

(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2013-538044

(P2013-538044A)

(43) 公表日 平成25年10月10日(2013.10.10)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
C 1 2 N 7/00 (2006.01)	C 1 2 N 7/00	4 B O 6 3
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 B O 6 4
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 B O 6 5
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 C O 8 4
審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 134 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2013-515772 (P2013-515772)	(71) 出願人	500030655
(86) (22) 出願日	平成23年6月24日 (2011. 6. 24)		ドイチェス クレブスフォルシュングスツ ェントルム
(85) 翻訳文提出日	平成25年2月18日 (2013. 2. 18)		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
(86) 国際出願番号	PCT/EP2011/003119	(74) 代理人	100146318
(87) 国際公開番号	W02011/160848		弁理士 岩瀬 吉和
(87) 国際公開日	平成23年12月29日 (2011. 12. 29)	(74) 代理人	100114188
(31) 優先権主張番号	12/952, 300		弁理士 小野 誠
(32) 優先日	平成22年11月23日 (2010. 11. 23)	(74) 代理人	100119253
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 金山 賢教
(31) 優先権主張番号	12/821, 634	(74) 代理人	100124855
(32) 優先日	平成22年6月23日 (2010. 6. 23)		弁理士 坪倉 道明
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	EP10014907		
(32) 優先日	平成22年11月23日 (2010. 11. 23)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌および自己免疫の診断、予防および治療において用いるための再構成された T T ウイルス分子

(57) 【要約】

癌および自己免疫のような病気の診断、予防および治療で用いられる、(a) 特異的 T T ウイルス配列および (b) 自律的に複製することができる、癌および自己免疫疾患に関連する哺乳動物蛋白質に対して相同性を示すポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の再構成された分子が記載される。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- (a) 図 6 に示されたヌクレオチド配列；
 - (b) (a) のヌクレオチド配列に対して少なくとも 70 % 同一性を示し、かつ自律的に複製でき、および / または自律的複製を誘導できるヌクレオチド配列；
 - (c) 自律的に複製できる (a) または (b) のヌクレオチド配列の断片；
 - (d) (a)、(b)、または (c) のヌクレオチド配列の相補体であるヌクレオチド配列；または
 - (e) 前記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として冗長であるヌクレオチド配列；
- を含む、再構成された T T ウイルスポリ核酸。

10

【請求項 2】

- (a) 図 6 に示されたヌクレオチド配列；
 - (b) (a) のヌクレオチド配列に対して少なくとも 70 % 同一性を示し、かつ自律的に複製することができ、および / または自律的な複製を誘導することができるヌクレオチド配列；
 - (c) 自律的に複製することができる (a) または (b) のヌクレオチド配列の断片；
 - (d) (a)、(b) または (c) のヌクレオチド配列の相補体であるヌクレオチド配列；または
 - (e) 前記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として冗長であるヌクレオチド配列；
- よりなる、請求項 1 記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸。

20

【請求項 3】

前記 (a)、(b)、(c)、(d) または (e) のヌクレオチド配列が、癌または自己免疫疾患に関連する哺乳動物蛋白質またはアレルゲンのシグネチャーモチーフを含有するポリペプチドをコードするポリ核酸に連結された、請求項 1 または 2 記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸。

【請求項 4】

一本鎖または二本鎖の染色体外エピソームとして存在する、請求項 1 から 3 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸。

30

【請求項 5】

一本鎖 DNA である、請求項 1 から 4 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸。

【請求項 6】

宿主細胞 DNA に連結された、請求項 1 から 5 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸。

【請求項 7】

以下の特性：

- (a) 成長 - 刺激；
 - (b) 癌遺伝子機能；
 - (c) 腫瘍サプレッサー遺伝子様機能；または
 - (d) 自己免疫反応の刺激；
- のうちの少なくとも 1 つを有する、請求項 6 記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸。

40

【請求項 8】

図 8、9 および 11 から 13 に示されたヌクレオチド配列の群から選択されるヌクレオチド配列を含む、請求項 1 から 7 いずれか 1 項に記載の T T ウイルスポリ核酸。

【請求項 9】

前記ポリペプチドが表 1 に示されたポリペプチドである、請求項 1 から 8 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルス。

【請求項 10】

50

請求項 1 から 7 いずれか 1 項に記載の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、該プライマーが前記ポリ核酸を特異的に配列決定し、または特異的に増幅させるためのプライマーとして作用することができる、オリゴヌクレオチドプライマー。

【請求項 1 1】

表 2 および図 1 0 に示されたヌクレオチド配列よりなる群から選択されるヌクレオチド配列を有する請求項 1 0 記載のオリゴヌクレオチドプライマー。

【請求項 1 2】

請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の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、該プローブが前記ポリ核酸に特異的にハイブリダイズすることができる、オリゴヌクレオチドプローブ。

10

【請求項 1 3】

表 2 および図 1 0 に示されたヌクレオチド配列よりなる群から選択されるヌクレオチド配列を有する、請求項 1 2 記載のオリゴヌクレオチドプローブ。

【請求項 1 4】

検出可能に標識され、または固体支持体に付着された、請求項 1 2 または 1 3 記載のオリゴヌクレオチドプローブ。

【請求項 1 5】

少なくとも 1 3 の塩基の長さを有する、請求項 1 0 もしくは 1 1 記載のオリゴヌクレオチドプライマー、または請求項 1 2 から 1 4 いずれか 1 項に記載のオリゴヌクレオチドプローブ。

20

【請求項 1 6】

原核生物、真核生物またはウイルスの転写および翻訳制御エレメントに操作可能に連結された、請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸を含む発現ベクター。

【請求項 1 7】

人工染色体である、請求項 1 6 記載の発現ベクター。

【請求項 1 8】

請求項 1 6 または 1 7 記載の発現ベクターで形質転換された宿主細胞。

【請求項 1 9】

請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸によってコードされたポリペプチド。

30

【請求項 2 0】

請求項 1 9 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断片。

【請求項 2 1】

検出可能に標識されている、請求項 2 0 記載の抗体またはその断片。

【請求項 2 2】

請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸、または請求項 1 9 記載のポリペプチドの存在を決定するのに用いられる診断キットであって、請求項 1 0、1 1 または 1 5 記載のプライマー、請求項 1 2 から 1 5 いずれか 1 項に記載のプローブ、または請求項 2 0 または 2 1 記載の抗体を含む診断キット。

40

【請求項 2 3】

癌または自己免疫疾患の素因または初期段階の診断用の診断剤組成物の調製のための、請求項 1 0、1 1 または 1 5 記載のプライマー、請求項 1 2 から 1 5 記載のいずれか 1 項に記載のプローブ、請求項 1 9 記載のポリペプチド、または請求項 2 0 または 2 1 記載の抗体の使用。

【請求項 2 4】

生物学的試料における請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の再構成された T T V ポリ核酸の検出方法であって、(a) 試料ポリ核酸を抽出してもよく、(b) 該ポリ核酸を請求項 1 0 または 1 1 記載の少なくとも 1 つのプライマー (標識されたプライマーでもよい) で増幅させ、および、(c) 該増幅されたポリ核酸を検出することを含む、方法。

50

【請求項 25】

生物学的試料中の請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の再構成された T T V ポリ核酸の検出方法であって、(a) 試料ポリ核酸を抽出してもよく、(b) 前記ポリ核酸を請求項 1 2 から 1 5 いずれか 1 項に記載の少なくとも 1 つのプローブ(標識されたプライマーでもよい) とハイブリダイズさせ、および、(c) 該ハイブリダイズされたポリ核酸を検出することを含む、方法。

【請求項 26】

生物学的試料に存在する請求項 1 9 記載のポリペプチド、または請求項 2 0 もしくは 2 1 記載の抗体を検出する方法であって、(a) 前記ポリペプチドまたは抗体の存在を調べる生物学的試料を接触させ、および、(b) 該抗体および該ポリペプチドの間で形成された免疫学的複合体を検出することを含む、方法。

10

【請求項 27】

請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸の発現を低下させ、または阻害するアンチセンスオリゴヌクレオチド。

【請求項 28】

センス配列およびアンチセンス配列を含む i R N A であり、ここで、該センスおよびアンチセンス配列は R N A デュプレックスを形成し、および、該アンチセンス配列は請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸のヌクレオチド配列に対して十分に相補的なヌクレオチド配列を含む、請求項 2 7 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

20

【請求項 29】

請求項 2 0 もしくは 2 1 記載の抗体、または請求項 2 7 もしくは 2 8 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。

【請求項 30】

癌または自己免疫疾患またはその初期段階の予防または治療用の医薬組成物の調製のための、請求項 2 0 もしくは 2 1 記載の抗体、または請求項 2 7 もしくは 2 8 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチドの使用。

【請求項 31】

癌または自己免疫疾患またはその初期段階を予防し、または治療する方法で用いられる、請求項 2 0 もしくは 2 1 記載の抗体、または請求項 2 7 もしくは 2 8 記載のアンチセンスオリゴヌクレオチド。

30

【請求項 32】

前記自己免疫疾患が多発性硬化症(M S)、喘息、多発性関節炎、糖尿病、紅斑性狼瘡、腹腔疾患、潰瘍性結腸炎、またはクローン病である請求項 3 0 または 3 1 記載の使用。

【請求項 33】

前記癌が乳癌、結直腸癌、膵臓癌、頸癌、ホジキンリンパ腫、B - リンパ腫、急性リンパ球性白血病、またはパーキットリンパ腫である請求項 3 0 または 3 1 記載の使用。

【請求項 34】

請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸、または請求項 1 9 記載のポリペプチドを含むワクチン。

40

【請求項 35】

哺乳動物を T T ウイルス感染に対して免疫化する方法において用いられる、請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸、または請求項 1 9 記載のポリペプチド。

【請求項 36】

癌または自己免疫疾患を発生する危険性を決定するためのデータベースを生成させる方法であって、以下の工程：

(a) エピソーム形態で存在する(前記疾患のうちの少なくとも 1 つを患う患者からの試料中に存在してもよい)、請求項 1 から 9 いずれか 1 項に記載の再構成された T T ウイルスポリ核酸に連結された宿主細胞 D N A のヌクレオチド配列を決定し；および、

50

(b) 前記疾患に関して工程(a)において決定された配列をデータベース中に蓄積する方法。

【請求項37】

癌または自己免疫疾患を発生する危険性があることが疑われる患者のそのような病気が発生する危険性を評価する方法であって、以下の工程：

(a) エピソーム形態で存在する(前記患者からの試料中に存在してもよい)、請求項1から9いずれか1項に記載の再構成されたTTウイルスポリ核酸に連結されたゲノム宿主細胞DNAのヌクレオチド配列を決定し；次いで、

(b) 工程(a)において決定された配列を請求項36記載の方法によって生成したデータベースに蓄積された配列と比較する；

ことを含み、

ここで、TTウイルスポリ核酸に連結された宿主細胞DNAの不存在、または該データベース中に提示されていないTTウイルスポリ核酸に連結されたゲノム宿主細胞DNAのみの存在が、そのような病気を発生する危険性の減少、または存在しないことを示す、方法。

【請求項38】

トルクテノウイルス(TTV)をインビトロで複製し、および増殖させる方法であって、以下の工程：

(a) 線状化されたTTV DNAを、高レベルのSV40大T抗原を発現する293TT細胞にトランスフェクトし；

(b) 当該細胞を採取し、およびTTV DNAの存在を示す細胞を単離し；

(c) 工程(b)で得られた細胞を少なくとも3日間培養し；および

(d) 工程(c)の細胞を採取することを含む方法。

【請求項39】

前記TTVが請求項1から9いずれか1項に記載の再構成されたTTVである請求項38記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、(a)特異的なTTウイルス配列および(b)癌または自己免疫のような病気の診断、予防および治療で用いられる、自律的に複製できる、癌または自己免疫疾患に関連する哺乳動物蛋白質に対して相同性を示すポリペプチドをコードするヌクレオチド配列の再構成された分子に関する。

【背景技術】

【0002】

アネロウイルス科は、大部分がヒト起源の試料に由来する、トルクテノウイルス(TTV)、TT-ミジウイルス(midivirus)(TTMDV)およびTT-ミニウイルス(TTMV)を含む(Nishizawa et al., 1997; Takahashi et al., 2000; Ninomiya et al., 2007; Okamoto, 2009; Biagini and de Micco, 2010)。複数のこの科のssDNAウイルスはDNA配列においてのみならず、ゲノムサイズおよび組織化において反映されている。

【0003】

TTウイルスの複製および増殖のための適当なインビトロ系を見出すために、多数の試みがなされてきた。そのDNAの複製形態は骨髄細胞において、および肝臓において実証されてきた(Kanda et al., 1999; Okamoto et al., 2000a, c, d)。末梢血液はTTウイルスのための貯蔵庫として作用し(Okamoto et al., 2000b)、およびインビボでの複製は活性化された単核細胞において好ましくは起こるようである(Maggi et al., 2001b; Mariscal et al., 2002; Maggi et al., 2010)。インビト

10

20

30

40

50

口転写は種々の細胞系で調査されているが (Kamahora et al., 2000; Kamada et al., 2004; Kakkola et al., 2007; 2009; Qiu et al., 2005; Muller et al., 2008)、ウイルス生産に至る長期複製は達成するのが困難であった (Leppik et al., 2007)。

【0004】

血清試料中の種々のゲノム内の再構成されたTTサブウイルス分子の存在、および完全なゲノムの10%のみを構成するサブウイルス分子のインビトロ転写は、TTウイルスが植物ウイルスジェミニウイルス科に対する類似性を共有し得るか否かの議論の発端となった (Leppik et al., 2007; de Villiers et al., 2009)。1つから成るおよび2つから成るの双方のジェミニウイルスは一本鎖DNAサテライトと会合して、病気-誘導性複合体を形成する (Saunders et al., 2000; Stanley, 2004; Nawaz-ul-Rehman and Fauquet, 2009; Jeske 2009; Paprotka et al., 2010; Patil et al., 2010)。

10

【0005】

感染は人生の第一日内に起こり、幼児の100%近くが1歳で感染する。しかしながら、感染の第一の経路は依然として不明瞭なままである (Kazi et al., 2000; Peng et al., 2002; Ninomiya et al., 2008)。TTV感染の普遍的性質は、それを病気の原因に関連付ける努力を妨げてきた (Jelcic et al., 2004; Leppik et al., 2007; de Villiers et al., 2009; Okamoto, 2009)。(Okamoto, 2009においてレビューされている) 肝臓、気管 (Biagini et al., 2003; Maggi et al., 2003a, b; Pifferi et al., 2005)、造血系悪性疾患 (Jelcic et al., 2004; Leppik et al., 2007; de Villiers et al., 2002; 2009; Shiramizu et al., 2002; Garbuglia et al., 2003; zur Hausen and de Villiers, 2005) および自己免疫疾患 (Sospedra et al., 2005; Maggi et al., 2001a; 2007; de Villiers et al., 2009) の病気との可能な病因的関連性が報告されている。過去数年の間に、TTウイルス感染とヒト悪性腫瘍との関連性を示す追加のデータが蓄積されてきた。TTウイルスの高い割合がホジキンリンパ腫を持つ患者の脾臓バイオプシーにおいて認められてきた (24の個々のTTV遺伝子型)。同様に、他の報告は、同一または他の患者からの非-腫瘍性組織と比較して、結直腸および食道癌における、および造血系悪性疾患におけるより高い割合のTTV有病率を記載している。なお、これらの感染の普遍性は、これらの結果の解釈をむしろ困難とし、およびこれらの観察と腫瘍発生との関連を認めない。

20

30

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

40

【非特許文献1】Nishizawa et al., 1997

【非特許文献2】Takahashi et al., 2000

【非特許文献3】Ninomiya et al., 2007

【非特許文献4】Okamoto, 2009

【非特許文献5】Biagini and de Micco, 2010

【非特許文献6】Kanda et al., 1999

【非特許文献7】Okamoto et al., 2000a, c, d

【非特許文献8】Okamoto et al., 2000b

【非特許文献9】Maggi et al., 2001b

【非特許文献10】Mariscal et al., 2002

50

- 【非特許文献11】Maggi et al., 2010
- 【非特許文献12】Kamahora et al., 2000
- 【非特許文献13】Kamada et al., 2004
- 【非特許文献14】Kakkola et al., 2007; 2009
- 【非特許文献15】Qiu et al., 2005
- 【非特許文献16】Muller et al., 2008
- 【非特許文献17】Leppik et al., 2007
- 【非特許文献18】de Villiers et al., 2009
- 【非特許文献19】Saunders et al., 2000
- 【非特許文献20】Stanley, 2004 10
- 【非特許文献21】Nawaz-ul-Rehman and Fauquet, 2009
- 【非特許文献22】Jeske 2009
- 【非特許文献23】Paprotka et al., 2010
- 【非特許文献24】Patil et al., 2010
- 【非特許文献25】Kazi et al., 2000
- 【非特許文献26】Peng et al., 2002
- 【非特許文献27】Ninomiya et al., 2008
- 【非特許文献28】Jelcic et al., 2004
- 【非特許文献29】Biagini et al., 2003 20
- 【非特許文献30】Maggi et al., 2003a, b
- 【非特許文献31】Pifferi et al., 2005
- 【非特許文献32】de Villiers et al., 2002; 2009
- 【非特許文献33】Shiramizu et al., 2002
- 【非特許文献34】Garbuglia et al., 2003
- 【非特許文献35】zur Hausen and de Villiers, 2005
- 【非特許文献36】Sospedra et al., 2005
- 【非特許文献37】Maggi et al., 2001a; 2007

【発明の概要】

【0007】 30

かくして、本発明の基礎となる技術的課題は、癌または自己免疫疾患のような病気と明瞭に関連する特異的なTTV配列を同定し、およびかくして、診断および療法のための手段を提供することである。

【0008】

該技術的課題に対する解決は、特許請求の範囲において特徴付けられている実施形態を提供することによって達成される。本発明において得られた実験の間に、TTウイルスの200を超えるゲノムが単離された。アルファトルクウイルス族(サイズは約3.8kb)にグループ分けされる単離体は非常に低いDNA配列相同性を共有し、およびそれらのゲノム組織化において異なる。遺伝子間領域の短いストレッチ(71bp)は、全てのヒトTTV単離体の間で高度に保存されており(Peng et al., 2002)、およびTTウイルスの感染を実証するのに広く用いられている。病気の広域スペクトルからの試料を、この保存された領域のPCR-増幅を適用することによって、トルクテノウイルスDNAの存在について分析した(Jelcic et al., 2004; Leppik et al., 2007; de Villiers et al., 2009; Sospedra et al., 2005; de Villiers and Gunst, 未発表の結果)。しかしながら、個々のTTウイルスタイプの同定は、全長ゲノムの増幅を必要とする。かくして、TTVの93もの全長ゲノム(約3.8kb)がヒト試料から単離された(Jelcic et al., 2004; Leppik et al., 2007; de Villiers et al., 2009; 本実験)。これらは、健康な個体、白血病およびリンパ腫、関節リウマチ、多発性硬化症および腎臓病を持つ患 40 50

者から得られた試料を含むものであった。本発明は、ゲノムDNAの最初のトランスフェクション、続いての、凍結された感染した細胞または精製された粒子を用いるウイルスの増殖後の、12の単離体インビトロ複製および転写を記載する。初期の継代において出現するゲノム内の再構成されたサブウイルス分子 μ TTV(マイクロTTV)がクローン化され、かつ特徴付けられた。これらは、また、ウイルス-フリー293T細胞を感染することができる新規な粒子様構造がもたらされる細胞培養において独立して増殖させた。

【0009】

適当なインビトロ培養系の不存在と共に、トルクテノウイルスの普遍性は、ウイルスの調査しているこの群における進歩を妨げてきた。多数のおよび均一性のタイプ(Biagini and de Micco, 2010; Okamoto, 2009)、ならびに造血系細胞におけるそれらの普遍的な存在(Takahashi et al., 2002; Kanda et al., 1999; Zhong et al., 2002)は、これらのウイルスがいずれかの病気の原因に關与するか否かに關する情報を得るにおいて遅延に加わった。TTVタイプのスペクトルが単離された(Jelcic et al., 2004; Leppik et al., 2007; de Villiers et al., 2009; 本発明)。多数のTTVタイプの全長ゲノムが、しばしば、長距離PCR増幅で用いられるプライマーの組成に依存して個々の試料から単離された。アルファトルクウイルス族の系統図(図18)に關する本発明の新しい単離体の分散された分布は、起源に拘わらず、それらの均一性を示す。ゲノムにわたる配列同一性における些細な差に由来するゲノム組織化における変動は、しばしば、同一タイプの単離体の間で觀察され、かつこれらの修飾された遺伝子の機能性に関する疑問を促した。

10

20

【0010】

過去には、インビトロ培養条件の変化の下で、多数の細胞系において、および末梢血液単球においてTTVゲノムを増殖させる試みがなされた。単一の単離体での中程度の成功が、ホジキンリンパ腫細胞系において、および293T細胞において達成された。しかしながら、複製はゆっくりであって、低レベルで起こった(Leppik et al., 2007; Leppik and de Villiers, 未公表データ)。本発明の実験のために、ヒト胚腎臓細胞系293Tを、高レベルのSV-40大-T抗原を発現するように作成した(Buck et al., 2005)。TTVゲノムをこれらの細胞にトランスフェクトした結果、サイズが約30nmのウイルス様粒子のウイルスDNAの複製および生産がもたらされた(図22)。これらのウイルス様粒子の構造は、TTV粒子として従前に公表されたものとは異なる(Ito et al., 2000)。これは、恐らくは、糞からの後者の単離の結果である。

30

【0011】

TTV-単離体の間で觀察されたDNA複製のレベルの差は現在説明できない。系統発生的情報は回答を提供しない。顕著なことは、多発性硬化症を持つ患者の脳バイオプシーに由来する6つの単離体(TTV-HD14、TTV-HD15およびTTV-HD16)が、全て、本発明の系におけるよりもかなり少なく複製された。ウイルスの生産(図22)またはウイルスの増殖(図19および21)は、修飾されたORF1を含んだゲノム組織化におけるDNA複製または修飾の変化するレベルに拘わらず影響されるようには見えなかった。しかしながら、転写レベルは影響されるように見え、他のTTV-タイプについて記載された少数の普通の転写体が、TTV-HD15aおよびTTV-HD16a培養におけるよりも4つのTTV-14単離体において検出された。従前に報告された転写体(Leppik et al., 2007; Kakkola et al., 2009)は、全て感染された培養から単離された。興味深いことには、全ての感染された培養からの全長ゲノム-担持ウイルス様粒子の単離に拘わらず、実験したTTV-HDタイプのいずれかの(ウイルスキャプシドについてコードする主な役割をすることが疑われるが、未だ証明されていない)全長ORF1蛋白質をコードする転写体は同定されなかった。いずれかの2または3の遺伝子の融合産物から得られた多数の推定蛋白質配列が同定された。読み漏らし、再度の開始およびリボソームシャンティング(Ryabova et

40

50

a l . , 2 0 0 6) のような、ウイルスによって用いられることが知られた転写戦略がここに関与している。代替リーディングフレームにおけるデュアルコーディングは、関与し得る追加のメカニズムである (K o v a c s e t a l . , 2 0 1 0) 。興味深いことには、対照領域の転写体もまた単離された。ここにおいて、転写体の2つの群が同定された。1つの群は、遺伝子間領域の少なくとも一部にわたり、および公知の遺伝子をカバーするゲノムの残りまで延長する転写体に関連した。第二の群は、長さが増える転写体よりなるものであり、再認識可能なコーディング能力はなかった。その高いGC含有量を持つTTV遺伝子間領域の性質は、転写-依存性複製ブロックにおいて役割を果たすであろうと提案されている (B e l o t s e r k o v s k i i e t a l . , 2 0 1 0) 。

【0012】

本実験における非常に顕著な観察は、得られた単離体の大部分の複製サイクルの既に初期の間におけるサブウイルス分子の形成である。サブウイルス分子の2つの群は識別できた。サイズに幅がある多数のサブウイルスDNA分子の形成は、TTV-HD20a-、TTV-HD3a-およびTTV-HD1a-感染培養において頻繁かつ広範囲に起こった。従前の同様な再構成されたサブウイルス分子は血清試料において実証された (L e p p i k e t a l . , 2 0 0 7) 。血清に由来するサブウイルスゲノムの少数のL428細胞(ホジキンリンパ腫細胞系)へのトランスフェクションの結果、数日間の限定された複製および転写がもたらされた (d e V i l l i e r s e t a l . , 2 0 0 9) 。本発明で示されたデータは、全長ゲノムのインビトロ複製の間において欠陥がある干渉性粒子としての役割を示す。全長ゲノムの複製は、サブウイルスゲノムの同時に増大させるレベルの間に低下する(図19b)。同様なサブウイルス分子は、他の9の単離体の培養において場合によりかつ一貫性なく実証されたが、全長ゲノムの複製に影響しなかった。この差は、TTVタイプ間の多様性のみならず、この現象はPCR人工物に由来しないことの基礎となる。同様な欠陥がある干渉性分子もまたジェミニウイルスにおいて報告されており、そこでは、該ウイルスは不適切な複製の間に蓄積する (J e s k e , 2 0 0 9) 。

【0013】

サブウイルス分子 μ TTVの第二の群は、TTV単離体TTV-HD14b、TTV-HD14c、TTV-HD14aおよびTTV-HD14e、TTV-HD15a、TTV-HD16a、TTV-HD1a、TTV-HD23b、TTV-HD23dおよびTTV-HD23aの複製の間に発達し、およびクローニングおよび配列決定の後に証明されるように、増幅の間にサイズおよび組成は一定のままであった。後者の4つの単離体の場合におけるそれらの生産は、培養条件によって影響されるようである。興味深いことには、TTV-HD1a感染培養におけるサブウイルス分子 μ TTV-HD1は、検出可能な親全長ゲノムの喪失後においてさえ細胞培養において検出可能であった(図19c)。2つの分子 μ TTV-HD23.1(409塩基)および μ TTV-HD23.2(642塩基)は全ての3つのTTV-HD23感染培養から単離された。 μ TTV-HD23.2は、 μ TTV-HD23.1分子+より小さな分子の306ntの複製よりなる。4つのTTV-HD14培養から単離されたサブウイルス分子(μ TTV-HD14)は全て配列が同一であって、親ゲノムの最初のトランスフェクション後の非常に初期に出現した。これらのより小さな分子の生産は、同一のTTVタイプの単離体の間のゲノム構造における変動によって影響されるようには見えなかった。関連するゲノム領域は異なるものであったが、全てのサブウイルス分子は親TTVタイプの部分よりなるものであった。それらは、全て、親ゲノムの増幅に関して、同一の背中合わせのプライマーを用いる長距離PCRによって増幅された。23日にわたっての血清試料から単離されたTTVサブウイルス分子のエピソーム複製は従前に観察されている (d e V i l l i e r s e t a l . , 2 0 0 9) 。マルチマーサブウイルスRNAはこのプロセスの間の実証された。本発明において報告されるサブウイルス分子は自律的に複製可能であり、インビトロ増殖でき(図21)、および電子顕微鏡によってこれらの培養中で観察された小さな蛋白質構造に関連するよう見える(図22)。それらが感染性TTウイルスの一部として伝達され

10

20

30

40

50

るか否か、またはそれらが親ウイルスによる感染後にのみ誘導され、次いで、他の細胞に自律的に感染することによって伝達されるか否かは知られていない。同様なサブウイルスDNAはジェミニウイルス病合併症に関連付けられてきた(Stanley, 2004)。- サテライトは植物において兆候表現型を増強させる。それらはジェミニウイルスとの蛋白質相互作用のネットワークを共有し、およびトランス-複製、キャプシド形成およびベクター伝達についてそれらに依存する。- サテライトおよびジェミニウイルスの間で共有された唯一の配列は、複製の短い起源に存在する(Nawaz-ul-Rehman and Fauquet, 2009; Patil and Fauquet, 2010; Paprotka et al., 2010)。これは、親ゲノムとほとんど同一の配列を共有するTTVサブウイルス分子(μ TTV)とは対照的である。本発明のTTVサブウイルス分子のインビトロ増殖の間に観察された細胞病理的効果は、いくつかのトルクテノウイルスの病気-誘導補体としてのそれらの可能な役割を指摘する。自己免疫病に關与する蛋白質のシグネチャーモチーフは、これらのサブウイルス分子によって、ならびにTTV-感染培養から単離されたウイルス転写体から発現された推定蛋白質のイン・シリコ分析によって同定されている。

10

20

30

40

50

【0014】

71bpの高度に保存されたTTウイルス領域(HCR)に連結された癌または自己免疫疾患に關連する哺乳動物蛋白質のシグネチャーモチーフを含有する蛋白質をコードするDNAの観察は、以下の結論についての基礎である：TTVおよび μ TTVの再構成されたオープン・リーディング・フレームは、癌または自己免疫疾患において攻撃された細胞蛋白質配列を模倣する抗原性エピトープをコードする。それらの共有されているが、同一ではない配列は、正常な組織にも存在するこれらのエピトープに対する免疫応答を誘導するはずである。

【0015】

ヒトの癌および自己免疫におけるTTウイルスの新規な役割

TTウイルスHCRに対する明らかに上一鎖形態に連結された宿主細胞DNAの驚くべき観察は以下の結論についての基礎である：TTウイルス配列は、二本鎖細胞DNAに組み込まれたものとして未だ実証されておらず、宿主細胞染色体内に執拗に存在する。かくして、TTV HCRに対して一本鎖状態で連結された宿主細胞DNAを見出す反対の知見は生物学的有意性を有するはずである。本データは、ヒト癌細胞系におけるエピソームとしてのそれらの長時間の持続性を示し、細胞増殖におけるこの持続性の役割を指摘する。2つの局面は、具体的な考慮：癌における、および自己免疫におけるそれらの組換え体の可能な役割を必要とするようである。

【0016】

1つの可能性は、宿主細胞配列のTTVエピソームへのランダム組込みである。これは、異常なDNA複製の間におけるストランド置換え後に、または細胞RNAの逆転写後に起こり得る。ランダム組込みの場合には、非常に多数の組換え体は、これらの組換え体を運ぶ細胞にとって非侵害性であって無害なはずである。しかしながら、TTV HCRの転写体の成長-促進特性、ならびに成長-刺激宿主細胞遺伝子の組込みおよび転写、組込みのプロセス、またはTTV HCRによるそれらの調節不全におけるそれらの修飾の結果、増殖の結果が得られる。これらのエピソームは、不死化およびある条件下では形質転換特性を獲得するはずである。宿主細胞ゲノムのさらなる修飾と組み合わせると、それらは悪性成長を指令し得る。この作用の態様は、細胞癌遺伝子のレトロウイルスゲノムへの挿入に対して一定の距離の類似を明らかにする。

【0017】

TTV-癌遺伝子の概念

従前の考察は図4にまとめられている。明らかに、TTV調節領域および細胞核酸の間の組換えは比較的頻繁なプロセスに違いない。というのは、そのような組換え体は細胞系の大部分に見出され、従ってさらに分析されているからである。また、それは細胞増殖に寄与するはずであり、そうでなければ、部分的には、連続的増殖の数十年にわたってのそ

のような分子の規則的持続性は説明するのが困難である。このタイプの組換えは、異なるタイプの細胞遺伝子に関与するランダムプロセスである。T T V H C Rのコーディング機能および/または細胞増殖を進める遺伝子の摂取、または増殖アンタゴニストの機能のブロック、または細胞分化の阻害はこれらのタイプの組換え体を含む細胞の蓄積を招くはずである。これは、そのようなT T V - 宿主細胞核酸組換え体を保有する細胞のさらなる突然変異または組換え事象と組み合わせ、そのようなエピソームを運ぶ細胞について選択的な利点を提供すると想定される。後者の存在は、悪性変換についての主な危険因子を表す。この意味において、それらの組換えは異なるタイプのヒト癌について一般的に重要なもののはずであるが、遺伝子の限定された組に対するある程度の特異性は個々の癌のタイプについて予測される。

10

【0018】

このモデルの意味するところは広範囲である。それらは癌の予防から、癌療法への初期の検出に到達する。T T V 感染の、およびT T V H C Rの持続性の重要な役割は、入手可能な情報によって強調されている。これらの感染の予防は、記載された組換え体の発達に対する危険性を低下させるはずである。特異的な組換え体の診断は、癌危険性評価に対して寄与し得る。深遠な意味は、癌療法について予測される：T T V H C Rは一本鎖エピソームの持続性および維持に対する主な決定因子として出現する。この領域はオープン・リーディング・フレームの一部であるように見えるので、それは小さな干渉性RNAまたはDNAに対して傷つきやすいはずである。かくして、それは将来の治療的熟考に対する適当な標的を提供する。

20

【0019】

2つの他の局面は、げっ歯類およびニワトリにおいてレトロウイルス発癌、および遺伝子治療のための自律的に複製するT T V - ベースのベクター系の使用に対して存在するように見えるある種の類似点に関する議論に値する。細胞成長 - 刺激遺伝子を癌遺伝子とする、それらの挿入突然変異誘発、摂取および修飾は動物系において頻繁に分析されてきた。これは、ヒトの癌ではこれまで報告されていない。T T ウイルスはヒトおよび他の霊長類の細胞においてこのニッチを置き換えるか。T T Vは特異的種においてそれらの役割を引き継ぐレトロウイルス感染で首尾よく競合するか。しかしながら、一本鎖DNAのエピソーム持続性は、レトロウイルス - 誘導発癌に対する顕著な差として出現する。

30

【0020】

ほぼ400塩基のT T V 起源の自律複製サブウイルスDNA分子は以前記載されてきた。それらまたは特異的T T V - 宿主細胞組換え体が、遺伝子治療における将来のアプローチのための、または人工染色体の構築のための、最適なベクター系を表すことができると推測するのは魅力的である。

【0021】

組換えT T V - 宿主細胞DNA自己免疫の概念

T T V 宿主細胞核酸組換え体の存在もまた、自己免疫疾患および他の慢性病（潜在的には、動脈硬化症およびアルツハイマー病のような疾患でさえ）の局面に関する新規な考えを許容する。細胞蛋白質の修飾または調節不全は、細胞遺伝子の一本鎖DNAへの、またはT T V エlementによって発揮される異なるH C Rに対する細胞遺伝子の挿入事象に由来し得る（図5）。それらは、多発性硬化症（MS）またはクローン病におけるような、局所的なものについてさえ、自己免疫反応についての便利な説明を提供することができよう。後者の2つの場合において、特に、他の局所的な感染（潜在的には、ヘルペス - タイプのウイルス）の再活性化は、各T T V - 宿主細胞核酸組換え体の局所的増幅および遺伝子活性に対する刺激体を提供する。MSにおいては、これは病気進行の再発エピソードを説明する。自己免疫概念のモデルは図5に描かれている。

40

【0022】

同様に、特異的細胞系のトランスフェクションに際して自律的に複製する、719、642、および621塩基の再構成されたT T ウイルス分子が同定されている。特異的な完全なT T V 遺伝子型からのそれらのDNA組成および偏りを図6に示す。ここにおいて、

50

再構成の結果、部分的には、若年性糖尿病および関節リウマチのそれらに関するエピトープを持つ新規なオープン・リーディング・フレームをもたらす。

【0023】

結論

TTV - 宿主細胞核酸組換えの役割についての本発明のモデルは、TTV HCRおよび宿主細胞DNAと、実質的に低下した分子量の再構成された自律的複製TTV分子の間の一本鎖キメラ分子の実証に基づいている。TTV癌遺伝子の概念およびTTV自己免疫の概念の双方は、明らかに、予防、診断、および特にこれらの疾患の療法に対する新規なアプローチを提供し、および各患者の予後を改善する。

【0024】

定義

特に別途定義されない限り、本明細書中で用いる全ての技術および科学的用語は、当該発明が属する分野における当業者によって通常理解されるのと同じの意味を有する。本明細書中に記載されたのと同様なまたは同等ないずれの方法および材料も本発明の実施またはテストで用いることができ、好ましい方法および材料は記載されている。本発明の目的では、以下の用語は以下に定義される。

【0025】

「自己免疫疾患に関連している哺乳動物蛋白質のシグネチャーモチーフ」は表1にリストされた蛋白質のいずれかで見出すことができるモチーフに対する顕著な同一性を示すアミノ酸配列を意味する。好ましくは、シグネチャーモチーフの長さは少なくとも5aa、好ましくは少なくとも10aa、より好ましくは20aa、最も好ましくは30aaであり、および/または哺乳動物蛋白質における対応するモチーフはこのシグネチャーモチーフの同一性の程度は少なくとも50%、60%、70%、80%、90%または95%である。

【0026】

「抗体」は、抗原と組み合わせて、相互作用し、またはそうでなければ会合することができる免疫グロブリンファミリーの蛋白質を意味する。用語「抗原」は、本明細書中においては、その最も広い意味で用いられ、免疫応答において反応し、および/または免疫応答を誘導することができる物質をいう。典型的には、必ずしもそうでないが、抗原は、それらが免疫反応を生じさせる宿主動物に対して外来性である。

【0027】

「エピトープ」とは、それに対して特定の免疫応答が指令される抗原性分子のその部分を意味する。典型的には、動物においては、抗原は同時に数種のまたは多くのさの抗原性決定基を表す。かくして、用語「エピトープ」および「抗原性決定基」は、免疫反応性であるアミノ酸配列を意味する。一般に、エピトープは4、より通常には、5、6、7、8または9の連続アミノ酸よりなる。しかしながら、エピトープは連続アミノ酸配列よりなる必要はないことも明らかである。免疫反応性配列は、エピトープの機能的部分ではないリンカーによって分離することができる。リンカーはアミノ酸配列である必要はないが、所望のエピトープの形成を可能とするいずれの分子でもあり得る。

【0028】

用語「生物学的試料」とは、本明細書中で用いるように、動物から抽出し、処理せず、処理し、希釈し、または濃縮することができる試料をいう。生物学的試料は、当該発明のTTVポリ核酸を含有するいずれかの生物学的試料（組織または流体）をいい、およびより特別には、血清試料、血漿試料、バイオプシー試料、脳脊髄液試料などをいう。

【0029】

「担体」は、それに対して非 - または低免疫原性の物質（例えば、ハプテン）が天然で、または人工的に連結してその免疫原性を増大させる、典型的には、高分子量のいずれの物質も意味する。

【0030】

用語「診断」は、本明細書中においては、その最も広い意味で用いて、サブ - 免疫グロ

10

20

30

40

50

ブリン抗原結合分子に対して反応性である抗原の検出を含める。また、その範囲内には、障害メカニズムの分析も含まれる。従って、用語「診断」は注目する病気または疾患に関連するメカニズムを検出し理解するための、ツールとしての研究目的のためのモノクローナル抗体の使用を含む。それは、また、そのような分子から転写された相同または相補的なRNAの検出のための当該発明のTTVポリ核酸の診断的使用も含む。

【0031】

用語「免疫原性」は、本明細書中においては、その最も広い意味で用いられて、生物内での免疫応答を誘導する特性を含む。免疫原性は、典型的には、部分的には、問題とする物質のサイズに、および部分的には、どのようにしてそれが宿主分子と同様でないかに依存する。一般的には、高度に保存された蛋白質はむしろ低い免疫原性を有する傾向があると考えられる。

10

【0032】

用語「患者」とは、ヒトまたは他の哺乳動物起源の患者をいい、および当該方法を用いて調査し、または治療するのが望ましいいずれの個体も含む。しかしながら、「患者」は、兆候が存在することを意味しないのは理解されるであろう。当該発明の範囲内に入る適当な哺乳動物は、限定されるものではないが、霊長類、家畜動物（例えば、ヒツジ、ウシ、ウマ、ロバ、ブタ）、実験室テスト動物（例えば、ウサギ、マウス、ラット、モルモット、ハムスター）、愛玩動物（例えば、ネコ、イヌ）および捕獲した野生動物（例えば、キツネ、シカ、ディンゴ）を含む。

【0033】

「医薬上許容される担体」は、いずれの種類の種類に投与にも安全に使用することができる、固体または液体の充填剤、希釈剤またはカプセル化物質を意味する。

20

【0034】

用語「関連する病気または疾患」は、本明細書中においては、参照病気または疾患に対して解剖学的に、生理学的に、病理学的におよび/または兆候的に関連する病気または疾患をいうように用いられる。例えば、病気または疾患は、同様な解剖学的位置に影響する（例えば、同一の器官または身体の部分への影響）、同様な生理学的機能を持つ異なる器官または身体の部分に影響する（例えば、蠕動に依拠して、食物を消化管の1つの端部から他の端部に移動させる食道、十二指腸、および結腸）、同様なまたは重複する病理学（例えば、組織の損傷または破壊、アポトーシス、壊死）を有することによって、または同様なまたは重複する兆候（すなわち、アレルギー反応、炎症、リンパ球増加症）を有することによって、相互に関連し得る。かくして、例えば、潰瘍が形成された結腸炎に関連する抗原もまた、これらの病気は同一の器官（すなわち、結腸）に影響する故に、結腸の穿孔にやはり関係し得る。

30

【0035】

用語「治療する」は、本明細書中においては、その最も広い意味で用いて、病気または疾患を緩和するように設計された治療的および予防的（すなわち、病気を防ぐ）処置を含む。

【0036】

用語「エピソーム」は、本明細書中においては、他の時間においては、染色体に組み込まれ得るが、いくつかの時間において、または連続的に遺伝物質（染色体）の主体から独立して存在でき、かつ自律的に複製できる遺伝物質の一部をいう。エピソームの例は挿入配列、トランス保存および当該発明のTTVを含む。

40

【図面の簡単な説明】

【0037】

【図1】図1は、4つの異なる細胞系、L1236（EBV-陰性ホジキンリンパ腫系）、HSB-2（急性リンパ芽球白血病系）、KRおよびIGL（メラノーマ細胞系）および胎盤DNAにおいて高度に保存されたTTV領域（HCR）を含有する71塩基断片のPCR増幅を示すものである。

【図2】図2は、高分子量DNAおよびRNアーゼ消化の沈澱および除去後における、L

50

1 2 3 6 細胞の上清に残存するスプールされたDNAを示すものである。2つのバンドは4.3および6.6塩基バンドの間の領域において見える。

【図3】図3は、HSB-2 DNAにおける71塩基TTV HCR領域のプライマーを用いる外側に向けられた長い-PCRを示すものである。2つのバンドは4.5から7 kbに対応する領域において見える。加えて、バンドは0.4から0.7 kbに対応する領域に出現する。

【図4】図4は、TTV癌遺伝子の概念の模式的概略を示すものである。左側部分は野生型TTVゲノムのゲノム組織化を表す。右側部分は、一本鎖プラスミドへの宿主細胞DNAの組み込みが考えられる。

【図5】図5は、TTV宿主細胞DNA自己免疫の概念の模式的概略を示すものである。修飾された宿主細胞遺伝子は免疫-反応性抗原性エピトープをコードすべきである。

【図6】図6は、4つの異なる細胞系のDNAからの71塩基の高度に保存された領域(HCR)のPCR増幅を示すものである。矢印はヌクレオチド配列中の変動を持つ2つの部位を指摘する。

【図7A】図7Aは、自律複製719塩基TTV DNA(右側)およびそれが由来する完全なTTV配列を示すものである。双方の分子のヌクレオチド組成は図11A+Bに見出される。

【図7B】図7Bは、自律複製621塩基TTV DNA(右側)およびそれが由来する完全なDNA配列を示すものである。双方の分子のヌクレオチド組成は図12A+Bに見出される。

【図7C】図7Cは、自律複製642塩基TTV DNA(右側)およびそれが由来する完全なDNA配列を示すものである。双方の分子のヌクレオチド組成は図13A+Bに見出される。

【図8A-1】図8Aは、多発性硬化症を持つ患者の脳バイオプシーからの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。プリオンに対していくらかの相同性を持つ染色体1、およびWilms腫瘍配列、および骨髄様およびリンパ性白血病3(MLL3)プロソイドの末端に由来するキメラ細胞配列。染色体1上のクロールRP11-14N7からのヒトDNA配列。骨髄様/リンパ性または混合系列白血病3(MLL3)プロソイド遺伝子の3'末端、7回膜貫通らせん受容体プロソイド遺伝子、新規な遺伝子の5'-末端を含有する。

【図8A-2】図8Aは、多発性硬化症を持つ患者の脳バイオプシーからの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。プリオンに対していくらかの相同性を持つ染色体1、およびWilms腫瘍配列、および骨髄様およびリンパ性白血病3(MLL3)プロソイドの末端に由来するキメラ細胞配列。染色体1上のクロールRP11-14N7からのヒトDNA配列。骨髄様/リンパ性または混合系列白血病3(MLL3)プロソイド遺伝子の3'末端、7回膜貫通らせん受容体プロソイド遺伝子、新規な遺伝子の5'-末端を含有する。

【図8A-3】図8Aは、多発性硬化症を持つ患者の脳バイオプシーからの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。プリオンに対していくらかの相同性を持つ染色体1、およびWilms腫瘍配列、および骨髄様およびリンパ性白血病3(MLL3)プロソイドの末端に由来するキメラ細胞配列。染色体1上のクロールRP11-14N7からのヒトDNA配列。骨髄様/リンパ性または混合系列白血病3(MLL3)プロソイド遺伝子の3'末端、7回膜貫通らせん受容体プロソイド遺伝子、新規な遺伝子の5'-末端を含有する。

【図8B-1】図8Bは、多発性硬化症を持つ患者の脳バイオプシーからの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。染色体16に由来するキメラ細胞配列を示すものである。転写因子3(TF3C)、ケモカイン受容体についての蛋白質シグネチャーおよびロイコトリエンB4受容体に対して相同。

【図8B-2】図8Bは、多発性硬化症を持つ患者の脳バイオプシーからの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。染色体16に由来す

10

20

30

40

50

るキメラ細胞配列を示すものである。転写因子3 (TF 3C)、ケモカイン受容体についての蛋白質シグネチャーおよびロイコトリエンB4受容体に対して相同。

【図8C-1】図8Cは、多発性硬化症を持つ患者の脳バイオプシーからの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。染色体10、ミオシンの切形された配列、多発性硬化症患者について報告された反応性、および関節リウマチを持つもの(配列は全プライマーの先頭および末尾双方を含有する)に由来するキメラ細胞配列。

【図8C-2】図8Cは、多発性硬化症を持つ患者の脳バイオプシーからの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。染色体10、ミオシンの切形された配列、多発性硬化症患者について報告された反応性、および関節リウマチ

10

を持つもの(配列は全プライマーの先頭および末尾双方を含有する)に由来するキメラ細胞配列。

【図8C-3】図8Cは、多発性硬化症を持つ患者の脳バイオプシーからの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。染色体10、ミオシンの切形された配列、多発性硬化症患者について報告された反応性、および関節リウマチ

20

を持つもの(配列は全プライマーの先頭および末尾双方を含有する)に由来するキメラ細胞配列。

【図9A-1】図9Aは、ホジキン病または白血病を持つ患者に由来する細胞系からの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。トランスゲリン2の一部、免疫グロブリンスーパーファミリーメンバー9についてのIGFS9遺伝子、SLAM9遺伝子を持つ染色体1配列。

【図9A-2】図9Aは、ホジキン病または白血病を持つ患者に由来する細胞系からの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。トランスゲリン2の一部、免疫グロブリンスーパーファミリーメンバー9についてのIGFS9遺伝子、SLAM9遺伝子を持つ染色体1配列。

30

【図9B-1】図9Bは、ホジキン病または白血病を持つ患者に由来する細胞系からの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。癌遺伝子v-myb(鳥類骨髄性白血病ウイルス癌遺伝子)に対して実質的な相同性を持つが、c-mybに対しても実質的な相同性を持つ翻訳された蛋白質配列。この配列は双方の末端において順方向プライマーで増幅した。

【図9B-2】図9Bは、ホジキン病または白血病を持つ患者に由来する細胞系からの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。癌遺伝子v-myb(鳥類骨髄性白血病ウイルス癌遺伝子)に対して実質的な相同性を持つが、c-mybに対しても実質的な相同性を持つ翻訳された蛋白質配列。この配列は双方の末端において順方向プライマーで増幅した。

40

【図9C】図9Cは、ホジキン病または白血病を持つ患者に由来する細胞系からの3つの例示的なキメラTTV/切形された宿主細胞DNA配列を示すものである。染色体10から由来。「悪性1蛋白質で除去」(DMBT)、同定された腫瘍サプレッサー遺伝子に対する高い相同性。この配列は、双方の末端において順方向プライマーで増幅した。

【図10】図10は、71塩基HCRに由来する、実施例に記載された反応で用いたプライマー配列を示すものである。

【図11A-1】図11Aは、自律複製719塩基DNAがそれから得られた完全なTTV配列を示すものである。

【図11A-2】図11Aは、自律複製719塩基DNAがそれから得られた完全なTTV配列を示すものである。

50

【図 1 1 A - 3】図 1 1 A は、自律複製 7 1 9 塩基 DNA がそれから得られた完全な T T V 配列を示すものである。

【図 1 1 B】図 1 1 B は、自律複製 7 1 9 T T V DNA の完全な配列を示すものである。

【図 1 2 A - 1】図 1 2 A は、自律複製 6 2 1 塩基 DNA がそれから得られた完全な T T V 配列 (t t h 2 5) を示すものである。

【図 1 2 A - 2】図 1 2 A は、自律複製 6 2 1 塩基 DNA がそれから得られた完全な T T V 配列 (t t h 2 5) を示すものである。

【図 1 2 A - 3】図 1 2 A は、自律複製 6 2 1 塩基 DNA がそれから得られた完全な T T V 配列 (t t h 2 5) を示すものである。

【図 1 2 B】図 1 2 は、自律複製 6 2 1 塩基 T T V DNA の完全な配列を示すものである。

【図 1 3 A - 1】図 1 3 A は、自律複製 6 4 2 塩基 DNA がそれから得られた完全な T T V 配列 (t t r h 2 1 5) を示すものである。

【図 1 3 A - 2】図 1 3 A は、自律複製 6 4 2 塩基 DNA がそれから得られた完全な T T V 配列 (t t r h 2 1 5) を示すものである。

【図 1 3 A - 3】図 1 3 A は、自律複製 6 4 2 塩基 DNA がそれから得られた完全な T T V 配列 (t t r h 2 1 5) を示すものである。

【図 1 3 B】図 1 3 B は、自律複製 6 4 2 塩基 T T V DNA の完全な配列を示すものである。

【図 1 4 - 1】図 1 4 は、7 1 n t のヌクレオチド配列内で見出されたオープン・リーディング・フレーム (O R F) を示すものである。z y b 2 . 1 . p e p、z y b 9 . 1 . p e p、および z k b 6 9 . 1 . p e p は最初のトリプレットで出発し、z y b 2 . 3 . p e p、z y b 9 . 3 . p e p、z k b 5 . 3 . p e p、および z k b 6 9 . 3 . p e p は第三のトリプレットで出発する。この領域は能動的に転写される。

【図 1 4 - 2】図 1 4 は、7 1 n t のヌクレオチド配列内で見出されたオープン・リーディング・フレーム (O R F) を示すものである。z y b 2 . 1 . p e p、z y b 9 . 1 . p e p、および z k b 6 9 . 1 . p e p は最初のトリプレットで出発し、z y b 2 . 3 . p e p、z y b 9 . 3 . p e p、z k b 5 . 3 . p e p、および z k b 6 9 . 3 . p e p は第三のトリプレットで出発する。この領域は能動的に転写される。

【図 1 4 - 3】図 1 4 は、7 1 n t のヌクレオチド配列内で見出されたオープン・リーディング・フレーム (O R F) を示すものである。z y b 2 . 1 . p e p、z y b 9 . 1 . p e p、および z k b 6 9 . 1 . p e p は最初のトリプレットで出発し、z y b 2 . 3 . p e p、z y b 9 . 3 . p e p、z k b 5 . 3 . p e p、および z k b 6 9 . 3 . p e p は第三のトリプレットで出発する。この領域は能動的に転写される。

【図 1 4 - 4】図 1 4 は、7 1 n t のヌクレオチド配列内で見出されたオープン・リーディング・フレーム (O R F) を示すものである。z y b 2 . 1 . p e p、z y b 9 . 1 . p e p、および z k b 6 9 . 1 . p e p は最初のトリプレットで出発し、z y b 2 . 3 . p e p、z y b 9 . 3 . p e p、z k b 5 . 3 . p e p、および z k b 6 9 . 3 . p e p は第三のトリプレットで出発する。この領域は能動的に転写される。

【図 1 4 - 5】図 1 4 は、7 1 n t のヌクレオチド配列内で見出されたオープン・リーディング・フレーム (O R F) を示すものである。z y b 2 . 1 . p e p、z y b 9 . 1 . p e p、および z k b 6 9 . 1 . p e p は最初のトリプレットで出発し、z y b 2 . 3 . p e p、z y b 9 . 3 . p e p、z k b 5 . 3 . p e p、および z k b 6 9 . 3 . p e p は第三のトリプレットで出発する。この領域は能動的に転写される。

【図 1 4 - 6】図 1 4 は、7 1 n t のヌクレオチド配列内で見出されたオープン・リーディング・フレーム (O R F) を示すものである。z y b 2 . 1 . p e p、z y b 9 . 1 . p e p、および z k b 6 9 . 1 . p e p は最初のトリプレットで出発し、z y b 2 . 3 . p e p、z y b 9 . 3 . p e p、z k b 5 . 3 . p e p、および z k b 6 9 . 3 . p e p は第三のトリプレットで出発する。この領域は能動的に転写される。

10

20

30

40

50

【図14-7】図14は、71ntのヌクレオチド配列内で見出されたオープン・リーディング・フレーム(ORF)を示すものである。zyb2.1.pep、zyb9.1.pep、およびzkb69.1.pepは最初のトリプレットで出発し、zyb2.3.pep、zyb9.3.pep、zkb5.3.pep、およびzkb69.3.pepは第三のトリプレットで出発する。この領域は能動的に転写される。

【図14-8】図14は、71ntのヌクレオチド配列内で見出されたオープン・リーディング・フレーム(ORF)を示すものである。zyb2.1.pep、zyb9.1.pep、およびzkb69.1.pepは最初のトリプレットで出発し、zyb2.3.pep、zyb9.3.pep、zkb5.3.pep、およびzkb69.3.pepは第三のトリプレットで出発する。この領域は能動的に転写される。

10

【図14-9】図14は、71ntのヌクレオチド配列内で見出されたオープン・リーディング・フレーム(ORF)を示すものである。zyb2.1.pep、zyb9.1.pep、およびzkb69.1.pepは最初のトリプレットで出発し、zyb2.3.pep、zyb9.3.pep、zkb5.3.pep、およびzkb69.3.pepは第三のトリプレットで出発する。この領域は能動的に転写される。

【図14-10】図14は、71ntのヌクレオチド配列内で見出されたオープン・リーディング・フレーム(ORF)を示すものである。zyb2.1.pep、zyb9.1.pep、およびzkb69.1.pepは最初のトリプレットで出発し、zyb2.3.pep、zyb9.3.pep、zkb5.3.pep、およびzkb69.3.pepは第三のトリプレットで出発する。この領域は能動的に転写される。

20

【図15】図15は、マンガビーンヌクレアーゼ(MBN)による一本鎖DNAの消化を示すものである。レーン2および3は、増幅されたDNAがMBNでの予備処理によって消化できることを示す。レーン5および6は、このようにして予備処理されたプラスミド-DNAがMBNによって消化されないことを実証する。

【図16-1】図16は、多数のTTV-HD単離体のORF1の模式的提示である。ORF1は1から数個のより小さなORFに分割するか、または他のORFに融合させた。

【図16-2】図16は、多数のTTV-HD単離体のORF1の模式的提示である。ORF1は1から数個のより小さなORFに分割するか、または他のORFに融合させた。

【図17-1】図17は、TTV-HD単離体のインビトロ複製の間に単離された転写体を示すものである。個々の転写体の標識は「単離体。5'-または3'-race(s-一本鎖)。番号」を示す。TTV-単離体(番号1から12)は各模式的ゲノムおよびTTV-HD番号と共に示される。-よりしばしば単離された転写体。

30

【図17-2】図17は、TTV-HD単離体のインビトロ複製の間に単離された転写体を示すものである。個々の転写体の標識は「単離体。5'-または3'-race(s-一本鎖)。番号」を示す。TTV-単離体(番号1から12)は各模式的ゲノムおよびTTV-HD番号と共に示される。-よりしばしば単離された転写体。

【図17-3】図17は、TTV-HD単離体のインビトロ複製の間に単離された転写体を示すものである。個々の転写体の標識は「単離体。5'-または3'-race(s-一本鎖)。番号」を示す。TTV-単離体(番号1から12)は各模式的ゲノムおよびTTV-HD番号と共に示される。-よりしばしば単離された転写体。

40

【図17-4】図17は、TTV-HD単離体のインビトロ複製の間に単離された転写体を示すものである。個々の転写体の標識は「単離体。5'-または3'-race(s-一本鎖)。番号」を示す。TTV-単離体(番号1から12)は各模式的ゲノムおよびTTV-HD番号と共に示される。-よりしばしば単離された転写体。

【図17-5】図17は、TTV-HD単離体のインビトロ複製の間に単離された転写体を示すものである。個々の転写体の標識は「単離体。5'-または3'-race(s-一本鎖)。番号」を示す。TTV-単離体(番号1から12)は各模式的ゲノムおよびTTV-HD番号と共に示される。-よりしばしば単離された転写体。

