAGCCCG
AGGCTGAGAAGTTTCCAGACCACAAAGCCAGCTGCTGCTGAAGAAGGGCAGCCCCGGGACACTCAGCCTGCAGGATC
CCTACAGCAGTGACTACGAGAAGAGCCTGCCCTTCTACGAGCAGATCCAGGCATCAGCACAGCCCCGGCCCCACAGCT
GCTCACAGGCACTGCTGAAGGCAAAGGCAGAGGTGCACCAGGAGTCCGGGGGGCCCCAAGAGTCCCCCGGGAGGAGCAG
CCCCGCAGCTGGAGCCTGGCAGCTGCCCTCCAGCCGCCCGGGCCCTGCACCCTGGTGTCCCTCCTGGAGGACA
TGGACACGGCCTCGCTGGAGAGCTCTGTGCCCGGCAGCCCTCATCATCCCAAAGCTGCTCGGGACGGGAGAGCACA
CCGGCTCCCCACGAAAAGCCAGCAGGAAGGTGAACGATCTCTACTATGGGCTGGGAGAGGGGTGACAGCCTCTGTGG
AGGACAGCGACCACCTTTTTGAGCCGGAAAAATGGCGCGGGCGCTGCGGGTGCGGGCGGCACGGCGCGGGTACCCGA
GCGAGCTGCTGCACGCTTTCAGCCTGCTGCCCGCCTTCTGTTGAAGATGAGCAGAGACGTCCTGGACACGGCAGCTGA
AGCTTCCACATGTGGACTGTATAGAGGAGGATGCGTACGCTTTCGCACAGAGCATCCCTGGAACCTGGGCAGGATTTG
TACCACCACTGCCCGGCACAGACACCTACAGCCCTCCCAATGAAGGCGACAAGGTGCAGATCTACCTGCTGGACACCA
GCGTGCAGAGCACTACCCGGGAGATTGCAGGCAGGGTGCATCACGACTTCCAGATGTCCCTGAGGAGGACAGCA
GCCGCTTCCACAGGCAGGCCAGCAATGTGACAGCCACGGGACTCACATGGCTGGGGTGTGAGCGGGCGCGATGCCG
GCGTGGCCAGGGGGCGCACACATCCACAGCCTCCGTGTGCTGAACGCCAGGGGAAGGGCACCCTCAGCGGGCGCTCA
TTGGCCTGGAATTTGTCAGGGCATCGCTGGAGGCTCAGCCAGCCACCCTGCTGGTGTGCTGCTGCCCTTACCAGGTG
CCCACAGCCGTGTGCTGAACGCCGGCTGCCGGCGGATGGTGCAGATGGGGGCGGTGGTGGTTGTGGCCCGCGGAACT
ACAAGGATGATGCCTGCCGTATTACCTGCATCCGAGCCAGAGGTGATCACAGTTGGGGCCACTAACCGCGAGGACC
GGCCGGCCTCCATCAGCACGCTGGGCACCAACTTTGGCCGCTGTGTGCAGCTGTTTGGCCCGAGGGACGACATCATCG
GTGCCCTCCAGTGACTGCAGCACCTGCTTACCAGCGGGAGCGGCACGTCGCAGGCAGCCGCACACGTTGGCAGGCGTTG
CGCCATGCTGCTCAGCGCCGAGCCCCACCTCAGTCCGGCCGAGCAGCTGCGGCAGCGCCTCCTGCACCTGGCCACCAAGA
ACGTCATCAGCACTGCTTGGTTCCCGGAGGAGCAGCGCTGCAGACACCCAGCAGCATAGTGGGGCTGCCCTGCCAGC
TGGGCCCAGGTGAGGGCTGGGGATGGCAGCTGCTGTGCCGCTCGGTGTGGTCCGGCAGCTCAGGGCCACCCGGCACA
CCACGGCTGTGGCTCGCTGTGCCGGCACCAGGAGCTGCTGGGCTGCTCCAGCTTCTCACACAGCGGCTGGCGGCTGG
CGGAGCACATGGAGGACAAGGAGGGGCGAAGCAGTGCCTGGCCACACGCTTTGGTGGCCGAGGGGTCTACGCCA
TTGCCAGGTGCTGCAGTGGCCCCACACCAGTCCGGCTCAGCACCAGCTCACAGGGTGACGATGGGGCCGGCTGCT
CCCCGAGCAGCCAGCTGCTGACTGGCTGCAGCTTCCCTGCCCTGCTGGTGTGCTGCGCTGGTGGTGGTGGTGGTGGTGG
TGGGGCCAGGCAGCAGGCTGGTGGCTGTACGACGAGGCCGGAGGGCACGGCCACGCATCCTGCTGCCCTGCTGCCA
TGCTGGAGTGTGCTGAAGGAGCACGCCGCCAGGGCTGTCAGAGAAGGTGATGGTGTCTGTGACGCTGGCTGGA
CGCTGACGGACTGCAGCGCTCACTCGCAGGGCCCCGGCACCTTGGGGTCTTACGCTGTGGCTGACACCTGTGTTGCAG
CCAGCACTCCTGGGGGCCACACACCAGGGCCGCTCGCCATTTGTTGCCGGAGCCAGCAGTAGGGCTGAACCTGTTGTAC
CAGGGCAGTGTATGGAGCCAGCACAGCCTGGCTGAGCCCCAGCCCTGACCCCAAGCATAGGCAGCTTTCCCCACCA
CCTTCTGTACATACAGTACTGTATAGGCTGTTCTGCTTACCATGCAGCCCTAGCTCTGTACAAACGAAGCACAGG
GTGAGGGTTGCTCCCTACTGCTCCTTAGGTTTACGCTAACTGATGCAACATAGTTGAGTCAATTTTTGGGTGGTTTGAAA
ATTGTCTACTCAGCTACCTGGAAGATTTCTTTACTTTACAGCCACTGCAAGGCTCCTAGTTTTAATTCTACTTGTCT
ATTAGATTTTAGCTTGTATTACTACAGAACTCAGCTGCTGCTCCATTAGTGTGGTTGTGTTGCTGGAGTTATGGAC
CTGCTGGCGCTTACACTGCTGTAACCGTTCCCTTCTGCAGCTCCAGCCAGACCCAGGTGCACCTTCTTCTGGAGAAA
AGAGTCATCTTTTGTAGCA

ゼブラフィッシュ

>gi|528510998|ref|XM_003200677.2| PREDICTED: Danio rerio proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (psk9), mRNA ゼブラフィッシュ

