

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2019-141042

(P2019-141042A)

(43) 公開日 令和1年8月29日(2019.8.29)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12 Z N A	4 B 0 6 3
G O 1 N 33/53 (2006.01)	G O 1 N 33/53 M	4 B 0 6 5
C O 7 K 14/47 (2006.01)	G O 1 N 33/53 D	4 C 0 8 4
C 1 2 Q 1/6876 (2018.01)	C O 7 K 14/47	4 C 0 8 5
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 Q 1/6876 Z	4 H 0 4 5
審査請求 有 請求項の数 12 O L (全 73 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2019-33853 (P2019-33853)
 (22) 出願日 平成31年2月27日 (2019. 2. 27)
 (62) 分割の表示 特願2017-500995 (P2017-500995)
 の分割
 原出願日 平成27年7月9日 (2015. 7. 9)
 (31) 優先権主張番号 14176624.6
 (32) 優先日 平成26年7月10日 (2014. 7. 10)
 (33) 優先権主張国・地域又は機関
 欧州特許庁 (EP)

 (特許庁注：以下のものは登録商標)
 1. T W E E N

(71) 出願人 500030655
 ドイチェス クレブスフォルシュングスツ
 ェントルム
 ドイツ連邦共和国 ハイデルベルク デー
 ー 6 9 1 2 0 イム ノイエンハイマー
 フェルト 2 8 0
 (74) 代理人 100095832
 弁理士 細田 芳徳
 (72) 発明者 デ ヴィリアースーツール ハウゼン
 ドイツ連邦共和国 ヴァルトーミッヒェル
 バッハ 6 9 4 8 3 アイヒェンシュトラ
 ーセ 1

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌およびCNSの疾患の将来の発症のための早期マーカー、ならびにこれらの疾患の治療および予防のための標的としてのHCBI、MSBI、MSSIおよびCMI配列

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】 癌およびCNSの疾患の将来の発症のための早期マーカー、ならびにこれらの疾患の治療および予防のための標的としてのHCBI、MSBI、MSSIおよびCMI配列を提供すること

【解決手段】 MSBI1.176またはMSBI2.176ポリ核酸の一部を含むオリゴヌクレオチドプライマー、及びオリゴヌクレオチドプローブであって、ヌクレオチド配列を含む特定の単離物の核酸を特異的に配列決定または特異的に増幅するためのプライマー、及びプローブ配列。更に、該MSBI1.176またはMSBI2.176ポリ核酸含有発現ベクターを含む宿主細胞、該宿主細胞により生産された抗体の使用に関する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

(a) 図1(c)もしくは1(d)に示されるヌクレオチド配列；
(b) (a)のヌクレオチド配列と相補的なヌクレオチド配列；または
(c) 上述のヌクレオチド配列のいずれかと比較して、遺伝子コードの縮重の結果重複するヌクレオチド配列を含む、MSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸。

【請求項 2】

請求項 1 記載のMSB11.176またはMSB12.176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、請求項 1 に規定されるヌクレオチド配列を含む特定の単離物の核酸を特異的に配列決定または特異的に増幅するためのプライマーとして作用し得る、プライマー。

10

【請求項 3】

請求項 1 記載のMSB11.176またはMSB12.176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、請求項 1 に規定されるヌクレオチド配列を含む特定の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し得る、プローブ。

【請求項 4】

原核生物、真核生物またはウイルスの転写調節因子および翻訳調節因子に操作可能に連結される、請求項 1 ~ 3 いずれか記載のMSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸を含む、発現ベクター。

20

【請求項 5】

請求項 4 記載の発現ベクターで形質転換または改変される宿主細胞。

【請求項 6】

請求項 1 記載のMSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸によりコードされるポリペプチド。

【請求項 7】

請求項 6 記載のポリペプチドに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片。

【請求項 8】

(a) 任意に試料ポリ核酸を抽出する工程、(b) 少なくとも1つの請求項 2 記載のプライマー、任意に標識されたプライマーを用いて上述のポリ核酸を増幅する工程、および(c) 増幅されたポリ核酸を検出する工程を含む、生物学的試料中の請求項 1 記載のMSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸の検出のための方法。

30

【請求項 9】

(a) 任意に試料ポリ核酸を抽出する工程、(b) 上述のポリ核酸と、少なくとも1つの請求項 3 記載のプローブ、任意に、標識されたプローブをハイブリダイズさせる工程、および(c) ハイブリダイズさせたポリ核酸を検出する工程を含む、生物学的試料中の請求項 1 記載のMSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸の検出のための方法。

【請求項 10】

(a) 請求項 6 記載のポリペプチドまたは請求項 7 記載の抗体の存在および/または濃度について生物学的試料を接触させる工程、ならびに(b) 前記抗体および/または前記ポリペプチドの間に形成される免疫学的複合体を検出する工程を含む、生物学的試料中に存在する請求項 6 記載のポリペプチドまたは請求項 7 記載の抗体を検出するための方法。

40

【請求項 11】

請求項 1 記載のMSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸の発現を低減または阻害するアンチセンスオリゴヌクレオチド、あるい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 12】

請求項 7 記載の抗体もしくはその抗原結合断片または請求項 11 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド、および適切な医薬担体を含む、医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

50

【技術分野】

【0001】

本発明は、HCBI(健康畜牛血液単離物(Healthy Cattle Blood Isolate))、MSBI(多発性硬化症脳単離物(Multiple Sclerosis Brain Isolate))、MSSI(多発性硬化症血清単離物(Multiple Sclerosis Serum Isolate))およびCMI(牛乳単離物(Cow Milk Isolate))ヌクレオチド配列、ならびに前記ヌクレオチド配列の一部を含むプローブおよびプライマー、ならびに前記ヌクレオチド配列によりコードされるポリペプチドに対する抗体に関する。最終的に、本発明は、癌およびCNSの疾患などの疾患の将来の発症のための早期マーカーならびにこれらの疾患の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関する。

【背景技術】

【0002】

背景

最近10年間に行われたいくつかの疫学的分析により、異なる方法で加工された「赤身」肉(燻製または風乾された肉、および生で、半調理済みで、または焼いて消費されるソーセージの成分としての肉を含む)の長期間の消費は、結腸癌のリスク因子であるとみなされ得るということが示されている(World Cancer Report 2007, zur Hausen 2012)。「白身」肉(鳥肉/魚)とは対照的に、「赤身」肉は、牛肉、豚肉、マトン、ラムおよびヤギ肉を含むとみなされる。

【0003】

これまで、ロースト、グリル、バーベキュー、燻製および風乾の際に生じる化学的発癌性物質は、癌のリスク因子にされていた。しかしながら、鳥肉/魚の料理の別の方法の際にも化学的発癌性物質が同等の濃度で産生されるという事実はしばしば無視されていた。したがって、このことは、直腸癌の発症に関してこれらの化学物質が排他的な役割を担うという仮定を支持するものではない。また、現在の疫学的分析では、牛肉が主要なリスク因子であることが示唆されるので、さらなる種特異的な、推定で感染性の因子が、この種類の癌の誘発に寄与していると仮定されている(zur Hausen, 2012)。家畜化されたウシの品種の世界的な広がりとの分析と、結腸癌の世界的な発病率の相関の結果は、コブウシ、スイギュウまたはヤクの系統ではなく、欧州/アジアの畜牛(Bos taurus)に由来するウシの品種の肉の消費が、主要なリスク因子として重要であり得ることを示唆すると思われる(zur Hausen, 2015)。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0004】

【非特許文献1】Int J Cancer 2012; 130:2475-2483

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

そのため、本発明にある技術的な課題は、癌またはCNSの疾患などの疾患に関連し得る特定のヌクレオチド配列を同定することであり、診断および治療のための手段を提供することである。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明の簡単な説明

前記技術的な課題の解決は、特許請求の範囲において特徴付けられる態様を提供することにより達成される。

【0007】

本発明を生じる実験の間に、血清中の存在も「赤身」肉における感染性因子の存在を示すという仮定から始まり、感染性因子について畜牛の血清をスクリーニングした。健康なウシ由来の血清をスクリーニングし、新規のウイルス性核酸成分を単離し得た。これらの成分のいくつかのDNA配列およびオープンリーディングフレームは、ヒツジ、畜牛および

10

20

30

40

50

ヒトの伝染性海面状脳障害(TSE)、TSE疾患について既に記載された2つの配列と、見覚えのある関係を示した。

【0008】

TSE単離物は、癌誘導において重要な役割を果たすことも疑われており(Manuelidis, 2011)、そのため、記載されるウイルス配列が、癌、具体的に結腸癌および乳癌、さらにホジキン病および他の疾患、ならびにCNSの疾患(多発性硬化症MS、筋萎縮性側索硬化症、伝染性海綿状脳症/プリオン関連疾患、パーキンソン病、アルツハイマー病)などの疾患の発症に関連し得ることを推定することが妥当である。

【0009】

即ち、本発明の要旨は、

〔1〕(a)図1(c)もしくは1(d)に示されるヌクレオチド配列；
 (b) (a)のヌクレオチド配列と相補的なヌクレオチド配列；または
 (c)上述のヌクレオチド配列のいずれかと比較して、遺伝子コードの縮重の結果重複するヌクレオチド配列

を含む、MSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸、

〔2〕〔1〕記載のMSB11.176またはMSB12.176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、〔1〕に規定されるヌクレオチド配列を含む特定の単離物の核酸を特異的に配列決定または特異的に増幅するためのプライマーとして作用し得る、プライマー、

〔3〕〔1〕記載のMSB11.176またはMSB12.176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、〔1〕に規定されるヌクレオチド配列を含む特定の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し得る、プローブ、

〔4〕原核生物、真核生物またはウイルスの転写調節因子および翻訳調節因子に操作可能に連結される、〔1〕～〔3〕いずれか記載のMSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸を含む、発現ベクター、

〔5〕〔4〕記載の発現ベクターで形質転換または改変される宿主細胞、

〔6〕〔1〕記載のMSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸によりコードされるポリペプチド、

〔7〕〔6〕記載のポリペプチドに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片、

〔8〕(a)任意に試料ポリ核酸を抽出する工程、(b)少なくとも1つの〔2〕記載のプライマー、任意に標識されたプライマーを用いて上述のポリ核酸を増幅する工程、および(c)増幅されたポリ核酸を検出する工程を含む、生物学的試料中の〔1〕記載のMSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸の検出のための方法、

〔9〕(a)任意に試料ポリ核酸を抽出する工程、(b)上述のポリ核酸と、少なくとも1つの〔3〕記載のプローブ、任意に、標識されたプローブをハイブリダイズさせる工程、および(c)ハイブリダイズさせたポリ核酸を検出する工程を含む、生物学的試料中の〔1〕記載のMSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸の検出のための方法、

〔10〕(a)〔6〕記載のポリペプチドまたは〔7〕記載の抗体の存在および/または濃度について生物学的試料を接触させる工程、ならびに(b)前記抗体および/または前記ポリペプチドの間に形成される免疫学的複合体を検出する工程を含む、生物学的試料中に存在する〔6〕記載のポリペプチドまたは〔7〕記載の抗体を検出するための方法、

〔11〕〔1〕記載のMSB11.176またはMSB12.176ポリ核酸の発現を低減または阻害するアンチセンスオリゴヌクレオチド、あるい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、

〔12〕〔7〕記載の抗体もしくはその抗原結合断片または〔11〕記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド、および適切な医薬担体を含む、医薬組成物に関する。

【発明の効果】

【0010】

本発明により、癌およびCNSの疾患の将来の発症のための早期マーカー、ならびにこれ

10

20

30

40

50

らの疾患の治療および予防のための標的としてのHCBI、MSBI、MSSIおよびCMI配列が提供され得る。

【図面の簡単な説明】

【0011】

図1~4についての略語：Rep=複製タンパク質；CP=カプシドタンパク質

CMI：牛乳単離物

HCBI：健常畜牛血液単離物

MSCI：MS脳単離物

MSSI：MS血清单離物

Sphinx：可変(X)潜在物の遅延進行型隠れ感染(slow progressive hidden infection of variable (X) latency) 10

【図1】群1-ウシ血清、牛乳および多発性硬化症(MS)脳試料(死後)からの単離物-全てはSphinx1.76と関連する (a) HCB16.252 (2522bp)(健常畜牛血液単離物；CMI1.252(牛乳単離物)と同一)。 (b) HCB16.159 (1591bp)：HCB16.252の欠失は見かけ上HCB16.159を生じた-両方は、バック対バックプライマー、すなわち環状DNAであり人工物ではない、を使用してウシ血清から独立して回収(rescued)された。このことは、これらの感染性生物が2つの形態-互いに関連するかまたは相補的である大および小分子を有することを示し得た。 (c) MSBI1.176(多発性硬化症脳単離物)(1766bp)-Sphinx1.76と98%類似 (d) MSBI2.176(1766bp)-MSBI1.176と同じMS脳試料から単離された (e) CMI1.252 (2523bp)(牛乳単離物；HCB16.252と同一) (f) CMI2.214 (2148bp) (g) CMI3.168 (1687bp) (h) CMI4.158 (1583bp) 該単離物は全てSphinx1.76の複製遺伝子に対して設計されたバック対バックプライマーを使用して生成された。プライマー(いくつかの単離物は両方のプライマーペアを独立して適用することで2回単離された)。Nn(フォワードGGATTAATGCCAATGATCC)、Xn(リバーズCTTTGCCTGTTTCTCTCG)、および/またはNo(フォワードGAGGACGAATTAATATTACAAGTC)、Xo(リバーズGTTTCTCGTTTTCTTGTA) 20

【図2】群2：Sphinx2.36と関連する単離物HCB17.228(2280bp)(健常畜牛血液単離物)。この試料は、バック対バックプライマーを使用してウシ血清からPCRにより生成されたプライマー：Nd(フォワードCAGATTGCAAAGCCTGTAATTCAT)、Xd(リバーズCTAAGGCAGATCAACACAGGGATA) 30

【図3】群3：ウシ血清および多発性硬化症血清およびMS脳試料(死後)由来の単離物-公知のssDNAウイルスと遠く関連する (a) HCB18.215(2152bp)および(b) HCB19.212(2121bp)(健常畜牛血液単離物)ならびに(c) MSSI2.225(2259bp)(多発性硬化症血清单離物)のヌクレオチド配列。MSSI2.225と同一の配列(MSBI3.224)もMS脳試料から単離した。これらのHCBI単離物を以下のように生成した：Optiprep勾配遠心分離で血清試料を超遠心分離に供した。勾配を分画し、画分からDNAを抽出し、ローリングサークル増幅に供した。生成物をBamHIまたはEcoRI酵素で消化した。生成物をクローニングして配列決定した。それぞれの勾配クローンに対して設計したバック対バックプライマーを用いて元のDNA試料の増幅により完全なゲノムを得た。完全なゲノムは全体で配列決定した。MSSI単離物(およびMS脳由来のクローンMSBI3.224)を得て、MS血清およびMS脳から抽出したDNAのローリングサークル増幅後、制限酵素消化、生成物のクローニングおよびその後、配列決定を行った。元のクローンに対して設計されたバック対バックプライマーを用いた増幅により完全なゲノムを得た。完全なゲノムは全体で配列決定した。 40

【図4】群4-サイクロバクター種プラスミドと遠く関連する：MSSI1.162および推定オープンリーディングフレームのヌクレオチド配列。MS-血清单離物MSSI1.162(群4)は、複数のMS血清試料のローリングサークル増幅により生成した。生成物を制限酵素HindIIIで消化してクローニングし、配列決定した。

【図5】単離物の4つの群のゲノム組織化(organisation)。単離物は、Sphinx1.76ゲノム(群1)、Sphinx2.36(群2)、myco様ゲミサーキュラーウイルスes(群3)およびサイクロバクター種プラスミド(群4)に対するそれらの配列類似性に従ってグループ分けした。(A) 群1 (B) 群2、3および4

【図6】8個の単離物とSphinx1.76の間の複製遺伝子/iteron様反復領域の整列

【図7】ヘルペス型ゲノムおよびBMF(bovine milk factor)因子を有する異なる種類の脳細胞の潜在的感染の模式的概略

【図8】ヘルペスおよびBMF DNAを同時に感染させた細胞におけるヘルペスDNAの自発的再活性化。BMFの増幅およびヘルペスDNA複製の阻害。

【図9】免疫系による外来抗原の認識、T細胞応答の模式的概略

【図10】早期病変における小血管の周囲の単核炎症性細胞。リンパ球、単核球、血漿細胞および場合によってマクロファージ。

【図11】左、病変(プラーク)、右、正常白質の年齢進行。病変(矢印)および間期にマクロファージが存在する。

【図12】多発性硬化症の病因概念の模式的概略。ヘルペス型ウイルスの役割のための例としてEBVを使用する。

【図13】MS病因の試験的模式図

【発明を実施するための形態】

【0012】

本発明の詳細な説明

本出願において、多発性硬化症および癌の病因についての新規の概念が提示される：ウイルスの増殖と牛乳(または血清)因子(Bovine Milk (or serum) Factor)(BMF)の増幅されたDNAの相互作用

【0013】

序論

多発性硬化症(MS)の発病率は、世界のいくつかの部分で増加している(Kurtzke, 2000, Alcalde-Cabero et al., 2013に概説)。この増加は主に、環境要因による。高リスク領域から低リスク領域への移住者は、移住時に少なくとも15歳である場合にのみ、出生地のMSリスクを保持し、しばしば早期幼少期に獲得した感染のためであると解釈される(Kurtzke, 2000に概説)。症例および地理的疫学の集合も広く議論されている：MSの発病率の増加は、都市化に関連して、女性において注目された(Kotzamani et al., 2012)。

【0014】

脱髄は、MS病変の独特の特徴である。ミエリンタンパク質消失、プラークの位置および拡大、希突起膠細胞崩壊のパターン、ならびに補体活性化の免疫病理学的証拠に基づいて定義される4つの根本的に異なる脱髄のパターンが発見された(Lucchinetti et al., 2000, Metz et al., 2014)。疾患の所定の時点で、脱髄のパターンは患者間で不均一であったが、同じ患者由来の複数の活性病変内では均一であり、異なる寄与因子の可能性が指摘された。

【0015】

リスク因子の2つは特に注意すべきものであると思われる：比較的一定の結果は、異なる主なヘルペス群ウイルス、および潜在的に他の乳製品を含む新鮮な牛乳の消費の可能性のある役割を示す(下記参照)。また、ビタミンD不足もリスク因子としての役割を担う。

【0016】

-ウイルス性リスク因子

明らかに全てのヘルペスウイルス型は、以下の議論に関連のあると思われる2つの特性を共有する：

潜伏期におけるウイルスの残存の間に、部分的に特異的な遺伝子機能により調節され、部分的には後生的な機構によっても調節される自発的な再活性化が起こり得る(Nicoll et al., 2012, Grinde, 2013に概説)。再活性化はまた、トランスホーミング増殖因子などの細胞外サイトカインとの相互作用によっても誘発され得る。

【0017】

病原性ヘルペスウイルス型を有する事実上全てのヒトについて、溶解サイクルの自発的な誘導が観察された。EBV陽性パーキットリンパ腫および鼻咽腔癌におけるエプスタイン-バーウイルス構造タンパク質に対する高抗体力価(Henle, W. and Henle, G., 1977に概

10

20

30

40

50

説)は、本明細書において一例となり得る。ヒトヘルペスウイルス6型、水痘-帯状疱疹ウイルス、単純ヘルペスウイルスおよびその他のものの再活性化はまれな事象ではなく、いくつかの異なる細胞型に影響を及ぼし得る(Hu Knox et al., 2000)。

【0018】

ヘルペスウイルス感染の第2の顕著な特徴は、潜伏期において種々の二本鎖または一本鎖小DNAを含む細胞の感染時に、種々の二本鎖または一本鎖小DNAウイルスゲノムの増幅を示すことである。これは、ヒトおよびサルポリオマウイルス、JCおよびSV40、ヒトおよびウシパピロマウイルス、ならびに一本鎖アデノ随伴(AAV)およびAnello-/TT-ウイルスについて注目されている(Schlehofer and zur Hausen, 1990, Heilbronn et al., 1993, Borkosky et al., 2012)。これらの試験に使用されるヘルペス群ウイルスは、単純ヘルペスウイルス、ヒトサイトメガロウイルスおよびエプスタイン-パールウイルスであった。潜伏期小ウイルスDNAゲノムの増幅を誘導する能力は、アデノ-およびワクシニアウイルスにも共有される(Schlehofer and zur Hausen, 1990)。パルボウイルスのヘルペス-およびアデノウイルス誘導増幅の補助的な効果は、アデノ随伴ウイルスについて集中的に試験された。後者の複製は、この補助的な効果に依存すると思われるが、小ウイルスDNAの優先的な増幅のためにヘルペスまたはアデノウイルス複製の減少をもたらす(Schlehofer et al., 1983, Matz et al., 1984, Bantel-Schaal and zur Hausen, 1988, Schmitt et al., 1989, Schlehofer and zur Hausen, 1990, Heilbronn et al., 1990a, Heilbronn et al., 1990b)。

10

【0019】

ヘルペス群ウイルスの自発的誘導および潜在的な小ウイルスDNAの増幅は、MS発症の下にある機構のその後の仮定の基礎を形成する。

20

【0020】

-牛乳因子(Bovine milk factor)

いくつかの報告により、非低温殺菌牛乳の消費とMS発症の関連が記されたが(Murray TJ, 1976, Sepcic et al., 1993, Malosse and Perron, 1993)、他のものでは、特に人生の早期に消費する場合、リスク因子としての牛乳の長期間の消費が強調された(Agranoff and Goldberg, 1974, Christensen, 1975, Warren, 1984, Butcher, 1976, 1986, Winer et al., 2001, Munger et al., 2011a)。

【0021】

牛乳中にMS発症のリスクを増加させる特異的な因子が存在する場合、あるものは長期間の母乳養育の保護的な役割を予想し得る。長期間の母乳養育期(6か月以上の間)は、MS発症について保護的な効果を有することが実際に繰り返し報告されている(Christensen, 1975, Warren, 1984, Tarrats et al., 2002, Conradi et al., 2013)。牛乳因子の存在は、MSの発症についての特定の遺伝的素因も除外していない。MSについての単一遺伝子による素因は、BRCA1の付近への染色体局在化において報告されている(Holzmann et al., 2013)。

30

【0022】

-ビタミンD不足

MSの開始についてビタミンD不足の役割が繰り返し示唆されている(Ascherio et al., 2012, 2013に概説)。

40

【0023】

ビタミンD不足とエプスタイン-パールウイルス再活性化の説得力のある関係は、トランスホーミング増殖因子(TGF- β)によるEBV再活性化における初期の研究に由来する。血清因子、精製され標識されたエプスタイン-パールウイルス誘導因子(EIF)(Bauer et al., 1982)は、下記のTGF- β 分子と同一であることが明らかにされた(Frolík et al., 1983, Bauer et al., 1991)。次いで、TGF- β は、活性化されたビタミンD受容体により負の方向に調節される(Isik et al., 2012, Ito et al., 2013, Zerr et al., 2014)。これは、MSおよび増悪の季節関連優先的開始を非常によく説明し得た。

【0024】

50

低ビタミンDとEBV再活性化の関係はさらに、多発性硬化症の臨床的発現前の低ビタミンDとエプスタイン-バールウイルスに対する免疫反応性の増大の関連(Munger et al., 2011 b, Decard et al., 2012)およびEBV陽性健常対照と比較したEBV陽性MS患者の高いEVC排出速度(Yea et al., 2013)を説明する研究によりさらに支持される。

【0025】

したがって、CNSの疾患(例えばMS)および癌(例えば結腸癌および乳癌)の両方について、少なくとも2つの因子：ビタミンD不足、ならびに種々のヘルペス群ウイルス、主にエプスタイン-バールウイルス(EBV)、ヒトヘルペスウイルス6型、および水痘-帯状疱疹ウイルスの再活性化が潜在的病因論的寄与因子として示唆されている。本発明によると、本発明の畜牛血清および市販の乳製品由来のいくつかの新規の型の小環状一本鎖DNA、おそらくウイルス起源の同定は、統一の考えを示す。本発明者らは、本発明において、ヘルペス群ウイルスおよび小一本鎖または二本鎖DNAウイルスによる細胞の共感染により、部分的なヘルペスウイルスの阻害を有する小ウイルスDNAの実質的な増幅が生じることを説明している。日常的な畜牛血清および牛乳において同定される分子のいくつかは、プリオン関連脳病変において報告されるDNAとは遠く関係し、多発性硬化症を有する患者の2つの検視病変において発見された。ともに潜在的に残留するヘルペスウイルスゲノムの再活性化によるこれらの一本鎖DNA分子の増幅は、それらの増幅および罹患した脳細胞の破壊をもたらす局所的な免疫応答の誘起を生じ得た。このモデルは部分的に、多発性硬化症の南北の発病率の勾配を説明し得、ビタミンD不足およびヘルペスウイルス再活性化に関連すると思われる(図12および13参照)。

10

20

【0026】

また、MS脳および血清由来の単離物の全長ゲノムを単離して、再環状化し、その後ヒト細胞株293TTにトランスフェクションした。3日目にトランスフェクションした細胞を回収し、miRNA Easy Kit (Qiagen)を使用して全RNAを抽出した。試料をさらに精製して(DNase消化、リボソーム除去)、高速RNA配列決定に供した。RNA転写産物を、MSB11.176、MSB12.176(群1)、MSS12.225(群3)およびMSS11.162(群4)について得た。RNA転写産物は明確に、単離物がヒト細胞中で複製されることを示す。

【0027】

本発明者らは、乳癌および結腸癌についても、ビタミンD不足およびヘルペスウイルス再活性化をリスク因子として考える。多発性硬化症の病因について上述される同じ細胞内の二重の潜在的感染の再活性化は、そのためこれらの癌の病因においても特に重要な役割を担い得る。

