

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2014-505016

(P2014-505016A)

(43) 公表日 平成26年2月27日(2014.2.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
CO7K 14/315 (2006.01)	CO7K 14/315 ZNA	2G045
CO7K 14/195 (2006.01)	CO7K 14/195	4C084
CO7K 14/31 (2006.01)	CO7K 14/31	4C085
CO7K 14/33 (2006.01)	CO7K 14/33	4H045
CO7K 16/12 (2006.01)	CO7K 16/12	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 16 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2013-537136 (P2013-537136)	(71) 出願人	511268085 ユニベルシタットスクリニックム フライベルク
(86) (22) 出願日	平成23年11月3日 (2011.11.3)		
(85) 翻訳文提出日	平成25年5月7日 (2013.5.7)		
(86) 国際出願番号	PCT/EP2011/069363		ドイツ, 79106 フライベルク, フーグシュテッター エスティアーール. 49
(87) 国際公開番号	W02012/059556	(74) 代理人	100088904 弁理士 庄司 隆
(87) 国際公開日	平成24年5月10日 (2012.5.10)		
(31) 優先権主張番号	10190167.6	(74) 代理人	100124453 弁理士 資延 由利子
(32) 優先日	平成22年11月5日 (2010.11.5)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)	(74) 代理人	100135208 弁理士 大杉 卓也
		(74) 代理人	100152319 弁理士 曾我 亜紀
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 腸球菌病原体の新規の抗原、並びに治療法及び／又は予防法のためのワクチン成分としてのその使用

(57) 【要約】

本発明は抗原、より具体的には治療法及び／又は予防法のためのワクチン成分として有用な腸球菌病原体のタンパク質抗原に関する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

疾患の治療に使用される単離ペプチドであって、

- a) 配列番号 1 による O r f 1 3 配列を含むタンパク質、
- b) 前記タンパク質とアミノ酸レベルで少なくとも 80% 同一な O r f 1 3 の相同体、
- c) a) 又は b) に記載の前記タンパク質に由来する免疫原性ペプチド、及び、
- d) a) ~ c) のいずれかに特異的に結合する抗体又はその断片、

から選択される、単離ペプチド。

【請求項 2】

チャンネル形成成分である、請求項 1 に記載のペプチド。

10

【請求項 3】

前記抗体又はその断片がモノクローナル抗体、s c F V 断片及び F a b 断片から選択される、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 4】

前記 O r f 1 3 の相同体がエンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・フェカリス、スタフィロコッカス・アウレウス、コアグラエゼ陰性ブドウ球菌、リステリア又はクロストリジウムの抗生物質耐性株から単離されるプラスミドによってコードされる、請求項 1 に記載のペプチド。

【請求項 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載のペプチドと、薬学的に許容可能な担体、アジュバント及び / 又は希釈剤とを含む医薬組成物。

20

【請求項 6】

ワクチンである、請求項 5 に記載の医薬組成物。

【請求項 7】

少なくとも 1 つのサイトカインを更に含む、請求項 5 又は 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 8】

ワクチンが筋肉内経路、皮下経路又は吸入経路による投与のために配合される、請求項 5 又は 6 に記載の医薬組成物。

【請求項 9】

細菌によって引き起こされる疾患又は病態、例えば細菌感染症、腸球菌感染症、尿路感染症、菌血症、細菌性心内膜炎、腹膜炎、創傷感染症及び軟部組織感染症、並びに髄膜炎、又は肺炎等の予防的治療又は治療的治療のための、請求項 1 ~ 8 のいずれか一項に記載のペプチド又は医薬組成物。

30

【請求項 10】

前記細菌が腸球菌、ブドウ球菌又は連鎖球菌、例えばエンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・フェカリス、スタフィロコッカス・アウレウス、コアグラエゼ陰性ブドウ球菌若しくはストレプトコッカス・ピオゲネス等、又はそれらの抗生物質耐性株から選択される、請求項 9 に記載のペプチド又は医薬組成物。

【請求項 11】

サンプルにおける請求項 1 に記載の O r f 1 3 抗原の存在を検出する診断アッセイであって、

40

a) 請求項 1 に記載の抗体又はその断片と、O r f 1 3 を含有すると推測されるサンプルとを混合する工程と、

b) 前記サンプルにおける前記 O r f 1 3 抗原と前記抗体又はその断片との結合について混合物をモニタリングする工程と、

を含む、診断アッセイ。

【請求項 12】

前記抗体又はその断片を固体マトリクスに固定化する、請求項 11 に記載の診断アッセイ。

【請求項 13】

50

抗菌物質をスクリーニングする方法であって、

a) 請求項 1 に記載の単離ペプチドと、抗菌物質を含有すると推測されるサンプルとを混合する工程と、

b) 前記単離ペプチドと抗菌候補物質との結合について混合物をモニタリングする工程と、

を含む、方法。

【請求項 1 4】

Orf 13 によるチャネル形成に対する前記抗菌候補物質の効果を判定する工程を更に含む、請求項 1 3 に記載の抗菌物質をスクリーニングする方法。

10

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は抗原、より具体的には治療法及び/又は予防法のためのワクチン成分として有用な腸球菌病原体のタンパク質抗原に関する。

【背景技術】

【0002】

腸球菌は入院患者の感染症に関連する最も重要な病原体の一つである。とりわけ、最も臨床的に関連する分離株における多抗生物質耐性決定因子 (multiple antibiotic resistance determinants) の存在は、場合によっては治療不可能なこれらの感染症に対抗する代替的な治療戦略及び予防戦略の開発を促している。腸球菌は DNA を獲得し、水平に伝達する特異的機構を発現しており、これらの特性は病院内での多数の集団発生 (outbreaks) の原因となる。

