

(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2006-506042

(P2006-506042A)

(43) 公表日 平成18年2月23日(2006.2.23)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B 0 2 4
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	C 1 2 M 1/00 A	4 B 0 2 9
C 1 2 Q 1/04 (2006.01)	C 1 2 Q 1/04	4 B 0 6 3
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 D	
G O 1 N 33/569 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 25 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2003-582184 (P2003-582184)	(71) 出願人	590002013
(86) (22) 出願日	平成15年3月19日 (2003.3.19)		ソシエテ デ プロデュイ ネットスル ソ
(85) 翻訳文提出日	平成16年12月8日 (2004.12.8)		シエテ アノニム
(86) 国際出願番号	PCT/EP2003/002882		スイス国シーエイチー1800 プベイ,
(87) 国際公開番号	W02003/084989		ピー. オー. ボックス 353
(87) 国際公開日	平成15年10月16日 (2003.10.16)	(74) 代理人	100066692
(31) 優先権主張番号	02 007 932.3		弁理士 浅村 皓
(32) 優先日	平成14年4月9日 (2002.4.9)	(74) 代理人	100072040
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		弁理士 浅村 肇
		(74) 代理人	100102897
			弁理士 池田 幸弘
		(74) 代理人	100088926
			弁理士 長沼 暉夫
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 La 1 -ラクトバシルス株のゲノム

(57) 【要約】

本発明は、微生物と微生物がコロニーを形成する宿主との相互作用を解明するための、さらにそのような株が示す共生性の基礎を解明するための、ラクトバシルス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*) 株の DNA 配列の使用、特にそのゲノム配列の使用に関する。さらに本発明は、乳酸菌と関連種の核酸またはポリペプチドを検出する方法に関する。La 1 のヌクレオチド配列および/またはポリペプチド配列を含むデータキャリアーが提供される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

宿主と細菌との相互作用を解明するための、配列番号 1 で特定される DNA 配列、またはその一部、またはこれに相同な配列の使用。

【請求項 2】

相互作用は、細菌株のプロバイオティクス性、好ましくは免疫系の刺激、抗病原性、および/または抗ウイルス性に基づく、請求項 1 記載の使用。

【請求項 3】

配列は、配列番号 1 の番号付けに基づき、ヌクレオチド 1 ~ 5 4 5 9 6、5 6 0 7 0 ~ 7 7 4 3 0、8 1 3 0 2 ~ 3 0 8 5 3 7、3 0 9 5 8 8 ~ 3 4 2 7 5 7、3 7 8 4 5 8 ~ 3 8 9 2 1 7、3 8 9 7 7 9 ~ 4 0 4 5 1 0、4 0 5 5 6 1 ~ 5 0 1 1 1 6、5 0 3 8 7 3 ~ 5 5 8 1 9 4、5 6 3 2 6 2 ~ 6 9 6 5 1 8、6 9 7 5 6 9 ~ 7 2 1 7 3 6、7 2 2 7 8 7 ~ 7 5 6 8 4 5、7 6 1 6 8 2 ~ 8 6 0 4 4 6、8 6 0 7 2 3 ~ 8 6 5 5 5 0、8 6 7 2 6 0 ~ 8 6 7 4 9 0、8 6 8 5 4 1 ~ 1 4 4 8 2 8 8、1 4 6 3 8 5 1 ~ 1 5 2 6 0 7 7、1 5 2 7 2 7 8 ~ 1 5 5 2 0 2 4、1 5 6 3 1 4 7 ~ 1 8 0 9 1 1 5、1 8 1 0 1 6 6 ~ 1 8 5 8 1 9 0、1 8 6 3 2 5 8 ~ 1 8 7 2 8 7 1、1 8 7 7 9 3 9 ~ 1 9 3 0 4 3 0、1 9 3 2 0 6 3 ~ 1 9 8 3 0 4 3 よりなる群から選択される、配列番号 1 の断片である、請求項 1 または 2 のいずれかに記載の使用。

【請求項 4】

生物学的試料中のラクトバシルス (*Lactobacillus*) 株、好ましくはラクトバシルス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*) の検出、同定および/または選択方法であって：

(a) 試料に、配列番号 1 により特定されるポリヌクレオチド配列由来のヌクレオチド配列を、ポリメラーゼ酵素とヌクレオチドとの存在下で、ヌクレオチドの伸長を可能にする条件下で接触させ；そして

(b) 試料中の伸長産物の存在を検出する（ここで、プライマー伸長産物の検出は、試料中にラクトバシルス (*Lactobacillus*) 株が存在することを示す）

ことを含む上記方法。

【請求項 5】

生物学的試料中のラクトバシルス (*Lactobacillus*) 株、好ましくはラクトバシルス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*) の検出、同定および/または選択方法であって：

(a) 試料に、配列番号 1 により特定されるポリヌクレオチド配列由来のヌクレオチド配列を、相補的塩基対のハイブリダイゼーションを可能にする条件下で接触させ；そして

(b) 試料中のハイブリダイゼーション複合体の存在を検出する（ここで、ハイブリダイゼーション複合体の検出は、試料中にラクトバシルス (*Lactobacillus*) 株が存在することを示す）

ことを含む上記方法。

【請求項 6】

生物学的試料中のラクトバシルス (*Lactobacillus*) 株、好ましくはラクトバシルス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*) の検出、同定および/または選択方法であって：

(a) 試料に、配列番号 1 由来のポリペプチドに対して作成した抗体を、免疫複合体の形成に適した条件下で接触させ；そして

(b) 試料中の免疫複合体の存在を検出する（ここで、免疫複合体の検出は、試料中にラクトバシルス (*Lactobacillus*) 株が存在することを示す）

ことを含む上記方法。

【請求項 7】

生物学的試料中のラクトバシルス (*Lactobacillus*) ポリペプチドに対する抗体の検出、同定および/または選択方法であって：

(a) 試料に、請求項 4 または 5 で産生されるポリペプチドを、免疫複合体の形成に適した条件下で接触させ；そして

(b) 試料中の免疫複合体の存在を検出する（ここで、免疫複合体の検出は、試料中にラクトバシルス（Lactobacillus）ポリペプチドが存在することを示す）
ことを含む上記方法。

【請求項 8】

少なくとも配列番号 1 由来のポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチドのアレイを含有する DNA アレイ / チップ。

【請求項 9】

配列番号 1 由来の読みとり枠により特定されるポリペプチドを発現することにより得られ得るポリペプチドの少なくとも 1 つを含むポリペプチドのアレイを含有するタンパク質アレイ / チップ。

10

【請求項 10】

配列番号 1 の読みとり枠を発現することにより得られ得るポリペプチドに対する少なくとも 1 つの抗体を含む抗体のアレイを含有する抗体チップ。

【請求項 11】

(a) 試験化合物に、配列番号 1 により特定されるポリヌクレオチドを、またはその一部を接触させ；そして

(b) 結合が起きることを検出する、
ことを含むスクリーニング測定法。

20

【請求項 12】

(a) 試験化合物に、配列番号 1 由来の読みとり枠を発現することにより得られ得るポリペプチドを接触させ；そして

(b) 結合が起きることを検出する、
ことを含むスクリーニング測定法。

【請求項 13】

(a) 試験化合物に、配列番号 1 由来の読みとり枠を発現することにより得られ得るポリペプチドに対して作成された抗体を接触させ；そして

(b) 結合が起きることを検出する、
ことを含むスクリーニング測定法。

30

【請求項 14】

配列番号 1 により特定されるポリヌクレオチドまたはその一部を含むキット。

【請求項 15】

ポリヌクレオチドはプライマーまたはプローブであり、キットは任意にポリメラーゼとデオキシヌクレオチド三リン酸とを含む、請求項 13 記載のキット。

【請求項 16】

配列番号 1 の読みとり枠を発現することにより得られ得るポリペプチドに対して作成した抗体を含むキット。

【請求項 17】

配列番号 1 により特定される核酸配列、またはその一部、または配列番号 1 により特定されるヌクレオチド配列由来のポリペプチド配列を記録しているコンピューター読み取り可能な媒体。

40

【請求項 18】

該媒体は以下よりなる群から選択される、請求項 17 記載のコンピューター読み取り可能な媒体：

- (a) フロッピー（登録商標）ディスク；
- (b) ハードディスク；
- (c) ランダムアクセスメモリー（RAM）；
- (d) リードオンリーメモリー（ROM）；および
- (e) CD-ROM。

50

【請求項 19】

以下の要素を含む、ラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) ゲノムの断片を同定するためのコンピューターベースのシステム：

(a) 配列番号 1 により特定される核酸配列を含むデータ保存手段；

(b) 標的配列を相同配列を同定するための工程 (a) のデータ保存手段のヌクレオチド配列と比較するための探索手段；および

(c) 段階 (b) の該相同配列を得るための検索手段。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、微生物と微生物がコロニーを形成する宿主との相互作用を解明するための、さらにそのような株が示す共生性の基礎を解明するための、ラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) 株の DNA 配列の使用、特にそのゲノム配列の使用に関する。さらに本発明は、乳酸菌と関連種の核酸またはポリペプチドを検出する方法に関する。La 1 のヌクレオチド配列および / またはポリペプチド配列を含むデータ担体が提供される。