30

【0028】

したがって、本発明者らは、多発性硬化症(MS)、また他の下記の疾患が

- ・2つの異なる感染因子による同じ細胞の潜在的感染、最初の事象として、そのうちの1つは、最も可能性が高いヘルペス型ウイルス(特に、EBV、HHV-6、VZV、さらにHSV、HHV-7)であり、もう一方は、牛乳消費(牛乳因子-BMF)によりもたらされる。それぞれは、個々の細胞に潜在的に感染するが、しばしば同じ細胞中で、両方の因子のゲノムが生じる；
- ・第2の前提条件として、ヘルペス型ウイルス、最も頻繁にはエプスタイン-バールウイルス(EBV)(それだけではない)の溶解サイクルへの再活性化。EBVについて、このことはおそらく活性化されたビタミンD受容体により負の方向に調節されるトランスホーミング増殖因子(TGF)のレベルの増加に関連する；
- ・第3の事象として、ヘルペス型DNA合成の部分的な抑制およびBMF粒子の形成を生じるか、またはその核酸を、神経接続を介して隣接する細胞へと拡散するBMFの増幅；
- ・これはBMFタンパク質を発現する隣接する細胞の感染に続く；
- ・最後に、BMFに対するT細胞応答により、罹患した細胞の破壊およびMSの場合はプラーク形成が誘導される。このことは、中枢静脈および早期の病変における集中的に局在化した免疫応答から共通して始まる病変の焦点が当てられた外観の臨床的な観察を支持する、により生じると考える。

40

【0029】

50

牛乳または乳製品内に存在する因子の伝達は、ヒト脳細胞における潜在的な感染およびその後、ヘルペスウイルスDNAまたはヘルペスウイルス様DNAの共潜伏および自発的な誘導の場合は、これらの因子の増幅を引き起こし得る。有力なBMF候補因子を、実施例2~5および添付の図面に記載する。

【0030】

畜牛血清中(実施例2~5参照)、市販の乳試料中、ならびに十分に発達したMS病変およびMS血清中のSphinx配列、Anello-、Circo-およびゲミサーキュラーウイルス(Gemycircular virus)属、ならびにサイクロバクター種に関連する推定環状一本鎖DNAの存在は、MS病因についての概念の発展を可能にする。これは、ヘルペス型ウイルス、最も顕著にはEBV、小二本鎖および一本鎖DNAウイルスを増幅する性質、ウイルス性牛乳因子、ビタミンD不足、EBVが誘導するTGF β の特性ならびにMS開始および疾患の経過における増悪の部分的な季節依存の関連性の観察を一体化する。この概念を、図7~13に模式的に概略する。

10

【0031】

同じ細胞または近くに隣接する細胞の、ヘルペスウイルスゲノムおよび推定BMF、その後のヘルペスウイルス再活性化および次いで一本鎖DNAの優先的な増幅の誘発因子による初期の二重潜在的感染は、第1の事象として規定される。潜伏EBV感染の場合、ビタミンD不足およびその後のEBV誘導因子としてのTNF α の上方調節は、上方調節についての重要な誘発因子であり得る。ウイルス抗原を発現する隣接細胞のおそらく不全型の感染は、活性T細胞応答および罹患した細胞の破壊を生じる。MS開始およびMS増悪の新たなラウンドの頻繁に記載される季節性、繰り返し報告されるMS発病率の北から南への勾配は、太陽光曝露、ビタミンDレベルとTGF β 濃度の負の相関、およびEBV再活性化の程度を反映するはずである。

20

【0032】

したがって、本発明者らは、潜伏形態における影響を受けやすい正常ヒト脳細胞においても異なるBMF配列の存在も予測する。BMF単離物の顕著な不均一性は、ヒトにおけるMSの病理学的な特徴についてのその変化の反映も見出し得る(Lucchinetti et al., 2000, Metz et al., 2014)。ヒトパピローマウイルス病原性についての特定の類似において、実際に「高い」および「低い」リスク型が同定されたとしても、これは特に驚くべきことではなかった(zur Hausen, 1985)。後者はBMF陽性細胞のヘルペス型ウイルスによる潜在的な共感染および後者の自発的な誘導を必要とすべきであるので、これらの保有因子の大部分は、MSを発症させない。これはまれな事象であるが、頻繁なヘルペスウイルス再活性化を生じる条件下で増加するはずである。

30

【0033】

最終的な点として、この概念を、ビタミンD不足の条件下で高い頻度で生じる他の起こり得る自己免疫疾患および特定の癌に適用することも重要であるはずである。癌が懸念される限り、これは具体的に、結腸癌および乳癌、起こり得るものとして、卵巣癌、前立腺癌、膵臓癌および肺癌の原因となる。

【0034】

インスリン依存性真性糖尿病のリスクは、牛乳消費およびビタミンD不足と繰り返し結び付けられている(Scott, 1990, in Grant, 2006, in Hypponen et al, 2010に概説)。後者のシステムは、MS状況と特に緊密であると思われる。

40

【0035】

したがって、本発明は、

- (a) 図1~4のいずれかに示されるヌクレオチド配列；
- (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)もしくは(b)のヌクレオチド配列の断片；
- (d) (a)、(b)もしくは(c)のヌクレオチド配列と相補的なヌクレオチド配列；または
- (e) 上述のヌクレオチド配列のいずれかと比較して遺伝子コードの縮重の結果重複するヌクレオチド配列を含む、HCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸に関する。

50

【0036】

用語「ポリ核酸」は、一本鎖または二本鎖の核酸配列をいう。ポリ核酸は、デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド、ヌクレオチドアナログまたは修飾ヌクレオチドからなり得るか、または診断もしくは治療の目的に適合され得る。ポリ核酸はまた、例えばクローニング目的に使用され得る二本鎖cDNAクローンを含み得る。

【0037】

本発明のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸は、周知の常套的な方法に従って、例えば(a)試料から全DNAまたはRNAを単離して、(b)ハイブリダイゼーションまたはPCRによりHCBI、MSBI、MSSIまたはCMI配列を検出し、(c)HCBI、MSBI、MSSIまたはCMI配列をベクターにクローニングすることにより調製することができる。

10

【0038】

1つ以上のヌクレオチドの欠失および/または挿入、特に1つ以上のコドンの挿入または欠失のいずれかを、主にオリゴヌクレオチドの末端(3'または5'のいずれか)に含み、本発明のポリ核酸配列に対して少なくとも90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%または99%の同一性を示す、本発明のポリ核酸の配列バリエーションも本発明に含まれる。図1~4に示される配列と類似の本発明のポリ核酸配列は、配列特異的プライマーによる増幅、高いかもしくは低いストリンジェントな条件下での配列特異的プローブを用いたハイブリダイゼーション、HCBI、MSBI、MSSIもしくはCMIの遺伝子情報の配列決定などの当該技術分野で公知の手段のいずれかにより特徴付けられ得、かつ単離され得る。

【0039】

本発明はまた、複製タンパク質をコードする複製遺伝子を有する上述の本発明のヌクレオチド配列の断片を提供する。自律的複製ヌクレオチド配列は、自律的複製を誘導し得る複製遺伝子またはその断片のヌクレオチド配列を含む。複製タンパク質は、一本鎖DNA誘導一本鎖切断を複製起点またはその近位で結合するエンドヌクレアーゼを示す(Wolds, 1997)。当業者は、過度な実験を有することなく、自律的複製を誘導し得るかかかる断片を誘導し得る。かかる断片は、少なくとも45、少なくとも55または少なくとも65ntの長さを有し得る。

20

【0040】

当業者は、どの核酸配列が図1~4のヌクレオチド配列に関係するか、またはどの断片が自律的に複製し得るかを、標準的なアッセイにより容易に決定し得る。

30

【0041】

本発明はまた、上述のヌクレオチド配列のいずれかと比較して、遺伝子コードの縮重の結果重複するポリ核酸配列を提供する。これらのバリエーションポリ核酸配列は、アミノ酸が由来するポリ核酸と同じアミノ酸配列をコードする。

【0042】

本発明のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸は、染色体外エピソームとして存在し得るか、宿主ゲノム内に取り込まれ得るかおよび/または宿主細胞DNAに連結し得る。

【0043】

本発明はまた、先に規定されるポリ核酸の一部を含むかまたはそれからなるオリゴヌクレオチドプライマーに関し、前記プライマーは、本発明のHCBI、MSBI、MSSIもしくはCMIポリ核酸を特異的に配列決定するためまたは特異的に増幅するためのプライマーとして作用し得る。

40

【0044】

用語「プライマー」は、コピーされる核酸鎖に相補的なプライマー伸長産物の合成のための開始点として作用し得る一本鎖DNAオリゴヌクレオチド配列をいう。該プライマーの長さおよび配列は、該伸長産物の合成の誘導を可能にするようなものでなければならない。好ましくは、該プライマーは約5~50ヌクレオチドである。具体的な長さおよび配列は、必要とされるDNAまたはRNA標的の複雑さ、ならびに温度およびイオン強度などのプライマー使用の条件に依存する。

【0045】

50

増幅プライマーは適切な増幅を保証するために対応する鋳型配列と正確に適合する必要はないという事実は、文献中に十分に記載される。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)もしくはQbレプリカーゼによる増幅、またはプライマー伸長を使用して核酸分子を増幅するための任意の他の適切な方法であり得る。増幅の間に、増幅産物は、標識されたプライマーを使用することまたは標識されたヌクレオチドを取り込むことのいずれかにより標識され得る。

【0046】

標識は同位体(32P、35S等)または非同位体(ビオチン、ジゴキシゲニン等)であり得る。増幅反応は20~70回、有利には25~45回反復される。

10

【0047】

当該技術分野で公知の種々の配列決定反応を使用して、ウイルス遺伝子情報を直接配列決定し得、かつ試料の配列に対応するアミノ酸配列に翻訳することによりORFを決定し得る。例示的配列決定反応としては、サンガーまたはマキサムおよびギルバートにより開発された技術に基づくものが挙げられる。種々の自動化配列決定手順は、質量分析による配列決定を含む目的のアッセイを実行する際に、利用され得ることも企図される(例えばPCT公開公報WO 94/16101参照)。例えばわずか2つまたは3つの核酸塩基の出現が配列決定反応において決定されること必要とすることは当業者に明らかである。

【0048】

好ましくは、これらのプライマーは約5~50ヌクレオチド長、より好ましくは約10~25ヌクレオチドである。少なくとも13塩基の長さを有するプライマーが最も好ましい。

20

【0049】

本発明はまた、上述のHCBI、MSBI、MSSIもしくはCMIポリ核酸の一部を含むまたはそれからなるオリゴヌクレオチドプローブにも関し、前記プローブは、本発明によるHCBI、MSBIまたはCMIポリ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機能し得る。

【0050】

該プローブは標識され得るかまたは固相支持体に結合され得る。

【0051】

用語「プローブ」は、検出されるHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸の標的配列に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いう。

30

【0052】

好ましくは、これらのプローブは約5~50ヌクレオチド長であり、より好ましくは約10~25ヌクレオチドである。少なくとも13塩基を有するプローブが最も好ましい。

【0053】

用語「固相支持体」は、オリゴヌクレオチドプローブが連結し得る任意の物質をいい得るが、ただし該プローブは、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が低いままである。通常、固相支持体は、マイクロタイタープレート、膜(例えばナイロンまたはニトロセルロース)またはマイクロスフィア(ビーズ)である。膜への適用または固定の前に、固定化を容易にするためまたはハイブリダイゼーション効率を向上するために核酸プローブを修飾することが都合よくあり得る。かかる修飾は、ホモポリマー尾部付加を含み得、脂肪族基、NH₂基、SH基、カルボキシル基などの異なる反応基と連結するかまたはビオチンもしくはハプテンと連結する。

40

【0054】

プライマーまたはプローブとして使用される本発明のオリゴヌクレオチドはまた、ホスホリチオエート、アルキルホスホリエートもしくはペプチド核酸などのヌクレオチドアナログを含み得るかもしくはそれからなり得るか、または挿入因子(intercalating agents)を含み得る。これらの修飾は、必要とされる特異性および感度を得るために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を必要とする。しかしながら、実際の結果は、未修飾のオリゴヌクレオチドを用いて得られるものと本質的に同じである。

50

【0055】

ハイブリダイゼーション速度、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などの特徴に正の方向に影響するためにこれらの修飾の導入は有利であり得る。

【0056】

本発明のポリ核酸は、任意の種類組成物に含まれ得る。前記組成物は、診断的、治療的または予防的な用途のためのものであり得る。

【0057】

本発明はまた、原核生物、真核生物またはウイルスの転写および翻訳調節因子に操作可能に連結される、上述の本発明のHCB1、MSB1、MSS1またはCMIポリ核酸を含む組み換え発現ベクター、ならびにかかるベクターを含む宿主細胞に関する。

10

【0058】

用語「ベクター」は、プラスミド、コスミド、人工染色体、ファージ、またはウイルス、またはトランスジェニック非ヒト動物を含み得る。HCB1、MSB1、MSS1またはCMI組み換え分子、BCGまたはアデノウイルスベクターおよび鳥類ポックス(avipox)組み換えウイルスが、ワクチン開発に特に有用であり得る。

【0059】

本発明の文脈中で使用される用語「組み換え発現」は、本発明のポリペプチドが、以下に詳細に述べられるように、原核生物、または下等もしくは高等真核生物中で組み換え発現法により産生されることをいう。

20

【0060】

用語「宿主細胞」は、組み換えベクターもしくは他の転移ポリヌクレオチドについての受容体として使用され得るかまたは使用されており、かつトランスフェクトされた起源細胞の子孫を含み得る細胞をいう。

【0061】

単一親細胞の子孫が、天然、偶発的または意図的な変異もしくは組み換えのために、形態またはゲノムまたは全DNA相補性において、起源の親と必ずしも完全に同一である必要はないことが理解される。

【0062】

用語「下等真核生物」は、酵母、真菌等の宿主細胞をいう。下等真核生物は一般的に(必ずしもそういうわけではない)、単細胞である。好ましい下等真核生物は、酵母、特にサッカロミセス、シゾサッカロマイセス(*Schizosaccharomyces*)、クルイウェロマイセス(*Kluiveromyces*)、ピキア(例えばピキア・パストリス)、ハンゼヌラ(*Hansenula*)(例えばハンゼヌラ・ポリモルフ(*Hansenula polymorph*))、シュワニオマイセス(*Schwaniomyces*)、シゾサッカロマイセス、ヤロウイア(*Yarrowia*)、ジゴサッカロマイセス(*Zygosaccharomyces*)等の種である。サッカロミセス・セレビシエ、*S. カールスベルゲンシス*(*S. carlsbergensis*)および*K. ラクティス*(*K. lactis*)は、最も一般的に使用される酵母宿主であり、都合の良い真菌宿主である。

30

【0063】

用語「高等真核生物」は、哺乳動物、爬虫類、昆虫等の高等動物由来の宿主細胞をいう。現在の好ましい高等真核生物宿主細胞は、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)、乳児ハムスター腎臓(BHK)、ブタ腎臓(PK15)、ウサギ腎臓13細胞(RK13)、ヒト骨肉腫細胞株143B、ヒト細胞株HeLaおよびHep G2、293TT細胞株等のヒト肝癌細胞株(Buck et al., 2004)および昆虫細胞株(例えばスポドブレタ・フルギペルダ(*Spodoptera frugiperda*))由来である。宿主細胞は、懸濁またはフラスコ培養、組織培養、臓器培養等中に提供され得る。代替的に、宿主細胞は、トランスジェニック非ヒト動物でもあり得る。

40

【0064】

用語「原核細胞」は、大腸菌、ラクトバチルス、ラクトコッカス、サルモネラ、連鎖球菌、枯草菌またはストレプトミセスなどの宿主をいう。これらの宿主細胞も本発明に企図

50

される。

【0065】

ベクター配列中に挿入された所望の配列をコードするHCBI、MSBI、MSSIまたはCMI DNAの区分は、シグナル配列に結合されてもよい。前記シグナル配列は、非HCBI、MSBI、MSSIまたはCMI供給源由来のものであってもよいが、本発明の特に好ましい構築物は、タンパク質のそれぞれの開始点の前に、HCBI、MSBI、MSSIまたはCMIゲノム中に見られるシグナル配列を含む。

【0066】

高等真核生物は、ベクターで形質転換され得るか、また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れ得る。外来DNAをワクシニアウイルス内に挿入するための技術およびベクターは、当該技術分野で周知であり、例えば相同組み換えを利用する。種々のウイルスプロモーター配列、あり得るものとしてターミネーター配列およびポリ(A)付加配列、あり得るものとしてエンハンサー配列およびあり得るものとして増幅配列は全てが哺乳動物発現に必要とされ、当該技術分野で利用可能である。ワクシニアは、宿主細胞タンパク質の発現を停止させるので特に好ましい。ヒトの予防接種のためには、鳥類ボックスおよびアンカラ改変ウイルス(Ankara Modified Virus)(AMV)が特に有用なベクターである。

【0067】

ヘルパー依存的ウイルス発現ベクターであるバキュロウイルスキンウワバ核多角体病ウイルス(AcNPV)由来の昆虫発現転移ベクターも公知である。この系由来の発現ベクターは、通常、不均一な遺伝子の発現を誘導するための強力なポリヘドリン遺伝子プロモーターを使用する。不均一なDNAをバキュロウイルスの所望の部位に導入するための異なるベクターおよび方法は、バキュロウイルス発現のために当業者に利用可能である。昆虫細胞により認識される翻訳語修飾のための異なるシグナルも当該技術分野で公知である。

【0068】

本発明はまた、上述のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸によりコードされるアミノ酸配列を有するポリペプチド、または実質的に同様でありかつ生物学的に同等であるその一部もしくはアナログに関する。

【0069】

用語「ポリペプチド」は、アミノ酸のポリマーをいい、特定の長さの産物をいわない。したがって、ペプチド、オリゴペプチドおよびタンパク質が、ポリペプチドの定義に含まれる。この用語はまた、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、リン酸化等をいわないか、または除外する。例えばアミノ酸の1つ以上のアナログ(例えば天然にはないアミノ酸、ペプチド核酸(PNA)等を含む)を含むポリペプチド、置換された結合を有するポリペプチド、ならびに天然に存在するものおよび天然には存在しないものの両方の当該技術分野で公知の他の修飾が、該定義に含まれる。

【0070】

本発明のポリペプチドは、好ましくは少なくとも3、好ましくは4または5個の連続したHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIアミノ酸、6または7、しかしながら好ましくは少なくとも8個の連続したHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIアミノ酸、少なくとも10または少なくとも15個を含む。

【0071】

本発明のポリペプチド、特に断片は、古典的な化学合成により調製することができる。該合成は、均一な溶液または固相中で実施され得る。本発明のポリペプチドは、組み換えDNA技術の手段によっても調製できる。本発明はまた、(a)先に定義されるポリ核酸またはその一部が適切な制御因子の調節の下で挿入された適切な細胞宿主の組み換えベクターを用いた形質転換、(b)前記形質転換された細胞宿主を、前記挿入物の発現が可能な条件下で培養する工程、および(c)前記ポリペプチドを回収する工程を含む、先に定義された組み換えポリペプチドを産生するための方法に関する。

【0072】

本発明はまた、少なくとも1つの先に定義されるポリペプチドでの免疫の際に生じる抗体に関し、該抗体は、前記ポリペプチドのいずれかと特異的に反応性であり、かつ好ましくはモノクローナル抗体である。用語「抗体」は、好ましくは、本質的に異なるエピトープ特異性を有するプールされたモノクローナル抗体、および別個のモノクローナル抗体調製物からなる抗体に関する。モノクローナル抗体は、当業者に周知の方法により、例えば、本発明のHCBI、MSBI、MSSIもしくはCMIポリ核酸またはその断片によりコードされるポリペプチドを含む抗原から作製される。本明細書で使用する場合、用語「抗体」(Ab)または「モノクローナル抗体」(Mab)は、タンパク質に特異的に結合可能な完全な分子および抗体断片(例えばFabおよびF(ab')₂断片など)を含むことを意味する。FabおよびF(ab')₂断片は、完全な抗体のFc断片を欠き、循環からより迅速に除去され、完全な抗体よりも低い非特異的組織結合を有し得る。したがって、これらの断片、およびFABまたは他の免疫グロブリン発現ライブラリーの産物が好ましい。さらに、本発明の目的に有用な抗体は、キメラ抗体、一本鎖抗体およびヒト化抗体を含む。

10

20

30

40

50

【0073】

本発明はまた、細胞媒介性免疫応答を使用した診断的アプローチおよび治療的アプローチに関する。

【0074】

好ましくは、抗体またはその抗原結合断片は、検出可能な標識を有する。該抗体/断片は、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、金属キレート剤または酵素により、直接または間接的に標識され得る。当業者は、抗体への結合のための他の適切な標識を理解するか、または通常の実験を使用して、かかるものを確かめる。

【0075】

本発明はまた、本発明のHCBI、MSBIもしくはCMIポリ核酸またはポリペプチドの存在の決定における使用のための診断キットに関し、該キットは、本発明のプライマー、プローブおよび/または抗体を含む。該キットは、当業者に周知の任意の形式を有し得、例えばELISA系キットであり得る。

【0076】

本発明はまた、(a)任意に試料ポリ核酸を抽出する工程、(b)少なくとも1つの上述のプライマー、任意に標識されたプライマーにより上述のポリ核酸を増幅する工程、および(c)該増幅されたポリ核酸を検出する工程を含む、生物学的試料中の本発明のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸の検出のための方法に関する。

【0077】

用語「ポリ核酸」はまた、分析鎖(analyte strand)とも称され得、一本鎖または二本鎖ポリ核酸分子に対応する。

【0078】

用語「標識された」は標識された核酸の使用をいう。これは、増幅もしくは標識されたプライマーのポリメラーゼ工程中に、または当業者に公知の任意の他の方法により取り込まれる標識されたヌクレオチドまたは標識されたプライマーの使用を含み得る。

【0079】

本発明はまた、(a)任意に試料ポリ核酸を抽出する工程、(b)上述のポリ核酸と少なくとも1つの上述のプローブをハイブリダイズさせる工程、および(c)ハイブリダイズしたポリ核酸を検出する工程を含む、生物学的試料中の本発明のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸の検出のための方法に関する。

【0080】

ハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件は、ストリンジентなものであると理解され、一般的に当該技術分野で公知である。しかしながら、ハイブリダイゼーション溶液(SSC、SSPE等)によると、これらのプローブは、十分な特異性を得るために適切な温度でハイブリダイズされるべきである。

【0081】

ハイブリダイゼーション溶液(SSC、SSPE等)によると、これらのプローブは、十分な特

異性を得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ズされるべきである。しかしながら、DNAプローブのわずかな修飾、それらの末端(3'または5'のいずれか)での1つもしくはいくつかのヌクレオチドの付加もしくは欠失のいずれか、またはいくつかの必要不可欠ではないヌクレオチド(すなわち種類を区別するのに必要不可欠ではないヌクレオチド)の他のもの(修飾ヌクレオチドまたはイノシンを含む)による置換により、これらのプローブまたはそれらのパリアントは、同じハイブリダイゼーション条件(すなわち同じ温度およ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ズするようになり得る。より特異的なハイブリダイゼーション結果を得るために使用するプローブの量(濃度)を変えることも有益であり得る。GC含量に関係なく同じ長さのプローブが、同じ適切な温度、TMACI溶液中で特異的にハイブリダイズすることは、この文脈中で注意すべきである。

10

【0082】

オリゴヌクレオチドプローブと試料中のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸配列の間で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-プロット形式、サンドイッチハイブリダイゼーションまたはリバーズハイブリダイゼーションなどの当該技術分野で公知であるアッセイ形式のいずれかを含み得る。例えば、検出は、標識されていない増幅された試料を膜に結合させ、膜を少なくとも1つの標識されたプローブと適切なハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件下で一体化し、結合したプローブの存在をモニタリングするドットプロット形式を使用して行われ得る。

20

【0083】

代替的かつ好ましい方法は、増幅された配列が標識を含む「リバーズ」ドットプロット形式である。この形式において、標識されていないオリゴヌクレオチドプローブは、固相支持体に結合して、適切でストリンジェントなハイブリダイゼーションおよびその後の洗浄条件下で標識された試料に曝露される。試料のポリ核酸と本発明のオリゴヌクレオチドプローブの間のハイブリッドの形成をあてにする任意の他のアッセイ方法が使用され得ることも理解される。

【0084】

本発明はまた、本発明のHCBI、MSBI、MSSIもしくはCMIポリ核酸にコードされるポリペプチドまたは生物学的試料中に存在する該ポリペプチドに対する抗体を検出するための方法に関し、該方法は、(a)先に定義されるかかるポリペプチドまたは抗体の存在について生物学的試料を接触させる工程、および(b)前記抗体と前記ポリペプチド間で形成された免疫複合体を検出する工程を含む。

30

【0085】

本発明の免疫アッセイ法は、本発明の新規で特有のポリペプチド配列の異なるドメイン由来の抗原を利用し得る。例えば単一または特異的なオリゴマー抗原、二量体抗原、および単一または特異的なオリゴマー抗原の組合せを使用することは本発明の範囲内にある。本発明のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗原は、公知の抗原を使用して抗体または細胞媒介性免疫応答を検出する実質的に任意のアッセイ形式において使用され得る。したがって、本発明はまた、HCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗原に対する細胞媒介性免疫応答の検出およびHCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗原に対する細胞媒介性免疫応答に基づく治療的干渉の適用を包含する。

40

【0086】

当然、HCBI、MSBI、MSSIまたはCMIのコンホメーションエピトープを変性するアッセイ形式を避けるべきであるかまたは適合するべきである。これらのアッセイの全ての共通の特徴は、抗原とHCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗体を含むことが疑われる身体成分を、抗原が該成分中に存在する任意のかかる抗体と結合することを可能にする条件下で接触させることである。かかる条件は、典型的に、過剰な抗原を使用した、生理学的温度、pHおよびイオン強度である。抗原と検体のインキュベーション後に抗原を含む免疫複合体の検出を行う。

50

【 0 0 8 7 】

免疫アッセイの設計は、多くの変形についての主題であり、多くの形式は当該技術分野で公知である。例えば、プロトコルは、固相支持体または免疫沈澱を使用し得る。ほとんどのアッセイは、標識された抗体またはポリペプチドの使用を含み、該標識は、例えば酵素、蛍光、化学発光、放射性または色素分子であり得る。免疫複合体からシグナルを増幅するアッセイも公知であり、その例は、ビオチンおよびアビジン、またはストレプトアビジンを使用するアッセイ、ならびにELISAアッセイなどの酵素標識および酵素媒介性免疫アッセイである。