20

【0003】

細菌接合は、抗生物質耐性遺伝子の伝播を含む、細菌の環境条件の変化への適応を可能にする最も重要な遺伝子送達手段であり、それにより多抗生物質耐性病原体が発生する。エンテロコッカス・フェカリス (Enterococcus faecalis)、エンテロコッカス・フェシウム (Enterococcus faecium)、シュードモナス・エルジノーサ (Pseudomonas aeruginosa)、ストレプトコッカス・ニューモニエ (Streptococcus pneumoniae) 及びスタフィロコッカス・アウレウス (Staphylococcus aureus) 等の多剤耐性病原体は、入院患者及び免疫抑制患者の抗生物質治療に対して深刻な脅威となっている (非特許文献 1)。

30

【0004】

細菌接合系は、細菌性病原体から哺乳動物宿主へのタンパク質 (例えば毒性因子、毒素) の輸送を専門とする特殊化したタイプの IV 型分泌系 (T4SS) である。接合性 T4SS は、タンパク質に加えて DNA 基質を細胞内輸送するよう進化している (非特許文献 2、非特許文献 1)。

【0005】

pIP501 は、敗血症及び髄膜炎の原因物質である、ヒト病原体ストレプトコッカス・アガラクティエ (Streptococcus agalactiae) から初めて単離された広宿主域接合性プラスミドである (非特許文献 3)。pIP501 は、糸状多細胞ストレプトミセス及びグラム陰性エシェリヒア・コリ (Escherichia coli) にまで及ぶ、研究されているほぼ全てのグラム陽性菌を含むグラム陽性菌に由来する任意の既知の可動遺伝要素の接合性プラスミド導入について最も広い宿主域を示す (非特許文献 4)。プラスミド導入には、15 個の輸送タンパク質をコードする完全な T4SS を含む、プラスミドにコードされる 15 kb の導入領域が必要とされる。これらのタンパク質の幾つかは、酵素について幾らか詳しく特性化されており、例えば T4SS ATPアーゼ Orf 5 及び Orf 10 は ATP の加水分解による DNA 輸送過程のエネルギーを供給する。

40

【0006】

Orf 7 タンパク質は、グラム陽性エンテロコッカス・フェカリス (E. faecalis) 及びグラム陰性エシェリヒア・コリ (E. coli) から単離された、ペプチドグリカンに対す

50

る切断活性を有する溶菌性トランスグリコシラーゼであることが実証されている。

【0007】

完全なタンパク質間相互作用図が、酵母ツーハイブリッドアッセイ及びプルダウンによって、15個のT4SSタンパク質について確立されている。これらのデータに基づいて、グラム陽性病原体に由来するT4SSの最初の分子モデルが開発された（非特許文献5）。

【0008】

T4SSタンパク質は、導入過程におけるそれらの機能に関してエネルギー供給ファミリー、チャンネル成分ファミリー、及び推定表面タンパク質又は付着因子という3つのファミリーに分けることができる（非特許文献6）。Orf5及びOrf10はエネルギー成分ファミリーのメンバーであり、Orf15は表面タンパク質ファミリーの推定メンバーであり、溶菌性トランスグリコシラーゼOrf7及びOrf13はチャンネル成分ファミリーに属する。

10

【0009】

Orf13については、アグロバクテリウム・ツメファシエンス (*Agrobacterium tumefaciens*) のT-DNA導入系のT4SSサブユニットVirB8及びVirB10について示されているように、膜から遠位に伸びるT4SSチャンネルの一部に対する足場機能が提唱されている（非特許文献6）。Orf13は1つの予測膜貫通ヘリックスを有する（非特許文献7）。エンテロコッカス・フェカリスのJH2-2細胞画分中では、Orf13は抗Orf13抗体による免疫プロット法を用いて細胞エンベロープに位置付けられた。他のT4SSタンパク質とのタンパク質間相互作用は同定することができなかった。

20

【0010】

特許文献1は、T4SSと相互作用するポリペプチド、特にリケッチア・シビリカ (*Rickettsia sibirica*) r s i b _ o r f . 1 2 6 6 ポリペプチドをコードする単離核酸を記載している。

【0011】

腸球菌によって引き起こされる感染症が世界的にますます重大な問題となっているため、これらの病原体に対する新たな治療戦略の開発に多大な労力が費やされている。腸球菌に対するヒト免疫系の主要な保護防御機構は貪食であり、これは或る特定の腸球菌の表面構造の直接認識、又は抗体及び補体によるオプソニン化によって起こり得る。

30

【0012】

*in vitro*で免疫応答をシミュレートし、腸球菌の毒性因子を同定するためにオプソニン化貪食アッセイが用いられている。しかしながら、防御免疫応答を誘導する可能性をもたらすことができ、したがって有望なワクチン標的であり得る抗原は、これまでに数個しか同定されていない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【0013】

【特許文献1】米国特許出願公開第2005-026218号

【非特許文献】

40

【0014】

【非特許文献1】Grohmann 2006

【非特許文献2】Grohmann et al., 2003

【非特許文献3】Schaberg et al., 1982

【非特許文献4】Kurenbach et al., 2003

【非特許文献5】Abajy et al., 2007

【非特許文献6】Alvarez-Martinez and Christie, 2009

【非特許文献7】Abajy 2007

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

50

【 0 0 1 5 】

したがって、本発明の目的は細菌、特に腸球菌の能動免疫療法又は受動免疫療法のための新たな有望なワクチン標的を提供することである。本発明の別の目的は、上記標的をベースとする新規の有効なワクチンを提供することである。