TCACGTTTAAATGATAAATCTCCAAATCTTTATCATATATTGTTCTGCCTCAGTGTACGACCAACAGCAACAGAGAG
AAAAAATACACTTACTTTGAGTTGAAAGCACAGAGAATGAGAAGCGTTCGTTGCTGTTGGGTTTTCTGTT
GGGCTTCTGCTGTTGTTGGAATGTGATGAAGATTATATTGAGGATGAAGATGAGATGATCCTGTCTTTAATTTTTGCA
GGATGACACTCAGCCTGAAGCAGAGAACAGGCCATCGGCGCAGTTTTACAGGTGCACCAAGGACGCTGGCGAATGCC
GGGTGAGTATTTAGTTGTGATGCGGAACGGGACGCAGTGAACCAGGTGGAGCGCACCCAGCGCAGACTCAGCGCAAA
AGCCGCCAAACCGCGGATACCTGATTGAGATATTGCAGACTTACTTGGAGCCTTCCGTGGGTTTTCTGGTGAATAATGAG
CAGCGATGTTCTTACATGGCAGTAAAGTTGCCCATGTGGAATACATTTGAAGAGGATTTCTCAATCTTTGCCCAAAG
CATCCCATGGAACCTGCAGCGGGTCCCTTCAAATAAATACATGAGGCTGGAAAATACTTCCACCAATGACGGAGCTAA
AGTGGGAGTGTATCTGCTGGACACGAGCTTTCAGTTGACCCACCGTGGAGTCCAGGACAGGGTGGTGGTGGTGGTGG
CAACAGAGTGCCTGAGGAGGACGGGGTACAGGTTTACAGGCAGGCCAGTCACTGTGACAGTCAATGGCACACACATTGC
AGGGGTGATCAGTGGACGGGACTCGGGTGTGCTCGAGTGGCAGTGTGAACAGCGTCCGAGTGTGAACTGCCAGGG
CAAGGGTACTGTGCTGGAGCTTTGGCAGGCTGGAATATATCCAGTCACTCTGGCCTCTCAGCCTGTCAGTCTGTG
TATCCTGCTGCTGCATTTGTAGGGGGCTTTCAGTGCACCCATAAACACCGCCTGCCGGAAAATGTTGAGTCTGGTGC
AGTCTTATTGCTGCAGCGGGAACATAACGATGATGCGTGTCTGTATTACCTGCCTCAGGACAGAGGTGATCAG
AGTAGGTGCTGTTAATTTTTGCCGACCAGCCACTGAACCGTGGGACGACGGGAACATAACGTTGGCCGCTGTGTGGATGT
GTTCCGACCCAGGTGATGACATCATTAGCGCATCCAGTACTGCCCCACCTGCTTACCACCAAGAGTGGGACATCGCA
GGCAGCCGCGCAGTTGCTGGTGTAGCAGCAGTTCTTCTGAACCTGAGGCCAAACTCCAGCTCTGCTGAGGTTCTTCA

(別添 1)

GCAGCTCCGCTATCATTTCAGTCAAACAGGTCATTAACCCAGAGTCTCTACCAGTGATGCACCGTCTCACTACACCCAA
CATGGTGGTGGCTCTGCCTGACCCAAACATCCCACTCACAGGAGAGGATCTGCTTTGTAGGTCAGTCTGGTCTGAAAG
ATCAGCTTCTCCAGTTTTCTCCACTGCTGTTTCTCGCTGTCGCTCCACTGAAGAGATGCTGAGCTGCCTCCAGTTTTCTC
TGATAATGGCATGAGAGCTGGAGAAAGAGTGGAGGAGAGATGGGCAGAAAGAGTGTGTGGCTGTAATGTGAACGG
AGGCCAGGAGTGTTCAGTTCGCTCGCTGTTGTACAGGGCATAAGAGCTCAGTGTGATGTTGGAGGGTCCAGAGAG
AGGAGCAGGTGCTGAATGCCACCAGAGCACCATCTGACAGGCTGCAGCTTTTCTCCTCATCTGGAGAAGCATCAGA
CTCTGATCGGACTCTGCATGGTAGCCGACGACATGTGCTGCTAAAAAGGGTATGATGTCATATGCCCTTCTGCTGCCA
CACCTCCACTCTGGAGTGCAGACTGAAAGAACCACCTCAATACTCTCAGCCAACAGGTGGAGGTTTTCTGCTGAGGA
CTCATGGACACTGACGGCATGTGAGGCTCTGCTCGAGATGCAGTCATTACGGGGCGTTTTGCAATGGGAAACACCTG
TGTAGTTTCGTACATCTGGAGTAGATAAGGACGCTGCCGCCATCGCAACCTGCTGCAGAAACCATCCTTTACATGGGAC
ACAGGATCACTGAAGATCTCCATAGGCCTTAAGTAGATGTTTTCTTTCTTTCTAAACACGTAATCAAGGACTTGAT
ACTGAAACGTGGGATACTGGAGAGCTCAGCTCTGCCACTATAGAATGTTTTATACTGAATATAACCATAACTGATCTG
GACATTACATAGAAGGTGAAAAACCACTTAAAGGGGGCTATACATTGAGGAATTTCTATGTAGTGATAAGAAAAAAA
AGACCACCTTCCCTGACTTTATAGTCTATGAAAGCCTATAAGCCTAAGTTTTATGCGATATACAGTTGAAGTTTGAATA
ATTAGACCCCTGTAATAATAGTTTTAATAACTCATTCTAATGACTGATTTATTTTATCTTTGTCTGATGACAGT
AAATACTATTTGACTAGATATTTTCACGACACTTCTATACAGCTTAAAGTGACATTTAAAGGCTTAACTAGATCAATT
AGGCAAGTCATTTGATAATGATGGCCTGTTCTGATGACAATCAAAAAATATATACAGCTTAAAGAGGCTAAATAATTTT
GACCTTAAATGGTGTTTAAAAAATTAACCTGCTTTTATTTAACCAAAAATAAAAAATAATATATTTG
CTGTAAACATCATTTGGGAAATATTTAAAAAGGGGAAACAAATTCAAAGGGGGTGAATCATTCTGATTTGAACTGTA
CTTAGCATTTGCTTTACAGTGGTAAATGGTTTTACTTCAAATCAAAGAACCATAAATTTGATTTCTGGGATTAATGAC
CAGCAATACGCTGCTTTCTGCAGTTCACCTTACGGCCACCGGTGTCGCTAACAAACAAGAGTTCTGAATCCTACATAT
AACAGGCCCTTCAAAAAATACTTGTTTTTGCAGATAAAAAATAGCACACTGCTGATACCAGGATTTTTTGTGTTTTG
CTGTATTAACATCATGTATATCTTGCAAAATGAATAATAAAAAATTTTTCTGTTAACACATTT

出芽酵母

>gi|296148007|ref|NM_001183422.1| *Saccharomyces cerevisiae* S288c putative subtilisin-like protease YSP3 (YSP3), mRNA 出芽酵母

ATGAAATCTCTACCATCTTACTTATACTTTGGGCAAATGCTGTCTTTGTATGATCATCCCTGATTTTCGACGGGATA
GTTTCGTTTTATGAGAATATTTGATGGTACTCGCAGTGTAAGAGCAGGAGAAGGTTGGGACAGCATGATCCTGGAAAT
TTTCACACTGAACATCAACATGTCGCTCATAAAACAGAGTTTCTTCCCTTATCGGTATGTCATAGTCTTTAATGAAGAT
ATTTCCCTCCAGCAGATTCAATCGCATATGCAAGTGGTACAGAAGGATCATAGTACCTCAGTAGGTAAGCCTACAGAA
AATGACGCTTTTTGGAGGGTAAATTTCTTTCAGTATCATCTAAATCTCAATTTGGAGGTATTGATAATTTTTTTGAC
ATAAATGGTCTATTTTCGAGGTTTACTGGCTATTTCTACTGATGAAATCATTAAATAATCTCCAGGCCCAATCATA
AAGTTTCGTAGAGCAAGAACTACAGTAAAAATATCTAATTCGTCATTGCAAGGAAGCGCCTTGGGGTTTACATAGA
GTTTCGCACAGGGAGAAACCAAAATATGGACAAGATTTGGAAATTTTATATGAAGATGCCGCCGAAAGGTTGTCACA
TCATATGTACTCGACACAGGAATTTGATACCGAGCAGGAGCTTTGAAGGGCGTGCTGAGTGGGGAGCCGTTATACCA
GCAAAACGATGAAGCTTCTGATTTGAATGGTCAATGGAACCTACTGTGCGGGGATTATCGGATCGAAGCCTTTGGTGT
GCCAAAAATACAAAAATAGTAGCTGTCAAAGTCTTCTGTTCTAATGGGGAAGGGACGGTTTCAGATGTTATTAAGGT
ATAGAGTATGTTAAAGGACATATAGAATCGTGAAGAAAAAGAAATAAAGAATTCAAAGGATCGACTGCCAATCTT
TCTTTGGGAAGTAGCAAATCGCTAGCTATGGAAATGGCTGTAATGCAGCTGTAGATAGCGGTGCTCCATTTTGCTATT
GCGGCAGGAAATGAGGATGAAGATGCTTGTCTCAGTTCACCAGCAGGAGCTGAAAAAGTATTACGGTCCGTGCTTCG
ACATTTAGTGATGATAGAGCATTTCTTTTCGAACTGGGGCACATGTGTTGATGTGTTTGCCTCCCGGTATAAATATTATG
TCCACCTATATTTGGTTCAAGGAATGCAACTTTAAGTTTATCAGGTACTTCCATGGCGTCCCCGCACGTTGCTGGTATT
TTAAGTTACTTTTTATCATTACAGCTGCACCAGACAGTGAATTTTTCAACGACGCTCCCTCACCTCAAGAATTGAAA
GAAAAAGTCCATAAAATTTAGTACAGGGAGTATGGGTGATATCGGTGATGATACTCCTAACAAATTAATATATAAT
GGGGAGGTAAGAAATTTGGATGGTTTTTGGTAG

