

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2017-500883

(P2017-500883A)

(43) 公表日 平成29年1月12日(2017.1.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B 0 6 3
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/00 G	4 B 0 6 5
C O 7 K 16/08 (2006.01)	C O 7 K 16/08	4 C O 8 4
C O 7 K 16/18 (2006.01)	C O 7 K 16/18	4 C O 8 5
C O 7 K 14/47 (2006.01)	C O 7 K 14/47	4 C O 8 6
審査請求 有 予備審査請求 未請求		(全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2016-549626 (P2016-549626)
 (86) (22) 出願日 平成26年10月30日 (2014.10.30)
 (85) 翻訳文提出日 平成28年4月26日 (2016.4.26)
 (86) 国際出願番号 PCT/EP2014/002912
 (87) 国際公開番号 W02015/062726
 (87) 国際公開日 平成27年5月7日 (2015.5.7)
 (31) 優先権主張番号 13005138.6
 (32) 優先日 平成25年10月30日 (2013.10.30)
 (33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(71) 出願人 512151403
 ドイツェス・クレープスフォルシュング
 スツェントルム
 DEUTSCHES KREBSFORS
 CHUNGSZENTRUM
 ドイツ連邦共和国 69120 ハイデル
 ベルク イム・ノイエンハイマー・フェル
 ト 280
 (74) 代理人 110001818
 特許業務法人R&C
 (72) 発明者 ツア・ハウゼン, ハラルト
 ドイツ連邦共和国 69483 ヴァルト
 - ミヒェルバッハ アイヒェンシュトラ
 ー 1

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌とCNSの疾患の将来の進行のための初期マーカーおよび癌治療および予防のための標的としてのHCB I配列

(57) 【要約】

HCB I (Healthy Cattle Blood Isolate (健全ウシ血液分離物))ヌクレオチド配列、更に、これらヌクレオチド配列の一部を含むプローブとプライマー、およびこれらヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドに対する抗体が記載される。前記化合物は、癌治療および予防の標的としての、癌とCNSの疾患の将来の進行のための初期マーカーとして有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

H C B I ポリ核酸であって、

(a) 図 1 ~ 5 のいずれかに図示のヌクレオチド配列、

(b) (a) のヌクレオチド配列に対して少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列、

(c) (a) 又は (b) のヌクレオチド配列のフラグメント、

(d) (a) 、 (b) 又は (c) のヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列、或いは、

(e) 上記ヌクレオチド配列のいずれかとの比較において、遺伝暗号の縮重の結果として重複性 (redundant) であるヌクレオチド配列、を有する H C B I ポリ核酸。

10

【請求項 2】

請求項 1 に記載の H C B I ポリ核酸の一部を含むオリゴヌクレオチドプライマーであって、前記プライマーは、請求項 1 に記載のヌクレオチド配列を含む一定の H C B I 単離物の核酸の特異的配列決定又は特異的増幅のためのプライマーとして作用することが可能である、請求項 1 に記載の H C B I ポリ核酸の一部を含むオリゴヌクレオチドプライマー。

【請求項 3】

請求項 1 に記載の H C B I ポリ核酸の一部を含むオリゴヌクレオチドプローブであって、前記プローブは、請求項 1 に記載のヌクレオチド配列を含む一定の H C B I 単離物の核酸の特異的検出のためのハイブリダイゼーションプローブとして作用することが可能である、請求項 1 に記載の H C B I ポリ核酸の一部を含むオリゴヌクレオチドプローブ。

20

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の H C B I ポリ核酸を含む発現ベクターであって、原核、真核、又はウイルス性転写、および翻訳調節要素に作動可能に連結されている、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の H C B I ポリ核酸を含む発現ベクター。

【請求項 5】

請求項 4 に記載の発現ベクターによって形質転換された宿主細胞。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の H C B I ポリ核酸によってコードされるポリペプチド。

【請求項 7】

請求項 6 に記載のポリペプチドに対して特異的に結合する抗体又はそのフラグメント。

30

【請求項 8】

請求項 2 に記載のプライマー、請求項 3 に記載のプローブ、請求項 6 に記載のポリペプチド、又は請求項 7 に記載の抗体又はフラグメントの、癌又は CNS 疾患の初期段階の傾向の診断のための診断用組成物の調製のための使用。

【請求項 9】

生物サンプル中の請求項 1 に記載の H C B I ポリ核酸の検出のための方法であって、(a) オプションとしてサンプルポリ核酸を抽出する工程、(b) 前記ポリ核酸を請求項 2 に記載の少なくとも 1 つのプライマー、オプションとして標識プライマー、によって増幅する工程、そして、(c) 前記増幅されたポリ核酸を検出する工程、を有する生物サンプル中の請求項 1 に記載の H C B I ポリ核酸の検出のための方法。

40

【請求項 10】

生物サンプル中の請求項 1 に記載の H C B I ポリ核酸の検出のための方法であって、(a) オプションとしてサンプルポリ核酸を抽出する工程、(b) 前記ポリ核酸を請求項 3 に記載の少なくとも 1 つのプローブ、オプションとして標識プローブ、とハイブリダイズする工程、そして (c) 前記ハイブリダイズされたポリ核酸を検出する工程、を有する生物サンプル中の請求項 1 に記載の H C B I ポリ核酸の検出のための方法。

【請求項 11】

生物サンプル中に存在する請求項 6 に記載のポリペプチド又は請求項 7 に記載の抗体の検出のための方法であって、(a) 前記のようなポリペプチド又は抗体の存在に関して、

50

前記生物サンプルを接触させる工程、そして (b) 前記抗体と前記ポリヌクレオチドとの間に形成される免疫複合体を検出する工程、を有する、生物サンプル中に存在する請求項 6 に記載のポリペプチド又は請求項 7 に記載の抗体の検出のための方法。

【請求項 1 2】

請求項 1 に記載の HCBI ポリ核酸の発現を低減又は抑制するアンチセンスオリゴヌクレオチド、または、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 1 3】

請求項 7 に記載の抗体又はその抗原結合フラグメント、又は、請求項 1 6 に記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドと、適当な薬用キャリアとを有する薬用組成物。

【請求項 1 4】

請求項 1 に記載の HCBI ポリ核酸、又は請求項 6 に記載のポリペプチドを含むワクチン。

【請求項 1 5】

請求項 1 に記載の HCBI ポリ核酸の、癌又は CNS の疾患の予防又は治療のための薬剤の開発のためのリード成分として使用。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、HCBI (Healthy Cattle Blood Isolate (健全ウシ血液分離物)) ヌクレオチド配列、更に、これらヌクレオチド配列の一部を含むプローブとプライマー、およびこれらヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドに対する抗体に関する。最後に、本発明は、癌や CNS の疾患等の疾患の将来の進行のための初期マーカーとして、又、癌治療および予防のための標的としての前記化合物の使用にも関する。

【背景技術】

【0002】

ここ数十年において行われたいくつかの疫学的分析によって、様々な方法で処理された赤色肉 (燻製肉と、ソーセージの成分としての肉を含む) を長期的に消費することは結腸癌のリスクファクターと見なすことができることが示されている (World Cancer Report 2013, zur Hause 2009, zur Hausen 2012)。「白色」肉 (鶏肉/魚) に対して、「赤色」肉は、牛肉、豚肉、マトン、ラムおよびヤギ肉を含むものと見なされる。

【0003】

これまで、ロースト、グリル、バーベキュー、燻製、空気乾燥、の間に化学的な発癌物質が作り出されることが癌のリスクファクターとしてとがめられてきた。しかしながら、これらの同じ物質が鶏肉/魚を類似の方法で処理する間においても匹敵する濃度で発生するという事実は無視された。従って、このことは、これらの化学物質が結腸癌の進行に関して占有的な働きをするという仮説を支持しない。更に、現在の疫学的分析は、牛肉が主たるリスクファクターであると示唆しているので、追加の種特異的で、恐らくは感染性である、因子がこのタイプの癌の誘因に寄与していると仮定されてきた (zur Hause, 2012)。家畜化された牛 (bovine) 種のグローバルな分布と結腸癌のグローバルな発生の分析の相関の結果は、コブウシ (zebu)、スイギュウ (water buffalo)、またはヤク (yak) の繁殖由来ではなく、ヨーロッパ/アジア種のウシ (Bos taurus) 由来の牛種の消費が主要リスクファクターとして重要であるかもしれない、と示唆しているようである。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0004】

従って、本発明の基礎となる技術的課題は、癌又は CNS の疾患等の疾患に関連する可能性のある特定のヌクレオチド配列を同定し、それによって、診断と治療のための手段を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0005】

10

20

30

40

50

前記技術的課題に対する解決は、特許請求の範囲に特徴付けられている実施例を提供することによって達成される。本発明をもたらした実験の間、血清中の存在は、それらの物質の「赤色」肉中の存在も示すものであるという仮説から出発して、ウシ (cattle) の血清を、感染性物質に関してスクリーニングした。健全な雌ウシ (cow) からの血清をスクリーニングしたところ、5つの新規なウイルス性核酸成分を単離することができた。これらの成分のDNA配列とオープンリーディングフレームは、羊、ウシ (cattle)、およびヒトのTSE-疾患のための伝染性海綿状脳症 (TSE) に関して既に記載された配列に対する認識可能な関連性を示した。

【0006】

前記TSE単離物は、更に、癌誘発においても役割を果たしているのではないかと疑われている。即ち、記載のウイルス性配列は、癌やCNSの疾患の進行に関連しているかもしれないと合理的に仮説することができる。

【図面の簡単な説明】

【0007】

【図1】HCBI1.225のヌクレオチド配列と推定オープンリーディングフレーム データベースに見られるヌクレオチド配列に対するアラインメントと、HCBI1.225のオープンリーディングフレーム由来のペプチドの対応の「Sphinxスフィンクス」アミノ酸配列に対するアラインメントも図示されている。

【図2】HCBI2.170のヌクレオチド配列と推定オープンリーディングフレーム データベースに見られるヌクレオチド配列に対するアラインメントと、HCBI2.170のオープンリーディングフレーム由来のペプチドの対応の「Sphinx」アミノ酸配列に対するアラインメントも図示されている。

【図3】HCBI3.108のヌクレオチド配列と推定オープンリーディングフレーム データベースに見られるヌクレオチド配列に対するアラインメントと、HCBI3.108のオープンリーディングフレーム由来のペプチドの対応の「Sphinx」アミノ酸配列に対するアラインメントも図示されている。

【図4】HCBI4.296のヌクレオチド配列と推定オープンリーディングフレーム データベースに見られるヌクレオチド配列に対するアラインメントと、HCBI4.296のオープンリーディングフレーム由来のペプチドの対応の「Sphinx」アミノ酸配列に対するアラインメントも図示されている。

【図5】HCBI5.173のヌクレオチド配列と推定オープンリーディングフレーム データベースに見られるヌクレオチド配列に対するアラインメントと、HCBI5.173のオープンリーディングフレーム由来のペプチドの対応の「Sphinx」アミノ酸配列に対するアラインメントも図示されている。

【発明を実施するための形態】

【0008】

従って、本発明は、以下を含むHCBIポリ核酸に関連する、即ち、

(a) 図1～5のいずれかに図示のヌクレオチド配列、

(b) (a)のヌクレオチド配列に対して少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列、

(c) (a)又は(b)のヌクレオチド配列のフラグメント、

(d) (a)、(b)又は(c)のヌクレオチド配列に対して相補的なヌクレオチド配列、或いは、

(e) 上記ヌクレオチド配列のいずれかと比較した遺伝暗号の縮重の結果として重複性 (redundant) となっているヌクレオチド配列。

【0009】

ここで、用語「ポリ核酸」は、一本鎖又は二本鎖の核酸配列を指す。ポリ核酸は、デオキシリボヌクレオチド又はリボヌクレオチド、ヌクレオチドアナログ又は修飾ヌクレオチドから構成することができ、或いは、診断又は治療の目的のために適合されたものであってもよい。ポリ核酸は、又、例えばクローニングの目的のために使用することが可能な二

10

20

30

40

50

本鎖cDNAクローンを含むことも可能である。

【0010】

本発明の前記HCBIポリ核酸は、周知の標準方法、例えば、(a) サンプルから全DNA又はRNAを単離すること、(b) ハイブリダイゼーション又はPCRによるHCBI配列の検出、および(c) HCBI配列のベクターへのクローニング等によって調製することができる。

【0011】

更に、主としてオリゴヌクレオチドの末端(3'又は5')において、特に単数又は複数のヌクレオチドの欠失および/又は挿入、特に、単数又は複数のコドンの挿入又は欠失、を含み、かつ、本発明の前記ポリ核酸配列に対して少なくとも90%、95%又は98%の同一性を示す本発明の前記ポリ核酸の配列バリエーションも本発明の範囲内である。図1~5に図示の配列に類似の本発明によるポリ核酸配列は、配列特異的プライマーによる増幅、高又は低度のストリンジェント条件下での配列特異的プローブによるハイブリダイゼーション、HCBIの遺伝子情報の配列決定、等の任意の公知技術によって特徴付け及び単離する可能である。

10

【0012】

本発明は、又、好ましくは、例1に記載のように自律的に複製可能である、上述した本発明のヌクレオチド配列のフラグメントも提供する。自律複製ヌクレオチド配列は、自律的複製を誘導することが可能な、前記複製遺伝子のヌクレオチド配列、又は、そのフラグメント、を含む。複製タンパク質は、複製の起点又はその近傍において一本鎖切断を誘導する一本鎖DNAに結合するエンドヌクレアーゼを表す(Wold, 1997)。当業者は、過度な実験無く、自律的複製を誘導可能なそのようなフラグメントに想到することが可能である。そのようなフラグメントは、少なくとも45、少なくとも55、又は少なくとも65ntの長さを有するものとしてすることができる。

20

【0013】

当業者は、標準アッセイを使用することによって、どの核酸配列が図1~5のヌクレオチド配列に関係しているか、又は、どのフラグメントがまだ自律的複製が可能であるか、を容易に決定することができる。

【0014】

本発明は、更に、上記ヌクレオチド配列のいずれかと比較した遺伝暗号の縮重の結果として重複性となっているポリ核酸配列も提供する。従って、これらのバリエーションポリ核酸配列は、それらの由来元であるところの前記ポリ核酸と同じアミノ酸配列をコードすることになる。

30

【0015】

本発明の前記HCBIポリ核酸は、染色体外エピソームとして存在したり、宿主のゲノムに組み込まれたり、および/又は、宿主細胞DNAに連結された状態で存在するかもしれない。

【0016】

本発明は、更に、上に定義したようなポリ核酸の一部を含む、もしくは、そのような一部から成る、オリゴヌクレオチドプライマーにも関するものであり、前記プライマーは、本発明のHCBIポリ核酸を特異的に配列決定、又は特異的に増幅するためのプライマーとして機能することが可能である。