【 課題を解決するための手段 】

【 0 0 1 6 】

その第1の態様によると、これらの目的は、疾患の治療に使用される単離ペプチドであって、a) 配列番号1によるOrf13配列を含むタンパク質、b) 上記タンパク質とアミノ酸レベルで少なくとも80%同一なOrf13の相同体、c) a) 又はb) に記載の上記タンパク質に由来する免疫原性ペプチド、及び、d) a) ~ c) のいずれかに特異的に結合する抗体又はその抗原断片から選択される、単離ペプチドを提供することによって本発明により解決される。

10

【 0 0 1 7 】

エンテロコッカス・フェカリスプラスミドpIP501から単離されるOrf13は、GenBankアクセッション番号AJ505823.1による以下のアミノ酸配列を有する：

MSYYFEIRIILPEEENQFLNRKLSKSELSEVTHYLQQKTS
 RGIPVKFRVGI FRVEDQTKIMSVTLNTKNTKETDVINLLL
 NRVT DQHVLVYLN EPT EPTLNTQELNRQELKTSNERQEIP
 QTEIPTETVNEPSVIKKISKKNQAKQTNSRKESLSESITK
 KNVPKIH LFI S I L T L F I V L L I G I S V I Q Q V Q L Q S V K K E S E L
 LEEQIERVKETDISQSKIDTFGRYFLTYYFSQEKNQENYQ
 SSLRTYVSEKVDISDWKALGKTLKSVNYYGSEQTKKGYSV
 EYLLNVSDNRSKMQKITFEVEPTKNGFLVTTQPKLTD FS
 FN (配列番号1)

20

【 0 0 1 8 】

加えて、Orf13相同体が以下のように、2つのエンテロコッカス・フェシウム (*E. faecium*) 株：E1679 (カテーテル先端分離株) 及びエンテロコッカス・フェシウム (正：*E. faecium*) プラスミドpVEF3 (タンパク質p51)、5つのエンテロコッカス・フェカリス株：HIP11704 (無名のプラスミド)、エンテロコッカス・フェカリスDS5 (無名のプラスミド)、エンテロコッカス・フェカリスRE25 (プラスミドpRE25、pIP501とほぼ同一のT4SS)、エンテロコッカス・フェカリスDS5 (プラスミドpAM1)、及びエンテロコッカス・フェカリスADM24818、並びに1つのストレプトコッカス・ピオゲネス (*S. pyogenes*) 株 (プラスミドpSM19035) で同定されている。

30

【 0 0 1 9 】

【表 1】

Bacterial strain 細菌株	Isolate/note/ref. 分離株/備考/参照	Acc. No. (as of November 1, 2010) アクセション番号 (2010年 11月1日時点)
<i>E. faecium</i> エンテロコッカス・フェシウム	strain E1679; catheter tip isolate E1679株 カテーテル先端分離株	ZP_06698913.1
<i>E. faecium</i>	plasmid pVEF3; protein p51	YP_001974820.1
<i>E. faecalis</i> エンテロコッカス・フェカリス	HIP11704	ZP_05569726.1
<i>E. faecalis</i>	DS5	ZP_05563503.1
<i>E. faecalis</i>	RE25; pRE25, T4SS almost identical with pIP501 pIP501 とほぼ同一	YP_783921.1
<i>E. faecalis</i>	DS5; plasmid pAMbeta1	YP_003305375.1
<i>E. faecalis</i>	ADM24818; Zhu et al., 2010	ADM24818.1
<i>S. pyogenes</i> ストレプトコッカス・ピオゲネス	plasmid pSM19035	YP_232773.1

10

【0020】

したがって、ORF13は例えばエンテロコッカス・フェカリス株及びエンテロコッカス・フェシウム株等の幾つかの病原性細菌に存在すると考えられるため、例えば腸球菌の能動免疫療法又は受動免疫療法のための有望なワクチン標的である。

20

【0021】

細菌の毒性因子に対する免疫原性及び防御効率の有効な分析に適切な動物モデルは存在しないため、代わりにオプソニン化貪食アッセイが、哺乳動物の *in vivo* 免疫応答を *in vitro* でシミュレートし、例えば有効な抗細菌ワクチンとすることのできる腸球菌の毒性因子を同定するために用いられる (Markus Hufnagel, Steffi Koch, Andrea Kropec, Johannes Huebner: Opsonophagocytic assay as a potentially useful tool for assessing safety of enterococcal preparations. International Journal of Food Microbiology 88 (2003) 263-267)。

【0022】

Orf13については、アグロバクテリウム・ツメファシエンスの T-DNA 導入系の T4SS サブユニット VirB8 及び VirB10 について示されているように、膜から遠位に伸びる T4SS チャネルの一部に対する足場機能が提唱されている (非特許文献6)。Orf13は1つの予測膜貫通ヘリックスを有する (非特許文献7)。エンテロコッカス・フェカリスの JH2-2 細胞画分中では、Orf13は抗Orf13抗体による免疫プロット解析を用いて細胞エンベロープに位置付けられた。したがって、本発明によるペプチドは好ましくはチャネル形成成分であり、T4SSチャネルの一部を構築する活性を有するのが好ましい。

30

【0023】

また、本発明の別の態様は、本発明との関連で疾患の治療に使用される Orf13 ペプチドのいずれかに特異的に結合する抗体又はその抗原断片に関する。上記抗体又はその抗原断片がモノクローナル抗体、scFV断片及びFab断片から選択される、本発明によるペプチドが好ましい。抗体は更にヒトの又はヒト化した抗体又は断片であってもよい。抗体を産生する方法は当業者に既知であり、それぞれの文献中に記載されている。

40

【0024】

本発明は、エンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・フェシウム、シュードモナス・エルジノーサ、ストレプトコッカス・ニューモニエ、スタフィロコッカス・アウレウス及びコアグラエゼ陰性ブドウ球菌、及びクロストリジウム、リステリア又はストレプトコッカス・ピオゲネスの株によって引き起こされる感染症等の細菌感染症、特に複数の抗生物質に対して耐性を示す株、例えば多剤耐性のエンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・フェシウム、シュードモナス・エルジノーサ、ストレプトコッカス・ニ