分裂酵母

>gi|429243640|ref|NM_001020277.2| *Schizosaccharomyces pombe* 972h- vacuolar serine protease Psp3 (predicted) (psp3), mRNA 分裂酵母

GCTCACAACAACCTTAACCTTCTTCAACAACACTTGCTTTTTTTGAGTAATTTCAACTGATTTGCAATTGACATTTCCA
TTGTTTTGTTTTCTTTGTTGCATTTTTTCTTTTGCAAAGCTTTATATTTGTATCCATTACTTGAATCTTGTGGTT
TCTAAATTCCTTTCTTTTTTCCGAATTCATTTTTTCAAAGACACTACCGGTTGCTTGAAGCTGAAAGAGTTTGCTA
ATTGCTTATTTCAATCTGCTTTTTGAATTACTCTTGATTAAGTACAAGCTTTCACCTTTTTTTTTCTGTTGAGCGTGT
GTGTAGAATTTCTTGTTCCTCAATTTTTTGTATCATGAGAGTTTCTTGGATTAGCGGTCTCTTATTAGTGGCGCACCT
GGCTCCTTCCAGCGCCTTCAACCTTTAAGGTTTTTCTCGGATGACACCTTTTCAAGCGGTGCTACTGAGGAACATTT
TATGGGCCCTCTGATGATGGTTTTGCGCTTACAGCAGCCCAATATGATCCTTCTATGCCATTTCTTTAGATGA
ATCGGCATCAGCCGCTGTGGATGCTGTGTCTAATAATTACATTTGTCATGTTTAAACCTTCTGTTGACAAAATCGAAGCT
TGAGCAACATCATCGTTGGATTGAGCATTACACGAGAAACGATCCTTAGATTTTAAAGGATGATCTACCTTTTTAAT
GAAGCATACCTTTGAAATTTGGAGACGCTTTTCTTGGTTATGCTGGTCTGTTTTTCTCTTGGTTGGTGGCCGAGTTGCA
AAAGCACCCCGACATTGCCCTTGTGAACTGACCGTGTATGCATGTTATGACTGAACAACTTTTGCACCTTGGGG
TTTTGGCTCGTGTATCTCATCGTAAAAACTCGTTTTTTTACCATGACTCGTTACCAATACAATGAGACTGCCGGTGA

(別添 1)

AGGTGTTACTGCATACGTTATCGATACTGGTATCAACATTTGAGCACCAAGATTTTCAAGGCCGTGCCACTTGGGGTGC
CACCATTCCCACTGGAGAAGGCGAAGTGGATGATCATGGTTCATGGCACTCACGTTGCTGGTACCATTGCAGGAAAAAC
CTTTGGTGTATCTAAGAAATGCCAAACTTGTGGCCGTTAAGGTAATGCGAGCCGATGGTACTGGTACCCTATCAGATAT
TATTAAGGTATCGAGTTTGCCTTTAAGCAATCTAAGAAAGACAAGGAATCAATTGCAAGTGTGTCATCAATATGTCCAT
CGGCGGTGATGCAAGTACTGCTCTTGATCTGGCTGTGAATGCCGCTATTGCCGGTGGACTTTTCTTGGCCGTTGCTGC
TGGAATGATGCAGAGGATGCTTGGCGTACCTCTCCAGCCAGAGTTTCCAATGCAATGACTGTTGGTGTCTTACTTGTG
GAACGATCAAATTGCTTCTTTAGCAATATTGGATCTTGGCTTGATATCTTTGCTCCTGGTCTTTAATTTTGTCTGA
TTGGATTGGATCTAACAGGGCTTCTATGATCCTTTCTGGTACTTCTATGGCTTCTCCTCATGTGCGCCGTTTGGCTGC
TTATTTTATCTCTCTCGATCCTTGGCTGGCTAATCATCCTGTGGAGTTGAAGAAGTATATGCTGAAGTTGCCCCAAA
AGACTTATTAATGGCATTCCTGAGGACACACCTAATGTCCTTGGCTTCAACAATTATGAGTAAACGCTAGTTATGTG
TATGTAATGTTAGCTTGTGACCTTGTATGTTTTTATGTTGATGCTCCGATACGAATGATCAATTAACCAAGTTGTT
GAATATCTACTGTCTATCAGACGAACAAGCTCAGAGTAATGACATTTGTTATGTTTGAATGAATCATTAAAAACGA
TACCAA

アフリカツメガエル

>gi|512837986|ref|XM_002931433.2| PREDICTED: *Xenopus (Silurana) tropicalis* proprotein
convertase subtilisin/kexin type 9 (psk9), mRNA アフリカツメガエル