【 0 0 8 8 】

該免疫アッセイは、標準型または競合型の不均一な形式であるかまたは均一な形式であり得る。不均一な形式において、ポリペプチドは典型的に、固相マトリックスまたは支持体に結合され、インキュベーション後の試料とポリペプチドの分離が容易になる。使用され得る固相支持体の例は、ニトロセルロース(例えば、膜またはマイクロタイターウェル形式)、ポリ塩化ビニル(例えば、シートまたはマイクロタイターウェル)、ポリスチレンラテックス(例えば、ビーズまたはマイクロタイタープレート、ポリビニリジンフルオリド(Immunolonとして公知)、ジアゾ化紙、ナイロン膜、活性ビーズおよびプロテインAビーズである。抗原ポリペプチドを含む固相支持体は、典型的に試験試料と分離した後、かつ結合抗体の検出の前に洗浄される。標準形式および競合形式は、共に当該技術分野で公知である。

【 0 0 8 9 】

不均一な形式において、試験試料を溶液中の抗原と合わせてインキュベートする。例えば、これは、形成される任意の抗原-抗体複合体を沈殿させる条件下であり得る。これらのアッセイについて、標準および競合形式の両方は、当該技術分野で公知である。

【 0 0 9 0 】

標準形式において、抗体-抗原複合体中のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗体の量は直接モニタリングされる。これは、抗HCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗体上のエピトープを認識する(標識された)抗異種(例えば抗ヒト)抗体が複合体形成により結合するかどうかを決定することにより達成され得る。競合形式において、試料中のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗体の量は、複合体中の標識された抗体(または他の競合リガンド)の公知の量の結合に対する競合効果をモニタリングすることにより推定される。

【 0 0 9 1 】

抗HCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗体を含む形成された複合体(または競合アッセイの場合には競合抗体の量)は、形式に依存して任意のいくつかの公知の技術により検出される。例えば、複合体中の標識されないHCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗体は、標識(例えば酵素標識)と複合体化された抗異種Igのコンジュゲートを使用して検出され得る。

【 0 0 9 2 】

免疫沈澱または凝集アッセイ形式において、HCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗原と抗体の間の反応により、溶液または懸濁液から沈殿し、沈殿の可視の層またはフィルムを形成する網目構造が形成される。試験標本中に抗HCBI、MSBI、MSSIまたはCMI抗体が存在しない場合、可視の沈澱は形成されない。

【 0 0 9 3 】

現在、3つの特異的な型の粒子凝集(PA)アッセイが存在する。これらのアッセイは、支持体に被覆される場合に種々の抗原に対する抗体の検出に使用される。このアッセイの1つの型は、赤血球(RBC)に対する受動吸着抗原(または抗体)により感作される、RBCを使用した赤血球凝集アッセイである。存在する場合、身体成分中に存在する特異的な抗原/抗体の添加は、精製された抗原で被覆されたRBCの凝集を引き起こす。

【 0 0 9 4 】

赤血球凝集アッセイにおいて非特異的反応の可能性を排除するために、PAにおけるRBCの代わりに2つの人工の担体を使用し得る。これらの最も一般的なものはラテックス粒子である。

10

20

30

40

50

【0095】

選択される固相としては、ポリマービーズまたはガラスビーズ、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、試験管および磁性ビーズが挙げられ得る。シグナルを生成する化合物としては、酵素、発光化合物、色原体、放射性因子および化学発光化合物が挙げられ得る。酵素の例としては、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼおよびガラクトシダーゼが挙げられる。エンハンサー化合物の例としては、ビオチン、抗ビオチンおよびアビジンが挙げられる。エンハンサー化合物結合メンバーの例としてはビオチン、抗ビオチンおよびアビジンが挙げられる。

【0096】

上述の方法は、患者細胞内のゲノム下(subgenomic)HCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリヌクレオチド配列自体または特定の宿主遺伝子または遺伝子断片に結合する該ポリヌクレオチドの存在の有害な効果による癌または自己免疫疾患などの疾患を発症するリスクを評価するために有用であり、かつ適切な対処的手段をとることを可能にする。

10

【0097】

したがって、本発明はまた、本発明のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIウイルスポリ核酸に特異的なアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはiRNAに関する。

【0098】

適切なアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはiRNAの作製は、所望の効果、例えばポリペプチドの発現の抑制が生じるようにアンチセンス相互作用を引き起こすためのHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸内の部位(1つ以上)の決定を含む。好ましい遺伝子内部位は、(a)遺伝子のオープンリーディングフレーム(ORF)の翻訳開始もしくは終結コドンを含む領域、または(b)「ループ」もしくは「ふくらみ(bulge)」である、すなわち二次構造の一部ではないmRNAの領域である。1つ以上の標的部位が同定されると、標的に十分相補的、すなわち十分な特異性を伴って充分良好にハイブリダイズし、所望の効果を生じ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」は、相補的ヌクレオチドまたはヌクレオチド塩基の間のワトソン-クリック、Hoogsteenまたは逆Hoogsteen水素結合であり得る水素結合を意味する。本明細書で使用する場合「相補的」は、2つのヌクレオチド間で正確な対を形成するための能力をいう。例えば、オリゴヌクレオチドの特定の位置のヌクレオチドがDNAまたはRNA分子の同じ位置のヌクレオチドと水素結合し得る場合、オリゴヌクレオチドと、DNAまたはRNAはその位置で互いに相補的であるとみなされる。それぞれの分子内の十分な数の対応する位置が互いに水素結合し得るヌクレオチドにより占められる場合、オリゴヌクレオチドと、DNAまたはRNAは互いに相補的である。したがって、「特異的にハイブリダイズ可能」および「相補的」は、オリゴヌクレオチドと、DNAまたはRNA標的の間で安定かつ特異的な結合が生じるような相補性または正確な対形成の十分な程度を示すために使用される用語である。当該技術分野において、特異的にハイブリダイズ可能であるためにはアンチセンス化合物の配列はその標的核酸の配列と100%相補的である必要はないということが理解される。アンチセンス化合物は、化合物と標的DNAまたはRNA分子の結合が標的DNAまたはRNAの通常機能を干渉して、能力の消失を引き起こす場合、アンチセンス化合物は特異的にハイブリダイズ可能であり、特異的な結合が望まれる条件下、すなわち治療的処置の場合にアンチセンス化合物と非標的配列の非特異的な結合を回避するような十分な程度の相補性がある。

20

30

40

【0099】

「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)もしくはデオキシリボ核酸(DNA)またはそれらの模倣物のオリゴマーまたはポリマーをいう。この用語は、天然に存在するヌクレオ塩基、糖類およびヌクレオチド間(骨格)共有結合ならびに同様に機能する天然には存在しない部分を有するオリゴヌクレオチドで構成されるオリゴヌクレオチドを含む。例えば高められた細胞取り込み、高められた核酸標的についての親和性およびヌクレアーゼの存在下での増加した安定性などの所望の性質のために、かかる修飾または置換されたオリゴヌクレオチドはしばしば、天然形態よりも好ましい。アンチセンスオリゴヌクレオチドはアンチセンス化合物の好ましい形態であるが、本

50

発明は、以下に記載されるようなオリゴヌクレオチド模倣物を含むが限定されない他のオリゴマーアンチセンス化合物を包含する。本発明のアンチセンス化合物は、約8～約50のヌクレオ塩基(すなわち約8～約50の連結したヌクレオシド)を含む。特に好ましい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、約15～約25ヌクレオ塩基を含むものがさらに好ましい。アンチセンス化合物は、リボザイム、外部誘導配列(EGS)、オリゴヌクレオチド(オリゴザイム)、および標的核酸にハイブリダイズしてその発現を阻害する他の短い触媒性RNAまたは触媒性オリゴヌクレオチドを含む。アンチセンス化合物はまた、センス配列およびアンチセンス配列を含むiRNAを含み、ここで該センスおよびアンチセンス配列は、RNA二本鎖を形成し、アンチセンス配列は、本発明のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸のヌクレオチド配列に十分に相補的なヌクレオチド配列を含む。

10

【0100】

代替的に、本発明は、例えば哺乳動物宿主中で、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの転写を可能にするベクターを提供する。好ましくは、かかるベクターは、遺伝子治療に有用なベクターである。遺伝子治療に有用な好ましいベクターは、ウイルスベクター、例えばアデノウイルス、アデノ随伴ウイルス、ヘルペス単純ウイルス、ワクシニア、またはレトロウイルスなどのRNAウイルスである。好ましくは、レトロウイルスベクターは、マウスまたはトリレトロウイルスの誘導體である。本発明において使用し得るかかるレトロウイルスベクターの例は、モロニー Maus 白血病ウイルス(MoMuLV)、Harvey Maus 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。最も好ましくは、マウスベクターと比較してより広範囲の宿主を提供するテナガザル白血病ウイルス(GaLV)など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不完全であるので、感染粒子を産生するためには補助が必要である。かかる補助は、例えばLTR内の調節配列の制御下のレトロウイルスの構造遺伝子の全てをコードするプラスミドを含むヘルパー細胞株を使用することにより提供され得る。適切なヘルパー細胞株は当業者に周知である。該ベクターはさらに、形質導入された細胞を同定できるような選択マーカーをコードする遺伝子を含む。さらに、レトロウイルスベクターは、標的特異的になるように修飾され得る。これは、例えば糖、糖脂質、またはタンパク質、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り達成され得る。当業者は、標的特異的ベクターを産生するためのさらなる方法を知っている。さらに適切なベクターおよびインビトロまたはインビボ遺伝子治療のための方法が、文献に記載され、当業者に公知である；例えば、WO 94/29469またはWO 97/00957参照。本発明のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリヌクレオチド配列はまた、再編成されたHCBI、MSBI、MSSIもしくはCMI配列またはキメラHCBI、MSBI、MSSIもしくはCMI宿主細胞DNA配列いずれか単独で構成される適切なベクター自体としても機能し得る。さらに、本発明のヌクレオチド配列は、人工染色体の構築のためにも使用され得る。

20

30

【0101】

標的器官のみでの発現を達成するために、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、組織特異的プロモーターに連結されて遺伝子治療に使用され得る。かかるプロモーターは当業者に周知である。

【0102】

オリゴヌクレオチド構造内で、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骨格を形成するといわれる。RNAおよびDNAの通常連結または骨格は、3'～5'ホスホジエステル結合である。本発明において有用な好ましいアンチセンス化合物の具体例としては、修飾された骨格または天然にはないヌクレオシド間結合を含むオリゴヌクレオチドが挙げられる。修飾された骨格を有するオリゴヌクレオチドとしては、骨格内にリン原子を保持するもの、および骨格内にリン原子を有さないものが挙げられる。安定性の増加を生じ得る修飾されたオリゴヌクレオチド骨格は、当業者に公知であり、好ましくはかかる修飾はホスホロチオエート結合である。

40

【0103】

好ましいオリゴヌクレオチド模倣物は、優れたハイブリダイゼーション特性を有するこ

50

とが示されたオリゴヌクレオチド模倣物であり、ペプチド核酸(PNA)と称される。PNA化合物において、オリゴヌクレオチドの糖骨格は、アミド含有骨格、特にアミノエチルグリシン骨格で置換される。ヌクレオ塩基は保持され、骨格のアミド部分のアザ窒素原子に直接または間接的に結合される。

【0104】

修飾されたオリゴヌクレオチドはまた、1つ以上の置換または修飾された糖部分を含み得る。好ましいオリゴヌクレオチドは、2'位置に、以下：OH；F；O-、S-もしくはN-アルキル；O-、S-もしくはN-アルケニル；O-、S-もしくはN-アルキニル；またはO-アルキル-O-アルキルの1つを含み、ここで該アルキル、アルケニルおよびアルキニルは、C₁~C₁₀アルキルまたはC₂~C₁₀アルケニルおよびアルキニルで置換され得るかまたは置換され得ない。特に好ましい修飾糖部分は、2'-O-メトキシエチル糖部分である。

10

【0105】

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドはまた、ヌクレオ塩基修飾または置換を含み得る。修飾されたヌクレオ塩基は、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、アデニンおよびグアニンの6-メチルおよび他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの2-プロピルおよび他のアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミンおよび2-チオシトシン等の他の合成および天然ヌクレオ塩基を含み、これらの修飾は核酸二重鎖の安定性を増加することが示されているので5-メチルシトシン置換が好ましい。

【0106】

本発明のオリゴヌクレオチドの別の修飾は、オリゴヌクレオチドと、オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布もしくは細胞取り込みを高める1つ以上の部分またはコンジュゲートを化学的に連結することを含む。かかる部分としては、コレステロール部分、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もしくはウンデシル残基、リン脂質、ポリアミン、もしくはポリエチレングリコール鎖、またはアダマンタン酢酸、パルミチル部分、またはオクタデシルアミンもしくはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部分などの脂質部分が挙げられる。

20

【0107】

本発明はまた、キメラ化合物であるアンチセンス化合物を含む。「キメラ」アンチセンス化合物または「キメラ」は、本発明の文脈において、アンチセンス化合物、特に、2つ以上の化学的に区別される領域を含み、それぞれが少なくとも1つのモノマー単位、すなわちオリゴヌクレオチド化合物の場合はヌクレオチドで構成される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、典型的に、少なくとも1つの領域を含み、該オリゴヌクレオチドは、オリゴヌクレオチドに、ヌクレアーゼ分解に対する増加した耐性、増加した細胞取り込み、および/または標的核酸についての増加した結合親和性を付与するように修飾される。オリゴヌクレオチドのさらなる領域は、RNA:DNAまたはRNA:RNAハイブリッドを切断し得る酵素のための基質として機能し得る。例えば、RNase Hは、RNA:DNA二本鎖のRNA鎖を切断する細胞性エンドヌクレアーゼである。そのためRNase Hの活性化は、RNA標的の切断を生じ、それにより遺伝子発現のオリゴヌクレオチド阻害の効率を大きく高める。結果的に、キメラオリゴヌクレオチドを使用した場合、同じ標的領域に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、しばしばより短いオリゴヌクレオチドと同等の結果を得ることができる。本発明のキメラアンチセンス化合物は、上述の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および/またはオリゴヌクレオチド模倣物の複合構造として形成され得る。かかる化合物はまた、当該技術分野においてハイブリッドまたはギャップマーと称されている。

30

40

【0108】

本発明はまた、本発明の抗体またはアンチセンスオリゴヌクレオチドおよび適切な賦形剤、希釈剤または担体を含む医薬組成物に関する。好ましくは医薬組成物において上述の化合物は、薬学的に許容され得る担体と合される。「薬学的に許容され得る」は、有効成

50

分の生物学的活性の有効性に干渉せず、投与される宿主に対して毒性ではない任意の担体を包含することを意味する。適切な医薬担体の例は当該技術分野で周知であり、リン酸緩衝化食塩水溶液、水、エマルジョン、例えば油/水エマルジョン、種々の湿潤剤、滅菌溶液等が挙げられる。かかる担体は従来の方法により配合され、活性化化合物が有効用量で被験体に投与され得る。

【0109】

「有効用量」は、疾患を予防するかまたは疾患の経過および重症度に影響し、かかる病理の低減もしくは寛解をもたらすのに十分な有効成分の量をいう。これらの疾患または障害を治療および/または予防するのに有用な「有効用量」は、当業者に公知の方法を用いて決定され得る。

10

【0110】

適切な組成物の投与は、異なる方法、例えば、静脈内、腹腔内、経口、皮下、筋内、局所または皮内の投与により実施され得る。当然、投与経路は、治療の種類および医薬組成物に含まれる化合物の種類に依存する。投与計画(dosage regimen)は、かかりつけ医および他の臨床的要因により決定される。医学分野で周知のように、任意の一患者への投薬は、多くの要因、例えば患者のサイズ、体表面積、年齢、性別、投与される具体的な化合物、投与の時間および経路、治療の種類、一般的な健康状態および同時に投与される他の薬物に依存する。

【0111】

本発明の好ましい態様において、予防/治療され得る疾患は癌、好ましくは乳癌、卵巣癌、肺癌、前立腺癌、膵臓癌、ホジキン病、結腸直腸癌もしくは結腸癌、またはCNSの疾患、好ましくはアルツハイマー病もしくは多発性硬化症(MS)、筋萎縮性側索硬化症、パーキンソン病、または伝染性の海面状脳症/プリオン関連疾患である。また、MSと真性糖尿病の間のリスク因子の類似性のための、後者の症状も含まれる。用語「癌」および「CNSの疾患」はまた、前記疾患の早期病期を含む。

20

【0112】

本発明はまた、HCBI、MSBI、MSSIまたはCMI感染に対して哺乳動物を免疫するためのワクチンに関し、該ワクチンは、先に定義される少なくとも1つのポリペプチドまたはHCBI、MSBI、MSSIもしくはCMIポリ核酸または対応するVLP(ウイルス様粒子)またはペプチド/タンパク質/DNA複合体を、薬学的に許容され得る担体中に含む。これは、動物(特に畜牛)およびそれらの製品(例えば牛乳および乳製品)における分子のおよび免疫学的試験も含む。

30

【0113】

これは、これらの因子の構造成分の分析に由来する標的化治療のための小化学物質も含み得る。

【0114】

「ワクチン」は、HCBI、MSBI、MSSIまたはCMIに対する防御を引き出し得る免疫原性組成物であり、部分的または完全である。ワクチンは、すでに感染した個体の治療にも有用であり、この場合は治療ワクチンと称される。

【0115】

用語「治療薬」は、HCBI、MSBI、MSSIもしくはCMI感染またはこの感染に関連する疾患を治療し得る組成物をいう。用語「有効量」は、投与を受けた個体において免疫応答を誘導するか、またはそうでなければ意図する系において(例えばイムノアッセイ)免疫反応を直接誘導するのに十分なエピトープ保有ポリペプチドの量をいう。好ましくは、有効量は、先に定義された治療に影響するのに十分である。正確な必要量は用途に応じて変わる。ワクチン用途またはポリクローナル抗血清/抗体の産生のためには、例えば有効量は、個体の種、年齢および一般的な状態、治療される症状の重症度、選択される具体的なポリペプチドおよびその投与形態等に応じて変化し得る。有効量は比較的大きく、重大でない範囲で見られる。適切な有効量は、通常の実験を使用し容易に決定され得る。HCBI、MSBI、MSSIまたはCMIにより引き起こされる疾患の予防用のタンパク質の好ましい範囲は、0.01

40

50

~100 µg/用量、好ましくは0.1~50 µg/用量である。十分な免疫応答、その後HCBI、MSBI、MSSIまたはCMI感染およびHCBI、MSBIまたはCMI関連疾患のそれぞれに対する防御を達成するために、個体ごとに数回の投薬が必要な場合がある。

【0116】

薬学的に許容され得る担体としては、それ自体でワクチンを受けた個体に対して有害な抗体の産生を誘導しない任意の担体が挙げられる。適切な担体は、典型的に大きく、ゆっくり代謝される、タンパク質、多糖類、ポリ乳酸、ポリグリコール酸、多量体アミノ酸およびアミノ酸コポリマーなどのマクロ分子である。かかる担体は当業者に周知である。

【0117】

組成物の有効性を高めるための好ましいアジュバントとしては、限定されないが、水酸化アルミニウム(alum)、米国特許第4,606,918に見られるN-アセチル-ムラミル-L-トレオニル-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(MTP-PE)および細菌から抽出された3つの成分、モノホスホリル脂質A、トレハロースジマイコレートおよび細胞壁骨格(MPL+TDM+CWS)を2%スクアラン/Tween 80エマルジョン中に含むRIBIが挙げられる。該3成分MPL、TDMまたはCWSのいずれかは、単独または2つずつ合わせても使用され得る。さらにStimulon(Cambridge Bioscience, Worcester, MA)またはSAF-1(Syntex)などのアジュバントを使用してもよい。さらに、非ヒト用途および研究目的で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)を使用してもよい。

10

20

【0118】

免疫原性組成物は典型的に、水、食塩水、グリセロール、エタノール等の薬学的に許容され得るビヒクルを含む。さらに湿潤剤または乳化剤、pH緩衝化物質、保存剤等の補助物質がかかるビヒクルに含まれ得る。

【0119】

典型的に、免疫原性組成物は、注射用剤として、液体溶液または液体懸濁剤のいずれかとして調製される。注射の前に液体ビヒクルにおける溶液または懸濁液に適した固形物も調製され得る。該製剤はまた、高められたアジュバント効果のためにリボソーム中で乳化され得るかまたは封入され得る。タンパク質はまた、サポニン、例えばQuil A (ISCOMS)と共に免疫刺激複合体中に一体化され得る。

30

【0120】

ワクチンとして使用される免疫原性組成物は、「十分な量」または「免疫学的に有効な量」の本発明のタンパク質および必要に応じて上述の成分の任意の他のものを含む。「免疫学的に有効な量」は、単回投与または連続投与の一部のいずれかの個体へのかかる量の投与が、上述のように治療に有効であることを意味する。この量は、治療される個体の健康および身体の状態、個体の免疫系が抗体を合成する能力、所望の防御の程度、ワクチンの配合、治療医師の医学的状況の評価、ならびに他の関連のある要因に応じて変化する。この量は、常套的な追跡を通じて決定され得る比較的広い範囲に当てはまることが予想される。通常、該量は、0.01~1000 µg/用量、より具体的には0.1~100 µg/用量で変化する。

40

【0121】

以下の実施例は、説明と意図するが、本発明の限定を意図するものではない。かかる実施例は、使用され得るものの典型であるが、代替的に、当業者に公知の他の方法を利用してもよい。

【実施例】

【0122】

実施例1

材料および方法

(A)密度沈降勾配によるウシ血清の分画、その後のクローニング

50

最初に、合計120のウシ血清由来の5つの血清のプールを、先のベンゾナーゼ処理に供して全ての遊離DNAおよびRNAを除去した後、Optiprep-(イオジキサノール)-密度勾配超遠心分離に供した(Buck et al., 2005)。タンパク質結合DNAを画分から抽出し(Qiagen PCR Purification Kit)、1 μ l DNA/画分を、50 μ M Exo-耐性ランダムプライマー(Thermo Scientific)、3.2 μ mol各dNTP(Takara)および10U phi29ポリメラーゼ(Biolabs)の溶液中RCA(ローリングサークル増幅)に供した。制限消化産物(EcoR1またはBamH1)をアガロースゲル電気泳動で分離して、溶出し、ベクター-pUC19にクローニングした後、配列決定を行った。

【0123】

(B)血清、牛乳または脳組織から抽出したDNAのローリングサークル増幅：牛乳およびMS患者由来の死後の脳組織および血清からフェノール-クロロホルムによりDNAを抽出した。全血清試料由来のDNAを、High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche)を使用して抽出した。得られた画分(上記参照)のタンパク質結合画分由来のDNA上のランダムプライマーを用いたRCA(ローリングサークル増幅)、制限消化、クローニングおよび配列決定。使用した隣接するプライマーを、個々の単離したDNA配列およびSphinx1.76またはSphinx2.36の複製遺伝子のいずれかに対して設計し、単一のウシ血清および牛乳、ならびに多発性硬化症患者由来の血清および死後の多発性硬化症脳試料由来のRCA増幅したDNAに対して、逆PCRにおいて使用した。

【0124】

実施例2

多発性硬化症の病因についての概念：

ウシ血清、牛乳および多発性硬化症脳由来の環状DNA分子(ウシ因子)の単離(群1)

結腸癌の疫学は、欧州/アジア系の畜牛由来の赤身肉中に存在する感染性因子の関与を示唆し(zur Hausen, 2012; zur Hausen, 2015)、牛乳消費が多発性硬化症に重要な役割を果たすことが疑われている。これらの推定因子を単離するための試みにおいて、120頭の健常な5歳のウシ由来の血清を、University of Leipzigの獣医学部から得て、環状エピソームDNAの存在について分析した。第1の単離物HCB16.252(健常畜牛血液単離物)(2522bp)およびHCB16.159(1591bp)は、プリオン関連症状に関連する動物の脳病変中で見られた配列に関するDNAについての遠い関連性を示した(Manuelidis, 2011)。そのため、本発明者らは、MS患者由来の8個の血清(再発患者由来)、2個のCSFおよび1個のPBMC、ならびに死後の脳組織由来の12個の生検を、Sphinx関連配列について同時に分析した。Sphinx1.76 (1758bp、受託番号HQ444404)に関する2個の環状DNA分子MSB11.176(多発性硬化症脳単離物)(1766bp)およびMS2.176(1766bp)を、MS脳試料から単離した。牛乳の消費後にMSリスクの増加が見られるので、本発明者らは、関連DNAの存在について、市販の低温殺菌牛乳を調査した。実際に、本発明者らは、合計4個の牛乳試料(CM11.252(牛乳単離物)、CM12.214、CM13.168およびCM14.158)からエピソーム一本鎖DNA分子を単離した(HCB16.252とCM11.252はほとんど同じである)。これは、これらの因子の牛乳排出が実際に起こっていることを示した。

【0125】

本発明者らは、全てのヒトおよびウシ試料に対する逆PCRについて、Sphinx1.76上で設計した2つのプライマーペアを使用した。これらのプライマーペアは：フォワード5'-GGATTAATGCCAATGATCC-3'(nt721-739)、リバーズ5'-CGAGAGAAACAGGCAAAG-3'(nt703-720)およびフォワード5'-GAGGACGAATTAATATTACAAGTC-3'(nt868-891)、リバーズ5'-TTACCAAGAAAAGCGA GAAC-3'(nt848-867)であった。得られた配列は全て、Sphinx1.76単離物と、遠く類似する(79%~98%の範囲)。HCB16.159は、それらの重複配列が同じであるので、見かけ上HCB16.252の欠失から生じたものであった(HCB16.252におけるnt1129-2060の欠失)。HCB16.159はHCB16.252から独立して単離されたため、これが人工的である可能性は非常に低い。MSB11.176は、Sphinx1.76と98%同一であるが、単一配列の性質(パターン)の違いは、これらを2つの別個の因子とみなし得るものであった。Sphinx1.76構築物は、本発明者らの研究室では利用できなかったため、実験室の汚染により得られなかった。本発明者らは、同じ脳生検から第2の非常に遠いSphinx1.76関連(しかしサイズは同じである)環状DNA分子MSB12.17

6を単離した。

【0126】

群1の単離物の大きいORFは、それらの間で高い類似性を有する複製タンパク質をコードする(ProtSweep, del Val et al., 2007)。別の共通の特徴は、iteron様タンデムリピート(それぞれの単離物中3x22nt + 17/18ntの反復)の存在である。この反復領域の整列により、コアにおけるわずか一つのヌクレオチドの変化が示される(図6)。これらのiteron様リピートは、Repタンパク質についての結合部位を構成し得る(Chattoraj, 2000, Dziewit et al., 2013)。