50

ューモニエ、スタフィロコッカス・アウレウス及びコアグラゼ陰性ブドウ球菌、及びクロストリジウム又はリステリアの株によって引き起こされる細菌感染症を治療するために新たな治療的アプローチを提供する。それぞれの多剤耐性株は文献中にも記載されている。したがって、本発明の更なる態様は、特に（正：particularly）かかる株の治療を提供することである。これに関連して、上記Orf13の相同体がエンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・フェカリス又はストレプトコッカス・ニューモニエ（正：S. pneumoniae）のかかる抗生物質耐性株から単離されたプラスミドによってコードされるのが特に好ましい。

【0025】

また、本発明の別の態様は、本発明によるペプチド（すなわち、配列番号1によるOrf13配列を含むタンパク質、上記タンパク質とアミノ酸レベルで少なくとも80%同一なOrf13の相同体、配列番号1による上記タンパク質若しくは上記相同体に由来する免疫原性ペプチド、又は配列番号1若しくは上記相同体のいずれかに特異的に結合する抗体若しくはその抗原断片の少なくとも1つ）と、薬学的に許容可能な担体、アジュバント及び/又は希釈剤とを含む医薬組成物に関する。好ましくは、上記医薬組成物は細菌感染症、特に腸球菌感染症の予防に効果的である。

【0026】

好ましくは、本発明による医薬組成物はワクチンである。このため、本発明の別の態様によると、本発明による1つ又は複数のペプチド（すなわち、配列番号1によるOrf13配列を含むタンパク質、上記タンパク質とアミノ酸レベルで少なくとも80%同一なOrf13の相同体、配列番号1による上記タンパク質若しくは上記相同体に由来する免疫原性ペプチド、又は配列番号1若しくは上記相同体のいずれかに特異的に結合する抗体若しくはその抗原断片の少なくとも1つ）を薬学的に許容可能な担体、希釈剤又はアジュバントと混合して含むワクチン組成物が提供される。薬学的に許容可能な担体には破傷風トキソイド又はジフテリアトキソイドも含まれる。本発明による医薬組成物は、少なくとも1つのサイトカインを更に含んでもよい。

【0027】

好適なアジュバントとしては油、すなわちフロイント完全アジュバント又はフロイント不完全アジュバント；塩、すなわちAlK(SO4)2、AlNa(SO4)2、AlNH4(SO4)2、シリカ、カオリン、炭素；ポリヌクレオチド、すなわちポリIC及びポリAUが挙げられる。好ましいアジュバントとしては、QuilA及びAlhydrogelが挙げられる。

【0028】

また、本発明の別の態様は、ペプチドが荚膜多糖類等の免疫担体（immunocarrier）に共有結合又はコンジュゲートした医薬組成物に関する。

【0029】

本発明のワクチンは、注射、急速注入、鼻咽頭吸収（nasopharyngeal absorption）、皮膚吸収（dermoabsorption）によって非経口投与するか、又は口腔（正：buccally）投与若しくは経口（正：orally）投与することができる。上記ワクチンは筋肉内経路、皮下経路又は吸入経路による投与のために配合することもできる。

【0030】

また、本発明の別の態様は、細菌によって引き起こされる疾患若しくは病態、及び/又は細菌感染症によって媒介される疾患及び症状、例えば腸球菌感染症、尿路感染症、菌血症、細菌性心内膜炎、腹膜炎、創傷感染症又は軟部組織感染症、肺炎及び髄膜炎等の予防的治療又は治療的治療のための本発明によるペプチド又は医薬組成物に関する。好ましくは、上記細菌は腸球菌、ブドウ球菌又は連鎖球菌、例えばエンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・フェカリス、スタフィロコッカス・アウレウス（S. aureus）又はストレプトコッカス・ピオゲネス等、特にそれらの抗生物質耐性株、更に好ましくは複数の抗生物質に対して耐性を示す株、例えば多剤耐性のエンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・フェシウム、シュードモナス・エルジノーサ、ストレプトコッカス・ニ

10

20

30

40

50

ューモニエ及びスタフィロコッカス・アウレウスから選択される。また、本発明の別の態様は、本明細書に記載の疾患又は病態の予防的治療又は治療的治療のための本発明によるペプチド又は医薬組成物の使用に関する。

【0031】

特に好ましい実施の形態では、細菌感染症、特に腸球菌感染症の危険性がある個体、例えば乳児、高齢者及び免疫不全者にワクチンを投与する。

【0032】

本願で使用される場合、「個体」という用語は哺乳動物を含む。更なる実施の形態では、哺乳動物はヒトである。

【0033】

ワクチン組成物は、好ましくは約0.001Pg/kg~100Pg/kg(ペプチド/体重)、より好ましくは0.01Pg/kg~10Pg/kg、最も好ましくは0.1Pg/kg~1Pg/kgの単位剤形で、免疫化間に約1週間~6週間の間隔をおいて1回~3回投与される。

【0034】

また、本発明の別の態様は本発明による医薬組成物、好ましくはワクチンを作製する方法であって、配列番号1によるOrf13配列を含むタンパク質、上記タンパク質とアミノ酸レベルで少なくとも80%同一なOrf13の相同体、配列番号1による上記タンパク質若しくは上記相同体に由来する免疫原性ペプチド、又は配列番号1若しくは上記相同体のいずれかに特異的に結合する抗体若しくはその抗原断片の少なくとも1つを、上記に記載の薬学的に許容可能な担体、希釈剤又はアジュバントと混合することを含む、方法に関する。