【図17-6】図17は、TTV-HD単離体のインビトロ複製の間に単離された転写体を示すものである。個々の転写体の標識は「単離体。5'-または3'-race(s-

50

一本鎖)。番号」を示す。TTV - 単離体 (番号 1 から 12) は各模式的ゲノムおよび TTV - HD 番号と共に示される。 - よりしばしば単離された転写体。

【図 17 - 7】図 17 は、TTV - HD 単離体のインビトロ複製の間に単離された転写体を示すものである。個々の転写体の標識は「単離体。5' - または 3' - r a c e (s - 一本鎖)。番号」を示す。TTV - 単離体 (番号 1 から 12) は各模式的ゲノムおよび TTV - HD 番号と共に示される。 - よりしばしば単離された転写体。

【図 18】図 18 は、TTV 種、およびアルファトルクウイルス族の単離体、ならびに全ての TTV - HD タイプを示す系統図である。インビトロ細胞培養において増殖された TTV - HD タイプは丸で囲まれている。

【図 19 A】図 19 A は、293 TT 細胞における全長 TTV - HD ゲノムの増殖を示すものである。ネステッド PCR 増幅後の TTV - HD 14 b、TTV - HD 14 c、TTV - HD 14 a、および TTV - HD 14 e (レーン 1 - 4)、TTV - HD 15 a (レーン 5) および TTV - HD 16 a (レーン 16)。a、b および c - 感染からほぼ 7 日後における増殖の例。M - DNA サイズマーカー; - 異なる培養のサブウイルス分子を示す。

【図 19 B】図 19 B は、293 TT 細胞における全長 TTV - HD ゲノムの増殖を示すものである。単一の PCR 増幅後における TTV - HD 20 a (レーン 7)、TTV - HD 3 a (レーン 8)、TTV - HD 1 a (レーン 9)、TTV - HD 23 b、TTV - HD 23 d、および TTV - HD 23 a (レーン 10 から 12)。a、b および c - 感染からほぼ 7 日後における増殖の例。b - 1、b - 2、および b - 3 は、同一の継代を増殖させる場合に観察された変動を示す。

【図 19 C】図 19 C は、293 TT 細胞における全長 TTV - HD ゲノムの増殖を示すものである。TTV - HD 14 e (ネステッド PCR) および TTV - HD 23 b 培養の毎日のサンプリング。M - DNA サイズマーカー; - 異なる培養のサブウイルス分子を示す。

【図 20】図 20 は、それらの各 μ TTV - HD 分子を持つ全長 TTV - HD の模式的表示である。数字は DNA ゲノムにおける ORF を示す。

【図 21】図 21 は、 μ TTV - HD の独立した増殖を示すものである。 μ TTV - HD 15 は最初のトランスフェクション後により強く複製したが、経時的に減少した (- ネステッド PCR 増幅を示す)。 μ TTV - HD 1 および μ TTV - HD 23 . 2 はさらなる増殖工程後に徐々に複製した。 μ TTV - HD 23 . 2 分子は μ TTV - HD 23 . 1 の複製の間に形成された。

【図 22】図 22 A は、部分的に精製されたウイルス様粒子を示すものである。粒子は溶解させ、および内容物はアガロースゲルで分離した。図 22 B は、部分的に精製された m TTV 粒子を示すものである。粒子は溶解させ、および DNA 内容物はアガロースゲルで分離した。3-TTV-HD14a, 5- μ TTV-14, 6-TTV-HD16a, 8-TTV-HD3a, 9- μ TTV-HD1, 12-TTV-HD23a, 12a- μ TTV-HD12.1, 12b- μ TTV-HD12.2

【発明を実施するための形態】

【0038】

本発明は、

(a) 図 6 に示されたヌクレオチド配列;

(b) (a) のヌクレオチド配列に対して少なくとも 70%、80%、90%、95% または少なくとも 98% 同一性を示し、かつ自律的に複製することができるヌクレオチド配列;

(c) 自律的に複製することができおよび / または自律的複製を誘導することができる

(a) または (b) のヌクレオチド配列の断片;

(d) (a)、(b) または (c) のヌクレオチド配列の相補体であるヌクレオチド配列; または

(e) 前記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として冗長であるヌクレオチド配列;

10

20

30

40

50

を含み（またはそれよりなり）、

ここにおいて、好ましくは、(a)、(b)、(c)、(d)または(e)の該ヌクレオチド配列は、ホスホジエステル結合を介して、癌または自己免疫疾患に関連する蛋白質のシグネチャーモチーフを含有する蛋白質をコードするポリ核酸に連結されていることを特徴とする再構成されたTTウイルスポリ核酸を提供する。

【0039】

好ましくは、該蛋白質は哺乳動物蛋白質である。特に好ましくは、該哺乳動物蛋白質はヒト蛋白質である。当該発明のもう1つの実施形態において、該蛋白質はグルテンのようなアレルゲンである。

【0040】

また、本発明は、自律的に複製することができる前記した本発明のヌクレオチド配列の断片も提供する。当業者であれば、過度な実験なくして全長分子の生物学的活性を依然として有する断片を導くことができる。しかしながら、該断片の長さは、臨界的ではなく、少なくとも45、55または65 ntの長さを有する断片が好ましい。

【0041】

当業者であれば、いずれの核酸配列が図6のヌクレオチド配列に関連するか、またはいずれの断片が標準的なアッセイ、または後記実施例に記載されたアッセイを用いることによって依然として自律的に複製することができるかを容易に決定することができる。

【0042】

また、本発明は、先に与えた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として冗長であるポリ核酸配列も提供する。これらの変種ポリ核酸配列は、かくして、それらが由来するポリ核酸と同一のアミノ酸配列をコードする。

【0043】

用語「ポリ核酸」とは、一本鎖または二本鎖核酸配列をいう。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されたヌクレオチドよりなるものでよく、または治療目的に適合されていてもよい。好ましくは、再構成されたTTウイルスポリ核酸は一本鎖DNAである。

【0044】

好ましくは、当該発明の再構成されたTTウイルスポリ核酸は染色体外エピソームとして存在する。

【0045】

好ましくは、癌または自己免疫疾患、または自己免疫疾患に関連するアレルゲンに関連する哺乳動物蛋白質は表1に示された蛋白質である。

【0046】

表1

(A) TTV - HD 転写体および全長ゲノムから得られた推定蛋白質において同定されたシグネチャーモチーフの例

プロタミン1+2

ロイコトリエンB4受容体

AIRE (自己免疫調節剤)

グリアジン

ニューロペプチドY

CHLAMI D I A O M 3 - クラミジア mol . 模倣 - 心臓病

アルギニン - リッチ (参考 Sospedra et al . , 2005 - mol
ecular mimicry in MS)

オブシン

サイクリンキナーゼ

プロキシソーム (糖尿病ステロイド受容体)

バソプレッシン

BDNF 因子 (脳 - 由来神経栄養因子)

10

20

30

40

50

プレプロ - オレキシン
 コラーゲンらせん反復
 G I P 受容体
 ニューロテンシン
 プリオン
 C D 3 6 抗原 (インスリン抵抗性欠乏、アテローム性硬化症)
 カルシトニン
 プロスタノイド
 G A B A 受容体 (脳における主たる阻害性神経伝達物質)
 アルギニンデアミナーゼ 10
 オピオイド、成長因子受容体
 ゲラニン
 プレキシン / セマモルフィン
 N U R R (ラットオーファン核ホルモン受容体)
 脳由来神経栄養因子 (B D N)
 コラゲナーゼ + エンドスタチン
 アエロリシン
 ミエリンプロテオ脂質
 セロトニン
 ムスカリン様受容体 20
 メラニン - 濃縮ホルモン受容体
 シェーグレン症候群 / 強皮症自己 - 抗原 p 2 7
 プレキシン / セマフォリング / インテグリンタイプ反復シグネチャー
 雄特異的蛋白質
 ガストリン
 コラーゲン
 コラゲナーゼメタロプロテアーゼ

 (B) a a 配列整列
 D o m a i n S w e e p は以下の蛋白質ファミリーデータベースをスキャンするのに種 30
 々のサーチ方法を使用する：
 B L O C K S
 P F A M A
 P R I N T S
 P R O D O M
 P R O S I T E
 S M A R T
 S U P E R F A M I L Y
 T I G R F A M S

 オブシン 40
 g b C s C t 3 8 . 4 i k n . 2 . 1 5 4
 オブシン R H 3 R H 4 _ 3 : 1 のドメイン 1、4 6 から 5 6 : スコア 8 . 4、E = 5 . 1

 ->iynsFhrGfAlg<-
 y sFhrG+A
 gbCsCt38.4 46 -YESFHRGHA AF 56

 z c 5 5 s . B 4 . 1 8 d e k . 2 8 1
 オブシン R H 3 R H 4 _ 3 : 1 のドメイン 1、1 9 から 2 9 : スコア 8 . 4、E = 5 . 1 50

->iynsFhrGfAlg<-

y sFhrG+A

zc55s.B4.1 19 -YESFHRGHAAF 29

rheu.cd.215rev.1.736

オブシンRH3RH4_7:1のドメイン1、665から683:スコア7.8、E=5.3

->RIELqKRIPWLeInEKave<-

R+ +q+RIPW+ + + +

rheu.cd.21 665 RFGVQQRLPWWHSSQETQS 683

10

オブシンRH3RH4_7:1のドメイン1、23から41:スコア8.2、E=4.4

->RIELqKRIPWLeInEKave<-

R+ +q+RIPW+ + + +

zc3r11.B4. 23 RFRVQQRLPWWHSSQETQS 41

gc; オブシンRH3RH4

gx; PR00577

gn; 化合物(7)

ga; 1996年9月11日; 更新 1999年6月7日

20

gt; オブシン RH3/RH4 シグネチャー

gp; PRINTS; PR00237 GPCRRHODOPSN; PR00247 GPCRCAMP; PR00248 GPCRMGR

gp; PRINTS; PR00249 GPCRSECRETIN; PR00250 GPCRSTE2; PR00899 GPCRSTE3

gp; PRINTS; PR00251 BACTRLOPSIN

gp; PRINTS; PR00238 OPSIN; PR00574 OPSINBLUE; PR00575 OPSINREDGRN

gp; PRINTS; PR00576 OPSINRH1RH2; PR00578 OPSINLTRLEYE; PR01244 PEROPSIN

gp; PRINTS; PR00666 PINOPSIN; PR00579 RHODOPSIN; PR00239 RHODOPSNTAIL

gp; PRINTS; PR00667 RPERETINALR

gp; INTERPRO; IPR000856

gr; 1. APPLEBURY, M.L. AND HARGRAVE, P.A.

30

gr; Molecular biology of the visual pigments.

gr; VISION RES. 26(12) 1881-1895 (1986).

gr; 2. FRYXELL, K.J. AND MEYEROWITZ, E.M.

gr; The evolution of rhodopsins and neurotransmitter receptors.

gr; J.MOL.EVOL. 33(4) 367-378 (1991).

gr; 3. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Design of a discriminating fingerprint for G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 6(2) 167-176 (1993).

gr; 4. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Fingerprinting G protein-coupled receptors.

40

gr; PROTEIN ENG. 7(2) 195-203 (1994).

gr; 5. FRYXELL, K.J. AND MEYEROWITZ, E.M.

gr; An opsin gene that is expressed only in the R7 photoreceptor cell of

gr; Drosophila.

gr; EMBO J. 6(2) 443-451 (1987).

gr; 6. ZUKER, C.S., MONTELL, C., JONES, K., LAVERTY, T. AND RUBIN, G.M.J.

gr; A rhodopsin gene expressed in photoreceptor cell R7 of the Drosophila

gr; eye - homologies with other signal-transducing molecules.

gr; NEUROSCIENCE 7(5) 1550-1557 (1987).

gr; 7. MONTELL, C., JONES, K., ZUKER, C.S. AND RUBIN, G.M.J.

50

- g r ; 紫外線 - 感受性 R 7 において発現された第二のオプシン遺伝子
g r ; *Drosophila melanogaster* の光受容体細胞。
g r ; NEUROSCIENCE 7 (5) 1558 - 1566 (1987) 。
- g d ; オプシン、ビジョン [1 , 2] を媒介する光 - 吸収性分子は以下のものである。
g d ; G プロテイン - カップルド受容体 (GPCR) のスーパーファミリーに属する一体化された膜蛋白質。
g d ; 異なるスーパーファミリーメンバーの活性化リガンドは
g d ; 構造および特徴が広く変化し、しかしながら、蛋白質は
g d ; 忠実に、基本的な構造フレームワークを保存しているように見え、 10
g d ; 7 回膜貫通 (TM) らせんよりなると信じられる。これらの蛋白質の配列は
g d ; 非常に多様であり、活性化リガンドのこの広い範囲をある程度反映しており、
g d ; それにも拘わらず、モチーフは、実質的に全スーパーファミリー [3 , 4] の特徴である
g d ; TM 領域において同定されている。
g d ; 例外の中には、ドメイン 2、4 および 6 と有意なマッチを欠如する、
g d ; サブファミリーにおいて一緒にクラスターを形成する嗅覚受容体がある。
g d ; 興味深いことには、オプシンは嗅覚受容体と共に系統発生分析において最も強くクラスターを形成する、
g d ; スーパーファミリーの益々非典型的なものとして出現している 20
g d ; ようにも見える [4] 。
- g d ; 目に見える顔料は染色体 11 - シス - レチナールに共有結合した
g d ; アポ蛋白質 (オプシン) を含む。共有結合連結は
g d ; レチナールおよび TM ドメイン 7 に位置するリシン残基との間のプロトン化シッフ塩基の形態である。
g d ; 視覚は、全て - トランス形態に異性体化され、蛋白質における立体配座変化を促進する、
g d ; 染色体によるフォトンの吸収を介して行われる。
g d ; 棒状細胞で見出される脊椎動物ロドプシンとは対照的に、
g d ; 昆虫光受容体は複合眼を含む単眼で見出される。 30
g d ; 各ショウジョウバエの目は 800 の単眼を有し、その各々は、
g d ; 8 つの光受容体細胞 (R 1 - R 8 と命名される) を含有し : R 1 - R 6 は外側細胞であり、
g d ; 他方、R 7 および R 8 は内部細胞である。オプシン RH 3 および RH 4 は紫外光に対して感受性である [5 - 7] 。
- g d ; オプシン RH 3 RH 4 は、RH 3 および RH 4 オプシンについてのシグネチャーを提供する 7 - エLEMENT のフィンガープリントである。
g d ; 該フィンガープリントは 5 つの配列の最初の整列に由来し :
g d ; モチーフはループまたは N - および C - 末端領域いずれか内の保存されたセクションから描かれ、 40
g d ; RH 3 / RH 4 オプシンを特徴付ける整列のそれらの領域に焦点を当てているが、
g d ; それらをロドプシン様スーパーファミリーの残りから区別し -
g d ; モチーフ 1 および 2 は N - 末端に存在する ;
g d ; モチーフ 3 は最初の外部ループにわたり ; モチーフ 4 は第二の外部ループに存在し ;
g d ; モチーフ 5 は TM ドメイン 5 の C - 末端半分にわたり ;
g d ; モチーフ 6 は第三の細胞質ループに存在し ;
g d ; およびモチーフ 7 は C - 末端に存在する。
g d ; OWL 28 . 1 上の単一の反復は収束に到達することが要求され、
g d ; 出発組を超えてさらなる配列は同定されない。 50

g d ;			
c; オブシンRH3RH43			
i l ; 12			
i t ; オブシンRH3/RH4モチーフ III - 1			
id; IFNSFHRGFAIY	OPS4_DROME	109	52
id; IYNSFHRGFALG	OPS4_DROPS	112	54
id; IYNSFHRGFALG	OPS4_DROVI	115	54
id; IYNSFHQGYALG	OPS3_DROME	115	54
id; IYNSFHQGYALG	OPS3_DROPS	114	54
bb;			
fc; オブシンRH3RH43			
f l ; 12			
f t ; オブシンRH3/RH4モチーフ III - 2			
fd; IYNSFHRGFALG	OPS4_DROVI	115	54
fd; IYNSFHQGYALG	OPS3_DROME	115	54
fd; IYNSFHRGFALG	OPS4_DROPS	112	54
fd; IYNSFHQGYALG	OPS3_DROPS	114	54
fd; IFNSFHRGFAIY	OPS4_DROME	109	52
fd; IYNSFHTGFATG	061474	105	54
fd; IYNSFNTGFATG	061473	106	54
fd; IYNSFNTGFALG	OPSV_API ME	105	54
fc; オブシンRH3RH47			
f l ; 19			
f t ; オブシンRH3/RH4モチーフ VII - 2			
fd; RMELQKRCPWLA IDEKAPE	OPS4_DROVI	346	62
fd; RMELQKRCPWLALNEKAPE	OPS3_DROME	346	62
fd; RMELQKRCPWLGVNEKSGE	OPS4_DROPS	343	62
fd; RMELQKRCPWLA ISEKAPE	OPS3_DROPS	345	62
fd; RLELQKRCPWLGVNEKSGE	OPS4_DROME	342	62
fd; RLELQKRLPWLELQEKPVA	061474	336	62
fd; RLELQKRLPWLELQEKP I E	061473	337	62
fd; RLELQKRLPWLELQEKP I S	OPSV_API ME	336	62

A R Gリッチ

プロサイト - プロフィール

A R Gリッチ アルギニン - リッチ領域

N L S__BP 2つから成る核1o

配列 g b C s C t 3 8 . 2 i k n . 1 . 7 2 6 を用いる P F S C A N

およびプロフィール P R F D I R : プロサイト。プロフィール、

用いたコマンド・ライン・パラメーター :

- C U T L E V = - 1

. . .							
スコア	生	配列 - f	配列 - t	プロフィール - f	プロフィール - t	名称	
記載							
30.1607	170	4 -	67	1 -	2	ARG_リッチ	アルギニン - リッチ領域
4.0000	4	10 -	26	1 -	17	NLS_BP	2つから成る核1o
4.0000	4	32 -	46	1 -	17	NLS_BP	2つから成る核1o
5.0000	5	52 -	66	1 -	17	NLS_BP	2つから成る核1o

10

20

30

40

50

配列 gbDhDi43.4rp.1.765 を用いる PFSCAN

およびプロフィール PRFDIR: プロサイト。プロフィール、2010年10月15日 15:31

用いたコマンド・ライン・パラメーター:

- C U T L E V = - 1

..

スコア	生	配列 - f	配列 - t	プロフィール - f	プロフィール - t	名称
記載						

33.0880	187	9 -	73	1 -	2	ARG_リッチ アルギニン - リッチ
---------	-----	-----	----	-----	---	---------------------

領域

10

配列 zpr5.B4.12dk.209 を用いる PFSCAN

用いたコマンド・ライン・パラメーター:

- C U T L E V = - 1

..

スコア	生	配列 - f	配列 - t	プロフィール - f	プロフィール - t	名称
記載						

30.1607	170	4 -	67	1 -	2	ARG_リッチ アルギニン - リッチ
---------	-----	-----	----	-----	---	---------------------

領域

20

配列 zc55s.B4.18dek.117 を用いる PFSCAN

およびプロフィール PRFDIR: プロサイト。プロフィール、

用いたコマンド・ライン・パラメーター; - C U T L E V = - 1

..

スコア	生	配列 - f	配列 - t	プロフィール - f	プロフィール - t	名称
記載						

18.7959	104	4 -	85	1 -	2	ARG_リッチ アルギニン - リッチ
---------	-----	-----	----	-----	---	---------------------

領域

30

配列 zc37.B9.2de.p1 を用いる PFSCAN

用いたコマンド・ライン・パラメーター; - C U T L E V = - 1

..

スコア	生	配列 - f	配列 - t	プロフィール - f	プロフィール - t	名称
記載						

24.3061	136	7 -	86	1 -	2	ARG_リッチ アルギニン - リッチ
---------	-----	-----	----	-----	---	---------------------

領域

プロタミン1およびプロタミン2

BLKPROBバージョン 5 / 21 / 00 . 1

データベース=/gcg/husar/gcgdata/gcgblimps/blockspplus.dat

40

クエリ=gbCsCt38.2ikn.1.726 長さ:サイズ=726 アミノ酸

ファミリー	ストランド	ブロック	合わせた E - 値
-------	-------	------	------------

IPB000221	プロタミンP1	1	1 of 1	1.3e-09
-----------	---------	---	--------	---------

HSP1_CHICK P15340	1	ARYRRSRTSRSPRSRRRRRRSRRRRSPRRRRRY
-------------------	---	-----------------------------------

IPB000492	プロタミン2, PRM2	1	1 of 2	2.2e-09
-----------	--------------	---	--------	---------

HSP2_PIG P19757	55	HTRRRRSCRRRRRRACRHRRHRRGCRRI RRRRRRCR
-----------------	----	---------------------------------------

50

クエリ=gbDhDi43.4rp.1.765 長さ: 765
 ファミリー スtrand ブロック 合わせた E - 値
 IPB000221 プロタミンP1 1 1 of 1 1.2e-11
 HSP1_DIDMA|P35305 1 ARYRRRSRSRSRSRYGRRRRRSRSRRRSRRRRR
 IPB000492 プロタミン2, PRM2 1 1 of 2 2.8e-10
 HSP2_CALJA|Q28337 69 RRRSRSCRRRRRRSCRYRRRPRRGCRSRRRRRCRR

クエリ=rheu.ef.242.746 長さ: 746
 ファミリー スtrand ブロック 合わせた E - 値
 IPB000492 プロタミン2, PRM2 1 1 of 2 1.4e-08
 HSP2_CALJA|Q28337 69 RRRSRSCRRRRRRSCRYRRRPRRGCRSRRRRRCRR
 IPB000221 プロタミンP1 1 1 of 1 1.5e-07
 HSP1_DIDMA|P35305 1 ARYRRRSRSRSRSRYGRRRRRSRSRRRSRRRRR

10

クエリ=uro705rev.1a.74 長さ: 74
 I P B 0 0 0 2 2 1 プロタミン P 1 1 / 1 は合わせた E - 値をブロックする = 2 . 8
 e - 1 2

20

HSP1_DIDMA|P35305 1 ARYRRRSRSRSRSRYGRRRRRSRSRRRSRRRRR
 I P B 0 0 0 4 9 2 プロタミン 2 , P R M 2 1 / 2 は合わせた E - 値をブロックする
 = 2 . 3 e - 1 0
 HSP2_CALJA|Q28337 69 RRRSRSCRRRRRRSCRYRRRPRRGCRSRRRRRCRR

クエリ=zpr5.B4.12dk 長さ: 209
 IPB000221 プロタミン P 1 1 1 of 1 4.1e-10
 HSP1_CHICK|P15340 1 ARYRRSRTRSRSPRSRRRRRRSGRRRSPRRRRRY
 IPB000492 プロタミン 2 , P R M 2 1 1 of 2 7.1e-10
 HSP2_PIG|P19757 55 HTRRRRSCRRRRRRACRHRRHRRGCRRI RRRRRRCR

30

クエリ=zc55s.B4.18dek.117 長さ: 117
 ファミリー スtrand ブロック 合わせた E - 値
 IPB000492 プロタミン 2 , P R M 2 1 1 of 2 3.4e-05
 Q91V94|Q91V94_MESAU63 HRRRRSCRRRRRRHSCRHRRRHRRGCRRSRRRRRCR
 IPB000221 プロタミン P 1 1 1 of 1 0.0013
 HSP1_MOUSE|P02319 1 ARYRCCRSKRSRSCRRRRRRRCRRRRRRCCRRRRR

クエリ=zc37.B9.2de.p1 長さ: 918
 ファミリー スtrand ブロック 合わせた E - 値
 IPB000492 プロタミン 2 , P R M 2 1 1 of 2 2.8e-05
 HSP2_ERYPA|Q9GKM0 69 RRRHRSCRRRRRRSCRHRRRHRRGCRTRRRRRRCRRY
 IPB000221 プロタミン P 1 1 1 of 1 0.0001
 HSP1_CAVPO|P35304 1 ARYRCCRSPSRSCRRRRRRFYRRRRRCHRRRRR

40

例として提示された配列：
 以下の全長ゲノム (T T V)
 gbCsCt38.2ikn.1.726 (TTV-HD15, ORF1=726aa)
 gbDhDi43.4rp.1.765 (TTV-HD16, ORF1=765aa)
 rheu.ef.242.746 (TTV-HD19, ORF1=746aa)

50

uro705rev.1a.74 (TTV-HD18, ORF1a=74aa)

以下の全長ゲノム (μ T T V) :

zpr5.B4.12dk (mTTV-HD15. ORF=208aa)

(- からの) 転写体 :

zc55s.B4.18dek.117 (TTV-HD15, ORF=117aa)

zc37.B9.2de.p1 (TTV-HD20, ORF=109aa)

10

ガラニン :

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

HMMファイル: smart.hmm

配列ファイル: gbDhDi33.33ik.1c.417

ガラニン : 1 のドメイン 1、264 から 367 : スコア - 22.9、E = 6.5

*->at IGLgsPvkekrGWtLnsAGYLLGPHAI dnHRsFsdKhGLtgKREL
t L P + r + s LGP ++ ++G+ +KR +

20

gbDhDi33.3 264 SHELDPDRHPRMLQV-SDPTKLGPKT--AFHKWDWRRGMLSKRSI 307

e..pEdearpGsfdrpIses.nivrtiiefLsfLhLkeaGaLdrLpgIPa
++ Ed +++pl+ ++n t + L+ L +

gbDhDi33.3 308 KrvQEDSTDDEYVAGPLPRKrNKFDTRVQGPPTPEKESYTLQLQESGQ 357

aasseDlers<- *
sseD e++

gbDhDi33.3 358 ESSSEDQEQA 367

30

gbDfDg33.48ikn.1b.179

ガラニン : 1 のドメイン 1、26 から 129 : スコア - 21.0、E = 3.9

*->at IGLgsPvkekrGWtLnsAGYLLGPHAI dnHRsFsdKhGLtgKREL
t L P + r + s LGP + ++ ++G+ +KR +

gbDfDg33.4 26 SHELDPDRHPRMLQV-SDPTKLGPKTV--FHKWDWRRGMLSKRSI 69

e..pEdearpGsfdrpIses.nivrtiiefLsfLhLkeaGaLdrLpgIPa
++ Ed +++pl+ ++n t + L+ L +

gbDfDg33.4 70 KrvQEDSTDDEYVAGPLPRKrNKFDTRVQGPPTPEKESYTLQLQESGQ 119

aasseDlers<- *
sseD e++

gbDfDg33.4 120 ESSSEDQEQA 129

40

HMMファイル: smart.hmm

配列ファイル: gbDhDi33.32ikn.1.648

ガラニン : 1 のドメイン 1、495 から 598 : スコア - 24.5、E = 9.7

*->at IGLgsPvkekrGWtLnsAGYLLGPHAI dnHRsFsdKhGLtgKREL
t L P + r + s LGP + ++ ++G+ +KR +

gbDhDi33.3 495 SHELDPDRHPRMLQV-SDPTKLGPKTV--FHKWDWRRGMLSKRSI 538

50

```

      .epEdearpGs.fdrplses.nivrtiiefLsfLhLkeaGaLdrLpglPa
      ++ + G +++pl+ ++n t + L+ L +
gbDhDi33.3 539 KRVQGDSTDGEyVAGPLPRKrNKFDTRVQGPPPTPEKESYLLQALQESGQ 588

```

```

      aasseDlers<-*
      sseD e++
gbDhDi33.3 589 ESSSEDQEQA 598

```

gbDfDg33.45ikn.1b.210

ガラニン：1のドメイン1、57から160：スコア-23.1、E=6.8

```

      *->atIGLgsPvkekrGWtLnsAGYLLGPHaidnHRsFsdKhGLtgKREL
      t L P + r + s LGP + ++ +G+ +KR +
gbDfDg33.4 57 SHELDPDRHRPMLQV-SDPTKLGPKTV--FHKWDWGRGMLSKRSI 100

```

```

      e..pEdearpGs.fdrplses.nivrtiiefLsfLhLkeaGaLdrLpglPa
      ++ Ed +++pl+ ++n t + L+ L +
gbDfDg33.4 101 KrVQEDSTDDEYVAGPLPRKrNKFDTRVQGPPPTPEKESYLLQALQESGQ 150

```

```

      aasseDlers<-*
      sseD e++
gbDfDg33.4 151 ESSSEDQEQA 160

```

プレキシン/セマフォリン/インテグリンタイプの反復シグネチャー
 HMMER 2.3.2 (2003年10月)
 著作権(C)1992-2003 HMI/ワシントン大学医学部
 GNU一般公衆利用許諾(GPL)下で自由に頒布

HMMファイル：smart.hmm
 配列ファイル：gbDhDi33.32ikn.1.648

psinew7：1のドメイン1、341から394：スコア-16.8、E=3.9

```

      *->rCsqygv...tsCseClIardpyg.....CgWCssegrCtrg.erC
      Cs +++ +t+ s C+I++ p + C W + +Ct +++++
gbDhDi33.3 341 WCSEKSSkIdTTKSKILRDFPLWamaygyCDWVV--KCTGVsSAW 384

```

```

      derrgsrqnwssgpssqCp<-*
      + +r+ + Cp
gbDhDi33.3 385 TDMRI----AI-----ICP 394

```

Interpro:IPR003659 プレキシン/セマフォリン/インテグリン
 エlement定義を示すためにはマウスを移動させる。元のデータを示すためにはクリック
 する。

【0047】

【表1】



IPR003659; IPR016201; (プレキシン様)は1383蛋白質にマッチする。短い名称 プレキシン様フルネーム

10

20

30

40

50

プレキシソノセマフォリンノインテグリン型反復シグネチャー SMART:SM00423 PSI

子供 I P R 0 1 6 2 0 1 プレキシソノ様折り畳み (6 1 9 の蛋白質にマッチする) 。 I P R 0 1 2 0 1 3 において、インテグリンベータ - サブユニット (9 の蛋白質にマッチする) 。

I P R 0 2 0 7 0 7 チロシン - 蛋白質キナーゼ、肝細胞成長因子レセプター (3 2 の蛋白質にマッチする) 。

I P R 0 2 0 7 3 9 チロシン - プロテインキナーゼ、M S P 受容体 (1 8 の蛋白質にマッチする) 。要約。これはプレキシソノ、セマフォリンおよびインテグリンにおいて見出されたドメインである。プレキシソノは神経および上皮組織の発達に参与している ; セマフォリンはニューロン成長円錐の崩壊および麻痺を誘導し ; およびインテグリンは上皮細胞の接着または移動機能を媒介することができる。例。 - - - - -

10

H M M ファイル : smart.hmm
配列ファイル : gbDhDi33.31ikn.1.712

p s i n e w 7 : 1 のドメイン 1、3 4 1 から 3 7 8 : スコア - 1 4 . 4、E = 2 . 3

*->rCsqygv...tsCseCllardpygCgWCssegrCtrgerCderrgsr
Cs +++ ++ s C+++ p W +++++Cd

20

gbDhDi33.3 341 WCSEKSSKldTTKSKCILRDFP---LWA-----MAYGHCD----- 372

qnwssgppsqqCp<-*
w+ +C+

gbDhDi33.3 373 --WVW----KCT 378

ガストリン

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

30

H M M ファイル : prints.hmm
配列ファイル : gbDhDi33.32ikn.1.648

ガストリン : 1 のドメイン 1、5 4 1 から 5 5 9 :

->vaGEDsDGCyvq..LPRsR<-
v G+ DG yv ++LPR R

gbDhDi33.3 541 VQGDDSTDGEYVAgpLPRKR 559

g c ; ガストリン R

g x ; P R 0 0 5 2 7

40

g n ; 化合物 (9)

g a ; 1 9 9 6 年 6 月 3 日 ; 更新 1 9 9 9 年 6 月 1 0 日

g t ; ガストリン受容体シグネチャー

gp ; PRINTS ; PR00237 GPCRRHODOPSN ; PR00247 GPCRCAMP ; PR00248 GPCRMGR

gp ; PRINTS ; PR00249 GPCRSECRETIN ; PR00250 GPCRSTE2 ; PR00899 GPCRSTE3

gp ; PRINTS ; PR00251 BACTRLOPSIN

gp ; PRINTS ; PR01822 CCYSTOKININR ; PR00524 CCYSTOKININAR

gp ; INTERPRO ; IPR000314

gr ; 1. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

g r ; フィンガープリンティング G プロテイン - カップルド受容体。

50

g r ; P R O T E I N E N G . 7 (2) 1 9 5 - 2 0 3 (1 9 9 4) .

【 0 0 4 8 】

ガストリンおよびコレシストキニン (C C K) は共通の C - 末端配列 G W M D F を共有する天然に生じるペプチドである ;

g d ; 全生物学的活性は

g d ; この領域 [6] に存在する。問題とする主たるガストリンの生理学的役割は胃における酸分泌を刺激することであり ;

g d ; それは胃の粘膜に対する栄養性効果も有する [6] 。

g d ; ガストリンは単一の遺伝子転写体から生成され、

g d ; および、大部分は胃および腸において見出されるが、迷走神経においても見出される。 10

g d ; C C K B 受容体は C N S において広く普及した分布を有し、および

g d ; C C K - 関連ペプチドによって引き起こされた恐慌 - 不安攻撃の病因において示されている [6] 。

g d ; 末梢においては、より限定された分布を有し

g d ; そこでは、それは平滑筋および分泌腺で見出されている。

g d ; ガストリン R は、ガストリン (C C K B) 受容体についてのシグネチャーを提供する 9 - エレメントフィンガープリントである。

g d ; フィンガープリントは 5 つの配列の最初の整列に由来し :

g d ; モチーフはループまたは N - および C - 末端領域いずれか内の保存されたセクションから引き出され、 20

g d ; ガストリン受容体を特徴付けるが、

g d ; それらをロドプシン様スーパーファミリーの残りから識別する整列の領域に焦点を当て -

g d ; モチーフ 1 および 2 は N - 末端に存在し ;

g d ; モチーフ 3 は第一の外部ループにわたり ;

g d ; モチーフ 4 は第二の細胞質ループにわたり ; モチーフ 5 および 6 は第二の外部ループにわたり ;

g d ; モチーフ 7 および 8 は第三の細胞質ループにわたり ;

g d ; およびモチーフ 9 は C - 末端に存在する。 O W L 2 8 . 0 上の 2 つの反復が収束に到達するのに必要であり、 30

g d ; その時点で、 7 つの配列を含む真の組が同定された。

g d ; いくつかの部分的マッチも見出され、その全てはガストリン断片、

g d ; またはコレシストキニンタイプ A 受容体ファミリーの膜である。

f c ; ガストリン R 8

f l ; 7

f t ; ガストリンレセプターモチーフVIII - 2

f d ; L A G E D G D G C Y V Q L P R S R G A S R _ R A B I T 288 31

f d ; V A G E D N D G C Y V Q L P R S R G A S R _ P R A N A 289 30

f d ; L A G E D G D G C Y V Q L P R S R G A S R _ B O V I N 290 31

f d ; A V G E D S D G C Y V Q L P R S R G A S R _ H U M A N 285 26

f d ; L A G E D G D G C Y V Q L P R S R G A S R _ C A N F A 289 29

f d ; L T G E D S D G C Y V Q L P R S R G A S R _ M O U S E 291 32

f d ; V A G E D S D G C C V Q L P R S R G A S R _ R A T 290 31

コラゲナーゼ

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

10

20

30

40

50

H M M ファイル : pfam.hmm
配列ファイル : rheu.ef.241.736

ペプチダーゼ_M 9 : 1 のドメイン 1、1 2 5 から 4 1 2 : スコア - 1 5 2 . 5、E = 7 . 5

```

      *->msrIaelyllGdsiKgrhDnIWLaaaemIsYyApegkseIgidicqa
            l ly          r n W + +e l+      g+      +
rheu.ef.24  125  --TLRILYDEF----TRFMNFWTVSNEDLDLCRYVGCKLIF--FKHP 163

      klelaakVIPy..IyeCsgpaa.irsqldtdgqaAsaCdiIrnkekd fhq
      + +      + +++++      +++++a+i      + ++      +l      h+
rheu.ef.24  164  TVDFIVQINTQppFLDTHLTAAAsIHPGIMMLSKRRILIPSLKTRPSRKHR 213

      vkytGktPVaDDgnt rveVgvfvseedykrYSafaSKEVkaqFgrvtdNG
      v+      V      ++ +      d + +S fa      t +
rheu.ef.24  214  VVVR----VGAPRLFQDKWYPQSDLCDTVLLSIFA-----TACD 248

      GmYLEGNPsdagNqvrF..iAYEeakInadIlsigNlehEYthY...LDgR
      +Y G P      + v+F+      + + k      ++s N+e + thY+++L +
rheu.ef.24  249  LQYPFGSPLTENPCVNFqiLGPYHYKKHL-SISSTNDETnkthYesnLFNK 297

      fdtYGtFsrnleeshivWwEGfAEYvhYkqgGvPyqaApeIlgqgskly
      +Y tF      ++      + e G+      v      v ++      + ++g      +
rheu.ef.24  298  TELYNTFQTI AQ-----LKETGRTSGVNPWTSVQNTTPLNQAGNN--A 339

      lsdvftTTeGyAEIFAGShDtdRlyRWGYLA.vrf.....mletnHnr
      ++ + t++      G + d l      +++++rf++ + ++l n +
rheu.ef.24  340  QNSRDTWY---K-----GNTYNDNISKLAElTrQRFksatisALP-NYPT 380

      dvesllvhsRyGnsfafyaylvkllgymYnnefgiw<-*
      + ++l ++ +G      y+ ++ +g Y      g++
rheu.ef.24  381  IMSTDLYEYHSG----IYSSIFLSAGRSYFETTGay 412

```

rheu.ef.241.736

ペプチダーゼ_M 9 : 1 のドメイン 1、1 2 5 から 4 1 2 : スコア - 1 5 2 . 5、E = 7 . 5

```

      *->msrIaelyllGdsiKgrhDnIWLaaaemIsYyApegkseIgidicqa
            l ly          r n W + +e l+      g+      +
rheu.ef.24  125  --TLRILYDEF----TRFMNFWTVSNEDLDLCRYVGCKLIF--FKHP 163

      klelaakVIPy..IyeCsgpaa.irsqldtdgqaAsaCdiIrnkekd fhq
      + +      + +++++      +++++a+i      + ++      +l      h+
rheu.ef.24  164  TVDFIVQINTQppFLDTHLTAAAsIHPGIMMLSKRRILIPSLKTRPSRKHR 213

      vkytGktPVaDDgnt rveVgvfvseedykrYSafaSKEVkaqFgrvtdNG
      v+      V      ++ +      d + +S fa      t +
rheu.ef.24  214  VVVR----VGAPRLFQDKWYPQSDLCDTVLLSIFA-----TACD 248

      GmYLEGNPsdagNqvrF..iAYEeakInadIlsigNlehEYthY...LDgR
      +Y G P      + v+F+      + + k      ++s N+e + thY+++L +
rheu.ef.24  249  LQYPFGSPLTENPCVNFqiLGPYHYKKHL-SISSTNDETnkthYesnLFNK 297

```

rheu.ef.24 249 LQYPFGSPLTENPCVNFqiLGPHYKKHL-SISSTNDETnkthYesnLFNK 297

fdtYGTfSrnleeshivWwEGfAEYvhYkqgGvPyqaApel igqgskly
+Y tF ++ + e G+ v v ++ + ++g +

rheu.ef.24 298 TELYNTFQTI AQ-----LKETGRTSGVNPWTSVQNTTPLNQAGNN---A 339

lsvdfTTeeGyAEIFAGShDtdRlyRWGYLA.vrf.....mletnHnr
++ + t++ G + d l +++++rf++ + ++l n +

rheu.ef.24 340 QNSRDTWY---K-----GNTYNDNISKLAELTrQRfksatisALP-NYPT 380

dvesllvhsRyGnsfafyaylvkllgymYnnefgiw<-*
+ ++l ++ +G y+ ++ +g Y g++

rheu.ef.24 381 IMSTDLYEYHSG----IYSSIFLSAGRSYFETTGay 412

10

= G F I D ペプチダーゼ__M9

= G F A C P F 0 1 7 5 2 . 9

= G F D E コラゲナーゼ

= G F A U ベイトマン A

= G F S E S W I S S - P R O T

= G F R M 7 5 8 2 0 1 7

= G F R T V i b r i o p a r a h a e m o l y t i c u sからの細胞外プロテ
アーゼ遺伝子の

= G F R T 分子分析。

#=GF RA Lee CY, Su SC, Liaw RB;

#=GF RL Microbiology 1995;141:2569-2576.

#=GF RM 8282691

#=GF RT Purification and characterization of Clostridium perfringens

#=GF RT 120- kilodalton collagenase and nucleotide sequence of the

#=GF RT corresponding gene.

#=GF RA Matsushita O, Yoshihara K, Katayama S, Minami J, Okabe A;

#=GF RL J Bacteriol 1994;176:149-156.

#=GF DR INTERPRO; IPR013510;

#=GF DR MEROPS; M9;

#=GF CC This family of enzymes break down collagens.

20

30

コラーゲンらせん反復

B L K P R O Bバージョン 5 / 2 1 / 0 0 . 1

データベース=/gcg/husar/gcgdata/gcgblimps/blocksplus.dat

=====
著作権 (C) 1 9 9 2 - 6 フレッド・ハッチンソン・ガン研究センター

研究において B L O C K Sを用いた場合には、Steven Henikoff and
Jorja G. Henikoff, Protein Family Classification Based on Searching a Database of B l o c k s, Genomics 19:97-107(1994)を引用されたい。

=====
各番号の結果はプロサイト (P R O S I T E) またはプリント (P R I N T S) からの
1 以上のブロックよりなる。

=====
g b D h D i 3 3 . 3 5 i k n . 2 . 1 2 8 . p e p

ファミリー スtrand ブロック 合わせた E

40

50

- 値

IPB008161 コラーゲンらせん反復 1 1の1 0.0077

> IPB008161 1/1は合わせたE-値をブロックする = 0.0077 : コラーゲンらせん反復

ブロック フレーム 位置 (a a) ブロック E - 値
IPB008161 0 49-91 0.007

他の報告された整列:

IPB008161 <->
016787|016787_CAEEL143 GAPGPPGLPGPKGPRGPAGIEGKPGRLGEDNRP GPPGPPGVRG 10
| | || | ||| | | | | | |
gbDhDi33.35ikn.2.1 49 GPPRPPPGLDQLNPEGPAGPGGPPA|LPALPAPADPEPAPRRG

クエリ=rheu.ef.241.148 長さ: 148 タイプ: P

> IPB008161 1/1は合わせたE-値をブロックする = 0.0075 : コラーゲンらせん反復

ブロック フレーム 位置 (a a) ブロック E - 値
IPB008161 0 67-109 0.0068

他の報告された整列:

IPB008161 <-> 20
Q9L470_STAEP 1076 GKPAEPGKPAEPGKPAEPGTPAEPGKPAEPGTPAEPGKPAEPG
| | || | | || || | ||| |
rheu.ef.241.148 67 HLATTTLGRPPRPGPPGGPRTPQIRnLPALPAPQGEPGDRATWR

クエリ=rheu.ef.238rev.148_2774.sreformat 長さ: 148

> IPB008161 1/1は合わせたE-値をブロックする = 0.0075 : コラーゲンらせん反復

ブロック フレーム 位置 (a a) ブロック E - 値
IPB008161 0 67-109 0.0068 30

他の報告された整列:

IPB008161 <->
Q9L470_STAEP 1076 GKPAEPGKPAEPGKPAEPGTPAEPGKPAEPGTPAEPGKPAEPG
| | || | | || || | ||| |
rheu.ef.238rev.148 67 HLATTTLGRPPRPGPPGGPRTPQIRnLPALPAPQGEPGDRATWR

HMMER 2.3.2 (2003年10月)

著作権 (C) 1992 - 2003 HHMI / ワシントン大学医学部 40

GNU一般公衆利用許諾 (GPL) 下で自由に頒布

HMMファイル: pfam.hmm

配列ファイル: rheu.ef.241.148

コラーゲン: 1のドメイン1、73から133: スコア - 74.8、E = 3.5

*->GppGppGppGppGppGppGppGpaGapGppGppGe.pGpPGppGppG
G+p +pGppG p p + p + ++G+pG++ +G+ G++ + G

rheu.ef.24 73 GRPPRPGPPGGPRTPQIRNLPALPAPQGEPGDRATwRGASGADAAGG 119

ppGppGapGapGpp<- * 50

G++Ga+G

rheu.ef.24 120 DGGERGADGGDPGD 133

r h e u . e f . 2 3 8 r e v . 1 4 8
 コラーゲン コラーゲン三重らせん反復 (2 0 コピー)
 コラーゲン : 1 のドメイン 1、73 から 133 : スコア - 74 . 8、E = 3 . 5
 *->GppGppGppGppGppGppGppGppGpaGapGppGppGe.pGpPGppGppG
 G+p +pGppG p p + p + ++G+pG++ +G+ G++ + G
 rheu.ef.23 73 GRPPRPGPPGGPRTPQIRNLPALPAPQGEPEGDRATwRGASGADAAGG 119
 ppGppGapGapGpp<-*
 G++Ga+G

rheu.ef.23 120 DGGERGADGGDPGD 133

= G F I D コラーゲン
 # = G F A C P F 0 1 3 9 1 . 1 0
 # = G F D E コラーゲン三重らせん反復 (2 0 コピー)
 # = G F A U ベイトマン A、E d d y S R
 # = G F S E S w i s s p r o t
 # = G F T P 反復

#=GF BM hmmbuild -F --prior PRIORHMM_ls.ann SEED.ann 20
 #=GF BM hmmcalibrate --seed 0 HMM_ls
 #=GF BM hmmbuild -f -F --prior PRIORHMM_fs.ann SEED.ann
 #=GF BM hmmcalibrate --seed 0 HMM_fs
 #=GF AM byscore
 #=GF RM 8240831
 #=GF RT コラーゲンスーパーファミリーの新しいメンバー
 #=GF RA Mayne R, Brewton RG;
 #=GF RL Curr Opin Cell Biol 1993;5:883-890.
 #=GF DR INTERPRO; IPR008160;
 #=GF DR SCOP; 1a9a; fa; 30
 #=GF DR MIM; 240400;

= G F D C 壊血病はコラーゲンに関連する。
 # = G F C C このファミリーのメンバーはコラーゲンスーパーファミリー [1] に属
 する。
 # = G F C C コラーゲンは、一般に、結合組織構造の形成に關与する、
 # = G F C C 細胞外構造蛋白質である。整列は、
 # = G F C C 三重らせんを形成する G - X - Y 反復の 2 0 コピーを含有する。
 # = G F C C 該反復の第一の位置はグリシンであり、
 # = G F C C 第二および第三の位置は頻りにプロリンおよびヒドロキシプロリンであ
 るいずれかの残基であり得る。 40
 # = G F C C コラーゲンは、プロリンヒドロキシラーゼによって翻訳後に修飾されて
 、
 # = G F C C ヒドロキシプロリン残基を形成する。
 # = G F C C 欠陥があるヒドロキシル化は壊血病の原因である。
 # = G F C C コラーゲンスーパーファミリーのいくつかのメンバーは結合組織構造に
 關与しないが、
 # = G F C C 同一の三重らせん構造
 # = G F C C を共有する。

HMMER 2.3.2 (2003年10月)

著作権 (C) 1992 - 2003 HHMI / ワシントン大学医学部

GNU一般公衆利用許諾 (GPL) 下で自由に頒布

HMMファイル: pfam.hmm
配列ファイル: gbDhDi33.34ik.2.128

MSSP: 1のドメイン1、59から116:スコア-9.5、E=8.9

*->vgGPCgpCGPCggpcCGsccsPCg.gpCgPCgpCGpCGPccggCGPC

P gp GP g+p+ P ++p P p CG ++ g

gbDhDi33.3 59 QLNPEGPAGPGPPAIL----PALpAPADPE-PAPRCGGRADGGAAA 100

GpCGPCCGttekycGI<-*

G t + l

gbDhDi33.3 101 GAAADADHTGYEEGDL 116

#=GF ID MSSP

#=GF AC PF03940.5

= G F D E 雄特異的精子蛋白質

ショウジョウバエ蛋白質のこのファミリーでは、反復モチーフC-G-Pが典型的である

。

微生物コラゲナーゼメタロプロテアーゼ (M9) シグネチャー

HMMER 2.3.2 (2003年10月)

著作権 (C) 1992 - 2003 HHMI / ワシントン大学医学部

GNU一般公衆利用許諾 (GPL) 下で自由に頒布

HMMファイル: prints.hmm
配列ファイル: gbDhDi43.4rp.1.765

MICOLLPTASE__1: 1のドメイン1、311から328:スコア5.3、E=5.77

->gletLvefIRAGYYvrfyn<-

le+ +++ RA Y f++

gbDhDi43.4 311 TLEN-ILYTRASYWNSFHA 328

MICOLLPTASE

gx; PR00931

gn; 化合物(5)

ga; 1998年9月9日; 更新1999年6月7日

gt; 微生物コラゲナーゼメタロプロテアーゼ (M9) シグネチャー

gp; PRINTS; PR00756 ALADIPTASE; PR00791 PEPDIPTASEA; PR00730 THERMOLYSIN

gp; PRINTS; PR00787 NEUTRALPTASE; PR00782 LSHMANOLYSIN; PR00997 FRAGILYSIN

gp; PRINTS; PR00786 NEPRILYSIN; PR00765 CRBOXYPTASEA; PR00932 AMINO1PTASE

gp; PRINTS; PR00789 OSIALOPTASE; PR00933 BLYTICPTASE; PR00934 XHISDIPTASE

gp; PRINTS; PR00919 THERMOPTASE; PR00998 CRBOXYPTASET; PR00768 DEUTEROLYSIN

gp; PRINTS; PR00999 FUNGALYSIN; PR01000 SREBPS2PTASE

gp; INTERPRO; IPR002169

gp; PROSITE; PS00142 ZINC_PROTEASE

gp; PFAM; PF00099

10

20

30

40

50

- gr; 1. RAWLINGS, N.D. AND BARRETT, A.J.
 gr; Evolutionary families of metallopeptidases.
 gr; METHODS ENZYMOL. 248 183-228 (1995).
- gr; 2. RAWLINGS, N.D. AND BARRETT, A.J.
 gr; MEROPS - Peptidase Database
 gr; <http://www.bi.bbsrc.ac.uk/merops/merops.htm>
- gr; 3. RAWLINGS, N.D. AND BARRETT, A.J.
 gr; Family M9 - Clan MA - Microbial collagenase
 gr; <http://www.bi.bbsrc.ac.uk/merops/famcards/m9.htm>
- gr; 4. BARRETT, A.J., RAWLINGS, N.D. AND WOESSNER, J.F. 10
 gr; Vibrio collagenase.
 gr; IN HANDBOOK OF PROTEOLYTIC ENZYMES, ACADEMIC PRESS, 1998, PP.1096-1098.
- gr; 5. BARRETT, A.J., RAWLINGS, N.D. AND WOESSNER, J.F.
 gr; Clostridium collagenases.
 gr; IN HANDBOOK OF PROTEOLYTIC ENZYMES, ACADEMIC PRESS, 1998, PP.1098-1102.
- gr; 6. MATSUSHITA, O., YOSHIHARA, K., KATAYAMA, S., MINAMI, J. AND OKABE, A.
 gr; Clostridium perfringens 120 - キロダルトンコラゲ
 ナーゼおよび対応する遺伝子のヌクレオチド配列の
 gr; 精製および特徴付け
 gr; J. BACTERIOL. 176 149 - 156 (1994). 20
 gd; メタロプロテアーゼはプロテアーゼの4つの主なタイプの最も多様なものであり、
 gd; 30を超えるファミリーが今日までに同定されている [1]。これらのうち、
 gd; 半分程度が H E X X H モチーフを含有し、それは結晶学的実験において、金属結合
 部位 [1] の一部を形成することが示されている、
 gd; H E X X H モチーフを含有する。H E X X H モチーフは、
 gd; 比較的普通であるが、a b X H E b b H b c としてのメタロプロテアーゼについて
 より厳格に定義することができ、
 gd; ここにおいて、a は最もしばしばバリンまたはスレオニンであり、および
 gd; サーモリシンおよびネプリリシンにおいて S 1 ' サブ部位の一部を形成し、
 gd; b は非荷電残基であり、および c は疎水性残基である。プロリンは、 30
 gd; この部位で決して見出されず、
 gd; 恐らくは、それはメタロプロテアーゼにおけるこのモチーフによって採用された
 gd; らせん構造を破壊するだろうからである [1]。
 gd; メタロプロテアーゼはそれらの金属結合残基に基づいて5つの群に分けることが
 できる：
 gd; 第一の3つは H E X X H モチーフを含有し、
 gd; 他の2つはそうではない [1]。第一の群において、グルタミン酸は活性な部位を
 完成し -
 gd; これらは H E X X H + E と名付けられ：この群における全てのファミリーはいくつ
 かの配列の関係を示し、 40
 gd; および族 M A が割り当てられている [1]。過剰な金属結合残基として第三のヒス
 チジンを有する第二の群は、
 gd; H E X X H + H と名付けられており、
 gd; およびそれらの関係間に基づいて族 M B にグループ分けされている [1]。
 gd; 第三の群において、さらなる金属結合残基は未だ同定されていない。
 gd; 第四の群は多様であり - 金属結合残基は、
 gd; 知られているが、H E X X H モチーフを形成しない。および、第五の群は、
 gd; 残りのファミリーを含み、そこでは、金属結合残基は未だ知られていない [1 , 2
]。
 gd; 微生物コラゲナーゼは V i b r i o 属および C l o s t r i d i u m 属の双方の細 50

菌から同定されている。

gd ; それらは、M A 族の一部を形成する、M 2 5 プロテアーゼファミリーに属する、

gd ; 亜鉛 - 含有メタロペプチダーゼである [1 , 3] 。

gd ; コラゲナーゼは細菌攻撃の間に用いて、侵入の間に宿主のコラーゲンバリアーを分解する。

gd ; *V i b r i o* 細菌は非 - 病原性であり、および

gd ; 病院で時々用いられて、火傷および潰瘍からの死滅した組織を除去する [4] 。

gd ; *C l o s t r i u m h i s t o l y t i c u m* はガス壊疽を引き起こす病原体であり ;

gd ; それにも拘わらず、単離されたコラゲナーゼは床ずれを治療するのに用いられてきた [5] 。

gd ; コラーゲンの開裂は *V i b r i o* 細菌中の X a a + G l y において、および

gd ; *C l o s t r i d i u m* コラゲナーゼ中の Y a a + G l y 結合において起こる [4 , 5] 。

gd ; *C l o s t r i d i u m p e r f r i n g e n s* からの遺伝子産物の一次構造の分析は、

gd ; 該酵素が推定シグナル配列を含有する 8 6 残基のストレッチで生産することを明らかとした [6] 。

gd ; このストレッチ内で、P L G P、コラゲナーゼ基質に典型的なアミノ酸配列が見出される。

gd ; この配列は、かくして、コラゲナーゼの自己 - プロセッシングに

gd ; 関連し得る [6] 。

gd ; M I C O L L P T A S E は、微生物コラゲナーゼ亜鉛メタロペプチダーゼについての

gd ; シグネチャーを提供する 5 - エレメントフィンガープリントである (M 9) 。

gd ; 4 つの配列の最初の整列に由来するものであった : モチーフは、

gd ; 実質的に全整列の長さにもわたる保存された領域から引き出され -

gd ; モチーフ 4 は H E X X H 活性部位を記載する、

gd ; プロサイトパターン亜鉛__プロテアーゼ (P S 0 0 1 4 2)

gd ; によってコードされる領域を含み ;

gd ; およびモチーフ 5 は活性部位グルタメートを含有する。O W L 3 1 . 1 上の反復は、収束に到達する必要がある、

gd ; その時点において、8 つの配列を含む真の組が同定された。

tp ; COLA_CLOPE 054108 COLA_VIBAL Q46085

tp ; COLA_VIBPA

sn ; 4 つのエレメントを含むコード

st ; 086030

tt ; COLA_CLOPE 微生物コラゲナーゼ前駆体 (E C 3 . 4 . 2 4 . 3) (1 2 0 K D コラゲナーゼ) - *C l o s t r i d i u m*

tt ; 054108 推定分泌プロテアーゼ - *S t r e p t o m y c e s c o e l i c o l o r* 。

tt ; COLA_VIBAL 微生物コラゲナーゼ前駆体 (E C 3 . 4 . 2 4 . 3) - *V i b r i o a l g i n o l y t i c u s* 。

tt ; Q46085 コラゲナーゼ前駆体 - *C l o s t r i d i u m h i s t o l y t i c u m* 。

tt ; COLA_VIBPA 微生物コラゲナーゼ前駆体 (E C 3 . 4 . 2 4 . 3) - *V i b r i o p a r a h a e m o l y t i c u s* 。

tt ; 086030 コラゲナーゼ - *V i b r i o c h o l e r a e* 。

10

20

30

40

50

ic; MICOLLPTASE1
 il; 19
 it; 微生物コラゲナーゼモチーフ I - 1
 id; GIPTLVEFLRAGYYLGFYN COLA_CLOPE 159 159
 id; ELETFLYLRAGYYAEFYN COLA_VIBAL 144 144
 id; VLENLGEFVRAAYVRYNA COLA_VIBPA 97 97
 id; RLENYGEFIRAAYVRYNA AF080248 97 97
 bb;

M I C 1 ミクロネーム蛋白質シグネチャー

10

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)
 著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部
 G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

 H M M ファイル : prints.hmm
 配列ファイル : rheu.ef.242.746

MIC1MICRNEME_5: 1 のドメイン 1、448 から 463 : スコア 6.6、E = 4.4

->TyiStkLdVaVGSCHk<-
 T t+L Va GSC

20

rheu.ef.24 448 TKADTQLIVAGGSCKA 463

g c ; M I C 1 M I C R N E M E

g x ; P R 0 1 7 4 4

g n ; 化合物 (7)

g a ; 2 0 0 2 年 7 月 3 日

g t ; M I C 1 ミクロネーム蛋白質シグネチャー

gr; 1. SIBLEY, L.D., MORDUE, D. AND HOWE, K.

gr; Experimental approaches to understanding virulence in toxoplasmosis.

gr; IMMUNOBIOLOG. 201 210-224 (1999).