【背景技術】

【0002】

乳酸菌 (すなわちその (発酵) 活動中に乳酸を産生する微生物) は昔から知られており、例えばラクトコッカス (*Lactococcus*) 属、ラクトバシルス (*Lactobacillus*) 属、連鎖球菌 (*Streptococcus*) 属、ビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*) 属およびペディオコッカス (*Pediococcus*) 属を含む。これらの細菌は、通常乳汁および乳汁加工工場、死んだ植物または朽ちていく植物で顕著であり、ヒトや動物の腸内細菌叢の成分である。

【0003】

乳酸菌は、その発酵活動中に pH を低下させる利点と、生成する生成物の作用とを利用して、食物の保存用物質として使用されており、例えば腐敗細菌の増殖を阻害する。さらに乳酸菌はまた、種々の異なる食物、例えば乳汁からチーズ、ヨーグルトおよび他の発酵乳製品を製造するのに使用されている。

【0004】

最近いくつかの乳酸菌株は、摂取するとヒトや動物に有用な性質を示すことがわかってきたため大いに注目されている。特にラクトバシルス (*Lactobacillus*) 属とビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*) 属の特定の株は、消化管の上部で破壊されずに、特に胃の低 pH の影響を受けることなく、生存活性のある生きた状態で消化管を通過できることがわかった。さらにこれらは、小腸粘膜にコロニー形成することがわかり、その消化管の一時的または持続的存在が、生物の健康に無数の良い影響を与えると考えられている。これらの株は、まとめてプロバイオティクス (probiotics) と呼ばれる。

【0005】

EP 0768375 号は、小腸の細菌叢に移植可能なビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*) 属のそのような特異的な株を開示する。このビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*) 株は免疫調節を助け、小腸細胞への病原性細菌の付着を競合的に排除でき、従って個体の健康の維持を支持すると報告されている。

【0006】

ビフィドバクテリウム (*Bifidobacterium*) 以外にも、ラクトバシルス (*Lactobacillus*) のいくつかの株が、ヒトに好ましい性質 (例えば、病原性細菌による消化管のコロニー形成を防止するかまたはロタウイルス感染を妨害する) を示すことがわかっている。特に PCT/EP 02/00958 号は、この両方の性質を有する株を開示する。

【0007】

最近数年間食物業界は、そのような株を乳飲料または発酵酸性乳製品のような製品に応用している。これらの製品および / または細菌株を用いた臨床試験は、この種の細菌がインビボでの健康促進性の原因であり、潰瘍のような疾患と戦うのに使用されていることを

10

20

30

40

50

確認した。特にラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) 属の株は、ヒトの潰瘍の原因であることが認められているヘリコバクター (*Helicobacter*) と戦うことができることが証明された。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

乳酸菌の特定の株が提供するこれらの有用な性質から、これらの健康促進性の分子的基礎を解明することに対して、当該分野に強い要求が存在する。特にこれらの作用に關与する物質を調べることは大いに興味があるであろう。このためには、これらの微生物をより詳細に研究して、プロバイオティクス性（宿主との相互作用、しかし中の異なる環境を通過（生存）できる現象、ならびに小腸粘膜に付着できること、そして最終的に免疫系や病原体に対する防御性を増強すること）（この情報は、これらの機構をさらに理解することを可能にするであろう）の基礎をなす分子的原理を解明するための、手段が必要である。

10

【0009】

従って本発明の問題は、ヒトおよび/または動物に有益な性質を示す細菌株について実質的なデータを提供することである。

上記問題はプロバイオティック株ラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) La 1 を構成する DNA 配列を提供することにより解決された。

【課題を解決するための手段】

【0010】

ある態様において本発明は、細菌と宿主、好ましくは乳酸菌と宿主、さらに好ましくはラクトバシルス (*Lactobacillus*) と宿主との相互作用を解明するための、特にそのような株のプロバイオティクス性の原因である因子を測定するための、配列番号 1 の配列を有する乳酸菌ラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) La 1 ゲノムのヌクレオチド配列、その一部、またはその相同的配列の使用に関する。

20

【0011】

本出願においてゲノムまたはゲノム配列という用語は、ラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) の染色体の配列を意味すると理解される。ヌクレオチド配列、ポリヌクレオチドまたは核酸という用語は、種々の長さの 2 本鎖 DNA、1 本鎖 DNA または該 DNA の転写生成物（約 5 ~ 200、好ましくは 10 ~ 100 ヌクレオチドの長さのオリゴヌクレオチドを含む）を意味する。

30

【0012】

本発明において相同的ヌクレオチド配列は、配列番号 1 の配列（またはその選択された部分）と、少なくとも 90%、好ましくは少なくとも 95%、さらに好ましくは 96%、およびさらに好ましくは少なくとも 98% のパーセント同一性を有するヌクレオチド配列を意味すると理解される。該相同物は、例えばラクトバシルス (*Lactobacillus*)、さらに好ましくはラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) 種に属するゲノム配列またはその断片の配列に対応する配列、ならびに関連する種に属する細菌のゲノム配列またはその代表的な断片の配列に対応する配列を含む。

【0013】

従ってこれらの相同配列は、同じ種内のまたは種間の変異に連結した変化に対応し、特に少なくとも 1 つのヌクレオチドの末端切断、置換、欠失および/または付加に対応する。相同配列はまた、その科、種、または変種に特異的であり、ラクトバシルス (*Lactobacillus*) 中に存在する可能性のある、遺伝コードの縮重または遺伝コードの偏りに連結した変化に対応する。

40

【0014】

タンパク質および/または核酸配列相同物は、当該分野で公知の種々の配列比較アルゴリズムおよびプログラムの任意のものを使用して評価してもよい。そのようなアルゴリズムおよびプログラムには、特に限定されないが、TBLASTN、BLASTP、FASTA、TFASTA、および CLUSTALW がある（例えば、ピアソン (Pearson) と

50

リップマン (Lipman)、1988, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85(8):2444-2448;アルトシュル (Altschul) ら、1990, J. Mol. Biol. 215(3):403-410;トンプソン (Thompson) ら、1994, Nucleic Acids Res. 22(2):4673-4680;ヒギンス (Higgins) ら、1996, Methods Enzymol. 266:383-02;アルトシュル (Altschul) ら、1990, J. Mol. Biol. 215(3):403-410;アルトシュル (Altschul) ら、1993, Nature Genetics 3:266-272を参照)。

【0015】

特に好適な実施態様においてタンパク質および核酸配列相同物は、当該分野で公知の「基礎的局所的整列探索ツール (Basic Local Alignment Search Tool)」「BLAST」を使用して評価される。特に4つの具体的なBLASTプログラムを使用して以下のタスクが行なわれている：

10

【0016】

(1) BLASTP：問題のアミノ酸配列をタンパク質配列データベースに対して比較する

(2) BALSTN：問題のヌクレオチド配列をヌクレオチド配列データベースに対して比較する

(3) BALSTX：すべての読みとり枠で翻訳される問題のヌクレオチド配列をタンパク質配列データベースに対して比較する

(4) TBASTN：問題のタンパク質配列をすべての読みとり枠で動的に翻訳されたヌクレオチド配列データベースに対して比較する

【0017】

代表的断片の中で、本明細書に開示のヌクレオチド配列と厳密性条件下でハイブリダイズできるものが好ましい。厳密性条件下でのハイブリダイゼーションは、2つの相補的DNA断片の間でハイブリダイゼーションが維持されるように、温度とイオン強度が選択されることを意味する。そのような高厳密性条件は、例えば好適な65の温度でSSC緩衝液 (例えば、1×SSCは0.15M NaClと0.05M クエン酸ナトリウムに対応する) の存在下で実施することにより行われる。洗浄工程は、例えば以下の条件である：2×SSC、0.1% SDSで室温で、次に1×SSC、0.1% SDS；0.5×SSC、0.1% SDS；0.1×SSC、0.1% SDSで68で15分、3回洗浄。

20

【0018】

ヌクレオチド配列配列番号1は、ラクトバシルス・ジョンソニイ (Lactobacillus johnsonii) La1のゲノムを、クローンの挿入体の蛍光自動配列決定後の指向性配列決定、そしてソフトウェアによりヌクレオチド配列断片を集合する方法によりスクリーニングして得られている。このために、ゲノムの断片が作成され、増幅と増殖のための適当なベクターに連結され、対応する断片が配列決定された。その断片、そのヌクレオチド配列の重複と最終的整列は、適切なソフトウェアを使用して評価された。

30

【0019】

配列決定用のクローンは、BACクローンとして10,000bp余りの断片を含み、これは、より大きいフレームワークをアセンブリーに与えるのに使用された。いくつかの繰り返し領域の存在のために、正しい組み立ては極めて困難であった。これらは特に、IS成分、リボゾームオペロン、および特に2つの大きな細胞表面タンパク質 (これは、100~200のほとんど完全な10アミノ酸繰り返しを含有する) の遺伝子のような繰り返し領域を含有した。この場合これらの領域の正確な配列は、現在のDNA配列決定技術では、一回のランで領域をカバーできないため、決定することができなかった。内部配列決定プライマーは、遺伝子内の複数の部位でプライムするため排除される。またこれらの2つの配列の相対的配向 (長くて非常に高い配列類似性) は、これらを宿主組換えの標的候補としている。ここに示す構造は、適切なプライマーを用いてPCRにより確認されているが、複製開始点と終止点の相対的配置により示されるように、ゲノムはそのような組換え事象の生成物である可能性が非常に高い。リボゾームオペロン繰り返しで遭遇する第2の問題は、4つの遺伝子座で6つのオペロンの存在が同定されていて、正確な遺伝子座