40

【0017】

ここで、前記用語「プライマー」は、複製される核酸鎖に対して相補的なプライマー伸長産物の合成の開始ポイントとして機能することが可能な一本鎖DNAオリゴヌクレオチド配列を指す。前記プライマーの長さとは配列は、それらによって前記伸長産物の合成のプライミングが可能となるようなものでなければならない。好ましくは、前記プライマーは、約5~50のヌクレオチドである。具体的な長さとは配列は、必要とされるDNA又はRNA標的の複雑度(complexity)、更に、温度やイオン強度等のプライマーの使用条件、に応じたものとなるであろう。

【0018】

50

適切な増幅を保証するために増幅プライマーは対応のテンプレート配列に正確にマッチングする必要はないという事実は、文献において十分記載されている。使用される増幅方法は、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）、リガーゼ連鎖反応（LCR）、核酸配列ベース増幅（NASBA）、転写ベース増幅システム（TAS）、鎖置換増幅（SDA）又はQBレプリカゼによる増幅、又はプライマー伸長を使用して核酸分子を増幅するその他の適当な方法、とすることができる。増幅中、増幅産物は、標識プライマーを使用して、又は、標識ヌクレオチドを組み込むことによって、適宜標識化することができる。

【0019】

標識は、同位体（³²P、³⁵S等）又は非同位体（ビオチン、ジゴキシゲニン、等）として構成することができる。前記増幅反応は、20回～70回、好ましくは、25回～45回、繰り返される。

10

【0020】

前記ウイルス性遺伝子情報を直接に配列決定し、サンプルの配列を対応のアミノ酸配列に翻訳することによってorfを決定するために、当該技術において知られている様々な配列決定反応の任意のものを使用することができる。配列決定反応の具体例には、Sanger又はMaxamとGilbertによって開発された技術に基づくものが含まれる。更に、質量分析法による配列決定を含む対象物アッセイを行う時、様々な自動化配列決定処理を利用可能であることも考慮される（たとえば、PCT公報W094/16101を参照）。例えば、配列決定反応において決定することが必要であるのは2つ又は3つの核酸塩基しかないことが当業者にとって明白であろう。

20

【0021】

好ましくは、これらのプライマーの長さは、約5～50ヌクレオチドであり、より好ましくは、約10～25ヌクレオチドである。最も好ましくは、少なくとも13塩基の長さ有するプライマーである。

【0022】

本発明は、更に、上に定義したようなHCBIポリ核酸の一部を含む、もしくは、その一部から成るオリゴヌクレオチドプローブに関し、前記プローブは、本発明のHCBIポリ核酸を特異的に検出するためのハイブリダイゼーションプローブとして機能することが可能である。

【0023】

前記プローブは、標識化又は固体支持体に取り付けることができる。

30

【0024】

前記用語「プローブ」とは、検出されるべきHCBIポリ核酸の標的配列に対して相補的な配列を有する一本鎖配列特異的オリゴヌクレオチドを指す。

【0025】

好ましくは、これらのプローブの長さは約5～50ヌクレオチドであり、より好ましくは、約10～25ヌクレオチドである。最も好ましくは、少なくとも13塩基の長さを有するプローブである。

【0026】

前記用語「固体支持体」とは、オリゴヌクレオチドプローブがそのハイブリダイゼーション特性を保持し、かつ、ハイブリダイゼーションのバックグラウンドレベルを低く維持したままで、それにつながる事が可能な任意の基体を指しうる。通常、固体支持体は、マイクロタイプレート、メンブラン（例えば、ナイロンやニトロセルロース）、又はマイクロスフィア（ビーズ）から構成されることになる。前記メンブランへの塗付又は固定の前に、固定を容易にするため、又はそのハイブリダイゼーション効率を改善するために前記核酸プローブを改変することが便利であるかもしれない。そのような改変としては、ホモポリマーテリング、脂肪族基、NH₂基、SH基、カルボキシ基等の様々な反応基との結合、或いは、ビオチンやハプテンとの結合、を含みうる。

40

【0027】

プライマー又はプローブとして使用される、本発明による前記オリゴヌクレオチドは、

50

更に、ホスホチオエート、アルキルホスホリエート又はペプチド核酸、等のヌクレオチドアナログを含むか、もしくはそのようなヌクレオチドアナログから構成することができ、或いは、挿入剤を含有することができる。これらの改変によって、必要な特異性と感度とを得るために前記オリゴヌクレオチドが使用されるべき条件に関する適合が必要となるであろう。しかしながら、最終的な結果は、非改変オリゴヌクレオチドで得られた結果と本質的に同一となるであろう。

【0028】

これらの改変を導入することは、ハイブリダイゼーション カイネティクス (kinetic)、ハイブリッド形成の可逆性、オリゴヌクレオチド分子の生物学的安定性、等の特性にポジティブな影響を与えるために有利でありうる。

10

【0029】

本発明の前記ポリ核酸は、任意の種類組成物として構成することができる。前記組成物は、診断用、治療用又は予防用のものとして構成することができる。

【0030】

本発明は、更に、原核、真核、又はウイルス性の転写および翻訳調節要素に操作連結された、上に定義した本発明のHCBIポリ核酸を含む組み換え発現ベクター、更に、そのようなベクターを含む宿主細胞、にも関する。

【0031】

前記用語「ベクター」とは、プラスミド、コスミド、人工染色体、ファージ、又はウイルスあるいはトランスジェニック非ヒト動物を含みうる。ワクチン開発のために特に有用でありうるのは、HCBI組み換え分子、BCG又はアデノウイルスベクター、更に、avipox組み換えウイルスである。

20

【0032】

本発明の文脈で使用される前記用語「組み換え発現」は、後で詳述するように、本発明の前記ポリヌクレオチドが、原核細胞であれ、又はより下位又は上位の真核細胞であれ、組み換え発現方法によって作り出される、という事実を指している。

【0033】

前記用語「宿主細胞」は、組み換えベクター又はその他の転写ポリヌクレオチドのためのレシピエントとして使用可能又は使用されてきた細胞を称し、トランスフェクションされた元の細胞の子孫を含む。

30

【0034】

尚、単一の親細胞の子孫は、自然、偶発的、或いは意図的な変異又は組み換えにより、元の親として、形態、あるいは、ゲノム又は全DNA相補体 (complement) において必ずしも完全に同一である必要はないかもしれない。

【0035】

前記用語「下位真核細胞」は、酵母、菌類、等の宿主細胞を指す。下位真核細胞は、一般に（但し必ずしもそうとは限らないが）単細胞生物である。好適な下位真核細胞は、酵母、特に、サッカロマイセス (Saccharomyces)、シゾサッカロマイセス (Schizosaccharomyces)、クリペロマイセス (Kluiveromyces)、ピキア (Pichia) (例えば、ピキア・パストリス (Pichia pastoris)、ハンセヌラ (Hansenula) (例えば、ハンセヌラ・ポリモルファ (Hansenula polymorph)、シュワニオマイセス (Schwaniomyces)、シゾサッカロマイセス (Schizosaccharomyces)、ヤロウィア (Yarrowia)、ジゴサッカロマイセス (Zygosaccharomyces) 等内の種である。サッカロマイセス・セレビスエ (Saccharomyces cerevisiae)、S. カールスベルゲンシス (S. carlsbergensis) とK. ラクティス (K. lactis) が最も一般的に使用されている酵母宿主であり、便利な菌類宿主である。

40

【0036】

前記用語「上位真核細胞」は、哺乳類、爬虫類、昆虫等のより上位の動物由来の宿主細胞を指す。現時点において好適とされる上位真核宿主細胞は、チャイニーズハムスター (例えばCHO)、サル (例えば、COSおよびVero細胞)、ベビーハムスター腎臓 (BHK)、ブタ腎臓 (PK15)、ラビット腎臓13細胞 (RK13)、ヒト骨肉腫細胞ライン143B、ヒト細胞ラ

50

インHeLaおよびHep G2等のヒト肝癌細胞ライン、293TT細胞ライン (Buck et al., 2004)、昆虫細胞ライン (例えば、スポドプテラ・フルギペルダ (Spodoptera frugiperda)) 由来のものである。前記宿主細胞は、懸濁液又はフラスコ培養物、組織培養物、器官培養物等中に提供することができる。或いは、前記宿主細胞は、トランスジェニック非ヒト動物であってもよい。

【0037】

前記用語「原核生物」は、大腸菌 (E. coli)、ラクトバシラス (Lactobacillus)、ラクトコッカス (Lactococcus)、サルモネラ (Salmonella)、ストレプトコッカス (Streptococcus)、パチルス・サブティリス (Bacillus subtilis) 又はストレプトマイセス (Streptomyces) 等の宿主を指す。これらの宿主も本発明の範囲内に含まれるものと見なされる。

10

【0038】

前記ベクター配列に挿入された所望の配列をコードする前記HCB1 DNAのセグメントを、シグナル配列に付着させることも可能である。前記シグナル配列は、非-HCB1源からのものであってもよいが、本発明により特に好適な構造物は、前記HCB1ゲノム中のタンパク質の各開始点の前に現れるシグナル配列を含む。

【0039】

上位真核細胞はベクターで形質転換してもよいし、又は、組み換えウイルス、例えば、組み換えワクシニアウイルスで感染させることも可能である。外来DNAをワクシニアウイルスに挿入するための技術とベクターは当該技術において周知であって、これらは、例えば、相同組み換えを利用する。多様なウイルスプロモータ配列、或いはターミネータ配列、およびポリ (A) 付加配列、或いは、エンハンサ配列、或いは増幅配列、これらはすべて哺乳動物発現のために必要とされる、が当該技術において利用可能である。ワクシニアは宿主細胞タンパク質の発現を停止させるため、ワクシニアが特に好適である。ヒトのワクチン用には、avipoxおよびAnkara Modified Virus (AMV) が特に有用なベクターである。

20

【0040】

ヘルパー独立ウイルス発現ベクターである、パキユロウイルス・オートグラフィア・カルフォルニア・ニュークレア・多角体ウイルス (Autographa californica nuclear polyhedrosis virus (AcNPV)) 由来の昆虫発現トランスファーベクターも知られている。この系由来の発現ベクターは、通常、異種遺伝子の発現を駆動するために、強力なウイルスポリヘドリン遺伝子プロモータを使用する。パキユロウイルス発現のために、当業者には、パキユロウイルスの所望の部位への異種DNAの導入のために様々なベクターおよび方法が利用可能である。又、昆虫細胞によって認識される翻訳後改変のための様々なシグナルも知られている。

30

【0041】

本発明は、更に、上に定義したHCB1ポリ核酸によってコード化されるアミノ酸を有するポリペプチド、又は、その一部分、又はそれに実質的に類似で生物的に等価物であるところのそのアナログにも関する。

【0042】

前記用語「ポリペプチド」とは、アミノ酸のポリマーを指すものであって、特定の長さの産物を指すものではない。従って、ポリヌクレオチドの定義には、ペプチド、オリゴペプチド、およびタンパク質が含まれる。この用語は、更に、前記ポリペプチドの発現後修飾、例えば、グリコシル化、アセチル化、リン酸化などを指すものではなく、それらを排除するものではない。その定義には、例えば、アミノ酸の単数又は複数のアナログを含むポリペプチド (例えば、非天然アミノ酸、ペプチド核酸 (PNA)、等を含む)、置換されたリンケージを備えるポリペプチド、更に、天然および非天然発生の当該技術において知られているその他の改変体が含まれる。

40

【0043】

本発明による前記ポリペプチドは、好ましくは、少なくとも3、好ましくは4又は5の隣

50

接HCBIアミノ酸、6又は7、但し好ましくは少なくとも8の隣接HCBIアミノ酸、少なくとも10又は少なくとも15、の隣接HCBIアミノ酸を含む。

【0044】

本発明の前記ポリペプチド、そして、特に、前記フラグメントは、従来の化学合成によって調製することができる。この合成は、均質溶液又は固相において行うことができる。本発明による前記ポリペプチドは、組み換えDNA技術によっても作ることが可能である。本発明は、更に、以下を有する上に定義した組み換えポリペプチドの製造方法にも関する。即ち、(a)上に定義したポリ核酸又はその一部が、適当な調節要素の制御下に挿入されている組み換えベクターによる適当な細胞宿主の形質転換、(b)前記形質転換細胞宿主の前記挿入物の発現を可能にする条件下での培養、そして(c)前記ポリペプチドの

10

【0045】

本発明は、更に、上に定義した少なくとも1つのポリペプチドによる免疫処理で産生され、前記ポリペプチドのいずれかに対して特定の抗体にも関し、当該抗体は、好ましくはモノクローナル抗体である。前記用語「抗体」は、好ましくは、様々なエピートブ特異性を有するプールされたモノクローナル抗体、更に、異なるモノクローナル抗体生成物、から実質的に構成される。モノクローナル抗体は、例えば、本発明のHCBIポリ核酸によってコードされるポリペプチド又はそのフラグメントを含む抗原から、当業者に周知の方法によって作製される。ここでの使用において、前記用語「抗体」(Ab)又は「モノクローナル抗体」(Mab)は、完全な分子、更に、タンパク質に対して特異的に結合可能な、抗体フラグメント(例えば、FabおよびF(ab')₂フラグメント等)、を含むものとされる。FabおよびF(ab')₂フラグメントは、完全な抗体のFcフラグメントを持たず、循環からより急速にクリアされ、完全な抗体よりも低い非特異的組織結合を有するものであってよい。従って、これらのフラグメント、更に、FAB又はその他の免疫グロブリン発現ライブラリーの製品が好ましい。更に、本発明の目的のために有用な抗体は、キメラ、一本鎖、又はヒト化抗体を含む。

20

【0046】

好ましくは、前記抗体又はその抗原結合フラグメントは、検出可能な標識を有する。前記抗体/フラグメントは、例えば、放射性同位体、蛍光化合物、生物発光化合物、化学発光化合物、金属キレート剤、又は酵素によって、直接的または間接的に検出可能に標識化

30

【0047】

本発明は、更に、本発明の、HCBIポリ核酸又はポリペプチドの存在の判定に使用される診断キットにも関し、当該キットは、プライマー、プローブ、および/又は、本発明の抗体を含む。

【0048】

本発明は、更に、生物サンプル中に存在する本発明によるHCBIポリ核酸を検出する方法にも関し、この方法は、以下の工程を有する。

(a) オプションとしてサンプルポリ核酸を抽出する、(b) 上述したポリ核酸を上に定義した少なくとも1つのプライマー、オプションとして標識化プライマー、によって増幅する、そして(c)前記増幅されたポリ核酸を検出する。

40

【0049】

前記用語「ポリ核酸」は、被鎖鎖とも称され、一本鎖又は二本鎖のポリ核酸分子に対応する。

【0050】

前記用語「標識化」とは、標識核酸の使用を指す。これは、前記増幅のポリメラーゼ工程に取り込まれた標識ヌクレオチド、又は、標識プライマー、又は、その他当業者に知られている方法によって取り込まれた標識ヌクレオチド、又は標識プライマーの使用を指す。