【0035】

また、本発明の別の態様は、個体における細菌によって引き起こされる疾患若しくは病態、及び/又は細菌感染症によって媒介される疾患及び症状、例えば細菌感染症、腸球菌感染症、尿路感染症、菌血症、細菌性心内膜炎、腹膜炎、創傷感染症及び軟部組織感染症、及び髄膜炎又は肺炎等の治療的治療又は予防的治療のための方法であって、上記個体に治療的又は予防的な量の本発明による医薬組成物、好ましくはワクチンを投与することを含む、方法に関する。好ましくは、上記疾患又は症状は腸球菌、ブドウ球菌又は連鎖球菌、例えばエンテロコッカス・フェシウム、エンテロコッカス・フェカリス、スタフィロコッカス・アウレウス又はストレプトコッカス・ピオゲネス等、特にそれらの抗生物質耐性株、更に好ましくは複数の抗生物質に対して耐性を示す株、例えば多剤耐性のエンテロコッカス・フェカリス、エンテロコッカス・フェシウム、シュードモナス・エルジノーサ、ストレプトコッカス・ニューモニエ及びスタフィロコッカス・アウレウス、又はコアグラゼ陰性ブドウ球菌から選択される細菌によって引き起こされる。

【0036】

また、本発明の別の態様は細菌感染症、特に腸球菌感染症に対する免疫応答を脊椎動物において誘導する方法であって、上記脊椎動物に免疫学的に有効な量の本発明による医薬組成物、好ましくはワクチンを投与することを含む、方法に関する。

【0037】

筋肉内に、皮下に、又は吸入によって治療的に有効な量の本発明による医薬組成物、好ましくはワクチンを上記脊椎動物に投与することを含む、本明細書に記載の治療及び/又は予防法のための方法が好ましい。

【0038】

個体の免疫系の活性を改善する付加的な抗生物質及び/又は調製物から選択される活性物質の投与を更に含む、本明細書に記載の治療及び/又は予防法のための方法が更に好ましい。

【0039】

また、本発明の別の態様は、抗菌物質をスクリーニングする方法であって、a)本発明による単離ペプチド(すなわち、配列番号1によるOrf13配列を含むタンパク質、上

10

20

30

40

50

記タンパク質とアミノ酸レベルで少なくとも80%同一なOrf13の相同体、配列番号1による上記タンパク質又は上記相同体に由来する免疫原性ペプチド)と、抗菌物質を含有すると推測されるサンプルとを混合する工程と、b)上記単離ペプチドと抗菌候補物質との結合について混合物をモニタリングする工程とを含む、方法に関する。

【0040】

抗菌物質を単離及び合成するための好ましい一戦略は、(例えば蛍光標識、酵素標識、質量標識(mass label)等を用いて)本発明による単離ペプチドを標識し、抗菌候補物質と上記ペプチドとの相互作用(例えば結合)による標識の変化を測定することである。別の代替形態は、例えばORF13のチャンネル形成活性を阻害するために使用され得る、ORF13に結合するペプチドを同定することができるファージディスプレイアッセイである。

10

【0041】

したがって、上記に記載のOrf13又はその相同体によるチャンネル形成に対する上記抗菌候補物質の効果を判定する工程を更に含む、本発明による抗菌物質をスクリーニングする方法が好ましい。

【0042】

また、本発明の更に別の態様は、サンプルにおける本発明によるOrf13ペプチド(抗原)又はその相同体(抗原)の存在を検出する診断アッセイであって、a)本発明による抗体又はその断片と、Orf13を含有すると推測されるサンプルとを混合する工程と、b)上記サンプルにおける上記Orf13抗原と上記抗体又はその断片との結合について混合物をモニタリングする工程とを含む、診断アッセイに関する。

20

【0043】

上記抗体又はその断片を固体マトリクスに固定化する、本発明による診断アッセイが好ましい。抗体若しくはその断片、又はOrf13ペプチド(抗原)若しくはその相同体(抗原)の両方又は一方を、(例えば蛍光標識、酵素標識、質量標識等を用いて)診断のために標識することができる。

【0044】

多耐性グラム陽性菌は、世界的に院内における継続的で高まりつつある脅威となっている。複雑な機構によってこれらの病原体が遺伝情報を交換することが可能となり、とりわけ耐性決定因子の分布が、それらの院内集団発生及び地方的な蔓延を引き起こす傾向につながる。本発明で提示したように、遺伝子交換に関与する非常に重要な要因の1つである、いわゆるIV型分泌系の特異的タンパク質は、多くの場合に治療不可能なこれらの感染症に対抗するために現在利用することのできる弱点である。

30

【0045】

原型的なグラム陽性IV型分泌系はプラスミドpIP501上に存在し、導入領域の幾つかのタンパク質がエシェリヒア・コリにおいて発現されている。ウサギ血清をATPアーゼ及び推定チャンネル成分をコードする2つのタンパク質、すなわちORF10及びORF13に対して産生させた。このウサギ血清をオブソニン化貪食アッセイに使用したが、ORF13に対して産生させた血清は、10倍の希釈率で相同株に対して99.2%の致死を示した。漸増量の精製タンパク質による血清の吸着を用いると、この致死を最大44.5%まで阻害することができた。種々の種に由来する株のより大きなコレクションの試験から、1つのバンコマイシン耐性スタフィロコッカス・アウレウス株及びUSA300 CA-MRSAを含む、2/2(100%)のエンテロコッカス・フェカリス、2/4(50%)のエンテロコッカス・フェシウム、及び5/5(100%)のスタフィロコッカス・アウレウスが、抗ORF13によって10倍の希釈率で効果的に死滅することが明らかとなった。ウエスタンプロット分析によって、試験した3つのうち2つのエンテロコッカス・フェカリス株、4つのうち3つのエンテロコッカス・フェシウム株、及び5つ全てのスタフィロコッカス・アウレウス株のそれぞれにおける交差反応性タンパク質バンドが実証され、これにより上記株における同様の状況が示される。相同株エンテロコッカス・フェカリスJH2-2pIP501(Orf13タンパク質を発現する)は、37.5