40

50

の位置を正確に見つけることは困難であった。最後に IS 成分の 2 つは複数のコピーで存在し、その相対的配向に依存して、宿主組換えの標的となり得る。そのような事象は、IS 成分にフラंकする配列、および特に転位により複製される染色体標的配列を研究することにより同定され、従って各 IS 成分は、同一の直接繰り返しによりフラंकされる。我々は、直接繰り返し配列が IS 成分中の宿主組換えによりスイッチしている 2 つの IS 成分を同定した。これは約 600,000 bp の反転配列を産生し、これは特異的プライマーを用いる PCR により確認されている。この IS 成分特異的組換えは、増殖する培養物中で起きている動的イベントであり、これは大きな分子種 + 組換えゲノムの小さな存在（例えば弱い PCR バンド）を引き起こしているかも知れない。最後に我々は、部位特異的リコンビナーゼにより絶えず切断されているプロファージ L771（約 40,000 bp）の例を持っている。我々は各変種の存在を検出し相対量を測定する定量的 PCR 法を開発した。今日まで純粋な培養物は調製されていない。

10

【0020】

配列番号 1 により同定される核酸配列の特に好適な断片は、それぞれ配列番号 1 の番号付けに基づき、1~54596、56070~77430、81302~308537、309588~342757、378458~389217、389779~404510、405561~501116、503873~558194、563262~696518、697569~721736、722787~756845、761682~860446、860723~865550、867260~867490、868541~1448288、1463851~1526077、1527278~1552024、1563147~1809115、1810166~1858190、1863258~1872871、1877939~1930430、1932063~1983043 である。

20

【0021】

本発明はまた、配列番号 1 から得られる読みとり枠 (ORF) の情報を利用して、かつ公知の技術に従って所望のポリペプチドを発現することにより、ポリペプチドを産生するのに利用される。この点で読みとり枠に対応する核酸が選択され、発現ベクター中に挿入される。次にベクターは宿主中に導入され、これは、適当な条件下でポリペプチドへの読みとり枠の転写と翻訳を可能にする。

【0022】

配列番号 1 により特定されるゲノム配列から得られる核酸分子は、例えばポリメラーゼ連鎖反応を使用して対応する配列の特異的増幅により容易に得られる。本明細書に記載の配列情報から当業者は、任意の適当なプライマーヌクレオチドを設計かつ合成し、ポリメラーゼ連鎖反応を使用して目的の断片を増幅することができる。従って本発明はまた、核酸配列の増幅のためのプライマーとして使用できる配列番号 1 の配列から選択されるヌクレオチド配列を含む。標的核酸分子を増幅するための他の方法を使用してもよく、例えば T A S (転写ベースの増幅システム (Transcription-based Amplification System)) 法、3 S R (自己配列複製 (Self-Sustained Sequence Replication)) 法、N A S B A (核酸配列ベースの増幅 (Nucleic Acid Sequence Based Amplification)) 法、S D A (鎖置換増幅 (Strand Displacement Amplification)) 法、または T M A (転写介在増幅 (Transcription Mediated Amplification)) 法などがある。

30

40

【0023】

(ポリ)ヌクレオチドはプローブとして使用され、プローブとして機能する核酸を増幅または修飾するための技術、例えば L C R (リガーゼ連鎖反応 (Ligase Chain Reaction)) 法、R C R (修復鎖反応 (Repair Chain Reaction)) 法、C P R (サイクリングプローブ反応 (Cycling Probe Reaction)) 法、または Q - ベータ - レプリカーゼ増幅法は、充分応用される。

【0024】

従って本発明は、ハイブリダイゼーション (検出) プローブと、本発明のヌクレオチド配列 (標的ヌクレオチド) を検出するためのプライマーとを企図する。標的が R N A 分子

50

(例えば、mRNA)である場合、該mRNAは、直接検出されるかまたはcDNAに形質転換された後検出される。

【0025】

あるいは、配列番号1により示される核酸の断片を得るために、ラクトバシルス・ジョンソニイ(Lactobacillus johnsonii)ゲノムDNAを、選択された制限酵素を用いる消化に付し、断片を例えば電気泳動または他の適当な分離法により分離する。そのような方法は当該分野で公知であり、特にサムブルーク(Sambrook)ら、実験室マニュアル(A Laboratory Manual)、コールドスプリングハーバー(Cold Spring Harbor)、1992に開示されている。そのような断片は、ラクトバシルス・ジョンソニイ(Lactobacillus johnsonii)La1のゲノムDNAを単離し、必要な工程を行うことにより容易に得られる。

10

【0026】

別の型では核酸はまた、そのサイズが大きすぎない時、当業者に公知の方法に従って、化学合成により得ることもできる。

【0027】

修飾ヌクレオチド配列は、当業者に公知の技術に従って突然変異誘発により得られ、正常な配列と比較すると修飾(例えばポリペプチドの発現のための制御配列および/またはプロモーター配列、該ポリペプチドの発現レベルの修飾または特に複製サイクルの修飾を引き起こす)を示す任意のヌクレオチド配列を意味する。修飾ヌクレオチド配列はまた、後述の修飾ポリペプチドをコードする任意のヌクレオチド配列を意味すると理解される。

【0028】

ラクトバシルス・ジョンソニイ(Lactobacillus johnsonii)ゲノムの研究中に、以下の読みとり枠が決定され、生じるポリペプチドの機能は、既知のタンパク質に対する相同性に基づき可能であった。

20

【0029】

【表 1 - 1】

表 1

遺伝子	開始	停止	相補体 *	% ID	機能
LJ_0008 (78 aa*)	9756	9992		84,8	リボソームタンパク質 S18
LJ_0043 (384 aa)	52848	54002	相補体	76,4	イノシン5'-リン酸脱水素酵素 (EC 1.1.1.205)
LJ_0045 (337 aa)	54728	55741	相補体	96,7	D-乳酸脱水素酵素 (EC 1.1.1.28)
LJ_0054 (304 aa)	75671	76585		93	プロリナーゼプロリルアミノペプチダーゼ (EC 3.4.11.5)
LJ_0056 (316 aa)	77465	78415	相補体	99	結合胆汁酸塩ヒドロラーゼ (EC 3.5.1.24)
LJ_0057 (451 aa)	78431	79786	相補体	88	推定胆汁酸塩トランスポーター
LJ_0058 (452 aa)	79810	81168	相補体	81,4	推定胆汁酸塩トランスポーター
LJ_0065 (235 aa)	87816	88523		74,6	応答制御物質
LJ_0124 (149 aa)	146032	146481	相補体	80,4	ヌクレオシドデオキシリボシルトランスフェラーゼ -II (EC 2.4.2.6)
LJ_0178 (436 aa)	211269	212579	相補体	71,1	アミノペプチダーゼ G (EC 3.4.22.-)
LJ_0182 (482 aa)	214451	215899	相補体	98,7	6-ホスホペータグルコシダーゼ (EC 3.2.1.86)
LJ_0215 (367 aa)	248929	250032		70,2	複数糖結合輸送 ATP-結合タンパク質 (EC 2.7.1.69)
LJ_0229 (517 aa)	264155	265708		75,2	GMP シンターゼ[グルタミン-加水分解性] (EC 6.3.5.2)
LJ_0258 (471 aa)	287474	288889	相補体	85,9	ジペプチダーゼ A (EC 3.4.*.*)
LJ_0260 (653 aa)	290018	291979		75	ラフィノースキャリアタンパク質 (ラフィノースペルメラーゼ)
LJ_0262 (480 aa)	294170	295612		71,6	シロ糖ホスホリラーゼ (EC 2.4.1.7)
LJ_0274 (323 aa)	307454	308425	相補体	84,4	L-乳酸脱水素酵素 (EC 1.1.1.27)
LJ_0295 (249 aa)	332973	333722		79,7	ORF 169a (プロファージタンパク質)
LJ_0307 (284 aa)	343364	344218		100	ターミナーゼ小サブユニット (プロファージタンパク質)
LJ_0308 (424 aa)	344205	345479		100	orf345; ターミナーゼ大サブユニット (プロファージタンパク質)
LJ_0309 (499 aa)	345495	346994		99,7	orf500; 推定ポータルタンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0311 (360 aa)	347218	348300		100	orf360; 推定マイナーヘッドタンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0312 (214 aa)	348455	349099		100	orf214; 足場タンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0313 (121 aa)	349112	349477		100	Orf121 (プロファージタンパク質)
LJ_0314 (349 aa)	349498	350547		100	orf349; 主要ヘッドタンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0315 (105 aa)	350557	350874		99	Orf105 (プロファージタンパク質)
LJ_0316 (117 aa)	350871	351224		100	Orf117 (プロファージタンパク質)
LJ_0317 (182 aa)	351217	351765		99	Orf106 (プロファージタンパク質)
LJ_0318 (122 aa)	351766	352134		100	Orf122 (プロファージタンパク質)
LJ_0319 (159 aa)	352137	352616		100	orf159; 推定主要テールタンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0320 (136 aa)	352694	353104		93,3	Orf136 (プロファージタンパク質)