ACGGCAAATAGCAGACTTTGTAATTTTGTGTTCTTTTTCTTATGCGTTTGTACCAGAATATCTGGGCCCTTGGCAGC
CTTTTCATTTCTTATAGTATTTCTCTAGCAGGCATATGGCATCTTAGATATCCCTGCTGTTTAGTGACTGCCACTTATA
TCTGCTTACTTCTTCTCCCTCTATATCATTTCTAACATTTCTTTACCCAAGATGATGTAATCTGCCCCCTTTTCTCTC
TATTCTGTCTTCTTCTCTTAGGCCAACTGGGTTATGGCAGATGAAGATGATTATGGAGAAGAAATGTTCTGTCTCCT
TTGCCATGCAAGAAGAAGCCCAAGTAGATATGGAGAAGGAGACATCTATTGGGGCTTCTACTGGAGTAATAAGGAGG
CCTGGAGAAGTGCAGGCCAGTATGTGGTGGTGTGAAAGAAAATATTCACAGGTCCAGACAGAGAGAGTATCCGCC
GGCTGCAGGCAAGAGCAGCAAAGCATGGCTACCTGACCAAAATTTGTTAACGCTTCCATGAACTTTTCCGAGGGTTG
TTGTGAAAAATGAGTAGTACTTATTAGAGATGGCTCTGAAATGGCCACATGTGGATTATATAGAGGAAGATTCAATTTG
TATTGTCACAGAGTGTCCATGGAACCTTGACAGGATTGTCCCTGCCAGCAAATGGCCAACCAATTCAGCCCACCTA
ATACGGGAGATTCTGTTGAGGTTTATCTCTTAGACACCAGTATTCAGAGTAACCACAGAGAAATAGAAGAAAAGTGT
TTGTGACAGATTTCCAGAAATGTCCTCAGAGGAAGATGGAAACCCGCTTCCACCAGCAGGCTAGTAAATGTGAAAGTCA
GAACCCATATGGCTGGAGTGGTAAATGGAAAGAGATGCCGGTGTAGCTAAAGGCGTAAATGTCCGCAGCCTTAGAGTAC
TAAATTGTCAAGGCAAAGGCACAGTAAGTGAAGTCTAACAGGCTGGAGTTTATCAGAAAACATTGATTGAACAGC
CTTATAACCCGCTGATTTGCTCCTCATCCCTTTGTTGGAGGGTACAGCCGGATACCTGAATGCTGCCAGTCTGCCCTGG
TCAATACAGGAGTATCATAATTTCTGCAGCTGGAAACTATAAGGATGATGCCTGTTTGTACTCCCCAGCATCAGAAC
CTGAGGTTATTACAGTTGGAGCCACTAACCAGGACCACTGCAACAATGGGTGACTTTGGCACAAATATGGA
ACTGTGTTGACTTATTTGCCCTTGGAGATGATATAGCTGCTCCAGTACTGCAGCACCTGCTTTTCAAAAA
GTGGAACATCCCAAGCAGCCGACATGTGGCAGGCATTGCAGCAATGATATTAATGACAAACCAGACCTATCAGTGT
CAGAATTAAGCAGAGACTATACATTTCTTACCAAAAAAGCCATAAATGAAGTCTCGTTCCAGAGGATCAGAGGC
TGATCACTCCTAATCGAGTTGCAGGGCTCCCTGTGAAGCTTCTCACAGATGAGGAGCTTTTTTGTGCTACAGTTTGGT
CAAAACCATCTGGCTTTGCTCGTAAAGCAACAACCTCAGTTCAGTGCAGTGGGAATGAAGAGATGTTTCACTGTTTCA
GTTTCTCCAGGATATTTGGAAGAAAAGAAAAGGAGAACACATAGAGGAAGGAGTGGAAAGGAGCTGCTTATGTCGCAATG
CATTTGGGGGAGATGGAGTTTATGCAATTGCTAGATGTTGCATTTGGCCAAAAGCTGTCTGTACATTAATTTTACCA
CACCTGAAGATGGAGAAGAGCCATCCACTGTAAGCTGCTCAAATGAGGACCACATTTTAACTGGGTGCAGCTCTCATC
ATGGGCTCTGGACATTTGAGTACTTTGTAAGGCCATACACAGGGCTGGCAATGAAGGCTCGGCTTGTGTTGGGAAAA
GTGAGGTCACCTCCATGCTCTGTGCTGCCATGCACCAGACATTTGCCGCAAAAGTGAAGAATATTTCTCCCGTGGGCT
TTATGGACAAGGTGACTGTTTATGCGATGAAGGCTGGACGCTGACTGGCTGCAATGCATACTCCCGCAGTTCCAATA
CTCTGGGAGCATATTTCTATTTGATGACACTGCGTGTGTGCAAAACCTAAAGGTGGAAAAGGAGCTGCTCCATAGCTA
TCTGCTGCCAGAACAAACACACTGAAAACAAAACAAACACAAACTACCGGTGAATTTATACCAATATAACCTTCTGACT
TGTGAAGCTTTGAACTATTTTTTTAAGTTGTACATTTGGAATATTGGCATTCTGCCCAAGACATTTGAAACATAAAT
TTAATATGCATGTTGGTTAGCTGAAGGTATATATCAGGCATCTGCAAGTTGTAGCTGTAGTTATTGTACTAATATACA
CATATCTCTTACTTATAGCCAGATTCTGTTGGGAGTAGCAGAAAAATGTAAGAACCCTTACAACAGGTTGTATTATTAC
ATCTATAGTAAGCTGAGCTATACACAATATAAAAAGAAAAAAGCTTCCCTTTCTGCAAAAGACCCCTAAT
ATATAGTGCACAGATATTTATAAACATGGCCCTTTTCTAGTGCATATCTTATAGTCAAGGATCTTAGAGCAGGAAAC
AAGAATGACAAATTGCTAAAAAGAACAACCTTTGATTAGGGCAACATGACCCTTAAAGGACATGTAAACCTTACAAAA
AAATGTAACCAGTGAACAGCCTCTTTGAAATCTTTAAATACTTGCCACTGTTGTTGTTTCAAGGTTAATAGTAAGGCT
GCAGCATCCCTTAATCACTTTGGATTCTTCTGCTCTAACCCACTTGGCCCTCCCTTAAGAATTAACCTTTGGCTGT
TGGCTACTGGGACGCTCAGTTCTTCTCAACTCAGGTTACCAACACACCCTTCACTAACAGCCAAATGAAGAGATT
TTTTTCTTTAACTCAACTAACCGTTACAGGGCACAACCAAGCAGAACTTTTCAAAAGTAGGTTCTGCTGCTGTTG
TAAACCTGCBAAGATGTATAAGTTACTGAAAGTATGATGATGTTGCAAGCAAAATGGCCACTGGGTGAAAGCTTATGTTTT
AGGAAAGTGTGATGGTGTGGTAAACAGAGTGGATATATGCAAGTATAAAGGATGTAGTGTGGGAGATGTGCCAACCT
ATATACATGGTAAGAAAATGTAGGGTTTACATGTCTTTAACTGGTGTAAATGTGATTGTTTACAGTGTACTCTTTTCA
ATAAAAGTAACTTACATTTCTATTTTTTGTCCCTTTAGCATAGAATGTTTTTTGAAAACATCTATAATTGTAGTTGT
CAGGCTTAGTGCTTTCTCTTTTATTGCACTAAAGGCAATAGTAAGAGCTTGTATCTAAATGTTTGTCTTAGTCTTTA
TTGCGAATTACAGCAGGAGTTATATACAATGACCTTAGGTTCTAGGATGTCAAGCTTGGGAAGGATAGGAATGCA
TCTCCAGGCACTGGCTGAGGACCTTGAAGTCATATTTCTGCAATGCTGAAGTAGGACATTAACAGCTTAAAGCTTT
GCTTCCACTGTACTTCTCTTTTTTATACTTTGGACATATTTATTTGGGGCTTGTGAACTAGCTTTGTTTTGTACATCA
GTCATATTTTGAATAAAACATAAAAAAT

(別添 1)

ブタ

>gi|545835980|ref|XM_003356453.2| PREDICTED: Sus scrofa proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 (PCSK9), transcript variant X1, mRNA ブタ