50

【0051】

本発明は、更に、生物サンプル中の本発明によるHCB1ポリ核酸を検出する方法にも関し、この方法は、以下の工程を有する。(a) オプションとしてサンプルポリ核酸を抽出する、(b) 上述したポリ核酸を上 に定義した少なくとも1つのプローブによってハイブリダイゼーションする、そして(c) 前記ハイブリダイゼーションされたポリ核酸を検出する。

【0052】

前記ハイブリダイゼーションと洗浄の条件は、ストリンジェントなものとされ、一般に当該技術において知られているものである。但し、十分な特異性を確保するために、前記ハイブリダイゼーション溶液(SSC、SSPE等)に応じて、これらのプローブは、それらの適切な温度でハイブリダイゼーションされるべきである。

10

【0053】

前記ハイブリダイゼーション溶液(SSC、SSPE等)に応じて、これらのプローブは、十分な特異性を確保するために、それらの適切な温度でストリンジェントにハイブリダイゼーションされるべきである。但し、それらの末端(3'又は5')に単数又は数個(a few)のヌクレオチドを付加又は欠損することによって、又は、なんらかの重要でないヌクレオチド(すなわち、タイプ間を識別するために必須でないヌクレオチド)をその他(修飾ヌクレオチド又はイノシン)によって置換することによって、前記DNAプローブを僅かに修飾することにより、これらのプローブ又はそのバリエーションを、前記同じハイブリダイゼーション条件(すなわち、同じ温度及び同じハイブリダイゼーション溶液)で特異的にハイブリダイゼーションを起こさせることができる。また、使用するプローブの量(濃度)を変えることも、より特異性の高いハイブリダイゼーション結果を得るために有益であるかもしれない。尚、この文脈において、それらのGC含有率の如何に拘らず、同じ長さのプローブは、TMACI溶液中においておよそ同じ温度で特異的にハイブリダイズすることが銘記される。

20

【0054】

サンプル中において前記オリゴヌクレオチドプローブとHCB1ポリ核酸配列との間に形成されるハイブリッドを検出するための本発明の目的のための適切なアッセイ方法は、従来のドットプロットフォーマット、サンドイッチハイブリダイゼーション、又はリバーズハイブリダイゼーション等、当該技術において知られている任意のアッセイフォーマットであってよい。例えば、前記検出は、ドットプロットフォーマットを使用して行うことができ、そこでは、非標識増幅サンプルがメンブランに結合し、このメンブランには、適当なハイブリダイゼーションおよび洗浄条件下で少なくとも1つの標識プローブが組み込まれており、結合したプローブの存在がモニターされる。

30

【0055】

別の好適な方法は、「リバーズ」ドットプロットフォーマットであり、ここでは増幅された配列は標識を含む。このフォーマットにおいて、非標識オリゴヌクレオチドプローブは固体支持体に結合し、適当なストリンジェント条件下およびその後の洗浄条件下で前記標識サンプルに対して晒される。サンプルのポリ核酸と本発明によるオリゴヌクレオチドプローブとの間のハイブリッドの形成に基づくその他任意のアッセイ方法も使用可能であると銘記される。

40

【0056】

本発明は、更に、生物サンプル中に存在の、本発明のHCB1ポリ核酸によってコードされるポリペプチド、又は当該ポリペプチドに対する抗体、を検出するための方法にも関し、この方法は以下の工程を有する。(a) 上に定義されたポリペプチド又は抗体の存在に対して前記生物サンプルを接触させる、そして(b) 前記抗体と前記ポリペプチドとの間に形成された免疫複合体を検出する。

【0057】

本発明による免疫アッセイ(免疫測定)方法は、本発明の新規かつユニークなポリペプチド配列の様々なドメインからの抗原を利用することができる。例えば、単一、又は特異

50

的なオリゴマーの抗原、二量体抗原、更に、単一又は特異的なオリゴマーの抗原の組み合わせを使用することは本発明の範囲内である。本発明の前記HCB1抗原は、抗体を検出するための既知の抗原を使用する事実上、任意のアッセイフォーマットに使用することが可能である。勿論、HCB1構造エピトープを変性させるフォーマットは回避するか、もしくは順応させるべきである。これらのアッセイすべてに共通する特徴は、抗原が、当該抗原がその成分中に存在するそのようなすべての抗体に結合することを可能にする条件下においてHCB1抗体を含有することが疑われる体成分と接触されるということである。それらの条件は、通常、生理的溫度、pHおよび過剰な抗原を使用するイオン強度である。前記抗原の検体とのインキュベーションの後、前記抗原から構成される免疫複合物の検出が行われる。

【0058】

前記免疫アッセイの設計はさまざまな変更が可能であり、当該技術において多くのフォーマットが知られている。プロトコルは、例えば、固体支持体、又は免疫沈降を利用することができる。大半のアッセイは、標識抗体又はポリペプチドの使用を含み、前記標識は、例えば、酵素的、蛍光、化学発光、放射性又は染色分子、とすることができる。前記免疫複合体からシグナルを増幅するアッセイも知られており、その具体例には、ビオチン、アビジン、又はストレプトアビジンを利用するアッセイ、ELISAアッセイ等の酵素標識および媒介免疫アッセイ、がある。

【0059】

前記免疫アッセイは、異種 (heterogeneous) 又は同種 (homogeneous) フォーマットとすることができ、標準式、又は競合式のものとする事ができる。異種フォーマットにおいて、前記ポリペプチドは、インキュベーション後のポリペプチドからのサンプルの分離を容易にするために、通常、固体マトリックス又は支持体に結合される。使用可能な固体支持体の具体例は、ニトロセルロース (例えば、メンブラン又はマイクロタイターウェル形状のもの)、塩ビニル (例えば、シート又はマイクロタイターウェルのもの)、ポリスチレンラテックス (例えば、ビーズ又はマイクロタイタープレート、ポリフッ化ビニリデン (Immunolonとして知られる))、ジアゾ化ペーパー、ナイロンメンブラン、活性化ビーズ、およびプロテインAビーズである。前記抗原性ポリペプチドを含有する前記固体支持体は、通常、それをテストサンプルから分離した後であって、結合した抗体の検出に先立って、洗浄される。標準フォーマットと競合フォーマットとの両方が当該技術において知られている。

【0060】

同種フォーマットにおいて、テストサンプルは、溶液中の抗原の組み合わせとインキュベートされる。例えば、それは、形成される任意の抗原-抗体複合物を沈降させる条件下で行われるものとする事ができる。これらのアッセイのための標準フォーマットと競合フォーマットとの両方が当該技術において知られている。

【0061】

標準フォーマットにおいて、前記抗体-抗原複合体中のHCB1抗体の量が直接モニタリングされる。これは、抗-HCB1抗体上のエピトープを認識する (標識) 抗-異種 (xenogenic) (すなわち、抗ヒト) 抗体が複合体形成によって結合するか否かを判定することによって行うことができる。競合フォーマットにおいては、サンプル中のHCB1抗体の量が、複合体中の、既知量の標識抗体 (又はその他の競合リガンド) の結合に対する競合作用をモニタリングすることによって推定される。

【0062】

抗-HCB1抗体 (又は、競合アッセイの場合には、競合抗体の量) を有して形成される複合体は、前記フォーマットに応じて、多種多様な技術のいずれかによって検出される。例えば、複合体中の非標識HCB1抗体は、標識 (例えば、酵素標識) と複合化された抗-異種Igのコンジュゲートを使用して検出することができる。

【0063】

免疫沈降法又は凝集 (agglutination) アッセイフォーマットの場合、HCB1抗原と前記抗体との間の反応によって、前記溶液又は懸濁液からの沈降するネットワークが形成され

10

20

30

40

50

、そして、沈降物の目に見える層又は膜が形成される。もしテスト検体中に抗-HCBI抗体が存在しないのであれば、目に見える沈降物は形成されない。

【0064】

現在、粒子凝集(PA)アッセイの三つの具体的タイプが存在する。これらのアッセイは、支持体に対してコーティングされる時、種々の抗原に対する抗体の検出のために使用することができる。このアッセイの一つのタイプは、抗原(又は抗体)を赤血球(RBC)に対して受動的に吸着することによって感作される赤血球(RBC)を使用する赤血球凝集アッセイである。体成分中に存在する、特定の抗原/抗体を添加することによって、前記精製抗原によってコーティングされたRBCが凝集する。

【0065】

前記赤血球凝集アッセイにおいて潜在的な非特異的反応を除去するために、前記PAにおいてRBCの代わりに2つの人工キャリアを使用することができる。これらのうちの最も一般的なものは、ラテックス粒子である。

【0066】

選択される前記固相は、ポリマー又はガラスビーズ、ニトロセルロース、マイクロ粒子、反応トレイのマイクロウェル、試験管、および磁気ビーズを含むことができる。前記シグナル発生化合物は、酵素、発光化合物、クロモゲン、放射性元素、および化学発光化合物を含むことができる。酵素の具体例には、アルカリホスファターゼ、ホースラディッシュペルオキシダーゼ、ベータ-ガラクトシダーゼが含まれる。エンハンサ化合物の具体例は、ビオチン、抗ビオチン、及びアビジンが含まれる。エンハンサ化合物結合メンバーの具体例には、ビオチン、抗ビオチンおよびアビジンが含まれる。

【0067】

上記方法は、サブゲノムHCBIポリヌクレオチド配列自身、又は、患者の細胞内の特定の宿主遺伝子又は遺伝子フラグメントに連結されたサブゲノムHCBIポリヌクレオチド配列の有害な作用による癌や自己免疫性疾患を発症するリスクを評価するために有用であり、適切な対抗処置を講じることを可能にする。

【0068】

従って、本発明は、本発明の前記HCBIウイルスポリ核酸に対して特異的なアンチセンスオリゴヌクレオチド又はiRNAにも関する。

【0069】

適当なアンチセンスオリゴヌクレオチド又はiRNAの生成は、アンチセンス相互作用が生じて所望の作用、例えば、前記ポリヌクレオチドの発現の抑制、が生じる前記HCBIポリ核酸内の単数又は複数の部位の決定を含む。好適な遺伝子内部位は、(a)前記遺伝子のオープンリーディングフレーム(ORF)の翻訳開始又は終止コドンを含む領域、又は(b)「ループ」又は「バルジ(bulge)」であって、即ち、二次構造の一部ではない、mRNAの領域、である。単数又は複数の標的部位が同定されると、その標的に対して十分に相補的な、即ち、十分にハイブリダイズし、十分な特異性を有して所望の作用を提供するオリゴヌクレオチドが選択される。本発明の文脈において、「ハイブリダイゼーション」とは、水素結合を意味し、それは、相補的ヌクレオチド又はヌクレオチド塩基間のWatson-Crick、Hoogsteen又は逆Hoogsteen水素結合とすることができる。ここでの使用において「相補的」とは、二つのヌクレオチド間の正確な対合の能力を指す。例えば、もしも、オリゴヌクレオチドのある位置のヌクレオチドがDNA又はRNA分子の同じ位置のヌクレオチドとの水素結合が可能であるならば、そのオリゴヌクレオチドとDNA又はRNAはその位置において互いに相補的であるとみなされる。各分子中の十分な数の対応の位置が互いに水素結合可能なヌクレオチドによって占められる場合、そのオリゴヌクレオチドおよびDNA又はRNAは、互いに相補的であるとみなされる。従って、「特異的にハイブリダイズ可能な」と「相補的」とは、オリゴヌクレオチドとDNA又はRNA標的との間に安定的かつ特異的な結合が生じるような十分な度合の相補性又は正確な対合を指すために使用される。なお、当該技術において、特異的にハイブリダイズ可能であるために、前記アンチセンス化合物の配列は、その標的核酸のそれに対して100%相補的である必要はない。アンチセンス化合物は、標

10

20

30

40

50

的DNA又はRNA分子に対する当該化合物の結合が標的DNA又はRNA分子の正常な作用を阻害して有用性を失わせる場合に、特異的にハイブリダイズ可能であって、特異的な結合が望まれる、即ち、治療の場合の、条件下においてアンチセンス化合物の非標的配列に対する非特異的結合を回避するためには十分な相補性が存在する。

【0070】

「オリゴヌクレオチド」（特に、アンチセンス化合物の文脈において）は、リボ核酸（RNA）又はデオキシリボ核酸（DNA）又はそのミメティック（mimetics）のオリゴマー又はポリマーを指す。この用語は、自然発生の核酸塩基、糖および共有結合性のヌクレオシド間（主鎖（backbone））結合、更に、同様に作用する非天然発生部分から成るオリゴヌクレオチドを含む。しばしば、修飾又は置換されたオリゴヌクレオチドのほうが、例えば、より高い細胞取り込み、核酸標的に対するより高い親和性、ヌクレアーゼの存在下におけるより高い安定性等の、所望の特性により、天然の形態よりも好ましい。アンチセンスオリゴヌクレオチドが前記アンチセンス化合物の好適な形態ではあるが、本発明は、下記のもののようなオリゴヌクレオチドミメティックを非限定的に含む他のオリゴマーアンチセンス化合物も含む。本発明による前記アンチセンス化合物は、約8～約50の核酸塩基（すなわち、約8～約50の結合したヌクレオシド）を含む。特に好適なアンチセンス化合物は、アンチセンスオリゴヌクレオチドであり、更に好適であるのは、約15～約25の核酸塩基を有するものである。

10

【0071】

アンチセンス化合物は、リボザイム、外部ガイド配列（EGS）、オリゴヌクレオチド（オリゴザイム（oligozyme））、および、その他の短い触媒性RNA又は触媒性オリゴヌクレオチド、標的核酸にハイブリダイズしてその発現を抑制する、を含む。前記アンチセンス化合物は、更に、センス配列とアンチセンス配列とを含むiRNAも含み、ここで、前記センスおよびアンチセンス配列はRNA二重鎖（duplex）を形成し、前記アンチセンス配列は、本発明のHDBIポリ核酸のヌクレオチド配列に対して十分に相補的なヌクレオチド配列を有する。