40

50

k D a にバンドを示した。対照株とは異なり、全てのスタフィロコッカス・アウレウス株が 5 0 k D a にバンドを示し、他の腸球菌株は 5 5 k D a のバンドを示した。マウス菌血症モデルを用いた場合、O R F 1 0 に対する抗血清を与え、相同エンテロコッカス・フェカリス（正：E. faecalis）、並びにエンテロコッカス・フェシウム及び C A - M R S A 株でチャレンジした動物と比較して、抗 O R F 1 3 を与えた動物においてコロニー数の顕著な減少が見られた。これらのデータから、O R F 1 3 がオプソニン抗原及び防御抗原の標的であり、したがって多耐性グラム陽性病原体を標的とする広く交差防御性の有望なワクチン候補となることが実証される。

【 0 0 4 6 】

他に規定のない限り、本明細書中で使用される全ての技術用語及び科学用語は、本発明が属する技術分野の当業者に一般に理解されるものと同じ意味を有する。本明細書中で言及される全ての刊行物、特許出願、特許及び他の参照文献は、その全体が引用することにより本明細書の一部をなすものとする。抵触の場合には、定義を含む本明細書が優先される。加えて、材料、方法及び実施例は例示にすぎず、限定を意図するものではない。

【 図面の簡単な説明 】

【 0 0 4 7 】

【 図 1 】 下記実施例によるオプソニン化貪食アッセイの結果を示す図である。白色のバー：O R F 1 3 に対して産生させた未吸着の血清；黒色のバー：精製 O R F 1 3 タンパク質で吸着させた抗 O R F 1 3 血清。図面訳 % Killing 致死率 (%) anti-Orf13 抗 O r f 1 3

【 0 0 4 8 】

配列番号 1 は、GenBank アクセッション番号 A J 5 0 5 8 2 3 . 1 による、エンテロコッカス・フェカリスプラスミド p I P 5 0 1 から単離された O r f 1 3 のアミノ酸配列を示す。

【 発明を実施するための形態 】

【 実施例 】

【 0 0 4 9 】

材料及び方法：

O r f 1 3 は 3 2 2 個のアミノ酸からなり（分子量 3 7 4 7 9 . 7 6 D a ）、p I は 8 . 8 6 である。o r f 1 3 を、アミノ末端 7 × H i s タグを有するエシェリヒア・コリ発現ベクターにクローニングし（非特許文献 5 ）、過剰発現させ、アフィニティークロマトグラフィーによって精製した（Goessweiner-Mohr, N., Grohmann, E., and Keller, W., 未発表データ）。精製タンパク質を使用してウサギを免疫化した。O R F 7 及び O R F 1 0 に対して同様に（正：similarly）調製した血清を対照として使用した。

【 0 0 5 0 】

高度免疫ウサギ血清を、ヒトボランティアから調製した白血球、及び補体源として仔ウサギ血清を用いてオプソニン化貪食アッセイによって検査した（Theilacker et al. Mol Microbiol 2009）。未希釈の血清を使用する場合、抗 O R F 7 血清を用いると 3 7 . 7 % の致死が見られ、抗 O R F 8 血清及び抗 O R F 1 1 血清を用いると致死は見られなかった。しかしながら、O R F 1 3 に対する血清は 8 2 . 9 % の致死をもたらした。エンテロコッカス・フェカリス 9 型を対照として使用する場合（この株は T 4 S S を含有しないことが既知であるため）、抗 O R F 1 3 血清を用いても僅か 1 4 % の致死しか観察されなかった。

【 0 0 5 1 】

特異性を確認するために、1 0 倍の血清希釈率を用い、様々な量の精製抗原を特異的阻害剤として使用した。1 0 0 u g の精製タンパク質による抗 O R F 1 3 血清の前吸着（Preabsorption）は 4 5 % の阻害をもたらしたが、より少量の阻害タンパク質は、より低い致死の阻害をもたらした（図 1 を参照されたい）。これらのデータから、O R F 1 3 がオプソニン抗体の標的であり、この精製タンパク質による吸着によって O R F 1 3 に対して産生させた高度免疫血清の致死能を排除可能であることが確認される。

【 0 0 5 2 】

加えて、O r f 1 3 は、2つのエンテロコッカス・フェシウム株：E 1 6 7 9（カテーテル先端分離株）及びエンテロコッカス・フェシウムプラスミド p V E F 3（タンパク質 p 5 1）、5つのエンテロコッカス・フェカリス株：H I P 1 1 7 0 4（無名のプラスミド）、エンテロコッカス・フェカリス D S 5（無名のプラスミド）、エンテロコッカス・フェカリス R E 2 5（プラスミド p R E 2 5、p I P 5 0 1 とほぼ同一の T 4 S S）、エンテロコッカス・フェカリス D S 5（プラスミド p A M 1）、並びに1つのストレプトコッカス・ピオゲネス株（プラスミド p S M 1 9 0 3 5）に相同体を有する（上記も参照されたい）。したがって、O R F 1 3 は幾つかのエンテロコッカス・フェカリス株及びエンテロコッカス・フェシウム株に存在すると考えられるため、例えば腸球菌等の病原性細菌の能動免疫療法又は受動免疫療法のための有望なワクチン標的である。