30

gr; 2. CARRUTHERS, V.B.

gr; Armed and dangerous: Toxoplasma gondii uses an arsenal of secretory proteins

gr; to infect host cells.

gr; PARASITOL.INT. 48 1-10 (1999).

gr; 3. FOURMAUX, M.N., ACHBAROU, A., MERCEREAU-PUIJALON, O., BIDERRE, C.,

gr; BRICHE, I., LOYENS, A., ODBERG-FERRAGUT, C., CAMUS, D. AND DUBREMETZ, J.F.

gr; The MIC1 microneme protein of Toxoplasma gondii contains a duplicated

gr; receptor-like domain and binds to host cell surface.

gr; MOL.BIOCHEM.PARASITOL. 20 201-210 (1996).

40

gr; 4. LOURENCO, E.V., PEREIRA, S.R., FACA, V.M., COELHO-CASTELO, A.A.,

gr; MINEO, J.R., ROQUE-BARREIRA, M.C., GREENE, L.J. AND PANUNTO-CASTELO, A.

gr; Toxoplasma gondii micronemal protein MIC1 is a lactose-binding lectin.

gr; GLYCOBIOLOG. 11 541-547 (2001).

gr; 5. KELLER, N., NAGULESWARAN, A., CANNAS, A., VONLAUFEN, N., BIENZ, M.,

gr; BJORKMAN, C., BOHNE, W. AND HEMPHILL, A.

g r ; 硫酸化宿主細胞表面グリコサミノグリカンと相互作用する、

g r ; Neospora caninum ミクロネーム蛋白質 (N c M I C 1) の同定。

g r ; I N F E C T . I M M U N . 7 0 1 8 7 - 1 9 8 (2 0 0 2) 。

g d ; Toxoplasma gondii は、変化した宿主に関連する複雑なライフス

50

タイルを持つ、

g d ; 偏性細胞内アピコンプレクサ原生動物寄生虫である [1] 。

g d ; それは2つの成長の相：ネコ宿主における腸相、および他の哺乳動物における腸外相を有する。感染されたネコからの卵母細胞は発生して、

g d ; タキゾイトとなり、結局は、腸外宿主においてブラディゾイトおよびゾイトシストとなる [1] 。

g d ; 寄生虫の伝播は感染したネコまたは生の / 調理中の肉との接触を介して起こり；

g d ; 免疫無防備個体においては、それはひどい、しばしば致死的なトキソプラズマ症を引き起こし得る。

g d ; 健康なヒトにおける急性感染は、時々、組織損傷も引き起こし得る [1] 。

g d ; 原生動物は種々の分泌性および抗原性蛋白質を利用して、

g d ; 宿主に侵入し、および細胞内環境へのアクセスを獲得する [2] 。

g d ; これらは、ミクロネーム、桿小体、および密な顆粒といわれる T . g o n d i i 細胞における区別されるオルガネラに由来する。それらは侵入の間に特異的時点において放出されて、

g d ; 蛋白質がそれらの正しい標的目的地に割り当てられるのを確実とする [2] 。

g d ; M I C 1、ミクロネームから分泌された蛋白質は、寄生虫による宿主細胞認識に関与する、

g d ; 4 5 6 - 残基の部位である [3] 。

g d ; 感染の間に T . g o n d i i の頂極から放出され、および

g d ; 宿主 - 特異的受容体に付着する [4] 。

g d ; これを利用して、宿主内皮細胞へのその結合を増強させることを示した [4] 。

g d ; 硫酸化宿主細胞 - 表面グリコサミノグリカンと相互作用する [5] 。

g d ; M I C 1 M I C R N E M E は、M I C 1 ミクロネーム蛋白質についてのシグネチャーを提供する、

g d ; 7 - エレメントフィンガープリントである。該フィンガープリントは 2 - 配列の最初の整列から由来した：

g d ; モチーフは整列の C - 末端部分 (~ 3 8 0 アミノ酸) にわたる、

g d ; 保存された領域から引き出された。

g d ; S P T R 4 0 _ 2 0 f に関する単一の反復は収束に到達するのに必要であり、

g d ; それ以上の配列は出発組を超えて同定されない。

b b ;

i c ; M I C 1 M I C R N E M E 5

i l ; 1 6

i t ; M I C 1 ミクロネーム蛋白質モチーフ V - 1

i d ; T F I S T K L D V A V G S C H S 000834 341 133

i d ; T Y S S P Q L H V S V G S C H K Q8WRS0 344 138

自己免疫調節剤 (A I R E) シグネチャー

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

HMMファイル: prints.hmm

配列ファイル: rheu.ef.241.736

A I 調節剤 _ 4 : 1 のドメイン 1、1 3 8 から 1 5 2 : スコア 6 . 4、E = 9 . 2

->DFWRvLFKDYnLERY<

FW v D L R Y

rheu.ef.24 138 NFWTVSNEDLDLCRY 152

10

20

30

40

50

rheu.ef.234rev.628

A I 調節剤__4 : 1 のドメイン 1、30 から 44 : スコア 6.4、E = 9.2

->DFWRvLFKDYnLERY<-

FW v D L RY

rheu.ef.23 30 NFWTVSNEDLDLCRY 44

rheu.cd.215rev.1.736

A I 調節剤__4 : 1 のドメイン 1、138 から 152 : スコア 6.4、E = 9.2

->DFWRvLFKDYnLERY<-

FW v D L RY

rheu.cd.21 138 NFWTVSNEDLDLCRY 152

g c ; A I 調節剤

g x ; PR01711

g n ; 化合物 (8)

g a ; 2002年3月13日

g t ; 自己免疫調節剤 (A I R E) シグネチャー

gr; 1. The Finnish-German APECED Consortium.

gr; An autoimmune disease, APECED, caused by mutations in a novel gene featuring 20

gr; two PHD-type zinc-finger domains.

gr; NAT.GENET. 17 399-403 (1997).

gr; 2. MITTAZ, L., ROSSIER, C., HEINO, M., PETERSON, P., KROHN, K.J.E., GOS, A.,

gr; MORRIS, M.A., KUDOH, J., SHIMIZU, N., ANTONARAKIS, S.E. AND SCOT, H.S.

gr; Isolation and characterisation of the mouse Aire gene.

gr; BIOCHEM.BIOPHYS.RES.COMMUN. 255 483-490 (1999).

gr; 3. PETERSON, H.M., KUDOH, J., NAGAMINE, K., LAGERSTEDT, A., OVOD, V.,

gr; RANKI, A., RANTALA, I., NIEMINEN, M., TUUKKANEN, J., SCOTT, H.S., 30

gr; ANTONARAKIS, S.E., SHIMIZU, N. AND KROHN, K.

gr; Autoimmune regulator is expressed in the cells regulating immune tolerance

gr; in thymous medulla.

gr; BIOCHEM.BIOPHYS.RES.COMMUN. 257 821-825 (1999).

gr; 4. KUMAR, P.G., LALORAYA, M., WANG, C.Y., RUAN, Q.G., SEMIROMI, A.D.,

gr; KAO.K.J. AND SHE, J.X.

g r ; 自己免疫調節剤 (A I R E) は D N A 結合蛋白質である。

g r ; J . B I O L . C H E M . 276 41357 - 41364 (2001) 。

g d ; A I R E (自己免疫調節剤) は、 A P E C E D と い わ れ る 稀 な 常 染 色 体 劣 性 遺 伝 病 を 担 う、 40

g d ; 予 測 さ れ た 蛋 白 質 で あ る 。 多 腺 性 自 己 免 疫 症 候 群 I 型 (A P S 1) と も 呼 ば れ る、

g d ; A P E C E D は、 確 立 さ れ た 一 遺 伝 子 性 バ ッ ク グ ラ ウ ン ド を 持 つ 唯 一 記 載 さ れ た 自 己 免 疫 疾 患 で あ り、

g d ; 主 要 組 織 適 合 性 複 合 体 領 域 の 外 側 に 位 置 す る。

g d ; そ れ は、 3 つ の 主 な 臨 床 的 存 在、 慢 性 粘 膜 皮 膚 カ ン ジ ダ 症、 上 皮 小 体 機 能 低 下 症 お よ び ア ジ ソ ン 病

g d ; の う ち の 2 つ の 存 在 に よ っ て 特 徴 付 け ら れ る。

g d ; イ ン ス リ ン - 依 存 性 真 性 糖 尿 病 (I D D M)、 性 腺 機 能 不 全、 慢 性 胃 炎、 白 斑、

g d ; 自 己 免 疫 甲 状 腺 病、 エ ナ メ ル 質 形 成 不 全、 お よ び 脱 毛 症

g d ; を 含 め た、 他 の 免 疫 学 的 に 媒 介 さ れ る 表 現 型 も 存 在 し 得 る。 40

g d ; 免疫学的には、 A P E C E D 患者は、カンジダ抗原に対する欠乏した T 細胞応答、および主として、

g d ; 器官 - 特異的自己抗原に対する自己免疫の結果としての、内分泌系内および外双方の臨床的兆候 ;

g d ; を有する [1 , 2] 。

g d ; A I R E は転写調節剤蛋白質を示唆するモチーフを有する。

g d ; それは植物ホモドメイン (P H D) タイプの 2 つの亜鉛フィンガーを保有する。 S A N D と呼ばれる、

g d ; 推定 D N A 結合ドメイン、ならびに 4 つの核受容体結合 L X X L L モチーフ、

g d ; 逆位 L X X L L ドメイン、および後者の変種 (F X X L L) は、

g d ; この蛋白質が転写共アクチベーターとして機能することを暗示する。さらに、

g d ; A I R E 中の高度に保存された N - 末端 1 0 0 - アミノ酸ドメインは、

g d ; いくつかの S p - 1 0 0 関連蛋白質においてダイマー化ドメインとして機能することが示されている、 S p 1 0 0 および S p 1 4 0 蛋白質の均一に染色する (H S R) ドメインに対して、

g d ; 有意な類似性を示す [2 - 4] 。

g d ; A I R E はデュアル細胞下位置を有する。それは胸腺、脾臓、リンパ節および骨髄のような多数の免疫学的に関連する組織において発現されるのみならず、

g d ; それは腎臓、精巣、副腎、肝臓および卵巣のような種々の他の組織においても検出されており、

g d ; これは、 A P E C E D 蛋白質がやはり免疫系の外での機能を有することを示唆する。

g d ; しかしながら、 A I R E は自己免疫破壊の標的器官において発現されない。

g d ; 細胞下レベルにおいて、 A I R E は、 N D 1 0 としても知られた、前骨髄性白血病核体に似たドメイン、 A I R E 相同性核蛋白質 S p 1 0 0 、 S p 1 4 0 、 および L y s p 1 0 0 に関連する核ドットまたは可能な癌遺伝子ドメインにおいて、まだらな斑点パターンにおける細胞核で見出すことができる。

g d ; A I R E の核局所化は、その予測される蛋白質ドメインを踏まえると、

g d ; それは免疫許容性の誘導および維持に関連するメカニズムを調節できることを示唆する [3 , 4] 。

g d ; A I 調節剤は、 A I R E 自己免疫調節剤についてのシグネチャーを提供する 8 - エレメントフィンガープリントである。

g d ; 該フィンガープリントは 6 つの配列の最初の整列に由来し :

g d ; モチーフは整列の N - 末端および中央部分にかなりわたる保存された領域から引き出され、

g d ; 自己調節剤を特徴付けるが、それらをプロセッシング S A N D および P H D ドメインから区別するセクションに焦点を当てている。

g d ; S P T R 3 9 _ 1 7 f についての 2 つの反復は収束に到達することが要求され、その時点において、

g d ; 1 4 の配列を含む真の組が同定された。

f c ; A I 調節剤 4

f l ; 15

f t ; 自己免疫調節剤 (A I R E) モチーフ I V - 1

fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLW0	77	18
fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9Z0E3	77	18
fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLX0	77	18
fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLW9	77	18
fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLW8	77	18
fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLW7	77	18

10

20

30

40

50

fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLW6	77	18
fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLW5	77	18
fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLW4	77	18
fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLW3	77	18
fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLW2	77	18
fd; DFWRILFKDYNLERY	Q9JLW1	77	18
fd; DFWRVLFKDYNLERY	AIRE_HUMAN	76	18
fd; DFWRVLFKDYNLERY	O75745	76	18

グリアジン

10

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)
 著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部
 G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布
 HMM ファイル: prints.hmm
 配列ファイル: rheu.ef.241.736

グリアジン_7: 1 のドメイン 1、688 から 708 : スコア 17.7、E = 0.056

->PqaqGsvqPqqLPqFeEiRnL<-

qaqGsvq q L q E R L

rheu.ef.24 688 TQAQGSVQEQLLLQLREQRVL 708

20

rheu.ef.234rev.628

グリアジン_7: 1 のドメイン 1、580 から 600 : スコア 17.7、E = 0.056

->PqaqGsvqPqqLPqFeEiRnL<-

qaqGsvq q L q E R L

rheu.ef.23 580 TQAQGSVQEQLLLQLREQRVL 600

rheu.cd.215rev.1.736

グリアジン_7: 1 のドメイン 1、688 から 708 : スコア 18.3、E = 0.037

->PqaqGsvqPqqLPqFeEiRnL<-

qaqGsvq q L q E R L

rheu.cd.21 688 TQAQGSVQDQLLLQLREQRVL 708

30

グリアジン_7: 1 のドメイン 1、46 から 66 : スコア 18.3、E = 0.037

->PqaqGsvqPqqLPqFeEiRnL<-

qaqGsvq q L q E R L

zc3r11.B4. 46 TQAQGSVQDQLLLQLREQRVL 66

g c ; グリアジン

g x ; P R 0 0 2 0 9

g n ; 化合物 (9)

g a ; 1 9 9 2 年 1 0 月 2 1 日 ; 更新 1 9 9 9 年 6 月 1 9 日

g t ; アルファ / ベータ グリアジンファミリー シグネチャー

gp; PRINTS; PR00208 GLIADGLUTEN; PR00211 GLUTELIN; PR00210 GLUTENIN

gp; INTERPRO; IPR001376

gr; 1. SHEWRY, P. AND MORGAN, M.

gr; Gluten - proteins that put the springiness into bread and are implicated

gr; in food intolerance syndromes such as coeliac disease.

gr; IN PROTEIN POWER AFRC NEWS SUPPLEMENT (1992).

gr; 2. OKITA T.W., CHEESBROUGH V. AND REEVES C.D.

40

50

gr; Evolution and heterogeneity of the alpha-type, beta-type, and gamma-type
gr; gliadin DNA sequences.

gr; J.BIOL.CHEM. 260(13) 8203-8213 (1985).

gr; 3. RAFALSKI J.A.

gr; Structure of wheat gamma-gliadin genes.

gr; GENE 43(3) 221-229 (1986).

g d ; グルテンは小麦粉の蛋白質成分である。それは、生地異なる物理的特性を担う2つの異なるタイプのものである、

g d ; 多数の蛋白質よりなる [1] :

g d ; 弾性を主として担うグルテニン、および伸展性に寄与するグリアジン。 10

g d ; グリアジンは、それ自体が、異なるタイプ (例えば、アルファ/ベータまたはガンマ)

g d ; のものであり、グルテニンのように、ゆるくらせん構造を形成するが、それらは、通常、緻密かつ球状である [3]、より広範な非 - 反復性領域に通常は関連する、

g d ; 反復性配列 [2] を含有する。

g d ; グリアジンはアルファ/ベータグリアジンについてのシグネチャーを提供する9 - エレメントフィンガープリントである。

g d ; 該フィンガープリントは5つの配列の最初の整列に由来し :

g d ; モチーフ2および3はG l n / P r o - リッチなタンDEM反復をコードする。 20

g d ; O W L 1 8 . 0 に関する2つの反復は収束に到達するのに必要とされ、

g d ; その時点において、14の配列を含む真の組が同定された。

g d ; いくつかの部分的マッチも見出され ; これらのうち3つはアルファ/ベータグリアジン断片であり :

g d ; G D A 1 _ _ W H E A T および B 2 2 3 6 4 の双方は最後の2つのモチーフを担う配列のC - 末端部分を欠如しており、

g d ; および G D A 8 _ _ W H E A T は最初の3つのモチーフを担う配列のN - 末端部分を欠如している。

g d ; アルファ/ベータグリアジン断片に加えて、多数の他の部分的マッチが同定されており :

g d ; これらは、ガンマ - グリアジン、低分子量グルテニン、アベニン、セカリン等を含むものであった。これらのほとんどは 30

g d ; マッチしないか、または少なくとも不十分にのみマッチし、タンDEM反復をコードするそれらのモチーフは - この領域におけるそれら自身の区別されるシグネチャーによって明瞭に特徴付けられる。

g d ; 該フィンガープリントが、かくして、アルファ/ベータタイプのグリアジンと、ガンマタイプおよび関連する蛋白質の間の、

g d ; 合理的な識別を提供する。

c ; グリアジン7

f l ; 21

f t ; グリアジンモチーフVII-2 40

fd; PQAQGSVQPQQLPQFEEIRNL	GDA9_WHEAT	259	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFEEIRNL	GDA6_WHEAT	246	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFEEIRNL	Q41509	239	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFEEIRNL	Q41531	241	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFEEIRNL	GDA0_WHEAT	238	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFAEIRNL	GDA7_WHEAT	263	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFAEIRNL	Q41546	263	6
fd; PQAQGSFQPQQLPQFEEIRNL	GDA2_WHEAT	243	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFEEIRNL	Q41632	246	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFEEIRNL	Q41530	240	6

fd; PQAQGSVQPQQLPQFAEIRNL	Q41529	263	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFAEIRNL	GDA5_WHEAT	269	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFAEIRNL	Q41545	268	6
fd; PQTQGSVQPQQLPQFEEIRNL	Q41528	239	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFEEIRNL	GDA4_WHEAT	249	6
fd; PQAQGSVQPQQLPQFQEIIRNL	GDA3_WHEAT	232	6

ニューロペプチド Y 2 受容体シグネチャー

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

HMM ファイル: prints.hmm

配列ファイル: rheu.ef.241.736

N R ペプチド Y 2 R_9: 1 のドメイン 1、6 6 4 から 6 7 7 : スコア 8 . 9、E = 3 . 1
->AFLsAFRCEqRLDAiHs<-

sAFR qR+ +Hs
rheu.ef.24 664 ---SAFRVQQRVPWVHS 677

rheu.ef.234rev.628

N R ペプチド Y 2 R_9: 1 のドメイン 1、5 5 6 から 5 6 9 : スコア 8 . 9、E = 3 . 1
->AFLsAFRCEqRLDAiHs<-

sAFR qR+ +Hs
rheu.ef.23 556 ---SAFRVQQRVPWVHS 569

N R ペプチド Y 2 R_9: 1 のドメイン 1、2 2 から 3 5 : スコア 7 . 2、E = 6 . 3
->AFLsAFRCEqRLDAiHs<-

s FR qRL +Hs
zc3r11.B4. 22 ---SRFRVQQRVPWVHS 35

g c ; N R ペプチド Y 2 R

g x ; P R 0 1 0 1 4

g n ; 化合物 (1 1)

g a ; 1 9 9 8 年 1 1 月 3 0 日 ; 更新 1 9 9 9 年 6 月 7 日

g t ; ニューロペプチド Y 2 受容体シグネチャー

gp; PRINTS; PR00237 GPCRRHODOPSN; PR00247 GPCRCAMP; PR00248 GPCRMGR

gp; PRINTS; PR00249 GPCRSECRETIN; PR00250 GPCRSTE2; PR00899 GPCRSTE3

gp; PRINTS; PR00251 BACTRLOPSIN

gp; PRINTS; PR01012 NRPEPTIDEYR; PR01013 NRPEPTIDEY1R; PR01015 NRPEPTIDEY4R

gp; PRINTS; PR01016 NRPEPTIDEY5R; PR01017 NRPEPTIDEY6R

gp; INTERPRO; IPR001358

gr; 1. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Fingerprinting G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 7(2) 195-203 (1994).

gr; 2. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; G protein-coupled receptor fingerprints.

gr; 7TM, VOLUME 2, EDS. G.VRIEND AND B.BYWATER (1993).

gr; 3. BIRNBAUMER, L.

gr; G proteins in signal transduction.

gr; ANNU.REV.PHARMACOL.TOXICOL. 30 675-705 (1990).

40

gr; 4. CASEY, P.J. AND GILMAN, A.G.

gr; G protein involvement in receptor-effector coupling.

gr; J.BIOL.CHEM. 263(6) 2577-2580 (1988).

gr; 5. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Design of a discriminating fingerprint for G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 6(2) 167-176 (1993).

gr; 6. WATSON, S. AND ARKINSTALL, S.

gr; Neuropeptide Y.

g r ; G プロテイン - リンク受容体 F A C T S B O O K , A C A D E M I C P R E S S , 1 9 9 4 , P P . 1 9 4 - 1 9 8 .

10

g d ; G プロテイン - カップルド受容体 (G P C R) は (種々のオートクリン、パラクリンおよび内分泌プロセスを含めた) 広い範囲の機能を含む、

g d ; 膨大な蛋白質ファミリーを構成する。それらは、それらが区別される群に分離できることに基づき、

g d ; 配列レベルにおいてかなりの多様性を示す。

g d ; 我々は用語族を用いて、G P C R を記載する。

g d ; というのは、それらは進化的関係の表示があるファミリーの群を含むが、その間には、配列において統計学的に有意な類似性がないからである [1 , 2] 。

g d ; 現在知られている族メンバーはロドプシン様 G P C R 、 セクレチン様 G P C R 、 c A M P 受容体、真菌接合フェロモン受容体、および

20

g d ; 向代謝性グルタミン酸受容体ファミリーを含む。

g d ; ロドプシン様 G P C R は、それら自体、その全てがグアニンヌクレオチド結合 (G) プロテインとの相互作用を介して細胞外シグナルを変換する、

g d ; ホルモン、神経伝達物質および光受容体を含む広く普及した蛋白質ファミリーを表す。

g d ; それらの活性化リガンドは構造および特性が広く変化するが、

g d ; 受容体のアミノ酸配列は非常に似ており、かつ7回膜貫通 (T M) らせんを含む共通の構造フレームワークを採用すると考えられる [3 - 5] 。

g d ; ニューロペプチド Y (N P Y) は、哺乳動物脳中の最も豊富なペプチドのうちの1つであり、

30

g d ; 種々の挙動的効果 (例えば、食物摂取の刺激、不安、学習および記憶の促進、および心血管および神経内分泌系の調節) を誘導する [6] 。

g d ; 末梢においては、N P Y は血管平滑筋収縮を刺激し、およびホルモン分泌を変調する。

g d ; N P Y は高血圧、鬱血性心不全、情緒的な障害および食欲調節の病理生理学において示唆されてきた [6] 。

g d ; いくつかの薬理的に区別されるニューロペプチド Y 受容体が N P Y Y 1 - Y 6 と指名されて特徴付けられてきた。

g d ; Y 2 受容体の高い密度はラットの海馬に存在し、また、

g d ; 皮質、ある種の視床核、横方向セプタム、および上側嗅覚核の表層において高レベルで見出され；

40

g d ; より低いレベルは線条体に見出される [6] 。

g d ; 受容体は平滑筋 (例えば、精管および腸) 、腎臓近位管において、および細胞系において高レベルで見出される [6] 。

g d ; それらは、圧倒的にシナプス前位置を有すると考えられ、かつ恐らくは G 0 / G i クラスの、百日咳 - トキシン - 感受性 G プロテインを介して

g d ; アデニルシクラーゼおよび電圧依存性カルシウムチャネルの阻害に関与する [6] 。

g d ; N R ペプチド Y 2 R は、ニューロペプチド Y 2 受容体のシグネチャーを提供する 1 1 - エレメントのフィンガープリントである。

50

g d ; 該フィンガープリントは2つの配列の最初の整列に由来し ;
 g d ; モチーフはループまたは T M 領域いずれか内の保存されたセクションから引き出され、
 g d ; Y 2 受容体を特徴付けるが、それらをニューロペプチド Y ファミリーの残りから区別する整列の領域に焦点を合わせ -
 g d ; モチーフ 1 から 3 は N - 末端にわたり、 T M ドメイン 1 に導き ;
 g d ; モチーフ 4 および 5 は T M ドメイン 4 の C - 末端および第 2 の外部ループにわたり
 g d ; モチーフ 6 および 7 は T M ドメイン 5 の C - 末端および第三の細胞質ループにわたり、
 g d ; モチーフ 8 は T M ドメイン 6 の C - 末端および第三の外部ループにわたり ; および 10
 モチーフ 9 から 1 1 は C - 末端に存在する。
 g d ; O W L 3 0 . 2 での 2 つの反復は収束に到達するのに必要とされ、
 g d ; その時点において、 5 つの配列を含む真の組が同定された。
 g d ; 2 つの部分的なマッチも見出され : O A U 8 3 4 5 8 はモチーフ 4 から 6 にマッチするヒツジニューロペプチド Y 2 受容体断片であり ;
 g d ; および A F 0 5 4 8 7 0 は、モチーフ 5 および 6 にマッチするラットニューロペプチド Y 2 受容体断片である。

f c ; N R ペプチド Y 2 R 9
 f l ; 1 7 20
 f t ; ニューロペプチド Y 2 受容体モチーフ I X - 2
 fd; AFLSAFRCEQRLDAIHS NY2R_HUMAN 335 29
 fd; AFLSAFRCEQRLDAIHS NY2R_BOVIN 338 29
 fd; AFLSAFRCEQRLDAIHS NY2R_MOUSE 339 29
 fd; AFLSAFRCEQRLDAIHS NY2R_PIG 337 29

アエロリシン

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)
 著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部
 G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布 30

HMM ファイル: prints.hmm
 配列ファイル: rheu.ef.241.736

アエロリシン_7: 1 のドメイン 1、 6 0 2 から 6 2 1 : スコア 3 . 4、 E = 9 . 3
 ->wDKRYiPGEvKWWdWnWtiq<-
 +D +Y+ Ev W W
 rheu.ef.24 602 VDPKYVTPEVTWHSWDIRRG 621

rheu.ef.234rev.628 40
 アエロリシン_7: 1 のドメイン 1、 4 9 4 から 5 1 3 : スコア 3 . 4、 E = 9 . 3
 ->wDKRYiPGEvKWWdWnWtiq<-
 +D +Y+ Ev W W
 rheu.ef.23 494 VDPKYVTPEVTWHSWDIRRG 513

HMM ファイル: prints.hmm
 配列ファイル: uro742rev.109r
 アエロリシン_7: 1 のドメイン 1、 65 から 84: スコア 3.6、 E = 8.6
 ->wDKRYiPGEvKWWdWnWtiq<-
 + G K W WnW+ + 50

uro742rev. 65 FAWVLASGTAKCWSWNWSAR 84

アエロリシン_7: 1 のドメイン 1、65から84: スコア3.6、 E = 8.6

->wDKRYiPGEvKWWdWnWtiq<-
+ G K W WnW+ +

zc37.B9.2d 65 FAWVLASGTAKCWSWNWSAR 84

g c ; アエロリシン
g x ; P R 0 0 7 5 4
g n ; 化合物 (9) 10
g a ; 1 9 9 7 年 8 月 2 5 日 ; 更新 1 9 9 9 年 6 月 6 日
g t ; アエロリシンシグネチャー
gp ; INTERPRO ; IPR001776
gp ; PROSITE ; PS00274 AEROLYSIN
gp ; PFAM ; PF01117 Aerolysin
gr ; 1. PARKER, M.W., BUCKLEY, J.T., POSTMA, J.P., TUCKER, A.D., LEONARD, K.,
gr ; PATTUS, F. AND TSERNOGLOU, D.
gr ; Structure of the aeromonas toxin proaerolysin in its water-soluble and
gr ; membrane-channel states.
gr ; NATURE 367 292-295 (1994). 20
g d ; アエロリシンは下痢病および深い創傷感染に関連する細菌である *Aeromonas hydrophila* の
g d ; 病原性を担っている [1]。
g d ; 他の微生物トキシンと共通して、該蛋白質は水溶性形態からの多工程プロセスにおいて変化して、
g d ; それらの浸透性バリアーを破壊することによって感受性細胞を破壊する膜貫通チャネルを生じさせる [1]。
g d ; プロアエロリシンの構造は 2 . 8 A 分解能まで決定されており、新規な折り畳みを採用するプロトキシンを示す [1]。
g d ; 電子顕微鏡観察に由来するアエロリシンオリゴマーのイメージは、蛋白質のモデルを構築するのを、および g d ; それによりそれが脂質二層に挿入され、イオンチャネルを形成するメカニズムを概説するのを助けた [1]。 30
g d ; アエロリシンはアエロリシンについてのシグネチャーを提供する 9 - エレメントフィンガープリントである。
g d ; 該フィンガープリントは 1 0 の配列の最初の整列に由来し :
g d ; 該モチーフは実質的に全整列長さにわたる保存された領域から導かれた。
g d ; O W L 2 9 . 4 での単一の反復は収束に到達するのに必要であり、
g d ; さらなる配列は出発組を超えて同定されなかった。単一の部分的マッチが見出された、C L O A L P T O X、モチーフ 4 および 6 にマッチする *Clostridium septicum* からの関連アルファ - トキシン。 40
g d ;
f c ; アエロリシン 7
f l ; 2 0
f t ; アエロリシンモチーフ V I I - 2
f d ; WDKRYIPGEVKWWdWnWtiq AERA_AERHY 382 21
f d ; WDKRYIPGEVKWWdWnWtiq Q44063 382 21
f d ; WDKRYIPGEVKWWdWnWtiq AER3_AERHY 382 21
f d ; WDKRYIPGEVKWWdWnWtiq AER5_AERHY 382 21
f d ; WDKRYIPGEVKWWdWnWtiq AER4_AERHY 382 21
f d ; WDKRYIPGEVKWWdWnWtiq P94128 382 21 50

fd; WDKRYLPGEMKWWWDWNWAIQ	AERA_AERTR	382	21
fd; WDKRYLPGEMKWWWDWNWAIQ	085370	382	21
fd; VDKRYIPGEVKWWWDWNWTIS	AERA_AERSA	383	21
fd; VDKRYIPGEVKWWWDWNWTIS	AERA_AERSO	382	

オレキシシン:

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

----- 10

HMM ファイル: pfam.hmm
 配列ファイル: rheu.ef.241.148
 オレキシシン: 1 のドメイン 1、10 から 122 : スコア -38.9、E=4.1

```

      *->mnIPsaKvsWAavtILLLLLLLPPA|LsIGvdAqPLPDCCRqKtCsC
          + v A LL + PP +G++ C R C
rheu.ef.24 10 RKVLLQTVRAAKKARRLLGMWQPPVHNVPGLERNWYESCFSHAAVC 56

      RLYELLHGAGnHAAGiLtLGK.RRPGLLqGRLqRLLqAsGnHAAGiLt
          + + G nH A tLG++ RPPGG G i
rheu.ef.24 57 GCGDFV-GHINHLAT--TLGRpPRPGPPG-----GPRTPI-- 89 20

      mGRRAGAEIePrICPGRRCIaAaAsaIAPrGrsvr<-*
          R A ++P+ PG R As G+ +
rheu.ef.24 90 --RNLPALPAPQGEPEGDRATWRGASGADAAGGDGG 122
  
```

rheu.ef.238rev.148

オレキシシン: 1 のドメイン 1、10 から 122 : スコア - 3 8 . 9 、 E = 4 . 1

```

      *->mnIPsaKvsWAavtILLLLLLLPPA|LsIGvdAqPLPDCCRqKtCsC
          + v A LL + PP +G++ C R C
rheu.ef.23 10 RKVLLQTVRAAKKARRLLGMWQPPVHNVPGLERNWYESCFSHAAVC 56 30

      RLYELLHGAGnHAAGiLtLGK.RRPGLLqGRLqRLLqAsGnHAAGiLt
          + + G nH A tLG++ RPPGG G i
rheu.ef.23 57 GCGDFV-GHINHLAT--TLGRpPRPGPPG-----GPRTPI-- 89

      mGRRAGAEIePrICPGRRCIaAaAsaIAPrGrsvr<-*
          R A ++P+ PG R As G+ +
rheu.ef.23 90 --RNLPALPAPQGEPEGDRATWRGASGADAAGGDGG 122
  
```

#=GF ID オレキシシン 40
 #=GF AC PF02072.7
 #=GF DE プリプロ - オレキシシン
 #=GF AU Mian N, Bateman A
 #=GF SE IPR001704
 #=GF TP ファミリー

OREX_HUMAN/1-131 MNLPTKVSAAVTLLLLLLLLLPPALLSSGAAAQPLPDCCRQKTCSCR
 LYELLHGAGNHAAGILT LGKRRSGPPGLQGRLLQASGNHAAGILTMGRRAGAEPAPRCLGRRCSAPAAASVAPGGG
 SGI

HMMER 2.3.2 (2003年10月)

著作権 (C) 1992 - 2003 HMMI / ワシントン大学医学部

GNU 一般公衆利用許諾 (GPL) 下で自由に頒布

HMM ファイル: prints.hmm

配列ファイル: rheu.ef.241.148

GIP 受容体_7: 1 のドメイン 1、76 から 97: スコア 7.9、E = 3.7

->PrIGPYIGdqtltLwnq.ALAA<-

Pr+GP G +t+ ++n +AL A

rheu.ef.24 76 PRPGPPGGPRTPQIRNLpALPA 97

10

rheu.ef.238rev

GIP 受容体_7: 1 のドメイン 1、76 から 97: スコア 7.9、E = 3.7

->PrIGPYIGdqtltLwnq.ALAA<-

Pr+GP G +t+ ++n +AL A

rheu.ef.23 76 PRPGPPGGPRTPQIRNLpALPA 97

GIP 受容体

g x ; P R 0 1 1 2 9

g n ; 化合物 (1 1)

g a ; 1 9 9 9 年 5 月 2 2 日

gt; Gastric inhibitory polypeptide receptor precursor signature

gp; PRINTS; PR00237 GPCRRHODOPSN; PR00247 GPCRCAMP; PR00248 GPCRMGR

gp; PRINTS; PR00249 GPCRSECRETIN; PR00250 GPCRSTE2; PR00899 GPCRSTE3

gp; PRINTS; PR00251 BACTRLOPSIN

gp; INTERPRO; IPR001749

gr; 1. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Fingerprinting G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 7(2) 195-203 (1994).

gr; 2. ISHIHARA T., NAKAMURA S., KAZIRO, Y., TAKAHASHI, T., TAKAHASHI, K.

gr; AND NAGATA, S.

gr; Molecular cloning and expression of a cDNA encoding the secretin receptor

gr; EMBO J. 10 1635-1641 (1991).

gr; 3. LIN, H.Y., HARRIS, T.L., FLANNERY, M.S., ARUFFO, A., KAJI, E.H.,

gr; GORN, A., KOLAKOWSKI, L.F., LODISH, H.F. AND GOLDRING, S.R.

gr; Expression cloning of adenylate cyclase-coupled calcitonin receptor

gr; SCIENCE 254 1022-1024 (1991).

gr; 4. JUEPPNER, H., ABOU-SAMRA, A.-B., FREEMAN, M., KONG, X.F.,

gr; SCHIPANI, E., RICHARDS, J., KOLALOWSKI, L.F., HOCK, J., POTTS, J.T.,

gr; KRONENBERG, H.M. AND SEGRE, G.E.

gr; A G protein linked receptor for parathyroid hormone and parathyroid

gr; hormone-related peptide.

gr; SCIENCE 254 1024-1026 (1991).

gr; 5. ISHIHARA, T., SHIGEMOTO, R., MORI, K., TAKAHASHI, K. AND NAGATA, S.

gr; Functional expression and tissue distribution of a novel receptor for

gr; vasoactive intestinal polypeptide.

gr; NEURON 8(4) 811-819 (1992).

gr; 6. VOLZ, A., GOKE, R., LANKAT-BUTTGEREIT, B., FEHMANN, H.C., BODE, H.P.

gr; AND GOKE, B.

20

30

40

50

- g r ; ヒトインスリノーマからクローン化された G I P - 受容体の
- g r ; 分子クローニング、機能的発現、およびシグナル変換。
- g r ; F E B S L E T T . 3 7 3 (1) 2 3 - 9 (1 9 9 5) 。
- g d ; G プロテイン - カップルド受容体 (G P C R) は、 (種々のオートクリン、パラクリンおよび内分泌プロセスを含めた)
- g d ; 広い範囲の機能を含む膨大な蛋白質ファミリーを構成する。それらは、それらが区別される群に分離することができることに基づき、
- g d ; 配列レベルにおいてかなりの多様性を示す。我々は G P C R を記載するのに用語族を用いる。
- g d ; というのは、それらは、進化的関係の表示であるファミリーの群を含むが、
- g d ; その間には、配列における統計学的に有意な類似性はないからである [1] 。
- g d ; 現在知られている族メンバーはロドプシン様 G P C R 、
- g d ; セクレチン様 G P C R 、 c A M P 受容体、真菌接合フェロモン受容体、および向代謝性グルタミン酸受容体ファミリーを含む。
- g d ; セクレチン様 G P C R はセクレチン [2] 、カルシトニン [3] 、
- g d ; 副甲状腺ホルモン / 副甲状腺ホルモン - 関連ペプチド [4] および血管活性腸ペプチド [5] を含み、
- g d ; その全てはアデニリルシクラーゼおよびホスファチジル - イノシトール - カルシウム経路を活性化する。
- g d ; 受容体のアミノ酸配列は、ロドプシン、および G プロテインと相互作用すると信じられている他の受容体を暗示する、7 ドメインにグループ分けされる高い割合の疎水性残基を含有する。
- g d ; しかしながら、同様な 3 D フレームワークがこれを説明するために提案されているが、
- g d ; これらのファミリーの間に有意な配列類似性はなく : セクレチン様受容体は、かくして、それら自身のユニークな「 7 T M 」シグネチャーを担う。
- g d ; グルコース - 依存性インスリン分泌性ポリペプチド (G I P) は、食後インスリン分泌の調節、および膵臓ベータ - 細胞のプロインスリン遺伝子発現の調節において重要な役割をする [6] 。
- g d ; ヒト G I P - 受容体は、ヒトグルカゴン様ペプチド 1 (G L P - 1) 受容体と同様な 7 T M 蛋白質をコードする。
- g d ; G I P - 受容体調節およびシグナル変換の理解は、 I I 型真性糖尿病における膵臓 B - 細胞においてその生物学的作用をホルモンが発揮できないことを浮き彫りにする。
- g d ; G I P 受容体は、胃阻害性ポリペプチド受容体についてのシグネチャーを提供する 1 1 - エレメントフィンガープリントである。該フィンガープリントは、
- g d ; 3 つの配列の最初の整列に由来し : モチーフは全整列長さにわたる保存された領域から引き出され、
- g d ; 胃阻害性ポリペプチド受容体の特徴付けるが、それらを、セクレチン様スーパーファミリーの残りから区別するそれらのセクションに焦点を当てており -
- g d ; モチーフ 1 から 6 は N - 末端ドメインにわたり ; モチーフ 7 は T M ドメイン 2 および 3 の間のループに存在し ;
- g d ; モチーフ 8 は T M ドメイン 3 および 4 の間のループにわたり ; モチーフ 9 は T M ドメイン 6 の C - 末端部分、および T M ドメイン 4 および 5 の間のループにわたり ;
- g d ; およびモチーフ 1 0 および 1 1 は C - 末端に存在する。
- g d ; S P T R 3 7 _ 9 f での単一の反復は収束に到達するのに必要であり、
- g d ; さらなる配列は出発組を超えて同定されていない。
- g d ; 2 つの部分的マッチもまた見出されている。モチーフ 1 、 8 および 9 にマッチするセクレチンおよびグルカゴン受容体。
- b b ;
- f c ; G I P 受容体 7

10

20

30

40

50

fl; 21

ft; 胃阻害性ポリペプチドレセプター前駆対モチーフVII-1

fd; PTLGPYPGDRTLTLRNQALAA	GIPR_MESAU	192	56
fd; PPLGPYTGNQTPTLWNQALAA	GIPR_RAT	192	56
fd; PRPGPYLGDQALALWNQALAA	GIPR_HUMAN	195	56

プリオン

HMMER 2.3.2 (2003年10月)

著作権 (C) 1992 - 2003 HMMI / ワシントン大学医学部

GNU一般公衆利用許諾 (GPL) 下で自由に頒布

HMMファイル: prints.hmm

配列ファイル: rheu.ef.241.148

プリオン_2: 1のドメイン1、68から89: スコア 5.4、E = 8.6

->sngggsrypgqGSPGGNRYppq<-

+ r+p +G PGG R P

rheu.ef.24 68 LATTLGRPPRPGPPGGPRTPTQI 89

rheu.ef.238rev.148

プリオン_2: 1のドメイン1、68から89: スコア 5.4、E = 8.6

->sngggsrypgqGSPGGNRYppq<-

+ r+p +G PGG R P

rheu.ef.23 68 LATTLGRPPRPGPPGGPRTPTQI 89

gc; プリオン

gx; PR00341

gn; 化合物 (8)

ga; 1992年10月19日; 更新 1999年6月7日

gt; プリオン蛋白質シグネチャー

gp; INTERPRO; IPR000817

gp; PROSITE; PS00291 PRION_1; PS00706 PRION_2

gp; PFAM; PF00377 prion

gr; 1. STAHL, N. AND PRUSINER, S.B.

gr; Prions and prion proteins.

gr; FASEB J. 5 2799-2807 (1991).

gr; 2. BRUNORI, M., CHIARA SILVESTRINI, M. AND POCCHIARI, M.

gr; The scrapie agent and the prion hypothesis.

gr; TRENDS BIOCHEM.SCI. 13 309-313 (1988).

gr; 3. PRUSINER, S.B.

gr; Scrapie prions.

gr; ANNU.REV.MICROBIOL. 43 345-374 (1989).

gd; プリオン蛋白質 (PrP) は、ヒツジスクラピーおよびウシ海綿状脳症 (BSE)、およびヒト認知症クロイツフェルト-ヤコブ病 (CJD) および

gd; ゲルストマン-シュトロイスラー症候群 (GSS) のようなある種の神経学的変性病に感染した

gd; 動物の脳において多量に見出される小さな糖蛋白質である。

gd; PrPは宿主ゲノムにおいてコードされており、正常な、および感染した細胞双方において発現される。

gd; しかしながら、感染の間に、PrP分子は改変されかつ重合するようになり、修飾されたPrP蛋白質のフィブリルを生じる。

gd; PrP分子は、それらが共有結合糖脂質を介して係留された、神経細胞の原形質膜

10

20

30

40

50

の外側表面に見出され、

g d ; 膜受容体としての役割を示唆する。P r P もまた他の組織で発現され、

g d ; それはその位置に応じて異なる機能を有し得ることを示す。

g d ; 異なる源からの P r P の一次配列はかなり似ており :

g d ; 全ては P r o / G l y リッチなオクタペプチドの多数のタンデム反復 ; A s n 結合グリコシル化の部位 ;

g d ; 本質的なジスルフィド結合 ; および 3 つの疎水性セグメントを含有する N - 末端ドメインを担う。

g d ; これらの配列は、アセチルコリン受容体 - 誘導活性 (A R I A) 分子であると考えられるニワトリ糖蛋白質に対してある程度の類似性を示す。

g d ; オクタペプチド反復領域における変化は病気に対する素因を示すことができるが、

g d ; ある種のものについては、反復がフィンガープリントとして有意義に用いられて、感受性を示すことができるか否かは知られていないことが示唆された。

g d ; プリオンはプリオン蛋白質についてのシグネチャーを提供する 8 - エレメントフィンガープリントである。

g d ; 該フィンガープリントは 5 つの配列の最初の整列から導かれ : モチーフは、3 つの疎水性ドメインおよびオクタペプチド反復 (W G Q P H G G G) を含めた、

g d ; 実質的に全整列長さにわたる保存された領域から引き出された。

g d ; O W L 1 8 . 0 での 2 つの反復は収束に到達するのに必要とされ、

g d ; その時点において、9 の配列を含む真の組が同定された。

g d ; 数個の部分的マッチも見出され : これらは第一のモチーフを担う配列の断片 (P R I O _ R A T) 欠如部分、およびニワトリで見出された P r P ホモログを含み -

g d ; このマッチは 3 つの疎水性モチーフの唯 2 つ (1 および 5)、および他の保存された領域 (6) の 1 つによくマッチするが、

g d ; 特徴的な P r P オクタペプチドよりはむしろセクスタペプチド反復 (Y P H N P G) に基づいて N - 末端シグネチャーを有する。

C ; プリオン 2

f l ; 22

f t ; プリオン蛋白質モチーフ II - 2

f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_COLGU	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_MACFA	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_CEREL	34	9
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_ODOHE	34	9
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_GORGO	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_PANTR	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_HUMAN	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	046648	34	9
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_SHEEP	34	9
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_CALJA	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_BOVIN	34	9
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRP2_BOVIN	34	9
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_ATEPA	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_SAI SC	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_PREFR	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_PONPY	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	075942	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_CAPHI	34	9
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_CEBAP	31	8
f d ; WNTGGSRYPGQGSPPGNNRYPPQ	PRIO_CAMDR	34	9

10

20

30

40

50

fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_FELCA 34 9
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPSQ PRP1_TRAST 34 9
 fd; WNTGGSRYPGQSSPGGNRYPPQ PRIO_RABIT 32 9
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRP2_TRAST 34 9
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_PIG 34 9
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_CANFA 34 9
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_CRIGR 31 8
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_CRIMI 31 8
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ Q15216 31 8
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_RAT 31 8
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_CERAE 31 8
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_MUSPF 34 9
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_MUSVI 34 9
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_MESAU 31 8
 fd; WNTGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ PRIO_MOUSE 31 8
 fd; NTGGGSRYPGQGSPGGNRYPPQ O46593 34 9
 fd; SGGSNRYPGQPGSPGGNRYPGW PRIO_TRIVU 37 12

bb;

ニューロテンシン

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

H M M ファイル : prints.hmm

配列ファイル : rheu.ef.241.148

N E U R O T E N S N 2 R _ 1 : 1 のドメイン 1、68 から 80 : スコア 6 . 8、E = 8 . 7

->mEtsspWPPRPsp<-

+ t +PPRP p

rheu.ef.24 68 LATTTLGRPPRPGP 80

rheu.ef.238rev.148

N E U R O T E N S N 2 R _ 1 : 1 のドメイン 1、68 から 80 : スコア 6 . 8、E = 8 . 7

->mEtsspWPPRPsp<-

+ t +PPRP p

rheu.ef.23 68 LATTTLGRPPRPGP 80

c ; N E U R O T E N S N 2 R

g x ; P R 0 1 4 8 1

g n ; 化合物 (6)

g a ; 2 0 0 1 年 3 月 1 2 日

g t ; ニューロテンシン 2 型受容体シグネチャー

gp; PRINTS; PR00237 GPCRRHODOPSN; PR00247 GPCRCAMP; PR00248 GPCRMGR

gp; PRINTS; PR00249 GPCRSECRETIN; PR00250 GPCRSTE2; PR00899 GPCRSTE3

gp; PRINTS; PR00251 BACTRLOPSIN

gp; PRINTS; PR01479 NEUROTENSINR; PR01480 NEUROTENSIN1R

gr; 1. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Fingerprinting G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 7(2) 195-203 (1994).

20

30

40

50

- gr; 2. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.
 gr; G protein-coupled receptor fingerprints.
 gr; 7TM, VOLUME 2, EDS. G.VRIEND AND B.BYWATER (1993).
 gr; 3. BIRNBAUMER, L.
 gr; G proteins in signal transduction.
 gr; ANNU.REV.PHARMACOL.TOXICOL. 30 675-705 (1990).
 gr; 4. CASEY, P.J. AND GILMAN, A.G.
 gr; G protein involvement in receptor-effector coupling.
 gr; J.BIOL.CHEM. 263(6) 2577-2580 (1988).
 gr; 5. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C. 10
 gr; Design of a discriminating fingerprint for G protein-coupled receptors.
 gr; PROTEIN ENG. 6(2) 167-176 (1993).
 gr; 6. WATSON, S. AND ARKINSTALL, S.
 gr; Neurotensin.
 gr; IN THE G PROTEIN-LINKED RECEPTOR FACTSBOOK, ACADEMIC PRESS, 1994, PP.199-201
 .
 gr; 7. VINCENT, J-P., MAZELLA, J. AND KITABGI, P.
 gr; Neurotensin and neurotensin receptors.
 gr; TRENDS PHARMACOL.SCI. 20(7) 302-309 (1999).
 gr; 8. VITA, N., OURY-DONAT, F., CHALON, P., GUILLEMOT, M., KAGHAD, M., BACHY, 20
 gr; A., THURNEYSEN, O., GARCIA, S., POINOT-CHAZEL, C., CASELLAS, P., KEANE, P.,
 gr; LE FUR, G., MAFFRAND, J.P., SOUBRIE, P., CAPUT, D. AND FERRARA, P.
 gr; Neurotensin is an antagonist of the human neurotensin NT2 receptor expressed
 gr; in Chinese hamster ovary cells.
 gr; EUR.J.PHARMACOL. 360(2-3) 265-272 (1998).
 gr; 9. YAMADA, M., YAMADA, M., LOMBET, A., FORGEZ, P. AND ROSTENE, W.
 g r ; チャイニーズハムスター卵巣細胞において発現されたレボカバスチン感受性ラットの
 ニューロテンシン NT 2 受容体の区別される機能的特徴。 30
 g r ; L I F E S C I . 6 2 (2 3) P L 3 7 5 - 3 8 0 (1 9 9 8) 。
 g d ; G プロテイン - カップルド受容体 (G P C R) は、 (種々のオートクリン、パラク
 リンおよび内分泌プロセスを含めた)
 g d ; 広い範囲の機能を含む膨大な蛋白質ファミリーを構成する。
 g d ; それらは、それらが区別される群に分離することができることに基づいて、配列レ
 ベルにおいてかなりの多様性を示す。
 g d ; 我々は用語族を用いて G P C R を記載する。というのは、それらは、
 g d ; 進化的関係の表示があるが、その間には、配列において統計学的に有意な類似性は
 ないファミリーの群を含むからである [1 , 2] 。
 g d ; 現在知られている族メンバーは、ロドプシン様 G P C R 、セクレチン様 G P C R 、 40
 g d ; c A M P 受容体、真菌接合フェロモン受容体、および向代謝性グルタミン酸受容体
 ファミリーを含む。
 g d ; ロドプシン様 G P C R それ自体は、ホルモン、神経伝達物質および光受容体を含む
 広く普及した蛋白質ファミリーを表し、その全てがグアニンヌクレオチド結合 (G) プロ
 テインとの相互作用を介して細胞外シグナルを変換する。
 g d ; それらの活性化リガンドは構造および特徴において広く変化するが、受容体のアミ
 ノ酸配列は非常に似ており、および
 g d ; 7 回膜貫通 (T M) らせんを含む共通の構造フレームワークを採用すると信じられ
 ている [3 - 5] 。
 g d ; ニューロテンシンは 1 3 - 残基ペプチド伝達物質であり、ニューロメジン N を含め 50

た数種の他のニューロペプチドとのその6のC-末端アミノ酸において有意な類似性を共有する。

g d ; この領域は生物学的活性を担っており、N-末端部分は変調役割を有する。

g d ; ニューロテンシンは中枢神経系全体に分布しており、最高レベルは視床下部、扁桃体および側坐核におけるものである。

g d ; それは：鎮痛、低体温症および増加した歩行運動活性を含めた種々の効果を誘導する。

g d ; それは、ドーパミン経路の調節にも関与する。

g d ; 末梢においては、ニューロテンシンは小腸の内分泌細胞に見出され、そこでは、

g d ; それは分泌および平滑筋の収縮に導かれる [6]。

g d ; ニューロテンシンに対する異なる親和性および抗ヒスタミンレボカバスチンに対する異なる感受性を持つ、

g d ; 2つのニューロテンシン受容体サブタイプの存在は、元来、げっ歯類脳における結合実験によって実証された。

g d ; そのような特性を持つ2つのニューロテンシン受容体 (NT 1 および NT 2) はそれ以来クローン化され、かつGプロテイン-カップルド受容体ファミリーメンバーであることが見出されている [7]。

g d ; NT 2 受容体は、NT 1 受容体に対するその類似性に基づいてラット、マウスおよびヒトの脳からクローン化された。

g d ; 受容体は、ニューロテンシンに対して、低親和性、レボカバスチン感受性の受容体であることが判明した。

g d ; 高親和性とは異なり、NT 1 受容体、NT 2 はグアノシン三リン酸に対して感受性でなく、かつナトリウムイオンに対して低い感受性を有する [7]。

g d ; 最高レベルの受容体の発現は、脳において、嗅覚系、大脳および小脳皮質、海馬および視床下部核を含めた領域で見出されている。

g d ; 分布はNT 1 受容体のそれとは区別され、数種の領域 (ブローカ対角帯、内側中隔核および視交差上核) のみが双方の受容体サブタイプを発現している [7]。

g d ; 受容体は腎臓、子宮、心臓および肺においてより低いレベルでやはり見出されている [8]。

g d ; 非-ペプチドアゴニストによるNT 2 受容体の活性化は、受容体がホスホリパーゼC、ホスホリパーゼA 2 およびMAPキナーゼにカップリングできることを示唆する。

g d ; しかしながら、ニューロテンシンに対する機能的な応答は弱い [9] か、または存在せず、および

g d ; ニューロテンシンは受容体のアンタゴニストとして作用するように見える [8]。

g d ; ニューロテンシン以外の物質はこの受容体に対する天然のリガンドとして作用し得ることが示唆されている。 [8]。

g d ; NEUROTENSN 2 R はニューロテンシン2型受容体についてのシグネチャーを提供する6-エレメントフィンガープリントである。

g d ; 該フィンガープリントは3つの配列の最初の整列から導かれ：

g d ; モチーフはN-末端およびループ領域内の保存されたセクションから引き出され、ニューロテンシン2型受容体を特徴付けるが、それらをニューロテンシン受容体ファミリーの残りから識別する整列の領域に焦点が当てられ-

g d ; モチーフ1および2はN-末端にわたり；モチーフ3および4は第二の外部ループにわたり；および

g d ; モチーフ5および6は第三の細胞質ループにわたる。

g d ; S P T R 3 9 _ 1 5 f での単一の反復が収束に到達するのに必要とされ、さらなる配列は出発の組を超えては同定されない。

b b ;

f c ; NEUROTENSN 2 R 1

f l ; 1 3

10

20

30

40

50

ft;ニューロテンシン2型受容体モチーフ1-1

fd; METSSPWPPRPSP	NTR2_RAT	1	1
fd; METSSLWPPRPSP	NTR2_MOUSE	1	1
fd; METSSPRPPRPSS	NTR2_HUMAN	1	1

オーファン核受容体(4A核受容体)ファミリーシグネチャー

HMMER 2.3.2 (2003年10月)

著作権(C)1992-2003 HHMI/ワシントン大学医学部

GNU一般公衆利用許諾(GPL)下で自由に頒布

HMMファイル: prints.hmm

配列ファイル: uro742rev.1.780

NUCLEARECPTR_5: 1のドメイン1、326から341:スコア7.2、E=5

->PvnLInaLVRAhvDStP<-

+ + n++VRAh+D+

uro742rev. 326 -TFITNSMVR AHIDADK 341

gc; NUCLEARECPTR

gx; PR01284

gn; 化合物(11)

ga; 2000年2月16日

gt; オーファン核受容体(4A核受容体)ファミリーシグネチャー

gp; PRINTS; [PR00398](#) STRDHORMONER; [PR00047](#) STROIDFINGER

gp; PRINTS; [PR01285](#) HMRNUCRECPTR; [PR01286](#) NORNUCRECPTR; [PR01287](#) NURRNUCRCPTR

gr; 1. NUCLEAR RECEPTORS NOMENCLATURE COMMITTEE

gr; A unified nomenclature system for the nuclear receptor superfamily.

gr; CELL 97 161-163 (1999).

gr; 2. NISHIKAWA, J-I., KITAURA, M., IMAGAWA, M. AND NISHIHARA, T.

gr; Vitamin D receptor contains multiple dimerisation interfaces that

gr; are functionally different.

gr; NUCLEIC ACIDS RES. 23(4) 606-611 (1995).

gr; 3. DE VOS, P., SCHMITT, J., VERHOEVEN, G. AND STUNNENBERG, G.

gr; Human androgen receptor expressed in HeLa cells activates transcription

gr; in vitro.

gr; NUCLEIC ACIDS RES. 22(7) 1161-1166 (1994).

gr; 4. OHKURA, N., HIJIKURO, M., YAMAMOTO, A. AND MIKI, K.

gr; Molecular cloning of a novel thyroid/steroid receptor superfamily gene from

gr; cultured rat neuronal cells.

gr; BIOCHEM.BIOPHYS.RES.COMMUN. 205 1959-1965 (1994).

gr; 5. LAW, S.W., CONNEELY, O.M., DEMAYO, F.J. AND O'MALLEY, B.W.

gr; Identification of a new brain-specific transcription factor, NURR1.

gr; MOL.ENDOCRINOL. 2129-2135 (1992).

gr; 6. WILSON, T.E., PAULSEN, R.E., PADGETT, K.A. AND MILBRANDT, J.

gr; Participation of non-zinc finger residues in DNA binding by two nuclear

gr; orphan receptors.

gr; SCIENCE 256 107-110 (1992).

gr; 7. CLARK, J., BENJAMIN, H., GILL, S., SIDHAR, S., GOODWIN, G., CREW, J.,

gr; GUSTERSON, B.A., SHIPLEY, J. AND COOPER, C.S.

gr; Fusion of the EWS gene to CHN, a member of the steroid/thyroid receptor

gr; gene superfamily, in a human myxoid chondrosarcoma.

gr; ONCOGENE 12 229-235 (1996).