20

【0072】

或いは、本発明は、例えば、哺乳動物宿主中に、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの転写することを可能にするベクターを提供する。好ましくは、そのようなベクターは、遺伝子療法のためにの有用なベクターである。遺伝子療法に有用な好適なベクターは、ウイルスベクター、例えば、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス、単純ヘルペスウイルス、ワクシニアであり、より好適には、レトロウイルス等のRNAウイルスである。更に好適には、前記レトロウイルスベクターは、マウス又は鳥類のレトロウイルスの誘導體である。本発明において使用することが可能なそのようなレトロウイルスベクターの具体例は、マウス白血病ウイルス（MoMuLV）、ハーベイマウス肉腫ウイルス（HaMuSV）、マウス乳癌ウイルス（MuMTV）およびラウス肉腫ウイルス（RSV）である。最も好適には、マウスベクターと比較してより広い宿主範囲を提供する、テナガザル白血病ウイルス（GaLV）等の非ヒト霊長類レトロウイルスベクターが使用される。組み換えレトロウイルスは欠陥があるので、感染粒子を作り出すためには補助が必要である。そのような補助は、例えば、前記LTR内の調節配列の制御下において前記レトロウイルスの構造遺伝子の全部をコードするプラスミドを含むヘルパー細胞系を使用することによって提供することができる。適当なヘルパー細胞系は当業者に周知である。前記ベクターは、更に、形質導入された細胞が同定できるように、選択可能なマーカーをコードする遺伝子を含むことができる。更に、前記レトロウイルスベクターは、標的的特異的になるように改変することができる。これは、例えば、糖、糖脂質、又はタンパク質、好ましくは、抗体をコードするポリヌクレオチドを挿入することによって達成することができる。当業者は、標的的特異的ベクターを生成するその他の方法を知っている。更にイン・ヴィトロ又はイン・ヴィヴォ遺伝子療法のための適当なベクターおよび方法は、文献に記載されており、当業者に知られている。例えば、WO 94/29469又はWO 97/00957を参照。本発明の前記HDBIポリヌクレオチド配列は、更に、再配列されたHDBI配列のみから又はキメラHDBI宿主細胞DNA配列、から成る適当な

30

40

50

ベクター自身としても役立つ (serve) ことができる。更に、本発明の前記ヌクレオチド配列は、人工染色体の構築のために使用することができる。

【0073】

標的器官のみにおける発現を達成するために、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドの転写のためのDNA配列は、組織特異性プロモータに結合させて、遺伝子療法のために使用することができる。そのようなプロモータは、当業者に周知である。

【0074】

オリゴヌクレオチド構造内において、リン酸基は、一般に、オリゴヌクレオチドのヌクレオシド間主鎖を形成するものとして言及される。RNAおよびDNAの正常なリンク又は主鎖は、3' - 5' ホスホジエステルリンクである。本発明において有用な好適なアンチセンス化合物の好適例は、修飾された主鎖又は非天然ヌクレオシド間結合を含むオリゴヌクレオチドを含む。修飾された主鎖を有するオリゴヌクレオチドは、主鎖にリン原子を保持するもの、および、主鎖にリン原子を有しないもの、を含む。安定性の増大をもたらすことが可能な修飾オリゴヌクレオチド主鎖は、当業者に知られており、好ましくは、そのような修飾はホスホロチオエート結合である。

10

【0075】

好適なオリゴヌクレオチド ミメティックは、優れたハイブリダイゼーション特性を有することが示されているオリゴヌクレオチド ミメティックであり、これはペプチド核酸 (PNA) と称されている。PNA化合物において、オリゴヌクレオチドの糖主鎖は、アミド含有主鎖、特に、アミノエチルグリシン主鎖によって置換される。前記核酸塩基は保持され、前記主鎖のアミド部分のアザ窒素原子に直接又は間接的に結合されている。

20

【0076】

修飾オリゴヌクレオチドは、更に、単数又は複数の置換又は修飾糖成分を含むことができる。好適なオリゴヌクレオチドは、2' 位置に以下のいずれかを有する。OH; F; O-、S-、又はS-アルキル; O-、S-、又はN-アルケニル; O-、S-又はN-アルキニル; 又はO-アルキル-O-アルキル、ここで、前記アルキル、アルケニル、およびアルキニルは、置換又は非置換のC₁ ~ C₁₀アルキル又はC₂ ~ C₁₀アルケニルおよびアルキニルとすることができる。特に好適な修飾糖成分は、2' -O-メトキシエチル糖成分である。

【0077】

本発明のアンチセンス-オリゴヌクレオチドは、また、核酸塩基修飾又は置換を含むことができる。修飾核酸塩基は、他の合成又は天然核酸塩基、5-メチルシトシン (5-me-C)、5-ヒドロキシメチルシトシン、キサントシン、ヒポキサントシン、2-アミノアデニン、アデニンとグアニンの6-メチルおよびその他のアルキル誘導体、2-チオラウシル、2-チオチミン、および2-チオシトシン等のような、を含み、ここで、5-メチルシトシン置換が好適である。その理由はこれらの修飾が核酸二重鎖の安定性を増大させることが示されているからである。

30

【0078】

本発明の前記オリゴヌクレオチドのもう一つの修飾は、前記オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布、又は細胞取り込みを高める単数又は複数の成分又はコンジュゲートのオリゴヌクレオチドに対する化学的リンクを含む。そのような成分は、脂質成分、例えばコレステロール成分、コール酸、チオエーテル、チオコレステロール、脂肪族鎖、例えば、ドデカンジオール又はウンデシル残基、リン脂質、ポリアミン又はポリエチレングリコール鎖等、又は、アダマンタン酢酸、パルミチル成分、又は、オクタデシルアミン又はヘキシルアミノカルボニル-オキシコレステロール成分を含む。

40

【0079】

本発明は、また、キメラ化合物であるアンチセンス化合物も含む。本発明の文脈において、「キメラ」アンチセンス化合物又は「キメラ」とは、そのそれぞれが、少なくとも1つのモノマー単位、即ち、オリゴヌクレオチド化合物の場合には、ヌクレオチドから成る2つ以上の化学的に異なる領域、を含むアンチセンス化合物、特に、オリゴヌクレオチドである。これらのオリゴヌクレオチドは、通常、そこで当該オリゴヌクレオチドがこのオ

50

リゴヌクレオチドに対してヌクレアーゼ分解に対する耐性の増加、細胞取り込みの増加、および/又は、標的核酸に対する結合親和性の増加を与えるべく修飾されている少なくとも1つの領域を含む。前記オリゴヌクレオチドの別の領域が、RNA:DNA又はRNA:RNAハイブリッドを切断することが可能な酵素に対する基質として役立つようにすることも可能である。例えば、RNase Hは、RNA:DNA二重鎖のRNA鎖を切断する細胞エンドヌクレアーゼである。従って、RNase Hの活性化は、RNA標的の切断をもたらす、それによって、遺伝子発現のオリゴヌクレオチド抑制の効率を大幅に増大させる。その結果、同じ標的領域に対してハイブリダイズするホスホロチオエートデオキシオリゴヌクレオチドと比較して、キメラオリゴヌクレオチドが使用された場合、より短いオリゴヌクレオチドで、しばしば同等の結果を得ることが可能である。本発明のキメラアンチセンス化合物は、上述したような、2つ以上のオリゴヌクレオチド、修飾オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオチドミメティックの複合構造物として形成することも可能である。そのような化合物も、当該技術においては、ハイブリッド又はギャップマーと称されている。

10

20

30

40

50

【0080】

本発明は、更に、本発明の抗体又はアンチセンスオリゴヌクレオチドと適当な医薬品添加物 (excipient)、希釈剤、又はキャリアを含む薬用組成物にも関する。好ましくは、薬用組成物において、上述したような化合物は、薬学的に許容可能なキャリアと組み合わせられる。「薬学的に許容可能」とは、活性成分の生物活性の有効性を干渉せず、それが投与される宿主に対して毒性を持たない任意のキャリアを含むと意味される。適当な薬用キャリアの具体例は周知であり、リン酸緩衝生理食塩水、水、油/水エマルジョン等のエマルジョン、種々の湿潤剤、殺菌溶液等を含む。そのようなキャリアは、従来の方法によって製剤することができ、前記活性化合物は、対象体に対して有効投与量で投与することができる。

【0081】

「有効投与量」とは、疾患を防止、又は、その疾患の進行および重症度に影響を与え、それによって、そのような病状の軽減と治療をもたらすのに十分である活性成分の量を指す。これらの疾患又は障害を治療又は予防するのに有用な「有効投与量」は、当業者に知られている方法を使用して決定することができる。

【0082】

適切な組成物の投与は、静脈内、腹腔内、経口、皮下、筋肉内、局所又は皮内投与等の様々な方法で行うことができる。勿論、投与経路は、治療の種類、及び薬用組成物に含まれる化合物の種類に依存する。投与計画は、担当医およびその他の臨床要素によって決定されるであろう。医学分野においてよく知られているように、任意の一人の患者のための投与量は、その患者のサイズ、体表面積、年齢、性別、投与される特定の化合物、投与時間および経路、治療の種類、一般的健康状態、同時に投与されるその他の薬剤を含む、多くの要因に依存する。

【0083】

本発明の好適実施例において、予防/治療可能な前記疾患は癌、好ましくは、大腸、乳、前立腺、および膵癌、又は、CNSの疾患、好ましくは、アルツハイマー病、又は多発性硬化症 (MS) である。ここで用語「癌」および「CNSの疾患」は、そのような疾患の初期段階も含む。

【0084】

本発明者によって出版されたグローバルな疫病データ (zur Hausen, 2012) の編集により、癌、特に結腸癌と、更に、潜在的にはその他のヒトの癌において役割を演じ、ウシ (cattle) からヒトへと牛肉又はその他の酪農製品の消費により伝染する推定感染因子に関する証拠が増大していた。これらの理由により、本発明者等は、まだ知られていない感染物質の存在に関して健全な雌ウシからの130の血清の分析に着手した。最初のシリーズにおいて、図1~5に図示の5つの新規なDNAの単離後、本発明者等は、癌、特に結腸癌由来の細胞中におけるそれらのDNAの存在を探し始めた。それに付随して、多発性硬化症を有する患者からの物質を分析した。多発性硬化症は、影響を受ける患者に対してしばしば破

滅的な結果をもたらす重要なヒト疾患を象徴することから、神経傷害における本発明による単離物の役割、具体的には、もっぱらMSに対する役割がテストされた。その結果、前記配列は、疾患を有する患者においてのみ見られ、これまでのところ、健全な対象体には発見されていない。このことは、癌患者と、CNS疾患を患う患者との両方に当てはまる。

【0085】

本発明は、更に、HCBI感染に対して哺乳動物を免疫するためのワクチンにも関し、これは上に定義した少なくとも1つのポリペプチド又はHCBIポリ核酸を、薬学的な許容可能なキャリア中に有する。

【0086】

「ワクチン」とは、HCBIに対する部分的又は完全な、防護を引き出すことが可能な免疫的組成物である。ワクチンは、また、個人の治療にも有用なものとすることができ、この場合、それは治療用ワクチンと呼ばれる。

【0087】

前記用語「治療用」とはHCBI感染又はこの感染に関連する疾患を治療することが可能な組成物を指す。前記用語「有効量」とは、それが投与される個人において免疫原性応答を誘導するのに十分な、又は、その意図される系（例えば、免疫アッセイ）において検出可能に免疫反応するのに十分な、エピトープ保有ポリペプチドの量を指す。好ましくは、前記有効量は、上述したような治療を行うために十分なものである。正確な必要量は、用途に応じて異なるであろう。ワクチン用途、又はポリクローナル抗血清/抗体の生成のためには、例えば、前記有効量は、その個人の、種、年齢、および一般的条件、治療される状態の重症度、選択される特定のポリペプチド、その投与形態等、に応じて変化するのである。有効量は、比較的大きな非臨床範囲内で見つかるであろう。標準的な実験を使用するだけで適切な有効量を容易に決定することが可能である。HCBIを原因とする疾患の予防用のタンパク質の好適な範囲は、0.01~100 µg/投与 (dose)、好ましくは、0.1~50 µg/投与 (dose) である。十分な免疫応答と、その後のHCBI感染およびHCBI関連疾患に対する防護をそれぞれ達成するためには、各個人に対して複数の投与 (dose) が必要となるかもしれない。

【0088】

薬学的に許容可能なキャリアは、それ自身、ワクチンを受ける個人に対して有害な抗体の産生を誘導しない任意のキャリアを含む。適当なキャリアは、タンパク質、多糖類、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、ポリマーアミノ酸、およびアミノ酸コポリマー等の、通常大きく、ゆっくりと代謝される巨大分子である。そのようなキャリアは当業者に周知である。

【0089】

前記組成物の有効性を高める好適なアジュバントは、非限定的に以下を含む。水酸化アルミニウム (alum)、米国特許第4,606,918号に見られるN-アセチル-ムラミル-L-スレオニル-D-イソグルタミン (thr-MDP)、N-アセチル-ノルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン (nor-MDP)、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン-L-アラニン-2-(1'-2'-ジパルミトイル sn-グリセロ-3-ヒドロキシ-ホスホリルオキシ)-エチルアミン (MPT-PE) およびRIBI、細菌から抽出された3つの成分を含む、モノホスホリルリピドA、トレハロースジミコール酸、および細胞壁骨格 (cell wall skeleton) (MPL+TDM+CW) を、2%スクアレン/Tween80エマルジョン中に含む。前記3つの成分、MPL、TDM又はCWSのいずれかを単体で、又は、2つの組み合わせで使用することも可能である。更に、Stimulon (Cambridge Bioscience, Worcester, MA) 又はSAF-1 (Syntex) 等のアジュバントを使用することができる。更に、非ヒト用途および研究目的のためには、完全フロイントアジュバント (CFA) および不完全フロイントアジュバント (IFA) を使用することができる。

【0090】

前記免疫原性組成物は、通常は、水、食塩水、グリセロール、エタノール等の薬学的に許容可能なビヒクルを含むものとされる。更に、湿潤剤又はエマルジョン化剤、pH緩衝物

10

20

30

40

50

質、保存剤等の補助物質もそのようなビヒクルに含めることができる。

【0091】

通常、前記免疫原性組成物は、液体溶液又は懸濁液として注入可能なものとして作製される。注入の前に、溶液中、懸濁液中、液体用の適切な固体形態を調製することも可能である。前記調製物は、更に、アジュバント作用を高めるために、エマルジョン化又はリボソーム中でカプセル化することも可能である。前記タンパク質を、更に、サポニン、例えば、Quil A (ISCOMS) 等と共に免疫刺激複合体に組み込むことも可能である。

【0092】

ワクチンとして使用される免疫原性組成物は、「十分な量」又は「免疫的有効量」の本発明の前記タンパク質と、更に、必要に応じて、上述した諸成分のその他のものと、とを含む。「免疫的有効量」とは、単一の投与又は一連の投与の一部としての、個人に対するその量の投与が、上述したように、治療のために有効である、ということの意味する。この量は、治療される個人の健康および身体状態、その個人の抗体を形成するための免疫系の能力、望ましい防護の程度、ワクチンの組成、医療状況に対する治療担当医師の評価、その他関連の要素に応じて異なる。その量は、標準的なトライアルを通じて決定することが可能な比較的広い範囲内のものとなることが予想される。通常、その量は、0.01~1000 µg/投与 (dose)、より具体的には、0.1~100 µg/投与 (dose) になるであろう。

10

【実施例】

【0093】

以下の例は、本発明の例示するためのものであって限定するためのものではない。これらの例は、使用可能であるかもしれないもののうちの典型的なものではあるが、それらに代えて、当業者に知られている他の方法を利用することも可能である。