10

20

30

【表 1 - 2】

LJ_0321 (97 aa)	353197	353490		100	Orf109 (プロファージタンパク質)
LJ_0322 (2021 aa)	353490	359555		92,6	orf1434; 推定マイナーテールタンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0323 (118 aa)	359573	359929		99	Orf109a (プロファージタンパク質)
LJ_0324 (1624 aa)	359943	364817		100	Orf977 (プロファージタンパク質)
LJ_0325 (86 aa)	364949	365209		100	Orf86 (プロファージタンパク質)
LJ_0326 (135 aa)	365209	365616		100	Orf135 (プロファージタンパク質)
LJ_0327 (85 aa)	365626	365883		88,2	Orf85 (プロファージタンパク質)
LJ_0328 (115 aa)	365876	366223		100	orf115; 推定ホリン (プロファージタンパク質)
LJ_0329 (310 aa)	366216	367148		99,6	orf376; リシン (プロファージタンパク質)
LJ_0332 (1209 aa)	370820	374449		70,9	rpoB; RNA ポリメラーゼ (ベータサブユニット) (EC 2.7.7.6)
LJ_0333 (1224 aa)	374470	378144		70	rpoC; RNA ポリメラーゼ (ベータサブユニット) (EC 2.7.7.6)
LJ_0335 (135 aa)	379054	379461		85,8	RS12; リボソームタンパク質 S12
LJ_0336 (156 aa)	379485	379955		76,7	RS7; 30S リボソームタンパク質 S7
LJ_0337 (698 aa)	379985	382081		70,7	翻訳伸長因子 G, EF-G
LJ_0339 (209 aa)	382686	383315		73,4	rplC; 50S リボソームタンパク質 L3
LJ_0342 (278 aa)	384263	385099		75,1	rplB; 50S リボソームタンパク質 L2
LJ_0343 (95 aa)	385121	385408		81,1	rpsS; 30S リボソームタンパク質 S19
LJ_0344 (117 aa)	385429	385782		75,4	rplV; リボソームタンパク質 L22
LJ_0345 (222 aa)	385800	386468		70	30S リボソームタンパク質 S3
LJ_0346 (145 aa)	386468	386905		84,8	リボソームタンパク質 L16
LJ_0347 (88 aa)	387118	387384		72	30S リボソームタンパク質 S17
LJ_0348 (122 aa)	387415	387783		72,9	rplN; リボソームタンパク質 L14
LJ_0350 (180 aa)	388058	388600		79,7	RL5; リボソームタンパク質 L5 (BL6)
LJ_0351 (132 aa)	388825	389223		70,4	rpsH; 30S リボソームタンパク質 S8
LJ_0352 (176 aa)	389248	389778		98,2	lecLA2-20; レクチン様タンパク質 LA2-20
LJ_0353 (119 aa)	389806	390165		72,2	rplR; 50S リボソームタンパク質 L18
LJ_0358 (73 aa)	393402	393623		84,5	翻訳開始因子 IF-1
LJ_0359 (115 aa)	393788	394135		73,6	rpsM; リボソームタンパク質 S13
LJ_0360 (129 aa)	394160	394549		73	rpsK; 30S リボソームタンパク質 S11
LJ_0362 (127 aa)	395560	395943		73,2	rplQ; 50S リボソームタンパク質 L17
LJ_0368 (131 aa)	399970	400365		70	30S リボソームタンパク質 S9
LJ_0395 (449 aa)	441168	442517	相補体	81,5	アミノペプチダーゼ C (EC 3.4.22.40)
LJ_0399 (499 aa)	445878	447377		73,5	グルタミル-tRNAシンセターゼ (EC 6.1.1.17)
LJ_0410	458506	458931		77	50S リボソームタンパク質 L11
LJ_0441 (330 aa)	483735	484727	相補体	70,6	GMP リダクターゼ (EC 1.6.6.8)
LJ_0460 (94 aa)	501772	502056		99	GroES シャペロン
LJ_0461 (543 aa)	502087	503718		99	GroEL シャペロン
LJ_0490 (368 aa)	543751	544857	相補体	75,2	pepQ; Xaa-Pro ジペプチダーゼ (EC 3.4.13.9)
LJ_0493 (465 aa)	548984	550381	相補体	71,6	pepV; Xaa-His ジペプチダーゼ (EC 3.4.13.3)

10

20

30

40

【表 1 - 3】

LJ_0505 (309 aa)	565393	566322		73,1	マンノース特異的ホスホトランスフェラーゼ系成分 IID (EC 2.7.1.69)
LJ_0521 (536 aa)	583645	585255		79	推定 ABC トランスポーター
LJ_0563 (228 aa)	623532	624218		83,7	推定応答制御物質
LJ_0631 (158 aa)	705767	706243	相補体	74	オートインデューサータンパク質
LJ_0677 (402 aa)	762315	763523		70	metK; S- アデノシルメチオニンシナーゼ (EC 2.5.1.6)
LJ_0764 (435 aa)	859739	861046		100	推定センサーヒスチジキナーゼ
LJ_0767 (719 aa)	863354	865513		77,9	特許からの配列
LJ_0768 (197 aa)	865524	866117		91,4	ラクチシン F トランスポーター付属タンパク質
LJ_0769 (75 aa)	866244	866471		98,6	バクテリオシンラクチシン F ₂ サブユニット lafA 前駆体
LJ_770 (62 aa)	866485	866671		100	バクテリオシンラクチシン F ₂ サブユニット lafX 前駆体
LJ_0771 (124 aa)	866757	867131		90,3	バクテリオシンラクチシン F 免疫タンパク質 lafI
LJ_0775 (719 aa)	869095	871254		77,9	特許からの配列
LJ_0776 (197 aa)	871265	871858		77,1	仮説タンパク質
LJ_0817 (88 aa)	910392	910658		79,5	ホスホキリリアタンパク質 HPr
LJ_0827 (591 aa)	918499	920274		71	特許からの配列
LJ_0840 (360 aa)	932899	933981		72	recA; リコンビナーゼ A
LJ_0846 (181 aa)	939718	940263		80,1	仮説タンパク質
LJ_0847 (799 aa)	940421	942820		81,9	プレプロテイントランスロカーゼ SecA サブユニット
LJ_0848 (332 aa)	943020	944018		72,5	ペプチド鎖放出因子 2
LJ_0853 (311 aa)	947228	948163		71,8	trxB; チオレドキシンリダクターゼ (EC 1.6.4.5)
LJ_0855 (317 aa)	949277	950230	相補体	71	lacM; ベータガラクトシダーゼ小サブユニット (EC 3.2.1.23)
LJ_0856 (626 aa)	950211	952091	相補体	75,2	lacL; ベータガラクトシダーゼ大サブユニット (EC 3.2.1.23)
LJ_0860 (389 aa)	957611	958780		76,8	galK; ガラクトキナーゼ (EC 2.7.1.6) (ガラクトセキナーゼ)
LJ_0861 (495 aa)	958799	960286		74,7	galT; ガラクトース-1-リン酸ウリジリルトランスフェラーゼ (EC 2.7.7.10)
LJ_0864 (671 aa)	963226	965241		76,9	uvrB; エキシヌクレアーゼABCサブユニットB
LJ_0870 (195 aa)	971745	972332	相補体	70	ATP-依存性 Clp プロテアーゼタンパク分解サブユニット (EC 3.4.21.92)
LJ_0873 (338 aa)	975442	976458		87,8	gapdh; グリセルアルデヒド 3-リン酸脱水素酵素 (EC 1.2.1.12)
LJ_0874 (403 aa)	976565	977776		84,3	pgk; ホスホグリセレートキナーゼ (EC 2.7.2.3)
LJ_0875 (251 aa)	977795	978550		84,8	tum; トリオースホスフェートイソメラーゼ (EC 5.3.1.1)
LJ_0876	978600	979898		71	エノラーゼ (EC 4.2.1.11) (2-ホスホグリセレート脱水素酵素)
LJ_0925 (447 aa)	1023089	1024432		72,5	グルコース-6-リン酸イソメラーゼ (EC 5.3.1.9)
LJ_0934 (203 aa)	1032968	1033579		73,7	ウラシルホスホリボシルトランスフェラーゼ (EC 2.4.2.9)
LJ_0936 (70 aa)	1034425	1034637		73,9	atpE; F1F0-ATP アーゼ サブユニット c (EC 3.6.1.34)
LJ_0937 (166 aa)	1034690	1035190		70	atpF; F1F0-ATP アーゼ サブユニット b (EC 3.6.1.34)
LJ_0939 (503 aa)	1035750	1037261		84,8	atpA; F1F0-ATP アーゼ サブユニット アルファ (EC 3.6.1.34)
LJ_0941 (480 aa)	1038258	1039700		84,7	atpD; F1F0-ATP アーゼ サブユニット ベータ (EC 3.6.1.34)
LJ_0954 (384 aa)	1049212	1050366		70,8	nifS; ピリジル-ホスフェート依存性アミノトランスフェラーゼ (EC 4.4.1.-)
LJ_0976 (458 aa)	1074934	1076310		73	細胞分裂タンパク質 FTSZ
LJ_0996 (618 aa)	1093985	1095841		70	伸長因子 Tu ファミリータンパク質