10

20

30

40

50

g d ; ステロイドまたは核ホルモン受容体 (N R) は胚発生、細胞の分化およびホメオスタシスの制御を含めた、

g d ; 広く多様な生理学的機能に關与する転写調節剤の重要なスーパーファミリーを構成する [1] 。

g d ; 該スーパーファミリーのメンバーはステロイドホルモン受容体および甲状腺ホルモンに対する受容体、レチノイド、 1 , 2 5 - ジヒドロキシ - ビタミン D 3 および種々の他のリガンドを含む。

g d ; 該蛋白質は核においてダイマー分子として機能して、リガンド - 応答様式で標的遺伝子の転写を調節する [2 , 3] 。

g d ; C - 末端リガンド結合ドメインに加えて、これらの核受容体は、リガンド - 応答性エレメントといわれる、標的 DNA 配列への特異的結合を媒介する高度に保存された N - 末端亜鉛 - フィンガーを含有する。

g d ; リガンドの不存在下においては、ステロイドホルモン受容体は核成分と弱く会合していると考えられており；

g d ; ホルモン結合は受容体の親和性を大いに増加させる。

g d ; N R は医学研究においては極端に重要であり、それらのうち多数は癌、糖尿病、ホルモン抵抗性症候群等のような病気において示されている [1] 。

g d ; 数種の N R はリガンド - 誘導性転写因子として作用するが、多くはなお定義されたリガンドを有さず、従って、「オーファン」受容体と呼ばれる。

g d ; この 1 0 年の間、 3 0 0 を超える N R が記載されており、その多くはオーファンであり、それは文献における現在の命名法の混乱のため容易に名前を付けることができない

。 g d ; しかしながら、新しい系が、最近、スーパーファミリーメンバーを記載するのに用いられる名称の益々複雑な組を合理化する試みにおいて導入された [1] 。

g d ; N O R - 1 (ニューロン由来オーファン受容体) [4]、 N u r r 1 (N u r - 関連因子 1) [5]、および N G F I - B [6] と指名されたステロイド受容体スーパーファミリーの新規なメンバーが、アポトーシスを受けている前脳ニューロン細胞から、脳皮質から、および肺、各々、上位頸神経節および副腎組織から同定されている。

g d ; N O R - 1 蛋白質は、 N u r 7 7 ファミリーの標的配列として同定されている B 1 a 応答 - エレメントに結合し、

g d ; N u r 7 7 ファミリーの 3 つのメンバーは異なる状況において共通の標的遺伝子をトランス活性化することができることを示唆する [4] 。

g d ; ユーイング肉腫は N O R 蛋白質に關係する染色体トランスロケーションによって特徴付けられる [7] 。

g d ; N U C L E A R E C P T R は、オーファン核受容体ファミリーについてのシグネチャーを提供する 1 1 - エレメントフィンガープリントである。

g d ; 該フィンガープリントは 1 1 の配列の最初の整列から導かれ；

g d ; モチーフは実質的に全整列長さにわたる保存された領域から引き出され、核受容体ファミリーのメンバーを特徴付けるが、ステロイドホルモン受容体スーパーファミリーの残りからそれらを識別するセクションに焦点が当てられ -

g d ; モチーフ 1 から 3 は亜鉛フィンガードメインに対して N - 末端側に存在し；

g d ; モチーフ 4 および 5 は亜鉛フィンガーおよび推定リガンド結合ドメインの間に存在し；

g d ; モチーフ 6 および 7 はリガンド結合ドメインの N - および C - 末端先端をコードし；およびモチーフ 8 から 1 1 は C - 末端に存在する。

g d ; S P T R 3 7 _ 1 0 f での単一の反復は収束に到達するのに必要とされ、さらなる配列は出発組を超えて同定されなかった。

g d ; いくつかの部分的マッチが見出され、その全ては N - または C - 末端切形ホモログであるように見える。

f c ; N U C L E A R E C P T R 5

10

20

30

40

50

f l ; 1 7

f t ; オーフアン核受容体ファミリーモチーフ V - 1

fd; PANLLTSLVRAHLDSGP	NR41_HUMAN	361	6
fd; PANLLTSLVRAHLDSGP	NR41_CANFA	361	6
fd; PVSLISALVRAHVDSNP	NR42_RAT	361	10
fd; PVSLISALVRAHVDSNP	NR42_MOUSE	361	10
fd; PVSLISALVRAHVDSNP	NR42_HUMAN	361	10
fd; PTNLLTSLIRAHLDSDGP	NR41_RAT	360	6
fd; PTNLLTSLIRAHLDSDGP	NR41_MOUSE	364	6
fd; PVDLINSLVRAHIDSIP	NR42_XENLA	340	6
fd; PVCMMNALVRALTDSTP	O97726	412	15
fd; PICMMNALVRALTDSTP	NR43_HUMAN	395	15
fd; PICMMNALVRALTDATP	NR43_RAT	397	15

10

脳由来神経栄養因子シグネチャー (B D N)

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

H M M ファイル : prints.hmm

配列ファイル : uro742rev.1.780

B D N F A C T O R _ 3 : 2 のドメイン 1、4 9 6 から 5 1 2 : スコア 3 . 1、E = 4 2

->PLLFLLEEYKnYLDAAAn<-

PL LL Y YL+

uro742rev. 496 PLWALLNGYVDYLETQI 512

20

B D N F A C T O R _ 3 : 2 のドメイン 2、6 9 0 から 7 0 6 : スコア 7 . 7、E = 5 . 7

->PLLFLLEEYKnYLDAAAn<-

PLLFL EY+ AA

uro742rev. 690 PLLFLPSEYQREDGAAE 706

30

g c ; B D N F A C T O R

g x ; P R 0 1 9 1 2

g n ; 化合物 (5)

g a ; 2 0 0 8 年 8 月 2 9 日

g t ; 脳由来神経栄養因子シグネチャー

gp; PRINTS; [PR00268](#) NGF; [PR01913](#) NGFBETA; [PR01914](#) NEUROTROPHN3

gp; PRINTS; [PR01915](#) NEUROTROPHN4; [PR01916](#) NEUROTROPHN6

gp; PDB; [1BND](#); [1B8M](#)

gp; SCOP; [1BND](#); [1B8M](#)

gp; CATH; [1BND](#); [1B8M](#)

gp; MIM; 113505

gr; 1. HOFER, M., PAGLIUSI, S.R., HOHN, A., LEIBROCK, J. AND BARDE, Y.A.

gr; Regional distribution of brain-derived neurotrophic factor messenger RNA in the adult mouse brain.

gr; EMBO J. 9(8) 2459-2464 (1990).

gr; 2. KOYAMA, J.I., INOUE, S., IKEDA, K. AND HAYASHI, K.

gr; Purification and amino acid sequence of a nerve growth factor from the

gr; venom of *Vipera russelli russelli*.

40

50

gr; BIOCHIM.BIOPHYS.ACTA 1160 287-292 (1992).

gr; 3. INOUE, S., ODA, T., KOYAMA, J., IKEDA, K. AND HAYASHI, K.
gr; Amino acid sequences of nerve growth factors derived from cobra venoms.
gr; FEBS LETT. 279(1) 38-40 (1991).

gr; 4. BARDE, Y., EDGAR, D. AND THOENEN, H.
gr; Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain.
gr; EMBO J. 1 549-553 (1982).

gr; 5. HIBBERT, A., KRAMER, B., MILLER, F. AND KAPLAN, D.
gr; The localization, trafficking and retrograde transport of BDNF bound to
gr; p75NTR in sympathetic neurons. 10

gr; MOL.CELL.NEUROSCI. 32 387-402 (2006).

gr; 6. LINNARSSON, S., BJORKLUND, A. AND ERNFORS, P.
gr; Learning deficit in BDNF mutant mice.
gr; EUR.J.NEUROSCI. 9 2581-2587 (1997).

gr; 7. LEBRUN, B., BARIOHAY, B., MOYSE, E. AND JEAN, A.
gr; Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and food intake regulation: a
gr; minireview.
gr; AUTON.NEUROSCI. 126-127 30-38 (2006).

gr; 8. KOZISEK, M., MIDDLEMAS, D. AND BYLUND, D. 20

gr; Brain-derived neurotrophic factor and its receptor tropomyosin-related
gr; kinase B in the mechanism of action of antidepressant therapies.

gr; PHARMACOL.THER. 117 30-51 (2008).

g d ; 脊椎動物の神経系の発生の間に、多くのニューロンは（それらが死滅し、標的細胞に結合できない等の故に）冗長となり、排除される。

g d ; 同時に、発生しているニューロンはそれらの標的細胞に接触する軸索伸長を送り出す [1] 。

g d ; そのような細胞は、ニューロンの生存に必須である種々の特異的な神経栄養因子の分泌によって神経刺激伝達のそれらの程度（軸索結合の数）を制御する。

g d ; これらのうちの1つは神経成長因子（NGF）である、これはいくつかのクラスの胚ニューロン（例えば、末梢交感神経ニューロン）の生存に関与している [1] 。 NGF 30

は中枢神経系（CNS）の外部で最も見出されるが、

g d ; わずかな痕跡が成人CNS組織で検出されるが、これに対する生理学的役割は知られていない [1] ;

g d ; それは数種の蛇毒においても見出されている [2 , 3] 。 NGFと同様な蛋白質は脳 - 由来神経栄養因子（BDNF）およびニューロトロフィン3から7を含み、その全ては、ニューロンの生存および伸長活性を実証する。

g d ; プタ脳から元来は精製され [4] 、ニューロトロフィンBDNFはCNSおよび末梢における一定範囲の組織および細胞型において発現される。それは、ニューロトロフィンチロシンキナーゼ受容体2型（NTRK2 ; TrkBとも呼ばれる）および低親和性神経栄養因子受容体、p75NTRに結合することによってその効果を発揮する。前者の受容体はニューロトロフィンのプロ生存機能を媒介するが、BDNFによるp75NTRの活性化は、アポトーシスを促進し、および軸索成長を阻害することが示されている [5] 40

g d ; BDNFはシナプス可塑性の鍵となる調節剤であり、学習および記憶において重要な役割をしている [6] 。

g d ; 証拠の数系列は、それが食品摂取および体重の制御にも関与していることを示唆する [7] 。

g d ; 多数の臨床的実験は異常なBDNFレベルと、鬱病、癲癇、双極性障害、パーキンソン病およびアルツハイマー病のような障害および病気状態との関連性を実証した [8]

。

g d ; B D N F A C T O R は、脳 - 由来神経栄養因子についてのシグネチャーを提供する 5 - エレメントフィンガープリントである。該フィンガープリントは 3 3 の配列の最初の整列から導かれ：

g d ; モチーフは実質的に全整列長さにわたる保存された領域から引き出され - モチーフ 1 はシグナル配列の一部を含む。S P T R 5 5 _ _ 3 8 F についての 3 つの反復は収束に到達するのに必要とされ、その時点において、4 7 の配列を含む真の組が同定された。

g d ; 単一の部分的マッチも見出された。Q 6 Y N R 1 _ _ H U M A N、モチーフ 4 および 5 にマッチしないヒト B D N F スプライス変種。

f c ; B D N F A C T O R 3

f l ; 17

f t ; 脳由来神経栄養因子モチーフ III - 3

fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	A2A112_MOUSE	115	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q8CCH9_MOUSE	107	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q6YNR3_HUMAN	113	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q6YNR2_HUMAN	120	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q598Q1_HUMAN	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q541P3_MOUSE	107	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_URSML	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_URSAR	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_SPEC I	105	31	20
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_SELTH	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_RAT	107	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_PROLO	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_PIG	110	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_PANTR	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_MOUSE	107	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_HUMAN	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_FELCA	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_CANFA	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_BOVIN	108	31	30
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_AILME	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_AILFU	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	A7LA92_HUMAN	187	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	A7LA85_HUMAN	134	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_CAVPO	113	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_HORSE	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q8VHH4_MOUSE	107	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q6DN19_HUMAN	105	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_LIPVE	106	31	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_CHICK	104	30	40
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q8AV78_NIPNI	104	30	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q4JHT7_POEGU	104	30	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	A4L7M3_BOMOR	105	30	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q63ZM5_XENLA	105	30	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	A3FPG9_XENTR	105	30	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q8QG75_9SAUR	104	30	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q8QG76_9SAUR	104	30	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	A4L7M4_9SALA	105	30	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	A4L7M5_SALSL	105	30	
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	A2ICR4_AMBME	105	30	50

fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q8QG77_9SALA	105	30
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q6NZ01_DANRE	128	47
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q9YH42_DANRE	128	47
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q8JGW4_PAROL	127	48
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q06B76_DICLA	127	48
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_CYPKA	128	47
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	Q8QG74_9SAUR	104	30
fd; PLLFLLEEYKKNYLDAAN	BDNF_XIPMA	127	48

カルシトニン

10

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

H M M ファイル : prints.hmm

配列ファイル : uro742rev.154

カルシトニン R - 2 : 1 のドメイン 1、91 から 108 : スコア 6 . 0、E = 9 . 4

->kCYDRmqqLPpYeGEGpY<-

R+ LP+Y GEGp

uro742rev. 91 TPVRRLLPLPSYPGEGPQ 108

20

カルシトニン __ 2 : 1 のドメイン 1、72 から 89 : スコア 6 . 0、E = 9 . 4

->kCYDRmqqLPpYeGEGpY<-

R+ LP+Y GEGp

zc37.B9.2d 72 TPVRRLLPLPSYPGEGPQ 89

g c ; カルシトニン R

g x ; P R 0 0 3 6 1

g n ; 化合物 (6)

g n ; 1 9 9 5 年 4 月 1 5 日 ; 更新 1 9 9 9 年 6 月 6 日

30

g t ; カルシトニン受容体シグネチャー

gp; PRINTS; [PR00237](#) GPCRRHODOPSN; [PR00247](#) GPCRCAMP; [PR00248](#) GPCRMGRgp; PRINTS; [PR00249](#) GPCRSECRETIN; [PR00250](#) GPCRSTE2; [PR00899](#) GPCRSTE3gp; PRINTS; [PR00251](#) BACTRLOPSINgp; PRINTS; [PR01350](#) CTRFAMILY; [PR01351](#) CGRPRECEPTORgp; INTERPRO; [IPR001688](#)

gr; 1. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Fingerprinting G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 7(2) 195-203 (1994).

gr; 2. ISHIHARA T., NAKAMURA S., KAZIRO, Y., TAKAHASHI, T., TAKAHASHI, K.

40

gr; AND NAGATA, S.

gr; Molecular cloning and expression of a cDNA encoding the secretin receptor.

gr; EMBO J. 10 1635-1641 (1991).

gr; 3. LIN, H.Y., HARRIS, T.L., FLANNERY, M.S., ARUFFO, A., KAJI, E.H.,

gr; GORN, A., KOLAKOWSKI, L.F., LODISH, H.F. AND GOLDRING, S.R.

gr; Expression cloning of adenylate cyclase-coupled calcitonin receptor.

gr; SCIENCE 254 1022-1024 (1991).

gr; 4. JUEPPNER, H., ABOU-SAMRA, A.-B., FREEMAN, M., KONG, X.F.,

gr; SCHIPANI, E., RICHARDS, J., KOLALOWSKI, L.F., HOCK, J., POTTS, J.T.,

gr; KRONENBERG, H.M. AND SEGRE, G.E.

50

gr; A G protein linked receptor for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide.

gr; SCIENCE 254 1024-1026 (1991).

gr; 5. ISHIHARA, T., SHIGEMOTO, R., MORI, K., TAKAHASHI, K. AND NAGATA, S.

gr; Functional expression and tissue distribution of a novel receptor for

gr; vasoactive intestinal polypeptide.

gr; NEURON 8(4) 811-819 (1992).

gr; 6. WATSON, S. AND ARKINSTALL, S.

gr; Calcitonin.

gr; IN THE G PROTEIN-LINKED RECEPTOR FACTSBOOK, ACADEMIC PRESS, 1994, PP.74-76. 10

gr; 7. NJUKI, F., NICHOLL, C.G., HOWARD, A., MAK, J.C., BARNES, P.J.,

gr; GIRGIS, S.I. AND LEGON, S.A.

g r ; ラット肺血管における新しいカルシトニン - 受容体様配列。

g r ; C L I N . S C I . 8 5 (4) 3 8 5 - 3 8 8 (1 9 9 3) 。

g d ; G プロテイン - カップルド受容体 (G P C R) は、(種々のオートクリン、パラクリンおよび内分泌プロセスを含めた) 広い範囲の機能を含む膨大な蛋白質ファミリーを構成する。

g d ; それらは、それらが明確に区別される群に分離できることに基づき配列レベルにおいてかなりの多様性を示す。

g d ; 我々は用語族を用いて、G P C R を記載する。というのは、それらは進化の関係の表示があるファミリーの群を含むが、その間には、配列における統計学的に有意な類似性はないからである [1] 。 20

g d ; 現在知られている族メンバーは、ロドプシン胚様 G P C R 、セクレチン様 G P C R 、 c A M P 受容体、真菌接合フェロモン受容体、および向代謝性グルタミン酸受容体ファミリーを含む。

g d ; セクレチン様 G P C R はセクレチン [2] 、カルシトニン [3] 、副甲状腺ホルモン / 副甲状腺ホルモン - 関連ペプチド [4] および血管活性腸ペプチド [5] を含み、その全てはアデニルシクラーゼおよびホスファチジル - イノシトール - カルシウム経路を活性化させる。受容体のアミノ酸配列は、ロドプシンおよび G プロテインと相互作用すると信じられる他受容体を示唆する、高い割合の 7 つのドメインにグループ分けされた疎水性残基を含有する。 30

g d ; しかしながら同様な 3 D フレームワークはこれを説明するために提案されているが、これらのファミリーの間の有意な配列同一性はなく ;

g d ; セクレチン様受容体は、かくして、それら自身のユニークな [7 T M] シグネチャーを担う。

g d ; カルシトニンの主な生理学的役割は骨再吸収を阻害することであり、それにより、血漿中 $C a^{++}$ の低下に導く [6] 。さらに、それは腎臓におけるイオンの排出を増強させ、腸におけるイオンの吸収を妨げ、および内分泌細胞 (例えば、膵臓および下垂体) における分泌を阻害する。

g d ; C N S において、カルシトニンは、鎮痛性であって、摂食および胃酸分泌を抑制することであると報告されてきた。 40

g d ; それは、骨のパジエット病を治療するのに用いられている。

g d ; カルシトニン受容体はこれらの細胞から導かれた破骨細胞で、または不死細胞系で多く見出される。

g d ; それは脳において (例えば、視床下部および下垂体組織) において、および末梢組織 (例えば、精巣、腎臓、肝臓およびリンパ球) において少量見出されている。

g d ; また、それは、肺および乳癌細胞系においても記載されている。支配的なシグナリング経路は G s を介してアデニルシクラーゼの活性化であるが、カルシトニンはホスホイノシタイド経路で刺激性および阻害性活性双方を有するとともに記載されてきた。

g d ; カルシトニン R は、カルシトニン受容体についてのシグネチャーを提供する 6 - エ 50

レメントフィンガープリントである。該フィンガープリントは6つの配列の最初の整列から由来し：

g d ;モチーフはループまたはT M領域いずれか内の保存されたセクションから引き出され、カルシトニン受容体を特徴付けるが、それらをセクレチン様ファミリーの残りから識別する整列の領域に焦点を当てており -

g d ;モチーフ1から3は第一のT Mドメインに導かれるN - 末端領域から導かれ；

g d ;モチーフ4は、ループ領域に入るのに続いて第二のT MドメインのC - 末端に存在し；

g d ;モチーフ5は、7番目のT M領域に対してN - 末端側；およびモチーフ6は、C - 末端から導かれた。

10

g d ;O W L 2 5 . 2での2つの反復は収束に到達するのに必要であり、その時点において、9の配列を含む真の組が同定された。

g d ;単一の部分的マッチもまた見出された。R N C L R、ラット肺血管からの新しいカルシトニン様受容体 [7]。

f c ;カルシトニン R 2

F 1 ; 1 8

f t ;カルシトニン受容体モチーフ11-2

fd; KCYDRIQQLPPYEGEGPY	CALR_RAT	54	1
fd; KCYDRMEQLPPYQGEGPY	CALR_RABIT	54	1
fd; KCYDRMQQLPAYQGEGPY	CALR_HUMAN	54	1
fd; KCYDRIHQLPSYEGEGLY	CALR_MOUSE	54	1
fd; RCYDRMQQLPPYEGEGPY	CALR_CAVPO	54	1
fd; RCYDRMQQLPPYQGEGLY	CALR_PIG	55	1

20

ロイコトリエン B 4 タイプ 1 受容体

BLKPROBバージョン 5/21/00.1

データベース=/gcg/husar/gcgdata/gcgblimps/blocksplus.dat

著作権 (C) 1 9 9 2 - 6 フレッド・ハッチンソン・ガン研究センター

30

研究においてB L O C K Sを用いた場合には、S t e v e n H e n i k o f f a n d J o r j a G . H e n i k o f f , P r o t e i n F a m i l y C l a s s i f i c a t i o n B a s e d o n S e a r c h i n g a D a t a b a s e o f B l o c k s , G e n o m i c s 1 9 : 9 7 - 1 0 7 (1 9 9 4) を引用されたい。

各番号の結果は、クエリ配列で見出されるプロサイト (P R O S I T E) またはプリント (P R I N T S) 群からの1以上のブロックよりなる。正しい順番であって、B L O C K Sデータベースに匹敵する距離によって分離された最高のスコアリングブロックの1つの組が分析のために選択される。この組が多数のブロックを含めば、より低いスコアのブロックは最高のスコアのブロックを支持する確率が報告される。データベースブロックおよびクエリ配列のマッピングが示される：

40

< は、配列がページにフィットするように切形されていることを示す。

: は、データベースにおけるブロック間の最小の距離を示す。

・ はデータベースにおけるブロックの間の最大の距離を示す。

該マッピングは最高のスコアのブロックに整列させる。クエリ配列とB L O C K Sデータベース中のそれに最も近い配列との整列が示される。クエリ配列における上方の場合は、ブロックのその欄における残基の少なくとも1つの出現を示す。

クエリ= u r o 7 0 5 r e v . 1 a . 7 4 長さ : 7 4 タイプ ; P C

50

サイズ = 7 4 アミノ酸
 サーチされたブロック = 2 9 0 6 8
 なされた整列 = 2 8 9 6 5 2 9
 ヒトについてのカットオフの合わせた予測値 = 0
 反復 / その他についてのカットオフブロックの予測された値 = 0

ファミリー

ストランド ブロック 合わせた E - 値

IPB003983 ロイコトリエン B 4 タイプ 1 受容体表示 6 のうち 1 0.0042 10

> I P B 0 0 3 9 8 3 1 / 6 は合わせた E - 値をブロックする = 0 . 0 0 4 2 : シグネチャー

ブロック フレーム位置 (a a) ブロック E - 値

IPB003983C 0 25-41 0.0046

他の報告された整列 :

1 4 1 アミノ酸

IPB003983 AAA::::BB::::::::::CCC:::DDD::::::::::.EEEEFF

uro705rev.1a.74_12 ::::CCC 20

IPB003983C <->C (202,207):24

Q9WTK1|Q9WTK1_CAVPO207 SRRLRVRRFHRRRRRTGR

|| | || ||| ||

uro705rev.1a.74_12 25 IRRrRpRRRpIRRRRRrGR

rheu.cd.215rev.1.736

> I P B 0 0 3 9 8 3 1 / 6 は合わせた E - 値をブロックする = 0 . 0 0 9 4 : ロイコトリエン B 4 タイプ 1 受容体シグネチャー

ブロック フレーム位置 (a a) ブロック E - 値

IPB003983C 0 28-44 0.0096 30

他の報告された整列

1 4 1 アミノ酸

IPB003983 AAA::::BB::::::::::CCC:::DDD::::::::::.EEEEFF

rheu.cd.215rev.1.7 ::::CCC 40

IPB003983C <->C (202,207):27

LT4R1_RAT|Q9R0Q2 206 GRRLQARRFRRSRRTGR

|| ||| || |

rheu.cd.215rev.1.7 28 rRRrpARRFRaRRRvrR

zpr5.B4.12dk.209 長さ : 2 0 9 タイプ : P

ファミリー

ストランド ブラック 合わせた値

IPB003983 ロイコトリエン B 4 タイプ 1 受容体表示 6 のうちの 1 0.0078

zpr5.B4.12dk

> I P B 0 0 3 9 8 3 1 / 6 は合わせた E - 値をブロックする = 0 . 0 0 7 8 : ロイコトリエン B 4 タイプ 1 受容体シグネチャー

ブロック フレーム位置 (a a) ブロック E 値

IPB003983C 0 32-48 0.0081 50

他の報告された整列:

```

          |--- 141 amino acids---|
IPB003983 AAA:::BB:::CCC:::DDD:::EEEEFF
zpr5.B4.12dk.209_2          :::::CCC

```

```

IPB003983C      <->C      (202,207):31
Q9WTK1|Q9WTK1_CAVPO207  SRRLRVRRFHRRRTGR
          || | ||  |||| |
zpr5.B4.12dk.209_2 32      rRRpRrRRvRRRRRwrR

```

10

シェーグレン症候群 / 強皮症自己抗原 1 (自己抗原 p 2 7)

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

H M M ファイル : pfam.hmm

配列ファイル : rheu.cd.211rev.164

Auto_anti-p27: 1 のドメイン 1、1 1 7 から 1 5 6 : スコア - 1 2 . 1、E = 4 . 6

```

      *->eiskkmae|L|kGatMLdehCpkCGtPLFr|KdGkvfCPiCe<-*
          + ++ +++ | + L++ +kC + +r + Gk fC +Ce

```

rheu.cd.21 117 HT-AVKGQFGLGTGRALGKALKKCAFAGLR-RKGKCFCKVCE 156

20

#=GF ID Auto_anti-p27

#=GF AC PF06677.4

#=GF DE Sjogren's syndrome/scleroderma autoantigen 1 (Autoantigen p27)

#=GF AU Moxon SJ

#=GF SE Pfam-B_21881 (release 10.0)

#=GF TP Family

#=GF RN [1]

#=GF RM 9486406

#=GF RT cDNA cloning of a novel autoantigen targeted by a minor subset

#=GF RT of anti-centromere antibodies.

#=GF RA Muro Y, Yamada T, Himeno M, Sugimoto K;

#=GF RL Clin Exp Immunol 1998;111:372-376.

#=GF DR INTERPRO; IPR009563;

= G F C C このファミリーは数種のシェーグレン症候群 / 強皮症自己抗原 1 (自己抗原 p 2 7) 配列よりなる。

= G F C C 抗 - p 2 7 と抗 - 動原体抗体との潜在的な会合は、自己抗原 p 2 7 が有糸分裂において役割をしていることを示唆すると考えられる [1] 。

30

40

バソプレッシン

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

H M M ファイル : prints.hmm

配列ファイル : uro742rp.132

VASOPRSNV2R_6: 1 のドメイン 1、7 から 2 6 : スコア 7 . 4、E = 9 . 1

```

      *->RaGgrRrGrRtGsPsEGArv<-*
          R rRrG t s sE A

```

50

uro742rp.1 7 RNASRRRGSSTASTSEEASL 26

VASOPRSNV2R_6: 1 のドメイン 1、7 から 26 : スコア 7 . 4 E = 9 . 1

->RaGgrRrGrRtGsPsEGArv<-
R rRrG t s sE A

zc37.B8.10 7 RNASRRRGSSTASTSEEASL 26

VASOPRSNV1BR_4: 1 のドメイン 1、130 から 149 : スコア 3 . 0、E = 7 . 1

->TQAgRverrrGWRTWDksSsS<-
Q + +e R WD++

zc35s.B2.9 130 AQDWAEETACRYWDRPPRT 149

10

gc; VASOPRSNV2R

gx; PR00898

gn; 化合物(8)

ga; 1998年4月15日; 更新1999年6月7日

gt; バソプレッシン V 2 受容体シグネチャー

gp; PRINTS; [PR00237](#) GPCRRHODOPSN; [PR00247](#) GPCRCAMP; [PR00248](#) GPCRMGR

gp; PRINTS; [PR00249](#) GPCRSECRETIN; [PR00250](#) GPCRSTE2; [PR00899](#) GPCRSTE3

gp; PRINTS; [PR00251](#) BACTRLOPSIN

20

gp; PRINTS; [PR00896](#) VASOPRESSINR

gp; PRINTS; [PR00752](#) VASOPRSNV1AR; [PR00897](#) VASOPRSNV1BR; [PR00665](#) OXYTOCINR

gp; INTERPRO; [IPR000161](#)

gr; 1. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Fingerprinting G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 7(2) 195-203 (1994).

gr; 2. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; G protein-coupled receptor fingerprints.

gr; 7TM, VOLUME 2, EDS. G.VRIEND AND B.BYWATER (1993).

gr; 3. BIRNBAUMER, L.

30

gr; G proteins in signal transduction.

gr; ANNU.REV.PHARMACOL.TOXICOL. 30 675-705 (1990).

gr; 4. CASEY, P.J. AND GILMAN, A.G.

gr; G protein involvement in receptor-effector coupling.

gr; J.BIOL.CHEM. 263(6) 2577-2580 (1988).

gr; 5. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Design of a discriminating fingerprint for G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 6(2) 167-176 (1993).

gr; 6. WATSON, S. AND ARKINSTALL, S.

gr; Vasopressin and oxytocin.

40

gr; IN THE G PROTEIN-LINKED RECEPTOR FACTSBOOK, ACADEMIC PRESS, 1994, PP.284-291

gd; G プロテイン - カップルド受容体 (GPCR) は、(種々のオートクリン、パラクリンおよび内分泌プロセスを含めた) 広い範囲の機能を含む膨大な蛋白質ファミリーを構成する。

gd; それらは、明確に区別される群に分離することができることに基づき、配列レベルにおけるかなりの多様性を示す。

gd; 我々は用語族を用いてGPCRを記載する。というのは、それらは、進化の関係の表示があるが、その間には、配列において統計学的に有意な類似性はないファミリーの群を含むからである [1 : 2]。

50

g d ; 現在知られている族メンバーはロドプシン様 G P C R、セクレチン様 G P C R c A M P 受容体真菌接合フェロモン受容体および向代謝性グルタミン酸受容体ファミリーを含む。

g d ; ロドプシン様 G P C R それ自体は、ホルモン、神経伝達物質および光受容体を含む広く普及した蛋白質ファミリーを表し、その全てはグアニンヌクレオチド結合 (G) プロテインとの相互作用を介して細胞外シグナルを変換する。

g d ; それらの活性化リガンドは構造および特徴において広く変化するが、受容体のアミノ酸配列は非常に似ており、7 回膜貫通 (T M) ラセンを含む共通の構造的フレームワークを採用していると信じられている [3 - 5]。

g d ; バソプレッシンおよびオキシトシンは、全ての哺乳動物種で見出される神経下垂体ホルモンファミリーのメンバーである [6]。

g d ; それらは後方下垂体において高レベルで存在している。バソプレッシンは、身体の水含有量の制御において必須の役割を有し、腎臓において作用して、水およびナトリウムの吸収を増加させる [6]。

g d ; より高い濃度においては、バソプレッシンは血管平滑筋の収縮を刺激し、肝臓におけるグリコーゲン分解を刺激し、血小板活性化を誘導し、および前方下垂体からのコルチコトルピンの放出を誘導する [6]。

g d ; バソプレッシンおよびそのアナログは、糖尿病尿崩症を治療するために臨床的に用いられる [6]。

g d ; V 2 受容体は末端尿路の浸透圧調節性上皮において高いレベルで見出され、ここでは、それは水の再吸収を刺激する [6]。

g d ; それは、いくつかの種の内皮および血管においてより低いレベルでも存在し、ここでは、それは血管拡張 [6] を誘導する。

g d ; C N S においては、結合部位はカレヤの尾状核被殻および島においてより低いレベルにおいて、海馬台で見出される。

g d ; 該受容体は、G S の活性化を介して c A M P を形成するエフェクター経路に關与する [6]。

g d ; V A S O P R S N V 2 R は、バソプレッシン V 2 受容体についてのシグネチャーを提供する 8 - エレメントフィンガープリントである。該フィンガープリントは 4 つの配列の最初の整列から由来し：

g d ; モチーフは全整列長さにわたる短い保存されたセクションから引き出され、バソプレッシン V 2 受容体を特徴付けるが、それらをバソプレッシンファミリーの残りから識別する領域に焦点を当てており -

g d ; モチーフ 1 および 2 は N - 末端に存在し；

g d ; モチーフ 3 は第一の細胞質ループにわたり；モチーフ 4 は第 2 の細胞質ループにわたり；

g d ; モチーフ 5 および 6 は第 3 の細胞質ループにわたり；およびモチーフ 7 および 8 は C - 末端に存在する。O W L 3 0 . 1 での単一の反復は収束を達成するのに必要とされ、出発の組を超えてさらなる配列は同定されていない。

f c ; VASOPRSNV2R6

f l ; 20

f t ; バソプレッシン V 2 受容体モチーフ VI - 2

f d ; RAGRRRRGHRTGSPSEGAHV	O88721	243	2
f d ; RAGRRRRGRRTGSPSEGAHV	V2R_RAT	243	2
f d ; RAGGHRGGRRAGSPREGARV	V2R_PIG	242	2
f d ; RPPGRRRRGRRTGSPGEGAHV	V2R_HUMAN	243	2
f d ; RAGGCRGGHRTGSPSEGARV	O77808	242	2
f d ; RAGGPRRGCRPGSPAEGARV	V2R_BOVIN	242	2

10

20

30

40

50

g c ; VASOPRSNV1BR
g x ; P R 0 0 8 9 7
g n ; 化合物 (9)
g a ; 1 9 9 8 年 4 月 1 5 日 ; 更新 1 9 9 9 年 6 月 7 日
g t ; バソプレッシン V I B 受容体シグネチャー
gp ; PRINTS; PR00237 GPCRRHODOPSN; PR00247 GPCRCAMP; PR00248 GPCRMGR
gp ; PRINTS; PR00249 GPCRSECRETIN; PR00250 GPCRSTE2; PR00899 GPCRSTE3
gp ; PRINTS; PR00251 BACTRLOPSIN
gp ; PRINTS; PR00896 VASOPRESSINR
gp ; PRINTS; PR00752 VASOPRSNV1AR; PR00898 VASOPRSNV2R; PR00665 OXYTOCINR 10
gp ; INTERPRO; IPR000628
gr ; 1. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.
gr ; Fingerprinting G protein-coupled receptors.
gr ; PROTEIN ENG. 7(2) 195-203 (1994).
gr ; 2. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.
gr ; G protein-coupled receptor fingerprints.
gr ; 7TM, VOLUME 2, EDS. G.VRIEND AND B.BYWATER (1993).
gr ; 3. BIRNBAUMER, L.
gr ; G proteins in signal transduction.
gr ; ANNU.REV.PHARMACOL.TOXICOL. 30 675-705 (1990). 20
gr ; 4. CASEY, P.J. AND GILMAN, A.G.
gr ; G protein involvement in receptor-effector coupling.
gr ; J.BIOL.CHEM. 263(6) 2577-2580 (1988).
gr ; 5. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.
gr ; Design of a discriminating fingerprint for G protein-coupled receptors.
gr ; PROTEIN ENG. 6(2) 167-176 (1993).
gr ; 6. WATSON, S. AND ARKINSTALL, S.
gr ; Vasopressin and oxytocin.
gr ; IN THE G PROTEIN-LINKED RECEPTOR FACTSBOOK, ACADEMIC PRESS, 1994, PP.284-291 30
. .
g d ; V A S O P R S N V 1 B R は、バソプレッシン V 1 B 受容体についてのシグネチャーを提供する 9 - エレメントフィンガープリントである。該フィンガープリントは 3 つの配列の最初の整列に由来し：
g d ; モチーフは全整列長さにわたる短い保存されたセクションから引き出され、バソプレッシン V 1 B 受容体の特徴付けるが、それらを、バソプレッシンファミリーの残りから区別する領域に焦点を当てており -
g d ; モチーフ 1 は N - 末端に存在し；モチーフ 2 は第二の細胞質ループに存在し、モチーフ 3 は第二の外部ループに存在し、モチーフ 4 および 5 は第三の細胞質ループにわたり；
g d ; モチーフ 6 は第三の外部ループに存在し；およびモチーフ 7 から 9 は C - 末端ドメインに存在する。 40
g d ; O W L 3 0 . 1 での単一の反復は収束に到達するのに必要であり、出発の組を超えて、さらなる配列は同定されなかった。
f c ; V A S O P R S N V 1 B R 4
f l ; 20
ft ; バソプレッシン V 1 B 受容体モチーフ IV-2
fd ; TQAWRVGGGWRTWDRPSPS V1BR_HUMAN 234 48
fd ; TQAGREERRGWRTWDKSSSS V1BR_RAT 234 48

HMMER 2.3.2 (2003年10月)

著作権 (C) 1992 - 2003 HMI / ワシントン大学医学部

GNU一般公衆利用許諾 (GPL) 下で自由に頒布

HMMファイル: prints.hmm

配列ファイル: uro742rp.133

MCH2RECEPTOR__5 : 1のドメイン1、69から86 : スコア5.9、E = 7.1

->LvqPFRLtrWRtRYKtiRin<-

PF +t+WRt + + n

uro742rp.1 69 --RPFClTKWRtSFLFFKNN 86

10

gc ; MCH2RECEPTOR

gx ; PR01784

gn ; 化合物 (9)

ga ; 2002年9月25日

gt ; メラニン - 濃縮ホルモン2受容体シグネチャー

gp ; PRINTS ; [PR00237](#) GPCRRHODOPSN ; [PR00247](#) GPCRCAMP ; [PR00248](#) GPCRMGR

gp ; PRINTS ; [PR00249](#) GPCRSECRETIN ; [PR00250](#) GPCRSTE2 ; [PR00899](#) GPCRSTE3

gp ; PRINTS ; [PR00251](#) BACTRLOPSIN

gp ; PRINTS ; [PR01507](#) MCH1RECEPTOR ; [PR01783](#) MCHRECEPTOR

20

gr ; 1. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr ; Fingerprinting G protein-coupled receptors.

gr ; PROTEIN ENG. 7(2) 195-203 (1994).

gr ; 2. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr ; G protein-coupled receptor fingerprints.

gr ; 7TM, VOLUME 2, EDS. G.VRIEND AND B.BYWATER (1993).

gr ; 3. BIRNBAUMER, L.

gr ; G proteins in signal transduction.

gr ; ANNU.REV.PHARMACOL.TOXICOL. 30 675-705 (1990).

gr ; 4. CASEY, P.J. AND GILMAN, A.G.

30

gr ; G protein involvement in receptor-effector coupling.

gr ; J.BIOL.CHEM. 263(6) 2577-2580 (1988).

gr ; 5. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr ; Design of a discriminating fingerprint for G protein-coupled receptors.

gr ; PROTEIN ENG. 6(2) 167-176 (1993).

gr ; 6. CHAMBERS, J., AMES, R.S., BERGSMAN, D., MUIR, A., FITZGERALD, L.R.,

gr ; HERVIEU, G., DYTOKO, G.M., FOLEY, J.J., MARTIN, J., LIU, W.S., PARK, J.,

gr ; ELLIS, C., GANGULY, S., KONCHAR, S., CLUDERAY, J., LESLIE, R., WILSON, S.

gr ; AND SARAU, H.M.

gr ; Melanin-concentrating hormone is the cognate ligand for the orphan G

40

gr ; protein-coupled receptor SLC-1.

gr ; NATURE 400 261-265 (1999).

gr ; 7. SAITO, Y., NOTHACKER, H.-P., WANG, Z., LIN, S.H.S., LESLIE, F. AND

gr ; CIVELLI, O.

gr ; Molecular characterization of the melanin-concentrating-hormone receptor.

gr ; NATURE 400 265-269 (1999).

gr ; 8. SAITO, Y., NOTHACKER, H.-P. AND CIVELLI, O.

gr ; Melanin-concentrating hormone receptor: an orphan receptor fits the key.

gr ; TRENDS ENDOCRINOL.METAB. 11(8) 299-303 (2000).

gr ; 9. HILL, J., DUCKWORTH, M., MURDOCK, P., RENNIE, G., SABIDO-DAVID, C., AMES,

50

gr; R.S., SZEKERES, P., WILSON, S., BERGSMA, D.J., GLOGER, I.S., LEVY, D.S.,
gr; CHAMBERS, J.K. AND MUIR, A.I.

gr; Molecular cloning and functional characterization of MCH2, a novel human MCH
gr; receptor.

gr; J.BIOL.CHEM. 276(23) 20125-20129 (2001).

g d ; G プロテイン - カップルド受容体 (G P C R) は、 (種々のオートクリン、パラ -
クリンおよび内分泌プロセスを含めた) 広い範囲の機能を含む膨大な蛋白質ファミリーを
構成する。

d g ; それらは、それらが明確に区別される群に分離することができることに基づき、配
列レベルにおいてかなりの多様性を示す。

g d ; 我々は、用語族を G P C R を記載するのに用いる。というのは、それらは、進化的
関係の表示はあるが、それらの間には、配列において統計学的に有意な類似性がないファ
ミリーの群を含むからである [1 . 2] 。

g d ; 現在知られている族メンバーはロドプシン様 G P C R、セクレチン様 G P C R、 c
A M P 受容体真菌接合フェロモン受容体および向代謝性グルタミン酸受容体ファミリーを
含む。

g d ; ロドプシン様 G P C R は、それら自体で、ホルモン、神経伝達物質および光受容体
を含む広く分布した蛋白質ファミリーを表し、

g d ; その全てはグアニンヌクレオチド結合 (G) プロテインとの相互作用を通じて細胞
外シグナルを変換する。

g d ; それらの活性化リガンドは構造および特徴において広く変化するが、受容体のアミ
ノ酸配列は非常に似ており、かつ 7 回膜貫通 (T M) ラゼンを含む共通の構造的フレーム
ワークを採用すると信じられている [3 - 5] 。

g d ; メラニン - 濃縮ホルモン (M C H) は、硬骨魚類において元来同定された環状ペプ
チドである [6 , 7] 。

g d ; 魚類においては、MCH は下垂体から放出され、および色素凝集を介して皮膚顔料
細胞のより明るい色にする変化を引き起こす [6 , 8] 。

g d ; 哺乳動物においては、MCH は視床下部において圧倒的に発現され、および一定範
囲の機能の制御において神経伝達物質として機能する [8] 。

g d ; MCH の主な役割は摂食の調節にあると考えられ :

g d ; ラットの脳への MCH の注射は摂食を刺激し ; MCH の発現は肥満および絶食マウ
スの視床下部においてアップレギュレートされ ; および MCH を欠如するマウスは痩せて
おり余り食べない [6] 。

g d ; MCH およびアルファメラノサイト - 刺激性ホルモン (アルファ - M S H) は、多
数の生理学的機能に対するアンタゴニスト的效果を有する。

g d ; アルファ - M S H は魚類における色素形成を暗くし、および哺乳動物における摂食
を低下させ、他方、MCH は接触を増加させる [6 , 8] 。

g d ; 2 つの G プロテイン - カップルド受容体である MCH 1 および MCH 2 は、最近、
ホルモンに対する受容体として同定された。

g d ; MCH 2 の発現プロフィールは MCH 1 のそれと同様であり、最高のレベルは脳で
見出される。

g d ; しかしながら、MCH 2 の発現は、下垂体、視床下部、青斑核、延髄および小脳に
おいて MCH 1 よりも有意により低い [9] 。

g d ; 受容体への MCH の結合は、細胞内カルシウムの百日咳トキシン - 非感受性増加を
引き起こし、Gq プロテインへのカップリングを示唆する [9] 。

g d ; MCH 2 R E C E P T O R はメラニン - 濃縮ホルモン 2 受容体についてのシグネチ
ャーを提供する 9 - エレメントフィンガープリントである。

g d ; 該フィンガープリントは 5 つの配列の最初の整列に由来し : モチーフは N - および
C - 末端およびループ領域内の保存されたセクションから引き出され、

g d ; MCH 2 受容体を特徴付けるが、それらを、MCH 受容体ファミリーの残りから識

10

20

30

40

50

別する整列の領域に焦点を合わせ -

g d ;モチーフ 1 および 2 は N - 末端にわたり ; モチーフ 3 は最初の細胞質ループをコードし ; モチーフ 4 は第一の外部ループに存在し ;

g d ;モチーフ 5 は第二の細胞質ループにわたり、T Mドメイン 4 に導かれ ; モチーフ 6 は第二の外部ループに存在し ; モチーフ 7 は第三の細胞質ループにわたり ; モチーフ 8 は T Mドメイン 7 の N - 末端に位置し ; およびモチーフ 9 は C - 末端をコードする。

g d ; S P T R 4 0 _ _ 2 2 F での 2 つの反復は収束に到達するのに必要とされ、その時点において、6 つの配列を含む真の組が同定された。

f c ; M C H 2 R E C E P T O R 5

f l ; 2 0

f t ; メラニン - 濃縮ホルモン 2 受容体モチーフ V - 2

fd; LVQPFRLTSWRTRYKTIRIN	Q8MJ88	135	29
fd; LVQPFRLTRWRTRYKTIRIN	Q969V1	135	29
fd; LVQPFRLTRWRTRYKTIRIN	Q9BXA8	135	29
fd; LVQPFRLTSWRTRYKTIRIN	Q8SQ54	135	29
fd; LVQPFRLTSWRTRYKTIRIN	Q8MIN7	135	29
fd; LVQPFRLTSWRTRYKTIRIN	Q8MIP5	135	29

10

プロスタノイド E P 1 受容体シグネチャー

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

HMMファイル: prints.hmm

配列ファイル: uro742rev.107r

P R S T N O I D E P 1 R _ _ 4 : 1 のドメイン 1、1 から 1 8 : スコア 8 . 4、E = 4 . 7

->isLGPpGGWRqAL.LAGL<-

++LGP GG R+ L +AG

uro742rev. 1 MGLGPSGGNRKTLfIAGK 18

30

P R S T N O I D E P 1 R _ _ 4 : 1 のドメイン 1、1 から 1 8 : スコア 8 . 4、E = 4 . 7

->isLGPpGGWRqAL.LAGL<-

++LGP GG R+ L +AG

zc37.B8.10 1 MGLGPSGGNRKTLfIAGK 18

40

g c ; P R S T N O I D E P 1 R

g x ; P R 0 0 5 8 0

g n ; 化合物 (7)

g a ; 1 9 9 6 年 9 月 2 5 日 ; 更新 1 9 9 9 年 6 月 7 日

g t ; プロスタノイド E P 1 受容体シグネチャー

gp; PRINTS; PR00237 GPCRRHODOPSN; PR00247 GPCRCAMP; PR00248 GPCRMGR

gp; PRINTS; PR00249 GPCRSECRETIN; PR00250 GPCRSTE2; PR00899 GPCRSTE3

gp; PRINTS; PR00251 BACTRLOPSIN

gp; PRINTS; PR00428 PROSTAGLNDNR; PR00581 PRSTNOIDEP2R; PR00582 PRSTNOIDEP3R

gp; PRINTS; PR00583 PRSTNOIDE31R; PR00584 PRSTNOIDE32R; PR00585 PRSTNOIDE33R

50

gp; PRINTS; PR00586 PRSTNOIDEP4R; PR00854 PRSTNOIDDP; PR00855 PRSTNOIDFPR

gp; PRINTS; PR00856 PRSTNOIDIPR

gp; INTERPRO; I|PR000708

gr; 1. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Fingerprinting G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 7(2) 195-203 (1994).

gr; 2. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; G protein-coupled receptor fingerprints.

gr; 7TM, VOLUME 2, EDS. G.VRIEND AND B.BYWATER (1993).

gr; 3. BIRNBAUMER, L.

gr; G proteins in signal transduction.

gr; ANNU.REV.PHARMACOL.TOXICOL. 30 675-705 (1990).

gr; 4. CASEY, P.J. AND GILMAN, A.G.

gr; G protein involvement in receptor-effector coupling.

gr; J.BIOL.CHEM. 263(6) 2577-2580 (1988).

gr; 5. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Design of a discriminating fingerprint for G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 6(2) 167-176 (1993).

gr; 6. WATSON, S. AND ARKINSTALL, S.

gr; Prostanoids.

gr; IN THE G PROTEIN-LINKED RECEPTOR FACTSBOOK, ACADEMIC PRESS, 1994, PP.239-251

gd; Gプロテイン-カップルド受容体 (GPCR) は、(種々のオートクリン、パラクリンおよび内分泌プロセスを含めた) 広い範囲の機能を含む膨大な蛋白質ファミリーを構成する。

gd; それらは、それらが明確に区別される群に分離できることに基づき、配列レベルにおいてかなりの多様性を示す。

gd; 我々は用語族を用いて GPCR を記載する。というのは、それらは、進化の関係の表示はあるが、それらの中には、配列において統計学的に有意な類似性はないファミリーの群を含むからである [1 , 2]。

gd; 現在知られている族メンバーは、ロドプシン様 GPCR、セクレチン様 GPCR、cAMP 受容体、真菌接合フェロモン受容体、および向代謝性グルタミン酸受容体ファミリーを含む。

gd; ロドプシン様 GPCR は、それら自体、ホルモン、神経伝達物質および光受容体を含む広く普及した蛋白質ファミリーを表し、

gd; その全ては、グアニンヌクレオチド結合 (G) プロテインとの相互作用を介して細胞外シグナルを変換する。

gd; それらの活性化リガンドは構造および特徴において広く変化するが、受容体のアミノ酸配列は非常に似ており、かつ 7 回膜貫通 (TM) ラセンを含む共通の構造的フレームワークを採用すると信じられている [3 - 5]。

gd; プロスタノイド (プロスタグランジン (PG) およびトロンボキサン (TX)) は、広く種々の作用を媒介し、および心血管および免疫系において、および末梢系での疼痛知覚において重要な生理学的役割をする [6]。

gd; PGT2 および TXA2 は、血小板と血管内皮との相互作用の調節に関係する反対の作用を有し、他方、PGE2、PGI2 および PGD2 は強力な血管拡張剤であって、種々のオートコイドの作用を増強させて、血漿溢出および疼痛知覚を誘導する。

gd; 今日、プロスタノイド受容体の少なくとも 5 つのクラスについての証拠が得られている。

gd; しかしながら、サブタイプおよびそれらの分布の同定は、入手可能なアゴニストおよびアンタゴニストの少ない選択性とあいまって、組織内の 1 を超える受容体の発現によ

10

20

30

40

50

って妨げられる。

g d ; E P 1 受容体は、特にげっ歯類において、種々の種における胃腸平滑筋の収縮、および気道および子宮平滑筋の緩和を媒介する [6]。受容体は、恐らくは、G g / G 1 1 クラスの百日咳 - トキシン - 非感受性 G プロテインを介してホスホイノシタイド経路を活性化する [6]。

g d ; P R S T N O I D E P 1 R は、プロスタノイド E P 1 受容体についてのシグネチャーを提供する 7 - エレメントフィンガープリントである。該フィンガープリントは 2 つの配列の最初の整列に由来し：

g d ; モチーフはループまたは N - および C - 末端領域いずれか内の保存されたセクションから引き出され、

g d ; プロスタノイド E P 1 受容体の特徴付けるが、それらを、ロドプシン様スーパーファミリーの残りから識別する整列の領域に焦点を当てており -

g d ; モチーフ 1 は N - 末端に存在し；モチーフ 2 は第一の細胞質ループにわたり；モチーフ 3 は最初の外部ループにわたり；モチーフ 4 は第二の外部ループにおいて存在し；モチーフ 5 は第三の細胞質ループに存在し；およびモチーフ 6 および 7 は C - 末端にわたる。

g d ; O W L 2 8 . 2 での単一の反復は収束に到達するのに必要であり、さらなる配列は出発組を超えて同定されなかった。

g d ;

f c ; P R S T N O I D E P 1 R 4

f l ; 1 7

f t ; プロスタノイド E P 1 受容体モチーフ I V - 2

fd; ISLGPRGGWRQALLAGL PE21_MOUSE 192 73

fd; ISLGPPGGWRQALLAGL PE21_RAT 192 73

fd; IGLGPPGGWRQALLAGL PE21_HUMAN 190 73

サイクリンキナーゼ

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

H M M ファイル: prints.hmm

配列ファイル: rheu.cd.215rev.1.736

サイクリンキナーゼ__3 : 1 のドメイン 1、662 から 676 : スコア 9 . 3、E = 3 . 1

->EWRsIGvqqslGWvh<-

E + Gvqq l Wvh

rheu.cd.21 662 ESSRFGVQQRLPWVH 676

g c ; サイクリンキナーゼ

g x ; P R 0 0 2 9 6

g n ; 化合物 (4)

g a ; 1 9 9 4 年 1 0 月 7 日 ; 更新 1 9 9 9 年 6 月 7 日

g t ; サイクリン - 依存性キナーゼ調節サブユニットシグネチャー

gp; INTERPRO; IPR000789

gp; PROSITE; PS00944 CKS_1; PS00945 CKS_2

gp; PFAM; PF01111 CKS

gr; 1. BRIZUELA, L., DRAETTA, G. AND BEACH, D.

gr; p13suc1 acts in the fission yeast cell division cycle as a component of the

gr; p34cdc2 protein kinase.

gr; EMBO J. 6 3507-3514 (1987).

gr; 2. PARGE, H.E., ARVAI, A.S., MURTARI, D.J., REED, S.I. AND TAINER, J.A.