CATCCGATGGGGCTCGGGTGGCGTGATCTCCAGACCCCGGACGTCGCGCACGCACACCCGGGAAAGGCTTCCGCCGC
GGCGTCGAAACGGCCGCGGTTGCAGGCGGGCTCAGGCGCAGCTCGGTTTCGAGGGAAGAGGGCAAGCCAGGCAGTGA
GACGGCCCGGGCCAGCACGCGCGGCCGCTGAGCACAGCCCCAGTTCCAACGCCCGCGTGACCCCCGCATCCCCGC
CGGATCCATCTCGCCGCGAGGCACAGTCCGCGGACGGCTTGGCCCGCACGTCGACCCCGGAGCGCCCCGACGGACGC
AAACTTTTCTCTCCCCGCGATGGGTGCTGGCAGTTCCGGGACGCCGTGGTGGCCGCCGCTGCTGCTACTGCTGCTGC
TCCTCGGGCCCGGGCGCCCGCGCGCAGGAGGACGAGGACGGCGACTACGAGGAACGGTGGCTCGGTTTCAGGTCGG
AGGAGGACATTCTGGCTGACACAGCCAGCACGCGGCCACCGCCACCTTCCACCGCTGTGCCAAGGACCCCTGGAGGT
TGCCAGGCACCTACATGGTGGTGTGAAGGAGGGGACCCACCGCTCGCAGGCAGAGCGCACTGCCCGCCACCTGCAGG
CCAGGCCCGCCCGGGGGTACCTCACCAAGATCCTGCAGCTTCCATGACCTCTCCCCGGCTCTGGTGAAGA
TGAGCAGCGACCTGCTGGAGCTGGCCCTGAAGTTGCCCCACGTCCAGTACATCGAGGAGGACTCCTTCGCTTTTGCGC
AGAGCATCCCGTGAACCTGGAGCGGATTTCCCTGCGCGGCCAGGTGGATGAACGCCGACCCCCAACGGCTGG
TGGAGGTGATCTCTTAGACACCAGCATCCAAGTGGCCACCGGAAATCGAGGCGAGGTCAGTGCATGACTGACTG
AGAACGTGCCCGAGGAGGATGGGACACGCTTCCACAGACAGGCGAAACAAGTGTGACAGCCACGGCACCCACCTGGCCG
GGGTGGTCAGCGGCCGGGATGCCGGCGTGGCAAGGGCGCAGCCTGCGCAGCCTGCGTGTGCTCAATTGCCAAGGGA
AGGGCACAGTGCAGCACCCTCACAGGCCCTGGAGTTCATTTGGAAAAGCCAGCTGGCCGAGCCCTCAGGGCGGTTGG
TGGTGTGCTGCCCTGGTGGCGGCTACAGCCGGGCCCTCAATGCCGCTTGCAGCGCTGGCAGGAACAGGGGCGAG
TGCTGGTGGCCGCTGCTGGCAACTTCCGGGACGACGCCCTGCTACTCTCCGGCGTCACTCTCCGAGGTCAATTACC
TTGGGACCACCAATGCCAGGACCGAGCCGCTGACCTAGGGTCTGGGGACCAACTTTGGCCGCTGCGTGGACCTCT
TTGCCCCAGGTGATGACATCATTTGGTGCCTCAGCGACTGCAGCACTTGCCTTACGTCGAGAGCGGGACGTACAGG
CTGCCGCCATGTGGCTGGAATFTGTGACCATGATGCTGACGGCTGAGCCGAGCTCACCTGGCTGAGCTGAGGCAGA
GGCTGATCCGTTTCTCTGCCAAGATGTCAATGAGGCCCTGGTTCCCTGAGGACCAGCGGGGGTGAACCCCAACC
TGGTGGCCACACTGCCCCCCAGCAGCCATGGAGCAGGTGGGCGAGCTGTCTGCAGGACCGTGTGGTCCGCACACTCGG
GGCCACGAGGACCGCCACAGCCGAGGCCACTGCGGCCGCCCGGAGGAGCTGCTGGGCTGCTCCAGCTTCTCCGGGA
CGGGAGGCGCGGGGCGAGCCATTGAGGTCCGAGGGACAGGCGTGTCTGCTGCTGACCAACCGCTTTGGGGGTG
AGGGCGTCTATGCCGTTGCCAGGTGCTGCCCTGCTGCCCGGGGCAACTGCAGCATCCACATGGCTCCACAGCCGGGG
CTGGTGTGCAGACCCGCTGCCGCTGTACCAGCAGAGCCAGCTCCTCACAGTTGCAGTCCCAGTGGGAGGTGGAGG
ACTCTGGCCCCCGCAGGCGGCTGTGCCGAGGCCCTCAGGTCAGCCGACAGTGTGTGGCCACGAGAAGGCCAGTG
TCCACGCTTCTGCTGCCATGCGCCGGGTCTGGAGTGCAAAGTCAAGGAGCACGGGATCCCAGGCCCTGCAGAGAAG
TCAACCCTGGACTGCGAGGAGGGCTGGACACTGACCACTGCGGGGCCCGCCCCGGGGCTTCCACACCTTGGGGCCCT
ACGGATGGACAACACGTTGTGGTTTCGGGGCCAGGATGTGAGGGCAGGAGGCAGGACCAGCGAGGACCCGCCACAG
CCATGGCCATCTGCTGCAGGCGCGGCCCTCGGGGGAGGAGGCCCTCCAGGAGTCCAGTGACAGCCCGGCCAGGGC
GGAGCCTGGGAAGGGGTCCAGGCCCTGGGGCTGTGGTCCAGGCCCTCGGCTGAGCTTGAAGCAGTTCCCTCCCTCC
TCTTCTCAGTCTCTTACGCTTGGGCCCGGGGACAGGGGAGCGCTGTCTCCTAAGCTCTGGTGTGGCCCTCAGG
GTGCTCTGGCTCCCGGCTGGATCACCCCTCCCAGGCCCTGAGCTGAGTACGAGGCTGAGTGGCCAGGGTTGCAGGTG
CTCTTTAGGGCCACGCCGTTGCATATGGAGTTCTCAGACTGGGGGGTCTAAGAATCGGAGCTATAGCTGCCAGGC
AGTTACCTTCTATTGAGCTCTGCTTTCAGGTTCAGGCGGTGAGCGGATCCCAGGCATCCGTGAAGGGGGTGGTTCAGCC
CTCCATGGGAAGGCAGGCAGGCACTCGAGGGCTAGAAGGGGCCAAATATGGGTGGGGCAGTGAAGGTGGAGATGGC
CCCTCATCTCCTGTCACCCTTGGGGAGGCTGTGTTGGGCTCCCTGGTTAGTGGAGGATCAATTTTCCATGCCTCTGGG
GGTGCAGGGGGTACTGACAGGGGGTGACACTTCCCAGATGTGGCCAATGTTTCAAAAATGTCAAAGGGCTTCTGCAG
TTACATTTACAAGGTTTCAGAGCAGCCCTGGGGCAAAGGCAGGGCTCTCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGG
CTCTTTAGGGCCACGCCGTTGCATATGGAGTTCTCAGACTGGGGGGTCTAAGAATCGGAGCTATAGCTGCCAGGC
ACGCTAGAGGCCACAGCAACACAGGATCCGAGCCGTTGCTGCGATCTACACCACAGCTCACGGGAATGCTGGATCCTT
AACCCACTGAATGAGGCCAGGATCGAACCTGCATCTCATGTTACTAGTCAGATTCATTTCTGCTGAGCCACAATG
GGAATCCAGGCTCTTCTACCCATTGGGTAGATGAGGAGGTCGAGGCTAGAAGCATGAGCCAGGGTCCGCTGCCAA
GACTCCTCGGTTGAAGTCTTGGCTTTCTCTAGAGAGATGGCCGTCAGTTTGGGGATCACAGGGGCCCTCCAGTCTC
GCCGTAGGACTACCTCTGAAGACAGCTTTGTGAGAACGTTCCTAGCTCTTGTACCACCCCTTGAGCCACCAG
CCGACGATGACAGATGACAGCAGACGTTGCCAGTGTCCAGTGTATCAGGGGCTGTGCCCTCTGTTCTCCAGTTGCCCTCAA
CTTGCTCTGGCTCAGGCTTGGCAGTCCCCCACATCAGCTGCAGGGGGACATCACCCAGGGCTGGCCCTTCAAGTT
TGCAGTGGCGGGCATCTGGTCCATCCACCTCTTACCCAGTCTCTCCTGCACAGGACACCCTGTCGCCCCCCACC
CTAGGAAGAACTGGGAACCAGAGATAGGGTGGGTGCCCTGCAAGCTCACACGGCCGGGAAGCAGAGGGGTACCGGG
TATAAGCCAGATTTGTCTCTAAAGTAGGCCTCTTTTTACTGCACCAGCTTGGCATCCCATCTATGTAAGTTAACAG
AGGCTCAGAAGGGGGCACACAGACTGGGTAGCACTGTGAGCGAGGACAGAGCACTGGGCAAAGGGCACGGGCCGATG
CGTGGGACCCAGCGGACAGCCCTTTGGAGGGATGGAGGGGGAGGGGGGCCCAACTCTCCCTCCGAGCTCCCC
ACCCACCCCATCCCACCAAGCAAACAACAAGCATGCATTCATTTCTGGGTCTGGTGTGTGCCAACAGCTGATGC
CTTTTACAGTTTGAAGCTTTTCTAGACTGTTTGTCTTTGTAACCTGAAGATATTTATCTGGGTTTTGTAGCCTT
TTTATTACATGTTGACTTTGAAAAATAAAAAAAGCTTTGTCCATGA