10

20

30

40

【表 1 - 4】

LJ_1007 (89 aa)	1103999	1104268		71,9	rpsO; 30S リボソームタンパク質 S15
LJ_1010 (396 aa)	1107239	1108429		74	EF-Tu; 伸長因子 Tu
LJ_1033 (372 aa)	1129276	1130394		85,8	特許からの配列
LJ_1079 (319 aa)	1181384	1182343		76,1	K6PF; 6-ホスホフルクトキナーゼ (EC 2.7.1.11)
LJ_1080 (589 aa)	1182378	1184147		83	pyk; ピルベートキナーゼ (EC 2.7.1.40)
LJ_1092 (91 aa)	1193710	1193985		77,5	hu; DNA-結合タンパク質 II
LJ_1111 (174 aa)	1215382	1215906		83,9	hslU; 熱ショック誘導タンパク質 HtpI
LJ_1112 (464 aa)	1215917	1217311		76,1	HSLU; ATP-依存性 hsl プロテアーゼATP-結合サブユニット hslU
LJ_1138 264 aa)	1255582	1256376		70	ABC トランスポーターATP-結合タンパク質
LJ_1170 (661 aa)	1287817	1289802		71	トポイソメラーゼ IV B サブユニット (EC 5.99.1.*)
LJ_1200 (432 aa)	1324275	1325573	相補体	83,5	asnA1; アスバラギニル-tRNA シンセターゼ (EC 6.1.1.22)
LJ_1207 (357 aa)	1338065	1339138		70,1	pmk; ホスホメバロネートキナーゼ (EC 2.7.1.36)
LJ_1298 (75 aa)	1425244	1425471		71,8	tpnA; トランスボサーゼ, 断片のみ
LJ_1303 (415 aa)	1428575	1429822	相補体	85,4	pepT; ペプチダーゼ (EC 3.4.11.-) (アミノペプチダーゼ)(トリペプチダーゼ)
LJ_1304 (265 aa)	1429834	1430631	相補体	81,1	仮説タンパク質
LJ_1317 (372 aa)	1441016	1442134	相補体	81,4	rpoD; RNA ポリメラーゼシグマ因子 rpoD (Sigma-42)
LJ_1320 (305 aa)	1446050	1446967	相補体	70,4	glyQ; Glycyl-tRNA シンセターゼアルファ鎖 (EC 6.1.1.14)
LJ_1389 (142 aa)	1457128	1457556	相補体	71,7	ペプチドメチオニンスルホキシドリダクターゼ (EC 1.8.4.6)
LJ_1356 (326 aa)	1484903	1485883	相補体	99	結合胆汁酸塩ヒドロラーゼ胆汁 (EC 3.5.1.24)
LJ_1384 (470 aa)	1510322	1511734	相補体	100	orf338; 推定ポータルタンパク質(プロファシタンパク質)
LJ_1385 (422 aa)	1511746	1513014	相補体	100	orf42; ターミナーゼ大サブユニット(プロファジタンパク質)
LJ_1386 (151 aa)	1513007	1513462	相補体	100	orf155; ターミナーゼ小サブユニット(プロファージタンパク質)
LJ_1387 (218 aa)	1513519	1514175	相補体	100	Orf221 (プロファージタンパク質)
LJ_1388 (174 aa)	1514357	1514881	相補体	90,5	Orf174 (プロファージタンパク質)
LJ_1389 (146 aa)	1515925	1516365	相補体	100	Orf154 (プロファージタンパク質)
LJ_1390 (73 aa)	1516454	1516675	相補体	100	Orf85 (プロファージタンパク質)
LJ_1391 (184 aa)	1516695	1517249	相補体	93,4	Orf197 (プロファージタンパク質)
LJ_1392 (132 aa)	1517251	1517649	相補体	82,6	Orf79 (プロファージタンパク質)
LJ_1393 (71 aa)	1517650	1517865	相補体	96,5	Orf78a (プロファージタンパク質)
LJ_1394 (296 aa)	1518025	1518915	相補体	98,1	Orf212 (プロファージタンパク質)
LJ_1395 (261 aa)	1518928	1519713	相補体	93,9	Orf223 (プロファージタンパク質)
LJ_1396 (297 aa)	1519715	1520608	相補体	100	Orf309 (プロファージタンパク質)
LJ_1397 (71 aa)	1521285	1521500	相補体	100	Orf73 (プロファージタンパク質)
LJ_1415 (318 aa)	1534064	1535020	相補体	71,4	thyA; チミジレートシンターゼ (EC 2.1.1.45)
LJ_1423 (624 aa)	1545410	1547284	相補体	85,3	dnaK; 熱ショックタンパク質 DnaK
LJ_1431 (880 aa)	1553796	1556438	相補体	70,3	IF2; 翻訳開始因子 IF-2.
LJ_1442 (241 aa)	1568288	1569013	相補体	70,5	pyrH; UMP-キナーゼ(EC 2.7.4.-)
LJ_1444 (261 aa)	1570186	1570971	相補体	75,6	RS2; 30S リボソームタンパク質 S2.
LJ_1446 (125 aa)	1581060	1581437	相補体	76,1	RL19; 50S リボソームタンパク質 L19.
LJ_1447 (84 aa)	1605746	1606000		80	RL28; 50S リボソームタンパク質 L28.
LJ_1429 (794 aa)	1656725	1659109		71,5	pepX; Xaa-Pro ジペプチジル-ペプチダーゼ (EC 3.4.14.11)
LJ_1537 (301 aa)	1666162	1667067	相補体	71,2	galU; UDP-グルコースピロホスホラーゼ (EC 2.7.7.9)
LJ_1558 (445 aa)	1686863	1688200	相補体	72,8	グルタミンシンセターゼ (EC 6.3.1.2)(グルタメート-アンモニアリガーゼ)
LJ_1584 (118 aa)	1713330	1713686	相補体	70,7	RL20; 50S リボソームタンパク質 L20
LJ_1681 (128 aa)	1826901	1827287		72,6	tagD; グリセロール-3-リン酸シチジルトランスフェラーゼ (EC 2.7.7.39)
LJ_1741 (215 aa)	1902945	1903592	相補体	72,5	ピロリジン-カルボキシラーゼペプチダーゼ (EC 3.4.19.3)
LJ_1767 (215 aa)	1930610	1931257		100	デオキシアデニンキナーゼ (EC 2.7.1.76)
LJ_1768 (224 aa)	1931279	1931953		99,1	デオキシグアニンキナーゼ (EC 2.7.1.113)

10

20

30

40

50

* 相補体 = 逆鎖の上

* a a = アミノ酸

【 0 0 3 0 】

種々のポリペプチドに対応するORFを上記表1に示し、配列番号1により特定されるゲノム配列中の位置により示す。

【 0 0 3 1 】

読みとり枠は、相同性分析ならびに可能性のあるORF開始部位の分析により同定されている。各同定されたORFは、ORFヌクレオチド配列に対してフレーム内にある配列番号1の先行する停止コドンのすぐ3'から次の停止コドンの5'コドンまでの連続ヌクレオチド配列にまたがるヌクレオチド配列を含む。

10

【 0 0 3 2 】

表1はまた、各ORFによりコードされるポリペプチドの配列をデータベース中の配列と比較した相同性検索の結果を示す。

【 0 0 3 3 】

本出願に開示された配列情報は、目的のポリヌクレオチド、すなわち、既知のまたは未知の、推定ポリペプチドをコードする読みとり枠を含有する核酸を選択し、選択されたポリヌクレオチドを用いて微生物を形質転換するのに使用される。形質転換ビヒクルとして、公知のプラスミド、ファージベクター(トランスフェクション)またはFベクター(接合)が使用される。選択された微生物に導入された核酸が発現され、その生物学的機能が既知ならそのまま使用されるか、または未知のポリペプチドが発現されるなら、解明される。選択された微生物は、ラクトバシルス(Lactobacillus)自体でも、または他の公知の微生物、例えば細菌(大腸菌(E.coli)、連鎖球菌)、または酵母、昆虫細胞、または動物や植物細胞でもよい。

20

【 0 0 3 4 】

ポリペプチドが、そのまままたは融合ポリペプチドとして発現されることは理解されるであろう。そのような連結を実施し、対応する融合ポリペプチドを適切な細胞中で発現させる技術を、当業者は周知している。

【 0 0 3 5 】

本発明よりまた、本発明のヌクレオチド配列のクローニングおよび/または発現のための新しい組換えベクターが考案される。ベクターは、ある宿主細胞中でヌクレオチド配列の発現および/または選択を可能にするのに必要な成分(例えば、プロモーター、翻訳開始シグナルおよび停止シグナル、ならびに転写制御のための適切な領域)を含む。例えば、タンパク質またはペプチドの発現は、当該分野で公知の任意のプロモーター/エンハンサー成分により制御される。プロモーターの例は、CMVプロモーター、SV40早期プロモーター領域、ラウス肉腫ウイルスの3'長い末端繰り返し配列中に含有されるプロモーター、ヘルペスチミジンキナーゼプロモーター、メタロチオネイン遺伝子の制御配列、または原核生物発現系のために、-ラクタマーゼプロモーター、tacプロモーターまたはT7プロモーターがある。