【0127】

ヌクレオチド配列受託番号：8個の単離物の完全配列を、以下の受託番号でEMBL Databankに寄託した：

CM11.2522 受託番号LK931487
 CM12.214 受託番号LK931488
 CM13.168 受託番号LK931489
 CM14.158 受託番号LK931490
 MSB11.17 受託番号LK931491
 MSB12.176 受託番号LK931492
 HCB16.252 受託番号LK931493
 HCB16.159 受託番号LK931494

【0128】

この文脈において、Manuelidisに記載される同様の配列は主にCNSにおいて見られるので、CNSの疾患(例えば、多発性硬化症MS、筋萎縮性側索硬化症、伝染性海綿状脳症/プリオン関連疾患、パーキンソン病、アルツハイマー病)も非常に興味深いものであった。

【0129】

実施例3

ウシ血清由来のウシ因子の同定(群2)

ウシ血清由来のDNAを抽出して、次いでDNAのローリングサークル増幅を行った。Sphinx 2.36の複製遺伝子(2364bp、受託番号HQ444405)(Manuelidis 2011)に対して設計した隣接するプライマー(フォワード(nt2313-2336) 5'CTAATGCAGATCAACACAGGGATA-3'およびリバース(nt2312-2291) 5'-GAATTACAGGCTTTGCAATCTG-3')を使用したPCR増幅により、1つの環状DNA単離物HCB17.228(2280bp、受託番号LK931498)(群2)が得られた。

【0130】

実施例4

一本鎖DNAウイルス、myco-様ゲミサーキュラーウイルスesの新規の群に遠く関連するウシ血清および多発性硬化症血清からの配列の単離(群3)

多くの環状ssDNAウイルスは、メタゲノミック(metagenomic)分析により最近同定された(Rosario et al., 2012a)。ゲミサーキュラーウイルスesの群は、真菌、種々の動物の糞および植物の葉から単離された(Rosario et al., 2012b; Sikorski et al. 2013)。本発明者らは、このウイルス群に遠く関連する3つの新規のウイルスのゲノムの単離を報告する。

【0131】

2つの配列HCB18.215 (2152bp)およびHCB19.2112 (2121bp)は、ウシ血清プールの密度勾配分画後に単離された。制限消化(BamH1およびEcoR1)後に得られた断片をpUC19にクローニングした。それらの全長ゲノムは、隣接するプライマーを使用して逆PCRにより検証された。隣接するプライマーおよび逆PCRを用いて回収した(rescued)1つの多発性硬化症血清単離物MSS12.225は、畜牛血清から単離したmyco-様ゲミサーキュラーウイルスes(HCB18.215およびHCB19.212)と関連した。本発明者らは続いて、死後のMS罹患脳組織から配列MSB13.224を単離し、これはMSS12.225と同一であることが明らかになった。

【0132】

3つ全ての単離物のゲノム組織化により、負の鎖(negative strand)上でコードされる推

10

20

30

40

50

定のスプライシングされた複製タンパク質および正の鎖(positive strand)上でコードされるコートタンパク質(CP)が明らかにされた。CPは、アルギニンリッチであり、TTV ORF1タンパク質との類似性はDomainSweep分析により示された(del Val et al., 2007)。それぞれの推定ローリングサークルモチーフI、IIおよびIIIならびにWalker Bモチーフは以下のように同定された：HCB18.215 (LLTYA, HLHAFVD, YAIKD ; VFDDI)、HCB19.212 (LLKMP, HYHIYLG, YVGKD ; VFDDI)およびMSS12.225 (LLTYP, HLHAFVD, YAIKD ; IFDDF)。GRSモチーフは、それぞれAVFDVGGFHPNISITK、TAFDYFGAHGNISIRおよびRAFDVEGCHPNVSPSRであった。HCB18.215およびMSS12.225の両方についてのnonaヌクレオチドモチーフは(TAATGTTAT)およびHCB19.212について(TAATATTAT)である。

【 0 1 3 3 】

10

これら3つの単離物は、それらのカプシドタンパク質がアネロウイルス(Anelloviridae)ファミリー由来のTTウイルスのORF1と類似性を有するので、おそらくウイルスの新規の群を構築し、ゲミサーキュラーウイルスesと同様に植物ウイルスファミリージェミニウイルス(Geminiviridae)のものではない。動物および疾患を有するヒト組織に直接由来するこれら3つのゲミサーキュラーウイルス関連ゲノムの単離は、多発性硬化症などの疾患についていくつかの疫学的関連性を有するように関連付ける。

HCB18.215 受託番号LK931483

HCB19.212 受託番号LK931484

MSS12.225 受託番号LK931485

【 0 1 3 4 】

20

実施例5

ヒト血清由来の細菌プラスミド関連環状DNA(群4)

サイクロバクター種は、食物汚染として頻繁に存在し、脳、脳脊髄液および血液を含むヒト組織から単離された。これは日和見的ヒト病原体とみなされる(Caspar et al., 2013 ; Lloyd-Puryear et al., 1991)。本発明者らは、再発中の多発性硬化症患者から得られた血清由来の環状DNA分子の単離、MSS11.162を報告する。

【 0 1 3 5 】

多発性硬化症を有する患者の血清から抽出されたDNAに対してローリングサークル増幅および制限消化を行った。得られた断片をベクターpUC19にクローニングした。最初に同定された配列に対して設計されたプライマーを使用して逆PCR増幅により全長ゲノムを検証した：フォワードプライマー5'-GACTTCTGATTGATTGATGCCTG-3'およびリバース5'-CCTGTTGAATACCGCTTAAATACT-3'。全ての産物はプライマーウォーキングにより配列決定した。MSS11.162(多発性硬化症血清単離物)(1627bp)(受託番号LK931486)は、BlastN分析により、サイクロバクター種PRwf-1のpRWF102プラスミドに対して66%のヌクレオチド類似性を有する。大きなORFにコードされる推定タンパク質(321アミノ酸)は、ProtSweepによる分析の際に、大腸菌の複製タンパク質ファミリーに対して弱い類似性を示す(del Val et al., 2007)。

30

【 0 1 3 6 】

この新規の単離物は、公知のサイクロバクター種およびそのプラスミドとわずかに遠く関連する。そのためこれは、まだ知られていないヒト病原菌であり得る。

40

【 0 1 3 7 】

概要：

健常なウシの血清中の推定感染性因子およびそれらの核酸の存在は、赤身肉中にも同様の粒子が存在することを示唆するはずである。

【 0 1 3 8 】

本発明者らは、畜牛血清および牛乳ならびにMS脳組織および血清から13個の新規の一本鎖DNA分子を単離した。これらの単離物を、Sphinx1.76ゲノム(群1)、Sphinx2.36ゲノム(群2)、myco-様ゲミサーキュラーウイルスes(群3)およびサイクロバクター種プラスミド(群4)に対する配列類似性に従って4群に分ける。それらのゲノム組織化を図5A、Bに示す。全配列の主要な特徴は複製関連タンパク質をコードするORFの存在である。

50

【0139】

全ての単離物は、一本鎖DNAのRCA増幅の偏りのために一本鎖DNAであると推定される(de l Solar et al., 1998)。この時点での単離物の分類学的分類は可能ではない。群3のみが、myco-様ゲミサーキュラーウイルスesと明確に関連すると定義され得る。この比較的新規のウイルスの群は、メタゲノミクス(metagenomics)により同定され、主に、多様な動物および昆虫の糞、ならびに植物および真菌から単離された。これらは、植物のジェミニウイルス(Geminiviruses)といくつかの特徴を共有する(Sikorski et al., 2013)。動物またはヒトの組織からの単離は依然として説明されていない。本願に記載される3つ全ての単離物の推定複製関連タンパク質は、ヒト一本鎖TTウイルスと類似性を有するアルギニンリッチ領域を有する。

10

【0140】

かかる因子によるヒト細胞の感染は、ヒトTTウイルスとは全く異なる強い免疫反応を誘起するはずであり、垂直伝達の妥当な証拠が得られている(zur Hausen and de Villiers, 2014に概説)。これにより、人生の最初の15年間のMS発症についての環境要因に対する高い罹患率が説明され得た：主な感染は、最初に、複数回(rounds)の複製およびおそらくは血球細胞を介するBMFの拡散を引き起こし得、最終的に潜在性の脳細胞感染を引き起こし得る。この最初の感染は、おそらくはその後の複数回の感染において脳への進入前に因子を中和する免疫応答を誘導するはずである。本明細書において、該単離物は、推定牛乳因子(BMF)についての優れた候補であると思われることが報告される。

20

【0141】

群1においてサイズの高い変動性が注目された。環状単離物HCB16.159は、HCB16.252からの931ヌクレオチドの欠失により生じたものであると思われる。該単離物は全て、複製遺伝子を有し、共通してiteron様反復領域を有する(Dziewit et al., 2013)。8個の単離物とSphinx1.76の間のこの領域の整列により中心的な同一のコアが明らかになる(図6)。群2および4の単離物は反復領域を有さない。

【0142】

「Sphinx」配列(Manuelidis, 2011)は、細菌アシネトバクターのプラスミド配列に対して高い相動性を示す(Vallenet et al., 2008; Longkumer et al., 2013)。本発明で得られた配列も、対応するプラスミド配列に対して顕著な相同性を示す。アシネトバクターからは多くのプラスミドが単離されて配列決定されているが、本発明で報告されたウシおよびヒトの配列に正確に対応するものはほとんどない。興味深いことに、英国の科学者のグループは、アシネトバクタータンパク質に対するが多発性硬化症に苦しむ患者から得られた他の細菌性抗原に対するものではない抗体の選択的な形成の増加について指摘した数年間にわたる血清学的データを公表した(概説記事：Ebringer et al., 2012参照)。これらの結果はChapmanのグループによっては確認されなかった(Chapman et al., 2005)。しかしながら、Chapmanのグループは異なる系統のアシネトバクター(アシネトバクター・カルコアセチクス(*Acinetobacter calcoaceticus*))を使用したことを強調する必要がある。3つの系統のアシネトバクター(アシネトバクター・ルオウィイ(*Acinetobacter lwoffii*)、*A. ラジオエシステン*(*A. radioesistens*)および特定の単離物、*A. 11171*)についてEbringerのグループは、明確な結果を得た。しかしながら、*A. junii 17908*について得られた結果はより印象が薄く、有意な反応性はほとんど検出可能ではなかった(Hughes et al., 2001)。これらの結果は、本発明者らが系統特異的な反応性を扱っており、この血清反応性は、本発明において得られたDNA配列に対して相同性を示す系統特異的なプラスミドによることを示唆する。

30

40

【0143】

単離物MSS11.162(群4)は、サイクロバクター種のプラスミドに対して類似性を有する。*Pyschrobacter*種は、日和見的ヒト病原体であるとみなされており(Caspar et al., 2013)、髄膜炎の症例から単離されている(Lloyd-Puryear et al., 1991)。これらの細菌は、肉の冷凍保存中およびその後の汚染菌であることが繰り返し報告されており(de Filippis et al., 2013)、牛乳および種々のチーズから頻繁に単離された(Coton et al., 2012)。

50

【 0 1 4 4 】

Manuelidisが「大」(2.36)および「小」(1.76) Sphinxとして標識された2つの「Sphinx構造」を報告したことに注目することは興味深い。本発明の配列のほとんどは、その単離物とは実質的に異なったが、本発明者らは、同じプローブから大および小Sphinx様配列も得た。環状HCB16.159は、HCB16.252からの931ヌクレオチドの欠失により生じたものであると思われる。他のより大きな単離物が単離されなかったより小さな対応物を有し得るということを排除することはできない。しかしながら、本発明において見出された2つの構造が、同じタンパク質コート内に維持されるかまたはそれらが互いに相補的であるかを決定する必要が残っている。

【 0 1 4 5 】

畜牛血清由来の同一の一本鎖環状核酸のたとえ一部であっても、類似の市販の牛乳および顕症期MS組織のDNAの単離は、上述の概念の利益を示す。

【 0 1 4 6 】

参考文献

【表 1】

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.

10

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

20

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.

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.

30

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.

40

【表 2】

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.

10

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

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 Acinetobacters: three genomes for three lifestyles. PLoS One 2008; 3(3):e1805-e1805.

20

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 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., de Villiers, E.-M., Prenatal Infections with Subsequent Immune Tolerance could explain the Epidemiology of Common Childhood Cancers, World Cancer Report, IARC, Lyon, 2014, pp. 261-265.

40

Abdel-Hag NM, Asmar BI. Human herpes virus 6 (HHV6) infection. Indian J Pediatr. 2004; 71: 89-96.

【表 3】

Agranoff BW, Goldberg D. Diet and the geographical distribution of multiple sclerosis. *Lancet* II 1974; 1061.

Alcalde-Cabero E, Almazán-Isla J, García-Merino A, de Sá J, de Pedro-Cuesta J. Incidence of multiple sclerosis among European Economic Area populations, 1985-2009: the framework for monitoring. *BMC Neurol.* 2013; 13: 58-80. 10

Alenda R, Alvarez-Lafuente R, Costa-Frossard L, Arroyo R, Mirete S, Alvarez-Cermeño JC, Villar LM. Identification of the major HHV-6 antigen recognized by cerebrospinal fluid IgG in multiple sclerosis. *Eur J Neurol.* 2014 Apr 12. doi: 10.1111/ene.12435.

Almohmeed YH, Avenell A, Aucott L, Vickers MA. Systematic review and meta-analysis of the sero-epidemiological association between Epstein Barr virus and multiple sclerosis. *PLoS One.* 2013; 8: e61110. 20

Angelini DF, Serafini B, Piras E, Severa M, Coccia EM, Rosicarelli B, Ruggieri S, Gasperini C, Buttari F, Centonze D, Mechelli R, Salvetti M, Borsellino G, Aloisi F, Battistini L. Increased CD8+ T cell response to Epstein-Barr virus lytic antigens in the active phase of multiple sclerosis. *PLoS Pathog.* 2013; 9: e1003220. 30

Ascherio A, Munger KL, Lünemann JD. The initiation and prevention of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol.* 2012; 8: 602-12. 40

Ascherio A. Environmental factors in multiple sclerosis. *Expert Rev. Neurother.* 2013; 13 (12s) 3-9.

Ashtari F, Jamshidi F, Shoormasti RS, Pourpak Z, Akbari M. Cow's milk allergy in multiple sclerosis patients. *J Res Med Sci.* 2013; 18 (Suppl 1): S62-5.

【表 4】

Bager P, Nielsen NM, Bihrmann K, Frisch M, Wohlfart J, Koch-Henriksen N, Melbye M, Westergaard T Sibship characteristics and risk of multiple sclerosis: a nationwide cohort study in Denmark. *Am J Epidemiol.* 2006; 163: 1112-7.

Bantel-Schaal U, zur Hausen H. Adeno-associated viruses inhibit SV40 DNA amplification and replication of herpes simplex virus in SV40-transformed hamster cells. *Virology* 1988; 164: 64-74.

10

Banwell B, Bar-Or A, Cheung R, Kennedy J, Krupp LB, Becker DJ, Dosch HM; Wadsworth Pediatric Multiple Sclerosis Study Group. Abnormal T-cell reactivities in childhood inflammatory demyelinating disease and type 1 diabetes. *Ann Neurol.* 2008; 63: 98-111.

20

Baranzini SE, Mudge J, van Velkinburgh JC, Khankhanian P, Khrebtukova I, Miller NA, Zhang L, Farmer AD, Bell CJ, Kim RW, May GD, Woodward JE, Caillier SJ, McElroy JP, Gomez R, Pando MJ, Clendenen LE, Ganusova EE, Schilkey FD, Ramaraj T, Khan OA, Huntley JJ, Luo S, Kwok PY, Wu TD, Schroth GP, Oksenberg JR, Hauser SL, Kingsmore SF. Genome, epigenome and RNA sequences of monozygotic twins discordant for multiple sclerosis. *Nature.* 2010; 464: 1351-6.

30

Bauer G, Höfler P, zur Hausen H. Epstein-Barr virus induction by a serum factor. I. Induction and cooperation with additional inducers. *Virology.* 1982; 121: 184-94.

Bauer G, Götschl M, Höfler P. Tumor-promoting activity of Epstein-Barr-virus-inducing factor transforming growth factor type beta (EIF/TGF-beta) is due to the induction of irreversible transformation. *Int J Cancer.* 1991; 47: 881-8.

40

【表 5】

Ben Fredj N, Rotola A, Nefzi F, Chebel S, Rizzo R, Caselli E, Frih-Ayed M, Di Luca D, Aouni M. Identification of human herpes viruses 1 to 8 in Tunisian multiple sclerosis patients and healthy blood donors. J Neurovirol. 2012; 18 :12-19.

Beretich BD, Beretich TM. Explaining multiple sclerosis by ultraviolet exposure: a geospatial analysis. Mult Scler 2009; 15: 891-8. 10

Birkeland SA, Storm HH, Lamm LU, Barlow L, Blohmé I, Forsberg B, Eklund B, Fjeldborg O, Friedberg M, Frödin L, et al. Cancer risk after renal transplantation in the Nordic countries, 1964-1986. Int J Cancer. 1995 Jan 17;60(2):183-9. 20

Borkosky SS, Whitley C, Kopp-Schneider A, zur Hausen H, de Villiers EM. Epstein-Barr virus stimulates torque teno virus replication: a possible relationship to multiple sclerosis. PLoS One. 2012; 7: e32160.

Brecht I, Weissbrich B, Braun J, Toyka KV, Weishaupt A, Buttmann M. Intrathecal, polyspecific antiviral immune response in oligoclonal band negative multiple sclerosis. PLoS One. 2012; 7: e40431. 30

Buchanan R, Bonthius DJ. Measles virus and associated central nervous system sequelae. Semin Pediatr Neurol. 2012; 19: 107-14.

Butcher PJ, The distribution of multiple sclerosis in relation to the dairy industry and milk consumption. N Z Med J. 1976; 83: 427-30. 40

Butcher PJ. Milk consumption and multiple sclerosis—an etiological hypothesis. Med Hypotheses. 1986; 19: 169-78.

【表 6】

Caserta MT, Mock DJ, Dewhurst S. Human herpes virus 6. Clin Infect Dis. 2001; 33: 829-33. Review.

Christensen JC. Multiple sclerosis: some epidemiological clues to etiology.

Acta Neurol Latinoam. 1975; 21: 66-85. Review.

10

Christensen T. Human herpes viruses in MS. Int MS J. 2007; 14: 41-7. Review.

Conradi S, Malzahn U, Paul F, Quill S, Harms L, Then Bergh F, Ditzenbach A, Georgi T, Heuschmann P, Rosche B. Breastfeeding is associated with lower risk for multiple sclerosis. Mult Scler. 2013; 19: 553-8.

20

Cusick MF, Libbey JE, Fujinami RS. Multiple sclerosis: autoimmunity and viruses: Curr. Opin. Rheumatol. 2013; 25: 496-501.

Décard BF, von Ahsen N, Grunwald T, Streit F, Stroet A, Niggemeier P, Schottstedt V, Riggert J, Gold R, Chan A. Low vitamin D and elevated immunoreactivity against Epstein-Barr virus before first clinical manifestation of multiple sclerosis. J Neurool Neurosurg Psychiatry. 2012; 83: 1170-3.

30

Dewhurst S. Human herpes virus type 6 and human herpes virus type 7 infections of the central nervous system. Herpes. 2004; 11 Suppl 2: 105A-111A. Review.

40

Disanto G, Morahan JM, Barnett MH, Giovannoni G, Ramagopalan SV. The evidence for a role of B cells in multiple sclerosis. Neurology 2012; 78: 823-32.

【表 7】

Engels EA, Biggar RJ, Hall HI, Cross H, Crutchfield A, Finch JL, Grigg R, Hylton T, Pawlish KS, McNeel TS, Goedert JJ. Cancer risk in people infected with human immunodeficiency virus in the United States. Int J Cancer. 2008; 123: 187-94.

Ferrò MT, Franciotta D, Prella A, Bestetti A, Cinque P. Active intrathecal herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and human herpes virus-6 (HHV-6) infection at onset of multiple sclerosis. J Neurovirol. 2012; 18: 437-4

10

Fotheringham J, Jacobson S. Human herpes virus 6 and multiple sclerosis: potential mechanisms for virus-induced disease. Herpes 2005; 12: 4-9.

20

Fraussen J, Vrolix K, Martinez-Martinez P, Losen M, De Baets MH, Stinissen P, Somers V. B cell characterization and reactivity analysis in multiple sclerosis. Autoimmun Rev. 2009; 8: 654-8.

Frolik CA, Dart LL, Meyers CA, Smith DM, Sporn MB. Purification and initial characterization of a type beta transforming growth factor from human placenta. Proc Natl Acad Sci U S A. 1983; 80: 3676-80.

30

Gaitán MI, Sati P, Inati SJ, Reich DS. Initial investigation of the blood-barrier in MS lesions at 7 tesla. Mult Scler. 2013; 19: 1068-73.

Geeraedts F, Wilczak N, van Binnendijk R, De Keyser J. Search for morbillivirus proteins in multiple sclerosis brain tissue. Neuroreport. 2004; 19: 15: 27-32.

40

Grant WB. Epidemiology of disease risks in relation to vitamin D insufficiency. Prog Biophys Mol Biol. 2006; 92: 65-79.

【表 8】

Grinde B. Herpes viruses: latency and reactivation - viral strategies and host response. J Oral Microbiol. 2013; doi: 10.3402/jom.v510.22766.

Guggenmos J, Schubart AS, Ogg S, Andersson M, Olsson T, Mather IH, Linington C. Antibody cross-reactivity between myelin oligodendrocyte glycoprotein and the milk protein butyrophilin in multiple sclerosis. J. Immunol. 2004; 172: 661-8. 10

Hawkes CH, Giovannoni G, Keir G, Cunnington M, Thompson EJ. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 in multiple sclerosis. Acta Neurol Scand. 2006; 114: 363-7.

Heilbronn R, Bürkle A, Stephan S, zur Hausen H. The adeno-associated virus rep gene suppresses herpes simplex virus-induced DNA amplification. J Virol. 1990a; 64: 3012-8. 20

Heilbronn R, Weller SK, zur Hausen H. Herpes simplex virus type 1 mutants for the origin-binding protein induce DNA amplification in the absence of viral replication. Virology. 1990b; 179: 478-81. 30

Heilbronn R, Albrecht I, Stephan S, Bürkle A, zur Hausen H. Human cytomegalovirus induces JC virus DNA replication in human fibroblasts. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993; 90: 11406-10.

Henle W, Henle G. Evidence for an etiologic relation of the Epstein-Barr virus to human malignancies. Laryngoscope. 1977; 87: 467-73. 40

Hollis BW, Roos BA, Draper HH, Lambert PW. Vitamin D and its metabolites in human and bovine milk. J Nutr. 1981; 111: 1240-8.

【表 9】

Holzmann C, Bauer I, Meyer P. Co-occurrence of multiple sclerosis and cancer in a BRCA1 positive family. Eur J Med Genet. 2013; 56: 577-9.

Hsiao FC, Tai AK, Deglon A, Sutkowski N, Longnecker R, Huber BT. EBV LMP-2A employs a novel mechanism to transactivate the HERV-K18 superantigen through its ITAM. Virology. 2009; 385: 261-6.

10

Hu Knox KK, Brewer JH, Henry JM, Harrington DJ, Carrigan DR. Human herpes virus 6 and multiple sclerosis: systemic active infections in patients with early disease. Clin Infect Dis. 2000; 31: 894-903.

Hyppönen E. Vitamin D and increasing incidence of type 1 diabetes-evidence for an association? Diabetes Obes Metab. 2010; 12: 737-43.

20

Isik S, Ozuguz U, Tutuncu YA, Erden G, Berker D, Acar K, Aydin Y, Akbaba G, Helvacı N, Guler S. Serum transforming growth factor-beta levels in patients with vitamin D deficiency. Eur J Intern Med. 2012; 23: 93-7.

30

Ito I, Waku T, Aoki M, Abe R, Nagai Y, Watanabe T, Nakajima Y, Ohkido I, Yokoyama K, Miyachi H, Shimizu T, Murayama A, Kishimoto H, Nagasawa K, Yanagisawa J. A nonclassical vitamin D receptor pathway suppresses renal fibrosis. Clin Invest. 2013; 123: 4579-94.

James E, Dobson R, Kuhle J, Baker D, Giovannoni G, Ramagopalan SV. The effect of vitamin D-related interventions on multiple sclerosis relapses: a meta-analysis. Mult Scler. 2013; 19: 1571-9.

40

Kakalacheva K, Münz C, Lünemann JD. Viral triggers of multiple sclerosis. Biochim Biophys Acta. 2011; 1812: 132-40.

【表 1 0】

Karner W, Bauer G. Activation of a varicella-zoster virus-specific IgA response during acute Epstein-Barr virus infection. J Med Virol. 1994; 44: 258-62.

Koch-Henriksen N, Sorensen PS. Why does the north-south gradient of incidence of multiple sclerosis seem to have disappeared on the northern hemisphere? J Neurol Sci. 2011; 311: 58-63.

10

Koch-Henriksen N, Stenager E, Laursen B. The use of epidemiological multiple sclerosis registers in research: the Danish MS Registry. Acta Neurol Scand Suppl. 2012; 195: 7-12.

Kotzamani D, Panou T, Mastorodemos V, Tzagournissakis M, Nikolakaki H, Spanaki C, Plaitakis A. Rising incidence of multiple sclerosis in females associated with urbanization. Neurology. 2012; 78: 1728-35.

20

Kurtzke JF. Multiple sclerosis in time and space—geographic clues to cause. J Neurovirol. 2000; 6 Suppl 2: S134-40.

Kurtzke JF. Epidemiology in multiple sclerosis: a pilgrim's progress. Brain. 2013; 136: 2904-17.

30

Kuusisto H, Hyöty H, Kares S, Kinnunen E, Elovaara I. Human herpes virus 6 and multiple sclerosis: a Finnish twin study. Mult Scler. 2008; 14: 54-8.

Latif N, Rana F, Guthrie T. Breast cancer and HIV in the era of highly active antiretroviral therapy: two case reports and review of the literature. Breast J. 2011; 17: 87-92.

40

Lebrun C, Debouverie M, Vermersch P, Clavelou P, Rumbach L, de Seze J, Wiertlevski S, Defer G, Gout O, Berthier F, Danzon A.

【表 1 1】

Cancer risk and impact of disease-modifying treatments in patients with multiple sclerosis. Mult Scler. 2008; 14: 399-405.

Lemire JM, Adams JS, Sakai R, Jordan SC. 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 suppresses proliferation and immunoglobulin production by normal human peripheral blood mononuclear cells. J Clin Invest 1984; 74: 657-61.