10

20

30

40

50

gr; Human CksHs2 atomic structure: a role for its hexameric assembly in cell cycle control.

gr; SCIENCE 262 387-395 (1993).

gr; 3. TANG, Y. AND REED, S.I.

gr; The Cdk-associated protein Cks1 functions both in G1 and G2 in Saccharomyces cerevisiae.

gr; GENES DEV. 7 822-832 (1993).

g d ; 真核生物においては、サイクリン - 依存性プロテインキナーゼはサイクリンと相互作用して、細胞周期の進行を調節し、これは細胞分裂の G 1 および G 2 段階で必要である「1」。

10

g d ; 該蛋白質は、それらの機能にとって必須である、調節サブユニット (サイクリン - 依存性キナーゼ調節サブユニット、または C K S) に結合する [2] 。

g d ; 調節サブユニットは、3つのインターロックされたホモダイマーの対象アセンブリによって形成された、通常でない 1 2 - スtrandのベータ - バレル構造を作り出すヘキサマーとして存在する [2] 。

g d ; パレル中心を通過して、6つの暴露されたらせん対によってライニングされた 1 2 A 直径のトンネルが走る [3] 。

g d ; 6つのキナーゼユニットをモデル化して、かくして、サイクリン - 依存性プロテインキナーゼマルチマー化についてのハブとして作用し得るヘキサマー構造に結合することができる [2 , 3] 。

20

g d ; サイクリンキナーゼは、サイクリン - 依存性キナーゼ調節サブユニットに対するシグネチャーを提供する 4 - エレメントフィンガープリントである。

g d ; 該フィンガープリントは4つの配列の最初の整列に由来し：モチーフは実質的に全整列長さを含む保存された領域から引き出され、

g d ; モチーフ 1、2 および 4 はプロサイトパターン C K S __ 1 (P S 0 0 9 4 4) および C K S __ 2 (P S 0 0 9 4 5) によってコードされた領域にわたる。

g d ; O W L 2 4 . 0 での 2 つの反復は収束に到達するのに必要であり、その時点において、5つの配列を含む真の組が、

g d ; 同定された。

f c ; サイクリンキナーゼ 3

30

f l ; 1 5

f t ; サイクリン - 依存性プロテインキナーゼ調節サブユニットモチーフ III-2

fd; EWRRRLGVQQSLGWVH	CKS2_XENLA	42	7
fd; EWRNLGVQQSQGWVH	CKS1_HUMAN	42	7
fd; EWRRRLGVQQSLGWVH	CKS2_HUMAN	42	7
fd; EWRRRLGVQQSLGWVH	CKS2_MOUSE	42	7
fd; EWRSIGVQQSHGWIH	CKS1_PATVU	42	7
fd; EWRSIGVQQSRGWIH	CKS1_DROME	41	7
fd; EWRGLGVQQSQGWVH	CKS1_PHYPO	42	7
fd; EWRQLGVQQSQGWVH	CKS1_LEIME	67	7
fd; EWRAIGVQQSRGWVH	O23249	40	7
fd; EWRGLGITQSLGWQH	O60191	73	16
fd; EWRGLGITQSLGWEM	CKS1_SCHPO	69	16
fd; EWRGLGITQSLGWEH	CKS1_YEAST	73	16
fd; EWRSLGIQQSPGWMH	CKS1_CAEEL	44	7

40

ペルオキシソーム増殖薬 - 活性化受容体 (1 C 核受容体) シグネチャー

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

50

HMM ファイル: prints.hmm
 配列ファイル: rheu.cd.215rev.1.736
 プロキシソーム P A R_7: 1 のドメイン 1、7 2 1 から 7 3 3 : スコア 8 . 0、E = 5 .
 7 *->KtEtdasLHPLLq<-*
 K + sLHPLL
 rheu.cd.21 721 KVQAGHSLHPLLs 733

g c ; プロキシソーム P A R
 g x ; P R 0 1 2 8 8
 g n ; 化合物 (7) 10
 g a ; 2 0 0 0 年 2 月 1 9 日
 g t ; ペルオキシソーム増殖薬 - 活性化受容体 (1 C 核受容体) シグネチャー
 gp ; PRINTS; PR00398 STRDHORMONER; PR00047 STROIDFINGER
 gp ; PRINTS; PR01289 PROXISOMPAAR; PR01290 PROXISOMPABR; PR01291 PROXISOMPAGR
 gr ; 1. NUCLEAR RECEPTORS NOMENCLATURE COMMITTEE
 gr ; A unified nomenclature system for the nuclear receptor superfamily.
 gr ; CELL 97 161-163 (1999).
 gr ; 2. NISHIKAWA, J-I., KITaura, M., IMAGAWA, M. AND NISHIHARA, T.
 gr ; Vitamin D receptor contains multiple dimerisation interfaces that
 gr ; are functionally different. 20
 gr ; NUCLEIC ACIDS RES. 23(4) 606-611 (1995).
 gr ; 3. DE VOS, P., SCHMITT, J., VERHOEVEN, G. AND STUNNENBERG, G.
 gr ; Human androgen receptor expressed in HeLa cells activates transcription
 gr ; in vitro.
 gr ; NUCLEIC ACIDS RES. 22(7) 1161-1166 (1994).
 gr ; 4. KREY, G., KELLER, H., MAHFOUDI, A., MEDIN, J., OZATO, K., DREYER, C.
 gr ; AND WAHLI, W.
 gr ; Xenopus peroxisome proliferator activated receptors: genomic organization,
 gr ; response element recognition, heterodimer formation with retinoid X receptor
 gr ; and activation by fatty acids. 30
 gr ; J.STEROID BIOCHEM.MOL.BIOL. 47 65-73 (1993).
 gr ; 5. DREYER, C., KREY, G., KELLER, H., GIVEL, F., HELFTENBEIN, G.
 gr ; AND WAHLI, W.
 gr ; Control of the peroxisomal beta-oxidation pathway by a novel family
 gr ; of nuclear hormone receptors.
 gr ; CELL 68 879-887 (1992).
 g e ; ステロイドまたは核ホルモン受容体 (N R) は、胚発生、細胞分化およびホメオス
 タシスの制御を含めた、広く多様な生理学的機能に關与する転写調節剤の重要なスーパー
 ファミリーを構成する [1]。
 g d ; 該スーパーファミリーのメンバーはステロイドホルモン受容体、および甲状腺ホル
 モン、レチノイド、1 , 2 5 - ジヒドロキシ - ビタミン D 3 および種々の他のリガンドの
 受容体を含む。 40
 g d ; 該蛋白質は核においてダイマー分子として機能して、標的遺伝子をリガンドの転写
 を応答様式で調節する [2 , 3]。
 g d ; C - 末端リガンド結合ドメインに加えて、これらの核受容体は、リガンド - 応答性
 エLEMENTと呼ばれる、標的 D N A 配列への特異的結合を媒介する高度に保存された N -
 末端亜鉛 - フィンガーを含有する。
 g d ; リガンドの不存在においては、ステロイドホルモン受容体は核成分と弱く会合して
 いると考えられ ; ホルモン結合は受容体の親和性を大いに増加させる。
 g d ; N R は医学的研究において極端に重要であり、それらのうちの非常に多数が癌、糖 50

尿病、ホルモン抵抗性症候群等のような病気において示されている [1]。

g d ; 数種のNRはリガンド - 誘導性転写因子として作用するが、多くは未だ定義されたリガンドを有さず、および従って「オーファン」受容体と呼ばれている。

g d ; この10年間の間に、300を超えるNRが記載されており、その多くはオーファンであり、これは文献における現在の命名法の混乱のため容易に命名することができない。

g d ; しかしながら、新しい系が、最近、スーパーファミリーメンバーを記載するのに用いられる名称の益々複雑な組を合理化する試みにおいて導入された [1]。

g d ; ペルオキシソーム増殖薬 - 活性化受容体 (P P A R) は、核ホルモン受容体スーパーファミリーに属するリガンド - 活性化転写因子である。P P A Rをコードする3つのc D N AはX e n o p u s l a e v i sから単離されている：x P P A Rアルファ、ベータおよびガンマ [4]。

g d ; 全ての3つのx P P A Rは、合成ペルオキシソーム増殖剤および天然に生じる脂肪酸双方によって活性化されるように見え、受容体のこのサブファミリーの全てのメンバーについての通常の作用の態様を示唆する [4]。

g d ; さらに、受容体の多重性は、生体異物および推定内因性リガンドについてのここに知られていない細胞シグナリング経路の存在を示唆する [5]。

g d ; プロキシソームP A Rはペルオキシソーム増殖薬 - 活性化受容体のためのシグネチャーを提供する7 - エレメントのフィンガープリントである。該フィンガープリントは11の配列の最初の整列に由来し：モチーフは実質的に全整列長さにわたる保存された領域から引き出され、

g d ; P P A Rファミリーを特徴付けるが、それをステロイドホルモン受容体スーパーファミリーの残りから区別するセクションに焦点を合わせており -

g d ; モチーフ1および2は垂鉛フィンガードメインに対してC - 末端側に存在し；およびモチーフ3から7は推定リガンド結合ドメインにわたる。

g d ; S P T R 3 7 _ 1 0 fでの3つの反復は収束に到達するのに必要であり、その時点において、19の配列を含む真の組が同定された。

g d ; 単一の部分的マッチが見出されており、第一のモチーフにマッチしない、X e n o p u sのベータペルオキシソーム増殖薬活性化受容体、P P A S _ _ X E N L A。

f c ; P R O X I S O M E P A R 7

f l ; 13

f t ; ペルオキシソーム増殖薬 - 活性化受容体モチーフVII-3

fd; KTETDMSLHPLLQ	O18924	486	16
fd; KTETDMSLHPLLQ	Q15832	486	16
fd; KTETDMSLHPLLQ	PPAT_HUMAN	456	16
fd; KTETDMSLHPLLQ	O62807	485	16
fd; KTETDMSLHPLLQ	O18971	486	16
fd; KTETDMSLHPLLQ	PPAT_RABIT	456	16
fd; KTETDMSLHPLLQ	O77815	485	16
fd; KTETDMSLHPLLQ	O88275	456	16
fd; KTETDMSLHPLLQ	PPAT_MOUSE	456	16
fd; KTETDMSLHPLLQ	Q15180	487	16
fd; KTEADMCLHPLLQ	PPAT_XENLA	458	16
fd; KTETDAALHPLLQ	PPAR_XENLA	455	16
fd; KTESDAALHPLLQ	PPAR_HUMAN	449	16
fd; KTESDAALHPLLQ	PPAR_RAT	449	16
fd; KTESDAALHPLLQ	PPAR_MOUSE	449	16
fd; KTETETSLHPLLQ	PPAS_HUMAN	422	16
fd; KTESDAALHPLLQ	PPAR_CAVPO	448	15

10

20

30

40

50

fd; KTESETLLHPLLQ PPAS_MOUSE 421 16
 fd; KTESETLLHPLLQ Q62879 421 16

ムスカリン様 M 1 受容体シグネチャー

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

HMMファイル: prints.hmm

配列ファイル: rheu.cd.215rev.1.736

ムスカリン様 M 1 R __ 4 : 2 のドメイン 1、1 6 1 から 1 7 7 : スコア 0 . 9、E = 9 10
 8 *->KmPmvDpEAqAPtKqPPk<-*

K P vD q t qPP
 rheu.cd.21 161 KHPTVDFMVQINT-QPPF 177

g c ; ムスカリン様 M 1 R

g x ; P R 0 0 5 3 8

g n ; 化合物 (6)

g a ; 1 9 9 6 年 6 月 1 日 ; 更新 1 9 9 9 年 6 月 7 日

g t ; ムスカリン様 M 1 受容体シグネチャー

gp; PRINTS; [PR00237](#) GPCRRHODOPSN; [PR00247](#) GPCRCAMP; [PR00248](#) GPCRMGR 20

gp; PRINTS; [PR00249](#) GPCRSECRETIN; [PR00250](#) GPCRSTE2; [PR00899](#) GPCRSTE3

gp; PRINTS; [PR00251](#) BACTRLOPSIN

gp; PRINTS; [PR00243](#) MUSCARINICR; [PR00539](#) MUSCRINICM2R; [PR00540](#) MUSCRINICM3R

gp; PRINTS; [PR00541](#) MUSCRINICM4R; [PR00542](#) MUSCRINICM5R

gp; INTERPRO; [IPR002228](#)

gr; 1. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Fingerprinting G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 7(2) 195-203 (1994).

gr; 2. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; G protein-coupled receptor fingerprints. 30

gr; 7TM, VOLUME 2, EDS. G.VRIEND AND B.BYWATER (1993).

gr; 3. BIRNBAUMER, L.

gr; G proteins in signal transduction.

gr; ANNU.REV.PHARMACOL.TOXICOL. 30 675-705 (1990).

gr; 4. CASEY, P.J. AND GILMAN, A.G.

gr; G protein involvement in receptor-effector coupling.

gr; J.BIOL.CHEM. 263(6) 2577-2580 (1988).

gr; 5. ATTWOOD, T.K. AND FINDLAY, J.B.C.

gr; Design of a discriminating fingerprint for G protein-coupled receptors.

gr; PROTEIN ENG. 6(2) 167-176 (1993). 40

gr; 6. KERLAVAGE, A.R., FRASER, C.M., CHUNG, F-Z. AND VENTER, J.C.

gr; Molecular structure and evolution of adrenergic and cholinergic receptors.

gr; PROTEINS 1 287-301 (1986).

gr; 7. WATSON, S. AND ARKINSTALL, S.

g r ; アセチルコリン。

g r ; G 蛋白質リンク受容体 F A C T S B O O K , A C A D E M I C P R E S S , 1 9 9 4 , P P . 7 - 1 8 .

g d ; G 蛋白質 - カップルド受容体 (G P C R) は、(種々のオートクリン、パラクリンおよび内分泌プロセスを含めた) 広い範囲の機能を含む膨大な蛋白質ファミリーを構成する。

g d ; それらは、それらが明確に区別される群に分離できることに基づいて、配列レベルにおけるかなりの多様性を示す。

g d ; 我々は用語族を用いて、G P C R を記載する。

g d ; というのは、それらは、進化の関係の表示はあるが、それらの間に、配列において統計学的に有意な類似性はないファミリーの群を含むからである [1 , 2] 。

g d ; 現在知られている族メンバーは、ロドプシン様 G P C R 、セクレチン様 G P C R 、c A M P 受容体、真菌接合フェロモン受容体、および向代謝性グルタミン酸受容体ファミリーを含む。

g d ; ロドプシン様 G P C R は、それら自体、ホルモン、神経伝達物質および光受容体を含む広く普及した蛋白質ファミリーを表し、

g d ; その全ては、グアニンヌクレオチド結合 (G) プロテインとの相互作用を通じての細胞外シグナルを変換する。

g d ; それらの活性化リガンドは構造および特性が広く変化するが、受容体のアミノ酸配列は非常に似ており、および 7 回膜貫通 (T M) ラセンを含む共通の構造的フレームワークを採用すると信じられている [3 - 5] 。

g d ; 中枢神経系、脊髄運動ニューロンおよび自律神経節前に存在するムスカリン様アセチルコリン受容体は、気道、目および腸平滑筋の収縮で；心拍；および腺分泌を含めた、種々の生理学的機能を変調する。

g d ; 受容体はアデニル酸シクラーゼ減衰、カルシウムおよびカリウムチャネルの活性化、およびホスファチジルイノシトール代謝回転を媒介する [6] 。

g d ; この多様性は、数種の組織からの膜における受容体へのリガンドの結合の観察された差に基づいて分類されてきた、(そのうち 5 つは現在知られており、M 1 から M 5 と命名されている) 多数の受容体サブタイプの出現に由来し得る。

g d ; M 1 受容体は C N S のニューロン細胞において高いレベルで見出され；それは大脳皮質および海馬において特に豊富である [7] 。

g d ; その分布は、M 3 および M 4 サブタイプのそれと大いに重複する。

g d ; 末梢においては、M 1 受容体は自律神経節およびある種の分泌腺で見出され、およびそれらは細胞系においても見出される。

g d ; 真に選択的なアゴニストは記載されていない [7] 。

g d ; ムスカリン様 M 1 R は、ムスカリン様 M 1 受容体についてのシグネチャーを提供する 6 - エレメントフィンガープリントである。該フィンガープリントは 4 つの配列の最初の整列に由来し；モチーフはループ、または N - および C 末端領域いずれか内の保存されたセクションから引き出され、

g d ; M 1 受容体を特徴付けるが、それらをムスカリン様受容体ファミリーの残りから識別する整列の領域に焦点が当てられ -

g d ; モチーフ 1 は N - 末端に存在し；モチーフ 2 から 5 は第三の細胞質ループにわたり；およびモチーフ 6 は C - 末端に存在する。

g d ; O W L 2 8 . 0 での単一の反復は収束に到達するのに必要であり、さらなる配列は出発の組を超えて同定されなかった。

f c ; ムスカリン様 M 1 R 4

f l ; 1 8

f t ; ムスカリン様 M 1 受容体モチーフ I V - 2

f d ; KMPMVDPEAQAPTQPPR ACM1_HUMAN 303 3

f d ; KMPMVDPEAQAPTQPPK ACM1_MOUSE 303 3

f d ; KMPMVDSEAQAPTQPPK ACM1_RAT 303 3

f d ; KMPMVDPEAQAPTQPPR ACM1_MACMU 303 3

f d ; KMPMVDPEAQAPAKQPPR ACM1_PIG 303 3

向代謝性ガンマ - アミノ酪酸 (G A B A) タイプ B 2 受容体シグネチャー

転写体 z c 3 5 s . B 3 . 3 e . 1 7 2 :

10

20

30

40

50

G A B A B 2 R E C P T R _ 1 : 1 のドメイン 1、 1 1 1 から 1 2 9 : スコア 5 . 9、 E = 6 . 4

->LAPGAWGwARGAPRPPPs<-

+ P W + P+PPPs+

zc35s.B3.3 111 VGPEQWLFPERKPKPPPSA 129

g c ; G A B A B 2 R E C P T R

g x ; P R 0 1 1 7 8

g n ; 化合物 (1 3)

g a ; 1 9 9 9 年 9 月 1 8 日

g t ; 向代謝性ガンマ - アミノ酪酸タイプ B 2 受容体シグネチャー

gp; PRINTS; PR00237 GPCRRHODOPSN; PR00247 GPCRCAMP; PR00249 GPCRSECRETIN

gp; PRINTS; PR00250 GPCRSTE2; PR00899 GPCRSTE3; PR00251 BACTRLOPSIN

gp; PRINTS; PR00592 CASENSINGR; PR00593 MTABOTROPICR

gp; PRINTS; PR01176 GABABRECEPTR; PR01177 GABAB1RECPTR

gp; INTERPRO; IPR002457

gr; 1. KAUPMANN, K., HUGGEL, K., HEID, J., FLOR, P.J., BISCHOFF, S., MICKEL, S.J

..

gr; MCMMASTER, G., ANGST, C., BITTIGER, H., FROESTL, W. AND BETTLER, B.

gr; Expression cloning of GABA(B) receptors uncovers similarity to metabotropic
gr; glutamate receptors.

gr; NATURE 386 239-246 (1997).

gr; 2. KAUPMANN, K., SCHULER, V., MOSBACHER., J, BISCHOFF, S., BITTIGER, H.,

gr; HEID, J., FROESTL, W., LEONHARD, S., PFAFF, T., KARSCHIN, A. AND BETTLER, B.

gr; Human gamma-aminobutyric acid type B receptors are differentially expressed
gr; and regulate inwardly rectifying K+ channels.

gr; PROC.NATL.ACAD.SCI.U.S.A. 95(25) 14991-14996 (1998),

gr; 3. WHITE, J.H., WISE, A., MAIN, M.J., GREEN, A., FRASER, N.J., DISNEY, G.H.,

gr; BARNES, A.A., EMSON, P., FOORD, S.M. AND MARSHALL, F.H.

gr; Heterodimerization is required for the formation of a functional GABA(B)

gr; receptor.

gr; NATURE 396 679-82 (1998).

g d ; G A B A (ガンマ - アミノ - 酪酸) は脳における主要な阻害性神経伝達物質であり、
および向イオン性 (G A B A (A) / G A B A (C)) および向代謝性 (G A B A (B))
受容体システムを通じてシグナリングを行う [1]。

g d ; G A B A (B) 受容体はクローン化されており、および光親和性標識実験は、それ
らが脊椎動物神経系における 2 つの高度に保存された受容体形態に対応することを示唆す
る [1]

g d ; G A B A (B) 受容体は、阻害性シナプス伝達の微調整に關与する [2]。

g d ; シナプス前受容体は、高 - 電圧活性化 C a 2 + チャネルをダウン - レギュレートす
ることによって神経伝達物質放出を阻害し、他方、シナプス後受容体は、後期阻害性シナ
プス後ポテンシャルの基礎となる顕著な内側向きの整流 K + (K i r) コンダクタンスを
活性化することによってニューロン興奮性を減少させる [2]。

g d ; G A B A (B) 受容体はアデニル酸シクラーゼに負にカップリングしており、およ
び興奮性神経伝達物質 L - グルタメートについての向代謝性受容体に対して配列類似性を
示す。

g d ; G A B A (B) 受容体 (G A B A (B) R 2) の新しいサブタイプは、E S T デー
タベースマイニングによって同定されてきた [3]。

g d ; 酵母 2 - ハイブリッドスクリーニングは、新しいサブタイプがそれらの細胞内 C 末
端テイルにおける相互作用を介して G A B A (B) R 1 とヘテロダイマーを形成するこ

10

20

30

40

50

とを示している [3]。HEK 293 T細胞における GABA (B) R 2での発現に際して、GABA (B) R 1は末端がグリコシル化されており、かつ細胞表面において発現される。

gd ; 受容体の共 - 発現は、細胞表面において十分に機能的な GABA (B) 受容体を生じさせ ; この受容体は、内因性脳受容体のそれと同等な高い親和性をもって GABA に結合する (3)。

gd ; そのような結果は、インビトロにて、機能的脳 GABA (B) 受容体が GABA (B) R 1および GABA (B) R 2のヘテロダイマーであってよいことを示す。

gd ; GABAB2RECPTRは、タイプ2のGABA (B) 受容体のシグネチャーを提供する13 - エレメントのフィンガープリントである。

gd ; 該フィンガープリントは2つの配列の最初の整列に由来し : モチーフは実質的に十分な整列な長さにもわたる保存された領域から取り出され、

gd ; タイプ2受容体を特徴付けるが、それらを、GABA (B) 受容体ファミリーの残りから区別するセクションに焦点を当てている。

gd ; SPTTR37__10fについての単一の反復は収束に到達するのに必要とされ、さらなる配列は出発の組を超えて同定されなかった。

fc; GABAB2RECPTR1

fl; 19

ft; GABAB2受容体モチーフ1-1

fd; LAPGAWGWARGAPRPPSS 075899 35 35

fd; LAPGAWGWTRGAPRPPSS 088871 34 34

アルギニンデイミナーゼシグネチャー

ARGデイミナーゼ__6 : 1のドメイン1、57から75 : スコア8.0、E = 6.8

->seLsrGrggprcmsmplvR<-

s L+rG g pr s p++

zc35s.B3.3 57 SPLGRGAGEPRRTSTPVAA 75

gc ; ARGデイミナーゼ

gx ; PR01466

gn ; 化合物 (6)

ga ; 2001年1月8日

gt ; 細菌アルギニンデイミナーゼシグネチャー

gp ; PRINTS ; PR00102 OTCASE

gp ; PFAM ; PF02726 Arg__デイミナーゼ

gp ; INTERPRO ; IPR003876

gr; 1. BROWN, D.M., UPCROFT, J.A., EDWARDS, M.R. AND UPCROFT, P.

gr; Anaerobic bacterial metabolism in the ancient eukaryote Giardia duodenalis.

gr; INT.J.PARASITOL. 28 149-64 (1998).

gr; 2. HARASAWA, R., KOSHIMIZU, K., KITAGAWA, M., ASADA, K. AND KATO, I.

gr; Nucleotide sequence of the arginine deiminase gene of Mycoplasma hominis.

gr; MICROBIOL.IMMUNOL. 36 661-665 (1992).

gr; 3. KANAOKA, M., KAWANAKA, C., NEGORO, T., FUKITA, Y., TAYA, K. AND AGUI, H.

gr; Cloning and expression of the antitumor glycoprotein gene of Streptococcus

gr; pyogenes Su in Escherichia coli.

gr; AGRIC.BIOL.CHEM. 51 2641-2648 (1987).

gr; 4. DEGNAN, B.A., PALMER, J.M., ROBSON, T., JONES, C.E., FISCHER, M.,

gr; GLANVILLE, M., MELLOR, G.D., DIAMOND, A.G., KEHOE, M.A. AND GOODACRE, J.A.

gr; Inhibition of human peripheral blood mononuclear cell proliferation by

10

20

30

40

50

gr; Streptococcus pyogenes cell extract is associated with arginine deiminase
gr; activity.

gr; INFECT.IMMUN. 66 3050-3058 (1998).

gd; アルギニンジヒドロラーゼ (A D) 経路は多くの原核生物およびいくつかの原始的な真核生物において見出されており、後者の例は *G i a r d i a* である [1]。

g d ; 3 - 酵素嫌気性経路は L - アルギニンを分解して、1モルの A T P、二酸化炭素およびアンモニアを形成する。

g d ; より単純な細菌においては、第一の酵素であるアルギニンデイミナーゼは全細胞蛋白質の 1 0 % まで占めることができる [1]。

g d ; アルギニンデイミナーゼは L - アルギニンの L - シトルリンおよびアンモニアへの変換を触媒する。 10

g d ; A T P を介してエネルギーを生産するのと同様に、アンモニアもまた、酸損傷に対して細菌を保護し、および生じたシトルリンを他の生合成経路で用いることができる [2]。

g d ; ストレプトコッカス酸糖蛋白質 (S A G P) もまた、アルギニンデイミナーゼとして機能することが示されている [3]。

g d ; 最近、この酵素のもう一つの機能が発見された [4]。

g d ; それは優れた抗 - 腫瘍効果を有し、抗原、腸抗原またはマイトジェン - 刺激ヒト末梢血液単核細胞増殖を阻害することができる [4]。

g d ; 蛋白質のもう一つの機能は、細胞周期阻止およびアポトーシス誘導による細胞増殖を阻害する。 20

g d ; かくして、組換えアルギニンデイミナーゼは新規な抗 - 腫瘍剤として用いることができると仮定されている [4]。

g d ; A R G デイミナーゼは細菌アルギニンデイミナーゼ蛋白質ファミリーについてのシグネチャーを提供する 6 - エレメントフィンガープリントである。該フィンガープリントは 4 つの配列の最初の整列に由来し：モチーフは十分な整列長さ (~ 4 3 0 アミノ酸) にわたる保存された領域から引き出された。

g d ; S P T R 3 7 _ 1 0 f での 2 つの反復は収束に到達するのに必要であり、その時点において、1 3 の配列を含む真の組が同定された。

g d ; 3 つの部分的マッチもまた見出され： P 7 5 4 7 5 および P 7 5 4 7 4 は、各々、第一の 3 つ、および最後の 3 つのモチーフにマッチするマイコプラズマ肺炎アルギニンデイミナーゼであり； 30

g d ; および Q 4 8 2 9 4 はモチーフ 2 および 6 にマッチするハロバクテリウムサリナルムアルギニンデイミナーゼである。

b b ; c ; A R G デイミナーゼ 6

f l ; 1 9

f t ; 細菌アルギニンデイミナーゼモチーフ VI - 2

fd; SELSRGRGGPRCMSGMPLIR	051896	388	8
fd; SELSRGRGGPRCMSGMPLIR	Q46254	392	8
fd; SELVRGRGGPRCMSGMPFER	SAGP_STRPY	389	8
fd; SELSRGRGGPRCMSGMSLVR	051781	389	8
fd; GELSRGRGGPRCMSGMPLYR	086131	391	8
fd; SELSRGRGGPRCMSGMPLVR	053088	388	8
fd; SELGRGRGGGHCMTCPIVR	ARCA_PSEAE	394	8
fd; NQLSLGMGNARCMMSGMPLSR	ARCA_MYCHO	385	8
fd; SELGRGRGGGHCMTCPIWR	031017	387	8
fd; NQLSLGMGNARCMMSGMPLSR	ARCA_MYCAR	386	8
fd; GELGRGRGGGHCMTCPIVR	ARCA_PSEPU	397	8
fd; SELGTGRGGPRCMSGCPAAR	005585	381	8
fd; SELSRGPSGPLEMVCSSLWR	ARCA_MYCPN	419	8

10

20

30

40

50

オピオイド成長因子受容体反復

HMMER 2.3.2 (2003年10月)

著作権 (C) 1992 - 2003 HHMI / ワシントン大学医学部

GNU一般公衆利用許諾 (GPL) 下で自由に頒布

HMMファイル: pfam.hmm

配列ファイル: zc37.B9.2de.p2

OGFr_III: 1のドメイン1、186から207:スコア8.2、E=3.6

->sPsEtPGPrPA..GParDEPAE<-

+ tP P PA +GP+r +P E

zc37.B9.2d 186 RAASTPVPTPAIrGPTRQDPGE 207

10

#=GF ID OGFr_III

#=GF AC PF04680.5

#=GF DE オピオイド成長因子受容体反復

#=GF PI OGFr_反復;

#=GF AU Waterfield DJ, Finn RD

#=GF SE Pfam-B_4529 (放出 7.5)

#=GF GA 33.30 0.00; 25.00 25.00;

#=GF TC 40.70 0.30; 28.20 35.60;

#=GF NC 30.90 18.10; 17.10 16.10;

#=GF TP 反復

#=GF BM hmmbuild -FHMM_ls.ann SEED.ann

#=GF BM hmmcalibrate --seed 0 HMM_ls

#=GF BM hmmbuild -f -FHMM_fs.ann SEED.ann

#=GF BM hmmcalibrate --seed 0 HMM_fs

#=GF AM globalfirst

#=GF RN [1]

#=GF RM 11890982

#=GF RT オピオイド成長因子受容体 (OGFr) の生物学。

#=GF RA Zagon IS, Verderame MF, McLaughlin PJ;

#=GF RL BrainRes BrainRes Rev 2002;38:351-376.

#=GF DR INTERPRO; IPR006770;

#=GF CC ヒトオピオイド成長因子受容体においてのみ見出されるプロリン-リッチな反復 [1]。

20

30

接着分子CD36シグネチャー

HMMER 2.3.2 (2003年10月)

著作権 (C) 1992 - 2003 HHMI / ワシントン大学医学部

GNU一般公衆利用許諾 (GPL) 下で自由に頒布

HMMファイル: prints.hmm

配列ファイル: zc3r11.B4.10d.p1

CD36抗原_3: 1のドメイン1、11から29:スコア6.3、E=7.7

->WiFDvqnPdevaknsskikvkqR<-

vq P+e ss+ +v+qR

zc3r11.B4. 11 ---NVQDP EE-QNESSRFRVQQR 29

40

g c ; CD36抗原

g x ; PR01610

50

g n ; 化合物 (1 3)

g a ; 2 0 0 1 年 1 2 月 2 3 日

g t ; 接着分子 C D 3 6 シグネチャー

g p ; P R I N T S ; P R 0 1 6 0 9 C D 3 6 F A M I L Y ; P R 0 1 6 1 1 L I M
P I I

g p ; M I M ; 1 7 3 5 1 0

gr; 1. OKUMURA, T. AND JAMIESON, G.A.

gr; Platelet glycoprotein. Orientation of glycoproteins on the human platelet
gr; surface.

gr; J.BIOL.CHEM. 251 5944-5949 (1976).

10

gr; 2. NICHOLSON, A.C., FEBBRAIO, M., HAN, J., SILVERSTEIN, R.L. AND

gr; HAJJAR, D.P.

gr; CD36 in atherosclerosis. The role of a class B macrophage scavenger receptor
.

gr; ANN.N.Y.ACAD.SCI. 902 128-131 (2000).

gr; 3. SILVERSTEIN, R.L. AND FEBBRAIO, M.

gr; CD36 and atherosclerosis.

gr; CURR.OPIN.LIPIDOL. 11 483-491 (2000).

gr; 4. SAVILL, J., HOGG, N., REN, Y. AND HASLETT, C.

gr; Thrombospondin cooperates with CD36 and the vitronectin receptor

20

gr; in macrophage recognition of neutrophils undergoing apoptosis.

gr; J.CLIN.INVEST. 90 1513-1522 (1989).

gr; 5. TANDON, NN., KRALISZ, U. AND JAMIESON, GA.

gr; Identification of glycoprotein IV (CD36) as a primary receptor

gr; for platelet-collagen adhesion.

gr; J.BIOL.CHEM. 264 7576-7583 (1989).

gr; 6. MCGREGOR, J.L., CATIMEL, B., PARMENTIER, S., CLEZARDIN, P., DEHAVANNE, M

gr; .

gr; AND LEUNG, L.L.

gr; Rapid purification and partial characterization of human platelet

30

gr; glycoprotein IIIb. Interaction with thrombospondin and its role in platelet

gr; aggregation.

gr; J.BIOL.CHEM. 264 501-506 (1989).

gr; 7. BARNWELL, J.W., ASCH, A.S., NACHMAN, R.L., YAMAYA, M., AIKAWA, M. AND

gr; INGRAVALLO, P.

gr; A human 88-KD membrane glycoprotein (CD36) functions in vitro as a receptor

gr; for a cytoadherence ligand on Plasmodium falciparum-infected erythrocytes.

gr; J.CLIN.INVEST. 84 765-772 (1989).

gr; 8. BULL, H.A., BRICKELL, P.M. AND DOWD, P.M.

gr; Src-related protein tyrosine kinases are physically associated with the

40

gr; surface antigen CD36 in human dermal microvascular endothelial cells.

gr; FEBS LETT. 351 41-44 (1994).

gr; 9. MIYAOKA, K., KUWASAKO, T., HIRANO, K., NOZAKI, S., YAMASHITA, S.

gr; AND MATSUZAWA, Y.

gr; CD36 deficiency associated with insulin resistance.

gr; LANCET 357 686-687 (2001).

g d ; C D 3 6 は、単球、マクロファージ、血小板、ミクロ血管内皮細胞および脂肪組織
[2] によって発現された膜貫通の高度にグリコシル化された 8 8 k D a 糖蛋白質 [1]
である。

g d ; それは、酸化された L D L (O x L D L)、長鎖脂肪酸、アニオン性リン脂質、ア

50

ポトーシス細胞、トロンボスポンジン (T S P)、コラーゲンおよび熱帯熱マラリア - 感染赤血球に結合する多機能受容体である。

g d ; C D 3 6 は多数の細胞機能を有する。それは、マクロファージによる O x L D L の摂取において主要な役割をする、タイプ B スカベンジャー受容体である。次いで、該脂質 - リッチなマクロファージは泡沫細胞に分化し、アテローム性動脈硬化症病巣の形成に寄与する [3]。

g d ; 加えて、マクロファージの C D 3 6 は、T S P およびインテグリンアルファ v ベータ 3 と一緒に、アポトーシス好中球を貪食できる [4]。

g d ; さらに、該蛋白質は血小板接着および凝集におけるコラーゲンの受容体のうちの 1 つである [5 , 6]。

g d ; C D 3 6 もまた、異なる器官の毛細管後小静脈の内皮に対する熱帯熱マラリア - 感染赤血球の細胞接着を媒介することができる [7]。

g d ; さらに、細胞質 C D 3 6 は、S r c ファミリーチロシンキナーゼと相互作用することによって単一の変換において重要な役割をする [8]。

g d ; アジアおよびアフリカの人口における C D 3 6 の欠乏はインスリン抵抗性と関連付けられている [9]。

g d ; C D 3 6 は C D 3 6 接着分子についてのシグネチャーを提供する 1 3 - エLEMENT のフィンガープリントである。該フィンガープリントは 4 つの配列の最初の整列に由来し、C D 3 6 接着分子を特徴付けるが、それらを、C D 3 6 のファミリーの残りから識別するセクションに焦点を当てており :

g d ; モチーフ 1 は最初の推定 N - 末端 T M ドメインにわたり ; モチーフ 2 - 1 2 は細胞外ドメインに存在し ; およびモチーフ 1 3 は第二の推定 C - 末端 T M ドメインにわたる。S P T R 4 0 _ 1 8 F での 2 つの反復は収束に到達するのに必要であり、その時点において、6 つの配列を含む真の組が同定された。

b b ;

f c ; C D 3 6 抗原 3

f l ; 23

f t ; 接着分子 C D 3 6 モチーフ I I I I - 2

fd; WVFQVQNPPEEVAKNSSKIKVQR	CD36_RAT	65	18
fd; WIFQVQNPDDVAKNSSKIKVKQR	CD36_MOUSE	65	18
fd; WIFQVQNPDEVTVNSSKIKVKQR	CD36_BOVIN	65	18
fd; WIFQVQNPQEVMMNSSNIQVKQR	CD36_HUMAN	65	18
fd; WIFQVQNPDEVAVNSSKIKVKQR	CD36_MESAU	65	18
fd; WIFQVQNPPEEVAKNSSKIKVKQR	O35754	66	18

ミエリンプロテオ脂質蛋白質 (P L P) シグネチャー

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

H M M ファイル : prints.hmm

配列ファイル : zc312.B11.20d.trrev4_8009.sreformat

ミエリン P O 5 : 1 のドメイン 1、7 0 から 9 1 : スコア - 0 . 1、E = 9 . 3

```

*->GVVIGALIGGvLGvVLLlvlllYlv<-*
      IG1 IIGGv G VLL + +1 +
zc312.B11. 70 --MLGRIIGGV-GCVLLELXGLGVR 91

```

g c ; ミエリン P L P

g x ; P R 0 0 2 1 4

g n ; 化合物 (7)

g a ; 1 9 9 4 年 7 月 1 1 日 ; 更新 1 9 9 9 年 6 月 7 日

g t ; ミエリンプロテオ脂質蛋白質 (P L P) シグネチャー

g p ; I N T E R P R O ; I P R 0 0 1 6 1 4

g p ; P R O S I T E ; P S 0 0 5 7 5 ミエリン__P L P__1 ; P S 0 1 0 0 4 ミエリン__P L P__2

g p ; B L O C K S ; B L 0 0 5 7 5

g p ; P F A M ; P F 0 1 2 7 5 ミエリン__P L P

gr; 1. SAKAMOTO, Y., KITAMURA, K., YOSHIMURA, K., NISHIJIMA, T. AND UYEMURA, K.

gr; Complete amino acid sequence of P0 protein in bovine peripheral nerve

gr; myelin.

gr; J.BIOL.CHEM. 262 4208-4214 (1987).

gr; 2. SHAW, S.Y., LAURSEN, R.A. AND LEES, M.B.

gr; Identification of thiol groups and a disulfide crosslink site in bovine

gr; myelin proteolipid protein.

gr; FEBS LETT. 250 306-310 (1989).

gr; 3. DIEHL, H.J., SCHAICH, M., BUDZINSKI, R.M. AND STOFFEL, W.

gr; Individual exons encode the integral membrane domains of human myelin

gr; proteolipid protein.

gr; PROC.NATL.ACAD.SCI.U.S.A. 83 9807-9811 (1986).

g d ; ミエリン鞘は、絶縁体として機能して、軸索インパルス伝導の速度を大いに増加させる、神経系にとってユニークな多層膜である [1]。

g d ; ミエリンプロテオ脂質蛋白質 (P L P) は中枢神経系の神経の鞘で見出される主要な蛋白質である [2]。

g d ; それは膜 4 回にわたり [3]、および多数 - ラメラ構造の形成または維持において役割をしていると考えられる。

g d ; 該蛋白質は数個のシステイン残基、ジスルフィド結合の形成に關与するいくつか、パルミトイル化されている他のものを含有する [2]。

g d ; P L P における突然変異の結果、ヒトにおけるペリツェウスメルツバッパー病、マウスにおける「ジンピー」およびイヌにおける「シェーキングバップ」のような神経学的障害をもたらす。

g d ; ミエリン P L P はミエリンプロテオ脂質蛋白質についてのシグネチャーを提供する 7 - エレメントフィンガープリントである。該フィンガープリントは 4 つの配列の最初の整列に由来し：モチーフ 1、2、5 および 7 は 4 回膜貫通 (T M) ドメインをコードし -

g d ; モチーフ 4 は P R O S I T E パターンミエリン__P L P__1 (P S 0 0 5 7 5) によってコードされる領域を含み、これは第二および第三の T M セグメントの間に位置し、かつパルミトイル化された 2 つの C y s 残基を含有し；

g d ; モチーフ 7 は、P R O S I T E パターンミエリン__P L P__2 によってコードされた領域の部分を含む (P S 0 1 0 0 4)。

g d ; O W L 2 3 . 2 での 2 つの反復は収束に到達するのに必要であり、その時点において、9 つの配列を含む真の組が同定された。数個の部分的マッチもまた見出され、その全ては欠失突然変異体またはミエリン P L P 断片である。

g d ; S P T R 3 7 __9 f についての更新は 8 つの配列の真の組、および 9 つの部分的マッチを同定した。

クラミジア O M

H M M E R 2 . 3 . 2 (2 0 0 3 年 1 0 月)

著作権 (C) 1 9 9 2 - 2 0 0 3 H H M I / ワシントン大学医学部

G N U 一般公衆利用許諾 (G P L) 下で自由に頒布

H M M ファイル : prints.hmm

配列ファイル : xheu.cd.212rp.365_22305.sreformat

クラミジア O M 3 __3 : 1 のドメイン 1、8 8 から 1 0 0 : スコア 4 . 6、E = 9 . 7

10

20

30

40

->CGS)YV23C3kp6G<-
 C + Y + C + K + G
 rheu.cd.21 88 CTGYTEFCAYTG 100

g r ; 抗原模倣を介して連結されたクラミジア感染および心臓病。

g d ; (やはりリポ蛋白質であると考えられる) 3 つのシステイン - リッチ蛋白質はクラミジア外側膜の細胞外マトリックスを形成する [1] 。

g d ; それらは基本小体 (E B) および網様体 (R B) 相の双方の必須の構造的 - 一体性に
 関与する。これらの細菌はほとんどのグラム - 陰性微生物に共通のペプチドグリカン層を
 欠如するので、そのような蛋白質は生物の病原性において高度に重要である。 10

g d ; これらのうち最大は主要外側膜蛋白質 (M O M P) であって、該膜についての全蛋
 白質の 6 0 % 程度を構成する [2] 。

g d ; O M P 2 は 5 8 k D a の分子質量を持つ 2 番目に大きく、他方、O M P 3 蛋白質は
 ~ 1 5 k D a である [1] 。 M O M P は最大の免疫応答を誘導すると考えられ、最近、ネ
 ズミ心筋特異的アルファミオシンに対するその配列類似性を通じて心臓病に関連付けられ
 た [3] 。

g d ;

g d ; O M P 3 ファミリーはクラミジア細胞の E B 段階の間に外側膜において構造的な役
 割をし、および異なるピオバルはペプチド電荷レベルにおいて小さいが、高度に有意な変
 化を示す [1] 。このファミリーのメンバーは C . t r a c h o m a t i s 、 C . p n e 20
 u m o n i a e 、 および C . p s i t t a c i を含む。

g d ;

g d ; クラミジア O M 3 は、クラミジアのシステイン - リッチな外側膜 3 蛋白質 (O M P
 3) ファミリーについてのシグネチャーを提供する 3 - エレメントフィンガープリントで
 ある。

g d ; 該フィンガープリントは 3 つの配列の最初の整列から由来し :

g d ; モチーフは十分な整列長さ (~ 9 0 アミノ酸) にわたる保存された領域から引き出
 された。

g d ; S P T R 3 7 _ 1 0 F での 2 つの反復は収束に到達するのに必要であり、その時点
 において、8 つの配列を含む真の組が同定された。 30

【 0 0 4 9 】

また、本発明は、先に定義されたポリ核酸の一部を含む、またはそれよりなるオリゴヌ
 クレオチドプライマーに関し、該プライマーは当該発明の T T ウイルス H C R ポリ核酸お
 よび付着された細胞 (宿主) D N A 配列を特異的に配列決定し、または特異的に増幅する
 ためのプライマーとして作用することができる。

【 0 0 5 0 】

用語「プライマー」とは、コピーされるべき核酸ストランドに対して相補的なプライマ
 ー延長産物の合成のための開始点として作用することができる一本鎖 D N A オリゴヌクレ
 オチド配列をいう。プライマーの長さおよび配列は、それらが延長産物の合成の起点とな
 ることを可能とするものでなければならない。好ましくは、プライマーは約 5 から 5 0 ヌ
 クレオチドである。特異的な長さおよび配列は、必要とされる D N A および R N A 標的の
 複雑性に、ならびに温度およびイオン強度のようなプライマーの使用条件に依存する。 40

【 0 0 5 1 】

増幅プライマーは対応する鋳型配列と正確に一致して、適切な増幅を保証する必要はない
 という事実は、文献に十分に記載されている。用いる該増幅方法はポリメラーゼ鎖反応
 (P C R) 、リガーゼ鎖反応 (L C R) 、核酸配列 - ベースの増幅 (N A S B A) 、転写
 - ベースの増幅系 (T A S) 、ストランド変位増幅 (S D A) 、またはプライマー延長を
 用いて核酸分子を増幅するための Q レプリカーゼまたはいずれかの他の適切な方法による
 増幅であり得る。増幅の間に、増幅された産物は、便宜には、標識されたプライマーを
 用い、または標識されたヌクレオチドを取り込むことによってのいずれかにより、標識す 50

ることができる。

【0052】

標識は同位体（ ^{32}P 、 ^{35}S 等）または非-同位体（ビオチン、ジゴキシゲニン等）であってよい。増幅反応は20および70回の間、有利には、25および45回の間反復される。

【0053】

当該分野で知られた種々の配列決定反応のいずれかを用いて、ウイルス遺伝子情報を直接的に配列決定し、および試料の配列を対応するアミノ酸配列に翻訳することによって orf を決定することができる。例示的な配列決定反応は、SangerまたはMaxamおよびGilbertによって開発された技術に基づくものを含む。また、種々の自動配列決定手法は、質量分析法による配列決定を含めた対象のアッセイを行う場合に利用してもよい（例えば：PCT公開国際公開第94/16101号パンフレット参照）。当業者にとって、例えば、2または3のみの核酸塩基の出現は配列決定反応において決定される必要があるのは明らかであろう。

10

【0054】

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

【0055】

好ましい実施形態において、本発明のプライマーは表2に示されたヌクレオチド配列を有する。

20

【0056】

【表 2】

長距離PCR増幅による完全なTTV-HDゲノムおよび μ TTV-HD
サブウイルスゲノムを生じさせるために用いるプライマー

TTV	プライマー	ヌクレオチド 番号	配列
TTV-jt34f (acc no AB064607)	jt34f-1s	223-247	5'-GGCCGGGCCA TGGGCAAGGC TCTTA-3'
	jt34f- 2as	195-222	5'-AGTCAAGGGG CAATTCGGGC TCGGGACT-3'
	jt34f-5s	205-222	5'-CAATTCGGGC TCGGGACT-3'
	jt34f- 6as	186-204	5'-ACACACCGCA GTCAAGGGG-3'
	jt34f-7s	205-223	5'-CAATTCGGGC TCGGGACTG-3'
	jt34f- 8as	181-204	5'-AGTTTACACA CCGCAGTCAA GGGG-3'
TTV-HD1 (acc no AJ620222)	th25-1s	126-156	5'-CCGCAGCGAG AACGCCACGG AGGGAGATCC T-3'
	tth25- 2as	95-125	5'-ACTTCCGAAT GGCTGAGTTT TCCACGCCCG T-3'
TTV-HD3 (acc no AJ620231)	tth8-1s	133-164	5'-AGAGGAGCCA CGGCAGGGGA TCCGAACGTC CT-3'
	tth8-2as	102-132	5'-CTTACCGACT CAAAAACGAC GGGCAGGCGC C
TTV-HD4 (acc no AJ620226)	tth4-1s	129-156	5'-CAGCGAGAAC GCCACGGAGG GAGATCCT- 3'
	tth4-2as	101-128	5'-GAATGGCTGA GTTTTCCACG CCCGTCCG-3'
TTV-t3pb (acc. no AF247138)	t3pb-1s	209-226	5'-CAATTCGGGC ACGGGACT-3' *
	t3pb-2as	185-208	5'-AGTTTACACA CCGAAGTCAA GGGG-3'

* A-TTV-t3pb配列はこの位置においてTを有する。

また、本発明は、先に定義された再構成されたTTウイルスポリ核酸の一部を含む、またはそれよりなるオリゴヌクレオチドプローブにも関し、該プローブは、本発明によるTTV核酸の特異的検出のためのハイブリダイゼーションプローブとして作用することができる。

【0057】

用語「プローブ」とは、検出されるべき再構成されたTTVポリ核酸の標的配列に対して相補的な配列を有する一本鎖配列 - 特異的オリゴヌクレオチドをいう。

【0058】

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

【0059】

該プローブは標識されているか、または固体支持体に付着させることができる。

【0060】

10

20

30

40

50

用語「固体支持体」とは、オリゴヌクレオチドプローブをカップリングさせることができるいずれの基質もいうことができ、但し、それはそのハイブリダイゼーション特徴を保有し、および但し、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ものとする。通常、固体基質はマイクロタイタ-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に先立ち、核酸プローブを修飾して、固定を促進し、またはハイブリダイゼーション有効性を改良するのが便宜である。そのような修飾はホモポリマーテイリング、脂肪族基、NH₂基、SH基、カルボン酸基のような異なる反応性基とのカップリング、またはビオチンまたはハプテンのカップリングを含むことができる。

【0061】

プライマーまたはプローブとして用いられた本発明によるオリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート、アルキルホスホリエートまたはペプチド核酸のようなヌクレオチドアナログも含み、またはそれよりなるものであってよく、インターカレーティング剤を含有してもよい。これらの修飾は、オリゴヌクレオチドを用いて、必要な特異性および感受性を得るべき条件に関して適合を必要とする。しかしながら、最終的な結果は、修飾されていないオリゴヌクレオチドで得られたものと実質的に同一である。

【0062】

これらの修飾の導入は、ハイブリダイゼーション動態学、ハイブリッド-形成の可逆性、オリゴヌクレオチド分子の生物学的安定性等のような特徴に積極的に影響させるためには有利である。

【0063】

当該発明のポリ核酸は、いずれかの種類の組成物中に含まれてよい。該組成物は診断、治療または予防の用途のためであってよい。

【0064】

また、本発明内には、ヌクレオチド配列のいずれかから選択されたポリ核酸の配列変種であり、該配列変種は1以上のヌクレオチドの欠失および/または挿入いずれか、特に、主として、オリゴヌクレオチドの末端（3'または5'いずれか）における1以上のコドンの挿入または欠失、または（修飾されたヌクレオチドおよび/またはイノシンを含めた）他のものによるいくつかの非-必須ヌクレオチドの置換を含有する。

【0065】

図1に示された配列と同様である本発明による再構成されたTTVポリ核酸配列が、配列-特異的プライマーによる増幅、多かれ少なかれストリンジェントな条件下での配列-特異的プローブとのハイブリダイゼーション、TTVの遺伝的情報の配列決定等のような、当該分野で知られた技術のいずれかに従って特徴付け、および単離することができる。

【0066】

また、本発明は、原核生物、真核生物またはウイルス転写および翻訳制御エレメントに操作可能に連結された先に定義された当該発明の再構成されたTTVポリ核酸を含む組換え発現ベクターにも関する。

【0067】

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-ヒト動物を含んでもよい。ワクチン開発で特に有用なのはTTウイルス組換え分子、BCGまたはアデノウイルスベクター、ならびに禽痘組換えウイルスであってよい。

【0068】

本発明の関係内で用いられる用語「組換えにより発現された」とは、以下に詳細に議論されるように、原核生物、下等または高等真核生物におけるものである、本発明のポリペプチドは組換え発現方法によって生産されるという事実をいう。

【0069】

用語「下等真核生物」とは、酵母、真菌等の宿主細胞をいう。下等真核生物は一般的に（しかしながら必ずしもそうではない）単細胞である。好ましい下等真核生物は酵母、特

10

20

30

40

50

に、*Saccharomyces*、*Schizosaccharomyces*、*Kluyveromyces*、*Pichia* (例えば、*Pichia pastoris*)、*Hansenula* (例えば、*Hansenula polymorph*)、*Schwanniomyces*、*Schizosaccharomyces*、*Yarrowia*、*Zygosaccharomyces* 等内の種である。*Saccharomyces cerevisiae*、*S. carlsbergensis* および *K. lactis* は最も普通に用いられる酵母宿主であって、便宜な真菌宿主である。

【0070】

用語「高等真核生物」とは、哺乳動物、爬虫類、昆虫等のような高等生物に由来する宿主細胞をいう。現在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)、ベビーハムスター腎臓 (BHK)、ブタ腎臓 (PK15)、ウサギ腎臓13細胞 (RK13)、ヒト骨肉腫細胞系143B、ヒト細胞系 HeLa および Hep G2 のようなヒト関腫瘍細胞系、および昆虫細胞系 (例えば、*Spodoptera frugiperda*) に由来する。宿主細胞は懸濁液またはフラスコ培養、組織培養、器官培養等において供することができる。別法として、宿主細胞はトランスジェニック非 - ヒト動物であってもよい。

10

【0071】

用語「原核生物」とは、*E. coli*、*Lactobacillus*、*Lactococcus*、*Salmonella*、*Streptococcus*、*Bacillus subtilis* または *Streptomyces* のような宿主をいう。また、これらの宿主は本発明内のものであると考えられる。

20

【0072】

用語「宿主細胞」とは、組換えベクターまたは他の導入ポリヌクレオチドに対する受容体として用いることができ、または用いられてきた細胞をいい、トランスフェクトされている元来の細胞の子孫を含む。単一の親細胞の子孫は、天然、偶然の、または故意の突然変異または組換えのため、形態において、または元来の親としてのゲノムまたは全DNA相補体において必ずしも完全に同一でなくてもよいものと理解されている。

【0073】

用語「レプリコン」は、いずれかの遺伝子エレメント、例えば、細胞内でのポリヌクレオチド複製の自律ユニットとして挙動する、すなわち、それ自体の制御の下で複製できるプラスミド、染色体、ウイルス、コスミド等である。

30

【0074】

用語「ベクター」は、所望のオープン・リーディング・フレームの複製および/または発現を提供する配列をさらに含むレプリコンである。

【0075】

用語「制御エレメント」とは、それらが連結されるコーディング配列の発現を行うのに必要なポリヌクレオチド配列をいう。そのような制御配列の性質は宿主生物に依存して異なり；原核生物においては、そのような制御配列は一般にはプロモータ、リボソーム結合部位、スプライシング部位およびターミネータを含み；真核生物においては、一般に、そのような制御配列はプロモータ、スプライシング部位、ターミネータおよび、いくつかの例においては、エンハンサーを含む。用語「制御エレメント」は、最小限、その存在が発現に必要である全ての成分を含むことが意図され、およびその存在が有利である追加の成分、例えば、分泌を支配するリーダー配列も含んでよい。

40

【0076】

用語「プロモータ」は、mRNAの生産が隣接する構造遺伝子についての正常な転写開始部位において開始するように、RNAポリメラーゼをDNA鋳型への結合を可能とするコンセンサス配列よりなるヌクレオチド配列である。

【0077】

表現「操作可能に連結した」とは並置をいい、そこでは、そのように記載された成分は、それらがそれらの意図されたように機能するのを可能とする関係にある。コーディング

50

配列に「操作可能に連結された」制御配列は、コーディング配列の発現が対照配列と適合する条件下で達成されるように連結される。

【0078】

ベクター配列に挿入された所望の配列をコードする再構成された T T V DNA のセグメントはシグナル配列に付着されてもよい。該シグナル配列は非-T T V 源からのものであってよいが、本発明によると特に好ましい構築体は、各蛋白質の開始点前に T T V ゲノムに出現するシグナル配列を含有する。

【0079】

高等真核生物はベクターで形質転換してもよく、または組換えウイルス、例えば、組換えワクシニアウイルスで感染させてもよい。外来性 DNA のワクシニアウイルスへの挿入用の技術およびベクターは当該分野でよく知られており、および例えば相同組換えを利用する。全て哺乳動物発現に必要な、広く種々のウイルスプロモータ配列、恐らくはターミネータ配列およびポリ(A)-負荷配列、恐らくはエンハンサー配列および恐らくは増幅配列は当該分野で入手可能である。ワクシニアは特に好ましい。というのは、ワクシニアは宿主細胞の蛋白質の発現を停止させるからである。ヒトのワクチン接種では、禽痘およびアンカラ修飾ウイルス(MVA)が特に有用なベクターである。

【0080】

また、ヘルパー-独立性ウイルス発現ベクターである、バキュロウイルス Autographa californica 核多角体ウイルス(Acnpv)に由来する昆虫発現導入ベクターも知られている。この系に由来する発現ベクターは、通常、強力なウイルスポリヒドリン遺伝子プロモータを用いて、異種遺伝子の発現を駆動させる。異なるベクターならびに異種 DNA のバキュロウイルスの所望の部位への導入のための方法は、バキュロウイルス発現のために当業者に入手可能である。また、昆虫細胞によって認識される翻訳後修飾のための異なるシグナルが当該分野で知られている。

【0081】

また、本発明は、先に定義された組換えベクターで形質転換された前記定義の宿主細胞もいう。

【0082】

本発明は、先に定義された再構成された T T V ポリ核酸、または実質的に類似のかつ生物学的に同等なその一部またはアナログによってコードされたアミノ酸配列を有するポリペプチドにも関する。好ましくは、このポリペプチドは、哺乳動物蛋白質のシグネチャーモチーフを含有する蛋白質をコードするヌクレオチド配列によってコードされる。

【0083】

用語「ポリペプチド」とはアミノ酸ポリマーをいい、生成物の特異的な長さをいわない。かくして、ペプチド、オリゴペプチド、または蛋白質はポリペプチドの定義内に含まれる。この用語は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、ホスホリル化等をいわず、またはそれらを排除する。該定義内に含まれるのは、例えば、共に天然に生じるおよび天然に生じない、(例えば、非天然アミノ酸、ペプチド核酸(PNA)等を含めた)アミノ酸の1以上のアナログを含有するポリペプチド、置換された連結を持つポリペプチド、ならびに当該分野で知られた他の修飾である。

【0084】

明細書および特許請求の範囲を通じて用いられる「生物学的に同等な」とは、組成物が先にまたは後に定義される当該発明のポリペプチドと免疫原的に同等であることを意味する。

【0085】

ポリペプチドを記載するのに明細書および特許請求の範囲全体を通じて用いられる「実質的に相同な」とは、当該発明のポリペプチドに対するアミノ酸配列における相同性の程度を意味する。好ましくは、相同性の程度は70%過剰、好ましくは80%過剰であり、蛋白質の特に好ましい群は当該発明のポリペプチドに対して90%過剰、または95%さえ相同である。

10

20

30

40

50

【0086】

本発明のポリペプチドを記載するための明細書を通じて用いられる用語「アナログ」は、1以上の残基が生物学的に同等な残基で保存的に置換されている本明細書中で具体的に示した配列に対して実質的に同一のアミノ酸残基配列を有するいずれのポリペプチドも含む。保存的置換の例は、もう1つのものに代えてのイソロイシン、バリン、ロイシンまたはメチオニンのような1つの非極性（疎水性）残基の置換、アルギニンおよびリシンの間、グルタミンおよびアスパラギンの間の、グリシンおよびセリンの間のようもう1つのものに代えての1つの極性（親水性）残基の置換、もう1つのものに代えてのリシン、アルギニンまたはヒスチジンのような1つの塩基性残基の置換、またはもう1つのものに代えてのアスパラギン酸またはグルタミン酸のような1つの酸性残基の置換を含む。

10

【0087】

フレーズ「保存的置換」は、非-誘導体化残基の代わりに化学的に誘導体化された残基の使用も含むが、但し、得られた蛋白質またはペプチドは当該発明の蛋白質またはペプチドに対して生物学的に同等なものとする。