試験計画書

表題： HsPCSK9-1131AM(14)の細菌を用いる復帰突然変異試験

試験番号： SBL000-000

試験責任者： 林 亜耶

Draft

株式会社新日本科学 安全性研究所

2015年1月29日作成

目 次

1. 表題	22
2. 試験目的	22
3. 適用規則	22
4. 試験委託者	22
5. 試験モニター	22
6. 試験施設	22
7. 試験関係者	22
8. 試験日程	23
9. 被験物質及び対照物質	23
9.1 被験物質	23
9.2 媒体（陰性対照物質）	23
9.3 陽性対照物質	23
9.3.1 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)	24
9.3.2 Sodium azide (NaN ₃)	24
9.3.3 9-Aminoacridine hydrochloride hydrate (9AA)	24
9.3.4 2-Aminoanthracene (2AA)	24
10. 被験物質及び対照物質の調製	24
10.1 被験物質調製液	24
10.2 陰性対照調製液	25
10.3 陽性対照調製液	25
11. 試験系（菌株）	25
12. 代謝活性化系	26
12.1 S9（ラット肝ホモジネート）	26
12.2 S9 mix の調製	27
13. 培地	27
13.1 前培養液	27
13.2 最少グルコース寒天平板培地	27
13.3 トップアガー	27
14. 群構成及び用量の設定	28
14.1 用量設定試験	28
14.2 本試験	29
15. 試験の実施	30
15.1 菌の前培養	30
15.2 試験培養	30
15.3 無菌試験	30
15.4 生育阻害の分類とコロニー数の測定	31
16. 統計学的手法	31
17. 結果の判定	31
17.1 試験成立	31
17.2 試験結果の判定	31
18. 結果の表示	32
19. 試験成績の報告	32
20. 記録及び資料の保存	32
21. 試験計画書の変更	33
22. 試験計画書の作成及び承認	34

別添 A

調製液中の HsPCSK9-1131AM(14)濃度測定方法.....総ページ〇枚

1. 表題

HsPCSK9-1131AM(14)の細菌を用いる復帰突然変異試験

2. 試験目的

細菌を用いて、HsPCSK9-1131AM(14)の遺伝子突然変異誘発性の有無を評価する。

3. 適用規則

本試験は、以下の GLP を遵守し、ガイダンスに準拠して実施する。

- ・ 厚生省令第 21 号「医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に関する省令」（平成 9 年 3 月 26 日、一部改正 厚生労働省令第 114 号 平成 20 年 6 月 13 日）
- ・ 「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンスについて」（平成 24 年 9 月 20 日薬食審査発 0920 第 2 号厚生労働省医薬食品局審査管理課長）

4. 試験委託者

国立循環器病研究センター

〒565-8565 大阪府吹田市藤白台 5 丁目 7 番 1 号

TEL : 06-6833-5012

FAX :

委託担当者 :

斯波 真理子

E-mail : mshiba@ncvc.go.jp

5. 試験モニター

大阪大学大学院薬学研究科 附属創薬センター 核酸医薬評価科学プロジェクト

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 1 丁目 6 番

TEL : 06-6879-8145

担当者 :

小林 直之

E-mail : t-kobayashi@phs.osaka-u.ac.jp

6. 試験施設

株式会社新日本科学 安全性研究所

〒891-1394 鹿児島県鹿児島市宮之浦町 2438 番地

TEL : 099-294-2600

FAX : 099-294-3619

7. 試験関係者

試験責任者 : 林 亜耶

被験物質取扱い責任者 : 後日記載

分析責任者 (被験物質) : 後日記載

8. 試験日程

試験開始日： 年 月 日
 実験開始日： 年 月 日
 用量設定試験： 年 月 日～ 年 月 日
 本試験： 年 月 日～ 年 月 日
 実験終了日： 年 月 日
 最終報告書草案作成日： 年 月 日
 最終報告書作成日／試験終了日： 年 月 日

9. 被験物質及び対照物質

(SOP：TSB/002, TSB/004)

9.1 被験物質

名称： HsPCSK9-1131AM(14)
 提供者： 後日記載
 ロット番号： 後日記載
 特性
 純度あるいは含量： 後日記載
 物理的性状： 後日記載
 安定性： 後日記載
 受領日： 後日記載
 入手日： 後日記載
 入手量： 後日記載
 保存条件： 後日記載
 保存場所： 被験物質保管所内____室（許容範囲：__～__℃）
 取扱い： マスク、キャップ、手袋及び保護眼鏡を着用する。
 残余被験物質： すべて試験委託者に返却する。

9.2 媒体（陰性対照物質）

名称： 後日記載
 製造者： 後日記載
 純度（あるいは含量）： 後日記載
 選択理由： 被験物質は媒体に__ mg/mL まで溶解し、媒体中で安定であるため。また、媒体は、本試験の媒体として汎用されているため。

9.3 陽性対照物質

選択理由： 細菌を用いる復帰突然変異試験の陽性対照物質として汎用されており、また、試験施設ではこれらの背景データを集積してい

るため.

9.3.1 2-(2-Furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acrylamide (AF-2)

製造者： 和光純薬工業株式会社
規格／等級： 和光特級
ロット番号： 後日記載
含量： 98.0～102.0%

9.3.2 Sodium azide (NaN₃)

製造者： 和光純薬工業株式会社
規格／等級： 試薬特級
ロット番号： 後日記載
純度： 98.0%以上

9.3.3 9-Aminoacridine hydrochloride hydrate (9AA)

製造者： Sigma-Aldrich Co.
ロット番号： 後日記載
純度： 98.0%以上

9.3.4 2-Aminoanthracene (2AA)

製造者： 和光純薬工業株式会社
ロット番号： 後日記載
含量： 90.0%以上

10. 被験物質及び対照物質の調製

(SOP : TSB/004, MUT/004, BIO/023)

10.1 被験物質調製液

調製濃度

用量設定試験： 0.05, 0.15, 0.5, 1.5, 5, 15 及び 50 mg/mL

本試験： 用量設定試験の結果から設定する.