Libbey JE, Cusick MF, Fujinami RS. Role of pathogens in multiple sclerosis. Intern Rev Immunol. Early Online 1-18, 2013; DOI: 10.3/08830185.2013.823422

10

Liu H, Fu Y, Li B, Yu X, Xie J, Cheng J, Ghabrial SA, Li G, Yi X, Jiang D. Widespread horizontal gene transfer from circular single-stranded DNA viruses to eukaryotic genomes. BMC Evol Biol. 2011 Sep 26;11:276. doi: 10.1186/1471-2148-11-276.

Longkumer T, Kamireddy S, MuthyalaVR, Akbarpasha S, Pitchika GK, Kodetham G, Ayaluru M, Siddavattam D. Acinetobacter phage genome is similar to Sphinx 2.36, the circular DNA copurified with TSE infected particles. Sci Rep 2013; 3: 2240.doi: 10.1038/srep02240.

20

Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H.Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. Ann Neurol. 2000; 47: 707-17.

Magliozzi R, Serafini B, Rosicarelli B, Chiapetta G, Veroni C., Reynolds R, Aloisi F. B-cell enrichment and Epstein-Barr virus infection in inflammatory cortical lesions in secondary progressive multiple sclerosis. J Neuropathol Exp Neurol 2013; 72: 29-41.

30

【表 1 2】

Malosse D, Perron H. Correlation analysis between bovine populations, other farm animals, house pets, and multiple sclerosis prevalence. Neuroepidemiology. 1993; 12: 15-27.

Marrie RA, Wolfson C. Multiple sclerosis and varicella zoster virus infection: a review. Epidemiol Infect. 2001; 127: 315-25.
Review.

10

Matz B, Schlehofer JR, zur Hausen H. Identification of a gene function of herpes simplex virus type 1 essential for amplification of simian virus 40 DNA sequences in transformed hamster cells. Virology. 1984; 134: 328-37.

Mesliniene S, Ramrattan L, Goldings S, Sheikh-Ali M. Role of vitamin D in the onset, progression and severity of multiple sclerosis. Endocr Pract. 2013; 19: 129-36.

20

Metz I, Weigand SD, Popescu BF, Frischer JM, Parisi JE, Guo Y, Lassmann H, Brück W, Lucchinetti CF. Pathologic heterogeneity persists in early active multiple sclerosis lesions. Ann Neurol. 2014 Apr 26. doi: 10.1002/ana.24163.

30

Midgard R, Glatte E, Grønning M, Riise T, Edland A, Nyland H. Multiple sclerosis and cancer in Norway. A retrospective cohort study. Acta Neurol Scand. 1996; 93: 411-5.

Mirandola P, Stefan A, Brambilla E, Campadelli-Fiume G, Grimaldi LM. Absence of human herpes virus 6 and 7 from spinal fluid and serum of multiple sclerosis patients. Neurology. 1999; 53: 1367-8.

40

Müller K, Heilmann C, Poulsen LK, Barington T, Bendtzen K. The role of monocytes and T cells in 1,25-dihydroxyvitamin D3 mediated inhibition of B cell function in vitro. Immunopharmacology 1991; 21: 121-8.

【表 1 3】

Munger KL, Chitnis, T, Frazier AL, Giovannucci E, Spiegelman D, Ascherio A. Dietary intake of vitamin D during adolescence and risk of multiple sclerosis. J Neurol. 2011a; 258: 479-85.

Munger KL Levin LI, O'Reilly EJ, Falk KI, Aschewrio A. Anti-Epstein-Barr virus antibodies as serological markers of multiple sclerosis: a prospective study among United States military personnel. Mult Scler 2011b; 17: 1185-93.

10

Murray TJ. An unusual occurrence of multiple sclerosis in a small rural community. Can J Neurol Sci. 1976; 3: 163-6.

Nicoll MP, ProençaJT, Efsthathiou S. The molecular basis of herpes simplex virus latency. FEMS Microbiol Rev. 2012; 36: 684-705.

Nielsen NM, Rostgaard K, Rasmussen S, Koch-Henriksen N, Storm HH, Melbye M, Hjalgrim H. Cancer risk among patients with multiple sclerosis: a population-based register study. Int J Cancer. 2006; 118: 979-84.

20

Nora-Krukle Z, Chapenko S, Logina I, Millers A, Platkajis A, Murovska M. Human herpes virus 6 and 7 reactivation and disease activity in multiple sclerosis. Medicina (Kaunas). 2011; 47: 527-31.

Nordal HJ, Vandvik B, Norrby E. Multiple sclerosis: local synthesis of electrophoretically restricted measles, rubella, mumps and herpes simplex virus antibodies in the central nervous system. Scand J Immunol. 1978; 7: 473-9.

30

O'Gorman C, Lin R, Stankovich J, Broadley SA, Modelling genetic susceptibility to multiple sclerosis with family data. Neuroepidemiology. 2013; 40: 1-12.

【表 1 4】

Ohara Y. Multiple sclerosis and measles virus. Jpn J Infect Dis. 1999; 52: 198-200. Review.

Olival GS, Lima BM, Sumita LM, Serafim V, Fink MC, Nali LH, Romano CM, Thomaz RB, Cavenaghi VB, Tilbery CP, Penalva-de-Oliveira AC. Multiple sclerosis and herpes virus interaction. Arq Neuropsiquiatr. 2013; 71: 727-30. 10

Ongrádi J, Rajda C, Maródi CL, Csiszár A, Vecsei L. A pilot study on the antibodies to HHV-6 variants and HHV-7 in CSF of MS patients. J Neurovirol. 1999; 5: 529-32.

Opsahl ML, Kennedy PG Investigating the presence of human herpes virus 7 and 8 in multiple sclerosis and normal control brain tissue. J Neurol Sci. 2006; 240: 37-44. 20

Ordoñez G, Pineda B, Garcia-Navarrete R, Sotelo J. Brief presence of varicella-zoster viral DNA in mononuclear cells during relapses of multiple sclerosis. Arch Neurol. 2004; 61: 529-32.

Owens GP, Gilden D, Burgoon MP, Yu X, Bennett JL. Viruses and multiple sclerosis. Neuroscientist. 2011; 17: 659-76. Review. 30

Pakpoor J, Pakpoor J, Disanto G, Giovannoni G, Ramagopalan SV. Cytomegalovirus and multiple sclerosis risk. J Neurol. 2013; 260: 1658-60.

Petersen T, Møller-Larsen A, Ellermann-Eriksen S, Thiel S, Christensen T. Effects of interferon-beta therapy on elements in the antiviral immune response towards the human herpes viruses EBV, HSV, and VZV, and to the human endogenous retroviruses HERV-H and HERV-W in multiple sclerosis. J Neuroimmunol. 2012; 249: 105-8. 40

【表 1 5】

Pierrot-Deseilligny C, Souberbielle JC. Contribution of vitamin D insufficiency to the pathogenesis of multiple sclerosis. *Ther Adv Neurol Disord.* 2013; 6: 81-116.

Pisacane A, Impagliazzo N, Russo M, Valiani R, Mandarini A, Florio C, Vivo P. Breast feeding and multiple sclerosis. *BMJ.* 1994; 308: 1411-2. 10

Pohl D, Rostasy K, Jacobi C, Lange P, Nau R, Krone B, Hanefeld F. Intrathecal antibody production against Epstein-Barr and other neurotropic viruses in pediatric and adult onset multiple sclerosis. *J Neurol.* 2010; 257: 212-6.

Provvedini DM, Tsoukas CD, Deftos LJ, Manolagas SC. 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3-binding macromolecules in human B lymphocytes: effects on immunoglobulin production. *J Immunol* 1986; 136: 2734-40. 20

Rall GF. Measles virus 1998-2002: progress and controversy. *Annu Rev Microbiol.* 2003; 57: 343-67. Review.

Rima BK, Duprex WP. Molecular mechanisms of measles virus persistence. *Virus Res.* 2005; 111: 132-47. Review. 30

Rosecrans R, Dohnal JC. Seasonal vitamin D changes and the impact on health risk assessment. *Clin Biochem,* 2014; pii: S0009-9120. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.02.004.

Ross RT. The varicella-zoster virus and multiple sclerosis. *J Clin Epidemiol.* 1998; 51: 533-5. Review. 40

Ruprecht K, Obojes K, Wengel V, Gronen F, Kim KS, Perron H, Schneider-Schaulies J, Rieckmann P. Regulation of human endogenous retrovirus W protein expression by herpes simplex

【表 1 6】

virus type 1: implications for multiple sclerosis. J Neurovirol. 2006; 12: 65-71.

Salzer J, Nyström M, Hallmans G, Steenlund H, Wadell G, Sundström P. Epstein-Barr virus antibodies biobank samples. Mult Scler. 2013; 19: 1587-91.

10

Sanders V, Felisan S, Waddell A, Tourtellotte W. Detection of herpesviridae in postmortem multiple sclerosis brain tissue and controls by polymerase chain reaction. J Neurovirol. 1996; 2: 249-58.

Schlehofer JR, Gissmann L, Matz B, zur Hausen H. Herpes simplex virus-induced amplification of SV40 sequences in transformed Chinese hamster embryo cells. Int J Cancer. 1983; 32: 99-103.

20

Schlehofer JR, zur Hausen H. Adenovirus infection induces amplification of persistent viral DNA sequences (simian virus 40, hepatitis B virus, bovine papillomavirus) in human and rodent cells. Virus Res. 1990;17: 53-60.

Schmitt J, Schlehofer JR, Mergener K, Gissmann L, zur Hausen H. Amplification of bovine papillomavirus DNA by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, ultraviolet irradiation, or infection with herpes simplex virus. Virology 1989; 172:73-81.

30

Scott FW. Cow milk and insulin-dependent diabetes mellitus: is there a relationship? Am J Clin Nutr. 1990; 51:489-491.

Sepcic J, Mesaros E, Materljan E, Sepic-Grahovac D. Nutritional factors and multiple sclerosis in Gorski Kotar, Croatia. Neuroepidemiology. 1993; 12: 234-40.

40

Simpson S Jr, Taylor B, Dwyer DE, Taylor J, Blizzard L, Ponsonby AL, Pittas F, Dwyer T, van der Mei I. Anti-HHV-6 IgG titer

【表 1 7】

significantly predicts subsequent relapse risk in multiple sclerosis. Mult Scler. 2012; 18: 799-806.

Sotelo J, Corona T. Varicella zoster virus and relapsing remitting multiple sclerosis. Mult Scler Int. 2011; 2011: 214763.

Sun LM, Lin CL, Chung CJ, Liang JA, Sung FC, Kao CH. Increased breast cancer risk for patients with multiple sclerosis: a nationwide population-based cohort study. Eur J Neurol. 2013; Sep 19. doi: 10.1111/ene.12267.

10

Sundqvist E, Bergström T, Daialhosein H, Nyström M, Sundström P, Hillert J, Alfredsson L, Kockum I, Olsson T. Cytomegalovirus seropositivity is negatively associated with multiple sclerosis. Mult Scler. 2013 Sep 2. [Epub ahead of print].

Sundström P, Juto P, Wadell G, Hallmans G, Svenningsson A, Nyström L, Dillner J, Forsgren L. An altered immune response to Epstein-Barr virus in multiple sclerosis: a prospective study. Neurology. 2004; 62: 2277-82.

20

Sutkowski N, Chen G, Calderon G, Huber BT. Epstein-Barr virus latent membrane protein LMP-2A is sufficient for transactivation of the human endogenous retrovirus HERV-K18 superantigen. J Virol. 2004; 78: 7852-60.

Svejgaard A. The immunogenetics of multiple sclerosis. Immunogenetics. 2008; 60: 275-86.

30

Tai AK, Luka J, Ablashi D, Huber BT. HHV-6A infection induces expression of HERV-K18-encoded superantigen. J Clin Virol. 2009; 46: 47-8.

【表 1 8】

Tan IL, van Schijndel RA, Pouwell PJ, van Walderveen MA, Reichenbach JR, Manoliu RA, Barkhof F. MR venography of multiple sclerosis. *AJNR Am Neuroradiol.* 2000; 21: 1029-42.

Tarrats R, Ordoñez G, Rios C, Sotelo J. Varicella, ephemeral breastfeeding and eczema as risk factors for multiple sclerosis in Mexicans. *Acta Neurol Scand.* 2002; 105: 88-94..

10

Taus C, Pucci E, Cartechini E, Fié A, Giuliani G, Clementi M, Menzo S. Absence of HHV-6 and HHV-7 in cerebrospinal fluid in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand.* 2000; 101: 224-8.

Turcanova VL, Bundgaard B, Höllsberg P. Human herpes virus-6B induces expression of the human endogenous retrovirus K18-encoded superantigen. *J Clin Virol.* 2009; 46: 15-9.

20

Virtanen JO, Jacobson S. Viruses and multiple sclerosis. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2012; 11: 528-44. Review.

Warren TR. The increased prevalence of multiple sclerosis among people who were born and bred in areas where goitre is endemic. *Med Hypotheses.* 1984; 14: 111-4.

30

Waubant E, Mowry EM, Krupp L, Chitnis T, Yeh EA, Kuntz N, Ness J, Belman A, Milazzo M, Gorman M, Weinstock-Guttman B, Rodriguez M, James JA. Antibody response to common viruses and human leukocyte antigen-DRB1 in pediatric multiple sclerosis. *Mult Scler.* 2013; 19: 891-5.

40

Wikström J. Studies on the clustering of multiple sclerosis in Finland.

Riv Patol Nerv Ment. 1976; 97: 199-204.

Winer S, Astsaturov I, Cheung RK, Schrade K, Gunaratnam L, Wood DD, Moscarello MA, O'Connor P, McKerlie C, Becker DJ, Dosch HM.

【表 1 9】

T cells of multiple sclerosis patients target a common environmental peptide that causes encephalitis in mice. J Immunol. 2001; 166: 4751-6.

Wu H, Li T, Zeng M, Peng T. Herpes simplex virus type 1 infection activates the Epstein-Barr virus replicative cycle via a CREB-dependent mechanism. Cell Microbiol. 2012 ; 14: 546-59. 10

Yea C, Tellier R, Chong P, Westmacott G, Marrie RA, Bar-Or A, Banwell B; Canadian Pediatric Demyelinating Disease Network. Epstein-Barr virus in oral shedding of children with multiple sclerosis. Neurology. 2013; 81: 1392-9.

Zerr P, Vollath S, Palumbo-Zerr K, Tomcik M, Huang J, Distler A, Beyer C, Dees C, Gela K, Distler O, Schett G, Distler JH. Vitamin D receptor regulates TGF- β signalling in systemic sclerosis. Ann Rheum Dis. 2014 Jan 21. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204378. 20

zur Hausen H. Genital papillomavirus infections. Prog Med Virol. 1985; 32: 15-21.

zur Hausen, H. and de Villiers, E.M., Dairy cattle serum and milk factors contributing to the risk of colon and breast cancers, Int. J. Cancer, 2015, Feb. 3 doi: 10.1002/ijc.29466 30

Zwart SR, Mehta SK, Ploutz-Snyder R, Bourbeau Y, Locke JP, Pierson DL, Smith SM. Response to vitamin D supplementation during Antarctic winter is related to BMI, and supplementation can mitigate Epstein-Barr virus reactivation. J Nutr. 2011; 141: 692-7. 40

【 0 1 4 7 】

参考文献(实施例2~5)

【 0 1 4 8 】

【表 2 0】

Buck CB, Pastrana DV, Lowy DR, Schillier JT. 2005. Generation of HPV pseudovirions using transfection and their use in neutralization assays. *Methods Mol Med* 119: 445-462.

Caspar Y, Recule C, Pouzol P, Lafeuillade B, Mallaret M, Mairin M, Croize J. *Psychrobacter arenosus* bacteremia after blood transfusion, France. *Emerging Infectious Diseases* 2013; 19: 1118-1120. 10

Coton M, Delbes-Paus C, Irlinger F, Desmaures N, Le Fleche A, Stahl V, Montel MC, Coton E. Diversity and assessment of potential risk factors of Gram-negative isolates associated with French cheeses. *Food Microbiol.* 2012; 29:88-98. 20

De Filippis F, La Storia A, Villiani F, Ercolini D. Exploring the sources of bacterial spoilers in beefsteaks by culture-independent high-throughput sequencing. *PLoS One* 2013; 8:e70222.

del Solar G, Giraldo R, Ruiz-Echevarria MJ, Espinosa M, Diaz-Orejas R. Replication and control of circular bacterial plasmids. *Microbiol Mol. Biol. Rev.* 1998; 62:434-464. 30

de Villiers EM, Borkosky SS, Kimmel R, Gunst K, Fei JW. The diversity of torque teno viruses: in vitro replication leads to the formation of additional replication-competent subviral molecules. *J Virol.* 2011; 85: 7284-95.

de Villiers, EM, zur Hausen, H. Concept for the pathogenesis of multiple sclerosis (I): interaction of an amplifying virus and a helper-dependent bovine milk factor. (submitted) 40

Funk M, Gunst K, Lucansky V, Müller H, zur Hausen H, de Villiers E-M., Isolation of protein-associated circular DNA from healthy cattle serum, *Genome Announcements*, 2(4): e00846-14, 2014

【表 2 1】

- Dziewit L, Cegielski A, Romaniuk K, Uhrynowski W, Szych A, Niesiobedzki P, Zmuda-Baranowska MJ, Zdanowski MK, Bartosik D. Plasmid diversity in arctic strains of Psychrobacter spp. *Extremophiles*. 2013; 17: 433-44
- Ebringer A, Rashid T, Wilson C. Bovine spongiform encephalopathy, multiple sclerosis, and creutzfeldt-jakob disease are probably autoimmune diseases evoked by *Acinetobacter* bacteria. *Ann N Y Acad Sci*. 2005; 1050: 417-28. 10
- Lloyd-Puryear M, Wallace D, Baldwin T, Hollis DG. Meningitis caused by *Psychrobacter immobilis* in an infant. *J Clin. Microbiol*. 1991; 29: 2041-2042. 20
- Liu H, Fu Y, Li B, Yu X, Xie J, Cheng J, Ghabrial SA, Li G, Yi X, Jiang D. Widespread horizontal gene transfer from circular single-stranded DNA viruses to eukaryotic genomes. *BMC Evol Biol*. 2011; 11: 276. doi: 10.1186/1471-2148-11-276.
- Longkumer T, Kamireddy S, MuthyalaVR, Akbarpasha S, Pitchika GK, Kodetham G, Ayaluru M, Siddavattam D. *Acinetobacter* phage genome is similar to Sphinx 2.36, the circular DNA copurified with TSE infected particles. *Sci Rep* 2013; 3: 2240.doi: 10.1038/srep02240. 30
- Martin DP, Biagini P, Lefeuvre P, Golden M, Roumagnac P, Varsani A. Recombination in eukaryotic single stranded DNA viruses. *Viruses*. 2011; 3: 1699-738.
- Rosario K, Duffy S, Breitbart M. 2012a. A field guide to eukaryotic circular single-stranded DNA viruses: insights gained from metagenomics. *Arch. Virol*. 157: 1851-1871. 40
- Rosario K, Dayaram A, Marinov M, Ware J, Kraberger S, Stainton D, Breitbart M, Varsani A. 2012b. Diverse circular ssDNA viruses

【表 2 2】

discovered in dragonflies (Odonata: Epiprocta). *J Gen. Virol.* 93:2668-2681.

Sikorski A, Massaro M, Kraberger S, Young LM, Smalley D, Martin DP, Varsani A. 2013. Novel myco-like DNA viruses discovered in the faecal matter of various animals. *Virus Res.* 177:209-216.

10

zur Hausen H, de Villiers EM. Prenatal Infections with Subsequent Immune Tolerance Could Explain the Epidemiology of Common Childhood Cancers. World Cancer Report 2014, IARC Lyon, pp 261-265.

de Villiers E-M, zur Hausen H. Concept for the pathogenesis of multiple sclerosis (I): Interaction of an amplifying virus and a helper-dependent bovine milk factor. (submitted).

20

del Val C, Ernst P, Falkenhahn M, Fladerer C, Glatting KH, Suhai S, Hotz-Wagenblatt A. 2007. ProtSweep, 2DSweep and DomainSweep: protein analysis suite at DKFZ. *Nucleic Acids Res.* 35 (Web Server issue):W444-450.

30

Chattoraj DK. 2000. Control of plasmid DNA replication by iterons: no longer paradoxical. *Mol. Microbiol.* 37: 467-476.

zur Hausen H. 2001. Proliferation-inducing viruses in non-permissive systems as possible causes of human cancers. *Lancet* 357: 381-384.

Whitley C, Gunst K, Müller H, Funk M, zur Hausen H, de Villiers E-M., Novel replication-competent circular DNA molecules from healthy cattle serum, milk and multiple sclerosis-affected human brain tissue, *Genome Announcements* 2(4): e00849-14, 2014.

40

【表 2 3】

Lamberto I, Gunst K, Müller H, zur Hausen H, de Villiers E-M.
Mycovirus-like DNA virus sequences from cattle serum, human
brain and serum from multiple sclerosis patients, Genome
Announcements 2(4): e00848-14, 2014

Gunst K, zur Hausen H, de Villiers E-M., Isolation of bacterial
plasmid-related replication-associated circular DNA from serum
sample of a multiple sclerosis patient, Genome announcement
2(4), e00847-14, 2014

10

【 0 1 4 9 】

本発明の態様として、以下のものが挙げられる。

- [1] (a) 図1~4のいずれかに示されるヌクレオチド配列；
(b) (a)のヌクレオチド配列と少なくとも90%の同一性を有するヌクレオチド配列；
(c) (a)もしくは(b)のヌクレオチド配列の断片；
(d) (a)、(b)もしくは(c)のヌクレオチド配列と相補的なヌクレオチド配列；または
(e) 上述のヌクレオチド配列のいずれかと比較して、遺伝子コードの縮重の結果重複する
ヌクレオチド配列

20

を含む、HCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸。

[2] [1] 記載のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMI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、[1]におけるヌクレオチド配列を含む特定のHCBI、MSBI、MSSI
またはCMI単離物の核酸を特異的に配列決定または特異的に増幅するためのプライマーと
して作用し得る、プライマー。

[3] [1] 記載のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMI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、[1]のヌクレオチド配列を含む特定のHCBI、MSBI、MSSIまたはCM
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し得る
、プローブ。

30

[4] 原核生物、真核生物またはウイルスの転写調節因子および翻訳調節因子に操作可能
に連結される、[1] ~ [3] いずれか記載のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸を含
む、発現ベクター。

[5] [4] 記載の発現ベクターで形質転換または改変される宿主細胞。

[6] [1] 記載のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸によりコードされるポリペプチ
ド。

[7] [6] 記載のポリペプチドに特異的に結合する抗体またはその抗原結合断片。

[8] 癌、CNSの疾患または糖尿病の素因または早期病期の診断のための診断組成物の調
製のための、[2] 記載のプライマー、[3] 記載のプローブ、[6] 記載のポリペプチ
ド、または[7] 記載の抗体もしくはその断片の使用。

40

[9] 癌が、乳癌、卵巣癌、肺癌、前立腺癌、結腸直腸癌または直腸癌であり、CNSの疾
患が、多発性硬化症MS、筋萎縮性側索硬化症、伝染性海面状脳症/プリオン関連疾患、パ
ーキンソン病またはアルツハイマー病である、[8] 記載の使用。

[10] (a) 任意に試料ポリ核酸を抽出する工程、(b) 少なくとも1つの[2] 記載のプ
ライマー、任意に標識されたプライマーを用いて上述のポリ核酸を増幅する工程、および(c
) 増幅されたポリ核酸を検出する工程を含む、生物学的試料中の[1] 記載のHCBI、MSBI
、MSSIまたはCMIポリ核酸の検出のための方法。

[11] (a) 任意に試料ポリ核酸を抽出する工程、(b) 上述のポリ核酸と、少なくとも1つ
の[3] 記載のプローブ、任意に、標識されたプローブをハイブリダイズさせる工程、お

50

よび(c)ハイブリダイズさせたポリ核酸を検出する工程を含む、生物学的試料中の [1] 記載のHCBI、MSBI、MSSIまたはCMIポリ核酸の検出のための方法。

[1 2] (a)先に定義されるかかるポリペプチドまたは抗体の存在および/または濃度について該生物学的試料を接触させる工程、および(b)前記抗体および/または前記ポリペプチドの間に形成される免疫学的複合体を検出することを、生物学的試料中に存在する [6] 記載のポリペプチドまたは [7] 記載の抗体を検出するための方法。

[1 3] [1] 記載のHCBI、MSBI、MSSIもしくはCMIポリ核酸の発現を低減または阻害するアンチセンスオリゴヌクレオチド、あるい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。

[1 4] [7] 記載の抗体もしくはその抗原結合断片または [1 6] 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド、および適切な医薬担体を含む、医薬組成物。

[1 5] [1] 記載のHCBI、MSBI、MSSIもしくはCMIポリ核酸、または [6] 記載のポリペプチドを含むワクチン。

[1 6] VLPまたはタンパク質/DNAまたはポリペプチド/DNA複合体または特異的タンパク質または弱毒化された感染性因子を含む、 [1 5] 記載のワクチン。

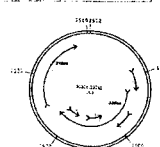
[1 7] 癌、CNSの疾患または糖尿病の予防または治療のための医薬の開発のための先導成分(lead component)としての [1] 記載のHCBI、MSBI、MSSIもしくはCMIポリ核酸の使用。

[1 8] 癌が、乳癌、卵巣癌、肺癌、前立腺癌、結腸直腸癌または直腸癌であり、CNSの疾患が、多発性硬化症MS、筋萎縮性側索硬化症、伝染性海面状脳症/プリオン関連疾患、パーキンソン病またはアルツハイマー病である、 [1 7] 記載の使用。

【 図 1 a - 1 】

HCBI6.252 (2522bp) (CM11.252と同一) (ri55.NnXn.2300.7)

TTTGTGTTTTCAAAGGAGTAA... ATACCCCTACCGTTACCGATCA - 反復 3x + 17nt



TSE関連環状DNA単離物Sphinx1.76と86%ヌクレオチド類似性 ORF-326aa-Sphinx1.76のレプリカーゼ3様タンパク質と85%類似性

Figure 1(a)

【 図 1 a - 2 】

219aa-転写の調節

Blastn - Genl:

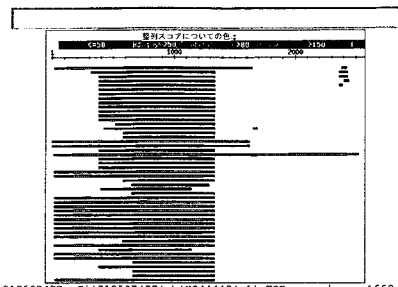


Table of BLAST search results with columns for query, subject, and alignment scores. Includes entries for Sphinx1.76 and other related sequences.