10

【 0 0 5 3 】

引用文献

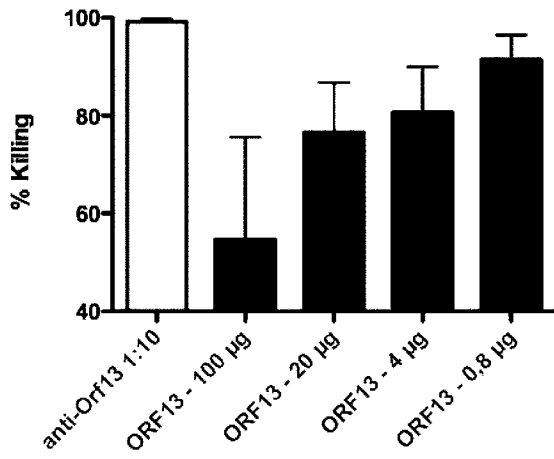
1. Abajy, M. Y. Molekularbiologische und biochemische Untersuchungen zum Typ IV Sekretion-ähnlichen System (T4SLS) des konjugativen Antibiotikaresistenzplasmids pIP501 in *Enterococcus faecalis*. (2007). PhD Thesis, TU Berlin, Berlin.
2. Abajy, M. Y., Kopec, J., Schiwon, K., Burzynski, M., Doering, M., Bohn, C., and Grohmann, E. (2007). A type IV-secretion-like system (T4SLS) is required for conjugative DNA transport of plasmid pIP501 with broad host range in Gram-positive bacteria. *J. Bacteriol.* 189: 2487-2496.
3. Alvarez-Martinez, C. E., and Christie, P. J. (2009). Biological diversity of prokaryotic type IV secretion systems. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 73: 775-808.
4. Grohmann, E., Muth, G., and Espinosa, M. (2003). Conjugative plasmid transfer in Gram-positive bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67: 277-301.
5. Grohmann, E. (2006). Mating cell-cell channels in conjugating bacteria. In *Cell-Cell Channels* (eds. Baluska, F., Volkmann, D., and Barlow, P.W.), Landes Biosciences, Georgetown, Texas, pp. 21-38. ISBN: 1-58706-065-5.
6. Kurenbach, B., Bohn, C., Prabhu, J., Abudukerim, M., Szewzyk, U., and Grohmann, E. (2003). Intergeneric transfer of the *Enterococcus faecalis* plasmid pIP501 to *Escherichia coli* and *Streptomyces lividans* and sequence analysis of its *tra* region. *Plasmid* 50: 86-93.
7. Schaberg, D.R., Clewell, D. B., and Glatzer, L. 1982. Conjugative transfer of R-plasmids from *Streptococcus faecalis* to *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 22:204-207.
8. Zhu, W., Murray, P.R., Huskins, W.C., Jernigan, J.A., McDonald, L.C., Clark, N.C., Anderson, K.F., McDougal, L.K., Hageman, J.C., Olsen-Rasmussen, M., Frace, M., Alangaden, G.J., Chenoweth, C., Zervos, M.J., Robinson-Dunn, B., Schreckenberger, P.C., Reller, L.B., Rudrik, J.T. and Patel, J.B. Dissemination of an *Enterococcus* Inc18-Like *vanA* Plasmid Associated with Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 54 (10), 4314-4320 (2010).
9. Theilacker C, Sanchez-Carballo P, Toma I, Fabretti F, Sava I, Kropec A, Holst O, Huebner J. Glycolipids are involved in biofilm accumulation and prolonged bacteraemia in *Enterococcus faecalis*. *Mol Microbiol.* 2009 Feb;71(4):1055-69.

20

30

40

【 図 1 】



【 配列表 】

2014505016000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2011/069363

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
INV. A61K39/02	A61K48/00	C07K14/315 C07K16/12 G01N33/15
ADD.		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) A61K C07K G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, Sequence Search, BIOSIS, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE UniProt [Online]</p> <p>1 October 2002 (2002-10-01), "SubName: Full=Putative uncharacterized protein;", XP002622147, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:Q8L1C7 Database accession no. Q8L1C7 the whole document & THOMPSON J K ET AL: "Completed sequence of plasmid pIP501 and origin of spontaneous deletion derivatives.", July 2003 (2003-07), PLASMID, VOL. 50, NR. 1, PAGE(S) 28-35 ISSN: 0147-619X</p> <p style="text-align: center;">----- -/--</p>	1-14
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
6 February 2012		24/02/2012
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Turri, Matteo

2

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2011/069363

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>DATABASE UniProt [Online]</p> <p>22 July 2008 (2008-07-22), "SubName: Full=Putative uncharacterized protein;", XP002668836, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:B3CKD6 Database accession no. B3CKD6 & SLETVOLD H ET AL: "Complete sequence of Enterococcus faecium pVEF3 and the detection of an omega-epsilon-zeta toxin-antitoxin module and an ABC transporter", PLASMID, NEW YORK, NY, US, vol. 60, no. 1, 1 July 2008 (2008-07-01), pages 75-85, XP022707794, ISSN: 0147-619X, DOI: 10.1016/J.PLASMID.2008.04.002 [retrieved on 2008-06-03]</p>	1-14
A	<p>-----</p> <p>DATABASE UniProt [Online]</p> <p>1 June 2001 (2001-06-01), "SubName: Full=Putative uncharacterized protein;", XP002668837, retrieved from EBI accession no. UNIPROT:Q9AL06 Database accession no. Q9AL06 the whole document & Franziska V. Schwarz ET AL: "Sequence of the 50-kb Conjugative Multiresistance Plasmid pRE25 from Enterococcus faecalis RE25", Plasmid, vol. 46, no. 3, 1 November 2001 (2001-11-01), pages 170-187, XP55018473, ISSN: 0147-619X, DOI: 10.1006/plas.2001.1544</p>	1-14
A	<p>-----</p> <p>ABAJY MOHAMMAD Y ET AL: "A type IV-secretion-like system is required for conjugative DNA transport of broad-host-range plasmid pIP501 in gram-positive bacteria", JOURNAL OF BACTERIOLOGY, vol. 189, no. 6, March 2007 (2007-03), pages 2487-2496, XP002622148, ISSN: 0021-9193</p> <p>-----</p> <p style="text-align: center;">-/--</p>	1-14