換算係数： なし

事前粉碎： なし

調製方法： 被験物質を秤量し、媒体を加え、スターラー攪拌により被験物質を媒体に溶解させる。その後、媒体でメスアップして最高濃度液を調製する。以下の濃度の調製液は、最高濃度液を媒体により順次希釈して調製する。

安定性 (及び均一性) : ○～○mg/mL 調製液は、(温度), 遮光 (有・無), (容器) 条件下で○日間安定 (及び均一) であることが確認されている

(試験成績書番号〇〇)。

調製頻度： 用量設定試験で1回，本試験で1回，すべての調製液を一括調製し，安定性が確認されている期間内に使用する。

保存条件： (温度)，遮光(有・無)，(容器)

保存場所： 被験物質保管所内____室(許容範囲：__~__°C)
(用量設定試験及び本試験で使用する陰性対照物質も同様に保存する。)

濃度(及び均一性)の確認： 本試験で用いる各希釈系列の最低及び最高濃度の調製液について〇〇法にて確認する。適合範囲は，目標濃度±10.0%以内とする。(均一性は変動係数(CV)が10.0%以下であるときを適合とする。)方法の詳細については別添Aに記載する。

10.2 陰性対照調製液

陰性対照物質をそのまま陰性対照調製液とする。

10.3 陽性対照調製液

調製方法： NaN_3 は注射用水(株式会社大塚製薬工場)に，AF-2，9AA及び2AAはジメチルスルホキシド(DMSO, Sigma-Aldrich Co.)に溶解させ，それぞれ表1に示す濃度に希釈調製した後，凍結保存したものを用時に解凍して使用する。使用後の残液は廃棄する。

調製日： 後日記載

保存条件： 冷凍

保存場所： 微生物操作室内フリーザ付薬用保冷庫 冷凍庫(MPR-213FS, パナソニックヘルスケア株式会社，許容範囲：-10°C以下)

表1 陽性対照調製液の濃度

菌株	代謝活性化系の非存在下		代謝活性化系の存在下	
	陽性対照物質	濃度(μg/mL)	陽性対照物質	濃度(μg/mL)
TA100	AF-2	0.1	2AA	10
TA1535	NaN_3	5	2AA	20
WP2uvrA	AF-2	0.2	2AA	100
TA98	AF-2	1	2AA	5
TA1537	9AA	800	2AA	20

11. 試験系(菌株)

(SOP: DGA/006, MUT/005)

種： ネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium*) TA100, TA1535, TA98, TA1537 及び大腸菌 (*Escherichia coli*) WP2uvrA の計 5 菌株を使用する。
試験には外部機関より入手した菌株を試験施設にて、大量培養し、菌懸濁液 0.8 mL に対し DMSO 0.07 mL を加え、ドライアイス・アセトンで凍結し、ラベルで識別した後、超低温フリーザーで保存したものを用時に解凍して使用する。

選択理由： 「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンスについて」で指定されているため。また、試験施設ではこれらの背景データを集積しているため。

入手先： 独立行政法人製品評価技術基盤機構 バイオテクノロジー本部
入手日： _____年__月__日
保存条件： 冷凍
保存場所： 変異原性試験室内超低温フリーザー (MDF-392AT, パナソニックヘルスケア株式会社, 許容範囲: -70°C 以下)

ロット番号： 後日記載
特性検査日： _____年__月__日
特性検査： 試験に用いるものと同ロットの菌株について、遺伝的特性(アミノ酸要求性, 膜変異 *rfa* 特性, 薬剤耐性因子及び紫外線感受性)が正常であること, 陰性ならびに陽性対照における復帰変異コロニー数が背景データの範囲内にあること, 及び試験と同じ条件で前培養した後の生菌数が 1×10^9 cells/mL 以上であることを確認している。

12. 代謝活性化系

(SOP : MUT/007)

12.1 S9 (ラット肝ホモジネート)

製造者： オリエンタル酵母工業株式会社
ロット番号： 後日記載
製造年月日： _____年__月__日
使用動物： フェノバルビタール (PB) と 5,6-ベンゾフラボン (BF) を腹腔内投与 (投与期間及び投与量: 1 日目 PB 30 mg/kg, 2 日目 PB 60 mg/kg, 3 日目 PB 60 mg/kg + BF 80 mg/kg, 4 日目 PB 60 mg/kg, 5 日目 S9 調製) し, 薬物代謝酵素系を誘導した雄 SD ラット [7 週齢, 体重: $\bigcirc \pm \bigcirc$ g (Mean \pm SD)]

保存条件： 冷凍
保存場所： 変異原性試験室内超低温フリーザー (MDF-392AT)

(別添2)

Study No. SBL000-000

使用期限： _____年__月__日

12.2 S9 mix の調製

S9 mix 10 mL あたりの調製方法:Cofactor-I(オリエンタル酵母工業株式会社)1バイアルに9 mL の蒸留水を加え溶解する。孔径 0.20 μm のシリンジフィルターでろ過滅菌した後、1 mL の S9 を加え S9 mix とする。S9 mix は用時調製する。なお、S9 mix 1 mL あたりの組成を表 2 に示す。

表 2 S9 mix 1 mL あたりの組成

成分	組成
S9	0.1 mL
塩化マグネシウム	8 μmol
塩化カリウム	33 μmol
グルコース-6-リン酸	5 μmol
還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸 (NADPH)	4 μmol
還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH)	4 μmol
リン酸ナトリウム緩衝液, pH 7.4	100 μmol

13. 培地

(SOP : MUT/007)

13.1 前培養液

2.5 w/v%ニュートリエントブロス No. 2(Oxoid Ltd.)を 10 mL ずつガラス製 L 字管(容量 30 mL) に分注し、高圧蒸気滅菌 (121°C, 20 分間) 後、冷蔵保存しておいたものを用いる。

13.2 最少グルコース寒天平板培地

名称： テスメディア AN 培地
製造者： オリエンタル酵母工業株式会社
ロット番号： 後日記載
製造年月日： _____年__月__日
保存条件： 室温
保存場所： 変異原性試験室内秤量室
使用期限： _____年__月__日

13.3 トップアガー

0.6 w/v%バクトアガー・0.5 w/v%塩化ナトリウム水溶液を調製し、高圧蒸気滅菌 (121°C, 20 分間) 後、軟寒天とする。0.5 mmol/L L-ヒスチジン・0.5 mmol/L D-ビオチン水溶液及び 0.5 mmol/L L-トリプトファン水溶液を調製し、孔径 0.22 μm のボトルトップフィルター (Corning Inc.) でろ過滅菌する。試験の直前に、ネズミチフス菌の場合は 0.5 mmol/L L-ヒスチジン・0.5 mmol/L

D-ビオチン水溶液を、大腸菌の場合は 0.5 mmol/L L-トリプトファン水溶液を、軟寒天に容量比 1 : 10 の割合で混合させる。調製したトップアガーは約 45°C に温度設定した恒温槽の中で保温する。

14. 群構成及び用量の設定

(SOP : MUT/008)

14.1 用量設定試験

本試験に用いる被験物質の用量設定のために、TA100, TA1535, WP2*uvrA*, TA98 及び TA1537 を用いて、代謝活性化系の存在下及び非存在下により用量設定試験を実施する。用量は、「医薬品の遺伝毒性試験及び解釈に関するガイダンスについて」に従い、5000 µg/plate を最高用量として、以下公比約 3 で 1500, 500, 150, 50, 15, 5 µg/plate の 7 用量を設定する。陰性対照群として媒体処理群を、陽性対照群として表 3 に示す群を設ける。各菌株の処理群と群番号の対応表を表 4 に示す。なお、生育阻害により、5 段階以上の解析できる（コロニー数が計測可能である）用量がない場合は用量を変更し、再度用量設定試験を実施する。

表 3 陽性対照群の用量

菌株	代謝活性化系の非存在下		代謝活性化系の存在下	
	陽性対照物質	用量 (µg/plate)	陽性対照物質	用量 (µg/plate)
TA100	AF-2	0.01	2AA	1
TA1535	NaN ₃	0.5	2AA	2
WP2 <i>uvrA</i>	AF-2	0.02	2AA	10
TA98	AF-2	0.1	2AA	0.5
TA1537	9AA	80	2AA	2

表 4 各菌株の処理群と群番号の対応表

用量 (µg/plate)	TA100		TA1535		WP2 <i>uvrA</i>		TA98		TA1537	
	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
陰性対照	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
5	1	11	21	31	41	51	61	71	81	91
15	2	12	22	32	42	52	62	72	82	92
50	3	13	23	33	43	53	63	73	83	93
150	4	14	24	34	44	54	64	74	84	94
500	5	15	25	35	45	55	65	75	85	95
1500	6	16	26	36	46	56	66	76	86	96
5000	7	17	27	37	47	57	67	77	87	97
陽性対照	8	18	28	38	48	58	68	78	88	98