10

20

【 図 1 a - 3 】

```

Sbjct 750 CATGCAGGTAGCTATATCAATCAATTAACGTACAAGGACATACGGCATACCAAGCCCTC 809
Query 859 AAGATGCTTCCAAAGCTTTCTTGGCGGCAATTAATGATFACCAAGAAAGGAGAGAGCT 918
Sbjct 810 AAGATGCTTCCAAAGCTTTCTTGGCGGCAATTAATGATFACCAAGAAAGGAGAGAGCT 869
Query 919 GCAGCAATTAATTAACAGTCCAGTGGTTCACAAATGGTATATGAGGAGATACAGCA 978
Sbjct 870 GCAGCAATTAATTAACAGTCCAGTGGTTCACAAATGGTATATGAGGAGATACAGCA 929
Query 979 ACCGTGAAATTAATTTTCCCGCCCGGGTTCCTTGAATFACAGCTTTAGAGAGCAAC 1038
Sbjct 930 ACCGTGAGATTAATTTTCCCGCCCGGGTTCCTTGAATFACAGCTTTAGAGAGCAAC 989
Query 1039 TTCACTCAATFACGATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 1098
Sbjct 990 TTCACTCAATFACGATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 1049
Query 1099 TATGAGTCACTAATTTTGGCGTAGCAGGAAACCAATTAATGATFACAGCA 1158
Sbjct 1050 TATGAGTCACTAATTTTGGCGTAGCAGGAAACCAATTAATGATFACAGCA 1109
Query 1159 TTTAGAAAGGCTTAGGCTTTTATAGTACCAATFACATGACAGATTAATGAGT 1218
Sbjct 1110 TTTAGAAAGGCTTAGGCTTTTATAGTACCAATFACATGACAGATTAATGAGT 1169
Query 1219 CGATGATFAGGAGTTCAGCAATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 1278
Sbjct 1170 CGATGATFAGGAGTTCAGCAATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 1229
Query 1279 GACAGCACAAAAGAGGCGCATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 1337
Sbjct 1230 GACAGCACAAAAGAGGCGCATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 1289
Query 1338 GAAAACAGGCGGAGGAAATCCCAAAATTAAGGCTTTAGCCACATATCGAAAACCTAG 1397
Sbjct 1290 GAAAACAGGCGGAGGAAATCCCAAAATTAAGGCTTTAGCCACATATCGAAAACCTAG 1348
Query 1398 TCAATTCCTGCCCAATCGCAAAACAGCTGAAATTCGCAAAAGATGATTTAGGCA 1457
Sbjct 1349 TCAATTCCTGCCCAATCGCAAAACAGCTGAAATTCGCAAAAGATGATTTAGGCA 1408
Query 1458 CAGAGCAAGGAGTTCAGCAATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 1517
Sbjct 1409 CAGAGCAAGGAGTTCAGCAATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 1468
Query 1518 TGGTATGATGATTAATTAACAGTCCAGTGGTTCACAAATGGTATATGAGGAGATACAGCA 1576
Sbjct 1469 TGGTATGATGATTAATTAACAGTCCAGTGGTTCACAAATGGTATATGAGGAGATACAGCA 1527
Query 1577 CAACAGCACAGGAGGAAATCCCAAAATTAAGGCTTTAGCCACATATCGAAAACCTAG 1636
Sbjct 1528 CAACAGCACAGGAGGAAATCCCAAAATTAAGGCTTTAGCCACATATCGAAAACCTAG 1586
Query 1637 CAATTTCCGGAAGG 1690
Sbjct 1587 CAATTTCCGGAAGG 1600

```

スコア = 228 ビット (252), 予測 = 2e-55
 同一性 = 143/153 (93%), スギャップ = 1/153 (0%)
 種 = Plus/Plus

```

Query 22 ATTAGCGGCTGTACGAGCGACCAATGAAGTTCGATTTCCCTCCTAAAACCC 81
Sbjct 22 ATTAGCGGCTGTACGAGCGACCAATGAAGTTCGATTTCCCTCCTAAAACCC 80
Query 82 GCTTTAAAATTAATTTGCTGAGAGTTCAGCAATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 141
Sbjct 81 GCTTTAAAATTAATTTGCTGAGAGTTCAGCAATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 140
Query 142 TACAGCGCAAGGAGTTCAGCAATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 174
Sbjct 141 AACACGCAAGGAGTTCAGCAATTAACAAATFAGGAGTTCGAGTCTTATGCTTCCGCCCTA 173

```

【 図 1 a - 5 】

```

Query 181 RTDNLKMRVIELKQINHEHTDITASYEQHKRGTITGFSFKPKKRTGAEPRNSDS 240
Sbjct 181 RTDNLKMRVIELKQINHEHTDITASYEQHKRGTITGFSFKPKKRTGAEPRNSDS 240
Query 241 SPHTEPSQIPANIAKQENAKKDLGHRASKITGLINSHGLDRFKRQDESVIDMKRI 300
Sbjct 241 SPHTEPSQIPANIAKQENAKKDLGHRASKITGLINSHGLDRFKRQDESVIDMKRI 300
Query 301 KSEITDTTADQWENKLEFGVIF 324
Sbjct 301 KSEITDTTADQWENKLEFGVIF 324

```

人方についての一般的な情報

スカラー: SPHTEPSQIPANIAKQENAKKDLGHRASKITGLINSHGLDRFKRQDESVIDMKRI

FASTA: E5Lq72

作成日: 8-FEB-2011

更新日: version 1 8-FEB-2011

最新更新: version 8 1-MAY-2013

キーワード: subname: 全長レプリカー-32種タンパク質: rotin

生物種: 未分類

NCBI ID: 332710

参考文献: 1. Manuvelidis, L.; Nucleosome resistant circular DNAs coparticipate with infectivity in escape and CUD. J. Neurovirol. 0:0 (2010)

コメント: 系統 = sphinx 1.76;

UniProt Consortium が提供物を有する, http://www.uniprot.org/entry 参照
 Creative Commons Attribution-NoDerivs License の下で提供される

データベース相互参照

EMBL: HQ44401; ADR5123.1; プノム DNA.

GO: 0005727; C: 染色体外複製体 DNA; IEA: InterPro.
 GO: 0003887; P: DNA複製体 DNAポリメラーゼ活性; IEA: InterPro.
 GO: 0005709; P: DNA複製開始; IEA: InterPro.

GeneID: 1_10_10_10; -- 2.

InterPro: IPR000525; Initiator_Rep_prot.
 IPR011991; hRTH_DNA-bd_dom

RefSeq: PF01051; Rep_3; 1.

長さ: 324 aa, 分子量: 37186 Da, CRC64 check sum: 3FA0A96403BC4C

MSDLIVKNA LHMASYNLAL VEQRLLILA IEARSTGKGI NARDPLTVHA GSYIQKFNVO 60
 RHTAYQALKD ACKLEFRNFQ SYQKRENRG INITSRWVSG IGYMDTATV EIIFAPAVVP 120
 LITRLEQFTQYDIQISLSSAYAVHYELIICWRSTKPTIIEDEFR KRICVLDPEY 180
 RTDNLKMRVIELKQINHEHTDITASYEQHKRGTITGFSFKPKKRTGAEPRNSDS 240
 SPHTEPSQIPANIAKQENAKKDLGHRASKITGLINSHGLDRFKRQDESVIDMKRI 300

【 図 1 a - 4 】

BlastP - Uniprot
 ORF 326aa:

```

>>>sp|tr|E5Lq72_9ZZZZ E5Lq72 SubName: Full=Replicase 3-11... 581 1e-163
>>>sp|tr|N9LWE7_9GANM N9Lwe7 SubName: Full=h-characterize... 558 9e-157
>>>sp|tr|E5Lq72_9ZZZZ E5Lq72 SubName: 全長レプリカー-32種タンパク質 Sphinx.76. 5/2013
長さ=324
スコア = 581 ビット (1498), 予測 = 1e-163, 方法: 適合マトリックス調整
同一性 = 278/324 (85%), 類似性 = 294/324 (90%), キャンプ = 0/324 (0%)
Query 1 MSDLIVKNA LHMASYNLAL VEQRLLILA IEARSTGKGI NARDPLTVHA GSYIQKFNVO 60
Sbjct 1 MSDLIVKNA LHMASYNLAL VEQRLLILA IEARSTGKGI NARDPLTVHA GSYIQKFNVO 60
Query 61 RHTAYQALKD ACKLEFRNFQ SYQKRENRG INITSRWVSG IGYMDTATV EIIFAPAVVP 120
Sbjct 61 RHTAYQALKD ACKLEFRNFQ SYQKRENRG INITSRWVSG IGYMDTATV EIIFAPAVVP 120
Query 121 LITRLEQFTQYDIQISLSSAYAVHYELIICWRSTKPTIIEDEFR KRICVLDPEY 180
Sbjct 121 LITRLEQFTQYDIQISLSSAYAVHYELIICWRSTKPTIIEDEFR KRICVLDPEY 180
Query 181 RTDNLKMRVIELKQINHEHTDITASYEQHKRGTITGFSFKPKKRTGAEPRNSDS 240
Sbjct 181 RTDNLKMRVIELKQINHEHTDITASYEQHKRGTITGFSFKPKKRTGAEPRNSDS 240
Query 241 SPHTEPSQIPANIAKQENAKKDLGHRASKITGLINSHGLDRFKRQDESVIDMKRI 300
Sbjct 241 SPHTEPSQIPANIAKQENAKKDLGHRASKITGLINSHGLDRFKRQDESVIDMKRI 300
Query 301 KSEITDTTADQWENKLEFGVIF 324
Sbjct 301 KSEITDTTADQWENKLEFGVIF 324
>>>sp|tr|N9LWE7_9GANM N9Lwe7 SubName: 全長レプリカー-32種タンパク質 12/2013
長さ=324
スコア = 558 ビット (1439), 予測 = 9e-157, 方法: 適合マトリックス調整
同一性 = 267/324 (82%), 類似性 = 290/324 (89%), キャンプ = 0/324 (0%)
Query 1 MSDLIVKNA LHMASYNLAL VEQRLLILA IEARSTGKGI NARDPLTVHA GSYIQKFNVO 60
Sbjct 1 MSDLIVKNA LHMASYNLAL VEQRLLILA IEARSTGKGI NARDPLTVHA GSYIQKFNVO 60
Query 61 RHTAYQALKD ACKLEFRNFQ SYQKRENRG INITSRWVSG IGYMDTATV EIIFAPAVVP 120
Sbjct 61 RHTAYQALKD ACKLEFRNFQ SYQKRENRG INITSRWVSG IGYMDTATV EIIFAPAVVP 120
Query 121 LITRLEQFTQYDIQISLSSAYAVHYELIICWRSTKPTIIEDEFR KRICVLDPEY 180
Sbjct 121 LITRLEQFTQYDIQISLSSAYAVHYELIICWRSTKPTIIEDEFR KRICVLDPEY 180

```

【 図 1 a - 6 】

324 QSEITDTTADQWENKLEFGVIF

ProtSweep

タンク型質問ツール

Results for /home/rlr08/conda/tsecomp1/OG1_25p_316 pep - identical to HCB16_252 326.pap in the first 300aa

結果数: 316

スコア: 118.04

タンク型質問の形式:

cyto	13%
cyto	10%
cyto_muc1	10%

関連されたタンク型質問および転写産物

タンク型質問:

4d: sp|tr|E5Lq72_9ZZZZ

類似性: 100%

生物種: コノハシロコ (Drosophila melanogaster)

スコア: E5Lq72 SubName: 全長レプリカー-32種タンパク質 5/2013 長さ: 324

アイコン: []

GO 情報

GO 番号	名称	種類
GO:0005727	複製体 DNA	IEA: InterPro
GO:0003887	DNA複製体 DNAポリメラーゼ活性	IEA: InterPro
GO:0006270	DNA複製開始	IEA: InterPro

Interpro 情報

ID	短い名称
IPR000525	Initiator_Rep_prot
IPR011991	hRTH_DNA-bd_dom

【 図 1 b - 1 】

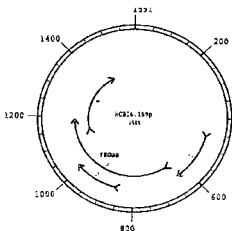
HCB16.159 (1591bp)

(ri55.NnXn.1600.5)

TTTTGTTTTCAAGGAAGTAATGGCGAGTGTCTACGAGCCACCAATGAAAGTTCGATTTATCCCTT
CCTCTAAAAACCCGTTTTAAAAATATGGTGTCTAGATGGTTTTAACTACTCGTAGCTTTTGGCTTTT
AAAAATACACGAGCAAGGAGGATTCATAGTGGCTTTGATCTGCTCTACTACACGCTCATTTTAAAT
GGCCCTTAGTAAAGATGCTTTGGGGTTGGGGCTTCCCTGACCAAGCTCACAAGTGGGATTT
TATCAGCGTAGTGAATAAGTACCTTTTGGTCTTGTCTTTATGCTTTTAAACCTTTCAACTTTTC
CCTTAATTTGCAGAAATGGCCCTGACTAGCTTGGTCTAGTCAAAAAGTTGGCAGAAAGGCAAAAC
ATAGGCAATTTTCAATGATGAAATGGGCTTTAAAGTTTTAAATGCTTTTAAATGCTTTTAAATGCT
GTTGAAATGCAAGCTTACGAGGCAACAGAGGATACCCCTGGCTTACCGATCAATACCCCTACG
TTTACCGATCAATACCCCTACGTTTACCGATCAATACCCCTACGTTTACCTTCCATATCACTACAAAC
AATATTAATGATGATTAATCTTCAAAAATAAATAATGATGATGAGGCAATTAATGATGAAAGATAA
GCCTCTAATGAACGCTAGTACACTAGCTTTGGTTGAACAGCGTTTAACTCTTTAGCTATATGG
AAGGAGAGAAACAGGCAAGGATTAATGCCAATGATCCCTTAACAGTTTCAAGCAAGTATATC
AATCAATTAACGTTGAAAGACATACGGCATATCAAGCATTAAGATGCTTGAAGAGCTTGTITTC
ACGTCATTTAGTACCAAGAAAGCGGAGAGCTGGAGCAATTAATTAACAGCTGATGCTTTAC
AAATGGTTATATGGAGATACAGCAACCGTTGAAATTTTGGCCCTGCGGTTGTCCTTTGAT
ACACGTTTAGAGGAACAATTCACATCAATACGATTTGAACAAATAGGAGGATATCGAGTGGCTATG
CTGCGGCTATATGAGTACTAATTTGGTGGCTAGCAGGACTATGTTGGAAATCAAGAAAGCTG
CTGCAATTCGTAAGGTTGGAAGAAATATCTGTAATTTAGAAAGAGGCGATAAGGTTTACCTTTAT
CAAAGTGGCTTGGTTTGGAGCATCTGATTTGCTACTGCTGACTTAAATCAAAGTGAATCGTGG
ACAACGAGAAAGAAATTTCAAAAATAAAGGATTTAAATAGGATTTAAAGCAATTTCTGGAA
AAGAGTTTAAAGCCTTAACTGCGGCTGGTGTAGCTTCTGTAACAAGTGGAGGCTAAAGCCTGAA
CAATTTAGAAATTTAGATAGAAATAGAAAGAGGATGAGTCAAGTAAAGTAAATAGATGATGTT
GTTTATGTTGCTACGATGCAATCACTTAAAGATTCCTTTGATTAATCTGCTAGCAATGGTTTAA
AAAGGCTCACTGATGATGAGCGCTT

ATACCCCTACGTTTACCGATCA - 反復 3x + 17nt

HCB16.159の配列は、nt1132-2163が欠失している以外はHCB16.252と同じである。両方の配列は、同じバック対バックプライマーにより作製された。



TSE関連環状DNA単離物Sphinx1.76に対して89%類似性

ORF180aa-Sphinx1.76のレプリカセ3様タンパク質に96%類似性

Figure 1(b)

【 図 1 b - 3 】

Sbjct 810 AAGATGCTTGAAGCACTGTTTGGCCGCAATTCAGTTACAGAAAAGGCGAGCA 869
Query 919 GGAGCAATTAATTAACAGTGGCTTCCAAATTTGGTATAGGACATACAGCA 978
Sbjct 870 GGAGCAATTAATTAACAGTGGCTTCCAAATTTGGTATAGGACATACAGCA 929
Query 979 ACCGTGAATTAATTTTGGCCCTGGCTTCTGATTTACGCTTTAGAGGACAAA 1038
Sbjct 930 ACCGTGAATTAATTTTGGCCCTGGCTTCTGATTTACGCTTTAGAGGACAAA 989
Query 1039 TTCACCAATGAGTATTAACAATTTAGGAGATTTGAGTCTTTCGCTTCCGCTA 1098
Sbjct 990 TTCACCAATGAGTATTAACAATTTAGGAGATTTGAGTCTTTCGCTTCCGCTA 1049
Query 1099 TATGAGTACTAATTTTGGCGTAGCAGG 1130
Sbjct 1050 TACGAAGTCTGTTTGGCTGAGCAGG 1081
スコア = 223 ビット (246), 手前 = 6e-54
同一性 = 142/153 (92%),ギャップ = 1/153 (0%)
挿入 = Plus/Plus
Query 22 ATTGGCGAGTCTACAGGCAACAAAGAAATGATTTCCCTCTTAAABACC 81
Sbjct 22 ATTAGCGAGTCTACAGGCACTCAATGAAATGCTGATTTCCCTCTGAAABACC 80
Query 82 GCTTTAAAAATTTGGTGTAGTGGTTTAACTATGCTGAGCTTTTCCTTTAAAA 141
Sbjct 81 GCTTTAAAAATTTGGTGTAGTGGTTTAACTATGCTGAGCTTTTCCTTTAAAA 140
Query 142 TACAGAGCAAGCGGCTTCAATGCTGCTT 174
Sbjct 141 AACAGAGCAAGCGGCTTCAATGCTGCTT 173
>>>ntmuc:GI_462476960 GI1462476960|gb|ARPK01000458.1|アフリカマフネキウム Seq01000458,
ホルダノムシヨフバニ-総用. 0/0
長さ=1455
スコア = 360 ビット (620), 手前 = 2e-155
同一性 = 628/826 (76%),ギャップ = 23/826 (2%)
挿入 = Plus/Minus
Query 318 CTTTAAACCTTGAACCTTTCCCTTAAATTTGCAAGAAATGGCCCTGACTAAGCTT-C 376
Sbjct 1380 CTTTAAACCTTGAACCTTTCCCTTAAATTTGCAAGAAATGGCCCTGACTAAGCTT-C 376
Blast - Uniprot:
ORF 180aa:
>>>sptrcemb1:ESL672_92282 ES1672 SubName: Full=Replicase 3-11... 324 7e-87

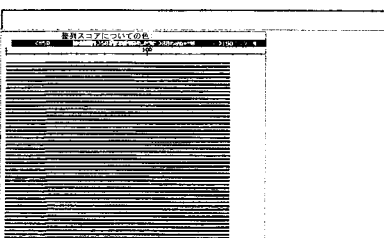
【 図 1 b - 2 】

Blastn-Geall:

BLASTN results for HCB16.159. The top hit is Sphinx1.76 from the Sphingomonas genus, with a score of 1070 bits (1186) and 98% identity. Other hits include various sequences from the Sphingomonas and other genera, with scores ranging from 550 to 800 bits. The alignment shows high sequence similarity between the query and the top hit.

【 図 1 b - 4 】

BLASTN results for ORF 180aa. The top hit is Replicase 3-11 from the Sphingomonas genus, with a score of 324 bits (773) and 96% identity. Other hits include various sequences from the Sphingomonas and other genera, with scores ranging from 286 to 324 bits. The alignment shows high sequence similarity between the query and the top hit.



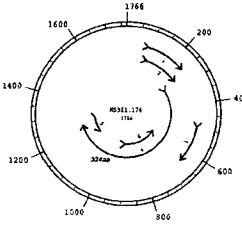
>>>sptrcemb1:ESL672_92282 ES1672 SubName: Full=Replicase 3-11... 324 7e-87

【 図 1 c - 1 】

MSB11.176 (1766bp) (MSB=多発性硬化症脳腫瘍由来) (ms36.Nxn.1800.6)

AGCTTGCCTAGTCAAAGAGTTGAGCAAGCCAAACATAGGCAATTTTCATGAAAGATTCGGCTTTAAAGTTTAA...
TACTTACCTTTAAAGTCTTTAGACATGCTAGAGCCCAACAGCAGGACATACAGAGGACATCTCCCTACCTACGACAA...

反復 - 3x 22nt + 17nt



TSE関連環状DNA単離物Sphinx1.76iに対して98%ヌクレオチド類似性
ORF:324aa-Sphinx1.76iの複製タンパク質に対して97%類似性

Figure 1(c)

【 図 1 c - 2 】

Blastn - Geall:

Blastn search results for MSB11.176. Top hit: gi|313507477|gb|HQ444404.1| TSE-associ... 2491 0.0. Query 1: AGCTTGCCTAGTCAAAGAGTTGAGCAAGCCAAACATAGGCAATTTTCATGAAAGATTCGGCTTTAAAGTTTAA...

【 図 1 c - 3 】

Blastn search results for ORF:324aa. Top hit: Query 561: GAGGAACAGTTCACCCAGTACGATATTGAGCAAAATAGCGGTTTACGATGATGCT 720. Query 1440: TCTGAAATTCACAAAAGATATTGAGCGAGTCTACAGCGGACATCAATGAAGTTCGAT 1499.

【 図 1 c - 4 】

BlastP-Uniprot search results for ORF 324aa. Top hit: Query 1: MS0LVKNDALMNASYMLALVEQLRLLAIIEARETQKGINANDELTVHASSYINQFNVE 60. Query 301: QSEIITDAIQDMESVLEFGVVF 324.

【図 1 e - 2】

219aa-転写の調節

Blast - Geall:



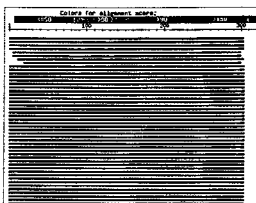
BLAST search results for query 219aa, showing sequence alignments and scores for various database entries.

【図 1 e - 4】

BLAST search results for query 316aa, showing sequence alignments and scores.

ORF 316aa:

BlastP - Uniprot:



BLAST search results for query 316aa, showing sequence alignments and scores for various database entries.

【図 1 e - 3】

BLAST search results for query 1e-3, showing sequence alignments and scores for various database entries.

【図 1 e - 5】

BLAST search results for query 1e-5, showing sequence alignments and scores for various database entries.