【0088】

「化学的誘導体」とは、機能的側鎖の基の反応によって化学的に誘導体化された1以上の残基を有する蛋白質またはペプチドをいう。そのような誘導体化分子の例は、限定されるものではないが、遊離アミノ基が誘導体化されて、アミン塩酸塩、p-トルエンシルホニル基、カルボベンズオキシ基、t-ブチルオキシカルボニル基、クロロアセチル基またはホルミル基を形成する分子を含む。遊離カルボキシル基は誘導体化して、塩、メチルおよびエチルエステル、または他のタイプのエステルまたはヒドラジドを形成してもよい。遊離ヒドロキシル基は誘導体化されて、O-アシルまたはO-アルキル誘導体を形成することができる。ヒスチジンのイミダゾール窒素を誘導体化して、N-イムベンジルヒスチジンを形成してもよい。それらの蛋白質またはペプチドもまた、20の標準アミノ酸の1以上の天然に生じるアミノ酸誘導体を含む化学的誘導体として含まれる。例えば：4-ヒドロキシプロリンはプロリンに代えて置換することができ；5-ヒドロキシリシンはリシンに代えて置換することができ；3-メチルヒスチジンはヒスチジンに代えて置換することができ；ホモセリンはセリンに代えて置換することができ；オルニチンはリシンに代えて置換することができる。本発明のポリペプチドは、当該ポリペプチドが当該発明のポリペプチドと生物学的に同等である限り、1以上の付加および/または欠失、またはその配列が本明細書中に示されたポリペプチドの配列に対する残基を有するいかなるポリペプチドも含む。

20

30

【0089】

本発明によるポリペプチドは、好ましくは少なくとも3、好ましくは4または5の連続アミノ酸、6または7の好ましいが少なくとも8つの連続アミノ酸、少なくとも10または少なくとも15を含む。

【0090】

本発明のポリペプチドは、古典的な化学的合成によって調製することができる。合成は、均一溶液中で、または固体相によって行うことができる。例えば、用いることができる均一溶液中での合成技術は、E. Wunshによって編集された「Methoden der organischen Chemie」（有機化学の方法）と題された書籍、vol. 15 - I et II. THIEME. Stuttgart 1974においてHoubenweylによって記載されたものである。

40

【0091】

本発明のポリペプチドは、例えば、「Solid phase peptide synthesis」と題された書籍（IRL Press, Oxford, 1989）においてAthertonおよびShepardによって記載された方法に従って固相で調製することもできる。

【0092】

本発明によるポリペプチドは、例えば、Maniatis et al., Molec

50

ular Cloning: A Laboratory Manual, New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982 によって記載されているような組換え DNA 技術によって調製することもできる。

【0093】

本発明は：(a) 適当な細胞宿主を、先に定義されたポリ核酸またはその一部が適切な調節エレメントの制御下で挿入されている組換えベクターで形質転換し、(b) 該インサートの発現を可能とする条件下で該形質転換された細胞宿主を培養し、および(c) 該ポリペプチドを採取することを含む、先に定義された組換えポリペプチドの生産方法にも関する。

【0094】

本発明は、先に定義された少なくとも1つのポリペプチドでの免疫化に際して生起した抗体にも関し、該抗体は該ポリペプチドのいずれかと特異的に反応性であり、および該抗体は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、異なるエピトープ特異性を持つプールされたモノクローナル抗体より実質的になる抗体、ならびに明確に区別されるモノクローナル抗体調製物に関する。モノクローナル抗体は、当業者によく知られた方法によって、当該発明の TTV ポリ核酸またはその断片によってコードされたポリペプチドを例えば含有する抗原から作成される。本明細書中で用いるように、用語「抗体」(Ab) または「モノクローナル抗体」(Mab) は無傷分子ならびに蛋白質に特異的に結合することができる(例えば、Fab および F(ab')₂ 断片のような) 抗体断片を含ませるつもりである。Fab および F(ab')₂ 断片は無傷抗体の Fc 断片を欠如し、循環からより迅速に除去され、および無傷抗体よりも非-特異性が低い組織結合を有してもよい。かくして、これらの断片は好ましく、ならびに 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、本発明の目的で有用な抗体はキメラの単鎖、およびヒト化抗体を含む。

【0095】

好ましくは、該抗体またはその抗原結合断片は検出可能な標識を運ぶ。抗体/断片は、例えば、放射性同位体、蛍光化合物、バイオルミネセント化合物、ケミルミネセント化合物、金属キレートまたは酵素で直接的または間接的に検出可能に標識することができる。当業者であれば、抗体に結合させるための他の適当な標識を知っており、またはルーチ的な実験を用いてそれを確認することができるであろう。

【0096】

本発明は、当該発明の TT ウイルスポリ核酸またはポリペプチドの存在を決定するのに用いられる診断キットに関し、該キットは当該発明のプライマー、プローブ、および/または抗体を含む。

【0097】

別法として、本発明は：(a) 試料ポリ核酸を抽出してもよく、(b) 先に定義された少なくとも1つのプライマー、標識されたプライマーで前記したポリ核酸を増幅させてもよく、次いで、(c) 増幅されたポリ核酸を検出することを含む、生物学的試料に存在する本発明による再構成された TTV ポリ核酸の検出のための方法に関する。

【0098】

用語「ポリ核酸」は、分析物ストランドということもでき、一本鎖または二本鎖ポリ核酸分子に対応する。

【0099】

用語「標識された」とは、標識された核酸の使用をいう。これは、増幅または標識プライマーのポリメラーゼ工程の間に、または当業者に知られたいずれかの他の方法によって取り込まれた標識されたヌクレオチドの使用を含むこともできる。

【0100】

本発明は：(a) 試料ポリ核酸を抽出してもよく、(b) 先に定義されたポリ核酸を先に定義された少なくとも1つのプローブでハイブリダイズさせ、次に、(c) ハイブリダイズされたポリ核酸を検出することを含む、生物学的試料に存在する当該発明による再構

10

20

30

40

50

成された T T V ポリ核酸の検出のための方法にも関する。

【 0 1 0 1 】

ハイブリダイゼーションおよび洗浄条件はストリンジェントとして理解されるべきであり、一般に当該分野で知られている（例えば、Maniatis et al., Molecular Cloning; A Laboratory Manual, New York, Cold Spring Harbor Laboratory, 1982）。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、それらの適切な温度にてハイブリダイズして、十分な特異性を達成すべきである。

【 0 1 0 2 】

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それらの適切な温度にてストリンジェントにハイブリダイズして、十分な特異性を達成すべきである。しかしながら、いずれかの端部（3'または5'いずれか）の1または数個のヌクレオチドを付加または欠失させることによって、またはいくつかの非-必須ヌクレオチド（すなわち、タイプの間の区別にとって必須ではないヌクレオチド）を（修飾されたヌクレオチドまたはイノシンを含めた）他のものによって置換することによって、DNAプローブをわずかに修飾することにより、これらのプローブまたはその変種を同一のハイブリダイゼーション条件（すなわち、同一の温度および同一のハイブリダイゼーション溶液）において特異的にハイブリダイズさせることができる。また、用いるプローブの量（濃度）を変化させることは、より特異的なハイブリダイゼーション結果を得るのに有益である。この関係で、同一長さのプローブは、それらのGC含有量に拘わらず、TMACTI溶液中ではほぼ同一の温度にて特異的にハイブリダイズすることに注意すべきである。

【 0 1 0 3 】

試料中のオリゴヌクレオチドプローブおよびポリ核酸配列の間で形成されたハイブリッドを検出するための本発明の目的で適当なアッセイ方法は、慣用的なドット-プロット様式、サンドイッチハイブリダイゼーションまたは可逆的ハイブリダイゼーションのような、当該分野で知られたアッセイ様式のいずれを含んでもよい。例えば、検出は、ドットプロット様式を用いて達成することができ、標識されていない増幅されていない試料は膜に結合し、該膜は適当なハイブリダイゼーションおよび洗浄条件下で少なくとも1つの標識されたプローブと一体化され、および結合したプローブの存在はモニターされる。

【 0 1 0 4 】

別法および好ましい方法は、「可逆的」ドット-プロット様式であり、そこでは、増幅された配列は標識を含有する。この様式においては、標識されていないオリゴヌクレオチドプローブは固体支持体に結合され、および適当なストリンジェントハイブリダイゼーションおよび引き続いての洗浄条件下で標識された試料に暴露される。試料のポリ核酸および本発明によるオリゴヌクレオチドプローブとの間のハイブリッドの形成に依拠するいずれの他のアッセイ方法も用いてもよいことは理解されるべきである。

【 0 1 0 5 】

また、本発明は：（a）先に定義されたそのような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、次いで（b）該抗体および該ポリペプチドの間で形成された免疫学的複合体を検出することを含む、本発明の再構成された T T V ポリ核酸によってコードされたポリペプチドまたは生物学的試料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も関する。

【 0 1 0 6 】

本発明によるイムノアッセイ方法は、本発明の新しくかつユニークなポリペプチド配列の異なるドメインからの抗原を利用してよい。例えば、単一のまたは特異的オリゴマー抗原、ダイマー抗原、ならびに単一または特異的オリゴマー抗原を用いるのは本発明の範囲内のものである。本発明の T T V 抗原は、抗体を検出するために公知の抗原を使用する実質的にいずれのアッセイ様式においても使用することができる。勿論、T T V 立体配座エピトープを変性する様式は避けるべきか、または適合させるべきである。これらのアッ

10

20

30

40

50

セイの共通の特徴は、抗原を、T T V抗体を含有することが疑われる体成分と、該抗原が該成分に存在するいずれのそのような抗体に結合することも可能とする条件下で接触させることである。そのような条件は、典型的には、過剰な抗原を用いる生理学的温度、p Hおよびイオン強度である。抗原と検体とのインキュベーションに続いて、抗原を含む免疫複合体の検出を行う。

【 0 1 0 7 】

イムノアッセイの設計は、多量の変異に従い、および多くの様式が当該分野で知られている。プロトコルは、例えば、固体支持体、または免疫沈澱を用いてもよい。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；標識は、例えば、酵素、蛍光、ケミルミネセント、放射性活性、または色素分子であってよい。シグナルを免疫複合体から増幅させるアッセイもまた知られており；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利用するアッセイ、およびE L I S Aアッセイのような、酵素-標識および媒介イムノアッセイである。

10

【 0 1 0 8 】

イムノアッセイは不均一または均一様式における、標準的なまたは競合的タイプのものであってよい。不均一様式においては、ペプチドは、典型的には、固体マトリックスまたは支持体に結合して、インキュベーションの後に、ポリペプチドから試料の分離を促進する。用いることができる固体支持体の例は、（例えば、膜またはマイクロタイタ-ウエル形態の）ニトロセルロース、（例えば、シートまたはマイクロタイタ-ウエルにおける）ポリ塩化ビニル、（例えば、ビーズまたはマイクロタイタ-プレートにおける）ポリスチレンラテックス、（イミュノロン（Immunolon）として知られた）ポリフッ化ビニリデン、ジアゾ化された紙、ナイロン膜、活性化されたビーズ、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有する固体支持体は、典型的には、テスト試料からそれを分離した後に、かつ結合した抗体の検出に先立って洗浄する。標準および競合的標識の双方は当該分野で知られている。

20

【 0 1 0 9 】

均一様式では、テスト試料を溶液中で抗原の組合せと共にインキュベートする。例えば、それは形成されるいずれかの抗原-抗体複合体を沈澱させる条件下であってよい。これらのアッセイのための標準的および競合的様式の双方は当該分野で知られている。

【 0 1 1 0 】

標準的な様式においては、抗体-抗原複合体におけるT T V抗体の量は直接的にモニターされる。これは、抗-T T V抗体上のエピトープを認識する（標識された）抗-異種間（例えば、抗-ヒト）抗体が複合体形成により結合するか否かを決定することによって達成することができる。競合様式において、試料中のT T V抗体の量は、複合体における標識された抗体（または他の競合リガンド）の既知の量の結合に対する競合効果をモニターすることによって推論される。

30

【 0 1 1 1 】

抗-T T V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、競合する抗体の量）は、様式に応じて、多数の公知の技術のうちのいずれかによって検出される。例えば、複合体における標識されていないT T V抗体は、標識（例えば、酵素標識）と複合体化された抗-異種間I gのコンジュゲートを用いて検出することができる。

40

【 0 1 1 2 】

免疫沈澱または凝集アッセイ様式においては、T T V抗原および抗体の間の反応は、溶液または懸濁液から沈澱するネットワークを形成し、および沈澱の見える層またはフィルムを形成する。抗-T T V抗体がテスト検体に存在しないならば、目に見える沈澱は形成されない。

【 0 1 1 3 】

現在、3つの特異的タイプの粒子凝集（P A）アッセイが存在する。これらのアッセイは、支持体にコーティングされた場合に、種々の抗原に対する抗体の検出で用いられる。このアッセイの1つのタイプは、R B Cに対して受動的に吸着する抗原（または抗体）に

50

よって増感される赤血球細胞 (R B C) を用いる赤血球凝集アッセイである。身体の構成要素に存在する特異的抗原 - 抗体の付加は、ある場合、精製された抗原で被覆された R B C を凝集させる。

【 0 1 1 4 】

赤血球凝集アッセイにおける可能な非 - 特異的反応を排除するために、 P A における R B C の代わりに 2 つの人工的な担体を用いてもよい。これらの最も共通するのはラテックス粒子である。

【 0 1 1 5 】

選択された固相はポリマーまたはガラスビーズ、ニトロセルロース、ミクロ粒子、反応トレイのミクrowエル、試験管および磁気ビーズを含むことができる。シグナル発生化合物は酵素、ルミネセント化合物、色原体、放射性活性元素およびケミルミネセント化合物を含むことができる。酵素の例はアルカリ性ホスファターゼ、ホースラディッシュペルオキシダーゼおよびベータ - ガラクトシダーゼを含む。エンハンサー化合物の例はピオチン、抗 - ピオチンおよびアビジンを含む。エンハンサー化合物結合メンバーの例はピオチン、抗 - ピオチンおよびアビジンを含む。

10

【 0 1 1 6 】

前記方法は、患者の細胞内の特定の宿主遺伝子または遺伝子断片に連結された (サブゲノム) T T V ポリヌクレオチド配列の存在の有害効果による癌または自己免疫疾患のような病気を発生させる危険性を評価するのに有用であって、適切な対応策を取るのを可能とする。

20

【 0 1 1 7 】

また、本発明は、当該発明の再構成された T T 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 i R N A にも関する。

【 0 1 1 8 】

適当なアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは i R N A の生成は、アンチセンス相互作用が、所望の効果、例えば、ポリペプチドの発現の阻害が得られるように起こるには、再構成された T T ウイルスポリ核酸内での部位または複数部位の決定を含む。好ましい遺伝子内部位は (a) 当該遺伝子のオープン・リーディング・フレーム (O R F) の翻訳開始または終止コドンを含む領域または (b) 「ループ」または「バルジ」である、すなわち、二次的構造の一部ではない m R N A の領域である。一旦 1 以上の標識部位が同定されたならば、標識に対して十分に相補的な、すなわち、十分によく、かつ十分な特異性をもってハイブリダイズして、所望の効果を与えるオリゴヌクレオチドが選択される。本発明との関係では、「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、フーグスティーンまたは逆フーグスティーン水素結合であってよい水素結合を意味する。本明細書で用いるように、「相補的な」とは、2 つのヌクレオチドの間の正確な対合についての能力をいう。例えば、オリゴヌクレオチドのある位置におけるヌクレオチドが D N A または R N A 分子の同一位置にあるヌクレオチドと水素結合できるならば、該オリゴヌクレオチドおよび該 D N A または R N A は、その位置において相互に対して相補的であると考えられる。該オリゴヌクレオチドおよび該 D N A または R N A は、各分子における十分な数の対応する位置が、相互に水素結合できるヌクレオチドによって占められている場合、相互に対して相補的である。かくして、「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および D N A または R N A 標的の間で安定かつ特異的な結合が起こるように、相補性または正確な対合の十分な程度を示すように用いられる用語である。アンチセンス化合物の配列は、特異的にハイブリダイズ可能なその標的核酸のそれに対して 1 0 0 % 相補的である必要はないと当該分野で理解されている。アンチセンス化合物は、標的 D N A または R N A 分子への化合物の結合が標的 D N A または R N A の正常な機能に干渉して、利用性の喪失を引き起こし、かつ特異的な結合が望まれる条件下で、すなわち、治療的処置の場合において、アンチセンス化合物の非 - 標的配列への非 - 特異的結合を回避するのに十分な程度の相補性がある場合に、特異的にハイブリダイズ可能である。

30

40

50

【0119】

(アンチセンス化合物との関係での)「オリゴヌクレオチド」とは、リボ核酸(RNA)またはデオキシリボ核酸(DNA)のオリゴマーまたはポリマー、またはそのミメティックスをいう。この用語は、天然に生じるヌクレオベース、糖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生じない部分を有するオリゴヌクレオチドよりなるオリゴヌクレオチドを含む。そのような修飾された、または置換されたオリゴヌクレオチドは、しばしば、例えば、増強された細胞摂取、核酸標的に対する増強された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のような望ましい特性のため、天然の形態よりも好ましい。アンチセンスオリゴヌクレオチドはアンチセンス化合物の好ましい形態であるが、本発明では、限定されるものではないが、後に記載されるように、オリゴヌクレオチドミメックスを含めた他のオリゴマーアンチセンス化合物を含む。本発明に従ったアンチセンス化合物は約8から約50ヌクレオベース(すなわち、約8から約50の連結されたヌクレオシド)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、なおより好ましくは、約15から約25ヌクレオベースを含むものである。アンチセンス化合物はリボザイム、外部ガイド配列(EGS)、オリゴヌクレオチド(オリゴ酵素)、および標的核酸にハイブリダイズし、かつその発現を阻害する、他の短い触媒RNAまたは触媒オリゴヌクレオチドである。アンチセンス化合物はセンス配列およびアンチセンス配列を含むiRNAも含み、ここにおいて、該センスおよびアンチセンス配列はRNAデュプレックスを形成し、およびここにおいて、該アンチセンス配列は本発明のTTウイルスポリ核酸のヌクレオチド配列に対して十分に相補的なヌクレオチド配列を含む。

10

20

【0120】

別法として、本発明は、例えば、哺乳動物宿主において、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドを転写するのを可能とするベクターを提供する。好ましくは、そのようなベクターは遺伝子治療で有用なベクターである。遺伝子治療で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、ヘルペスウイルス、ワクニシア、またはより好ましくは、レトロウイルスのようなRNAウイルスである。なおより好ましくは、レトロウイルスベクターはネズミまたは鳥類レトロウイルスの誘導體である。本発明で用いることができるそのようなレトロウイルスベクターの例は、モロニ-ネズミ白血病ウイルス(MoMuLV)、ハーベイ(Harvey)ネズミ肉腫ウイルス(HaMuSV)、ネズミ乳腺腫瘍ウイルス(MuMTV)およびラウス肉腫ウイルス(RSV)である。最も好ましくは、ネズミベクターと比較してより広い宿主範囲を提供するテナガザル白血病ウイルス(GaLV)のような非-ヒト霊長類レトロウイルスベクターが使用される。組換えレトロウイルスは欠陥があるので、感染性粒子を生じさせるのに援助が必要である。そのような援助は、例えば、LTR内の調節配列の制御下にある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有するヘルパー細胞系と用いることによって供することができる。適当なヘルパー細胞系は、当業者によく知られている。該ベクターは、加えて、形質導入細胞を同定することができるように、選択マーカーをコードする遺伝子を含有することができる。さらに、レトロウイルスベクターはそれらが標的的特異的となるように修飾することができる。これは、例えば、糖、糖脂質、または蛋白質、好ましくは抗体をコードするポリヌクレオチドを挿入することによって達成することができる。当業者であれば、標的的特異的ベクターを生じさせるためのさらなる方法を知っている。インビトロ-またはインビボ遺伝子治療のためのさらなる適切なベクターおよび方法は文献に記載されており、当業者に知られている;例えば、国際公開第94/29469号パンフレットまたは国際公開第97/00957号パンフレット参照。

30

40

【0121】

標的器官においてのみ発現を達成するためには、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に連結させることができ、かつ遺伝子治療で用いることができる。そのようなプロモータは当業者によく知られている。

【0122】

50

オリゴヌクレオチド構造内で、リン酸基は、共通して、オリゴヌクレオチドのヌクレオチド間骨格を形成するといわれる。RNAおよびDNAの正常な連結または骨格は3'から5'ホスホジエステル結合である。本発明で有用な好ましいアンチセンス化合物の特異的例は、修飾された骨格または非-天然ヌクレオチド間連結を含有するオリゴヌクレオチドを含む。修飾された骨格を有するオリゴヌクレオチドは骨格中にリン原子を保有するもの、および骨格中にリン原子を有しないものを含む。増大した安定性をもたらすことができる修飾されたオリゴヌクレオチド骨格は当業者に知られており、好ましくは、そのような修飾はホスホロチオエート連結である。

【0123】

好ましいオリゴヌクレオチドミメティックは、優れたハイブリダイゼーション特性を有することが示されているオリゴヌクレオチドミメティックであって、ペプチド核酸(PNA)といわれる。PNA化合物においては、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き換えられている。ヌクレオベースは保持され、骨格のアミド部分のアザ窒素原子に直接的にまたは間接的に結合される。

10

【0124】

修飾されたオリゴヌクレオチドは1以上の置換されたまたは修飾された糖部位も含有してもよい。好ましいオリゴヌクレオチドは2'位置における以下のうちの1つを含む：OH；F；O-、S-、またはN-アルキル；O-、S-、またはN-アルケニル；O-、S-またはN-アルキニル；またはO-アルキル-O-アルキル、ここにおいて、該アルキル、アルケニルおよびアルキニルは置換された、または置換されていないC₁からC₁₀アルキルまたはC₂からC₁₀アルケニルおよびアルキニルであってよい。特に好ましい修飾された糖部位は2'-O-メトキシエチル糖部位である。

20

【0125】

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドはヌクレオベースの修飾または置換を含んでもよい。修飾されたヌクレオベースは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-チオシトシン等のような他の合成および天然ヌクレオベースを含み、5-メチルシトシン置換が好ましい。というのは、これらの修飾は核酸デュプレックスの安定性を増加させることが示されているからである。

30

【0126】

当該発明のオリゴヌクレオチドのもう1つの修飾は、オリゴヌクレオチドの活性、細胞分布または細胞摂取を増強させる1以上の部位またはコンジュゲートをオリゴヌクレオチドに化学的に連結させることを含む。そのような部位はコレステロール部位、コール酸、チオエーテル、チオコレステロール、脂肪族鎖などの脂質部位、例えば、ドデカンジオールまたはウンデシル残基、リン脂質、ポリアミドまたはポリエチレングリコール鎖、またはアダマンタン酢酸、パルミチル部位、またはオクタデシルアミンまたはヘキシルアミノ-カルボニル-オキシコレステロール部位を含む。

40

【0127】

本発明は、キメラ化合物であるアンチセンス化合物も含む。「キメラ」アンチセンス化合物または「キメラ」は、本発明との関係では、各々が少なくとも1つのモノマーユニット、すなわち、オリゴヌクレオチド化合物の場合にはヌクレオチドよりなる、2以上の化学的に区別される領域を含有するアンチセンス化合物、特にオリゴヌクレオチドである。これらのオリゴヌクレオチドは、典型的には、少なくとも1つの領域を含有し、ここにおいて、オリゴヌクレオチドは該オリゴヌクレオチドにヌクレアーゼ分解に対する増大した抵抗性、増大した細胞摂取、および/または標的核酸に対する増大した結合親和性を付与するように修飾されている。オリゴヌクレオチドのさらなる領域は、RNA：DNAまたはRNA：RNAハイブリッドを開裂させることができる酵素に対する基質として働くことができる。例として、RNase Hは、RNA：DNAデュプレックスのRNAストラン

50

ドを開裂させる細胞エンドヌクレアーゼである。従って、RNAse Hの活性化の結果、RNA標的が開裂され、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性を大いに増強させる。結果として、匹敵する結果が、しばしば、同一の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、キメラオリゴヌクレオチドが用いられる場合により短いオリゴヌクレオチドで得ることができる。当該発明のキメラアンチセンス化合物は、2以上の前記したようなオリゴヌクレオチド、修飾されたオリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオシドおよび/またはオリゴヌクレオチドミメティックの複合構造として形成することができる。そのような化合物は当該分野においてはハイブリッドまたはギャップマーとしてもいわれてきた。

【0128】

本発明は、本発明の抗体またはアンチセンスオリゴヌクレオチド、および適当な賦形剤、希釈剤または担体を含む医薬組成物にも関する。好ましくは、医薬組成物においては、前記したようなそのような組成物は医薬上許容される担体と合わせられる。「医薬上される許容される」は、有効成分の生物学的活性の有効性と干渉せず、それが投与される宿主に対して毒性を持たないいずれかの担体を含ませるつもりである。適当な医薬担体の例は当該分野でよく知られており、リン酸緩衝化生理食塩水、水、油/水エマルジョンのようなエマルジョン、種々のタイプの湿潤剤、滅菌溶液等を含む。そのような担体は慣用的な方法によって処方することができ、および活性な化合物は有効な用量で対象に投与することができる。

【0129】

「有効な用量」とは、病気を妨げ、または病気の経過および重症度に影響するのに十分であり、そのような病理学の低下または緩解に導く有効成分の量をいう。これらの病気または障害を治療し、および/または予防するのに有用な「有効な用量」は、当業者に知られた方法を用いて決定することができる。

【0130】

適切な組成物の投与は、異なる方法によって、例えば、静脈内、腹腔内、皮下、筋肉内、局所または皮内投与によって行うことができる。投与の経路は、勿論、療法の種類および医薬組成物に含有された化合物の種類に依存する。投与計画は主治医および他の臨床的因子によって決定される。医学分野においてよく知られているように、いずれかの一人の患者についての用量は、患者のサイズ、身体の表面積、年齢、性別、投与すべき特定の化合物、投与の時間および経路、療法の種類、一般的な健康および同時に投与されるべき他の薬物を含めた多くの因子に依存する。

【0131】

本発明の好ましい実施形態において、予防/治療可能な疾患は、多発性硬化症(MS)またはいずれかの他の神経学的病気、喘息、多発性関節炎、糖尿病、紅斑性狼瘡、腹腔病、潰瘍性結腸炎、またはクローン病のような自己免疫疾患(またはその初期段階)である。用語「自己免疫疾患」は、未だ知られていない自己免疫病をやはり含む。

【0132】

また、本発明は、

(a) 癌または自己免疫疾患を発生する危険性の決定用のデータベースを生じさせるための方法であって、以下の工程：

(i) 本発明による、好ましくは、存在する場合、該病気の少なくとも1つを患う患者からの試料中の、エピソーム形態で存在する再構成されたTTウイルスポリ核酸に連結されたゲノム宿主細胞DNAのヌクレオチド配列を決定し；および

(ii) データベース中の該病気に関連する工程(a)において決定された配列を蓄積することを含む方法；ならびに

(b) 癌または自己免疫疾患が発生する危険性があることが疑われる患者のそのような病気に対する危険性を評価するための方法であって、以下の工程：

(i) 本発明によるかつ好ましくは、存在する場合、該患者からの試料中のエピソーム形態で存在する再構成されたTTウイルスポリ核酸に連結されたゲノム宿主細胞DNAの又

10

20

30

40

50

クレオチド配列を決定し；および

(i i) 工程 (a) において決定された配列を前記した方法によって生じさせたデータベース中に蓄積された配列と比較することを含み、

ここにおいて、TTウイルスポリ核酸に連結されたゲノム宿主細胞DNAの不存在、または該データベース中に表されていないTTウイルスポリ核酸に連結された宿主細胞DNAのみの存在はそのような病気を発生する危険性が減少し、または存在しないことを示すことを特徴とする方法も提供する。

【 0 1 3 3 】

最後に、本発明は、トルクテノウイルス (T T V)、好ましくは本発明による再構成されたTTVのインビトロ複製および増殖のための方法であって、以下の工程：

(a) S V 4 0 大T抗原の高いレベル、好ましくは、少なくとも、Buck at al . (2 0 0 4) において報告されたレベルを発現する線状化されたTTV DNAを293TT細胞にトランスフェクトし；

(b) 該細胞を採取し、およびTTV DNAの存在を示す細胞を単離し；

(c) 実験条件および関心があるTTVタイプに依存して、(b) で得られた細胞を少なくとも3日間、好ましくは少なくとも1週間以上の間培養し；および

(d) 工程 (c) の細胞を採取する；

方法も提供する。

【 実施例 】

【 0 1 3 4 】

以下の実施例は当該発明を説明する。

【 実施例 1 】

【 0 1 3 5 】

材料および方法

(A) TTウイルスの単離および特徴付け

TTウイルス単離体TTV - HD 3 a (T T H 8、受け入れ番号A J 6 2 0 2 3 1) およびTTV - HD 1 a (t t h 2 5、受け入れ番号A J 6 2 0 2 2 2) の単離は従前に記載した (J e l c i c e t a l . , 2 0 0 4) 。 T T V - H D 3 a および T T V - H D 1 a の双方の全長ゲノム配列を、各々、制限酵素Sal I (L e p p i k a t a l . , 2 0 0 7) およびEcoR 1を用いてベクターpUC 18にクローン化した。さらなるTTV配列を、従前に記載したように、プライマーNG 4 7 2 / NG 3 5 2 およびNG 4 7 3 / NG 3 5 1を用いるDNAネステッド増幅によってヒト試料中で同定した (P e n g e t a l . , 2 0 0 2 ; L e p p i k e t a l . , 2 0 0 7) 。多数のバイオプシーおよび血清試料についてのDNAの限定された入手可能性は、TempliPh iキット (G E H e a l t h c a r e) でのローリングサークル増幅を用いる先立っての増幅を必要とした。全ての増幅された産物をクローン化し、および配列決定した (L e p p i k e t a l . , 2 0 0 7) 。TTウイルスDNAを保有する試料は、T a K a R a L A T a q 酵素 (T A K A R A B I O I N C . , 日本国) および最初に同定されたTTV DNA配列に基づいて設計された各プライマーを用いる長距離 - P C R 増幅に引き続いて付した。これらの逆並列プライマーは以下の組合せを含んだ： t t h 2 5 - 1 s および t t h 2 5 - 2 a s、j t 3 4 f - 1 S および j t 3 4 f - 2 a s、j t 3 4 f - 7 s および j t 3 4 f - 8 a s、j t 3 4 f - 5 s および j t 3 4 f - 6 a s、t t h 4 - 1 s および t t h 4 - 2 a s、t 3 p b - 1 s および t 3 p b - 2 a s、ならびに t t h 8 - 1 s および t t h - 2 a s (表 2) 。長 - P C R 増幅は、プライマーの組合せ t 3 p b - 1 / 2、j t 3 4 f - 5 / 6 および t t h 4 を例外として、従前に記載されたタッチダウン段階的応用を用いて行った (L e p p i k e t a l . , 2 0 0 7) 。 t 3 p b - 1 / 2 および j t 3 4 f - 5 / 6 - プライマーでのP C R 増幅のためのP C R 条件は1分間の94 における最初の変性、続いての、30秒間の94 の30サイクル、1分間の65 におけるアニーリング、および10分間の72 における最終の伸長と共に4分間の72 における伸長であった。 t t h 4 プライマーでの増幅のためのP C R

10

20

30

40

50

条件は、アニーリングを68℃で行った以外は同様であった。3.8 kbの範囲の全ての得られたアンプリコンを溶出させ、およびゲル電気泳動後に精製し、ベクターpCR2.1 (TA-Cloning-Kit, Invitrogen) に溶出させ、およびNovoBlue Singles Competent細胞 (Merck Chemicals, UK) において増幅させた。全ての全長ゲノムを双方のストランドを通じて配列決定した。合計53の全長ゲノムが得られた。

(B) 配列分析および系統学

DNA配列を、HUSARソフトウェアパッケージ (Jelcic et al., 2004) を用いて全てのデータバンクで入手可能なTTV配列を比較した。大きなオープン・リーディング・フレーム1 (ORF1) のDNA配列に基づいて、ICTVは、最近、TTウイルスをアネロウイルス科に分類した (Biaginiおよびde Micco, 2010)。得られた単離体のゲノムの特徴付けは、ORF1領域における配列の再構成を明らかとした。アルファトルクウイルス族および単離体の全長ゲノムを、従って、従前に記載されたように系統学的分析に付した (Jelcic et al., 2004)。系統学的系統樹 (図4) は、グラスゴー大学のTreeviewプログラムを用いて提示した。翻訳されたORFを相同蛋白質および機能的ドメインについてProtSweep (del Val et al., 2004) を用いることによって分析した。

10

(C) 細胞の培養およびトランスフェクション

ヒト胚腎臓細胞系293TT (Buck et al., 2004) を、10%胎児ウシ血清、1%Glutamax、1%非-必須アミノ酸 (共にInvitrogen, Karlsruhe、ドイツ国) および400 µg/mlヒグロマイシンB (Roche Diagnostics, Mannheim) を補足したDMEMに維持した。線状化されたウイルスDNA (6-ウエルプレート上のウエル当たり2 µg) を、製造業者の指示 (Fei et al., 2005) に従って、リポフェクタミン試薬 (Invitrogen) を用いてヒグロマイシンBなくして成長させた細胞にトランスフェクトした。培養基 (2 ml) に、37℃における4時間のインキュベーションに先立って800 µlのOpti-MEMを補足した。トランスフェクトされた培養を、引き続いて、ヒグロマイシンBを含有する新鮮な培地と共にインキュベートし、および密集に到達すると増殖させた。12のTTV単離体の全長ゲノムを、全ての時点において平行して、トランスフェクトし、維持し、および採取した。TTウイルスゲノムはTTV-HD14a、TTV-HD14b、TTV-HD14c、TTV-HD14e、TTV-HD15a、TTV-HD16a、TTV-HD20a、TTV-HD3a、TTV-HD1a、TTV-HD23a、TTV-HD23bおよびTTV-HD23dを含んだ (表3)。

20

30

【0136】

【表 3】

TT全長ゲノム (3. 8 k b)

サブウイルスゲノム

tth25	HD1a	<i>μ</i> TTV-HD1 – zpr9.B1.6 (621nt)	
tth3	HD1b		
tth9	HD1c		
tth16	HD1d		
tth17	HD1e		
tth26	HD1f		
tth27	HD1g		10
tth31	HD1h		
<i>tth5</i>	<i>HD2a</i>		
<i>tth14</i>	<i>HD2b</i>		
<i>tth29</i>	<i>HD2c</i>		
tth8	HD3a		
tth7	HD3b		
tth13	HD3c		
tth19	HD3d		
tth22g4	HD3e		
tth23	HD3f		
<i>tth4</i>	<i>HD4</i>		20
tth10	HD5a		
tth11g2	HD5b		
tth18	HD5c		
tth21	HD5d		
<i>tth6</i>	<i>HD6a</i>		
<i>tth20</i>	<i>HD6b</i>		
<i>tt32c2</i>	<i>HD7</i>		
<i>tt32b8</i>	<i>HD8</i>		
sle1957	HD9		
<i>sle1931</i>	<i>HD10a</i>		
<i>sle1932</i>	<i>HD10b</i>		30
<i>sle2045</i>	<i>HD10c</i>		
<i>sle2037</i>	HD11		
<i>sle2065</i>	<i>HD12a</i>		
<i>sle2057</i>	<i>HD12b</i>		
<i>sle2058</i>	<i>HD12c</i>		
<i>sle2061</i>	<i>HD12d</i>		
<i>sle2072</i>	<i>HD12e</i>		
gB20.33	HD13a		
gB20.58	HD13b		
gB21.51	HD13c		
<i>gbDhDi33.32</i>	<i>HD14a</i>	<i>μ</i> TTV-HD14.1 – zpr4.B5.20 (719nt)	40
<i>gbCuCv33.2</i>	<i>HD14b</i>	<i>μ</i> TTV-HD14.2 – zpr4.B6.125 (1224nt)	
<i>gbDhDi33.31</i>	<i>HD14c</i>		
<i>gbDhDi33.33</i>	<i>HD14d</i>		
<i>gbDhDi33.35</i>	<i>HD14e</i>		
<i>gbDhDi32.36</i>	<i>HD14f</i>		

<i>gbDfDg33.45</i>	<i>HD14g</i>		
<i>gbDfDg33.48</i>	<i>HD14h</i>		
<i>gbDfDg33.49</i>	<i>HD14i</i>		
<i>gbCsCt38.1</i>	<i>HD15b</i>		
<i>gbCsCt38.2</i>	<i>HD15a</i>	μ TTV-HD15 – zpr5.B4.12 (913nt)	
<i>gbCsCt38.4</i>	<i>HD15c</i>		
<i>gbCsCt38.6</i>	<i>HD15d</i>		
<i>gbCsCt43.2</i>	<i>HD16a</i>		
<i>gbCsCt43.1</i>	<i>HD16b</i>		
<i>gbCsCt43.3</i>	<i>HD16c</i>		10
<i>gbCsCt43.5</i>	<i>HD16d</i>		
<i>gbCsCt43.6</i>	<i>HD16e</i>		
<i>gbCuCv43.1</i>	<i>HD16f</i>		
<i>gbCuCv43.4</i>	<i>HD16g</i>		
<i>gbDhDi43.1</i>	<i>HD16h</i>		
<i>gbDhDi43.4</i>	<i>HD16i</i>		
<i>gbDhDi43.6</i>	<i>HD16j</i>		
<i>gbDhDi43.7</i>	<i>HD16k</i>		
<i>gbDhDi43.22</i>	<i>HD16l</i>		
<i>uro702</i>	<i>HD17</i>		
<i>uro703</i>	<i>HD18a</i>		20
<i>uro705</i>	<i>HD18b</i>		
<i>rheu242</i>	<i>HD19</i>		
<i>uro960</i>	<i>HD20a</i>		
<i>uro742</i>	<i>HD20b</i>		
<i>uro745</i>	<i>HD20c</i>		
<i>uro746</i>	<i>HD20d</i>		
<i>uro953</i>	<i>HD20e</i>		
<i>uro958</i>	<i>HD20f</i>		
<i>rheu111</i>	<i>HD21</i>		
<i>rheu112</i>	<i>HD22</i>		
<i>rheu215</i>	<i>HD23a</i>		30
<i>rheu210</i>	<i>HD23b</i>	μ TTV-HD23.1 – zpr12.B2.22 (401nt)	
<i>rheu211</i>	<i>HD23c</i>	μ TTV-HD23.2 – zpr12.B5.24 (642nt)	
<i>rheu212</i>	<i>HD23d</i>		
<i>rheu213</i>	<i>HD23e</i>		
<i>rheu214</i>	<i>HD23f</i>		
<i>rheu231</i>	<i>HD24b</i>		
<i>rheu232</i>	<i>HD24a</i>		
<i>rheu234</i>	<i>HD24c</i>		
<i>rheu236</i>	<i>HD24d</i>		
<i>rheu238</i>	<i>HD24e</i>		
<i>rheu241</i>	<i>HD24f</i>		40

ウイルスDNAはトランスフェクションに先立ってベクターから放出した。対照はベクター単独でのトランスフェクションを含み、および細胞を1×TEでトランスフェクトした。トランスフェクトされた細胞および培養基を-80で凍結し、およびDNAおよびRNA抽出用の試料を増殖の間に各時点において採取した。RNeasy miniキット(Qiagen, Hilden, ドイツ国)を用い、DNAをフェノール-クロロホルム-イソアミルアルコールおよびRNAで抽出した。ウイルスDNAの複製をモニターし、および前記したように長-PCR増幅によって実証した。全てのトランスフェクション実験は、一次トランスフェクションの間に6週間の間隔で3回行った。凍結された細胞または精製されたウイルス調製物を4から6回の間継代した。

(D) ウイルスの増殖、精製および電子顕微鏡観察

振盪、続いて、200gにおける10分間の遠心によって、トランスフェクトされた細胞をフラスコから採取した。細胞ペレットをDPBS-Mg (Invitrogen) に再懸濁し、234,000gにおける3.5時間の27-33-39% Optiprep (Sigma, St. Louis, Mo) 工程グラジエントで分離した (Buck et al., 2005)。グラジエントを分画し、および溶解されたアリコットのゲル電気泳動によってウイルスDNAの存在についてスクリーニングした。アリコットを、ゲルへの負荷の直前に、プロテイナーゼK、0.25mM、EDTAおよび0.5% SDSで56にて10分間溶解させた。再懸濁させた細胞の上清を、別法として、0.22μmフィルターを通して濾過した。グラジエント画分のアリコット、ならびに濾過された上清を、接種物として用いるために-80で凍結した。濾過されたアリコットをペレット化した。ペレットを陰性染色に付し、および電子顕微鏡観察によって可視化した。クローン化されたサブウイルスμTTVゲノムを、全長ゲノムと同一の方法で293TTにトランスフェクトした。培養を数週間にわたって増殖させた。残りの細胞の伸長を可能としつつ、単層細胞の一部を掻き取ることによって細胞を部分的に取り出した。取り出した細胞をペレット化し、電子顕微鏡観察における可視化前に、上清を、0.22μmフィルターを通して濾過した。細胞ペレットを、遠心およびOptiprepグラジエントを通す分離に先立って、前記したように処理した。アリコットを溶解させ、およびゲル電気泳動後にDNAを可視化した。

10

(E) 転写分析

20

2つの異なるアプローチを用い、TTV-HD全長ゲノムの転写体を分析した。5'-および3'-RACE産物を一本鎖ならびに二本鎖cDNAから生じさせた。一本鎖5'-RACE-Readyおよび3'-RACE-Ready cDNAを、各々、SMARTerTM RACE cDNA増幅キット (Clontech cat# 634923) を用いて10μlの反応ミックス中で1μgの精製された合計RNAから合成し、ここにおいて、RNAは42における90分間のSMARTscribeTM 逆転写酵素によって逆転写する。3'-RACE-CDSプライマーAを3'-RACE-Ready cDNAの合成で用い、他方、5'-RACE-CDSプライマーAおよびSMARTer IIAオリゴヌクレオチドを5'-RACE-Ready cDNAの合成で用いた。二本鎖cDNAを同時に合成した。ここにおいて、全長一本鎖cDNAを製造業者のプロトコルに従って、SMARTerTM PCR cDNA合成キット (Clontech cat# 634925) を用いて最初に合成した。精製された全RNA (1μg) を、SMARTscribeTM 逆転写酵素およびプライマー3'-SMART CDSプライマーIIAおよびSMARTer IIAオリゴヌクレオチドを用いて転写した。これらのプライマーは、共に、非-鋳型ヌクレオチドストレッチを含有し、それにより、延長された鋳型を作り出した。第二の鎖のcDNAの増幅は5'-PCRプライマーIIAおよびAdvantage 2ポリメラーゼミックス (Clontech cat# 639201) での長距離PCR増幅 (LD PCR) によって得られた。PCR増幅は、最適な条件を決定するために、以下のように行った：サイクルおよびサイクルの範囲数当たり95における15秒、65における30秒、および68における3分。

30

40

【0137】

5'-および3'-RACE PCR増幅は、各々、5'-RACE-Readyまたは3'-RACE-Ready cDNA、または双方の場合に二本鎖cDNA鋳型を用いて行った。RACE-PCRはAdvantage 2ポリメラーゼミックス、SMARTerTM RACE cDNA増幅キットからのユニバーサルプライマーAミックス (UPM) および各TTVタイプにフィットする順方向および逆方向プライマーを用いて行った (表4)。

【0138】

【表 4】

RACEにおけるPCR増幅で用いられるプライマーのヌクレオチド位置

TTV	プライマー	ヌクレオチド番号	転写体	
TTV-HD14b	1-f1	716-743	+	
	1-f3	2886-2912	+	
	1-r1	757-730	+	
	1-r2	3521-3492	+	
	TTV-HD14c	2-f1	716-743	+
TTV-HD14a	2-f2	3054-3082	+	
	2-r3	2912-2885	+	
	3-f1	717-744	+	
TTV-HD14e	3-f2	2890-2917	+	
	3-f3	3496-3521	+	
	3-r1	745-720	-	
	3-r2	2914-2887	+	
	4-f1	2887-2914	+	
	4-f2	3494-3519	+	
	4-f3	3053-3080	+	
TTV-HD15a	4-r1	757-730	+	
	4-r2	2911-2884	+	
	5-f1	125-149	+	
	5-f2	2807-2834	+	
	5-f3	3388-3415	+	
	5-r1	224-197	+	
TTV-HD16a	5-r2	3014-2987	+	
	5-r3	3425-3398	-	
	6-f1	100-127	+	
	6-f2	3145-3172	-	
	6-f3	3564-3591	-	
	6-r1	3204-3182	+	
TTV-HD20a	6-r2	3443-3418	-	
	7-f1	314-341	+	
	7-f2	3025-3052	+	
	7-r1	227-200	+	
	7-r2	743-716	+	
TTV-HD23b	7-r3	3332-3305	-	
	10-f1	113-139	-	
	10-f3	3121-3148	+	
	TTV-HD23d	11-f1	126-148	+
		11-f2	354-381	+
		11-f3	3397-3422	-
	TTV-HD23a	11-r1	226-199	+
		11-r2	3653-3626	+
		11-r3	3327-3302	+
		12-f1	126-148	+
12-f2		354-381	+	
12-r2		3177-3150	+	
12-r3		3326-3301	+	

増幅についての条件は：29サイクルの94 における30秒、68 における30秒間のアニーリングおよび72 における3分間の伸長であり、72 における15分間の最終の延長を伴う。全ての産物はゲル電気泳動によって分析し、ゲル溶出後に精製し、ベクターpCR2.1 (Invitrogen cat # K2020-40) にクローン化し、配列決定した。2つのさらなる制御を行って、非-特異的増幅について制御した。1

10

20

30

40

50

つの制御において、増幅は唯一の T T V - 特異的プライマーを用い、第二において、U P M プライマー単独を用いて行った。これらのいずれにおいても産物は検出されなかった。

【実施例 2】

【0139】

悪性腫瘍に由来する組織培養系からの細胞における T T V DNA の持続性の実証

悪性腫瘍に由来する細胞系は一次腫瘍バイオプシー材料よりも優れた 1 つの利点を保有する。それらは通常は癌細胞の純粋な調製物を表し、他方、一次材料は、通常、正常な間葉細胞によって、造血系の細胞および正常な上皮細胞によって汚染されている。他方、組織培養系の 1 つの不利点は組織培養条件下で成長する特異的クローンの選択、および長期培養の間における二次遺伝的修飾の獲得から生起させることができる。加えて、胎児ウシ血清は、血清不活化手法で生き残るウシウイルス（例えば、ウシポリオマウイルス）の導入による危険性をもたらす；これらの利点 / 不利点をまとめる表 5 参照。

10

【0140】

【表 5】

T T V - 関連配列についての一次腫瘍バイオプシー v s 樹立された細胞系の分析

バイオプシー		細胞系	
利点	不利点	利点	不利点
標品材料	正常な細胞の混合物による汚染	癌細胞の純粋な調製物	組織培養条件に適合させた特異的クローンの選択
	末梢血液中での T T V の均一な存在によって混乱した T T V 配列についてサーチ	制限されていない量で入手可能	長期培養の間における二次的遺伝子変化
	制限された入手可能性		胎児ウシ血清はウシウイルスでの汚染の危険性を引き起こす

20

ヒト一次腫瘍材料において T T V - DNA を見出す試みでは、1 つの不利点：ヒト材料における複数の T T V 遺伝子型に悩んでいる。これは、それをヒト癌タイプについての病因としての特異的遺伝子型を同定するのを実質的に不可能とする。これらの理由で、癌組織培養系に由来する細胞における T T V DNA 配列の持続性についての実験を開始した。これまでのところ、結果は極めて驚くべきものであった：T T V 大オープン・リーディングフレームの領域を発見するのに用いられた P C R プライマーは完全に不成功であった。しかしながら、約 7 1 塩基の T T V ゲノムの短い G C - リッチな調節領域を専ら発見する他のプライマー組合せは、より多数の細胞系においてこの配列を検出した（図 1）。この調節領域は異なる T T V 遺伝子型内で高度に保存されており、ヒトゲノムデータベースでは存在しない。

30

【0141】

実験の最初のシリーズにおいて、同一の配列が多数のさらなる細胞系で発見された。これらは以下の系を含む：

40

- ・ M C F 7 (乳癌系)；
- ・ H A K - 1、K M H - 2、L 1 2 3 6 (全てのエプスタイン - パールウイルス陰性ホジキンリンパ腫系)；
- ・ Y 6 9 (エプスタイン - パールウイルス陰性 B - リンパ腫)；
- ・ H S B - 2 (急性リンパ球性白血病)；
- ・ P 3 H R - 1 (エプスタイン - パールウイルス - 陽性パーキットリンパ種)；
- ・ B J A B (エプスタイン - パールウイルス陰性パーキットリンパ種)；
- ・ N g (多発性硬化症を持つ患者からの E B V - 不滅化 B リンパ芽球) -

50

これらの9つの陽性系とは別に、2つのメラノーマ細胞系（I G LおよびK R，図1）およびヒト胎盤DNAは最初の実験において陰性であった。興味深いことには、L 1 2 3 6細胞からのスプールドDNAの除去、および残りの溶液のRNアーゼ処理後に、ミトコンドリアDNA以外に、同様なサイズの2つの弱いバンドがアガロースゲルにおいて位置4.3から6.6 kb（二本鎖DNAサイズマーカー）の間の目に見えるバンド固定となった（図2）。これらの配列の分析は、再度、TTV調節領域の存在を明らかとした。一本鎖DNAを選択的に消化するマング・ビーンヌクレアーゼは、前者の一本鎖性質を強調する、二本鎖対照DNAとは対照的に、4つの多数の硬化症バイオプシーからの細胞DNA含有バンドを完全になくした。同様な実験が腫瘍DNAからの単離体について現在行われている。

10

【実施例3】

【0142】

キメラTTV/切形宿主細胞DNA配列の分析

最初に、全ての試みは、この領域を囲うフランキングTTウイルスDNAを見出すために、調節領域内で出発し、外向きにプライマーを用いるのに失敗した。しかしながら、不変的にヒト細胞DNAは各クローンにおいて実証された（図3）。

【0143】

これらのクローンにおけるヒト遺伝子、およびTTV 71塩基領域によって明らかに制御された一本鎖エピソームDNA内でのそれらの配置は、現在分析中である。入手可能なデータは、通常は切形された宿主細胞遺伝子の撮取における実質的な変動を示す。成長-刺激癌遺伝子への、または腫瘍抑制遺伝子に干渉する機能へのそれらの可能な変換は、現在調査中である機能的テストを必要とする。それは、再構成されたTTVウイルス配列を占める。入手可能なデータのいくつかを図7、8、9および11から13に提示する。

20

【実施例4】

【0144】

TTVゲノムの同定および特徴付け

血清およびバイオプシー試料中のTTウイルスの短い保存されたGC-リッチな領域の最初の増幅は、大部分の場合においてTTV DNAの同定に導いた。完全なゲノムの引き続いての増幅は、特異的なTTVタイプを同定するのに必要である。というのは、多くは制御領域に存在する増幅された71 bpにおける正確なDNA相同性を共有するが、それらのゲノムの残りにおける配列同一性において60から80%のかなり異なるからである。多数の逆並列プライマー組合せは、調査の間に得られた配列に対して設計された（表2）。長距離PCR増幅はTTV DNA陽性試料に対して行った。3から4 kbの間の範囲のアンプリコンをクローン化し、配列決定した。TTV DNA陽性試料は健康な対象ならびに白血病、多発性硬化症、関節リウマチおよび腎臓病を持つ患者から由来した。これらのデータの一部は従前に記載されている（Leppik et al., 2007; Sospedra et al., 2005; de Villiers et al., 2009）。

30

【0145】

合計53の全長DNAゲノムを特徴付けた。12におよぶ多くの区別される全長単離体が、単一のバイオプシーからの19のゲノムを配列決定した後に同定された。1つのTTVタイプの異なる単離体のゲノム組織化は（1から4%の範囲の）ヌクレオチドの低い多様性にも拘わらず変化した。大きなオープン・リーディング・フレームORF1が主として関連していたが、非コーディング領域および他の遺伝子内の差もまた注記された。これらのデータは、先述の観察を確認した（Jelcic et al., 2004; Lepik et al., 2007; de Villiers et al., 2009）。ORF1における修飾は、この領域における別々のより小さなORF、超可変領域におけるかなりの配列多様性（Nishizawa et al., 1999; Jelcic et al., 2004）に導く早期終止コドンまたはプロトタイプに存在するよりも

40

50

大きなORF1がもたらされる終止コドンの不存在を含んだ(図16)。アネロウイルス科の公的な分類はORF1 DNA配列の比較に基づく(Biagini and de Micco, 2010)。得られた単離体におけるORF1修飾のため、全長ゲノム配列が、ここに提示された系統的分析に含まれた。この分析の目的は、樹立されたTTV種に関する単離体TTV-HDの外観を獲得することであった(図18)。全ての従前の単離体は同様にこのツリーに含まれる(Jelcic et al., 2004; Leppik et al., 2007; de Villiers et al., 2009)。

【実施例5】

【0146】

TTV-HDのイン・ビトロ複製

トルクテノウイルス感染を特定の病気の病因と関連付ける試みは過去において繰り返し報告されている。大きな範囲の病気からの試料が分析されてきた。インビトロ調査は、これらのウイルスをより長い期間にわたって容易に増殖させることができる細胞培養系を同定するための消極的試みによって妨げられた。ウイルス粒子は、最初に、(Okamoto, 2009においてレビューされている)密度勾配および免疫グロブリン凝集体の助けを借りて特徴付けられ、後に、血清および糞から可視化された(Ito et al., 2000)。トルクテノウイルスは、圧倒的に、造血系の細胞で起こる(Okamoto, 2009)。第一の単離体は、ホジキンリンパ腫を持つ患者の脾臓から得られた(Jelcic et al., 2004)。従って、L428細胞系を、TTV-HD3aのインビトロ複製および転写を実証するための最初の試みで用いた。線状化されたウイルスDNAのトランスフェクション後における7日間までの全長ゲノムの複製が達成された(Leppik et al., 2007)。複製のこの期間を延長するために、全長TTVゲノムを、高レベルのSV40大T抗原を発現するように作成されたヒト胚腎臓細胞系293TTにトランスフェクトした(Buck et al., 2004)。第二に、1)ORF1における変動がウイルス粒子の複製および形成に影響するか否か、2)多様なTTVタイプがそれらの複製の態様で変化するか否かを決定するために、本実験において12の全長単離体を含めるよう決心した。取り扱いの間に起こり得る限りは、変動を排除するために、平行して全ての12の単離体を増殖させるにおいて大きな注意を払った。

【0147】

以下の単離体をトランスフェクションおよび増殖のために選択した: TTV-HD3a (Leppik et al., 2007)およびTTV-HD1a (Jelcic et al., 2004)。TTV-HD1aは種TTV3 (hel32)およびTTV-HD3aに関して、種TTV12 (ct44f)に最も近い(図4)。TTV-HD16a (種TTV22 - 関連)、TTV-HD15a (種TTV12 - 関連)、TTV-HD14a、TTV-HD14b、TTV-HD14cおよびTTV-HD14e (種TTV29 - 関連)は、全て、多発性硬化症を持つ患者からの脳バイオプシーから単離した。TTV-HD20a (種TTV13 - 関連)は腎臓組織に由来し、およびTTV-HD23a、TTV-HD23bおよびTTV-HD23d (種TTV3 - 関連)は関節リウマチを持つ患者から採取した血清から増幅した。TTV-HD14a、TTV-HD14b、TTV-HD14cおよびTTV-HD14eの配列はそれらの全長ゲノムにおいて1から2%の間変化する。プロトタイプは、サイズが648アミノ酸(aa)の無傷ORF1を持つTTV-HD14aである。TTV-HD14bのORF1はサイズが660aaであり、554aaのみがTTV-HD14a ORF1に対して同一性を共有しており、他方、ORFの残りは(de Schmidt and Noteborn, 2009後に)ORF4に対して融合を示す。同様に、TTV-HD14c ORF1は712aaであって、ORF5に融合したORF1(第一の645aa)を構成する。TTV-HD14e ORF1は中断されており、その結果、サイズが467aaおよび179aaの2つのORFがもたらされる。TTV-HD23b、TTV-HD23dおよびTTV-HD23aゲノムは、配列同一性において1から3%の間変化するに過ぎないが、それらのORF1遺伝子は以下のように異なる: プロトタイプとしてのTTV-HD23a

10

20

30

40

50

ORF 1はサイズが736aaであり、TTV-HD23b ORF 1 DNA配列は、18.4% (アミノ酸において、34.2%) だけ超可変領域においてTTV-HD23aのそれから変化する。TTV-HD23bおよびTTV-HD23d DNA配列は同一性が1%異なるに過ぎないが、TTV-HD23d ORF 1は中断され、その結果、サイズが307aaおよび365aaの2つのORFがもたらされる(図16)。

【0148】

トランスフェクションを半-密集293TT細胞で行った。その多くの丸い細胞が単層に付着した、この細胞の系の性質は細胞病理効果の明快な同定を可能としない。密集した場合、または細胞が表面から脱着を開始した場合に、細胞を継代した。フラスコを振盪して、全ての細胞をほぐした。細胞を遠心し、およびアリコットを凍結し、ならびにDNAおよびRNA抽出および電子顕微鏡分析のために用いた。凍結された感染された細胞を、最初に、新しい293TT培養を再度感染させるのに用いた。というのは、細胞が採取の時点においてそれまでにトリプシン処理されていれば再感染は失敗したからである。ウイルスの複製は、感染した細胞から抽出したDNAに対して長距離PCRを行うことによってモニターした。再感染および細胞採取の間の期間は、培養密度に依存して3から7日の間変化した。異なるTTV単離体の培養の間で、明らかな形態学的差は認められなかった。1つの実験の経過の間における再感染は、凍結された細胞アリコットを用いて数回行った。TTウイルスのインビトロ増殖は今まで記載されていない。制限酵素消化は、最初にトランスフェクトされた試料から得られた細胞DNAに対して行って、いずれの残存する細菌-生成ウイルスDNAも除去した。長PCR増幅の結果は、ウイルスDNAのデ・ノボ複製を示した。感染された細胞DNAを鋳型として用いるこれらのTTV DNAアンプリコンの例は図19に提示される。