30

【 0 0 3 6 】

ベクターは、宿主細胞中で安定に維持できなければならず、翻訳されたタンパク質の分泌を特定する特定のシグナルを随時有する。これらの異なる成分は、使用される宿主細胞に従って選択される。このために、本発明のヌクレオチド配列は、選択された宿主内の自律複製ベクター、または選択された宿主中の統合的(integrative)ベクター(例えば、酵母人工染色体、プラスミドまたはウイルスベクター)中に挿入される。

40

【 0 0 3 7 】

ベクター中にDNA断片を挿入するための当業者に公知の任意の標準的方法を使用して、適切な転写/翻訳制御シグナルとタンパク質コード配列とからなるキメラ遺伝子を含有する発現ベクターを構築することができる。これらの方法には、インビトロのレトロウイルスDNA法および合成法、およびインビボの組換え(遺伝子組換え)法がある。

【 0 0 3 8 】

50

ベクターは、配列番号1に含まれる核酸の転写および/または翻訳のために使用され、それぞれRNAまたはアンチセンスRNAを産生する。そのようなベクターは、所望の転写体を産生できるなら、エピソームのままでもまたは染色体内に組み込まれてもよい。

【0039】

本発明のアンチセンス核酸は、配列番号1のポリヌクレオチド配列のRNA転写体の少なくとも一部に相補的な配列を含み、RNAにハイブリダイズできるのに十分な相補性を有し、2本鎖を形成することができる配列を設計する。2本鎖アンチセンス核酸配列の場合、2本鎖DNAの1本鎖を試験し、3本鎖形成を測定してもよい。

【0040】

本発明の情報からまた、本明細書に記載の核酸またはベクターで形質転換された宿主細胞が得られる。これらの細胞は、上記の適切な細胞またはヌクレオチド配列またはベクター中に導入し、次に形質転換/トランスフェクションされたヌクレオチド配列の複製および/または発現を可能にする条件下で該細胞を培養することにより、達成される。

【0041】

宿主細胞は、真核生物系または原核生物系、例えば細菌細胞、酵母細胞、動物細胞ならびに植物細胞から選択される。本発明において細胞は、より高度の生物系を含んでよい。例えば動物、植物全体またはその一部。さらに、挿入された配列の発現を調節するか、または所望の方法で遺伝子産物を修飾および処理する宿主細胞株を選択してもよい。

【0042】

本発明のタンパク質の発現のための好適な宿主細胞は、原核細胞、例えばグラム陰性菌またはグラム陽性細菌からなる。本発明のさらに好適な宿主細胞は、ラクトバシルス(Lactobacillus)科に属する細菌、さらに好ましくはラクトバシルス・ジョンソニイ(Lactobacillus johnsonii)種に属する細菌であり、またはラクトバシルス(Lactobacillus)種に関連する微生物から選択される。

【0043】

本発明の形質転換/トランスフェクトされた細胞は、本ラクトバシルス(Lactobacillus)株がもたらす任意の有益な作用に参与することができる化合物を研究、同定および/または選択するためのモデルとして有利に機能し、かつその方法で使用される。

【0044】

本発明はさらに、ラクトバシルス・ジョンソニイ(Lactobacillus johnsonii)ORFにコードされるポリペプチド(特に表1に列挙したもの)の合成を可能にする。本発明において、ポリペプチド、ペプチドおよびタンパク質という用語は、同義で使用される。さらに本発明は、(a)ポリヌクレオチドによりコードされるポリペプチドを産生するのに適した条件下で本発明の宿主細胞を含有する工程;および(b)培養物からポリペプチドを回収する工程、とを含む組換え手段によりそのようなポリペプチドを調製する方法を実施することを可能にする。

【0045】

上記ポリペプチドは、最も活性が高いかまたは所望の性質を示す化合物を選択するように、ポリペプチドをある場所で修飾した後にモデル系で試験する、コンビナトリアル化学を使用して得ることもできる。

【0046】

この点で化学合成は、非天然のアミノ酸または非ペプチド結合を使用できるという利点を有する。従って本発明のポリペプチドの寿命を延長するために、そのような非天然のアミノ酸(例えば、D型、またはアミノ酸類似体、好ましくはイオウ含有型)を使用することが有利かも知れない。

【0047】

最後に、本発明のポリペプチドの構造、その相同物または修飾型、ならびに対応する断片は、ポリペプチド型の化学構造などに組み込まれる。従ってポリペプチドをインビボ環境で保存するために、プロテアーゼに対する変性に対して抵抗性を伝える化合物を、N末端およびC末端に提供することが好ましいであろう。

10

20

30

40

50

【0048】

また、本発明の異なるポリペプチドおよび上記方法により産生されるポリペプチドは、宿主動物の免疫系に対して抗原であり、該ポリペプチドに対して抗体が産生されることは理解されるであろう。これらの抗体は、混合物中の目的のポリペプチドまたは一般的に試料中のラクトバシルス (*Lactobacillus*) の株を検出するために使用される。さらにこれらは、例えば細胞表面エピトープに対する抗体を産生させ、細菌細胞壁に対するいくつかのポリペプチドのブロッキング効果を測定することにより、研究手段として使用される。

【0049】

別の態様において本発明はまた、生体試料中のラクトバシルス (*Lactobacillus*)、好ましくはラクトバシルス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*) の検出および/または同定方法を提供する。この方法は、当該分野で公知のいくつかの技術、例えばPCR、または単に適当なプローブとのハイブリダイゼーションを含む。あるいは、ラクトバシルス (*Lactobacillus*) 好ましくはラクトバシルス・ジョンソニー (*Lactobacillus johnsonii*) の細胞壁エピトープに対して作成された抗体を、該目的に使用してもよい。上記方法はまた逆に、免疫複合体の形成を可能にする条件下で、試料をラクトバシルス (*Lactobacillus*) のポリペプチドと接触させることにより、ラクトバシルス (*Lactobacillus*) に対する抗体の存在を測定してもよい。

【0050】

本発明の情報で得られるポリペプチドと抗体および本明細書に記載のヌクレオチド配列は、ラクトバシルス (*Lactobacillus*) 種に属する細菌を含有する可能性のある生体試料 (生体組織または体液) 中の該細菌を検出および/または同定するための、インビトロおよび/またはインビボの方法で使用される。使用されるポリペプチド、抗体およびヌクレオチド配列の特異性に依存するこれらの方法は、ラクトバシルス (*Lactobacillus*) 種に属する細菌変種、ならびに選択される本発明のポリペプチド、抗体およびヌクレオチド配列により検出可能な、関連する微生物を検出および/または同定する。例えば、ラクトバシルス (*Lactobacillus*) 科に特異的な本発明のポリペプチド、抗体および/またはヌクレオチド配列を選択することにより、ラクトバシルス (*Lactobacillus*) 科の細菌を検出できる本発明のポリペプチド、抗体またはヌクレオチド配列を選択することが有利であろう。

【0051】

本明細書の配列番号1に記載の配列は、添付の配列リストに列記されるが、これは本明細書の一部であると考えられる。

【0052】

本発明はまた、固体支持体に共有結合または非共有結合したヌクレオチド配列またはポリペプチドを含む。第1の場合に、そのような支持体は特異的ハイブリダイゼーションにより、試験される生体試料から得られる標的核酸を捕捉するように機能する。必要であれば固体支持体は試料から分離され、捕捉プローブと標的核酸とで形成されたハイブリダイゼーション複合体は、次に容易に検出可能な成分で標識された第2のプローブ (検出プローブと呼ばれる) を用いて検出される。

【0053】

そのような固体支持体は、いわゆるDNAアレイまたはDNAチップ (固体支持体上に正確に組織されたかまたは整列された複数の分子プローブ) の形を取ってよく、これは、遺伝子のスクリーニング、そこに含有される変異と遺伝子の発現の研究を可能にし、そのサイズが小さいこととアナライトの数の点で高い能力を有するため、現在注目されている。

【0054】

これらのアレイおよび/またはチップの機能は、分子プローブ (主に、一般に必要なに応じて数平方センチメートル以上のサイズを有する担体に結合したオリゴヌクレオチド) に基づく。分析のための担体 (DNAアレイ/チップ) は、担体のあらかじめ決められた位置に整列したプローブで被覆される。次に、あらかじめ標識されている分析すべき標的核

10

20

30

40

50

酸（例えばDNAまたはRNAまたはcDNA）の断片を含有する試料に、DNAアレイ/チップを接触させて、ハイブリダイゼーションにより二本鎖を形成させる。洗浄工程後、チップの表面の分析により、標的に結合している標識物が発するシグナルにより、有効なハイブリダイゼーションを見つけることが可能になる。適切なコンピューター解析により、この分析からハイブリダイゼーション指紋結果が得られ、これは、遺伝子の発現、試料中の特異的断片の存在、配列の測定および変異の存在などの情報を検索することを可能にする。

【0055】

DNAチップ上でインサイチューで沈着または合成された本発明のプロープと分析すべき試料の間のハイブリダイゼーションは、例えば蛍光、放射活性または電子的検出により測定される。

10

【0056】

本発明のヌクレオチド配列は、ラクトバシルス（*Lactobacillus*）遺伝子の発現の分析を実施するためにDNAアレイ/チップで使用してもよい。この分析は、ある遺伝子を性状解析する特異性について選択されたどのプロープ上にDNAアレイ/チップが存在するかに基づく。分析される標的配列は標識された後、チップにハイブリダイズされる。洗浄後、少なくとも二重測定でハイブリダイゼーションを行って標識化合物を検出し定量する。異なる試料について同じプロープおよび/または異なるプロープについて得られるシグナル強度の同じ試料との比較分析により、試料から得られるRNAの異なる転写を測定する。