20

【0094】

例 1

材料と方法

(A) 密度-沈降勾配に基づくウシ (bovin) 血清の分画とその後のクローニング

ウシ (bovin) 血清を、以前に記載されているように (Buck et al., 2004)、Optiprep (イオジキサノール) ステップ勾配に基づいて分離した。フラクションを収集し、DNAを抽出した。制限酵素BamH1およびEcoR1による消化の前に、各フラクションに対してローリングサークル増幅を行った (de Villiers et al., 2011)。その結果得られたフラグメントを配列決定の前に、pUC18又はpUC19にクローニングした。

30

【0095】

(B) HCBI1.225のイン・ヴィトロ複製 (de Villiers et al., 2011)

直鎖全長HCBI1.225を、293TT細胞 (Lipofectamine) にトランスフェクションした。培養物を、2~3日毎に継代させた。継代時の細胞のフラクションからDNAとRNAを抽出した。インプットDNAを、Dpn1消化によって除去した。HCBI1.225のDNAとRNAは、細胞培養において17日目まで示された。

【0096】

例 2

HCBI配列の特徴付け

40

“Veternaerinstitut der Universitaet Leipzig” (Mueller教授) から得た健全な雌ウシからの120の血清をスクリーニングし、ウイルス粒子の精製、DNA抽出および「ローリングサークル」増幅 (de Villiers et al., 2011) 後、サイズの異なるウイルスDNAの相互作用している可能性のある環状分子が単離された。これらの成分の前記5つのDNA配列とオープンリーディングフレームは、ヒツジ、ウシ (cattle)、およびヒト (Manuelidis, 2011) のTSE疾患につき伝染性海綿状脳症 (TSE) に関して既に記載された配列に対して認識可能な関係を示した。これらの物質は、それ以上は特徴付けられず、「Sphinxウイルス」と命名された。本発明において健康な雌ウシから得られた前記DNA配列 (およびオープンリーディングフレーム) は、Maunuelidisによって記載された対応の配列に対する相同性を示すが同じではないことから、名称HCBI (Healthy Cattle Blood Isolate) が提案され

50

る。

【0097】

この文脈において、前記CNSの疾患（例えば、多発性硬化症、アルツハイマー病）は非常に興味深い。なぜなら、Maunuelidisによって記載された類似の配列がCNSにも主としてみられるからである。

【0098】

前記「Sphinx」配列（Maunuelidis, 2011）は、細菌アシネトバクター（*Acinetobacter*）（Vallenet et al., 2008; Longkummer et al., 2013）のプラスミド配列に対する高い相同性を示す。本発明において得られた配列は、更に、前記対応のプラスミド配列に対する際立った相同性も示す。従って、一見すると、前記結果は前記サンプルのアシネトバクターウイルスの汚染によるものであると推測する誘惑に駆られる。それまでに多くのアシネトバクタープラスミドが配列決定されているが、これらの配列のいずれも三つの異なる血清のバッチから得られた本発明の前記DNA配列に対応しない。最初、これらのDNAの単離は、密度勾配遠心分離によるウイルスの精製によって達成されたものであるため、雌ウシ血清の血液中のこれらのウイルスの見かけ上の共通の存在は、細菌由来のウイルス汚染に必ずしも帰することができない。更に、ヒト癌細胞中のこれらのウイルスのDNA配列の存在は、そのような解釈とは相いれない。

【0099】

興味深いことに、英国の科学者グループが、アシネトバクターのタンパク質に対するが、多発性硬化症を患う患者から得られた他の細菌抗原に対するものではない抗体の選択的
形成の増大を示す長年にわたる血清学データを発表した（論文記事：Ebringer et al., 2012を参照）。これらの結果は、Chapmanのグループによっては確認することができなかった（Chapman et al., 2005）。しかしながら、Chapmanのグループは異なる菌株（strain）のアシネトバクター（アシネトバクター・カルコアセティカス（*Acinetobacter calcoaceticus*））を使用したということを強調しておかなければならない。3菌株のアシネトバクターに関して明白な結果が、Ebringerのグループによって得られた（アシネトバクター・イオフィイ（*Acinetobacter lwofifiii*）、A.レイディオレジステンズ（*A. radioesistens*）および特定の単離物（specific isolate）、A. 11171）。しかしながら、A. ジュニー（*A. junii*）17908に関して得られた結果はそれほど印象的なものではなく、有意な反応性はほとんど検出できなかった（Hughes et al., 2001）。これらの結果は、われわれ
が扱っているのは、この血清反応性が本発明において得られたDNA配列に対する相同性を示す菌株特異的プラスミドによるものである、菌株特異的反応性である、ということを示唆している。

【0100】

参考文献

Buck CB, Pastrana DV, Lowy DR, Schiller JT. Efficient intracellular assembly of papillomaviral vectors. *J. Virol.* 2004; 78:751-757.

Chapman MD, Hughes LE, Wilson CD, Namnyak S, Thompson EJ, Giovannoni G. No evidence for production of intrathecal immunoglobulin G against *Acinetobacter* or *Pseudomonas* in multiple sclerosis. *Eur Neurol.* 2005; 53(1):27-31.

de Villiers EM, Borkosky SS, Kimmel R, Gunst K, and Fei JW. (2011) The diversity of Torque teno viruses: In vitro replication leads to the formation of additional replication-competent subviral molecules. *J Virol* 2011; 85(14): 7284-7295

Ebringer A, Hughes L, Rashid T, Wilson C. *Acinetobacter* Immune Responses in Multiple Sclerosis: Etiopathogenetic Role and Its Possible Use as a Diagnostic Marker.

Arch Neurol. 2005; 62:33-36.

10

20

30

40

50

Ebringer A, Rashid T, Wilson C. The role of *Acinetobacter* in the pathogenesis of multiple sclerosis examined by using Popper sequences. *Med Hypotheses*. 2012; 78(6):763-769.

Hughes, L.E., Bonell, S., Natt, R.S., Wilson, C, Tiwana, H., Ebringer, A., Cunningham, P., Chamoun, V., Thompson, E.J., Croker, J., and Vowles, J. Antibody responses to *Acinetobacter* spp. and *Pseudomonas aeruginosa* in multiple sclerosis: prospects for diagnosis using the myelin-*Acinetobacter*-neurofilament antibody index. *Clin. Diagn. Laboratory Immunol.* 2001; 8: 1181-1188.

10

Longkumer T, Kamireddy S, Muthyala VR, Akbarpasha S, Pitchika GK, Kodetham G, Ayaluru M, Siddavattam D. *Scientific Reports* 2013; 3:2240.

Manuelidis L. Nuclease resistant circular DNAs copurify with infectivity in scrapie and CJD. *J. Neurovirol.* 2011; 17:131-145.

Wold, MS. Replication protein A: heterotrimeric, single-stranded DNA-binding protein required for eukaryotic DNA metabolism. *Ann. Review Biochem.* 1997; 66:61-92

20

Vallenet D, Nordmann P, Barbe V, Poirel L, Mangenot S, Bataille E, Dossat C, Gas S, Kreimeyer A, Lenoble P, Oztas S, Poulain J, Segurens B, Robert C, Abergel C, Claverie J-M, Raoult D, Medigue C, Weissenbach J, Cruveiller S. Comparative analysis of *Acinetobacter*s : three genomes for three lifestyles. *PLoS One* 2008; 3(3): e1805-e1805.

Xu B, Zhi N, Hu G, Wan Z, Zheng X, Liu X, Wong S, Kajigaya S, Zhao K, Mao Q, Young NS. Hybrid DNA virus in Chinese patients with seronegative hepatitis discovered by deep sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110: 10264-9.

30

Zur Hausen et al., *The Search for infectious causes of human cancer: Where and Why*, *Virology* 2009, Vol. 392, No. 1: 1-10

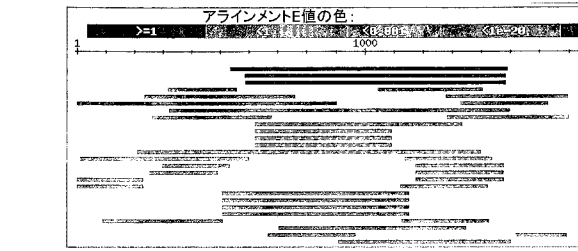
zur Hausen H. Red meat consumption and cancer: Reasons to suspect involvement of bovine infectious factors in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2012; 130:2475-2483.

zur Hausen H. *World Cancer Report*, IARC, Lyon, 2013.

Whitley C, Gunst K, Mueller H, Funk M, zur Hausen H, de Villiers EM.: Novel replication-competent circular DNA molecules from healthy cattle serum and milk and multiple sclerosis-affected human brain tissue. *Genome Announc.* 2014 Aug 28;2(4). pii: e00849-14. doi: 10.1128 /genomeA.00849-14.

40

【図 2 - 4】



EMSTD UNC:Hq444405 Begin: 1 End: 885
 I Hq444405 75E-associated circular DN... 1438 1868 2309 1706.3 5.3e-89
 EMSTD PRO:CU459139 Begin: 226 End: 1032
 I Cu459139 Acinetobacter baumannii st... 1194 1691 1655 1222.6 4e-62
 EMSTD PRO:JN872565 Begin: 240 End: 1072
 I JN872565 Acinetobacter baumannii st... 1234 1990 1624 1200.2 8.6e-61
 EMSTD UNC:Hq444405 Begin: 1846 End: 2175 Strands: -
 I Hq444405 75E-associated circular DN... 513 580 520 384.2 2.3e-15

EMSTD UNC:Hq444405
 ID Hq444405; SV 1; 環状 ; ゲノムDNA ; STD; UNC; 2364 BP.
 AC Hq444405;
 DE TSE関連運状DNA単離物Sphinx 2.38 , 完全配列.
 スコア zスコア : 1222.6 E(): 4e-62
 >>EMSTD UNC:Hq444405 (2364 nt)
 892ntオーバーラップにおける74.1%同一性 (566-1451:1-885)

```

HCB12.170 540 550 560 570 580 590
TAGAATATCACGTTTGGACTTTTGAACATAGACCGAAGC-TACAAGAACATATTGTG
Hq444405 540 550 560 570 580 590
TAGATCTAACATCGCAAGAACATATTGTG
10 20 30

HCB12.170 600 610 620 630 640 650
GGAGCGAGGTGATTTCAAACTCGAAGGTGAAATGAGACATCCATTAAGCGCTTTAAGG
Hq444405 600 610 620 630 640 650
GGAGCGAGGTGATTTCAAACTCGAAGGTGAAATGAGACATCCATTAAGCGCTTTAAGG
AGCTTGGAGATGAACTATCAAGCGCTTTAAGG
40 50 60 70 80

HCB12.170 660 670 680 690 700 710
CTGCAACCAAAATTAAGGAGTGGGGTCAATTTGGTATTCCATCACTACACAAATGG
Hq444405 660 670 680 690 700 710
CTGCAACCAAAATTAAGGAGTGGGGTCAATTTGGTATTCCATCACTACACAAATGG
CTGCAACCAAAATTAAGGAGTGGGGTCAATTTGGTATTCCATCACTACACAAATGG
90 100 110 120 130 140

HCB12.170 720 730 740 750 760 770
ACCAAGTAAACTGCTAAGCGCATTTATGTTCCAGCATTTGCTTGGCCATATCTGGG
Hq444405 720 730 740 750 760 770
ACCAAGTAAACTGCTAAGCGCATTTATGTTCCAGCATTTGCTTGGCCATATCTGGG
ATCAAACTCAAGCTCAAAATTCACCGTATCGGACGACATTTGCTATGTTCCAAATGTTG
150 160 170 180 190 200

HCB12.170 780 790 800 810 820 830
CTGGGTAAAGGCTGCTAAGTCAATGATGATGTTCAAGCTATTGAAGAATGATGC
Hq444405 780 790 800 810 820 830
CTGGGTAAAGGCTGCTAAGTCAATGATGATGATGTTCAAGCTATTGAAGAATGATGC
CTGGGTAAAGGCTGCTAAGTCAATGATGATGATGTTCAAGCTATTGAAGAATGATGC
210 220 230 240 250 260

HCB12.170 840 850 860 870 880 890
GTACAGATCCCAAAATTAAGGCGGCTATTGATCACTTTAACCGTTAAGAATGGGGAGCC
Hq444405 840 850 860 870 880 890
GTACAGATCCCAAAATTAAGGCGGCTATTGATCACTTTAACCGTTAAGAATGGGGAGCC
GTACAGATCCCAAAATTAAGGCGGCTATTGATCACTTTAACCGTTAAGAATGGGGAGCC
270 280 290 300 310 320

HCB12.170 900 910 920 930 940 950
TAGAGAAGCGCTTAAACA-CTTAGACGCTCATTTAGGACGCTTTTAGATCGTATACG
Hq444405 900 910 920 930 940 950
TAGAGAAGCGCTTAAACA-CTTAGACGCTCATTTAGGACGCTTTTAGATCGTATACG
TACAAGAACGCTTTGACACCTCACAGGCTCATTTAGGACGCTTTTAGACGCTTACGCTG