10

20

【0149】

全長DNA分子の長距離PCR増幅は、培養の間にかかなりの差を示した。(第一ラウンドにおけるのと同じプライマーを用い)第二ラウンドの増幅は、系統学的分析(図18)に従うそれらの多様性(45から50%ヌクレオチド相同性)に拘わらず、脳バイオプシーからの単離体、すなわち、TTV-HD16a、HD15aおよび4つの個々のTTV-HD14単離体(図19A)で感染させた全ての培養に対して必要であった。ORF1における修飾は、全長DNAの増幅において可視化されたように、増幅または増殖に影響するようには見えなかった(図21A a-c)。サイズは変化するさらなるDNAアンプリコンがHD15a-感染培養で観察された。これらの分子の発生は、全長ゲノムにおける同時低下を伴う引き続いての増殖の間に増大した(図21A a-c レーン5)。我々は、従前に、ヒト血清試料における同様な性質のサブウイルス分子を報告した(Leppik et al., 2007)。同様なオフサイズ(off-sized)アンプリコンもまたTTV-HD16a-感染培養において時折認められ(レーン6)、および稀にしかTTV-HD14培養において認められなかった(レーン1-4)。

30

【0150】

大きな差が他の6つの単離体の挙動において認められた。この変動は実験および継代の間においても明らかであり(図19B b1、b2、b3)、これは培養条件における非常に些細な修飾に対して見掛けの高い感受性を反映する。最初に複製する全長ゲノム(3.8kb)は、TTV-HD20a-、TTV-HD3a-およびTTV-HD1a-感染細胞における範囲の顕著なサブゲノムアンプリコンと同時の増殖(図19B a-c)の間に失われた(レーン7から9、図19B)。長距離PCR増幅で用いられる入力DNAの量、ならびにゲルに負荷されるアンプリコンの量は全ての培養について同一であった。長距離PCRの単一ラウンドの後における単離体TTV-HD23b、TTV-HD23dおよびTTV-HD23aの高レベルのDNAアンプリコンは、従って、初期の継代の間におけるより強い複製能力を示すことができる。

40

【0151】

単離体の2つの群の間で観察される差のため、変動が系列的サンプリングの間に観察され得るか否かを調査した。TTV-HD14eおよびTTV-HD23bの同等な継代が

50

平行に増殖され、および試料は毎日採取した。長距離増幅は、培養において10日後に失われた(図19C)、(DNA増幅の単一ラウンド後に既に目に見えた)TTV-HD23bの減少する複製とは対照的に、(DNA増幅の2ラウンド後に目に見える)TTV-HD14eの一定複製を示した。これらの培養は継代されず、および培養の間の形態学的差は認識できなかった。

【実施例6】

【0152】

μTTVサブウイルス分子のインビトロ形成、複製および特徴付け

単離体TTV-HD14b、TTV-HD14c、TTV-HD14dおよびTTV-HD14e、ならびにTTV-HD1aおよび3つのTTV-HD23単離体からの培養における一定のサイズのより小さなDNAアンプリコンの出現はトランスフェクション後に早く既に認められ、および継代の間に維持された(図19AおよびB)。それらをクローン化し、および特徴付けた。TTV-HD14bおよび3つのTTV-HD14単離体からのこれらのサブウイルスDNA分子(μTTV-HD14、サイズは719塩基)は、全て、DNA配列において同一であって、親TTV-HD14ゲノムに由来する円形サブゲノム再構成分子を表した(図20A)。同様に、再構成されたサブウイルスDNA分子(μTTV-HD1、621塩基)は親TTV-HD1aゲノムに由来した(図20B)。興味深いことには、全長TTV-HD1aゲノムの消失にも拘わらず、継代の間に、μTTV-HD1の複製が維持された。TTV-HD23培養におけるサブウイルス分子のこの存在または不存在は、培養条件の可能な影響を示す。ここにおいて、これらの分子は、サイズが400から900塩基の範囲であり、642および401塩基分子の増大したレベルを伴った。クローン化された分子の特徴付けは、明らかに進化的に好ましい成熟プロセスを示した。というのは、401塩基のサブウイルス分子のセグメント(μTTV-HD23.1)が642塩基のサブウイルスDNAにおいて複製されたからである(μTTV-HD23.2;図20C)。このセグメントの多数のバージョンはより大きな分子において存在した。TTV-HD23b、TTV-HD23dならびにTTV-HD23a培養に由来するサブウイルスゲノムは、全て、DNA配列において同一であった。293TT細胞におけるこれらのサブウイルス再構成分子のトランスフェクションの結果、PCR増幅の後に可視化されたそれらのゲノムの複製がもたらされた(図21)。興味深いことには、各μTTVは親ゲノムと同一の方法で正確に反応し、すなわち、ゲノムμTTV-HD15 DNAの最初の複製は強力であったが、引き続いて、ネステッドPCR増幅後に可視化されたに過ぎなかった(図21)。サイズが10nmの小さな蛋白質様構造は、これらの細胞培養からの培養基の濾過(0.22μm)後に電子顕微鏡観察によって可視化された(図22)。

【実施例7】

【0153】

ウイルス様粒子(完全なゲノムおよびμTTV)の精製

ウイルス粒子を精製する試みは、第二ラウンドの再感染後に開始された。粗製細胞抽出物を27-33-39%Opti-prep工程グラジエントで遠心した(Buck et al., 2005)。グラジエント画分のアリコットを、ゲル電気泳動による分離に先立って溶解させた。ウイルスDNAを示すグラジエント画分を-80で凍結し、およびさらなる再感染で用いた。二本鎖DNAサイズのマーカーの2kbおよび1.0kbレベルにおける2つのDNAバンドが明確に見えた(図8A)。これらのDNA分子の正確なサイズは決定できなかった。というのは、適当な一本鎖DNAマーカーが入手できないからである。細胞懸濁液は、加えて、グラジエント遠心に先立って0.22μmフィルターを通して濾過した。これらの試料の陰性染色は、サイズがほぼ30nmのウイルス様粒子を示した(図8)。同様に、蛋白質構造(サイズが約10nm)が、μTTV-HDゲノムの増殖後の培養基の濾過の後に見られた(図22)。これらの濾液を溶解させ、およびDNAをアガロースゲルで分離した(図22)。

【実施例8】

【0154】

インビトロ転写

TTVの詳細な転写パターンは単離体TTV-P1C1 (Muller et al., 2008)、TTV-HEL32 (Qiu et al., 2005; Kakkola et al., 2009)およびTTV-HD3a (Leppik et al., 2007)について報告されてきた。3つの主なmRNA種(1.0、1.2および3.0 kb)は骨髓細胞(Okamoto et al., 2000a)において、およびCOS1細胞(Kamahora et al., 2000)において以前に報告された。交互のスプライスアクセプターおよびドナー部位(Leppik et al., 2007)の使用と組み合わせたKozak規則(Jelcic et al., 2004)に従った開始コドンの使用についての予測は、トルクテノウイルスの転写の間における非-保存的メカニズムの関与を示した。単離体の転写は、3'-および5'RACEマッピングのために、鋳型として一本鎖ならびに二本鎖cDNAを用いることによって調べた。二本鎖cDNAは非-特異的ハイブリッドの形成についての可能性を低下させる。加えて、通常使用される遺伝子-特異的プライマーの代わりに、遺伝子間領域内に位置するプライマー(順方向および逆方向)を選択した。これは、TTVゲノムにおけるいずれかの予測されない遺伝子の発現をカバーする目的でなされた。全ての培養からのRNAはトランスフェクションから7日後に抽出した。ベクター単独での対照トランスフェクションからのRNAを含ませて、偽陽性増幅について制御させた。転写分析を反復して、単離体TTV-HD14eの場合において、トランスフェクションから48時間後にRNAを抽出することによって、mRNAを採取するための適当な時点につき制御した。観察された転写パターンは2日および7日の間で同じであった。転写分析で得られた全ての結果は図17に提示される。

10

20

【0155】

豊富な転写体をTTV-HD23感染培養から単離した。それらの転写パターン、ならびにTTV-HD20a、TTV-HD15a、TTV-HD16aについてのそれは、一般に、(Kakkola et al., 2009でレビューされた)従前に記載された転写パターンと同様であった。例外は、単離体の全てからの全長ORF1転写体の不在である。これは、ウイルス様粒子が同時に生産されるという事実に鑑みれば驚くべきことである。ORF1遺伝子のセクション(5'-または3'-末端のいずれか)をカバーし、より小さな蛋白質についてコードできる転写体が存在した(図17における例)。推定蛋白質についてのイン・シリコ分析は、そこから今まで何が報告されているのかさらなる情報を明らかにした。例は、ORF2またはORF2aとORF1との、またはTTV-HD16aにおけるORF5との間のスプライシング(融合)である(6.3s.2、6.3s.3、6.3s.9)。ORF1およびORF5の間のスプライシングはもう1つの可能性である(6.3.7)。TTV-HD20aにおけるORF2の領域をカバーする短い転写体もまたより小さなORF1蛋白質として発現され得る(7.3.5、7.3.4、7.5.13)(図17)。転写体は、加えて、対照領域に位置するプライマー(順方向または逆方向)を用いて得られた。2つの観察がなされた。逆方向プライマーの結果、ゲノムの延長された領域をカバーするスプライシングされた、またはスプライシングされていない転写体(12.5.19、12.5.20、12.5.21、5.5s.16、5.5s.17、5.5s.18、5.5s.19)またはいずれのコーディング能力も有しなかった長さが増える転写体(5.5s.12、5.5s.13、5.5s.14、5.5s.15、11.5.7、11.5.8、11.5.9)をもたらした。この領域における順方向プライマーでの増幅の結果、ORF5と同程度に遠いさへのコーディング能力を持つ他の短い非-コーディング転写体、またはスプライシングされた転写体をもたらされる(4.3.4、3.3.1、3.3.2)(図17)。

30

40

【0156】

文献のリスト

1. Belotserkovskii, B.P., Liu, R., Tornaletti, S., Krasilnikova, M.M., Mirkin, S

50

- .M. and Hanawalt, P.C. 2010. Mechanisms and implications of transcription blockage by guanine-rich DNA sequences. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 107:12816-12821.
2. Biagini, P., and P. de Micco. 2010. La famille des Anelloviridae: virus TTV et genres apparentes. *Virologie* 14:3-16.
3. Biagini, P., Charrel, R.N., de Micco, P., and X. de Lamballerie. 2003. Association of TT virus primary infection with rhinitis in a newborn. *Clin. Infect. Dis.* 36:128-129.
4. Buck, C.B., Pastrana, D.V., Lowy, D.R., and J.T. Schiller. 2004. Efficient intracellular assembly of papillomaviral vectors. *J. Virol.* 78:751-757.
5. Buck, C.B., Pastrana, D.V., Lowy, D.R., and J.T. Schiller. 2005. Generation of HPV pseudovirions using transfection and their use in neutralization assays. *Methods Mol. Med.* 119:445-462.
6. Del Val, C., Mehrle, A., Falkenhahn, M., Seiler, M., Glatting, K-H., Poustka, A., Suhai, S., and S. Wiemann. 2004. High-throughput protein analysis integrating bioinformatics and experimental assays. *Nucleic Acid Res.* 32:742-748.
7. de Schmidt, M.H., and M.H.M. Noteborn. 2009. Apoptosis-inducing proteins in chicken anemia virus and TT virus. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.* 331:131-149.
8. de Villiers, E-M., Kimmel, R., Leppik, L., and K. Gunst. 2009. Intragenomic rearrangement in TT viruses: a possible role in the pathogenesis of disease. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.* 331:91-107.
9. de Villiers, E-M., Schmidt, R., Delius, H., and H. zur Hausen. 2002. Heterogeneity of TT virus related sequences isolated from human tumor biopsy specimens. *J. Mol. Med.* 80:44-50.
10. Fei, J-W., Wei, Q-X., Angel, P., and E-M. de Villiers. 2005. Differential enhancement of a cutaneous HPV promoter by p63, Jun and mutant p53. *Cell Cycle* 4:689-696.
11. Garbuglia, A.R., Iezzi, T., Capobianchi, M.R., Pignoloni, P., Pulsoni, A., Sourdís, J., Pescarmona, E., Vitolo, D., and F. Mandelli. 2003. Detection of TT virus in lymph node biopsies of B-cell lymphoma and Hodgkin's disease, and its association with EBV infection. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 16:109-118.
12. Itoh, Y., Takahashi, M., Fukuda, M., Shibayama, T., Ishikawa, T., Tsuda, F., Tanaka, T., Nishizawa, T., and H. Okamoto. 2000. Visualization of TT virus particles recovered from the sera and feces of infected humans. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 279:718-724.
13. Jelcic, I., Hotz-Wagenblatt, A., Hunziker, A., zur Hausen, H., and E-M. de Villiers. 2004. Isolation of multiple TT virus genotypes from spleen biopsy tissue from a Hodgkin's disease patient: Genome reorganization and diversity in the hypervariable region. *J. Virol.* 78:7498-7507.
14. Jeske, H. 2009. Geminiviruses. *Curr Top Microbiol Immunol.* 331:185-226
15. Kakkola, L., Bonden, H., Hedman, L., Kivi, N., Moisala, S. Julin, J., Yla-Liedenpohja, Miettinen, S., Kantola, K., Hedman, K., and M. Soderlund-Venermo. 2008. Expression of all six human Torque teno virus (TTV) proteins in bacteria and in insect cells, and analysis of their IgG responses. *Virology* 382:182-189.
16. Kakkola, L., Hedman, K., Qiu, J., Pintel, D., and M. Soderlund-Venermo. 2009. Replication of and protein synthesis by TT viruses. *Curr. Topics Microbiol. Immunol.* 331: 53-64.
17. Kakkola, L., Tommiska, J., Boele, L.C.L., Miettinen, S., Blom, T., Kekarainen, T., Qiu, J., Pintel, D., Hoeben, RC., Hedman, K., and M. Soderlund-Venermo. 2007. Construction and biological activity of a full-length molecular clone of hu

- man Torque teno virus (TTV) genotype 6. *FEBS. J.* 274:4719-4730.
18. Kamada, K., Kamahora, T., Kabat, P., and S. Hino. 2004. Transcriptional regulation of TT virus: promoter and enhancer regions in the 1.2-kb noncoding region. *Virology* 321:341-348.
19. Kamahora, T., Hino, S., and H. Miyata. 2000. Three spliced mRNAs of TT virus transcribed from a plasmid containing the entire genome in COS1 cells. *J. Virol* 74:9980 - 9986.
20. Kanda, Y., Tanaka, Y., Kami, M., Saito, T., Asai, T., Izutsu, K., Yuji, S., Ogawa, S., Honda, H., Mitani, K., Ciba, S., Yasaki, Y., and H. Hirai. 1999. TT virus in bone marrow transplant recipients. *Blood* 93: 2485-2490. 10
21. Kazi, A., Miyata, H., Kurokawa, K., Khan, M.A., Kamahora, T., Katamine, S., and S. Hino. 2000. High frequency of postnatal transmission of TT virus in infancy. *Arch. Virol.* 145:535-540.
22. Kovacs, E., Tompa, P., Liliom, K., and L. Kalmar. 2010. Dual coding in alternative reading frames correlates with intrinsic protein disorder. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107:5429-5434
23. Leppik, L., Gunst, K., Lehtinen, M., Dillner, J., Streker, K., and E-M. de Villiers. 2007. In vivo and in vitro intragenomic rearrangement of TT viruses. *J Virol* 81:9346-9356.
24. Maggi, F., Andreoli, E., Riente, L., Meschi, S., Rocchi, J., Delle Sedie, A., Vatteroni, ML., Ceccherini-Nelli, L., Specter, S., and M. Bendinelli. 2007. Torquetenovirus in patients with arthritis. *Rheumatology* 46:885-886. 20
25. Maggi, F., Focosi, D., Albani, M., Lanini, L., Vatteroni, ML, Petrini, M., Ceccherini-Nelli, L., Pistello, M., and M Bendinelli. 2010. Role of hematopoietic cells in the maintenance of chronic human torquetenovirus plasma viremia. *J. Virol.* 84:6891-6893.
26. Maggi, F., Fornai, C., Vatteroni, ML., Siciliano, G., Menichetti, F., Tascini, C., Specter, S., Pistello, M., and M. Bendinelli. 2001a. Low prevalence of TT virus in the cerebrospinal fluid of viremic patients with central nervous system disorders. *J. Med. Virol.* 65:418-422 30
27. Maggi, F., Fornai, C., Zaccaro, L., Morrica, A., Vatteroni, M.L., Isola, P., Marchi, S., Ricchiuti, A., Pistello, M., and M. Bendinelli. 2001b. TT virus (TTV) loads associated with different peripheral blood cell types and evidence for TT replication in activated mononuclear cells. *J. Med. Virol.* 64:190-194.
28. Maggi, F., Pifferi, M., Fornai, C., Andreoli, A., Tempestini, E., Vatteroni, M., Presciuttini, S., Marchi, S., Pietrobelli, A., Boner, A., Pistello, M., and M. Bendinelli. 2003a. TT virus in the nasal secretions of children with acute respiratory disease: relations to viremia and disease severity. *J. Virol.* 77:2418 - 2425.
29. Maggi, F., Pifferi, M., Tempestini, E., Fornai, C., Lanini, L., Andreoli, E., Vatteroni, M., Presciuttini, S., Pietrobelli, A., Boner, A., Pistello, M., and M. Bendinelli. 2003b. TT virus loads and lymphocyte subpopulations in children with acute respiratory diseases. *J. Virol* 77:9081-9083. 40
30. Mariscal, L.F., Lopez-Alcorocho, J.M., Rodriguez-Inigo, E., Ortiz-Movilla, N., de Lucas, S., Bartolome, J., and V. Carreno. 2002. TT virus replicates in stimulated but not in nonstimulated peripheral blood mononuclear cells. *Virology* 301:121-129.
31. Muller, B., Marz, A., Doberstein, K., Finsterbusch, T., and A. Mankertz. 2008. Gene expression of the human Torque Teno Virus isolate P/1C1. *Virology* 381:36 -45. 50

32. Nawaz-ul-Rehman, M.S., and C.M. Fauquet. 2009. Evolution of geminiviruses and their satellites. *FEBS Letter* 583:1825-1832.
33. Nishizawa, T., Okamoto, K., Konishi, H., Yoshikawa, H., Miyakawa, Y., and M. Mayumi. 1997. A novel DNA virus (TTV) associated with elevated transaminase levels in posttransfusion hepatitis of unknown etiology. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 241:92-97.
34. Ninomiya, M., Nishizawa, T., Takahashi, M., Lorenzo, F.R., Shimosegawa, T., and H. Okamoto. 2007. Identification and genomic characterization of a novel human torqueteno virus of 3.2kb. *J. Gen. Virology* 88:1939-1944.
35. Ninomiya, M., Takahashi, M., Nishizawa, T., Shimosegawa, T., and H. Okamoto. 2008. Development of PCR assays with nested primers specific for differential detection of three human anelloviruses and early acquisition of dual or triple infection during infancy. *J. Clin. Microbiol.* 46:507-514.
36. Okamoto, H. 2009. History of discoveries and pathogenicity of TT viruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 331:1-20.
37. Okamoto, H., Nishizawa, T., Tawara, A., Takahashi, M., Kishimoto, J., Sai, T., and Y. Sugai. 2000a. TT virus mRNAs detected in the bone marrow cells from an infected individual. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 279:700-707.
38. Okamoto, H., Takahashi, M., Kato, N., Fukuda, M., Tawara, A., Fukuda, S., Tanaka, T., Miyakawa, Y., and M. Mayumi. 2000b. Sequestration of TT virus of restricted genotypes in peripheral blood mononuclear cells. *J. Virol.* 74:10236-10239.
39. Okamoto, H., Takahashi, M., Nishizawa, T., Tawara, A., Sugai, Y., Sai, T., Tanaka, T., and F. Tsuda. 2000c. Replicative forms of TT virus DNA in bone marrow cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 270:657-662.
40. Okamoto, H., Ukita, M., Nishizawa, T., Kishimoto, J., Hoshi, Y., Mizuo, H., Tanka, T., Miyakawa, Y., and M. Mayumi. 2000d. Circular double-stranded forms of TT virus DNA in the liver. *J. Virol.* 74:5161-5167.
41. Paprotka, T., Metzler, V., and H. Jeske. 2010. The first DNA 1-like satellite in association with New World begomovirus in natural infections. *Virology* 404:148-157.
42. Patil, B.L., and C.M. Fauquet. 2010. Differential interaction between cassava mosaic geminivirus and geminivirus satellites. *J. Gen. Virol.* 91:1871-1882.
43. Peng, Y.H., Nishizawa, T., Takahashi, T., Ishikawa, T., Yoshikawa, A., and H. Okamoto. 2002. Analysis of the entire genomes of thirteen TT virus variants classifiable into the fourth and fifth genetic groups, isolated from viremic infants. *Arch. Virol.* 147:21-41.
44. Pifferi, M., Maggi, F., Andreoli, E., Lanini, L., Marco, ED., Fornai, C., Vatteroni, ML., Pistello, M., Ragazzo, V., Macchia, P., Boner, A., and M. Bendinelli. 2005. Associations between nasal torquetenovirus load and spirometric indices in children with asthma. *J. Infect. Dis.* 192:1141-1148.
45. Qiu, J., Kakkola, L., Cheng, F., Ye, C., Soderlund-Venermo, M., Hedman, K., and D.J. Pintel. 2005. Circovirus TT virus genotype 6 expresses six proteins following transfection of a full-length clone. *J. Virol.* 79:6506-6510.
46. Ryabova, L.A., Pooggin, M., and T. Hohn. 2006. Translation reinitiation and leaky scanning in plant viruses. *Virus Res.* 119:52-62.
47. Saunders, K., Bedford, I.D., Briddon, R.W., Markham, P.G., Wong, S.M., and J. Stanley. 2000. A unique virus complex causes *Ageratum* yellow vein disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:6890-6895.
48. Shiramizu, B., Yu, Q., Hu, N., Yanagihara, R., and V.R. Nerurkar. 2002. Investigation of TT virus in the etiology of pediatric acute lymphoblastic leukaemia

. *Pediatr. Hematol. Oncol.* 19:543-551.

49. Sospedra, M., Zhao, Y., zur Hausen, H., Muraro, P.A., Hamashin, C., de Villiers, E.M., Pinilla, C., and R. Martin. 2005. Recognition of conserved amino acid motifs of common viruses and its role in autoimmunity. *PLoS Pathog.* 1:e41.

50. Stanley, J. 2004. Subviral DNAs associated with geminivirus disease complexes. *Vet. Microbiol* 98:121-129.

51. Takahashi, M., Asabe, S., Gotanda, Y., Kishimoto, J., Tsuda, F., and H. Okamoto. 2002. TT virus is distributed in various leukocyte subpopulations at distinct levels, with the highest viral load in granulocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 290:242-248.

52. Takahashi, K., Iwasa, Y., Hijikata, M., and S. Mishiro. 2000. Identification of a new human DNA virus (TTV-like mini virus, TLMV) intermediately related to TT virus and chicken anemia virus. *Arch. Virol.* 145:979-993.

53. Zhong, S., Yeo, W., Tang, M., Liu, C., Lin, X.R., Ho, W.M., Hui, P., and P.J. Johnson. 2002. Frequent detection of the replicative form of TT virus DNA in peripheral blood mononuclear cells and in bone marrow cells in cancer patients. *J. Med. Virol.* 66:428-434.

54. zur Hausen H., and E-M. de Villiers. 2005. Virus target cell conditioning model to explain some epidemiologic characteristics of childhood leukemias and lymphomas. *Int. J. Cancer* 115:1-5.

10

20

【 図 1 】

Figure 1



【 図 2 】

Figure 2

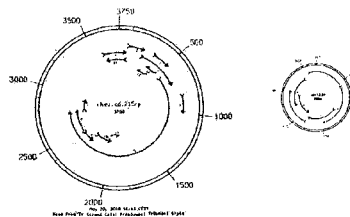
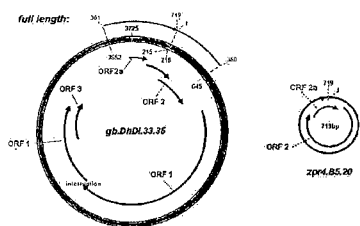


【 図 7 A 】

【 図 7 C 】

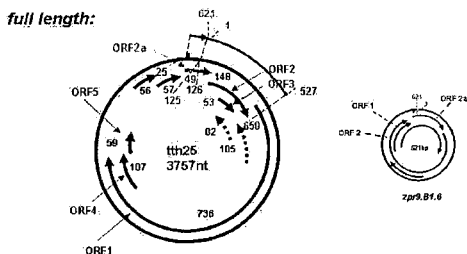
Figure 7

A



【 図 7 B 】

B

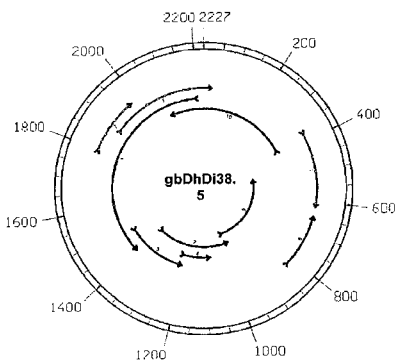


【 図 8 A - 1 】

【 図 8 A - 2 】

Figure 8

A



gb38.5
gbDhD138.5

WV13038 Klon6

Templiphiiに依った長-pcr
プライマー: 13pb1+2 アニールンク: 65°C
長さ: 2227

1 CAATTCGTGC ACGGACTAC AAGAAAGGG GTTACCCCC ACCCTCCCC
51 GCCATGCCCA GGAGGTGCA GACACAACCTG GGAAGTGTCT AGAGACCCCG
101 GGGGGAGGCT GGCCAGCAC CAGGCATTGG GGGCCAGTCT CCCGTCTCTA
151 CACCCAGACC CCAGCCGAC AGCCGTGTC CCTCCGCTG CCCACCTGT
201 CACCCAGCTG CTGGCCCGG GCTGTCTCTG CTCCTGGCTC CCTCCAGC
251 TGCSTCCCA GTCGCTCTC CAGGGAGGAG TGACAGCTGG CTTGTGCCAC
301 ACCCTCAGC CCCCAGGAC TACCCCTCC CTGGGCGAG ACCCTGCTCT
351 GTGGCACAC CAGCGGCTT GCTGATGGG GCTCATGTGA GCAGTCCCC

401 AGCTGTGGGT GTGGGTGCTG CCAGCTGCCA CCGCCTTGC CCTGGITTCC
451 CAGATGACC CCGACCCACA CTCGAAAGCT GTATCATGAA CCCTGTGCTG
501 GGCGGTGCT GTGGAGCGGG GTTGCCTGC CACTACCCCT TGGAGCCCTC
551 AGCCATGAG GGGCCCTGTG GGCACCTTTT CCGGCACAC GGTGCTGTGT
601 TTCTCCACTC TTGGGCTCTG CAGTACTTG AGGGGTCAAG TCTATGATCC
651 CACGGGAGCC TGGGCTAATG AAGGGACCCAG AGACCTCAGT GCTGTGCAGG
701 GAGTCTGAA CCAACCTGTT GSAAGGCCA GCCCACTCC CCACTCTCC
751 CCGCAGTCC CTGTGTGCTC CAGGAGACTC GTGGTCAGGC CTGGAGGAGA
801 AGCTCCTCTT CCCCCTGACA TCCTCCCTGC AGCCCTTGTCT CTCACCCAGA
851 GCCTCCTGAC TCCCCAGGAC CCCAGAGAG ACTGACCTTC TCACGCCGAC
901 CTCTGGGCTC AAGCAGCTG GGGGGGGAG CCACAGGAGC TGCCTGTAGG
951 GAGCAGACTC AGCAGCGGA CCGAGCCGGA CACCCATTCT GGAAGTGTCT
1001 GCACTCCAG GCAGGGGAA GACGGCACTC GGTAGCTGGG AGTGTGGGC
1051 CGAAGATGG CATGTCTAG CCTCAGTCC GACTGGGAG GAGAGGTTG
1101 GGAGTCTGT GCAGAGGGA GAGAGAGGG CAGTGTCCCG AGTGTGGGTT
1151 GGTGGCAGT GGAGGAGCC GACAGGAACA GACTGAGCT TGGGAGCTC
1201 CACTCAGAAC GAGGCATCT TCAGGGTCT GTGCATCTG GTGTCCCTGG
1251 CTGGGGGCG GCGCCGAGG TGGAGCTTG CACTGTGAG CTGGGGGGG
1301 TGTGTGGGG TGGAGGTGG ATGGAGCCC CCTCCACC CCTGGCCGCT
1351 TCGCTGAA CTTGGACTC GGAGCCGGA CAGACATAG AATGSCCTA
1401 ACTGCATTTG CCGAGRACA CCAATTCCT CCGACTCCA CCGGCTGAG
1451 CCAGGGCCAG GGGCGGCTC GGCATFCCA GAGTCTTAC AECTCCCTGG
1501 TGIATGCCAA GGGGCTTGG CCGCTGACC AGGGGGGCT TTCCAGGGC
1551 AGAGGCCCC ACCCCACCC AGGAGAGCTG CCCCCTTTC AGTTCOCAGA
1601 ACCGAGCCCG CTTGTGAAAT AGTATGCGG TGAGTCTATG GGGAGCGGG
1651 CCGCATGACT CATATCTTG GGTAGGGGA AAGGAGGGA CAGAGAGGG
1701 GCCCAGAGCC CTCACCTGC TCAGCTCTGC TGGTCTGAG GCCAGGGCT
1751 GGCGGGGCT CTCCACGCA CTGGGTTTFA GGGAGACAC CAGAGATGC
1801 TTACTCTGCA TCCCACTCT GTCCCCAGG CCCCTAGCCA GGGAGAGCTC
1851 AGTCAGAGT ATCCCTCAG GCGCCAGCTC TGATGATG ATGTTCCAG
1901 AGTACACACC TGGCCCTCT GCGAGGCGG GCACCGCGT TGTACGGCT

【 図 8 A - 3 】

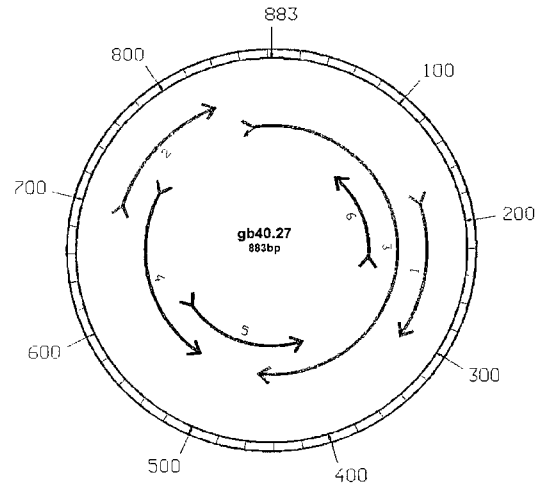
```

1951 ATGGCAAGGC AAACAGTCAA TGTTCGCCTC ACTAAAGTGA GGCTGCAGCA
2001 CCCTGAAGGG ATCCCTGGAG GGGGACGGTG TCCCTTTGTT CCCAAGCTTG
2051 TCTGCACATG CACCTGGATG TCAAGGGTTC CCCTGTGTGA GCACATGCAT
2101 ATTTGTATGT GCATGGGGTG CGGGCATGTG TGCCCTGTGTG GCGGGAGCGT
2151 GGGCTCGTGG AGAATGTGTG TGAGTGGGTG GTGCACCTGC ATGTGCCCCA
2201 GGCTAGGGA GTCCCGTGGC CGAATTG

```

【 図 8 B - 1 】

B



gb40.27
g b D H D i 4 0 . 2 7 . 配列 (g b 4 0 + さ ら な る m s - 菌 からの 細胞 配列)
長さ : 8 8 3
Temp l i p h i に 従 っ た 長 - p e r
プライマー : h e l 1 + h e l 2 アニールンク 6 8 C (ネステッド)
ベクター : p e r 2 . 1 i n v i t r o g e n

```

1 CGGGACTGGC UGGGCTATGC CCCAGACACA CTCACGTAGG GGTGTGGCC
51 CTGGGAGGCC AGAACCATGG TCTGCAGGGT TTCCTCTCGG CCATTCAGGA
101 CACGCTTAGT CTCCAGGGA TAGCGCTGTT GTCCCTATCC AACCCTGAAG
151 GTCTCTGCA GAGGAGGCT CTCCGGATG GGCAGGTGCA ATGGGTGCTT

```

【 図 8 B - 2 】

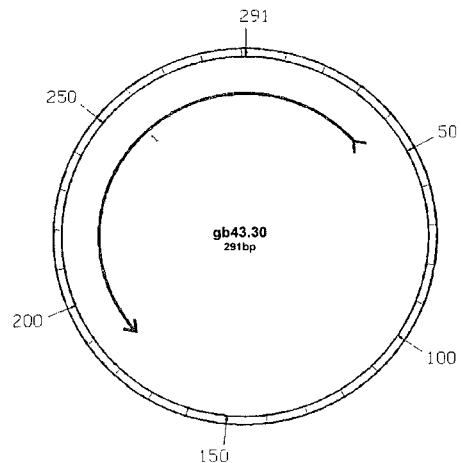
```

201 GGTGTGCAGA GGGAAABACA GGCDAAGCC ATTAAGGAG CTGGCAGTGC
251 CAGGGGAGRA TTGTGCCCA GGTCTCAGC CTGGGCTGT CACGACCTTG
301 CAGAGTTAAG ACTCTGCCAC AGRAAGAGA ACATCAGGAC ACCTGGCAGC
351 CCTATGCTTT ACAATGTGGC ATCCAGAACC CTTACACACC TCACGTGGCC
401 AGACAACTGG GCATGGGTGG GGTCCCGTTC GCCATTTCAG AGCAAGACCC
451 CAAGAGGATA CATGNCAGC NGCATCTGGT GTCCACACGA CTGGGATTAG
501 AATCCAGGCA GGGTCTTCA CTGCTGTGTT GACCTTGGGA AAAGGACTTG
551 ACTGTCTGTT GCTCAGTTT CCCATCTGT AAAAGGGAGG CTAAATTAAT
601 ACTGATCGGA CACAGTGTTC AGGCTTAGAG ATAACATACA TGAACGACCC
651 ACAAGCTCCC CAGGGGAAA GCTTCTGAC ATTCCGCTTC TCTGCCATTT
701 TCGATGTGCC CAGAGAGCA CTGGTCCAT AGTATGTGCT CAATGAATGT
751 AAATGGGATA AAACACGAAA CGACACTCT GCCAACGATG CTGCTGTCC
801 TTTGTGATCA CTGCTCTGTT TTAGGCTGTA GCTGACTTAT CTAAGGCCAT
851 ACACCTGCTC AATGCATAGC CCGGCCAGTC CCG

```

【 図 8 C - 1 】

C



gb43.30
g b D H D i 4 3 . 3 0 . 配列 (g b 4 3 + さ ら な る m s - 菌 からの 細胞 配列)
長さ : 2 9 1
遺伝子の長 - p e r
プライマー : 4 3 b p 1 1 2 アニールンク 6 5 %
ベクター : p C R 2 . 1 , I n v i t r o g e n

```

1 CCCCCTGACT TGGGCTGTA AACCTGTGGT ATAGACATG ATGTTTAA
51 ATACATGAC ATTGGGAAT GCTTGTACA TGCTAATTA CATATGAAT
101 ACCCTACTA GCTACTTTT TTATGGTAA AGCACTTAA ATCTACCTC
151 AGCAGTTTC AAGTACAAA TACATTTCTA TTAACATAG TCACCATGT
201 GTACAATRAA TCTCTGAAT TTATCTCTCC TGCCTAAGT ACAITTTGTA
251 TCCITTAGCT GATCTCTCT CCCAGTCCC TCCCGAATG G

```


【 図 9 A - 2 】

スコア = 690ビット (348), 予測 = 0.0
同一性 = 348/348 (100%)
ストランド = プラス/プラス

クエリ: 282 tccctgaactgcaactgggtcttaggactgttggggaaggaagtgaagagccagctgt 341
対象: 26212 tccctgaactgcaactgggtcttaggactgttggggaaggaagtgaagagccagctgt 26271

クエリ: 342 agtctccctggactctcaaggatctgccaacctgggctctttatgtagggaaggt 401
対象: 26272 agtctccctggactctcaaggatctgccaacctgggctctttatgtagggaaggt 26331

クエリ: 402 gtgagctcctggagctactcctgatagaggactgttccctgaaacctcagcagtggt 461
対象: 26332 gtgagctcctggagctactcctgatagaggactgttccctgaaacctcagcagtggt 26391

クエリ: 462 gaggccctagcagggggaaccagaccgctgccaagcccttaacctcagggcta 521
対象: 26392 gaggccctagcagggggaaccagaccgctgccaagcccttaacctcagggcta 26451

クエリ: 522 ttatcagcagctaaagccttaggtggtgcaagctccagccagcaagcaagta 581
対象: 26452 ttatcagcagctaaagccttaggtggtgcaagctccagccagcaagcaagta 26511

クエリ: 582 gcagcctcctgcccctactcctcctgcccggggcctccagctccc 629 GACCGAATTG
対象: 26512 gcagcctcctgcccctactcctcctgcccggggcctccagctccc 26559 ACCTGGCTGATC

スコア = 505ビット (255), 予測 = e-140
同一性 = 272/280 (97%)
ストランド = プラス/マイナス

クエリ: 9 ctggcgtgtgtaaaagcggccagcctgtgctgcaagcagtgctggtgggtaagccat 68
対象: 29128 ctgctgtgtgtaaaagcggccagcctgtgctgcaagcagtgctggtgggtaagccat 29069

クエリ: 69 gaccggcctctggaggaggaaggttaggcttagtgacacagcttctcctaaggtg 128
対象: 29068 gaccggcctctggaggaggaaggttaggcttagtgacacagcttctcctaaggtg 29009

クエリ: 129 gtcttagaaccaactcattaaaatggggagatgggctttgtgctgattctctggagatt 188
対象: 29068 gtcttagaaccaactcattaaaatggggagatgggctttgtgctgattctctggagatt 28949

クエリ: 189 tcaagatgccccacacagcagaagggatgtgcannnnnnctgcgctgagttgttga 248
対象: 28948 tcaagatgccccacacacagcagaagggatgtgcatttttctcgcgctgagttgttga 28889

クエリ: 249 taaaatcagtgacctgcttcccaacttagaacctccctg 298
対象: 28888 taaaatcagtgacctgcttcccaacttagaacctccctg 28849

【 図 9 B - 2 】

1601 GGTGCTGGG CTGAGCATGA AACTTATG CTCAACAT AAAGTGAAA
1651 CACTACACAG CTCAGCTGAA TANGACTT TGGGGCAAG GCCCAGAAAT
1701 CTACAGITTA GTAGTGGCC CCACACTGG ACCCTGGGA AGTGACTGC
1751 ATTTTGAANA ACTTACACT AGTGTATACC CAGGATCT CATTAACATA
1801 AGTGTGTAATA CACTAGCTG ABTTAGCTG ATGATGCT TCTTAGAGT
1851 CATGACAGA GGGGAGCAG TTCCCAAGS GAAGGATAG CCAATATGA
1901 ATGACAGGTG GATTCGATCA CCGCTATTA TTATGTTCA ACTGCGDCT
1951 CCGTGGTCC CTCCACAAA TTGCGTTTCA GATCCGCTG CCAATGCTC
2001 TTCCAGAGTT CATGCTTCT CTGACAGAG AGGAGGAGG TGTATCTGT
2051 TGTACCACT ATGACTAGT GATGGTGT GACTTCATG GAGCAGTCT
2101 GFAATCAAT AGTATGAGG CMGIGCTG ATCCATGCT ATGCTGCCA
2151 TGAACTGG AGGGGAGS GGAATGACA GCTCTTACA TTGCCAAT
2201 CTGCCAACA TTCTCCAG TGTGGGAAA GCGTTGCT ATCCGATTC
2251 TTCTTGAANA GCTTTCTCC TCCATTTGAC ATTTTAAAT TTCTCATTT
2301 TTATGGTGA CCAATGATC CACTGTCCA TATAGTGG TCTGATTT
2351 TCCAGATGAA AGTAATCTT CCTCTCTAA CCGCCATGA CACTTAACCT
2401 GGCATCAAT TACGGCTTC ACTCTCTCT COTATAGCT CCAATGCTC
2451 TCCCTCATC TTCTCCCGG GAATGATC CCGCCAGAG GAGGTACAG
2501 GTCAGTTCT TTCTTGTGA ACAGGCTCT CCGATGAG CAAACCTGG
2551 AAGCAATGTT TGTAGGGCTG CTGGCATCT GGTTCCTGT GGTGTTGTT
2601 AGCTTGAGC GGGGGGAAA TGGGTTTG TTTTGTGA GAGGGAGGC
2651 GTCTTGAGC AGATGTAGT GGAGGCGCT GGGATGCT ATCATGAGA
2701 GGCCTGATC CTATCTATCT CTTCCCGTG CTTCAGGCG AACTTGGAG
2751 AAGCTCAAGA GGGAGGATT GACTGCAGA CTTGGGATC CTGCATAAT
2801 CTGAGTTCA AGATCTCTG CTTTGGGCG CTGGGCGCT ATGATGAT
2851 CAGAAAGGG AGATGAGAG AGAGAGAGA GAGAGGAG AGAGAGAG
2901 AGAGAGAGA CAGAGGAG AGAGAGAGA GAAGAGAG AGAGAGAGA
2951 GAGAGAGAG AGAGAGAG CACTCTTCA CTGAGTGG CCAATGCGCT
3001 CTGGAAATA ACTTGGAGC ACTTGGGCT GGTCTGAG TGTGAGTA
3051 TACTGTAGT GGGCTAGA CTTTTCAC CTGGGCTGA AGTTGAGGC
3101 AACTTGGCT GACTCTCTG CTGAGTGG AGCCTGGCG AACTTGGCA
3151 GACTTGGCA CCGCTGAGC CTGAGGCT TGTATGAT GAGGCTGCG
3201 TGTCTATAC TACTTCTCT GGGAGGAG ATTCCTGTG CTAAAGAGC
3251 ATTCAGTTC GATTTGAGA ATCAATGTC GTAGAGAG CAGTGGCAA
3301 CAGAAATGG GGTGCTGCT CCGCATTC TCACTAGA TCTCATGAC
3351 CTCTTCACT GCGCTGGCC CAGTCCGAG GCAATTC

【 図 9 B - 1 】

B

hoht33
hoHT.vAf.33a.配列 長さ: 3387
Lymphom HSB+TEA, Templiphi-RCA
PCR-プライマー-HLF1+Hr4 60°C
ベクター-pCR2.1

1 AATTCGCTGC GGACTGGCG AGTGCAGCTC AGGTGAGCT GACACAGGG
51 TGAATGARS GGCAGATAC CCCAGCAGG CCTGAGDCA GAACACAGA
101 TAGGCTGGCT CTGATGGGTG GAGGAGTGG CCAGGCATCA TCTGAGCTT
151 GGAATGAGA ACATCTGTA CTCTCTCTC AGGAGGGTC TCTGAGGTT
201 GAGAGATCC TAGGTAGAG CATACATTA CCCCCATCT AGTTCCTCC
251 AGCCTCTCT TTGAGTCCA GGTCTACTT AAGGACCTA GGACAGCTG
301 CTGGGGCAT DACAGACTT GGTTTATCT AAAGCAGCTC GGAAGAGAT
351 GAGATACAG AGGGTCCA GAGAGAGAG AGAGAGAGA GAACCTGCA
401 GAGAGATCC CTGAGCATC CACTAGCCC TGATCTTTC CTGCTGCTC
451 GTGCTTCC ATCCGCTCT CTGCTCTCT AATCTCTCC TCCAGAAAT
501 TTGCTGATA TTGAAATAG GAGGATAGA AGCAGCTGC GTGAGCTCT
551 GGGCTGGCT GTGAGGAG TTCTAGTGG TGGTTGCTA GCTCCAAAG
601 ATGACCTCC ATTAGCATG CTCTGGTGG TTGTGCTCA GGTACTCTA
651 TCCATCTFG AGTCTGGCT TCCCTGTA CTCACTTAA CCAAGAGAT
701 GTGGCAGAA GAGATGTC CAGCTTAG AACATGCT CCAAGAGAT
751 TAGCAGCTC TGTCTTAG AGCAGTGG CCGCTTTTA GAGTCTCAT
801 TTTACTCT GCTGTGAGA CTAGCAGAT TAGAAATGA CCGTAGATG
851 CTCTCTGAG GACTATGGA GAGGCGAT GATAAGAGC GCTCAACT
901 ACATGAGAT AGAGGGCAG CCGCCAGC ACCAGGCTC AGTGTGCT
951 CCGCAGCAT CTGCGAGTC CCGAGGCT ATGATGAG CACTTGTAT
1001 GTCCTACTC GGTGAGGCG CAGGTGAT GAGCCTTAG CAGCAGCTG
1051 ACTGTAGCT CATGAGGCG CCGCAGTGG ACCAGGAGA CCGCAGCT
1101 GAGCCTGCC CADEACAGA ACTGTGAGA ATAAAAAT GGTGTCTCC
1151 TTAAGCAAT AAGTTTGA ATGATTTCT ACTGAAAT GATACTGAT
1201 ACATCTGCT TTAGGAAA ACAAGGATA ACTTGGCT CAGGCTCT
1251 TCTATGAT GATGAGACT TGTGCTGA CAGTCTACA AGTTGAGCA
1301 TGAATCTCT TTTTCTTT GAGAGAGAA TTTTCTCT GTATCCAGG
1351 CTGAATACA GTGCTGAT CTGCGCCA GGCAGCTCT GCTCTGGG
1401 TCAAGCAAT TCTCTGCT CAGCCTGAG AGTACTGG ATTAGAGCA
1451 CCGACATCA CACTGGCT TTTTCTTT TGTATTTT ATAGAGCA
1501 GGTTFCTAT ATCTGGCT GGTGAGTT TGAATCTG AUCTAGGTC
1551 ATCCAGCTG CTGGCTCC TAAATGCT GATAGAGG TGTGAGCAC

【 図 9 C 】

C

hoht22
hoHT.vAf.22a.配列 長さ: 1790
Lymphom HSB+TEA, Templiphi-RCA
PCR-プライマー-HLF1+Hr4 60°C
ベクター-pCR2.1

1 CAATCTGCT GGACTGGCG AGTGTGAGA AAGAGAGC AAGTCAAT
51 CAGGACATC ACAGCAGAG CCGCAAACT GGAAGAGGA GGAAGAGAA
101 TGAGCAGCT TSACACTAG TCCATCTAG TTCTATGAC AAGAGAGAG
151 ACATGCTCT GACTCTCC ACAGAGATG ACCGTGAG GGTGTGAGC
201 AGATCTCT CACTATTGC AGCTCTGAG TGAATGAT GTGCTGCC
251 AGGTATGCC GGTGAGCTA AAGCAAGCA CTTCCCTGA CACTTAGGT
301 GTCTCTGAT CAGCAGCTC GAGAGAGCA CTCCAGGAA ATCTCTGCT
351 GCGATCTCA AGCCCAAT ACAGGAGAT ACAAGGCAAT CTCTGGCTG
401 CCGATGAGG ACTGCGCTC CCGCAGGCA CTTAGAGAC AGCAGCTCT
451 CAGCAGCTT CTGAGAGAG CTGAGCTEA GAATCTCA CCGAGGAGC
501 CCGAGCTGA TAGAAGAGA CCGCAATFG CACTCTAAT CCGTGGCTC
551 CTATTCTAG ACCCTCTAC TGGGTCTAG CTGAGAGCC ACTTTAGGC
601 AAGATCTTT AGTTGAGT TCTCTGAGT GAGGGATCC CTCCCTGCG
651 TTGCTGCTG TGTGCTATC ATTAATCTC CAGCAGCTC TACTAGGAG
701 GGGAGAAAG GAGCCTGG GAGCAGGAG TTTTCTCT TGTCTTCTC
751 TTGCTTGG CTAGAGAGG GAAAACTCT GGTGTGTTT AGTTGATCC
801 CCGTCTTCA GTGACACAG GACAGTAGC GAGTGAATC ATATGATTC
851 TTAGCAGGA GCTGACAGT CTTGAGAAC ATAGAAACA TAGAGGTTT
901 GAGTGAAGS ATGAGATGT AATTAGAGT TCTTTTGA GCAAAAGCA
951 CCGAGAGGA GTAGGAGCA GTTCTGAG GCGCAGCTA GAGATGAGA
1001 CAGCCTCTT CACTATGCG ACAGTGTGG GTAGGAGC CATTGAGGG
1051 GAGCTTCA AGTATGAGT CCGTCTTGA GAGGAGCA TCACTAGGA
1101 CAATGGCTC TGAGCCTGG CCAATGAG GATTTCTGG GGTGAGATC
1151 GCGCAGGAG ACCGCGGCTG CCGAGAGAG AATTTGATC CATGAGGCT
1201 CAGTATGTA TCAACAGG TGCCAGGAG GCGTGGAT AGGACTTCA
1251 CTGGGCTCG ACCTCTCT CCGCATYCA CAGCAGCTA GCGCAATG
1301 GATTCAGAT CTACAGGGA ACACAGGAG CTYCATYCA TCCATCAT
1351 GAGTCAAGA ATCTAGGTA AGTTCAGC TCAAGGATC TCTATGAA
1401 CTAGCTCAG TAGGAGGCA GTACCTTTC CATATGATA CAUACTAGC
1451 TTTACTAGS TGAAGTAG ACTATAGC TACTCTGCC AGTCTATAG
1501 GTCCTACTT TTGGGAGC CACTCTGAC CCACTGAT GATAGGAA
1551 TGTATGCC ACTCCGCT TGGTACCA GAGATGAG CTCTGAGCT
1601 CAGATGGA GCGCAGAG CCGCTTCA TCAAGAGAT GGTCTATCT
1651 GGAATGAG TCCAGACT CCGAGATGG CAGGATGAG GTCCAGAT
1701 GATTAGGAG ACCCGAGG CTCTCTGA GCGCATGAT AAGATATTT
1751 TCTGACACT TGAAGAGCA TCCAGTCC GAGGATAG

【 図 1 0 】

Figure 10

DhDi:
 t3pb-1, 起点 長さ: 18 長- p e r プライマー-順方向
 1 caattcgggc acgggact

t3pb-2, 起点 長さ: 24 長- p e r プライマー-逆方向
 1 ccccttgact tcgggtgtga aact

cd:
 t t h 4 p r i m e 1. 配列 長さ: 28 長- p e r プライマー-順方向 起点2と逆並行
 1 CAGCGAGAAC GCCACGGAGG GAGATCCT

t t h 4 p r i m e 2. 配列 長さ: 28 長- p e r プライマー-逆方向 起点1と逆並行
 1 CGGACGGCG TGGAATACT AGCCATTC

Dfdg:
 hel32-1, 起点 長さ: 18 長- p e r プライマー-順方向
 1 cgggactggc cgggctat

hel32-2, 起点 長さ: 19 長- p e r プライマー-逆方向
 1 agcccgaatt gcccccttga

【 図 1 1 A - 1 】

Figure 11

A

ttgb33.35
 g b D h D i 3 3 . 3 5. 配列 (m s - バイオプシーからの完全なゲノム)
 長: p e r, Templphi
 プライマー: T3PB 1 + T3PB 2 アニユリング: 6.5℃
 ベクター: TA-クローニング pCR2.1 invitrogen

長さ: 3725

```

1  ATTTTSPGCA GCGCGCAAT TCTGTTCAA ACAGACCAAT CAGGACCTTC
51  TAGCTCCACT TCTTGGGCGG TGTCTACGAG GTCTATATPA GCAACAGGCG
101  TGAGCAATGG TAGAGTTTT CTTCGCGCGT CCGCGGCGAG AGCGGAGCGG
151  AAGCGAGCGA TGGAGGTCC CCGCGGCGGG TCGCTTAGGT GAGTITMAGC
201  ACGGACTCA AGGCGCANT CCGGACGCGG ACTCGCGCGG CTATGGCGAA
251  GCGCTTAAA AAGTTCGCC CCGCTGCTCT CCGGACGGAC ACAAGTICAT
301  GCGCTGGGAC CCGCGGCTCC ATAGCTGCC AGGTAGAGAG AATCAATGTT
351  TTCCAGGCTT CTTTACGGT CATGGTCTT TCTCGGGGTG TCGTAGCCCT
401  GTTGGGCTC TTAACGGAT TCGCTCTCC TTCTCTAAG CCGGTCCAGC
451  GAGACCTCAT CCGGCGTAG ACCAGCTTAA TCGCGGGGCG CCGGACGCTC
501  CCGGAGGCGC CCGCGGCACT TTCCGACTC TCGCGGGGCG GCGACGCTCT
551  GAGCGGCGAC CAGCGGCTGG TCGTGGGGCA GATGAGGGCG CCGCGGCTGG
601  GCGCGGCGCC GCGCGGAGCC ATACCGGGTA CAGAGAGGA GAGCTAGAGG
651  ATCTTTTGG CCGCGGCGCC GAGGACGATA TGTAGTAGG CCGAGGCGCG
701  CGCGCTACTA CAGCGGCGAG CTGAGCGGG GCGAGACGAG AGGGGAGGGA
751  AAGGACGACA GAGGACTCT AGTAGTGGG CAGTGGCAC CTGAGCTTGT
801  TAAAGGTTT AAGTAGGAG GATGGTCCG TCTTATAAT TGTGGCTGCG
851  GAGGACGACA GATGACTTT ATACTGACA TGGAGATAC TCGGCTATGG
901  GGATACAGCT ACGGGGCGAA CTTTGTAAAT GTACTTCCA GTCTAGAGAG
951  CATCTATGAA CAATTCCTGT ACCACAGAA CAGGTGGTCC AGGCTTAAAC
1001  ATGACTTACA CCGCGGCGAG TACCAAGGAA CCACTTAAA ACTTTACAGA
1051  CAGCAAGCGG TGGACTATAI AGTAGTAGC AACAGACAG GCGGCTTTAC
1101  TATAAGTAAA ATGACTTACA TGAGGACACA CCGGCTCTC ATGCTACTAC
1151  AAAAACTAG AATAGTTGTA CCGAGCTCA GAACCAAGCG ABAAGGCAAA
1201  AGAGCCATAA AARTTAGAAT AAGGGCGGCA AAGCTAATG TCGCAAGGTT
1251  GTACTTACA AAGGACTTT CCGGCTGGG CCGCTTTCAA CTATGGCGAA
1301  CAGCTGCGAG ACTTACAAA CCGGCTGCA GAGGACGAG ABAAGGCGCA
1351  GAAATGCTT CCGAGTCTT AAAAAAGAG TTATACACAT GCGCTTCCAA
1401  CTTAAGAGCG CAGGCAATC AAGCTAAG AGAGGCTGA CAAATAGAT
  
```

【 図 1 1 A - 2 】

```

1451  TACACCGAGA AAGCTTACT GCGACAGAG CTATGCTTAA AGGCTGGGAA
1501  TACACATACA CAARACTAAT GCGATCTCA TACTATCTAG CCAAGAGAAA
1551  CAGGACCTAC AACTGGGAAA ACTATCAAG TAACATGCA AACACATA
1601  CAAAATTAAA AGAAAAAGA ACAGCAACT TAACTTAAT TAAAGCAGAA
1651  TACGTATATC ATTACCTTAA CAATGCTACA CAATCTGACT TTAATATAGA
1701  CTACACACTA ACAGCGACT GGGCATATA CAGCGCTTAC TACTATAGC
1751  CCGCCAGAAT TAGCGTAGC TGGGACGAC CATGGACATA TGTAAAGTAC
1801  AACCCACTAT CAGCAAAAGG CATTAGTAC AATATATAG CAGCTGGTGG
1851  CTGCAAAA TCTAGTAAT TTAGCACCG AAGAGGAGG TGCATACTAA
1901  GAGACTTCCC ACTGTGGGCG ATGCGCTATG CCACTCTCA CCGGCTGGTG
1951  AAGTCCACAG GAGCTGCGG TCGTGGGALA GAGATGAGAA TAGGCTATAT
2001  ATGTCCCTAC ACAGAACCG CACTTATAG GTCAACAGAA GAGCTAGGCT
2051  TCAATCCAGT AAGTAGACCC TTTCGAAAG GAGACATGCC GTTCTTGCA
2101  CCATACATAC CTATTACAG GTGGATTAG TGTACCGCA TGAATTACACA
2151  CCAAAAGGAA GTTCTTGGG CAATAGTAA CTGTGAGCG TTTGTACCC
2201  GAGGCGAAGC TTCCCGAGCT TGGAAATAC CATGGGTAC AAAATGAT
2251  GGAATGGGG CCGGCTCCC CTGCTTCC AGGCAATGGA CGACCCCTCC
2301  CAGAACTCCA CCGCAAGACT TCCGAGGCC GATAGACGCC CTGCGATGTT
2351  ACAAGTCTY GAGCGGAGAA AGCTCGGACC GAAGCAGTT TTTCAAAAT
2401  GGGACTGGAG ACGTGGGATG CTTAGCAAAA GAGTATTTA AAGGATCCAA
2451  GAGACTCAA CAGCGATCA ATATGTTGCA GAACCTTAC CAAGAAAAG
2501  AAACAGTTC GATAGCTGAG TCGAAGGCG TCGAACCCCA GMAAAGAAA
2551  GTTACACTT ACTTCAAGC CTCAAGACT CCGGCGAAGA GAGGACTCA
2601  GAGGACCCAG AACAGGCC CAGAAAATA GAGGACCGAA AGGAAGGCTC
2651  CATGGAGCAG CTCGAGCTCC AGAAACGACA CCGCGAGTCT CTCAGGCGAG
2701  GCGTCAACT CCGCTCGGA GAGCTGCTCC GACTCGGAG AGGAGTCCAG
2751  TGGGACCCCG TCGTGTCTA ATTCAGGCT CAGATATCC AGACTGCTC
2801  TTCCCTTACA CAGAAAATAA AAGCGATTT TCGAATGAG ACTGGGTTGG
2851  CAGTACAGG CTGGCCAAAT GAGTAGTCC GCGCTTGGG CACTACCCAT
2901  CAGACCCCCC TCACTACCCC TGGTATACAA AAGGCCCTCC TACDCCCTCT
2951  AATATAGAG TAAATTTAAA ATTAAGCTC AATGACTAAA ATTCAGGCC
3001  GTGGGTGTTT CAGTTATAG GTCTTACTCT CTAAAGTCA CTAGGACTCT
3051  CAGGCTAAG CAGGAGTGC GAGCCCGCT CCGGATGACA ACTTCTCGG
3101  GGTCCGCGCG TACGCTTGG CCGCGCGGCG GCGCTGCGGA CCGDCCCTCG
3151  ACCCGAATCG CTGCGGCTT TCGAGACTCC GCGCTCGGGG GGTTCGGGG
3201  CTTACTTAAA CAGACTCTGA GGTCCCGTTC CAGACTGAGG GGTGAAACAG
3251  CAAGCAAGT GAGTGGGCG AACTTGGCC ATAGGCGCTT TAACTTTGGG
3301  TCGCTGTGCA CGAGCTTGG GGTCCCGCTC GAGGCGCGCA TTTTACTTC
3351  GCGCGGCTAT TTAGGCGCTC GCGGCGCTCC ATAGTGGCAC AATAGTGAAG
  