20

【0057】

本発明のDNAアレイ/チップはまた、他の微生物に特異的なヌクレオチドプロープを含有してもよく、これは、試料中の微生物の存在の迅速な同定を可能にする連続試験を可能にする。

【0058】

詳細に上述したDNAチップの原理はまた、その上で、支持体がDNAの代わりに本発明のポリペプチドもしくは抗体またはそのアレイで被覆されたタンパク質チップを作成するのに使用することもできる。これらのタンパク質チップは、表面プラズマ共鳴（SPR）により例えばタンパク質で被覆された支持体上に、標的アナライトを親和性捕捉することにより誘導される生体分子相互作用（BIA）を分析することを可能にする。従って、分析される試料から得られる抗体またはポリペプチドに特異的に結合する本発明のポリペプチドまたは抗体は、試料中のタンパク質の検出および/または同定用の、タンパク質チップで使用される。

30

【0059】

本発明はまた、その上に本発明の1つ以上のヌクレオチドおよび/またはポリペプチドを記録した、コンピューターで読める媒体に関する。この媒体はまた、比較分析と得られる結果の利用を促進するように、本発明から得られる追加の情報（例えば、既知配列との類似性）および/または他の微生物のヌクレオチドおよび/またはポリペプチド配列に関する情報を含んでよい。好適な媒体は、例えば磁性、光学的、電気的およびハイブリッド媒体、例えばフロッピー（登録商標）ディスク、CD-ROM、または記録カセットである。

40

【0060】

本発明はまた、本発明のポリペプチド、適宜免疫学的または特異的反応に適した媒体を構成する試薬、本発明のポリペプチドと生体試料中に存在し得る抗体との免疫学的反応により生成される抗原-抗体複合体の検出を可能にする試薬（これらの試薬はまた標識を有することができ、標識試薬により認識されることができ）、さらに詳しくは本発明のポリペプチドが標識されていない場合、本発明のポリペプチドにより認識される抗体を含まない参照生体試料（陰性対照）、本発明のポリペプチドにより認識される抗体のあらかじめ決められた量を含有する参照生体試料、を含む、ラクトバシルス・ジョンソニイ（*Lactobacillus johnsonii*）種に属する細菌または関連する微生物の検出および/または同定

50

のためのキットまたはセットに関する。

【0061】

本発明はまた、ラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) 種に属する微生物または関連微生物の検出および/または同定、または微生物の検出および/または同定のためのキットまたはセットであって、キットは本発明のタンパク質チップを含む、キットまたはセットに関する。

【配列表】

[2006506042000001.app](#)

【手続補正書】

【提出日】平成16年4月29日(2004.4.29)

【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】

宿主と細菌との相互作用を解明するための、配列番号1で特定されるDNA配列、または配列番号1で特定されるDNA配列の断片、または配列番号1の配列と少なくとも90%のパーセント同一性を有する配列の使用。

【請求項2】

相互作用は、細菌株のプロバイオティクス性、好ましくは免疫系の刺激、抗病原性、および/または抗ウイルス性に基づく、請求項1記載の使用。

【請求項3】

配列は、配列番号1の番号付けに基づき、ヌクレオチド1~54596、56070~77430、81302~308537、309588~342757、378458~389217、389779~404510、405561~501116、503873~558194、563262~696518、697569~721736、722787~756845、761682~860446、860723~865550、867260~867490、868541~1448288、1463851~1526077、1527278~1552024、1563147~1809115、1810166~1858190、1863258~1872871、1877939~1930430、1932063~1983043よりなる群から選択される、配列番号1の断片である、請求項1または2のいずれかに記載の使用。

【請求項4】

生物学的試料中のラクトバシルス (*Lactobacillus*) 株、好ましくはラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) の検出、同定および/または選択方法であって：

(a) 試料に、配列番号1により特定されるポリヌクレオチド配列由来のヌクレオチド配列を、ポリメラーゼ酵素とヌクレオチドとの存在下で、ヌクレオチドの伸長を可能にする条件下で接触させ；そして

(b) 試料中の伸長産物の存在を検出する(ここで、プライマー伸長産物の検出は、試料中にラクトバシルス (*Lactobacillus*) 株が存在することを示す)

ことを含む上記方法。

【請求項5】

生物学的試料中のラクトバシルス (*Lactobacillus*) 株、好ましくはラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) の検出、同定および/または選択方法であって：

(a) 試料に、配列番号1により特定されるポリヌクレオチド配列由来のヌクレオチド配列を、相補的塩基対のハイブリダイゼーションを可能にする条件下で接触させ；そして

(b) 試料中のハイブリダイゼーション複合体の存在を検出する(ここで、ハイブリダイゼーション複合体の検出は、試料中にラクトバシルス(Lactobacillus)株が存在することを示す)

ことを含む上記方法。

【請求項6】

生物学的試料中のラクトバシルス(Lactobacillus)株、好ましくはラクトバシルス・ジョンソニイ(Lactobacillus johnsonii)の検出、同定および/または選択方法であって:

(a) 試料に、配列番号1由来のポリペプチドに対して作成した抗体を、免疫複合体の形成に適した条件下で接触させ;そして

(b) 試料中の免疫複合体の存在を検出する(ここで、免疫複合体の検出は、試料中にラクトバシルス(Lactobacillus)株が存在することを示す)

ことを含む上記方法。

【請求項7】

生物学的試料中のラクトバシルス・ジョンソニイ(Lactobacillus johnsonii)ポリペプチドに対する抗体の検出、同定および/または選択方法であって:

(a) 試料に、請求項4または5で産生されるポリペプチドを、免疫複合体の形成に適した条件下で接触させ;そして

(b) 試料中の免疫複合体の存在を検出する(ここで、免疫複合体の検出は、試料中にラクトバシルス(Lactobacillus)ポリペプチドが存在することを示す)

ことを含む上記方法。

【請求項8】

少なくとも配列番号1由来のポリヌクレオチドを含むポリヌクレオチドのアレイを含有するDNAアレイ/チップ。

【請求項9】

配列番号1由来の読みとり枠により特定されるポリペプチドを発現することにより得られ得るポリペプチドの少なくとも1つを含むポリペプチドのアレイを含有するタンパク質アレイ/チップ。

【請求項10】

配列番号1の読みとり枠を発現することにより得られ得るポリペプチドに対する少なくとも1つの抗体を含む抗体のアレイを含有する抗体チップ。

【請求項11】

(a) 試験化合物に、配列番号1により特定されるポリヌクレオチドを、または配列番号1により特定されるDNA配列の断片を接触させ;そして

(b) 結合が起きることを検出する、

ことを含むスクリーニング測定法。

【請求項12】

(a) 試験化合物に、配列番号1由来の読みとり枠を発現することにより得られ得るポリペプチドを接触させ;そして

(b) 結合が起きることを検出する、

ことを含むスクリーニング測定法。

【請求項13】

(a) 試験化合物に、配列番号1由来の読みとり枠を発現することにより得られ得るポリペプチドに対して作成された抗体を接触させ;そして

(b) 結合が起きることを検出する、

ことを含むスクリーニング測定法。

【請求項14】

配列番号1により特定されるポリヌクレオチド、または配列番号1により特定されるDNA配列の断片を含むキット。

【請求項15】

ポリヌクレオチドはプライマーまたはプローブであり、キットは任意にポリメラーゼとデオキシヌクレオチド三リン酸とを含む、請求項 1 3 記載のキット。

【請求項 1 6】

配列番号 1 の読みとり枠を発現することにより得られ得るポリペプチドに対して作成した抗体を含むキット。

【請求項 1 7】

配列番号 1 により特定される核酸配列、または配列番号 1 により特定される DNA 配列の断片、または配列番号 1 により特定される核酸配列由来のポリペプチド配列を記録しているコンピューター読み取り可能な媒体。

【請求項 1 8】

該媒体は以下よりなる群から選択される、請求項 1 7 記載のコンピューター読み取り可能な媒体：

- (a) フロッピー (登録商標) ディスク ;
- (b) ハードディスク ;
- (c) ランダムアクセスメモリー (R A M) ;
- (d) リードオンリーメモリー (R O M) ; および
- (e) C D - R O M 。

【請求項 1 9】

以下の要素を含む、ラクトバシルス・ジョンソニイ (*Lactobacillus johnsonii*) ゲノムの断片を同定するためのコンピューターベースのシステム：

- (a) 配列番号 1 により特定される核酸配列を含むデータ保存手段 ;
- (b) 標的配列を相同配列を同定するための工程 (a) のデータ保存手段のヌクレオチド配列と比較するための探索手段 ; および
- (c) 段階 (b) の該相同配列を得るための検索手段。