```

【図 2 - 6】

```

CU459139 ACACCAATTAACAATTAACCTGCGAAGTCCAAAGCTTGTAGAGCATTTGTTATGTC
320 330 340 350 360 370

HCB12.170 770 780 790 800 810 820
CTATGCTGCTGGTGAAGGCTGCTAAGTCAATGAGTACATATGTTCAAGGTTATGAG
CU459139 770 780 790 800 810 820
CGTGTGCTGGTGAAGGCTGCTAAGTCAATGAGTACATATGTTCAAGGTTATGAGTAC
380 390 400 410 420 430

HCB12.170 830 840 850 860 870 880
AATTGATGCTGAGAAATCGCAAAATTAAGGCGGCTATTGATCACTTTAACCGTTAAGA
CU459139 830 840 850 860 870 880
AATTGATGCTGAGAAATCGCAAAATTAAGGCGGCTATTGATCACTTTAACCGTTAAGA
AAGTCTTATCGAAATGCTGCTTAAAGCGGCTTATGATGCTTAAAGCGGCTTAAAGG
440 450 460 470 480 490

HCB12.170 890 900 910 920 930 940
GGGAGAGCTAGAAAGCGGCTTAAACA-CTTAGACGCTCATTTAGGACGCTTTTAGATC
CU459139 890 900 910 920 930 940
GGGAGAGCTAGAAAGCGGCTTAAACA-CTTAGACGCTCATTTAGGACGCTTTTAGATC
500 510 520 530 540 550

HCB12.170 950 960 970 980 990 1000
GTTATACAGATTACAAAAGAGGCTGGTGTATTAACTCAATTCGCAAGATGATGGTGG
CU459139 950 960 970 980 990 1000
GTTATACAGATTACAAAAGAGGCTGGTGTATTAACTCAATTCGCAAGATGATGGTGG
600 610 620 630 640 650

HCB12.170 1010 1020 1030 1040 1050 1060
CTTTTTTATCCACAGAAATACCTCAATTCGCAAAAGAGGCTGGTGGTGGTGGTGGTGG
CU459139 1010 1020 1030 1040 1050 1060
CTTTTTTATCCACAGAAATACCTCAATTCGCAAAAGAGGCTGGTGGTGGTGGTGGTGG
660 670 680 690 700 710 720 730

HCB12.170 1130 1140 1150 1160 1170 1180
GACATTTACCCTGGATCTTATATGATGATGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
CU459139 1130 1140 1150 1160 1170 1180
GACATTTACCCTGGATCTTATATGATGATGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
740 750 760 770 780 790

HCB12.170 1190 1200 1210 1220 1230 1240
GGCTATGCAAAAGCTGTCAGAGAGTTGTAATATGCTCTTAAGTTAGTATGTTGCA
CU459139 1190 1200 1210 1220 1230 1240
GGCTATGCAAAAGCTGTCAGAGAGTTGTAATATGCTCTTAAGTTAGTATGTTGCA
800 810 820 830 840 850

HCB12.170 1250 1260 1270 1280 1290 1300
CTTGAGATACGTTGGGAGGCTTATCTTCTTAAAGGTAATAGGCTTATGCTGCTTTT
CU459139 1250 1260 1270 1280 1290 1300
CTTGAGATACGTTGGGAGGCTTATCTTCTTAAAGGTAATAGGCTTATGCTGCTTTT
860 870 880 890 900 910

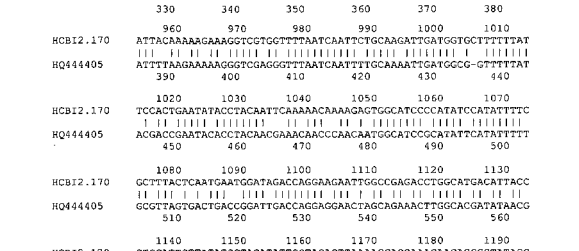
HCB12.170 1310 1320 1330 1340 1350 1360
GGTCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
CU459139 1310 1320 1330 1340 1350 1360
GGTCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
920 930 940 950 960 970

HCB12.170 1370 1380 1390 1400 1410 1420
GATCTCTTATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
CU459139 1370 1380 1390 1400 1410 1420
GATCTCTTATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
980 990 1000 1010 1020 1030

HCB12.170 1430 1440 1450 1460 1470 1480
CACTTGGCATTCGCAACAGCAATCAAAATTTTCGATTTAGGAGCTTAAAGCTGCC
CU459139 1430 1440 1450 1460 1470 1480
CACTTGGCATTCGCAACAGCAATCAAAATTTTCGATTTAGGAGCTTAAAGCTGCC
1040 1050 1060 1070 1080 1090

EMSTD PRO:JN872565
ID JN872565; SV 1; 環状 ; ゲノムDNA ; STD; PRO; 2252 BP.
AC JN872565;
DE アシネトバクテリウム株 DS002 プラスミド pT5238 , 完全配列 .
```

【図 2 - 5】



EMSTD UNC:Hq444405 Begin: 1 End: 885
 I Hq444405 75E-associated circular DN... 1438 1868 2309 1706.3 5.3e-89
 EMSTD PRO:CU459139 Begin: 226 End: 1032
 I Cu459139 Acinetobacter baumannii st... 1194 1691 1655 1222.6 4e-62
 EMSTD PRO:JN872565 Begin: 240 End: 1072
 I JN872565 Acinetobacter baumannii st... 1234 1990 1624 1200.2 8.6e-61
 EMSTD UNC:Hq444405 Begin: 1846 End: 2175 Strands: -
 I Hq444405 75E-associated circular DN... 513 580 520 384.2 2.3e-15

EMSTD UNC:Hq444405
 ID Hq444405; SV 1; 環状 ; ゲノムDNA ; STD; PRO; 2726 BP.
 AC Hq444405;
 DE アシネトバクテリウム株 AYE プラスミド p4ABAYE , 完全ゲノム
 スコア zスコア : 1222.6 E(): 4e-62
 >>EMSTD PRO:CU459139 (2726 nt)
 830ntオーバーラップにおける67.7%同一性 (618-1447:240-1072)

```

HCB12.170 960 970 980 990 1000 1010
ATTTCGAAAAGAGGCTGGTGGTAACTCAATTCGCAAAATGATGCGGCTTTTAT
Hq444405 960 970 980 990 1000 1010
ATTTCGAAAAGAGGCTGGTGGTAACTCAATTCGCAAAATGATGCGGCTTTTAT
390 400 410 420 430 440

HCB12.170 1020 1030 1040 1050 1060 1070
TCACGCAATTAACCTCAACATCAAAACAAAGAGTGGCCATCCCATCATTTTC
Hq444405 1020 1030 1040 1050 1060 1070
TCACGCAATTAACCTCAACATCAAAACAAAGAGTGGCCATCCCATCATTTTC
450 460 470 480 490 500

HCB12.170 1080 1090 1100 1110 1120 1130
GCCTTACTCAATGAATGATGACCGGAGAAATGCGCGAGACTGGCATGACATTACC
Hq444405 1080 1090 1100 1110 1120 1130
GCCTTACTCAATGAATGATGACCGGAGAAATGCGCGAGACTGGCATGACATTACC
510 520 530 540 550 560

HCB12.170 1140 1150 1160 1170 1180 1190
CTGGATCTTATATGCTAGATATTCGATAGATTAAGAGGCAACAGGCGGATGAC
Hq444405 1140 1150 1160 1170 1180 1190
CTGGATCTTATATGCTAGATATTCGATAGATTAAGAGGCAACAGGCGGATGAC
630 640 650 660 670 680

HCB12.170 1260 1270 1280 1290 1300 1310
ACCGGGAGGC-TTACGTTCTTTAAGGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
Hq444405 1260 1270 1280 1290 1300 1310
ACCGGGAGGC-TTACGTTCTTTAAGGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
690 700 710 720 730 740

HCB12.170 1320 1330 1340 1350 1360 1370
GTATGGTCTCAAGTTCGCTGAAAACCTCAGACAGATTTACCCCTGATGATTCCTATA
Hq444405 1320 1330 1340 1350 1360 1370
GTATGGTCTCAAGTTCGCTGAAAACCTCAGACAGATTTACCCCTGATGATTCCTATA
750 760 770 780 790 800

HCB12.170 1380 1390 1400 1410 1420
TATGAGGCTGATACCGTTTCTTCTTGGTAAAATAACATTTACGCGC---ACTTGCC
Hq444405 1380 1390 1400 1410 1420
TATGAGGCTGATACCGTTTCTTCTTGGTAAAATAACATTTACGCGC---ACTTGCC
810 820 830 840 850 860

HCB12.170 1430 1440 1450 1460 1470 1480
ATTGCAACCAAGCAATCAAAATTTTCGATTTAGGAGCTTTAAAGCTCCCGCATATCA
Hq444405 1430 1440 1450 1460 1470 1480
ATTGCAACCAAGCAATCAAAATTTTCGATTTAGGAGCTTTAAAGCTCCCGCATATCA
870 880 890 900 910 920

EMSTD PRO:CU459139
ID CU459139; SV 1; 環状 ; ゲノムDNA ; STD; PRO; 2726 BP.
AC CU459139;
DE アシネトバクテリウム株 AYE プラスミド p4ABAYE , 完全ゲノム . . . .  

  スコア zスコア : 1222.6 E(): 4e-62  

  >>EMSTD PRO:CU459139 (2726 nt)  

  830ntオーバーラップにおける67.7%同一性 (618-1447:240-1072)
```

【図 2 - 7】

```

CU459139 ACACCAATTAACAATTAACCTGCGAAGTCCAAAGCTTGTAGAGCATTTGTTATGTC
320 330 340 350 360 370

HCB12.170 770 780 790 800 810 820
CTATGCTGCTGGTGAAGGCTGCTAAGTCAATGAGTACATATGTTCAAGGTTATGAG
CU459139 770 780 790 800 810 820
CGTGTGCTGGTGAAGGCTGCTAAGTCAATGAGTACATATGTTCAAGGTTATGAGTAC
380 390 400 410 420 430

HCB12.170 830 840 850 860 870 880
AATTGATGCTGAGAAATCGCAAAATTAAGGCGGCTATTGATCACTTTAACCGTTAAGA
CU459139 830 840 850 860 870 880
AATTGATGCTGAGAAATCGCAAAATTAAGGCGGCTATTGATCACTTTAACCGTTAAGA
AAGTCTTATCGAAATGCTGCTTAAAGCGGCTTATGATGCTTAAAGCGGCTTAAAGG
440 450 460 470 480 490

HCB12.170 890 900 910 920 930 940
GGGAGAGCTAGAAAGCGGCTTAAACA-CTTAGACGCTCATTTAGGACGCTTTTAGATC
CU459139 890 900 910 920 930 940
GGGAGAGCTAGAAAGCGGCTTAAACA-CTTAGACGCTCATTTAGGACGCTTTTAGATC
500 510 520 530 540 550

HCB12.170 950 960 970 980 990 1000
GTTATACAGATTACAAAAGAGGCTGGTGTATTAACTCAATTCGCAAGATGATGGTGG
CU459139 950 960 970 980 990 1000
GTTATACAGATTACAAAAGAGGCTGGTGTATTAACTCAATTCGCAAGATGATGGTGG
600 610 620 630 640 650

HCB12.170 1010 1020 1030 1040 1050 1060
CTTTTTTATCCACAGAAATACCTCAATTCGCAAAAGAGGCTGGTGGTGGTGGTGGTGG
CU459139 1010 1020 1030 1040 1050 1060
CTTTTTTATCCACAGAAATACCTCAATTCGCAAAAGAGGCTGGTGGTGGTGGTGGTGG
660 670 680 690 700 710 720 730

HCB12.170 1130 1140 1150 1160 1170 1180
GACATTTACCCTGGATCTTATATGATGATGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
CU459139 1130 1140 1150 1160 1170 1180
GACATTTACCCTGGATCTTATATGATGATGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
740 750 760 770 780 790

HCB12.170 1190 1200 1210 1220 1230 1240
GGCTATGCAAAAGCTGTCAGAGAGTTGTAATATGCTCTTAAGTTAGTATGTTGCA
CU459139 1190 1200 1210 1220 1230 1240
GGCTATGCAAAAGCTGTCAGAGAGTTGTAATATGCTCTTAAGTTAGTATGTTGCA
800 810 820 830 840 850

HCB12.170 1250 1260 1270 1280 1290 1300
CTTGAGATACGTTGGGAGGCTTATCTTCTTAAAGGTAATAGGCTTATGCTGCTTTT
CU459139 1250 1260 1270 1280 1290 1300
CTTGAGATACGTTGGGAGGCTTATCTTCTTAAAGGTAATAGGCTTATGCTGCTTTT
860 870 880 890 900 910

HCB12.170 1310 1320 1330 1340 1350 1360
GGTCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
CU459139 1310 1320 1330 1340 1350 1360
GGTCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
920 930 940 950 960 970

HCB12.170 1370 1380 1390 1400 1410 1420
GATCTCTTATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
CU459139 1370 1380 1390 1400 1410 1420
GATCTCTTATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
980 990 1000 1010 1020 1030

HCB12.170 1430 1440 1450 1460 1470 1480
CACTTGGCATTCGCAACAGCAATCAAAATTTTCGATTTAGGAGCTTAAAGCTGCC
CU459139 1430 1440 1450 1460 1470 1480
CACTTGGCATTCGCAACAGCAATCAAAATTTTCGATTTAGGAGCTTAAAGCTGCC
1040 1050 1060 1070 1080 1090

EMSTD PRO:CU459139
ID CU459139; SV 1; 環状 ; ゲノムDNA ; STD; PRO; 2726 BP.
AC CU459139;
DE プロジェクト:PRJNA28921;
DT 26-FEB-2005 (Rel. 94, 作製)
DT 05-NOV-2010 (Rel. 106, 最終アップデート, バージョン2)
DE アシネトバクテリウム株 AYE プラスミド p4ABAYE , 完全ゲノム . . . .  

  スコア zスコア : 1222.6 E(): 4e-62  

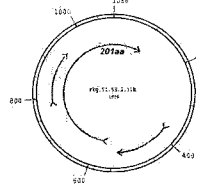
  >>EMSTD PRO:CU459139 (2726 nt)  

  830ntオーバーラップにおける66.9%同一性 (1656-1403:2380-2634)
```

【図3-1】

HCBI3.108 (rkg.T1.5E.2.11k) (1082bp)

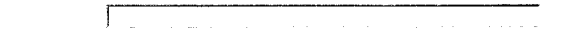
CGCAGTCTC ACGACCGAG TTATGAAGT TCGATTCTC CCCCCTCGA AAAACCGCTT TAAAAATAT TGGTGCTAG
ATGCTTTTA CTGCTGAG CTCTTCCTT TAAAAAACA CAGCGCAGC GACTTCAZG TCGCTTTTG GGGTTTGGG
GGGCTTCCC CCGAACAAC ATCAGCGAGT GGAATTTAT CAGCGTAGG AAAAAGTCC CTTCTGTAT CTTGCTTAT
TTCTTTTAA ACCTTGAAC TTTTCCCGT AATTGAAGA AATGCCCCC CGACTAGCT TCGTTAGCA AAAAAGTTG
AGCAAGCA AACATAGCG CAATTTTAT GATGAAATG GCGTTTTRG CTTTAAAT GCTTTTAGG CTTTTRAGA
TCTGAACG CAGCCCTGC AAGGACTCA GAGCGGATTT AAGCCSFTT ACCTACCAT ACCCCAGCT TTACTRACA
ATCCCCACC GTTACTCTC CAATACCCA CCGTTTACC ACCTATAC ACATAATAT TTTTATGCG TATAACCTRA
TAAATATAT AGTGGTTTA TGAGTATT ATATGATAA GATAACGCC TAATGAACG TAGTTTAACT TTAGCTTGG
TTGAACGCG GTTATTTCT TTAGCTATC TTGAAGTAG AGAATCAGC AAAGAAATA ACCCAATGA CCGCTTTCA
GTCAGTCA ACGATTAT CAATCAATT GGTGACTCA GAGAGACTG TTATCAAGC CTAAGAAGT CCGCAAGA
TTATTTCG CCGCAATCA CCGATCAGA AAGCGTGA CCGGACGAC CTAATATAC AAGCTGTGC CTCACCCAA
TTGCTTACT TGTAAACT GCACCGGTT AGTTTATT CCCCCTGCG CTTGTTCCAC TGAATCAGG TTTAGAGGA
CAATTTCGA AGTACGAT TGAACAAT ATAGTCTAT CAGTGCCTA TGCATGCG TATATGAGT TTTGATCTG
CTGGAGACA ACGGAAGA CACCGTAT TACTTAACA GAATTC



ORF 201 アミノ酸 - 推定複製タンパク質, DNA結合ドメイン
Sphinx 1.76 (324aa) に対する類似性 = 88.2% in 169aa

Table with 2 columns: Accession numbers (e.g., SPHINX1.76.324.PEP) and amino acid sequences.