【図 1 g - 3】

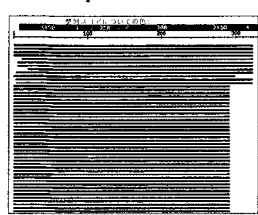
Sbjct 1261 GATTCTCATTCATGTTTAAAGCACAAGAAACAAACAGCGATA-AAACCGCTGATCAAC 1319
 Query 600 GATTCTGGGTTCTTACCGGAAACAGTAG--AAATCCCTGGCGAGTCTGAAACAGC 657
 Sbjct 1320 GCTCTAGG-CCAGGATGTTGAAACCA-TAGTCAAAATCCCTACCAACATTTGAAACAGC 1377
 Query 658 CTAAAAACCAATTTAGCGGATTTAGAGAACAGGATGATACACAGGCGCAAT-- 715
 Sbjct 1378 CTGAAACCCCAAATGAGGATTTAGAGAACAGGATGATACACAGGCGCTTTACAGGCGCAATA 1437
 Query 716 TGTAAAAATACCTGGCAAGCTTTTCAACATGGGAATCAATCCACCTGGATATGAT 775
 Sbjct 1438 TGC--GAAATGCTGCTGATGATCGTTTAAACAGCGGATGATCAACCAATCGAGATGAT 1495
 Query 776 GAAAGCTATTCAAGTCAATCAATCAACGAACTGGCGATCTATGGCAAAACAACT 635
 Sbjct 1496 GAAAGCTATTCAAGTCAATCAATCAACGAACTGGCGATCTATGGCAAAACAACT 1555
 Query 836 TGAATCAATGGCTGGTTTTTATGATCAAGCAATTTCCGAGGGCGCACTT 889
 Sbjct 1556 GGAGAGTTTGGCTGGTTTTTATGATCAAGC-ATTTCCGAGGGCGCACTT 1608

スコア = 621 ビット (69%), 手戻り = 2e-175
 同一性 = 585/726 (80%), キャンプ = 22/726 (3%)
 種 = Plus/Plus

Query 971 tcca-aaaaaggggattaccggatgctctacggagcacaatgaaagctgattatctcc 1029
 Sbjct 8 TTTCAAAAAAAGATATTACGGAGCTCTACGGAGGCTCAATGAAGCTGATTATT-CC 66
 Query 1030 CCTCTGAAACCCGCTTTTGTATCT-CATTCAAGAAATTTAACTATCTGGCT 1088
 Sbjct 67 CCTCTGAAACCCGCTTTTAAATTTTGGCTGATGATGGTTTTTACTATATGCTGAGT 126
 Query 1089 TTTGCTTTGAGAGACAGCCAGCGAGCGAGTGCATcttggcttggcttggcttggctt 1148
 Sbjct 127 TTTGCTTTTAAAAAACAGCAGCAAGCGAGT-ATGATGCTTTTCTTGT-TTTTGCT 183
 Query 1149 ggggtttggggttggcttccc-ACAGAGCGACAGGATGAGGATTT-----TACAGGATG 1202
 Sbjct 184 GGCTTAGGGGAATCCCTTACAGCTCCCGAATCAAAATGGGATGATT-ATA 242
 Query 1203 GAAAGTCCCTCTGCTGCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT 1261
 Sbjct 243 TATACGGTGAAGCT-TCTTATTTGATTTTTTTCTTAAAGCTTTGACTCTCTCTCTCT 301
 Query 1262 TAATTTGCAAAATTTCCCGAGCTGAGTCAAGCGAAGTCAAAAGTTTGAGCAAGCG 1321
 Sbjct 302 TTTCTTCC-AGAAATTTCCCTCT-AGAGCTTCTTACTTAAAGTTTGAGCAAGCG 358
 Query 1322 AAACATAGGCCAATTTGCTGATGAAATGGCTTTTAAAGTTTTAAATGGTTTAA 1381
 Sbjct 359 AAACATAGGCCAATTTCTAGGAAATTTGCGCTTTTAAAGTTTTAAAG-TTTTAAA 417
 Query 1382 TCGTTTAAAGCAGCTTAAACAGCGAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT 1441
 Sbjct 418 TCGTTTAAAGCAGCTTAAAGCAGCGAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT 477
 Query 1442 TTAGCGATCAATCCCTTACGTTTACCGATCAATCCCTTACCGATCAATCCCTTACCG 1501
 Sbjct 478 TTAGCGATCAATCCCT-CTTTACCGATCAATCCCTTACCGATCAATCCCTTACCG 535
 Query 1502 CTAGCTTACTTCCATACCAAGCAAAATATATATATGATGATTAATCTCAAAATAAT 1561
 Sbjct 536 CTAGCTTACTTCCATACCAAGCAAAATATATATATGATGATTAATCTCAAAATAAT 1594
 Query 1562 AAACATAGGCCAATTTGCTGATGAAATGGCTTTTAAAGTTTTAAATGGTTTAA 1621
 Sbjct 595 AAACATAGGCCAATTTCTAGGAAATTTGCGCTTTTAAAGTTTTAAAG-TTTTAAA 654
 Query 1622 ACTTAGCTTTGGTTGAAACAGCGTTTAAATTTCTGCTTCTGAGCGAGGAGAGAAAG 1681
 Sbjct 655 ACTTAGCTTTGGTTGAAACAGCGTTTAAATTTCTGCTTCTGAGCGAGGAGAGAAAG 714
 Query 1682 GCAAG 1687
 Sbjct 715 GCAAG 720

【図 1 g - 4】

ORF 324aa:
 Blast - Uniprot:



>>>sp|tr|E|N9LW7_9GAMM N9LW7 SubName: Full=Uncharacterize... 550 5e-154
 >>>sp|tr|E|E5LG72_92222 E5lg72 SubName: Full=Replicase 3-13... 540 3e-151
 >>>sp|tr|E|N9JLm2_ACIBA N9Jlm2 SubName: Full=Uncharacterize... 523 5e-146

>>>sp|tr|E|N9LW7_9GAMM N9LW7 SubName: 全長=未特徴付けタンパク質... 12/2013
 長さ = 324
 スコア = 550 ビット (1416), 手戻り = 5e-154, 方法=適合マトリックス調整
 同一性 = 261/324 (80%), 類似性 = 288/324 (88%), キャンプ = 0/324 (0%)

Query 1 MSOLIVKDALMASYNLALVEQLRLLLALEARTEKGINANDPLTVHASSYINQNFV 60
 Sbjct 1 MSOLIVKDALMASYNLALVEQLRLLLALEARTEKGINANDPLTVHASSYINQNFV 60
 Query 61 RHTVAQLKADKDLFARQFSYQEKREGRGANITSRWVSQIATIDETATVEIIFAPAVP 120
 Sbjct 61 RHTVAQLKADKDLFARQFSYQEKREGRGANITSRWVSQIATIDETATVEIIFAPAVP 120
 Query 121 LITRLEQFTQYDIQISGLSSAYAVRYELLICRWTKTPEVLLDFEFRKRLVGLDTEY 180
 Sbjct 121 LITRLEQFTQYDIQISGLSSAYAVRYELLICRWTKTPEVLLDFEFRKRLVGLDTEY 180
 Query 181 TRTDNLKMRVIEQSLKQIKHDTITASYEQHKRGTITGFSFRKQKTEPEFPKNDSD 240
 Sbjct 181 TRTDNLKMRVIEQSLKQIKHDTITASYEQHKRGTITGFSFRKQKTEPEFPKNDSD 240
 Query 241 GVSKPKTVEIPEAVKQPNLSDLEKRVMTICAIKNNLASRFQGNESPLDMKRI 300
 Sbjct 241 GVSKPKTVEIPEAVKQPNLSDLEKRVMTICAIKNNLASRFQGNESPLDMKRI 300
 Query 301 QSEIITDADWESKLEEFQVF 324
 Sbjct 301 QSEIITDADWESKLEEFQVF 324

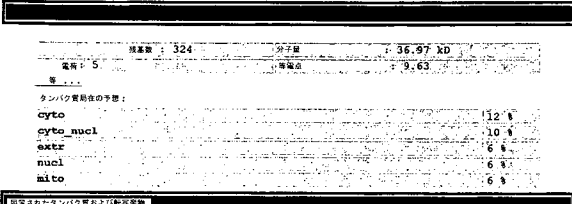
>>>sp|tr|E|E5LG72_92222 E5lg72 SubName: 全長=レプリカーゼタンパク質 (Sphinae)... 5/2013
 長さ = 324
 スコア = 540 ビット (1391), 手戻り = 3e-151, 方法=適合マトリックス調整
 同一性 = 234/324 (78%), 類似性 = 285/324 (87%), キャンプ = 0/324 (0%)

Query 1 MSOLIVKDALMASYNLALVEQLRLLLALEARTEKGINANDPLTVHASSYINQNFV 60
 Sbjct 1 MSOLIVKDALMASYNLALVEQLRLLLALEARTEKGINANDPLTVHASSYINQNFV 60
 Query 61 RHTVAQLKADKDLFARQFSYQEKREGRGANITSRWVSQIATIDETATVEIIFAPAVP 120
 Sbjct 61 RHTVAQLKADKDLFARQFSYQEKREGRGANITSRWVSQIATIDETATVEIIFAPAVP 120

【図 1 g - 5】

Query 121 LITRLEQFTQYDIQISGLSSAYAVRYELLICRWTKTPEVLLDFEFRKRLVGLDTEY 180
 Sbjct 121 LITRLEQFTQYDIQISGLSSAYAVRYELLICRWTKTPEVLLDFEFRKRLVGLDTEY 180
 Query 181 TRTDNLKMRVIEQSLKQIKHDTITASYEQHKRGTITGFSFRKQKTEPEFPKNDSD 240
 Sbjct 181 TRTDNLKMRVIEQSLKQIKHDTITASYEQHKRGTITGFSFRKQKTEPEFPKNDSD 240
 Query 241 GVSKPKTVEIPEAVKQPNLSDLEKRVMTICAIKNNLASRFQGNESPLDMKRI 300
 Sbjct 241 GVSKPKTVEIPEAVKQPNLSDLEKRVMTICAIKNNLASRFQGNESPLDMKRI 300
 Query 301 QSEIITDADWESKLEEFQVF 324
 Sbjct 301 QSEIITDADWESKLEEFQVF 324

ProtSweep
 タンパク質決定ツール
 Results for /home/vic008/rimneu/tsukompl/Ch13.169.324.pep



タンパク質名: id: sp|tr|E|N9LW7_9GAMM
 評価: 良好
 科学的名称: アシナトバクテリア
 種別: N9LW7 SubName: 全長=未特徴付けタンパク質... 12/2013 長さ = 324
 アミノ酸: 5

GO 情報:

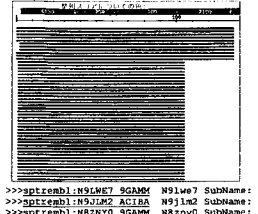
識別子	種別	名称	注釈
GO:0005727	細胞部分	染色体複製体RNA	IEA:InterPro
GO:0003887	分子機能	DNA複製開始因子複合体活性	IEA:InterPro
GO:0006270	生物学的プロセス	DNA複製開始	IEA:InterPro

Interpro 情報:

id	短い名称
IPR000525	Initiator_Rep_prot
IPR011991	WTH_DNA-bd_dom

【図 1 g - 6】

ORF 137aa:
 Blast - Uniprot:



>>>sp|tr|E|N9LW7_9GAMM N9LW7 SubName: Full=Uncharacterize... 191 1e-46
 >>>sp|tr|E|N9JLm2_ACIBA N9Jlm2 SubName: Full=Uncharacterize... 190 2e-46
 >>>sp|tr|E|N82NY0_9GAMM N8any0 SubName: Full=Uncharacterize... 190 2e-46
 >>>sp|tr|E|S7B39_9GAMM S7w39 SubName: Full=DNA replicatio... 190 2e-46
 >>>sp|tr|E|E5LG72_92222 E5lg72 SubName: Full=Replicase 3-13... 173 9e-41

>>>sp|tr|E|N9LW7_9GAMM N9LW7 SubName: 全長=未特徴付けタンパク質... 12/2013
 長さ = 191
 スコア = 191 ビット (484), 手戻り = 1e-46, 方法=適合マトリックス調整
 同一性 = 91/137 (66%), 類似性 = 108/137 (78%), キャンプ = 0/137 (0%)

Query 1 MRVIEQSLKQIKHDTITASYEQHKRGTITGFSFRKQKTEPEFPKNDSDGVSKPK 60
 Sbjct 188 MRVIEQSLKQIKHDTITASYEQHKRGTITGFSFRKQKTEPEFPKNDSDGVSKPK 247
 Query 61 VEIPEAVKQPNLSDLEKRVMTICAIKNNLASRFQGNESPLDMKRIQSEITSD 120
 Sbjct 248 VEIPEAVKQPNLSDLEKRVMTICAIKNNLASRFQGNESPLDMKRIQSEITSD 307
 Query 121 ETADLNKRNLESGVVF 137
 Sbjct 308 ETADLNKRNLESGVVF 324

>>>sp|tr|E|N9JLm2_ACIBA N9Jlm2 SubName: 全長=未特徴付けタンパク質... 12/2013
 長さ = 325
 スコア = 190 ビット (483), 手戻り = 2e-46, 方法=適合マトリックス調整
 同一性 = 103/137 (75%), 類似性 = 113/137 (82%), キャンプ = 0/137 (0%)

Query 1 MRVIEQSLKQIKHDTITASYEQHKRGTITGFSFRKQKTEPEFPKNDSDGVSKPK 60
 Sbjct 189 MRVIEQSLKQIKHDTITASYEQHKRGTITGFSFRKQKTEPEFPKNDSDGVSKPK 248
 Query 61 VEIPEAVKQPNLSDLEKRVMTICAIKNNLASRFQGNESPLDMKRIQSEITSD 120
 Sbjct 249 VEIPEAVKQPNLSDLEKRVMTICAIKNNLASRFQGNESPLDMKRIQSEITSD 308
 Query 121 ETADLNKRNLESGVVF 137
 Sbjct 309 ETADLNKRNLESGVVF 325

>>>sp|tr|E|N82NY0_9GAMM N8any0 SubName: 全長=未特徴付けタンパク質... 12/2013
 長さ = 325
 スコア = 190 ビット (483), 手戻り = 2e-46, 方法=適合マトリックス調整
 同一性 = 103/137 (75%), 類似性 = 113/137 (82%), キャンプ = 0/137 (0%)

【図1h-4】

```

>>>sptrmb1:N91W67_SGNM N91W67 SubName: FullUncharacterize... 563 3e-158
長さ=324

スコア = 574 ビット (1479), 字重 = 2e-161, 方法: 適合マトリックス調整.
同一性 = 276/324 (85%), 断片 = 294/324 (90%), ギャップ = 0/324 (0%)

Query 1 MSDLIVKDMALNANASYMLALVEQRLLILALEARETKGINANDPLTVHANSYINQFNVE 60
      NS+LIVKDMALNANASYMLALVEQRLLILALEARETKGINANDPLTVHA SYINQFN+
      NSDLIVKDMALNANASYMLALVEQRLLILALEARETKGINANDPLTVHANSYINQFN 60
Sbjct 1 RHTAYQALKDKACKDLFARQFSYQKREKRGINITSRWVSGIQYMDDTATVEIIFAPAVVP 120
      RHTAYQALKDKACKDLFARQFSYQKREKRGINITSRWVSGIQYMDDTATVEIIFAPAVVP 120
Sbjct 61 RHTAYQALKDKACKDLFARQFSYQKREKRGINITSRWVSGIQYMDDTATVEIIFAPAVVP 120
      RHTAYQALKDKACKDLFARQFSYQKREKRGINITSRWVSGIQYMDDTATVEIIFAPAVVP 120

Query 121 LITLREEQFTQYDIHQISGLSSAYAVNVELLICWSTGTVPVLELFPKRIQVLDTEY 180
      LITLREEQFTQYDIHQISGLSSAYAVNVELLICWSTGTVPVLELFPKRIQVLDTEY 180
Sbjct 121 LITLREEQFTQYDIHQISGLSSAYAVNVELLICWSTGTVPVLELFPKRIQVLDTEY 180
      LITLREEQFTQYDIHQISGLSSAYAVNVELLICWSTGTVPVLELFPKRIQVLDTEY 180

Query 181 TRTDNLNMRVIELALQKINHTDITASYEQHKRGTITGFSFKFKOKKTELEPKNSDS 240
      TRTDNLNMRVIELALQKINHTDITASYEQHKRGTITGFSFKFKOKKTELEPKNSDS 240
Sbjct 181 TRTDNLNMRVIELALQKINHTDITASYEQHKRGTITGFSFKFKOKKTELEPKNSDS 240
      TRTDNLNMRVIELALQKINHTDITASYEQHKRGTITGFSFKFKOKKTELEPKNSDS 240

Query 241 SPHIEKPSQIPNIVQKPERAKKDLGHRASKITGLINSGLADRFRKGDSEVNMHMKRI 300
      SPHIEKPSQIPNIVQKPERAKKDLGHRASKITGLINSGLADRFRKGDSEVNMHMKRI 300
Sbjct 241 SPHIEKPSQIPNIVQKPERAKKDLGHRASKITGLINSGLADRFRKGDSEVNMHMKRI 300
      SPHIEKPSQIPNIVQKPERAKKDLGHRASKITGLINSGLADRFRKGDSEVNMHMKRI 300

Query 301 KEETITDADLQWIKLESWVWF 324
      + EIT TDA AD M+KLE F
Sbjct 301 QSEITDADLQWIKLESWVWF 324
      + EIT TDA AD M+KLE F

```

【図1h-5】

ProtSweep
タンパク質同定ツール
Results for /home/vir088/zindou/trscomp/CM4.159.327.pgw

タンパク質の予測: 327, 分子量: 37.51 kD, 電荷: 7.55

タンパク質の予測: cyto_muc1 (9.5%), cyto (9%), muc1 (8%)

関連されたタンパク質および関連物

タンパク質: id: sptrmb1:E51G72_SGNM
詳細: 未知
標準的な名称: ムシバク(Vicugna pacos)
種別: ムシバク
詳細: E51G72 SubName: ムシバク(ムシバク)のタンパク質, 5/201 長さ=324
ファミリー:

GO 機能	GO 番号	名称	説明	証拠
細胞成分	GO:0005727	細胞体外部膜	細胞体外部膜	IEA:InterPro
分子の機能	GO:0003887	分子の機能	分子の機能	IEA:InterPro
生物学的プロセス	GO:0006270	生物学的プロセス	生物学的プロセス	IEA:InterPro

InterPro 情報

ID	短名称
IPRO00525	Initiator_Rep_poc
IPRO11991	WHF_DNA-bd_dom

【図2-1】

HCB17.228 (280bp)
(ri71.NdXd.2500.4G)

CTAAGCGAGATCAACAGGGATAGATAACAGCTTTGGGATTTGAACAATAGAGCGAAGCTACAAAGCAAAATTATTGGTGG
AGCGAGTTGATTCARATCTGAGCGGAGAGCAGCTTATCCATTAAGGCTTTAAGCGTGCACAAAATTAAAGGTTGGTGG
CCAGTTCTTATATCCAGAACTACAGCTTACAGCCAACTTAAAGCTGCAAAAATTCCAGCTATGCGAGAGCTTCTTAT
GCCATCTGCGAGGATTCGCGCTCTCCCTCAATCAACCTATTAAGCTGATCACTAAATTAAGCTGCGAGAGCTCCG
CGTTTAAAGCTGTTTGCATCACTTAAAGCTCAAGAGCGGGAGAGCTTAGAAGAGGCTATATCACTTACAAGCTCAT
TAGAAGCTCTTATCGGATAGGATACAGAAAAGGCTTGGGGTTTACCAATCTGTAAAATTGATGGTCTTTCT
ATACAGTGTATACACCTACAGCAAGAGCAAAAGCTGATCGATCCGCTATTCATTTTCGCTTATCAATGATAGGATA
GCGNAGAGGATTTGCGAGCTGCGATTCGCTGCTGCTTATTCATCGATCCGATTCGCTGAGTAAAGAGCA
AGAAAGCGCTATAGCAAGCTGCTGCGAGGATGTAATAAGCTTAAAGTTGCGCTATCACTGATGAAAGCTGGG
ATGATTTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
TAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
ATCCAACTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
AAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
CAATTAATAATTAATTCGAAATATCAAGGAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
GCGTTGCAATTCGCAATAATGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
CAGCGTATGACAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
GCGTTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
ATCGAGGTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
GAAGCATCGAAGCAATATGATTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
ATGATTAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
CGCTGAGAGGTCGAAATTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
ACTATGGGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
TACGTTGCTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
CGTTGTTTCTTCTGATCACTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT
ACACTTGGGGGATGATTAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT

【図2-2】

Blastn - Ceall:

スコア = 719 ビット (796), 字重 = 0.0
同一性 = 691/878 (78%), ギャップ = 11/878 (1%)
断片 = Plus/Plus

Query 66 CAAGCAAAATATTGCGAGGAGCTGATTTGAAATCTGAGAGCAAGAGATCTTCC 125
Sbjct 15 CAAGCAAAATATTGCGAGGAGCTGATTTGAAATCTGAGAGCAAGAGATCTTCC 72

Query 126 AATAAGGCTTTAAGCTTGCACAAAATAAAGGTTGCGGCAATTTGATTAATCAGA 185
Sbjct 73 AA---GCTTAAAGCTTGCACAAAATAAAGGTTGCGGCAATTTGATTAATCAGA 128

Query 186 AATTAACATATCGACCAAGTTAAGCTGAAAATCCACATCTGCGAGCATTTC 245
Sbjct 129 AATTAACATATCGACCAAGTTAAGCTGAAAATCCACATCTGCGAGCATTTC 188

Query 246 CTATGCCAATGTTGAGGATTTGCGGCTCTGCTGCAATGAAAGCTTTAATGATCGT 305
Sbjct 189 CTATGCCAATGTTGAGGATTTGCGGCTCTGCTGCAATGAAAGCTTTAATGATCGT 248

Query 306 ATCCAGAAATGATGCTGAAAGCTGCGGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT 365
Sbjct 249 ATCCAGAAATGATGCTGAAAGCTGCGGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT 308

Query 366 AAGAGGGGAGCACTTAGAAGAGCTTATATTCCTTACAGAGCTTAAAGCTTAAAGCT 425
Sbjct 309 AAGAGGGGAGCACTTAGAAGAGCTTATATTCCTTACAGAGCTTAAAGCTTAAAGCT 368

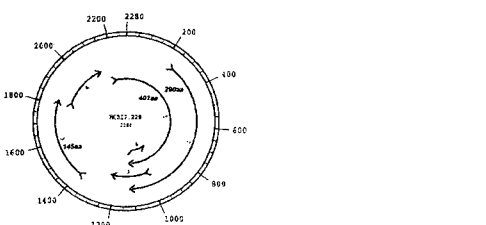
Query 426 CTATGCCAATGTTGAGGATTTGCGGCTCTGCTGCAATGAAAGCTTTAATGATCGT 485
Sbjct 369 CTATGCCAATGTTGAGGATTTGCGGCTCTGCTGCAATGAAAGCTTTAATGATCGT 428

Query 486 GATGGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT 545
Sbjct 429 GATGGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT 488

Query 546 CATATTCATATTTGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT 605
Sbjct 489 CATATTCATATTTGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT 548

Query 606 TGCGATGCAATACCGTGGATTTATATCATGATTTCCGAGGTTAAAGCTTAAAGCT 665
Sbjct 549 TGCGATGCAATACCGTGGATTTATATCATGATTTCCGAGGTTAAAGCTTAAAGCT 608

Query 666 GAACAGGCTATAGCAAA-GCTGTTGCGAGGATGATTAAGCTTAAAGCTTAAAGCTTAAAGCT 724
Sbjct 666 GAACAGGCTATAGCAAA-GCTGTTGCGAGGATGATTAAGCTTAAAGCTTAAAGCT 724



TSE関連環状DNA単離物Sphin2.36iに対して78%ヌクレオチド類似性
ORF:
402aa-Sphin2.36の複製タンパク質の232aaにおいて81%
290aa-Sphin2.36の複製タンパク質の168aaにおいて89%
145aa-ナルキッサスモザイクウイルス ('narcissus mosaic virus') (nmv)の
カプシドタンパク質に対して不確かな類似性

Figure 2

【 図 3 a - 3 】

>>>ptrembl:G1_537368005 G1537368005|gb|KF31642.1|ゲノムデータベース|種別: 222,
スコア = 114 ビット (126), 予測 = 3e-21,
同一性 = 197/284 (69%),ギャップ = 4/284 (1%)

BlastP - Uniprot:

ORF 359aa:

Table with columns: Query, E-value, Subject, and alignment details. Includes BLAST results for ORF 359aa and a ProtSweep analysis table for results from home/vir088/Hndue/gem/HCB21.315.259.pcp.

【 図 3 a - 5 】

Table with columns: Query, E-value, Subject, and alignment details. Includes BLAST results for ORF 311aa and a ProtSweep analysis table for results from home/vir088/Hndue/gem/HCB21.315.259.pcp.

ORF 311aa:

Table with columns: Query, E-value, Subject, and alignment details. Includes BLAST results for ORF 311aa and a ProtSweep analysis table for results from home/vir088/Hndue/gem/HCB21.315.259.pcp.

【 図 3 a - 4 】

Query 307 GARATNAIASGTPTGNGDLVLDFFSSASDDETSAGSPFHGRFVYH 355
Subject 242 DDKGNTFASPRAG-MGDVYVDNFQCLSDAINTLNFNPOATLYH 289

>>>ptrembl:SSRC76_VIRU S5rc76 SubName: 全長-確定コートタンパク質, 12/2013
スコア = 124 ビット (310), 予測 = 3e-26, 方法: 適合マトリックス調整.

Query 95 RRVNLASRKRDRNICPTIDGTG-TPTGPGVSHDASSVYGFSPARTAGTQLESGE 153
Subject 43 RRLVNSRKRDRNICPTIDGTG-TPTGPGVSHDASSVYGFSPARTAGTQLESGE 92

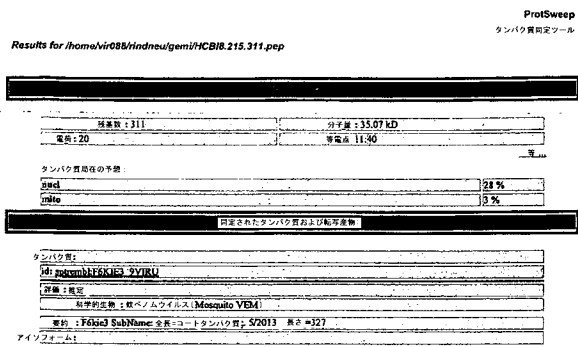
【 図 3 a - 6 】

Query 199 EGVDMVNTATTAPRVHVSDDRRKIVQSPNSGGTIRLSKHVYDINSIIYDVEIGA 258
Subject 194 VGVDMVNTATTAPRVHVSDDRRKIVQSPNSGGTIRLSKHVYDINSIIYDVEIGA 241

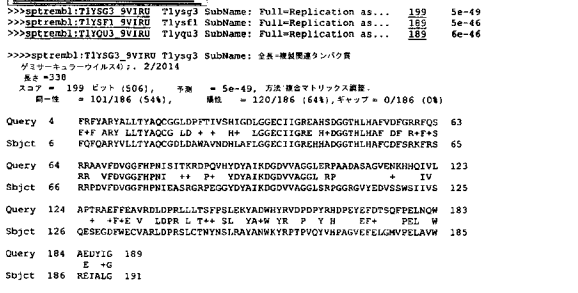
>>>ptrembl:K0A169_VIRU K0a169 SubName: 全長-確定コートタンパク質, 5/2013
スコア = 123 ビット (309), 予測 = 1e-25, 方法: 適合マトリックス調整.