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/069363

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ROMERO-STEINER SANDRA ET AL: "Use of opsonophagocytosis for serological evaluation of pneumococcal vaccines", CLINICAL AND VACCINE IMMUNOLOGY, vol. 13, no. 2, February 2006 (2006-02), pages 165-169, XP002622149, ISSN: 1556-6811 -----	1-14

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード(参考)
A 6 1 K	38/00 (2006.01)	A 6 1 K	37/02	
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	R
A 6 1 K	39/02 (2006.01)	A 6 1 K	39/02	
A 6 1 P	31/04 (2006.01)	A 6 1 P	31/04	
A 6 1 P	1/00 (2006.01)	A 6 1 P	1/00	
A 6 1 P	13/02 (2006.01)	A 6 1 P	13/02	
A 6 1 P	7/00 (2006.01)	A 6 1 P	7/00	
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 P	17/00 (2006.01)	A 6 1 P	17/00	1 0 1
A 6 1 P	11/00 (2006.01)	A 6 1 P	11/00	
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
G 0 1 N	33/15 (2006.01)	G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	33/50 (2006.01)	G 0 1 N	33/50	Z
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	G 0 1 N	33/53	D

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

(72)発明者 ヒューブナー, ヨハネス
ドイツ, 7 9 1 1 5 フライベルク, アム リンダッカー 4 7
(72)発明者 グローマン, エリザベス
ドイツ, 7 9 1 1 2 フライベルク, ロマンストラッセ 1 8
(72)発明者 クロベク - ヒューブナー, アンドレア
ドイツ, 7 9 1 1 5 フライベルク, リンダッカー 4 7

Fターム(参考) 2G045 DA36 FB03
4C084 AA02 AA07 BA01 CA04 DA01 MA52 MA59 MA66 NA14 ZA362
ZA512 ZA592 ZA822 ZA902 ZB322 ZC752
4C085 AA03 AA14 BA08 BA32 BB31 BB41 EE01 EE03 GG03 GG04
GG08
4H045 AA10 AA11 AA30 BA10 CA11 DA75 DA86 EA20 EA31

专利名称(译)	新型肠球菌病原体抗原及其作为治疗和/或预防方法的疫苗成分的用途		
公开(公告)号	JP2014505016A	公开(公告)日	2014-02-27
申请号	JP2013537136	申请日	2011-11-03
[标]申请(专利权)人(译)	UNIVSKLINIKUM弗莱堡		
申请(专利权)人(译)	海胆贝尔乳木果达认购NIK-时间弗赖贝格		
[标]发明人	ヒューブナーヨハネス グローマンエリザベス クロベクヒューブナーアンドレア		
发明人	ヒューブナー,ヨハネス グローマン,エリザベス クロベク-ヒューブナー,アンドレア		
IPC分类号	C07K14/315 C07K14/195 C07K14/31 C07K14/33 C07K16/12 A61K38/00 A61K39/395 A61K39/02 A61P31/04 A61P1/00 A61P13/02 A61P7/00 A61P9/00 A61P17/00 A61P11/00 A61P43/00 G01N33/15 G01N33/50 G01N33/53		
CPC分类号	A61K39/00 A61P1/00 A61P11/00 A61P13/02 A61P17/00 C07K14/315 C07K16/1267 C07K14/24		
FI分类号	C07K14/315.ZNA C07K14/195 C07K14/31 C07K14/33 C07K16/12 A61K37/02 A61K39/395.R A61K39 /02 A61P31/04 A61P1/00 A61P13/02 A61P7/00 A61P9/00 A61P17/00.101 A61P11/00 A61P43/00.121 G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D		
F-TERM分类号	2G045/DA36 2G045/FB03 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/BA01 4C084/CA04 4C084/DA01 4C084 /MA52 4C084/MA59 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZA362 4C084/ZA512 4C084/ZA592 4C084 /ZA822 4C084/ZA902 4C084/ZB322 4C084/ZC752 4C085/AA03 4C085/AA14 4C085/BA08 4C085 /BA32 4C085/BB31 4C085/BB41 4C085/EE01 4C085/EE03 4C085/GG03 4C085/GG04 4C085/GG08 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA11 4H045/DA75 4H045/DA86 4H045 /EA20 4H045/EA31		
代理人(译)	庄司隆 Shinobe百合子		
优先权	2010190167 2010-11-05 EP		
其他公开文献	JP6338375B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及可用作抗原的肠球菌病原体的蛋白质抗原，更具体地说，涉及用于治疗 and/或预防方法的疫苗组分。【选择图】无

Bacterial strain 細菌株	Isolate/note/ref. 分離株/備考/参照	Acc. No. (as of November 1, 2010) アクセス番号 (2010年11月1日時点)
<i>E. faecium</i> エンテロコッカス・フェシウム	strain E1679; catheter tip isolate E1679株 カテーテル先端分離株	ZP_06698913.1
<i>E. faecium</i>	plasmid pVEF3; protein p51	YP_001974820.1
<i>E. faecalis</i> エンテロコッカス・フェカリス	HIP11704	ZP_05569726.1
<i>E. faecalis</i>	DS5	ZP_05563503.1
<i>E. faecalis</i>	RE25; pRE25, T4SS almost identical with pIP501 pIP501とほぼ同一	YP_783921.1
<i>E. faecalis</i>	DS5; plasmid pAMbeta1	YP_003305375.1
<i>E. faecalis</i>	ADM24818; Zhu et al., 2010	ADM24818.1
<i>S. pyogenes</i> ストレプトコッカス・ピオゲネス	plasmid pSM19035	YP_232773.1