BLASTN2:



【図3-3】

Query: 333 acatagggcaattttcatgatgaaatgggcttttaaggcttttaaatgcttttaaggt 392
Sbjct: 362 acatagggcaattttcatgaaatgggcttttaaggcttttaaatgcttttaaggt 421
Query: 393 ttttagacatgct 404
Sbjct: 422 ttttagacatgct 433

スコア = 167 ビッツ (84), 期待値 = 3e-37
同一性 = 132/149 (88%), ギャップ = 1/149 (0%)
鎖=プラス/プラス

Query: 1 gggagtgctacagcgaagtattgaaagtctgatcttccccctctgaaaaaccgctt 60
Sbjct: 26 gggagtgctacagcgaagtattgaaagtctgatcttccccctctgaaaaaccgctt 84
Query: 61 ttaaaaaataggctgtagatggtttttactatctgagcttttctttmnnnnhca 120
Sbjct: 85 ttaaaaaataggctgtagatggtttttactatctgagcttttcttttaaaaaaaca 144
Query: 121 cgagcgaagcgaattcaatgcttcttctt 149
Sbjct: 145 cgagcgaagcgaattcaatgcttcttctt 173

>>>nrmuc:GI_347602264 G1|347602264|gb|JN541297.1|未培養細菌プラスミドクローン
SeqID=26 ゲノム配列 . 0/0
鎖長 = 1214
スコア = 281 ビッツ (142), 期待値 = 7e-72
同一性 = 157/162 (96%)
鎖=プラス/プラス

Query: 273 tttagaagaattgcccctcgactagcttgcataaaaaagtttagcaaaagcgaaa 332
Sbjct: 869 tttagcagaattgcccctcgactagcttgcataaaaaagtttagcaaaagcgaaa 928
Query: 333 acatagggcaattttcatgatgaaatgggcttttaaggcttttaaatgcttttaaggt 392
Sbjct: 929 acatagggcaattttcatgaaatgggcttttaaggcttttaaatgcttttaaggt 988
Query: 393 ttttagacatgctgaaacgcaagcttagcaggcaccacagagg 434
Sbjct: 989 ttttagacatgctgaaacgcaagcttagcaggcaccacagagg 1030

スコア = 167 ビッツ (84), 期待値 = 3e-37
同一性 = 132/149 (88%), ギャップ = 1/149 (0%)
鎖=プラス/プラス

Query: 1 gggagtgctacagcgaagtattgaaagtctgatcttccccctctgaaaaaccgctt 60
Sbjct: 590 gggagtgctacagcgaagtattgaaagtctgatcttccccctctgaaaaaccgctt 648
Query: 61 ttaaaaaataggctgtagatggtttttactatctgagcttttctttmnnnnhca 120
Sbjct: 649 ttaaaaaataggctgtagatggtttttactatctgagcttttcttttaaaaaaaca 708
Query: 121 cgagcgaagcgaattcaatgcttcttctt 149
Sbjct: 709 cgagcgaagcgaattcaatgcttcttctt 737

【図3-2】



>>>nrmuc:GI_313507477 G1|313507477|gb|HQ44404.1|TSE-associated... 321 9e-84
>>>nrmuc:GI_347602264 G1|347602264|gb|JN541297.1|Uncultured bac... 281 7e-72
>>>nrmuc:GI_313507477 G1|313507477|gb|HQ44404.1|TSE関連様状DNA単離物
Sphinx 1.76 完全配列 . 0/0
鎖長 = 1758
スコア = 321 ビッツ (162), 期待値 = 9e-84
同一性 = 372/442 (84%)
鎖=プラス/プラス

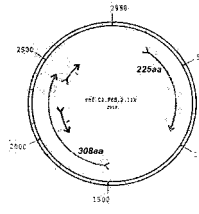
Sbjct: 578 ttaagagtgatttaagtagtaaaagaataagcccaataagcaagctagttaactagagct 637
Sbjct: 604 ttaagagtgatttaagtagtaaaagaataagcccaataagcaagctagttaactagagct 663
Query: 638 tggtagaacagcggtaatttttagctatccctgaagctaggaatcaggcaaaagaa 697
Sbjct: 664 tggtagaacagcggtaatttttagctatccctgaagctaggaatcaggcaaaagaa 723
Query: 698 ttaagcaaatgacctctacagctcagagagcttaatacaactaattgtagatg 757
Sbjct: 724 ttaagcaaatgacctctacagctcagagagcttaatacaactaattgtagatg 783
Query: 758 cttagacagctgcttcaagcccaaaagagctcctcaaaagatttattgcccctcaat 817
Sbjct: 784 aaagcctacagcctcaagcccaaaagagctcctcaaaagatttattgcccctcaat 843
Query: 818 tcaagctatcaagaagaagcgtgaagctgagcagcttaatacaactaattgtagatg 877
Sbjct: 844 tcaagctatcaagaagaagcgtgaagctgagcagcttaatacaactaattgtagatg 903
Query: 878 aaattgcttcaatgtagaactgcaacgctgaggttatttttgcocctcgaggtgttc 937
Sbjct: 904 aaattgcttcaatgtagaactgcaacgctgaggttatttttgcocctcgaggtgttc 963
Query: 938 caactgacacaaggttagaggaacaactctcgaagctagatattgaaacaattagtagc 997
Sbjct: 964 caactgacacaaggttagaggaacaactctcgaagctagatattgaaacaattagtagc 1023
Query: 998 tctagcagctatgacagcttgc 1019
Sbjct: 1024 tctagcagctatgacagcttgc 1045

スコア = 170 ビッツ (86), 期待値 = 2e-38
同一性 = 121/132 (91%), ギャップ = 3/132 (2%)
鎖=プラス/プラス
Query: 273 tttagaagaattgcccctcgactagcttgcataaaaaagtttagcaaaagcgaaa 332
Sbjct: 305 tttagcagaattgcccctcgactagcttgcataaaaaagtttagcaaaagcgaaa 361

【図4-1】

HCBI4.296 rmf.C2.F8E.2.31k (2958bp)

CTGAGACGC AAGAAAGAT CCGTTTTGT GTATTGAACA TCTTGACT GCATCCACG AATSGGACG CTGGGACCT
GAAAGAGAA CIGCATTTT TGAACATCA AAGAAATGC TTGAAGCAA ATATGATAA AAAAATGCG TCAATACAC
GATTCATAGA GATGAACAAA CTCACATTT AGTTGCGAT GTTGTCCC TGACGAGA AACGGGCGT TAAATGCTA
AAAAATTTA TGTGTGATC GCACATACAC TTTCACAGT CGACATGAT TTTGAGTGG AATGAAAGA TTTAGATTA
GATCCGGCG TAGAGGGAG CAAGCAAAA CTAACCTTA TCAAGATA TTTAGAAA TTAACAAAT ATGAAATGA
ACAGGCTT GAAAGAGCG TCACTATGA AGCTGCTGA CCGTGTTT TGAATGTA AATGCTTAC GTGAGAGAG
TCCGAGAGC TGTGGTCTC CAGATAATT ATCAATATG ACCTGATTC GAAATGCTA ATTTATGCG TAGCAACA
AAAAATTA AAAAAAGCT GTTAAACCT AGAAAACCG TTGATGAT ACAGAACGA GCARAACCT ATTGGATAT
AATCAACGA TATAACATC CAATCTTGA GAAGAAATT AATAGCAAG TTGCAAAAT AAGAAATAT TTTGATTCAG
CACTGACCA TCAATGCTC TTAAGACG AAGAAACGA AAGAAATTT AAGCAACAC GTAAATGCG CTAATATG
CAATTAGG AAGCAACAAA AAAAAACCT GTTGGCAG AAGCGAAGA AAGCAACCT TTGACTATT TAGACCTGA
AGATTAAGA AATCAGCGA AATATGAGC TAARAACCT GATAATGCA ATAAACGA CTACTACCC TCATATACC
COTTTAACG CAATAAAGC GGGGTTTTA GCGCTTTTC GCGTTTATG CATAAATA TARTGAAT AAAAAATGC
TGTGACAG CAATATGA CAGTTTTGC AGCTTTTGC AGCGAACA TGAATATGC CTAATATG CATAAATA
CCTTTTGC TCTTTTGC TTTGGAGAG ACTTGTAG GAGTGTAC GAGGAGATA TTTGATTT TCGCTTAAA
AAGATGAG CATAGCGAAT GCATATCTA TGTTTTGC TTGATTTG CTTTGAAC GACAGGACA AGCGGCTGC
CATAGCTT GATTTTGC TTTTGGCT TTAATGTT TTAATGCT TTAAGTCT TTAGATGCT TTAGATGCT TGAAGCAT
CCTACATA TCTTTCAG CTAATAGA TCAAGATTC TGTATATA TTTGATTA AATGCTAT CTTGCTTA AAGATGA
TCTCTGCTA TAAAGATACA GATCTTGC ATTAAGATC ATGCTATC TTAATATC TTAATATC TTAATATC
ATACATAA TGAATAATG GTTAGTAGT AAGATAATG CTTAATGAA TGGCAGCT AATTTAGAG TAACAGACA
CGCTTAATA CTCTAGCA TCAATGTC AAGAAACA GCGCAAGCA TTAGCTAGA TGAACAATA GAATATGCT
CTAGCATC TGTGCTG TCAAGGTC AAGAAACAC ACTTATGC CACTTAAA GTGCTGAA TATTTT
GAGGCAAT TTTCTTAG AAGAAACA AAAAAAGCA CTGCTATG ACCTGACA TGGTTAGA GAATTAATA
AATGATAG CAGCAATAC TTGAATCAC TTTTGGCT GAGTGTAC CATTATAC TGTATGCT CTTTGAAC GACAGGACA
CAGTATCA AATCAAGCA ATAGCACG TTAAGATA TCACTATC CTTTATAT AACTTATC TCGTGGCA
ACTACGCA AACTGACT CTAATAGA TCAAGATTC TGTATATA TTTGATTA AATGCTAT CTTGCTTA AAGATGA
GACACTTT AAGAGCGCT TATTAGCG CTCTATAG CAGTATCA GATGATCA CATTCTGCT ACOTATGAC
AGCAATAAA AGGGCGACA ATTACAGCT TTTCTTAG ATTAAGAG AAGCAACA CAATAAAT AAGACTAC
AAGATACA ALCACCTGA CTTTTTAT AAAAAAGC ATGCTAGC CATTATTC GTCACAAA TTTCTGAA
CGCAAGAT GGGATATC CAGAGGTC AAGAAACAC ACTTATGC CACTTAAA GTGCTGAA TATTTT
CTGAATAA CAGAGACT TATCAATT TGAATAAG CCGATCAA GAATGATTA AAGAAATTA ACAAATTC
AAGAAAGAT TTTGCTACA GACAAATCT CTAGCTGA AATGAACTA AAGAAATTT CTGACTTCA AAAAAACA
TATGCGAC CCGTCAAAA AAGTATGCT GATTAGAA ATGATATA TCGAATCA ABAATGCTT ATACAGCT
AAGGCTAT AGGGCTAG GCGAGATC CCGTATCA TCACTTCA ATGACTTT AGGCTTGA AAGTGAGT
GATGCCAT CCGTATGCA AAGCTAAA ACCTGCTA TCGTGTCT TTTGGTAT GACTATACA AAGTATTT
GCTATTTG GTATTCAA ATGAAATG TTTGACAG TCGGCTAG TTTTGCAT AATTAAGCA ATGAAAGAC
GTAAATCA GATGATGCT GTACTCATT GAATGACAT AGCTAGATA CAAGCAAAA ATGATGCT GAAATG



1361ntオーバーラップにおけるアシネトバクター・バウマニSDFプラスミド
p3ABSDF(24922bp)に対する89%のヌクレオチド類似性

946bpオーバーラップにおけるシネトバクター・バウマニATCC11978 プラスミド
pAB1 (13408 bp)に対する70%のヌクレオチド類似性

ORFs:
308 アミノ酸 Sphinx 1.76 (324 aa) に対する58%の類似性 複製タンパク質
225 アミノ酸 動員タンパク質(mob)

【図4-2】

308 アミノ酸 Sphinx 1.76 (324 aa)に対する58%の類似性 複製タンパク質

Table with 2 columns: Sphinx 1.76 (324 aa) and Sphinx 1.76 (324 aa). Rows show amino acid sequences for various proteins like SPHINX1.76.324.PEP, HCSLDIVKDN, etc.

FastA *Geall



EMHMG_HUM:AL391558 Begin: 42149 End: 43446 Strand: -
! AL391558 Human DNA sequence *** SEQ... 1068 2897 2878 2016.7 2.3e-108
EMSTD_PRO:CU468233 Begin: 275 End: 1601
! Cu468233 Acinetobacter baumannii SD... 1182 3120 2725 1914.3 1.1e-101
EMSTD_PRO:CP000522 Begin: 1 End: 957
! Cp000522 Acinetobacter baumannii AT... 946 1947 2123 1492.1 6.9e-78
EMSTD_PRO:EF138630 Begin: 121 End: 1303
! EF138630 Acinetobacter baumannii Is... 570 1739 2096 1473.3 8.4e-77
EMSTD_PRO:JX069966 Begin: 90 End: 1272

【図4-4】

Table showing sequence alignment between rmf.C2.F8E.2 and AL391558. Rows include sequence coordinates and amino acid sequences for both sequences.

【図4-3】

Table showing sequence alignment between rmf.C2.F8E.2 and AL391558. Rows include sequence coordinates and amino acid sequences for both sequences.

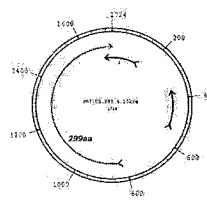
【図4-5】

Table showing sequence alignment between EMSTD_PRO:CU468233 and EMSTD_PRO:CP000522. Rows include sequence coordinates and amino acid sequences for both sequences.

【図5-1】

HCB15.173 rmf.C2.F8E.5.23kr (1724 bp)

Genomic map of HCB15.173 showing a circular arrangement of genes. Key genes include C01A01, C01A02, C01A03, C01A04, C01A05, C01A06, C01A07, C01A08, C01A09, C01A10, C01A11, C01A12, C01A13, C01A14, C01A15, C01A16, C01A17, C01A18, C01A19, C01A20, C01A21, C01A22, C01A23, C01A24, C01A25, C01A26, C01A27, C01A28, C01A29, C01A30, C01A31, C01A32, C01A33, C01A34, C01A35, C01A36, C01A37, C01A38, C01A39, C01A40, C01A41, C01A42, C01A43, C01A44, C01A45, C01A46, C01A47, C01A48, C01A49, C01A50, C01A51, C01A52, C01A53, C01A54, C01A55, C01A56, C01A57, C01A58, C01A59, C01A60, C01A61, C01A62, C01A63, C01A64, C01A65, C01A66, C01A67, C01A68, C01A69, C01A70, C01A71, C01A72, C01A73, C01A74, C01A75, C01A76, C01A77, C01A78, C01A79, C01A80, C01A81, C01A82, C01A83, C01A84, C01A85, C01A86, C01A87, C01A88, C01A89, C01A90, C01A91, C01A92, C01A93, C01A94, C01A95, C01A96, C01A97, C01A98, C01A99, C01A100.