(-) : 代謝活性化系の非存在下, (+) : 代謝活性化系の存在下

使用プレート数 : 各群 2 枚, 同じ群のプレートは個別に a, b と識別する。

14.2 本試験

用量設定試験の結果から、本試験の用量を以下の記載に従って設定する。なお、陰性対照群として媒体処理群を、陽性対照群として表 3 に示す群を設ける。6 用量段階を設定した場合の各菌株の処理群と群番号の対応表を表 5 に示す。

- 用量設定試験において、陰性対照の 2 倍以上、かつ用量依存的な復帰変異コロニー数の増加及び菌株に対する生育阻害がみられず、かつ、被験物質の析出が認められなかった場合、5000 µg/plate を最高用量にして以下公比 2 で 5 段階以上の用量を設定する。
- 用量設定試験において、陰性対照の 2 倍以上、かつ用量依存的な復帰変異コロニー数の増加はみられないが、いずれかの用量で菌株に対する生育阻害がみられた場合は、析出の有無にかかわらず生育阻害の発現用量付近を最高用量として以下公比 2 で 5 段階以上の用量を設定する。
- 用量設定試験において、陰性対照の 2 倍以上、かつ用量依存的な復帰変異コロニー数の増加及び菌株に対する生育阻害はみられないが、被験物質の析出が認められた場合は、析出の認められる用量を 1 段階以上含めた適切な間隔で 5 段階以上の用量を設定する。
- 用量設定試験で陰性対照の 2 倍以上、かつ用量依存的な復帰変異コロニー数の増加がみられた場合は、正確な用量-反応曲線が求められる用量範囲で公比または公差により 5 段階以上の用量を設定する。

表 5 各菌株の処理群と群番号の対応表

用量 (µg/plate)	TA100		TA1535		WP2uvrA		TA98		TA1537	
	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
陰性対照	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90
用量 1	1	11	21	31	41	51	61	71	81	91
用量 2	2	12	22	32	42	52	62	72	82	92
用量 3	3	13	23	33	43	53	63	73	83	93
用量 4	4	14	24	34	44	54	64	74	84	94
用量 5	5	15	25	35	45	55	65	75	85	95
用量 6	6	16	26	36	46	56	66	76	86	96
陽性対照	7	17	27	37	47	57	67	77	87	97

用量 1~6 は用量設定試験の結果から設定する。

(-) : 代謝活性化系の非存在下, (+) : 代謝活性化系の存在下

使用プレート数 : 各群 2 枚, 同じ群のプレートは個別に a, b と識別する。

15. 試験の実施

(SOP : EQU/004, EQU/009, EQU/013, MUT/008, MUT/018, MUT/021)

15.1 菌の前培養

- 1) 凍結保存しておいた菌懸濁液をすばやく解凍後、前培養液 10 mL に対して菌懸濁液 20 μ L をマイクロピペットにて接種し、ウォーターバスシェーカー（クールバスシェーカー : ML-10F, タイテック株式会社）を用いて、37°C で 10 時間振盪培養（往復式, 90 回/分, 振幅 2 cm）する.
- 2) 振盪培養の終わった菌懸濁液について菌濃度が 1×10^9 cells/mL 以上であることを分光光度計（U-1800, 株式会社日立製作所, 測定波長 660 nm）を用いて OD 値による換算で確認する.
- 3) 前培養した菌懸濁液は使用するまで約 4°C で保存する.

15.2 試験培養

試験はプレインキュベーション法で実施する.

- 1) 滅菌済みの小試験管（13×100 mm）に 0.5 mL の 0.1 mol/L Na-リン酸緩衝液（pH7.4, 代謝活性化系の非存在下）あるいは 0.5 mL の S9 mix（代謝活性化系の存在下）を加えた後、0.1 mL の前培養した菌懸濁液を加える.
- 2) 0.1 mL の陰性対照調製液, 被験物質調製液あるいは陽性対照調製液をマイクロピペットで加える. なお, 被験物質調製液添加時に被験物質の析出の有無を観察する.
- 3) ウォーターバスシェーカー（シェイキングバス : BW201, ヤマト科学株式会社）を用いて、37°C で 20 分間振盪（往復式, 120 回/分, 振幅 2 cm）する.
- 4) 保温しておいたトップアガーを 2 mL 加え, 混合した後, 最少グルコース寒天平板培地上に注ぎ, プレートを動かしながら一様に広げる.
- 5) 水平面上に放置し, トップアガーが固まった後, プレートを上下転倒してインキュベータ（恒温培養器 : TVA660DA, 株式会社東洋製作所）を用いて, 37°C で 48 時間培養する.
- 6) プレートの識別のために, 表 4 あるいは表 5 の対応表に示す群番号をプレートに記入する. また, 各群 2 枚のプレートを使用するため, 同じ群のプレートは個別に a, b と識別する.

15.3 無菌試験

使用する媒体, 被験物質調製液及び S9 mix への雑菌混入の有無を確認するため, 0.1 mL の媒体あるいは試験に使用する最高濃度の被験物質調製液, 0.5 mL の S9 mix にトップアガー 2 mL を加え, 混合した後, 最少グルコース寒天平板培地上に注ぎ, 水平面上に放置し, トップアガーが固まった後, プレートを上下転倒して試験培養と同様に 48 時間培養する.

15.4 生育阻害の分類とコロニー数の測定

- 1) 肉眼及び双眼実体顕微鏡 (×40, SPT-40L, カートン光学株式会社) により菌の生育阻害の有無 (バックグラウンドの菌の生育状態), また肉眼によりプレート上の被験物質の析出の有無を観察する. 生育阻害は次のように分類する.

- : バックグラウンドの菌の生育が陰性対照群と同程度のもの.
- * : バックグラウンドの菌の生育が陰性対照群のそれと比較して明らかに阻害されているもの.
- ** : バックグラウンドの菌の生育が被験物質により阻害され, バックグラウンドの菌が死滅し, 肉眼的に微小コロニーを認めるもの. なお, この場合は, 復帰変異コロニー数を「0」とする.
- *** : バックグラウンドの菌の生育が被験物質により強く阻害され, バックグラウンドの菌が死滅し, 微小コロニーも認められないもの.

- 2) 復帰変異コロニー数を肉眼またはコロニーアナライザー (CA-11DS, システムサイエンス株式会社) により測定する. コロニーアナライザーで測定する場合は, 面積補正 (測定値 = 補正係数 × コロニー数) 実施下で 1 枚のプレートにつき 2 回の測定を行い (約 90 度回転), その平均値を測定値とする. 被験物質の析出などでコロニーアナライザーでの測定が不適切と判断した場合は, 肉眼によるコロニー数の測定を行う.

16. 統計学的手法

統計学的検定は実施しない.

17. 結果の判定

(SOP : MUT/008)

17.1 試験成立

次のすべての条件を満たしている場合に試験成立とする.

- a) 陰性及び陽性対照群の復帰変異コロニー数が試験施設の背景データの範囲内 (Mean±3SD) にある.
- b) 無菌試験で雑菌汚染が認められない.
- c) 本試験において, 5 用量以上の解析できる用量がある.

17.2 試験結果の判定

いずれかの菌株において, プレートあたりの復帰変異コロニー数 (平均値) が陰性対照の 2 倍以上に増加し, また, 用量の増加とともに復帰変異コロニー数が増加を示し, かつ, 用量設定試験と本試験の間に再現性が確認された場合に陽性と判定する. 復帰変異コロニー数が陰性対照の 2 倍未満であり, かつ, 用量設定試験と本試験の間に再現性が確認された場合は陰性と判