Query 47 RRVNLASRKRDRNICPTIDGTG-TPTGPGVSHDASSVYGFSPARTAGTQLESGE 105
Subject 43 RRLVNSRKRDRNICPTIDGTG-TPTGPGVSHDASSVYGFSPARTAGTQLESGE 92

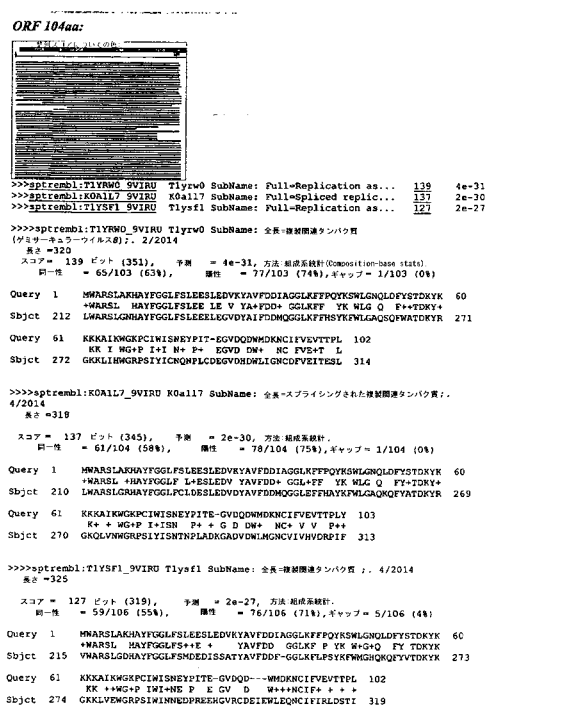
【図 3 a - 7】



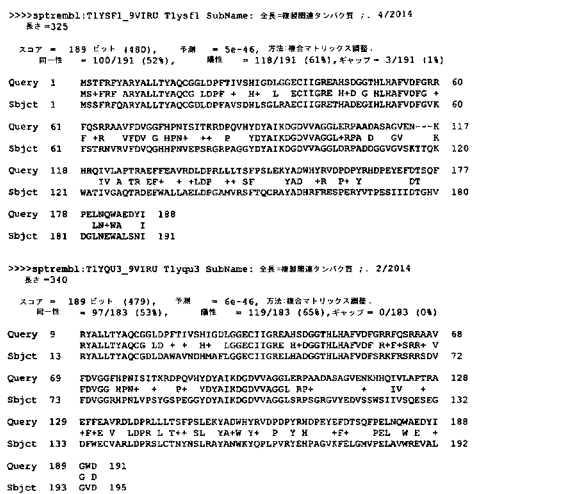
ORF 196aa:



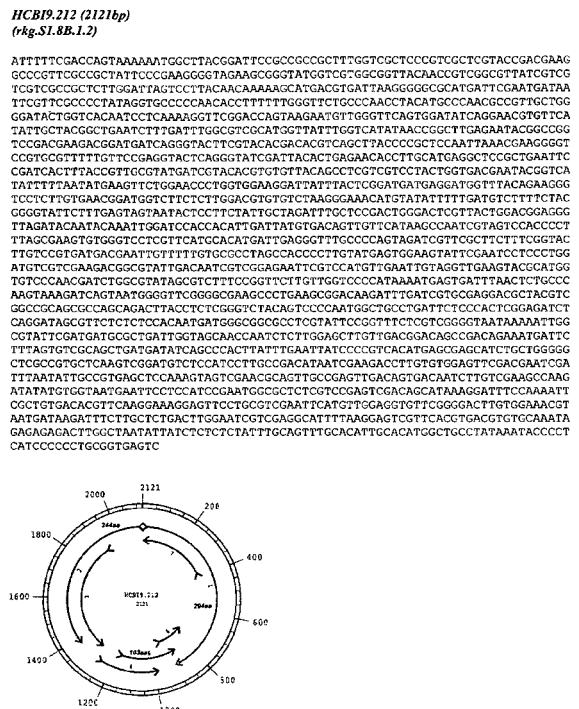
【図 3 a - 9】



【図 3 a - 8】



【図 3 b - 1】

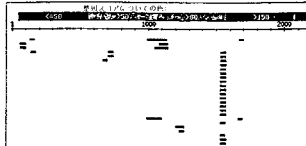


アナグマ (*Meles meles*) 糞便ウイルスに対して71%ヌクレオチド類似性
 ORF: 294aa- ゲミサーキューラーウイルス8に対して
 カプシドタンパク質は26%類似性
 244aa-アナグマ糞便ウイルスに対して複製タンパク質は34%類似性
 103aa-トンボ随伴ウイルス1に対して複製関連タンパク質は59%類似性

Figure 3(b)

【 図 3 b - 2 】

Blast - Geall:



>>>ntnuc:GI_365735143 GI1365735143|gb|UN704610.1| Meles mele... 84.2 5e-12
>>>ntnuc:GI_527290455 GI1527290455|gb|RF413620.1| Hypericum... 60.8 6e-05
>>>ntnuc:GI_537367975 GI1537367975|gb|KF371632.1| Geomyza cul... 53.6 0.009

>>>ntnuc:GI_365735143 GI1365735143|gb|UN704610.1| アナトリア産ウイルス属 V54700006, 完全ゲノム, 0/0 長さ=2198

スコア = 84.2 ビット (92), 予測 = 5e-12
同一性 = 105/146 (71%),ギャップ = 0/146 (0%)
種 = Plus/Plus
Query 988 GGCTCTGCTTCAGCCAGATATCCAGGCTTGGCCGCGAGATGCTTTCCTTCGG 1047
Sbjct 1012 GGCTCTGCTTCAGCCAGATATCCAGGCTTGGCCGCGAGATGCTTTCCTTCGG 1071

>>>ntnuc:GI_527290455 GI1527290455|gb|KF413620.1| エモオトキソンの関連遺伝子ウイルス属 VNHJ1W, 完全ゲノム, 0/0 長さ=2200

スコア = 60.8 ビット (66), 予測 = 6e-05
同一性 = 56/71 (78%),ギャップ = 0/71 (0%)
種 = Plus/Plus

Query 1075 TGTGGCCGAGCCACCCCTGTATGAGTGAAGTATCGAATCCCTCCCTGATGTCGCG 1134
Sbjct 1184 TGTGGCCGAGCCACCCCTGTATGAGTGAAGTATCGAATCCCTCCCTGATGTCGCG 1243

>>>ntnuc:GI_537367975 GI1537367975|gb|KF371632.1| ゲミサーニューウイルス10000種 P14, 完全ゲノム, 0/0 長さ=2229

スコア = 53.6 ビット (58), 予測 = 0.009
同一性 = 75/103 (72%),ギャップ = 2/103 (1%)
種 = Plus/Plus

Query 1044 TGGTACTGTCGCGTGAAGAGATGTTTGTGCGCCAGCCACCCCTGTATGAGT 1102
Sbjct 1280 TGTGATCTGTCGCGTGAAGAGATGTTTGTGCGCCAGCCACCCCTGTATGAGT 1338

Query 1103 GGAAGTATCGAATCCCTCCCTGATGAGTGAAGTATCGAATCCCTCCCTGATGAGT 1145
Sbjct 1339 GGAAGTATCGAATCCCTCCCTGATGAGTGAAGTATCGAATCCCTCCCTGATGAGT 1381

【 図 3 b - 4 】

>>>sptrembl:C7FF80_9VIRU C7ff80 SubName: 全長+コドンタンパク質, 5/2013 長さ=312

スコア = 67.8 ビット (164), 予測 = 5e-09, 方法: 適合マトリックス調整.
同一性 = 86/319 (26%), 類似性 = 145/319 (45%),ギャップ = 50/319 (15%)

Query 11 RSRYSRRRFRYSRRGSGYGGYV---RRYRRR---RRWSIPYK---HOWIKG 62
Sbjct 7 RSRYSRRRFRYSRRGSGYGGYV---RRYRRR---RRWSIPYK---HOWIKG 66
Query 63 AHDSDNM-SFAPIGAP---NITFG---FCPTMNFNAVAGDGNPQRVRSNVDPSGY 114
Sbjct 67 NITFGSAGTAAAPVYVYVAGCTTMCPTAN-ILVAGSLSN-HSHSTATCYVHGL 124

Query 115 GERVHIATASLIW-RWVINSYRL---DNVAGPKTDGDSY---TTROLTFLQLN 166
Sbjct 125 SEHIRTQSSGIFWFRVRCPTKGLGDPFNVAATESPT-SDFPFLQDSSGVRLLFTN 183

Query 167 ECV-----RAPLFRCTGQDYENTLHEAPLNSDHTFVDRVYRVRPQRPPTGDE 216
Sbjct 184 ENVNRNQTINRKNLLEKAGSNVVDWTDII---APLDTGRIYKEDKNTMIG---SGNT 237

Query 217 YGHIFNNKFNPGGR-IIVSDDEG-LQKGLVNGSSLGKRSKGMNIFDVFSTGYSL 274
Sbjct 238 HGVVREKRLMHHMHNIVYDDEYDGTGEG---SWFSTGKAGNGYVMDIQGGQGT 294

Query 275 SMTFPIARFAPPTGYWTE 293
Sbjct 295 AS-DLLRNTANSTVWHE 311

Protsweep タンパク質研究ツール

Results for home/vir088/indeu/gem/HC89.212.294.pep



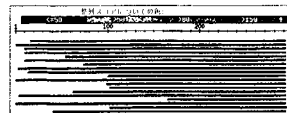
タンパク質の概要: 長さ: 294, 分子量: 33.86 kD, 電荷: 23. タンパク質の概要: 長さ: 294, 分子量: 33.86 kD, 電荷: 23. タンパク質の概要: 長さ: 294, 分子量: 33.86 kD, 電荷: 23.

タンパク質: 名: sptrembl:TIYTB1_9VIRU 詳細: 規定 科学的名称: ゲミサーニューウイルス8 類似: TIYTB1 SubName: 全長+カプシドタンパク質, 2/2014 長さ=302

アイソフォーム: 長さ=324

【 図 3 b - 3 】

Blast - Uniprot: ORF 294aa:



>>>sptrembl:K0A219_9VIRU K0a219 SubName: Full-Putative coat ... 80.5 8e-13
>>>sptrembl:TIYTB1_9VIRU Tlytb1 SubName: Full-Capsid protein... 79.1 3e-11
>>>sptrembl:C7FF80_9VIRU C7ff80 SubName: Full-Coat protein... 67.8 5e-09

>>>sptrembl:K0A219_9VIRU K0a219 SubName: 全長+能定コートタンパク質(トリプレットウイルス) 7, 5/2013 長さ=290

スコア = 80.5 ビット (197), 予測 = 8e-13, 方法: 適合マトリックス調整.
同一性 = 75/301 (24%), 類似性 = 131/301 (43%),ギャップ = 39/301 (12%)

Query 18 RRPVRYSRGRSGYGV---RGGYRRYRRRRRSWISPYNKKRHWIKGADSDNSNFAFI 74
Sbjct 3 RRXYTTRIRSGAGSSKRSYVGRSLSERTTVMKTRSRKRLINSSQKRRNAQEV 62

Query 75 GAPMTFFGFCP-----TVM---PNAVAGDGNPQRVRSNVDPSGYGERV 119
Sbjct 63 NF--WVLRSPVIGSRVSGDRITVLLREPTALDITDISSASRGAQOVIYRGIKRAE 120

Query 120 IATAESLIW-RWVINSYRLNENATGPKTDGDSY---TTROLTFLQLN 173
Sbjct 121 VGTSSGANRWRVYFAKSL-NINGLISNVTESAGFRVAVELSGDPPANLNSLESFL 179

Query 174 FNGTQDYENTLHEAPLNSDHTFVDRVYRVRPQRPPTGDEYGHINNKFNPGGR-I 232
Sbjct 180 FQGSYGVDM---RVFMKVDNNGKLLSQRVRLQ---SDNRGRVPTFTMPLAKTM 233

Query 233 IYSDDEGLQKGLVNGSSLGKRSKGMNIFDVFSTGYSLMPTIARFAPPTGYWTE 292
Sbjct 234 VVHDDVVDKQGS---NITFSEGRKMGVYVYVHMQ---LSDAINTLWNPQATLW 288

Query 293 E 293
Sbjct 289 E 289

>>>sptrembl:TIYTB1_9VIRU Tlytb1 SubName: 全長+カプシドタンパク質(ゲミサーニューウイルス) 8, 2/2014 長さ=302

スコア = 79.1 ビット (193), 予測 = 3e-11, 方法: 適合マトリックス調整.
同一性 = 86/321 (26%), 類似性 = 154/321 (47%),ギャップ = 48/321 (14%)

Query 1 MAYFRRRFRYSRRRFRYSRRGSGYGGYV---RRYRRR---RRWSIPYK---HOWIKG 55
Sbjct 1 MAYA-RRRTSSKA---RPIR---SRPAGRRSRYRSTRKRGHSTRLNLTQSKK 52

Query 56 KHDVIRGADSDNSFA-----TICA--PFTF-FCPTMNFNAVAGDGNP 100
Sbjct 53 RDMKLSYNTAEDPSTDTIGTIPAVHRRVGGADLPAEFTVWATGRPHLS---TQFR 110

Query 101 QKV---RYSNKGFSQGRVHIATASLIW-RWVINSYRLNENATGPKTDGDSY 153
Sbjct 111 SKIDTSLRNTTIFAVGLKRIKLENNAPRRKICFTSRNDKQADDDSDYFRKTS 170

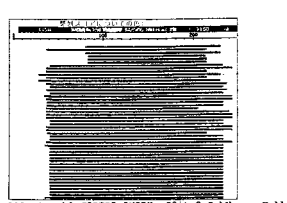
Query 154 SYTTROLTFLQLN-RWVINSYRLNENATGPKTDGDSY---TTROLTFLQLN 213
Sbjct 171 NGMRLRAQSQAEIINDVFDGQVVDLSAIT--APINRHSVYHSDRTRTIG---S 224

Query 214 GDEYGHINNKFNPGGR-IIVSDDEG-LQKGLVNGSSLGKRSKGMNIFDVFSTGY 272
Sbjct 225 GNQSGVTRTRQHMFRKRVYVADBDAG--EQNVDSGVYVGRVGMHGYVMDIF-TRKG 281

Query 273 LSSMTFPIARFAPPTGYWTE 293
Sbjct 282 INDDQSTLS-IEFSTFTVWHE 301

【 図 3 b - 5 】

ORF 244aa:



>>>sptrembl:G9178_9VIRU G91e8 SubName: Full-replication-as... 90.5 6e-16
>>>sptrembl:TIYX6_9VIRU Tlyx6 SubName: Full-replication as... 89.4 1e-15
>>>sptrembl:TIYQ5_9VIRU Tlyq5 SubName: Full-replication as... 85.2 2e-14

>>>sptrembl:G9178_9VIRU G91e8 SubName: 全長+複製関連タンパク質 (アナトリア産ウイルス) 4/2014 長さ=237

スコア = 90.5 ビット (223), 予測 = 6e-16, 方法: 適合マトリックス調整.
同一性 = 52/192 (26%), 類似性 = 76/192 (39%),ギャップ = 3/192 (1%)

Query 81 PCCRLGRNRHSDGGIHYILGFDKIVTNSATADYFGAGNKRISRTPHKVFYDVG 140
Sbjct 36 PACCITGRNAGDGGILHAFCDQDFRFDIENRNFQDINRPFQDFWHPAPCCQKMDVAT 95

Query 141 KGDTRLEHGGEPDARSGDGNKRWADISCDPKESFLSARQAPRNMLNQRIL 200
Sbjct 96 KGDVYAGGLNFIPLDLP--DAETDSIWRRIANPVSDFEWAITRELAPALCNQSLRA 153

Query 201 YAHFYVDEKVEAP-DIVERERYPIEISW 231
Sbjct 154 YAEWHYRVATRYEHPGLSRDTHVQLDEW 185

>>>sptrembl:TIYX6_9VIRU Tlyx6 SubName: 全長+複製関連タンパク質 (ゲミサーニューウイルス) 7, 4/2014 長さ=332

スコア = 89.4 ビット (220), 予測 = 1e-15, 方法: 適合マトリックス調整.
同一性 = 53/190 (27%), 類似性 = 91/190 (47%),ギャップ = 17/190 (8%)

Query 38 NDRSFCVR-ARNSIITFPQVPEMLQNEFDGTFPL---SRUTANFQPLCKLRERISD 93
Sbjct 1 MSRQGLKLDKCYLLYFQIPETEAYEPELASELPSSEVADANY---VIRGELIAD 54

Query 94 GGIHYHILGFDKIVTNSATADYFGAGNKRISRTPHKVFYDVGKDDRLHEG 151
Sbjct 55 GGYTSHCLFDGKFRSSRDTPTDQGMHPTERVGRPTATANYTTLKNDHWVARGSEYS 114

Query 152 -PPAD---ARSDGDNKHWADISCDPKESFLSARQAPRNMLNQRILYEVAN 206
Sbjct 115 GPFENNSRERSGDNDSSDMATLGRSDEFTDLCKSGPRLACSLYVAVRMDVRY 174

Query 207 PDEKVEYAP 216
Sbjct 175 REVVTFYQH 184

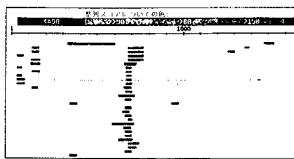
>>>sptrembl:TIYQ5_9VIRU Tlyq5 SubName: 全長+複製関連タンパク質 (ゲミサーニューウイルス) 10, 4/2014 長さ=324

スコア = 85.5 ビット (210), 予測 = 2e-14, 方法: 適合マトリックス調整.
同一性 = 50/153 (32%), 類似性 = 75/153 (49%),ギャップ = 2/153 (1%)

Query 81 PCCRLGRNRHSDGGIHYILGFDKIVTNSATADYFGAGNKRISRTPHKVFYDVG 140
Sbjct 35 PACCITGRNAGDGGILHAFCDQDFRFDIENRNFQDINRPFQDFWHPAPCCQKMDVAT 95

【図4-2】

Blastn - Geall:



Blastn results for query 329 and subject 1356, including alignment scores and sequence details.

Blastn results for query 680 and subject 1248, including alignment scores and sequence details.

【図4-4】

Blastn results for query 311 and subject 326, including alignment scores and sequence details.

Blastn results for query 311 and subject 326, including alignment scores and sequence details.

ProtSweep

Results for /home/vlr/098/cindou/teskcomp1/MSST1.162_321.pop

ProtSweep analysis interface showing search parameters, results, and taxonomic classification.

Table with columns for accession number, name, description, and evidence for the identified sequence.

【図4-3】

ORF321aa

BlastP - Uniprot:



BlastP results for query 9 and subject 12, including alignment scores and sequence details.

BlastP results for query 9 and subject 12, including alignment scores and sequence details.

【図5-1】

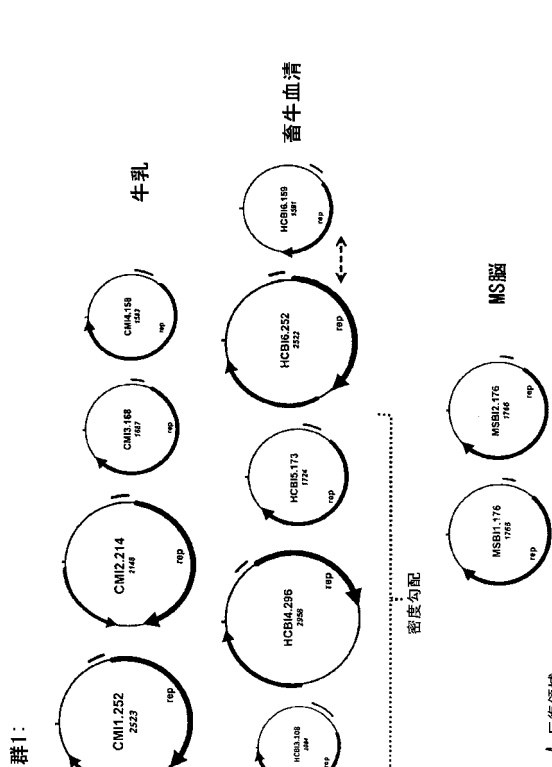


Figure 5

1 - 反復領域

【 図 1 1 】

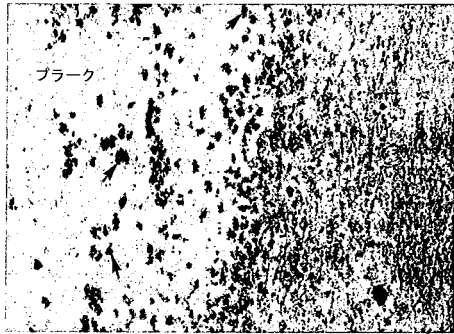


Figure 11

【 図 1 3 】

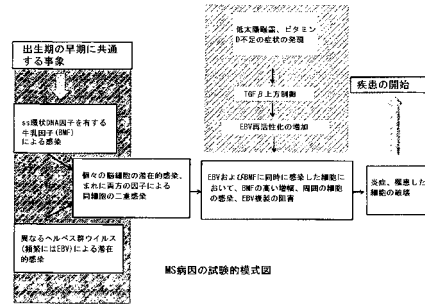


Fig. 13

【 図 1 2 】

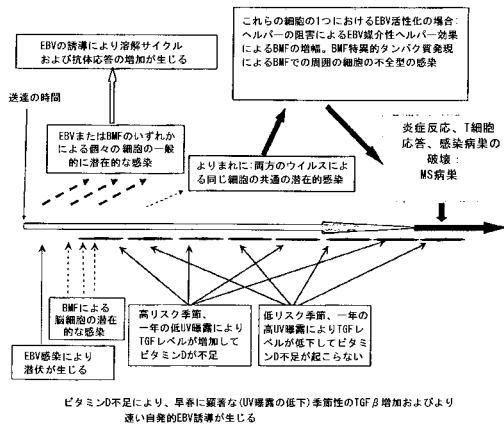


Figure 12

【 配 列 表 】

2019141042000001 .app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
C 1 2 N	1/15 (2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 N	1/19 (2006.01)	C 1 2 N	1/15	
C 1 2 N	1/21 (2006.01)	C 1 2 N	1/19	
C 1 2 N	5/10 (2006.01)	C 1 2 N	1/21	
A 6 1 K	39/00 (2006.01)	C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	39/00	H
A 6 1 P	21/02 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	
A 6 1 P	25/00 (2006.01)	A 6 1 P	21/02	
A 6 1 P	25/16 (2006.01)	A 6 1 P	25/00	
A 6 1 P	25/28 (2006.01)	A 6 1 P	25/16	
A 6 1 P	31/10 (2006.01)	A 6 1 P	25/28	
A 6 1 P	35/00 (2006.01)	A 6 1 P	31/10	
C 0 7 K	16/18 (2006.01)	A 6 1 P	35/00	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 0 7 K	16/18	
		C 1 2 N	15/113	Z

(72)発明者 ツール ハウゼン, ハラルト
ドイツ連邦共和国 ヴァルト - ミッヒェルハウゼン 6 9 4 8 3 アイヒェンシュトラッセ 1

(72)発明者 グンスト, カリン
ドイツ連邦共和国 ヒルシュベルク 6 9 4 9 3 オーベルガッセ 2

(72)発明者 ウィトレイ, コリンナ
ドイツ連邦共和国 フィールハイム 6 8 5 1 9 アブタイシュトラッセ 6

(72)発明者 ベレツ, イランツ ランベルト
ドイツ連邦共和国 ハイデルベルク 6 9 1 2 0 グンドルフシュトラッセ 7

F ターム(参考) 4B063 QA01 QA18 QQ02 QQ42 QQ52 QR55 QR60 QR62 QS25 QS34
4B065 AB01 BA02 CA23 CA44
4C084 AA13 NA14 ZA022 ZA162 ZA942 ZB262 ZC352
4C085 AA03 CC21 EE01 GG01
4H045 AA10 AA11 AA30 CA45 DA75 DA76 EA50 EA51 FA74

专利名称(译)	hcbi , msbi , mssi和cmi序列是CNS癌症和疾病未来发展的早期标记 , 并且是治疗和预防这些疾病的靶标		
公开(公告)号	JP2019141042A	公开(公告)日	2019-08-29
申请号	JP2019033853	申请日	2019-02-27
[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)	德意志克雷布斯文件夹顺箱曾托时间		
[标]发明人	デヴィリアースツールハウゼン ツールハウゼンハラルト グンストカリン ウイトレイコリンナ ペレツイランツランベルト		
发明人	デ ヴィリアース-ツール ハウゼン ツール ハウゼン,ハラルト グンスト,カリン ウイトレイ,コリンナ ペレツ,イランツ ランベルト		
IPC分类号	C12N15/12 G01N33/53 C07K14/47 C12Q1/6876 C12N15/63 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K39/00 A61K48/00 A61P21/02 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/28 A61P31/10 A61P35/00 C07K16/18 C12N15/113		
CPC分类号	A61P3/10 A61P21/02 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/28 A61P31/10 A61P35/00 C12Q1/6883 C12Q1/701 A61K39/0007 A61K39/0011 C07K14/47 C07K16/18 C12N15/113 C12N2310/11 C12Q1/6886 C12Q2600/158 G01N33/6893 G01N33/6896		
FI分类号	C12N15/12.ZNA G01N33/53.M G01N33/53.D C07K14/47 C12Q1/6876.Z C12N15/63.Z C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 A61K39/00.H A61K48/00 A61P21/02 A61P25/00 A61P25/16 A61P25/28 A61P31/10 A61P35/00 C07K16/18 C12N15/113.Z		
F-TERM分类号	4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR55 4B063/QR60 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS34 4B065/AB01 4B065/BA02 4B065/CA23 4B065/CA44 4C084/AA13 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZA162 4C084/ZA942 4C084/ZB262 4C084/ZC352 4C085/AA03 4C085/CC21 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/CA45 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/EA50 4H045/EA51 4H045/FA74		
优先权	2014176624 2014-07-10 EP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

提供HCBI , MSBI , MSSI和CMI序列作为CNS的癌症和疾病的未来发展的早期标记 , 并作为治疗和预防这些疾病的靶标。解决方案 : 本发明涉及寡核苷酸引物和寡核苷酸探针 , 其包含MSBI1.176或MSBI2.176多核酸的一部分 , 引物和探针序列用于对包含核苷酸序列的某些分离物的核酸进行特异性测序或特异性扩增。本发明进一步涉及包含表达载体的宿主细胞 , 所述表达载体包含MSBI1.176或MSBI2.176多核酸 , 并且涉及由宿主细胞产生的抗体的用途。

(5) Int. Cl.	F I	審査請求	有	請求項の数	12	OL	(全 73 頁)	最終頁に続く
C 1 2 N 15/12 (2006.01)	C 1 2 N 15/12	Z N A						テーマコード (参考)
G O 1 N 33/63 (2006.01)	G O 1 N 33/53	M						4 B 0 6 3
C O 7 K 14/47 (2006.01)	G O 1 N 33/53	D						4 B 0 6 5
C 1 2 Q 1/6876 (2018.01)	C O 7 K 14/47							4 C 0 8 4
C 1 2 N 15/63 (2006.01)	C 1 2 Q 1/6876	Z						4 C 0 8 5
								4 H 0 4 5

(21) 出願番号	特願2019-33853 (P2019-33853)	(71) 出願人	500030655
(22) 出願日	平成31年2月27日 (2019.2.27)		ドイツエス クレプスフォルシュングスツ
(62) 分割の表示	特願2017-500995 (P2017-500995) の分割		ェントルム
原出願日	平成27年7月9日 (2015.7.9)		ドイツ連邦共和国 ハイデルベルク デー
(31) 優先権主張番号	14176624.6		-69120 イム ノイエンハイマー
(32) 優先日	平成26年7月10日 (2014.7.10)	(74) 代理人	フェルト 280
(33) 優先権主張国・地域又は機関	欧州特許庁 (EP)		100095832
(特許庁注：以下のものは登録商標)			弁理士 相田 芳徳
I. T W E E N		(72) 発明者	デ ヴィリアースーツール ハウゼン
			ドイツ連邦共和国 ヴァルトーミッヒェル
			バッハ 69483 アイヒェンシュトラ
			ーセ 1

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌およびCNSの疾患の将来の発症のための早期マーカー、ならびにこれらの疾患の治療および予防のための標的としてのHCB1、MSB1、MSS1およびCMI配列