以下に対するヌクレオチド配列類似性

デンドロクトス・ボンドロセ (Dendroctonus ponderosae) ゲノムDNA 70% in 605bp
アシネバクター・バウマニ SDF プラスミド p3ABSDF (GI_169150781) 74% in 367bp, 72% in 403 and 77% in 71bp

Table showing sequence similarity for 299 amino acid regions. It includes columns for '299 アミノ酸', 'Sphinx 1.76 (324aa) に対する 49% の類似性', and '複製タンパク質'. The table lists specific amino acid sequences and their corresponding similarity percentages and protein names.

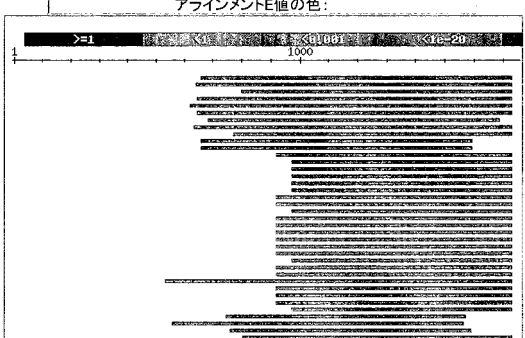
【図5-3】

BLAST alignment results for the 299 amino acid regions. The table shows sequence alignments between the query and various database entries, including accession numbers, lengths, and similarity percentages. Key entries include GU978996, rmf.C2.F8E.5, and others.

【図5-2】

FASTA alignment results for the 299 amino acid regions. It shows sequence alignments for various database entries, including accession numbers and similarity percentages. Key entries include HCB15.173.299.pep, Sphinx 1.76.324.pep, and others.

FastA *Geall



EMSTD PRO:GU978996 alignment results. The table shows alignment scores for various database entries, including accession numbers, lengths, and similarity percentages. Key entries include GU978996, Sphinx 1.76.324.pep, and others.

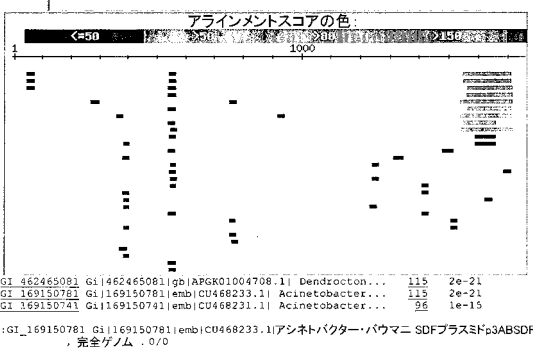
EMSTD PRO:GU978996 alignment results. The table shows alignment scores for various database entries, including accession numbers, lengths, and similarity percentages. Key entries include GU978996, Sphinx 1.76.324.pep, and others.

【図5-4】

EMSTD PRO:GU978996 alignment results. The table shows alignment scores for various database entries, including accession numbers, lengths, and similarity percentages. Key entries include GU978996, Sphinx 1.76.324.pep, and others.

EMSTD PRO:GU978996 alignment results. The table shows alignment scores for various database entries, including accession numbers, lengths, and similarity percentages. Key entries include GU978996, Sphinx 1.76.324.pep, and others.

BLASTN2:



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2014/002912

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. C12Q1/68 ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BIOSIS, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	BRASSARD ET AL: "Molecular detection of bovine and porcine Torque teno virus in plasma and feces", VETERINARY MICROBIOLOGY, ELSEVIER BV, NL, vol. 126, no. 1-3, 19 November 2007 (2007-11-19), pages 271-276, XP022351086, ISSN: 0378-1135, DOI: 10.1016/J.VETMIC.2007.07.014 the whole document	1-15
X	SCHUURMAN R ET AL.: "Bovine polyomavirus, a frequent contaminant of calf serum", BIOLOGICALS, vol. 19, 1991, pages 265-270, XP002723221, the whole document	1-15
	----- -/--	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents :		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 22 April 2015		Date of mailing of the international search report 04/05/2015
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Reuter, Uwe

4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/002912

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	LEARY T P ET AL.: "Improved detection systems for TT virus reveal high prevalence in humans, non-human primates and farm animals", JOURNAL OF GENERAL VIROLOGY, vol. 80, 1999, pages 2115-2120, XP002723222, the whole document -----	1-15
X	FUCHS M ET AL.: "Detection of bovine herpesvirus 1 in blood from naturally infected cattle by using a sensitive PCR that discriminates between wild-type virus and virus lacking glycoprotein E", JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, vol. 37, no. 8, August 1999 (1999-08), pages 2498-2507, XP002723223, the whole document -----	1-15
X	SPRADBROW P B ET AL: "Skin cancer and papillomaviruses in cattle", JOURNAL OF COMPARATIVE PATHOLOGY, ACADEMIC PRESS, LONDON, GB, vol. 97, no. 4, 1 July 1987 (1987-07-01), pages 469-479, XP022995403, ISSN: 0021-9975, DOI: 10.1016/0021-9975(87)90025-9 [retrieved on 1987-07-01] the whole document -----	1-15
X	GIOVANNY M ET AL.: "Bovine leukemia virus gene segment detected in human breast tissue", OPEN JOURNAL OF MEDICAL MICROBIOLOGY, vol. 3, March 2013 (2013-03), pages 84-90, XP002723224, the whole document -----	1-15
X	ZUR HAUSEN H: "Red meat consumption and cancer: reasons to suspect involvement of bovine infectious factors in colorectal cancer", INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER, vol. 130, 2012, pages 2475-2483, XP002723225, cited in the application the whole document -----	1,2,8
	----- -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2014/002912

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	ZUR HAUSEN ET AL: "The search for infectious causes of human cancers: Where and why", VIROLOGY, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 392, no. 1, 15 September 2009 (2009-09-15), pages 1-10, XP026541903, ISSN: 0042-6822, DOI: 10.1016/J.VIROL.2009.06.001 [retrieved on 2009-08-29] abstract * see specifically page 9, left column, last paragraph, to right column, first paragraph *	1,2,8
X	----- "Viren in Rindfleisch können Darmkrebs verursachen", ONLINE FOCUS 4 March 2012 (2012-03-04), XP002723226, Retrieved from the Internet: URL:http://www.focus.de/gesundheit/news/darmkrebs-forscher-vermutet-krebserreger-in-rindfleisch_aid_720424.htm] [retrieved on 2014-04-10] abstract -----	1,2,8

INTERNATIONAL SEARCH REPORTInternational application No.
PCT/EP2014/002912**Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

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

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

see additional sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/ EP2014/ 002912

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

1. claims: 1-15(partially)

An HCBI polynucleotide according to SEQ ID NO:1 (HCBI1.225), a nucleotide sequence of at least 90% identity, or a fragment thereof; a primer, probe, expression vector, host cell, encoded polypeptide, antibody, antisense oligonucleotide, pharmaceutical composition, or vaccine, being part of, hybridizing to, detecting, being encoded or being related to SEQ ID NO:1, and suitable uses thereof; as well as methods for detecting such HCBI polynucleotide or encoded polypeptide.

2-5. claims: 1-15(partially)

Invention 2:

An HCBI polynucleotide according to SEQ ID NO:33 (HCBI2.170), a nucleotide sequence of at least 90% identity, or a fragment thereof; a primer, probe, expression vector, host cell, encoded polypeptide, antibody, antisense oligonucleotide, pharmaceutical composition, or vaccine, being part of, hybridizing to, detecting, being encoded or being related to SEQ ID NO:1, and suitable uses thereof; as well as methods for detecting such HCBI polynucleotide or encoded polypeptide.

...

idem inventions 3-5

invention 3 refers to SEQ ID NO:55 (HCBI3.108)

invention 4 refers to SEQ ID NO:68 (HCBI4.296)

invention 5 refers to SEQ ID NO:72 (HCBI5.173)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
C 0 7 K 14/005 (2006.01)	C 0 7 K 14/005	4 C 0 8 7
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 H 0 4 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 5/10	
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68	A
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	M
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D
A 6 1 P 25/00 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	N
A 6 1 P 25/28 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 K 31/7105 (2006.01)	A 6 1 P 25/28	
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	N
A 6 1 K 35/14 (2015.01)	A 6 1 K 31/7105	
	A 6 1 K 37/02	
	A 6 1 K 48/00	
	A 6 1 K 35/14	Z

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

(72)発明者 デ・フィリールス, エテル ミシエル
 ドイツ連邦共和国 6 9 4 8 3 ヴァルト ミヒェルバツハ アイヒェンシュトラーセ 1
 (72)発明者 ゲンスト, カリン
 ドイツ連邦共和国 6 9 4 9 3 ヒルシュベルク オーバーガッセ 2
 (72)発明者 フンク, マティス
 フランス エフ 6 7 4 0 0 イルキルシュ リュ・ドウ・ミュゲ 1 7
 (72)発明者 ランベルト・ペレッツ, イランツ
 ドイツ連邦共和国 6 9 1 2 0 ハイデルベルク グンドルフシュトラーセ 7

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA18 QQ01 QQ42 QR08 QR42 QR50 QR55 QR62 QR66
 QS03 QS25 QS34 QS36 QX01
 4B065 AA01X AA87X AA95Y AB01 AC14 AC20 BA02 CA24 CA25 CA44
 CA45 CA46
 4C084 AA01 AA02 AA13 MA52 MA66 NA14 ZA012 ZA022 ZA162 ZA662
 ZA682 ZA812 ZB262
 4C085 AA03 AA13 AA14 BB11 CC23 EE01 GG01 GG02 GG03 GG04
 GG05 GG06 GG08
 4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA52 MA66 NA14 ZA01 ZA02
 ZA16 ZA66 ZA68 ZA81 ZB26
 4C087 AA01 AA02 BB34 MA52 MA66 NA14 ZA01 ZA02 ZA16 ZA66
 ZA68 ZA81 ZB26

4H045 AA11 AA30 CA01 CA40 DA75 DA86 EA20 EA21 EA29 EA31
EA50 EA51 FA71 FA74

专利名称(译)	癌症和CNS疾病和HCBI序列未来进展的早期标志物作为癌症治疗和预防的靶标		
公开(公告)号	JP2017500883A	公开(公告)日	2017-01-12
申请号	JP2016549626	申请日	2014-10-30
[标]申请(专利权)人(译)	德国癌症研究公共权益基金会		
申请(专利权)人(译)	Doitchesu 约扫描文件夹中顺集团 曾托时间		
[标]发明人	ツアハウゼンハラルト デフィリールスエテルミシエル グンストカリン フンクマティス ランベルトペレツイランツ		
发明人	ツア・ハウゼン,ハラルト デ・フィリールス,エテル-ミシエル グンスト,カリン フンク,マティス ランベルト・ペレツ,イランツ		
IPC分类号	C12N15/09 C12N15/113 C07K16/08 C07K16/18 C07K14/47 C07K14/005 C12N1/21 C12N5/10 C12N1/19 C12N1/15 C12Q1/68 G01N33/53 A61P35/00 A61P25/00 A61P25/28 A61K39/395 A61K31/7105 A61K38/00 A61K48/00 A61K35/14		
CPC分类号	A61P25/00 A61P25/28 C12Q1/6883 C12Q1/701 C07K14/47 C07K16/18 C12N15/113 C12N2310/11 C12N2310/14		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N15/00.G C07K16/08 C07K16/18 C07K14/47 C07K14/005 C12N1/21 C12N5/10 C12N1/19 C12N1/15 C12Q1/68.A G01N33/53.M G01N33/53.D G01N33/53.N A61P35/00 A61P25/00 A61P25/28 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K31/7105 A61K37/02 A61K48/00 A61K35/14.Z		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ01 4B063/QQ42 4B063/QR08 4B063/QR42 4B063/QR50 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR66 4B063/QS03 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX01 4B065/AA01X 4B065/AA87X 4B065/AA95Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/AC20 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA45 4B065/CA46 4C084/AA01 4C084/AA02 4C084/AA13 4C084/MA52 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA012 4C084/ZA022 4C084/ZA162 4C084/ZA662 4C084/ZA682 4C084/ZA812 4C084/ZB262 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BB11 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG05 4C085/GG06 4C085/GG08 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/MA52 4C086/MA66 4C086/NA14 4C086/ZA01 4C086/ZA02 4C086/ZA16 4C086/ZA66 4C086/ZA68 4C086/ZA81 4C086/ZB26 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BB34 4C087/MA52 4C087/MA66 4C087/NA14 4C087/ZA01 4C087/ZA02 4C087/ZA16 4C087/ZA66 4C087/ZA68 4C087/ZA81 4C087/ZB26 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/CA01 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA86 4H045/EA20 4H045/EA21 4H045/EA29 4H045/EA31 4H045/EA50 4H045/EA51 4H045/FA71 4H045/FA74		
优先权	2013005138 2013-10-30 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

描述了HCBI (健康牛血液分离株) 核苷酸序列, 以及包括这些核苷酸序列的部分的探针和引物, 以及针对这些核苷酸序列编码的多肽的抗体。该化合物可用作癌症和中枢神经系统疾病未来发展的早期标志物, 作为癌症治疗和预防的靶标。

(5) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	Z N A A 4 B 0 6 3
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/00	G 4 B 0 6 5
C O 7 K 16/08 (2006.01)	C O 7 K 16/08	4 C 0 8 4
C O 7 K 16/18 (2006.01)	C O 7 K 16/18	4 C 0 8 5
C O 7 K 14/47 (2006.01)	C O 7 K 14/47	4 C 0 8 6
	審査請求 有	予備審査請求 未請求 (全 34 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2016-549626 (P2016-549626)	(71) 出願人	512151403
(86) (22) 出願日	平成26年10月30日 (2014.10.30)		ドイツエス・クレープスフォルシュング
(85) 翻訳文提出日	平成28年4月26日 (2016.4.26)		スツェントルム
(86) 国際出願番号	PCT/EP2014/002912		DEUTSCHES KREBSFORS
(87) 国際公開番号	W02015/062726		CHUNGSZENTRUM
(87) 国際公開日	平成27年5月7日 (2015.5.7)		ドイツ連邦共和国 69120 ハイデル
(31) 優先権主張番号	13005138.6		ベルク イム・ノイエンハイマー・フェルト
(32) 優先日	平成25年10月30日 (2013.10.30)		ト 280
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	110001818
			特許業務法人R&C
		(72) 発明者	ツァ・ハウゼン、ハラルト
			ドイツ連邦共和国 69483 ヴァルト
			- ミヒェルハッハ アイヒンシュトラー
			セ 1
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌と CNS の疾患の将来の進行のための初期マーカーおよび治療および予防のための標的としての H C B 1 配列