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Internat. Application No PCT/L. 03/02882
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12N15/09 C12N15/31 C07K14/335 C07K16/12 C12Q1/68		
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) IPC 7 C12N		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, CHEM ABS Data, EMBASE		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	PFEIFER ANDREA ET AL: "Probiotics in alimentation: Clinical evidence for their enhancement of the natural immunity of the gut." NESTLE NUTRITION WORKSHOP SERIES, vol. 42, 1999, pages 243-257, XP001104004 42nd Nestle Nutrition Workshop; Beijing, China; May 11-15, 1997, factors, and intestinal microflora. 1999 Lippincott-Raven Publishers; Nestec Ltd. 227 East Washington Square, Philadelphia, Pennsylvania 19106, USA; Vevey, Switzerland ISBN: 0-7817-1829-5 page 247, paragraph 2 page 256, paragraph 5 ---	1-6,8-19
-/--		
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in 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 document 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. *G* document member of the same patent family
Date of the actual completion of the international search 24 September 2003		Date of mailing of the international search report 01/10/2003
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2260 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Mata Vicente, T.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internal	Application No
PCT/L.	03/02882

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>WALKER D C ET AL: "IS elements are associated with the lactacin F operon of Lactobacillus johnsonii NCC533, one of which disrupts a two-component signaling system and bacteriocin production." ABSTRACTS OF THE GENERAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY FOR, vol. 100, 2000, page 361 XP008007077 100th General Meeting of the American Society for Microbiology; Los Angeles, California, USA; May 21-25, 2000, 2000 ISSN: 1060-2011 the whole document</p> <p>---</p>	1-6,8-19
X	<p>EP 0 875 579 A (NESTLE SA) 4 November 1998 (1998-11-04) example I</p> <p>---</p>	1-6,8-19
X	<p>KIM WOOJIN S ET AL: "Conservation of the major cold shock protein in lactic acid bacteria." CURRENT MICROBIOLOGY, vol. 37, no. 5, November 1998 (1998-11), pages 333-336, XP002211929 ISSN: 0343-8651 page 334, right-hand column, paragraph 2; figure 1</p> <p>-----</p>	1-6,8-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/EP 03/02882

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 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:
As far as an "in vivo" method is concerned, claims 1-3 and 11-13 are directed to a method of treatment/diagnostic method practised on the human/animal body and the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. Claims Nos.: 7
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:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
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 II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

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

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 fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
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.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/EP 03 02882

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box I.2

Claims Nos.: 7

Claim 7 refers to a "polypeptide produced according to claim 4 or 5" but, actually, claims 4 and 5 do not refer to any polypeptide. In consequence, the scope of the claim is ambiguous and vague and its subject-matter is not sufficiently disclosed and supported. No meaningful search can be carried out for said claim.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat	Application No
PCT/L	03/02882

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0875579	A	EP 0875579 A1	04-11-1998
		AU 753558 B2	24-10-2002
		AU 6373698 A	05-11-1998
		CA 2230435 A1	03-11-1998
		JP 10313884 A	02-12-1998
		NO 981774 A	04-11-1998
		NZ 330351 A	29-07-1999
		RU 2202610 C2	20-04-2003
		US 6110725 A	29-08-2000
		US 6258587 B1	10-07-2001
		ZA 9803697 A	01-11-1999

フロントページの続き

(51) Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
G 0 1 N 37/00	(2006.01)	G 0 1 N	33/569	F
C 1 2 N 15/09	(2006.01)	G 0 1 N	37/00	1 0 2
		C 1 2 N	15/00	A
		C 1 2 N	15/00	F

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

- (72) 発明者 プライドモア、レイモンド、デーヴィッド
 スイス国、ローザンヌ、アヴニユ デ ムスキス 2
- (72) 発明者 モレ、ベア
 スイス国、ローザンヌ、アヴニユ デ 1' エスプラナードゥ
- (72) 発明者 アリゴニ、ファブリツィオ
 スイス国、ジュネーブ、リュ モーリス、2
- (72) 発明者 ヘルマンズ、ジョゼフ
 ドイツ連邦共和国、エスフェンバッハ、フローンベルク 1

F ターム(参考) 4B024 AA11 CA01 CA09 HA11
 4B029 AA07 BB20 FA01 FA15
 4B063 QA01 QA18 QQ06 QQ42 QR08 QR55 QR62 QS25 QS32 QS33

专利名称(译)	La1-Lactobacillus菌株的基因组		
公开(公告)号	JP2006506042A	公开(公告)日	2006-02-23
申请号	JP2003582184	申请日	2003-03-19
[标]申请(专利权)人(译)	雀巢制品公司		
申请(专利权)人(译)	兴业德Purodeyui Netsusuru兴业ANONYME		
[标]发明人	プライドモアレイモンドデーヴィッド モレベア アリゴニファブリツィオ ヘルマンスジョゼフ		
发明人	プライドモア、レイモンド、デーヴィッド モレ、ベア アリゴニ、ファブリツィオ ヘルマンス、ジョゼフ		
IPC分类号	C12Q1/68 C12M1/00 C12Q1/04 G01N33/53 G01N33/569 G01N37/00 C12N15/09 C07K14/335 C07K16/12 C12N15/31		
CPC分类号	A61P43/00 C07K14/335		
FI分类号	C12Q1/68.A C12M1/00.A C12Q1/04 G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/569.F G01N37/00.102 C12N15/00.A C12N15/00.F		
F-TERM分类号	4B024/AA11 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/HA11 4B029/AA07 4B029/BB20 4B029/FA01 4B029/FA15 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ06 4B063/QQ42 4B063/QR08 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS32 4B063/QS33		
代理人(译)	池田幸		
优先权	2002007932 2002-04-09 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及约翰逊乳杆菌菌株的DNA序列的用途，特别是其基因组序列用于阐明微生物与它们定殖的宿主之间的相互作用，并且此外还用于阐明这种菌株表现出的益生菌性质的基础。另外，本发明还涉及分别检测乳杆菌和相关物种的核酸或多肽的方法。提供了包含LalI的核苷酸序列和/或多肽序列的数据载体。

遺伝子	開始	停止	特徴 *	% ID	機能
LJ_0008 (78 aa*)	9756	9992		84.8	リボソームタンパク質 S18
LJ_0043 (384 aa)	52848	54002	相補体	76.4	インシュリン-リン酸脱水素酵素 (EC 1.1.1.355)
LJ_0045 (337 aa)	54728	55741	相補体	96.7	D-乳酸脱水素酵素 (EC 1.1.1.28)
LJ_0054 (304 aa)	75671	76585		93	プロリナーゼアロルギミンペプチダーゼ (EC 3.4.11.5)
LJ_0056 (316 aa)	77465	78415	相補体	99	結合胆汁酸塩とドローラーゼ (EC 3.5.1.24)
LJ_0057 (451 aa)	78431	79786	相補体	88	推定胆汁酸塩トランスポーター
LJ_0058 (452 aa)	79810	81168	相補体	81.4	推定胆汁酸塩トランスポーター
LJ_0065 (235 aa)	87816	88523		74.6	応答制御物質
LJ_0124 (149 aa)	146032	146481	相補体	80.4	ヌクレオシドデオキシリボシルトランスフェラーゼ -II (EC 2.4.2.6)
LJ_0178 (436 aa)	211269	212579	相補体	71.1	アミンペプチダーゼ G (EC 3.4.22.-)
LJ_0182 (482 aa)	214451	215899	相補体	98.7	6-ホスホヘキサグルコシダーゼ (EC 3.2.1.86)
LJ_0315 (367 aa)	248929	250032		70.2	核酸糖結合輸送 ATP- 結合タンパク質 (EC 2.7.1.69)
LJ_0229 (517 aa)	264155	265708		75.2	CMMP シンターゼ [グルタミン 加水分解性] (EC 6.3.5.2)
LJ_0238 (471 aa)	287474	288889	相補体	85.9	ジペプチダーゼ A (EC 3.4.14)
LJ_0260 (653 aa)	290018	291979		75	ラフィノースキヤリアンタンパク質 (ラフィノースヘルメラーゼ)
LJ_0262 (480 aa)	294170	295615		71.6	シロチンアミノリダーゼ (EC 3.4.1.7)
LJ_0274 (323 aa)	307454	308425	相補体	84.4	D-乳酸脱水素酵素 (EC 1.1.1.28)
LJ_0295 (249 aa)	332973	333722		79.7	ORF 169a (プロファージタンパク質)
LJ_0307 (284 aa)	343364	344218		100	ターミナーゼサブユニット (プロファージタンパク質)
LJ_0308 (424 aa)	344205	345479		100	orfB45; ターミナーゼサブユニット (プロファージタンパク質)
LJ_0309 (499 aa)	345405	346994		99.7	orf500; 推定ポータータンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0311 (360 aa)	347218	348300		100	orf360; 推定マイナーヘットタンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0312 (214 aa)	348455	349098		100	orf214; 足場タンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0313 (321 aa)	349112	349472		100	orf21 (プロファージタンパク質)
LJ_0314 (340 aa)	348408	350547		100	orf49; 推定ヘットタンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0315 (105 aa)	350557	350874		99	orf105 (プロファージタンパク質)
LJ_0316 (117 aa)	350871	351224		100	orf117 (プロファージタンパク質)
LJ_0317 (182 aa)	351217	351765		99	orf106 (プロファージタンパク質)
LJ_0318 (122 aa)	351766	352134		100	orf122 (プロファージタンパク質)
LJ_0319 (159 aa)	352137	352616		100	orf59; 推定主要ターゲタンパク質 (プロファージタンパク質)
LJ_0320 (136 aa)	352694	353104		93.3	orf136 (プロファージタンパク質)