```

【 図 1 1 A - 3 】

```

3401  TCAAGGAGG CATCTGGCT GTAGCGTAA CCGTACGCG GAGGAGCGG
3451  CTCTAAGCGG GAGTCTATCC TCACTACGCG ACTGAGCTC AGGCGCGCA
3501  TTTTGTGCTG TCGGCGTCT TGTGACTCC TTCCGTTTT TGTAAAAAA
3551  AGAGGAAGTG TCGGCTAGCG CCGGCGGCGG annnnnnnn nnnnnnnCG
3601  CAGCAGGGGG CCGTACGCGG CCGGCGCGCG GATGTGCGG GTCCCGCCC
3651  TCGGGGGGGG CTCGCGCGCG CCGGCGCGCG CCGGCGTAA ATAGCGCGG
3701  CATGCGGCGC CAGCGCGCG CCGCG
  
```

【 図 1 1 B 】

B

zpr4.20
 zpr4.20, 配列 (サブウイルス分子, ttgb33.35)
 2937T +4 (gbDhD33.35) PCR
 T9.7 A/9ネズメッド B5
 in pCR2.1, Nova Blue

zpr4.25.20, 配列 長さ: 719

```

1  CAATTCGGCG ACGGGACTGG CCGGCTATG GCGAGGCTC TTAATAAATT
51  CCGCGGCTCT GCTTCCGCG AGGACAGAAA GTCATCCGCT GCGACCGCGC
101  GGTCCATACG CTCGCGAGTA GAGGATACA ATGGTTTCCA GCGTCTTTC
151  ACGGTCATGG TCGTTCTGG GGGTGGGCG ACCCTGTTGG GCATCTTAC
201  GCGATGCTCT CTCGCTTCC TTAGCGCGCG CCGCGGAGAC CAGCTCCAGG
251  CCGTAGCCAG CTTAATCCCG AGGCGCGCGG ACCCTCCGGA GCGCGCGCGG
301  CAGCTTTCGG AGCTCTGCGG GCGGCGGAG ACCCTGAAAC GCGACCAAGG
351  CCGTGGTGGG GGGGAGTGG AGGCGCGCGG CCGGCGGCGG CCGCGCGCGG
401  AGGCAATAG GGTAGCAGAG AAGGAGACT CCGGCGGCGG TCGCGCGCGG
451  GCGCGCGCGG CCGGCGTAAA TACACCGCGG ATGCGCGCGG ACGCGCGCGG
501  CCGCATTTTG TCGAGCGCGG CAATTTCTGT TCAACAGAAC CAATCAGGAG
551  CTCTCTAGTG CACTTCTGGG GCGGCTCTCA CAGGCTCAT ATAGGACAAA
601  CCGGTCAGCA ATGATAGAGT TTTTCTCGG CCGTCCGCGG CAGAGCGGGG
651  AGGCAAGCG GCGTGGCGG GTCCGCTGGG CCGGCGGCTT ACCTCAAGTT
701  ACACACCGAA GTCAGGCGG
  
```

【 図 1 2 A - 1 】

Figure 12

A

tth25 (完全なゲノム)
長さ 3758

1 AAGTACGTC ACTNACCAG TGAGYCCAC AG60CAACCA CAGTCTACGT
51 GTGCACTCC TGGCAGTGT CTACATCATA ATATAGAAC GTGCACTCC
101 GAATGGTGA GTTTCAGAG CCCTGACAG GAGAGACGC CAGGAGGGA
151 GATCTGGGG TCGGAGGCG GGGTCCGGA GGTGATTTA CACACCCAG
201 TCARGGGCA ATTGGGCTC GGGAGTGGC GGGCCCGGG CAGGCTCTT
251 AAAAATGGG TTTCGAGGG GTTCCGCGA AAGGAAAGT GCTTTTGCA
301 ACTGTCCCG CTGCAAGLA GGTATGGCG CTTCATGTA TGGTGGAGC
351 CCCCAGCCG AATGTCCGG GCATCGAGG AACTGGTAC GAGAGCTTT
401 TTAGATCCA GGTGTGTTT TGTGGCTGT GCGATTTGT TGGCATCTT
451 AATGATCTG CACTACTCT GGTGTCTCT CCGGCTCTG GGGCCGAGG
501 GGGAGCCCG AGCCGCGAA TTAGAACCT GCGAGGCTC CCGGCGCCC
551 AGCGGAGCG GCGTACAGA CCGCATGCG ATGGGCTTC TGGGCGGAG
601 GCGCCGGTG GAGAGATGG AGAGCGGCG GCGAGGCTG GAGACCGCG
651 AGAGTAGGA GAGAGCCCG TACTCGCCG TTGAGGCTC GTGAGAGAT
701 AAGGAGGCG GCGGAGGCT GCGGAGGCG CTACAGAAA TGGGAGCGG
751 GGNAGCCCG AGCGACTAT AGAAAAAGA TAGTCTTAA ACGTGGGCA
801 CCAAACTTA TTAGGCGCG CTAGCTGTA GGTACTTAC CACTATATAT
851 CTGGGCGAA AATGACAGC CCGCAGACT TGCACATAC TCGGACGCA
901 TGTATGCAA AGGACGCTG GGGGCGGCA TGCATCCGC CAATTCACT
951 AGAGATAC TGTACAGCA GTTACAGCG TTATGAATC TTGAGACTT
1001 CAGTAGGGA GCGCTAGAG TGTGTAGTA GGTGGCTCG AACTATATAT
1051 TTTTAAACA CCGCAGGCT GACTTTATG TACAGTAAA CACTCAGCT
1101 CTTTCTTAG ACAGGCACT CAGCGGGCG AGCATACAC CCGGATCAT
1151 GATGCTGCG AAGAGCACA TACTATACG CTCTTAAGG ACCCGCGCA
1201 GAGAAACA CAGGCTGCT GTCAGGCTG GCGCCGAGG ACTTTTCAG
1251 GAGAGTGT ACCCGCTC AGGCTGTGT GACAGGCTG TGTCTTCAT
1301 ATTGCAAC CCGTGCATC TGCATATCC GTTCCGCTA CCACTAGTG
1351 ACACCCCTG GGTCAACTC CAGATCTCG GCGCCGCGA CAAAAAGAC
1401 CTGTATATA GCTGACTAT GGTCAACTC AAGCAAAAC ATATATAGA
1451 AACTTACTT AAGAACTGT AACTATAGA CACTTTTCA ACCATAGTC
1501 AGCTTAAAG CAGAGGACG ATTTCAGCA TGTACTTAC TGGAAATGA
1551 GTGAGAAAT CACACACCT TACTAAGGA GGTGCAATG CCGTCAAG
1601 TAGAGACTT TGTATTAAG GAATACATA CAGCAGAG ATATGGAGT

【 図 1 2 A - 2 】

1651 TAGCAGAAAT AAGCAGAAC AGATTAARA ATGCAACCA AGGAGCATA
1701 CCAACTACC CCACTAAT ATGCGACAGC CTATATGAT ACGACTCAGG
1751 CATGACTCC AGCATATAT TATCGCTGG CAGAGCTAC TTGCAACCA
1801 CCGGGCTTA CTCGCACTT ATATACACC CTTTACAGA CAAGGCGCA
1851 GCGACATAA TGTGATGTA CTACTCACA AAGAGAGCA CCAATTTGT
1901 GAAACAGAA AGCAATGGG AGATATGGA CATGCCCTG TGGCGGGCT
1951 GCACAGATA CACAGATTT TGTCAAGAT ATAGAGGGA CTTGCGCAT
2001 ATCTCANTG CAGATATCT CHTAGATGC CGATACATG AGCCATGTT
2051 AATAGCCAC TCAGGCCAA ACAAAAGCT CGTTCCTAC TCATTTAAT
2101 TTGCAACGG AAGATGCTT GAGGGAGCT CCAAGCTGC CATAGAAAT
2151 AGAGCCAGT GGTAGTGRA CHTATTCCG CAAAAAGAG TATTAGAGG
2201 CATATAGAG TCGGAGCGT TTGGTACAA GGGCGACATA AGATAGCTG
2251 TACTAGCAT GAAATACGA TTTCACTGA AGTGGGGCG AAACTTATA
2301 TCGAAGCGG TGTGAGGAA TCCCTGCTC AACTCAGCT CCGCCGCGC
2351 CCAATAGGA CCGCGAGCG TACAGCGGT TGACCCGAA TACAATACC
2401 CAGAGGTCG GTGGACCTG TGGACATA GAGGAGCAT CTTTGGCAA
2451 CCGATATTA AAGAAATGA ACAGATGCA GATGCTCTT ACATTCCTC
2501 AGCAACTC AAGAGCTC CAGGAGGAG CAAGCCGCA GACCCAGAG
2551 AGCAAGGGA AAGCTAGCT TTAGAGTGC AGCAGGACT CCGTGGGTC
2601 CACTCCAGC AAGAGCGGA AAGCTCCAA GAGAGAGCG AGCGCAGG
2651 GTGGTACA GACCACTAC TCTCCAGCT CCGAGAGCG AGATTTCTC
2701 GACTGAGCT CAGGACTCG GCAACCGAG TCTTAAAGT CCAAGAGGG
2751 CAGAGCTAC ACCCCATAT ATCTTCCGA GCATAAACA AGCTTTATG
2801 TTGAGGCGC AGGTGCTAA ACCCATACG GGTAGACAG ACTGGTAGA
2851 AAGTACACT GCTTCAAA TCTGGAGAG ACCCCCGAA AAGTACACA
2901 CAGACTAGC CTTTACCGC TGGGACCAA ACCCCCAAC GCAAGTCAG
2951 GTCTCTTA AACTCACTT TCAATAAA TTTAGGCGC TGGGATTTG
3001 ACTTGTGCT GTCTGCTCT TTAGCTGCG AAGCACTCG AGCGGCGG
3051 AAGAGTGGG CCGCCCTCG GGTAGACAG CTTTGGAGC CCGCGCTAC
3101 GCGTGGCT GGGCGGCGA CCGCAGGCG CCGCTCCAG CBAACCTTT
3151 GCGGTTGCG GACTTGGCG GCGCGGGCG TGGGAGCTT TATTACAG
3201 ACTCCAGCT GCAATGAGC ACTGGAGCT TGAATAGTA AGCAAGTGA
3251 GTGGGCGAG ACTTGGCAT AGGGCTTTA TCTTCTGCG ATGGATAG
3301 GTCCGGGTC GCGTAGGCT TCGGCTGCT TTTTAGGCT TCGGACTAG
3351 AAAAAAGG GTTTTAGTA CCGCAGGCG GCAATTTAA GTAGGCGGA
3401 AGCAGTCAA TTTTTCACA AATGGGCGC GAGCACTTC CCGCTGCC
3451 AAAAAAGG CCAAGCTTT CCGGTAAG GGTGAGAGC TACTGACAA
3501 GTACCTGAC TGGGAGGCG TCACACCCC GAGCCCTCC CAGTACAGT
3551 GGTGTTCAC GTGTTGCTA CCGTACGCG GCACTTGT CTGGCAAAAT

【 図 1 2 A - 3 】

3601 GCGGAGAAC TCGGCTTTT TTAJAJAAG GCGGAAAAA ACGCGGCGG
3651 GCGCGGCGC GCTGTGCGG CCGCCGCGG GCGCCGCGC GCGCCGCGC
3701 GCGGCGATG CCGGTTCCG CCGCCGCGG GCGGCTCGG CCGCGGCGC
3751 CCGCCGCG

【 図 1 2 B 】

B

zpr9.6

zpr9.B1.6.配列 (サブウイルス分子 , tth25)
293TT+9(tth25mfr3)PCR
Tr11.8 C/6
In pCR2.1,ONESHOT Topo10P'

zpr9.B1.6.配列

長さ: 621
1 CCGCAGCGG AAGCGACGG AGGGAGTCC TCGGTCGCG AGGGGGGTT
51 CCGAGGTTG GTTACACAC CCGACTCAG GGCAGATTC GGCTCGGAC
101 TGGCGGGCC CCGCGAGG CICTIAAAA ATGCGTTTC CAGGCTTTC
151 CCGAAGAGG AAGTGTCTT TGCARACTT GCGAGTCCA AAGAAAGCTA
201 GCGGCTTCT AGTATGTGG CAGCCCGCA CCGCAATGT CCGGGGATC
251 GAGAGAACT GGTACGAGG CIGTTTTGA TCCACGCTG CTGTTGTGG
301 CTGTGCGAT TTTTGTGCG ATCTATAGA TCTGGCACT AGTCTGGCTC
351 GTCTTCGCG TCTTGGGCG CCGAGCGGAC CCGCGAGCC GCAAAATGA
401 AACTGCGCG CCGTCCGCG GCCCGAGGC GAGCCGCGT ACAGAGGCG
451 ATGGCATGG GCTTCTGGG CCGAGCGCC CCGTGGAGC GATGGAGAC
501 GCGCGCAGA CCGTGGAGC CCGCGAGCC AACCAAGTC TACGTGCTG
551 ACTTCTGGG CATGGTAC ATCATANTT AAGCACTGC ACTTCCGAT
601 GCGTGGTTT TCCAGCGCCG C
651 AGCBAAGCA GCGATGAGC GTCCGCTGG CCGGTGCGT AGGTGATTT
701 ACACCGGAA GTCAAGGG

【 図 1 3 A - 1 】

Figure 13

A

tth215
rheu.cd.215.配列
Genomphi tth4-ブライマー
アミノリンク78*5からなる14qポリメラーゼ (prog.tth4*78)
ベクター:TA クロノベック pcr2.1 inv:trogen

rheu.cd.215r.配列 長さ: 3758

1 AAGTACGTC ACTNACCAG TGAGYCCAC AG60CAACCA CAGTCTACGT
51 GCGTCACTC CTGGCAGTG TCTACATAT AATAIACA GCGCACTTC
101 GCAATGGTG AGTTTTCAC CCGGCTCCG AGCGAGAGC CCGAGAGGG
151 AGATCTGCG GTGGCGAGG CCGGTCCCG AGGTGATTT ACACCGCA
201 GTCAAGGGG AATTCGGCT CCGGACTCC CCGGCTGCG CAGAGCTCT
251 TAAAAATGC GCTTTCGAG GGTTCGGAG AAAAGAAAG TCGTCTGCA
301 AACTCTGCG ACTCCAGC AGGCTAGCG GCTTCTAGT ATGCGGAGC
351 CCGCCCGCA CAATGTCGC GCGATCGGA GAACCTGTA CAGAGCTTC
401 TTAGCTCTC AGCGCTGCT TTTGGCTGT GCGGACTTG TGGCCATAT
451 TAATCATTT GCAACTACT TGGGCTTCC TCGGCTCTT GCGCCCGAG
501 CCGGACCGG CAGCGCGCA ATAGAAACC TCGCAGGCT CCGGGCGCC
551 CAGCGGAGC CCGTACAGC AGCCCATTC GGTGGGCTT TCGGCGCGA
601 CCGCGCGGT GAGAGGCTG GAGGCGCGC CCGCAGGCT CAGAGCGCG
651 GAGAGTAGG AGAGAGGCG CTGCTGCCG CTTTGCAGCT CCGGAGAGG
701 TAAGGAGAG CCGGGGAGG TGGCGAGAC GCTACAGAA ATGCGAGCG
751 CCGCAGCGA GAGGACTCA CAGAAAGAG ATATTTATA AAGGCTGCA
801 AATAACTTT ATTAGAGCT GCTCATAT ATAGAGCTA CCGTCTGTT
851 TCTTGGCGA AATACAGC CCGCAGACT ATGCACTCA CCGAGCAT
901 ATGTAACA AAGACCTTA CCGGGGCGC ATGACTACA CBAATCTAC
951 TGTAGATA CTGTACAGC AGTTACAGC GTTATGAC TTTGGACTG
1001 TCAATAGCA AGACTAGC CTGTATAT ACCTGGCTG CAAACTGAT
1051 TTTTAAACA ACGGCTGCT GCACTTATG GTACATGTA ACAGTACGC
1101 TCTTCTTAA GACAGAGCG TCGCCGCGC CAGCATAGC CCGGCGTCA
1151 TGTGCTCAG CAGAGAGCG ATATTATAC CCGTCTTAA GCGCGCGCC
1201 AGCBAAGCA ACGGCTGCT CCGTGGCTG GCGCCCGCA GACTTTTCA
1251 GAGCAGTGG TACCGGCTG CAGACTATG TGACAGAT TCTGTTTCA
1301 TATTGGAAC CCGCCGAGC TTGCAATAC CCGTGGCTG ACCTATAT
1351 GACACCGCT GCGTCACTT CCGATGCTG GCGCCGAGT CAAAAAGA
1401 CCGTATAT AGCTCACTA TCGATGATC TACAAAGAC CACTATAGA
1451 GCACTTAT TATTAAGT GCACTATACA ACCTTTTCA ACGTATGCC

【 図 1 3 A - 2 】

1501 CCGTTAAG AGACAGGACA AACTGCAAC ATTAGTCCAA GTTGGAGTA
1551 AGTCAAAAC ACAAACTAC TAGATCACAC AGGTGCTAAT GCAACTGCCA
1601 GCAGAGCAC TTGGTACAG GGAACACAT ACATAGACTA CATGACAGAA
1651 TTACGAGACA AAACAGAGAA AAGGTTAAA BAAGGACAAA TGTGAGCACT
1701 ACCAACTAC CCACAAATTA TGTCCAGACA CTATACGAAA TACCATCCAG
1751 GCATATACCT CAGCATATTT CTATGAGCTG CCAGGAGCTA CTTTGAAGCC
1801 ACPGGGGGCT ACTCTGACAT TATATACAC CCTTTGACAG ACAGAGGCAC
1851 AGGCAACATA ATCTGGATAG ACTATCTTAC AAAGAGGCAC ACAATCTTTC
1901 TAAAAACAAA AAGCAATGT GAGATATGG ACATGCCCT GTGGGGGGCC
1951 GGCAGAGGAT ACACAGGATT TTGTCAAGG TACACAGGAG ACTCTGGCAT
2001 TATTTACAT GCCAGATTC TCAATAGATG CCAATACACT GAACCCATGC
2051 TAATAGACCA CTCAGACCCA ACAAAAGCT TTGTACCTTA CTATTTAAG
2101 TTTGGCAAG GAAGATGCC GGGAGGACG TCCAACTGTC CCATAGAAAT
2151 GAGAGGCAAG TGTACGTTA ACATATTCG CAAAAGAAA GTATTGGAGA
2201 GCATAGTACA GTCCGGCCG TCCGGTACA GGGGAGCAT AATACAGCT
2251 GTACTGTCCA TGAATACAG RTTCTAGTG AATGGGGGG GAACCCCTAT
2301 ATCCAAAGAG GGTGTGAGA ATCCCTGCTT CAATCCAGC ACCTCGGGGG
2351 CCATAGAGG ACCTCGAGC GTACAGGGG TTAGCCGAAA ATACAAATAC
2401 CCAGACTCA CTTGGGACT GTGGGACTC AGACGGAGC TCTTGGCAA
2451 AGCAGGATT AAAAGATGC AACAGATCT AGATGCTCT TACTTCTCTC
2501 CAGGACACT CAAAGGGCT CCGAGAGACA CCACGCCCA AGACCCGAA
2551 AAGCAAAAG AAAGTACAG TTTCCGATC CAGCGGAGC TCCCGTGGT
2601 CCATCCAGC CAAGAGGAC AAATCCGCA AGAAGAGAG CAGGCGCAG
2651 GTGGGTACA AGACCAACT CTCTCTGAG TCCGAGACA GGGAGTACT
2701 GCACTCAGC TCCAGACT CCACCCAAA GTCTCAAG TCCAGAGG
2751 ACAGAGCTA CACCCCTAT TACTCTCCA AGCATAAA AAGCCATAT
2801 CTTTGAAGC CAGGCTGTA AAGCATACA GGGTACAC GATTGGCTAG
2851 AGGATACAC TGTGTGAGG TCCGGGACA GACCCGAGG AATGCTCAC
2901 ACAGACTAC CTTTTACCC CTTGGGACA AAACCCAGC ACCAGTACG
2951 GGTAACTTT AACTTCACT TCAATAAAA ATTCTAGGC GTGGACTTT
3001 CAGTGTGCG TGTGTGCTT TTAAGCTGC CAACCACTC GAGGCTGAG
3051 GAGGACTGC ACCCCGCCC TCCGTGAAA CCGTTCGGA CCGCGGCTC
3101 ACGCTTGGC CTTGGGGGG CACTTCAGC CCCCCTCCA CCGAAGCCF
3151 TTTGGGCTT CGGACCTTG GCGTGGGGG GGTGGGAGC TTTATTAAG
3201 AGACTCCAG TCGCATGAG ACATCCAGC TGTGATCAG TACGAAAGT
3251 GACTGGGAC AGACTTCGC ATAGGCTCT TACTTCTCG CCATTCGATA
3301 GTGTGGGGG TGGGGGAGG CTTGGGCTC GTTTTGAAG CTTGGGACT
3351 ACAAATATG CAGGATTTG CACTTCAGC CCGCAATTT AAGTAAGGG
3401 GAAGGACTC CACCTTCCA CATATAGAG CCGGACTT CCGGCTTCC

【 図 1 3 A - 3 】

3451 CCAAAATGC GGCAGGCTC TTCCGGTCA AAGTTGCA CTAAGCTAC
3501 AAGTACCTG ACTGGGAGG AGTACATCC CCGAAGTCT CCGCGCTAC
3551 GTGACTGAC AGCTGACTC TACTGATG AGCCATCTT GTGTACAAA
3601 ATGGGGTGC ACTTCCGCT TTTTAAAAA AGCGGCAAA AAACGGGGC
3651 GCGGGGGCC GCGTGGGCT CCGCGGGGG GGGGGCCCA CCGCCGGCC
3701 CCGGGGCTT GCAGGGGTC CCGCCCGAC GGGGGCTCC GCGCCGGCC
3751 CCGCCGCC

【 図 1 3 B 】

B

zpr12.24
zpr12.24, 配列 (サブウイルス分, ttrh215)
長さ : 642
1 CAGCGGAAAC GCCACGGAG GAGATCTCG CTTCCGAGG GCGGGTCCG
51 GAGTGTGAT TACACACCC AGTCAAGGG CAATCGGGC TCGGGACTGC
101 CCGGGCCCC GGCAGGCTC TTAATAAAT CCGTCTGCA GGTCTCTGA
151 GAAAAGGAA GTCTTCTCG AAATCTGCG ACCTACACG AAGACTAGC
201 GCTCTTAA GTCGCCACG GGCATGCTT ACATGCTCC GCAGCGAGAA
251 CCGCCAGAG GAGATCTCT GCGTCCGAG GCGGGTCC CAGGTGAGT
301 TTACACAGC CAGTCAAGG GCAATTCGG CTTGGGACTG CCGCCGCCCC
351 GCGCAAGCT CTTAATAAT GCGCTTCCG GGGGTGCTG AGAAAAGAA
401 AGTGTCTG CAACCTGTC GAGCTACCA GAAGACTAG CCGCTCTAG
451 GTATGTGCA GCGCCCGCT CACATGTC CCGGCACTT ATTAGTACT
501 TGGCTGTGA GATATGCGA GAGTCTCAG TGTACTTCC ACAGACTAT
551 GTGTCTCT TCGAGGGCC CCGAGGGCC ATGTCTACAT CATATATAA
601 TAAGGCGAC TCGCAATGC CTGATTTTC CAGCGGCTC CG

【 図 1 4 - 1 】

Figure 14

71ntのオープン・リーディング・フレーム (HCR) :

zyb2.1.pep RVPKVSLHTA VKGQFGLGTG RAM
zyb9.1.pep RVPKVSLHTA VKGQFGLGTG RAM
zkb69.1.pep RVPEVSLHTA VKGQFGLGTG RAM
zyb2.3.pep GABGEFTHRS QCAIRARDWP GYG
zyb9.3.pep GABGEFTHRS QCAIRARDWP GYG
zkb5.3.pep GAVGEFTHRS QCAIRARDWP GYG
zkb69.3.pep GABGEFTHRS QCAIRARDWP GYG

zyb2.1.pep

スクレオチド1 71
長さ: 23aa

RVPKVSLHTA VKGQFGLGTG RAM

zyb2.1.pepのBlastP2

データベース: uniprotと比較
>>>sp|tr|emb1:Q9WSW0_9VIRU Q9ws00 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 49 1e-04
>>>sp|tr|emb1:Q9WB09_9VIRU Q9wb09 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 48 4e-04
>>>sp|tr|emb1:Q9WSW2_9VIRU Q9ws02 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 48 4e-04
>>>sp|tr|emb1:Q9WSX0_9VIRU Q9wsx0 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 47 4e-04
>>>sp|tr|emb1:Q9WB10_9VIRU Q9wb10 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 47 5e-04
>>>sp|tr|emb1:Q9WA22_9VIRU Q9wa22 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 47 5e-04
>>>sp|tr|emb1:Q708G7_9VIRU Q70807 サブ名称: 全長=推定 ... 47 6e-04
>>>sp|tr|emb1:Q9WA14_9VIRU Q9wa14 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 47 7e-04
>>>sp|tr|emb1:Q9WB02_9VIRU Q9wb02 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 47 8e-04
>>>sp|tr|emb1:Q9WSW4_9VIRU Q9ws04 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 46 0.001
>>>sp|tr|emb1:Q9WB12_9VIRU Q9wb12 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 46 0.001
>>>sp|tr|emb1:Q9WSW6_9VIRU Q9ws06 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 45 0.002
>>>sp|tr|emb1:B3FWR6_9VIRU B3fwr6 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 46 0.94

>>>sp|tr|emb1:Q9WSW0_9VIRU Q9ws00 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片
断片 : 2/2010
長さ = 204
スコア=4.9, 3ビット (112), 閾値 = 1e-04, 方法: 組成マトリックス調整
同一性 = 23/23 (100%), 断片性 = 23/23 (100%)
クエリ: 1 RVPKVSLHTAVKQFGLGTGRAM 23
RVPKVSLHTAVKQFGLGTGRAM
対象: 27 RVPKVSLHTAVKQFGLGTGRAM 49

>>>sp|tr|emb1:Q9WB09_9VIRU Q9wb09 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片
断片 : 2/2010
長さ = 138
スコア=4.7, 8ビット (112), 閾値 = 4e-04, 方法: 組成マトリックス調整
同一性 = 22/23 (95%), 断片性 = 22/23 (95%)
クエリ: 1 RVPKVSLHTAVKQFGLGTGRAM 23
RVPKVSLHTAVKQFGLGTGRAM
対象: 14 RVPKVSLHTAVKQFGLGTGRAM 36

ID Q9WSW0_9VIRU 未レビュー: 204 AA.

【 図 1 4 - 2 】

AC Q9WSW0;
DT 1999年11月1日 Uniprot/KB/TrEMBLに組み込まれた
DT 1999年11月1日 配列バージョン1
DT 2010年2月9日 エントリーバージョン2.3
DE サブ名称: 全長
DE フラグ: 断片
OS トルカテノウイルス
OX ウイルス: ssDNAウイルス; アノウイルス科; 未分類アノウイルス科
NCBI_TaxID=68887;
RN [1]
RF スクレオチド配列
RC 番号: KC20511-12G; 組織=虫清;
RX メドライン=99335592; PubMed=10405352; DOI=10.1006/viro.1999.9797;
RA Hijikata M., Takahashi K., Mishiro S.;
RT "Complete circular DNA genome of a TT virus variant (isolate name SANBAN) and 44 partial ORF2 sequences implicating a great degree of
diversity beyond genotypes.";
RL Virology 260:17-22(1999).
CC -----
CC Copyrighted by the UniProt Consortium, see http://www.uniprot.org/terms
CC Distributed under the Creative Commons Attribution-NoDerivs License
CC -----
DR EMBL: AB024383; BAA77450.2; -, ゲノム_DNA
DR InterPro: IPR004118; Gyrovir_V2/TT_ORF2.
DR Pfam: PF02957; TT_ORF2; 1.
PE 4: 予測:
FT
FT NON_TER 1 1
SQ
配列 204 AA; 21953 MW; 6352C96D2AC0CF21 CRC64;
CTSGWLSFPR ESAAXPRRV IPASHRVRK VSLHTAVKQ FGLGTGRAM KALKVFLKM
HFSRISRKR KYLLPALPAP PPRQLLMQ PPIQNGTQLD RHWSEVWRS HAAYCGCCDC
VHGLQHLAAN LGRPPHPQPP RQHPPIQIRG LPALPAPPNS RHWSEVWRS AAGEAQGSR
GAGDGGDEL ADDLXDAAA LVES
ID Q9WB09_9VIRU 未レビュー: 138 AA.
AC Q9WB09;
DT 1999年11月1日 Uniprot/KB/TrEMBLに組み込まれた
DT 1999年11月1日 配列バージョン1
DT 2010年2月9日 エントリーバージョン2.2
DE サブ名称: 全長
DE フラグ: 断片
OS トルカテノウイルス
OX ウイルス: ssDNAウイルス; アノウイルス科; 未分類アノウイルス科
NCBI_TaxID=68887;
RN [1]
RF スクレオチド配列
RC 組織=虫清;
RX メドライン=99335592; PubMed=10405352; DOI=10.1006/viro.1999.9797;
RA Hijikata M., Takahashi K., Mishiro S.;
RT "Complete circular DNA genome of a TT virus variant (isolate name
SANBAN) and 44 partial ORF2 sequences implicating a great degree of
diversity beyond genotypes.";
RL Virology 260:17-22(1999).
CC -----
CC Copyrighted by the UniProt Consortium, see http://www.uniprot.org/terms
CC Distributed under the Creative Commons Attribution-NoDerivs License
CC -----
DR EMBL: AB024376; BAA77443.1; -, ゲノム_DNA
DR InterPro: IPR004118; Gyrovir_V2/TT_ORF2.
DR Pfam: PF02957; TT_ORF2; 1.
PE 4: 予測:
FT
FT NON_TER 1 1
FT NON_TER 138 138
SQ 配列 138 AA; 15494 MW; 2DF27B3A4F0CA641 CRC64;

【 図 1 4 - 3 】

AVKPRREISA SRGRVVKVSL HTEVKGQGL GTRAMGKAL KKSMEIGRHY RKRRLSLCA
 VRTTKACKL LIVMTFPRND DQYLWQWY SVLSSHAM GCGPDAIHL SHLAFVFRAP
 QNPPPGPQR NLPRLRLP

zyb2.3.pep
 スクレオナド3-71
 長さ: 23aa

GAEGETHRS QCAIRARDWP GYG

zyb2.3.pepのBlastP2 1から23
 データベース: uniprotと比較

>>>sp tr Q98Y39 Q98Y39 9VIRU Q98y39 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010 50 7e-05
>>>sp tr Q9WAY7 Q9WAY7 9VIRU Q9way7 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 50 7e-05
>>>sp tr Q766D4 Q766D4 9VIRU Q766d4 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010 50 9e-05
>>>sp tr Q70738 Q70738 9VIRU Q70738 サブ名称: 全長=ORF2, ORF1 遺伝子... 50 9e-05
>>>sp tr Q9JG33 Q9JG33 9VIRU Q9jg33 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010 50 9e-05
>>>sp tr Q90363 Q90363 9VIRU Q90363 サブ名称: 全長=ORF2 蛋白質; . 2/2010 50 9e-05
>>>sp tr Q9WYF6 Q9WYF6 9VIRU Q9wyf6 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010 50 1e-04
>>>sp tr Q9JGT0 Q9JGT0 9VIRU Q9jgt0 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 49 1e-04
>>>sp tr Q9JK12 Q9JK12 9VIRU Q9jk12 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 49 1e-04
>>>sp tr Q9JGS7 Q9JGS7 9VIRU Q9jgs7 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 49 1e-04
>>>sp tr Q9DYC0 Q9DYC0 9VIRU Q9dyc0 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 49 1e-04
>>>sp tr Q9W7S4 Q9W7S4 9VIRU Q9w7s4 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 49 2e-04
>>>sp tr Q77S01 Q77S01 9VIRU Q77s01 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 49 2e-04
>>>sp tr Q9JG34 Q9JG34 9VIRU Q9jg34 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 46 0.001
>>>sp tr Q9JGS4 Q9JGS4 9VIRU Q9jgs4 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 46 0.001
>>>sp tr Q9YR02 Q9YR02 9VIRU Q9yr02 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010 45 0.003
>>>sp tr B2YFW4 B2YFW4 9VIRU B2yfw4 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 34 3.7

>>>sp|tr|Q98Y39|Q98Y39|9VIRU|Q98y39|サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010|50|7e-05

スコア=50.1ビット(118), 子群=7e-05, 方法: 組成マトリックス調整
 同一性=22/23(95%), 陽性=23/23(100%)
 クエリ: 1 GAEGETHRSQCAIRARDWPGYG 23
 GAEGETHRSQCAIRARDWPGYG
 対象: 24 GAEGETHRSQCAIRARDWPGYG 46

Q98Y39 9VIRU トレビュー: 202 AA.
 AC Q98Y39
 DT 2001年6月1日 UniProtKB/TrEMBLに組み込まれた
 DT 2001年6月1日 配列バージョン1
 DT 2010年2月9日 エントリーバージョン
 DE サブ名称: 全長
 OS トルケノウイルス
 OC ウイルス; ssDNAウイルス; アネロウイルス科; 未分類アネロウイルス科
 OX NCBI_TaxID=68887;
 RN [1]
 RP スクレオナド配列
 RC 読み =TWH;
 RA He B.-T., Luo K.-X., Xiao H., Liu D.-X.;
 RT "肝臓の患者の便から単離されたTTウイルスの完全な円形のゲノム"
 RL Virol J 2001;17:22(1999).
 CC Copyrighted by the UniProt Consortium, see http://www.uniprot.org/terms
 CC Distributed under the Creative Commons Attribution-NoDerivs License

【 図 1 4 - 4 】

DR Pfam: PF02957; TT_ORF2; 1.
 Pfam: PF08197; TT_ORF2a; 1.
 PE 4; 子群:
 SQ 配列 202 AA; 21437 MW; 10589ED104956DE CRC64;
 MAEFTVRS GEATEGDHVR PAGAGEFT HRSQGAIRN DPGYQSGSE KSMFGRHYR
 KKRALSICAV RTTKACKL IVMTFPRND DQYLWQWY SVLSSHAM GCGPDAIHL
 NLSVLRAPQ NPPPPGQNR LPLRLPALP AAPAPGDEA FWPAGAGGAG ENGAGGAD
 HGGAGGPEP ANLLDVARA ET

zyb9.1.pep
 スクレオナド1-71
 長さ: 23aa

RVPKVLHTA VKQEGGLGTR GM

zyb9.1.pepのBlastP2 1から23
 データベース: uniprotと比較

>>>sp tr Q9WSW0 Q9WSW0 9VIRU Q9ws0 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 49 1e-04
>>>sp tr Q9WB09 Q9WB09 9VIRU Q9wb09 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 48 4e-04
>>>sp tr Q9WSW2 Q9WSW2 9VIRU Q9ws2 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 48 4e-04
>>>sp tr Q9WSX0 Q9WSX0 9VIRU Q9ws0 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 47 4e-04
>>>sp tr Q9WB10 Q9WB10 9VIRU Q9wb10 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 47 5e-04
>>>sp tr Q9WA22 Q9WA22 9VIRU Q9wa22 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 47 5e-04
>>>sp tr Q70807 Q70807 9VIRU Q70807 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 47 6e-04
>>>sp tr Q9WAY4 Q9WAY4 9VIRU Q9way4 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 47 7e-04
>>>sp tr Q9WB02 Q9WB02 9VIRU Q9wb02 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 47 8e-04
>>>sp tr Q9WSW4 Q9WSW4 9VIRU Q9ws4 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 46 0.001
>>>sp tr Q9WB12 Q9WB12 9VIRU Q9wb12 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 46 0.001
>>>sp tr Q9WSW6 Q9WSW6 9VIRU Q9ws6 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 45 0.002
>>>sp tr B3FW6 B3FW6 9VIRU B3fw6 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片... 36 0.94

>>>sp|tr|Q9WSW0|Q9WSW0|9VIRU|Q9ws0|サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片; . 2/2010|49|1e-04

スコア=49.3ビット(116), 子群=1e-04, 方法: 組成マトリックス調整
 同一性=23/23(100%), 陽性=23/23(100%)
 クエリ: 1 RVPKVLHTAVKQEGGLGTRGM 23
 RVPKVLHTAVKQEGGLGTRGM
 対象: 27 RVPKVLHTAVKQEGGLGTRGM 49

>>>sp|tr|Q9WB09|Q9WB09|9VIRU|Q9wb09|サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片; . 2/2010|48|4e-04

スコア=47.8ビット(112), 子群=4e-04, 方法: 組成マトリックス調整
 同一性=22/23(95%), 陽性=22/23(95%)
 クエリ: 1 RVPKVLHTAVKQEGGLGTRGM 23
 RVPKVLHTAVKQEGGLGTRGM
 対象: 14 RVPKVLHTAVKQEGGLGTRGM 36

Q9WSW0 9VIRU トレビュー: 204 AA.
 AC Q9WSW0
 DT 1999年11月1日 UniProtKB/TrEMBLに組み込まれた
 DT 1999年11月1日 配列バージョン1
 DT 2010年2月9日 エントリーバージョン23
 DE サブ名称: 全長=ORF2;
 DE フラグ: 断片;

【 図 1 4 - 5 】

OS トルケノウイルス
 OC ウイルス; ssDNAウイルス; アネロウイルス科; 未分類アネロウイルス科
 OX NCBI_TaxID=68887;
 RN [1]
 RP スクレオナド配列
 RC 読み =KC205/1-12G; 組織=血清;
 RK メドライン=99335592; PubMed=10405352; DOI=10.1006/viro.1999.9797;
 RA Hijikata M., Takahashi K., Mishiro S.;
 RT "Complete circular DNA genome of a TT virus variant (isolate name
 SANBAN) and 44 partial ORF2 sequences implicating a great degree of
 diversity beyond genotypes.";
 RL Virology 260:17-22(1999).
 CC Copyrighted by the UniProt Consortium, see http://www.uniprot.org/terms
 CC Distributed under the Creative Commons Attribution-NoDerivs License

DR EMBL: AB024383; BAA77450.1; -; ゲノム_DNA.
 DR InterPro: IPR004118; Gyrovir_VP2/TT_ORF2.
 DR Pfam: PF02957; TT_ORF2; 1.
 PE 4; 子群:
 FT NON TER 1 1
 SQ 配列 204 AA; 21953 MW; 635296D2AC0DF21 CRC64;
 CSWLSVFR 6EAJAGRRV IPASRRVVK VSLHTAVKQGL PGIGTCRMRG KALKVFLIKM
 HFSRISRSR KVLLEALPAP PFPQLWVQ PFIQNGTQLO RHWFVSWRS HAAYCGGCGD
 VGHQLHAAI RGRPPHPPQ REQHPQIRG LPLALPAPPN RNSWFGTGGD AAGEAGGSRG
 GAGGDDGDEL ADDLDAAA LVDE

Q9WB09 9VIRU トレビュー: 138 AA.
 AC Q9WB09
 DT 1999年11月1日 UniProtKB/TrEMBLに組み込まれた
 DT 1999年11月1日 配列バージョン1
 DT 2010年2月9日 エントリーバージョン22
 DE サブ名称: 全長=ORF2;
 DE フラグ: 断片;
 OS トルケノウイルス
 OC ウイルス; ssDNAウイルス; アネロウイルス科; 未分類アネロウイルス科
 OX NCBI_TaxID=68887;
 RN [1]
 RP スクレオナド配列
 RC 組織=血清;
 RK メドライン=99335592; PubMed=10405352; DOI=10.1006/viro.1999.9797;
 RA Hijikata M., Takahashi K., Mishiro S.;
 RT "Complete circular DNA genome of a TT virus variant (isolate name
 SANBAN) and 44 partial ORF2 sequences implicating a great degree of
 diversity beyond genotypes.";
 RL Virology 260:17-22(1999).
 CC Copyrighted by the UniProt Consortium, see http://www.uniprot.org/terms
 CC Distributed under the Creative Commons Attribution-NoDerivs License

DR EMBL: AB024376; BAA77443.1; -; ゲノム_DNA.
 DR InterPro: IPR004118; Gyrovir_VP2/TT_ORF2.
 DR Pfam: PF02957; TT_ORF2; 1.
 PE 4; 子群:
 FT NON TER 1 1
 SQ 配列 138 AA; 15494 MW; 2DF27B3A470CA641 CRC64;
 AVKPRREISA SRGRVVKVSL HTEVKGQGL GTRAMGKAL KKSMEIGRHY RKRRLSLCA
 VRTTKACKL LIVMTFPRND DQYLWQWY SVLSSHAM GCGPDAIHL SHLAFVFRAP
 QNPPPGPQR NLPRLRLP

【 図 1 4 - 6 】

zyb9.3.pep
 スクレオナド3-71
 長さ: 23aa

GAEGETHRS QCAIRARDWP GYG

zyb9.3.pepのBlastP2 1から23
 データベース: uniprotと比較

>>>sp tr Q9WAY7 Q9WAY7 9VIRU Q9way7 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 52 2e-05
>>>sp tr Q98Y39 Q98Y39 9VIRU Q98y39 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010 52 2e-05
>>>sp tr Q9JGT0 Q9JGT0 9VIRU Q9jgt0 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010 52 3e-05
>>>sp tr Q9JGS7 Q9JGS7 9VIRU Q9jgs7 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 52 3e-05
>>>sp tr Q766D4 Q766D4 9VIRU Q766d4 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010 52 3e-05
>>>sp tr Q70738 Q70738 9VIRU Q70738 サブ名称: 全長=ORF2, ORF1 遺伝子... 52 3e-05
>>>sp tr Q9JG33 Q9JG33 9VIRU Q9jg33 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010 52 3e-05
>>>sp tr Q90363 Q90363 9VIRU Q90363 サブ名称: 全長=ORF2 蛋白質; . 2/2010 51 3e-05
>>>sp tr Q9JGS7 Q9JGS7 9VIRU Q9jgs7 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 51 3e-05
>>>sp tr Q9DYC0 Q9DYC0 9VIRU Q9dyc0 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 51 3e-05
>>>sp tr Q9W7S4 Q9W7S4 9VIRU Q9w7s4 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 50 5e-05
>>>sp tr Q77S01 Q77S01 9VIRU Q77s01 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 50 5e-05
>>>sp tr Q9JGS4 Q9JGS4 9VIRU Q9jgs4 サブ名称: 全長=ORF2a; 12/2009 48 3e-04
>>>sp tr Q9YR02 Q9YR02 9VIRU Q9yr02 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2010 48 3e-04
>>>sp tr B2YFW4 B2YFW4 9VIRU B2yfw4 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片 ... 35 3.2

>>>sp|tr|Q9WAY7|Q9WAY7|9VIRU|Q9way7|サブ名称: 全長=ORF2; フラグ: 断片; . 2/2010|52|2e-05

スコア=52.0ビット(123), 子群=2e-05, 方法: 組成マトリックス調整
 同一性=23/23(100%), 陽性=23/23(100%)
 クエリ: 1 GAEGETHRSQCAIRARDWPGYG 23
 GAEGETHRSQCAIRARDWPGYG
 対象: 15 GAEGETHRSQCAIRARDWPGYG 37

Q9WAY7 9VIRU トレビュー: 138 AA.
 AC Q9WAY7
 DT 1999年11月1日 UniProtKB/TrEMBLに組み込まれた
 DT 1999年11月1日 配列バージョン1
 DT 2010年2月9日 エントリーバージョン23
 DE サブ名称: 全長
 DE フラグ: 断片
 OS トルケノウイルス
 OC ウイルス; ssDNAウイルス; アネロウイルス科; 未分類アネロウイルス科
 OX NCBI_TaxID=68887;
 RN [1]
 RP スクレオナド配列
 RC 組織=血清;
 RK メドライン=99335592; PubMed=10405352; DOI=10.1006/viro.1999.9797;
 RA Hijikata M., Takahashi K., Mishiro S.;
 RT "Complete circular DNA genome of a TT virus variant (isolate name
 SANBAN) and 44 partial ORF2 sequences implicating a great degree of
 diversity beyond genotypes.";
 RL Virology 260:17-22(1999).
 CC Copyrighted by the UniProt Consortium, see http://www.uniprot.org/terms
 CC Distributed under the Creative Commons Attribution-NoDerivs License

【 図 1 4 - 7 】

DR EMBL: AB024349; BAA7415.1; -; ゲノム DNA.
DR InterPro: IPR004118; Gyrovir_VP2/TT_ORF2.
DR InterPro: IPR013267; TTV_ORF2a.
DR Pfam: PF02957; TT_ORF2; I.
DR Pfam: PF08197; TT_ORF2a; 1.
PE 4; 予測:
FT NON TER 1 1
FT NON TER 139 139
SQ 配列 138 AA; 15416 MW; 93F7D9685085141D CRC64;
SGSATEGDLR VFRGAGEGEF HRSQGAIRA DMFGYQGS EKSMFGRHYR RKKRALSLCA
VRTTKACKL LVMWTPFRN DQYLWQWYS SVLSHSHAM GCPDVAWHF NKLAAVLRAP
QNPPPPGQR NLRLRLP

zkb5.3.pep

スクレオチド3-71
長さ: 23aa

GAGGEFTHRS QGAIRARDWP GYG

zkb5.3.pepのBlastP2

データベース: uniprotと比較

Table with columns for alignment ID, accession, score, and alignment details. Includes entries like >>>sptrembl:Q98Y39 GVIRU Q98y39...

>>>sptrembl:Q98Y39 GVIRU Q98y39 サブ名称: 全長=ORF2; 2/2C10

長さ = 202
スコア = 4.9, 3ビット (116), 予測 = 1e-04, 方法: 組成マトリックス調整

同一性 = 22/23 (95%), 断片 = 22/23 (95%)

クエリ: 1 GAGGEFTHRSQGAIRARDWPGY 23

GA GEFTHRSQGAIRARDWPGYG

対象: 24 GAGGEFTHRSQGAIRARDWPGY 46

Q98Y39 GVIRU 表レビュー: 202 AA.

AC Q98Y39;
DT 2001年6月1日 UniProtKB/TREMBLに組み込まれた
DT 2001年6月1日 配列バージョン1
DT 2010年2月9日 エントリーバージョン1.7
DE サブ名称: 全長
OS トルカゲウイルス
OC ウイルス; ssDNAウイルス; アネロウイルス科; 未分類アネロウイルス科
OX NCBI_TaxID=68887;
RN [1]
RF スクレオチド配列
RC 読み =TWH;

【 図 1 4 - 9 】

DE フラグ: 断片;
OS トルカゲウイルス
OC ウイルス; ssDNAウイルス; アネロウイルス科; 未分類アネロウイルス科
OX NCBI_TaxID=68887;
RN [1]
RP スクレオチド配列
RC 組織=血清;
RX MedScan=99335592; PubMed=10405352; DOI=10.1006/viro.1999.9797;
RA ヒジカカ M, タカハシ K, ミシジ S
RT (TTウイルス変種 (有機体名称 ANBAN)) の完全な円形DNAゲノム、
RT および遺伝子型を超えるかなりの多様性を示す44部分的ORF2a例)
RT
RL Virology 260:17-22(1999).

Copyrighted by the UniProt Consortium, see http://www.uniprot.org/terms
Distributed under the Creative Commons Attribution-NonDerivs License

DR EMBL: AB024353; BAA77420.1; -; ゲノム DNA.
DR InterPro: IPR004118; Gyrovir_VP2/TT_ORF2.
DR Pfam: PF02957; TT_ORF2; 1.
PE 4; 予測:
FT NON TER 1 1
FT NON TER 152 152
SQ 配列 152 AA; 16658 MW; 1DEC53175C043A17 CRC64;
ARTERRGVRA SRGRVPEVSL HTAVKQFGL GTGRAGKAL KKAMFLGRIY RKKRRLPLSP
LHSPKARKL LRGWRRPPTQ NVSGQERSWY DSVFYSHAAF CCGDCGVHL SYLATHLGRP
ESAQPPPOLO PPVIRLRLPAL PAEPNSGDR AA

zkb69.3.pep

スクレオチド3-71
長さ: 23

GAGGEFTHRS QGAIRARDWP GYG

zkb69.3.pepのBlastP2 1から23

データベース: uniprotと比較

Table with columns for alignment ID, accession, score, and alignment details. Includes entries like >>>sptrembl:Q9JG73 GVIRU Q9Jgt3...

>>>sptrembl:Q9JG73 GVIRU Q9Jgt3 サブ名称: 全長=PORF2a; 12/2009

長さ = 49
スコア = 5.0, 4ビット (119), 予測 = 5e-05, 方法: 組成マトリックス調整

同一性 = 23/23 (100%), 断片 = 23/23 (100%)

クエリ: 1 GAGGEFTHRSQGAIRARDWPGY 23

GAGGEFTHRSQGAIRARDWPGYG

【 図 1 4 - 8 】

RA He M.-T., Luo K.-X., Xiao H., Liu D.-X.;
RT 「肝炎患者の便から分離されたTTウイルスの完全な円形ゲノム」
RL EMBL/GenBank/DBJデータベースに対して提出 (FEB-2001)
CC
CC Copyrighted by the UniProt Consortium, see http://www.uniprot.org/terms
CC Distributed under the Creative Commons Attribution-NonDerivs License
DR EMBL: AF351132; AAK29446.1; -; ゲノム DNA.
DR InterPro: IPR004118; Gyrovir_VP2/TT_ORF2.
DR InterPro: IPR013267; TTV_ORF2a.
DR Pfam: PF02957; TT_ORF2; 1.
DR Pfam: PF08197; TT_ORF2a; 1.
PE 4; 予測:
SQ 配列 202 AA; 21437 MW; 10SB9ED104956EDE CRC64;
MAEFSTPVRS GEATGGRHV FRAGAGEGEP HRSQGAIRAR DMFGYQGS KSMFGRHYR
KRRALSLCAV RTTKACKLL IVMWTPFRND QYLWQWYS SVLSHSHAM GCPDVAWHI
NLASVLRAP NPPPPGQRN LPLRLPALP AAPAPGDR AFWMAGGAGG ENGGAGGADD
HGGAAGGPFED ANLDAVAAH ET

zkb69.1.pep

スクレオチド1-71
長さ: 23aa

RVPEVSLHTA VKQKQGLGTG RAM

zkb69.1.pepのBlastP2 1から23

データベース: uniprotと比較

Table with columns for alignment ID, accession, score, and alignment details. Includes entries like >>>sptrembl:Q9WAZ2 GVIRU Q9Waz2...

>>>sptrembl:Q9WAZ2 GVIRU Q9Waz2 サブ名称: 全長=ORF2; フラグ:

断片: 2/2010

長さ = 152

スコア = 4.9, 3ビット (116), 予測 = 1e-04, 方法: 組成マトリックス調整

同一性 = 23/23 (100%), 断片 = 23/23 (100%)

クエリ: 1 RVPEVSLHTAVKQKQGLGTGRAM 23

RVPEVSLHTAVKQKQGLGTGRAM

対象: 14 RVPEVSLHTAVKQKQGLGTGRAM 36

Q9WAZ2 GVIRU 表レビュー: 152 AA.

AC Q9WAZ2;
DT 1999年11月1日 UniProtKB/TREMBLに組み込まれた
DT 1999年11月1日 配列バージョン1
DT 2010年2月9日 エントリーバージョン2.3
DE サブ名称: 全長=ORF2;

【 図 1 4 - 1 0 】

対象: 24 GAGGEFTHRSQGAIRARDWPGY 46

Q9JG73 GVIRU 表レビュー: 49 AA.

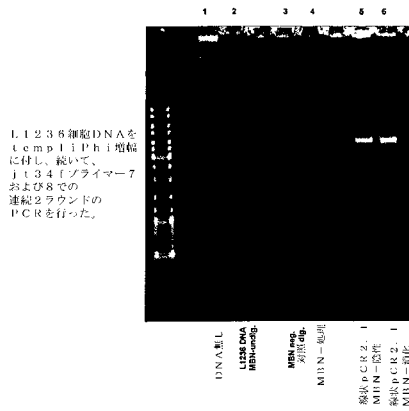
AC Q9JG73;
DT 01-OCT-2000, UniProtKB/TREMBLに組み込まれた
DT 01-OCT-2000, 配列バージョン1
DT 15-DEC-2009, エントリーバージョン1.7
DE サブ名称: 全長=PORF2a;
GN 名称 =ORF2a;
OS トルカゲウイルス
OC ウイルス; ssDNAウイルス; アネロウイルス科; 未分類アネロウイルス科
OX NCBI_TaxID=68887;
RN [1]
RF スクレオチド配列
RX メタリン=20417334; PubMed=10963344; DOI=10.1007/s007050070097;
RA Tanaka Y., Orito S., Ohno T., Nakano T., Hayashi K., Kato T.,
Mukaida M., Iida S., Mizokami M.;
RT "Identification of a novel 23kDa protein encoded by putative open
reading frame 2 of TT virus (TTV) genotype 1 different from the other
RT genotypes."
RL Arch. Virol. 145:1385-1398(2000).

Copyrighted by the UniProt Consortium, see http://www.uniprot.org/terms
Distributed under the Creative Commons Attribution-NonDerivs License

DR EMBL: AB030486; BAA90401.1; -; ゲノム DNA.
DR InterPro: IPR013267; TTV_ORF2a.
DR Pfam: PF08197; TT_ORF2a; 1.
PE 4; 予測:
SQ 配列 49 AA; 5118 MW; 596E44680A5D663A CRC64;
MAEFSTPVRS EGATGGINV FRAGAGEGEP HRSQGAIRAR DMFGYQGS

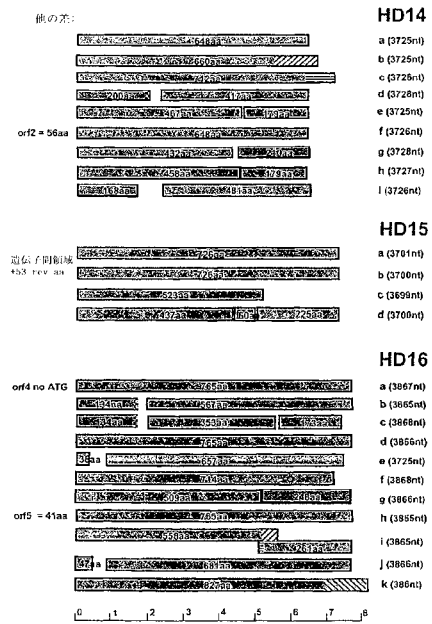
【 図 1 5 】

Figure 15

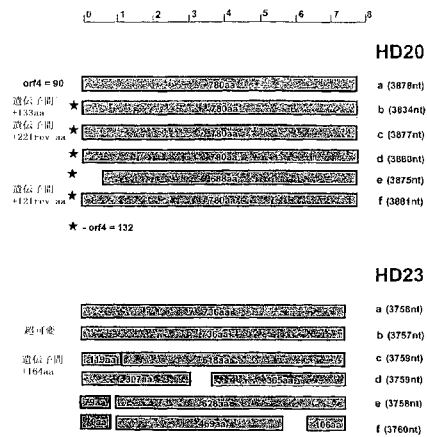


【 図 1 6 - 1 】

Figure 16

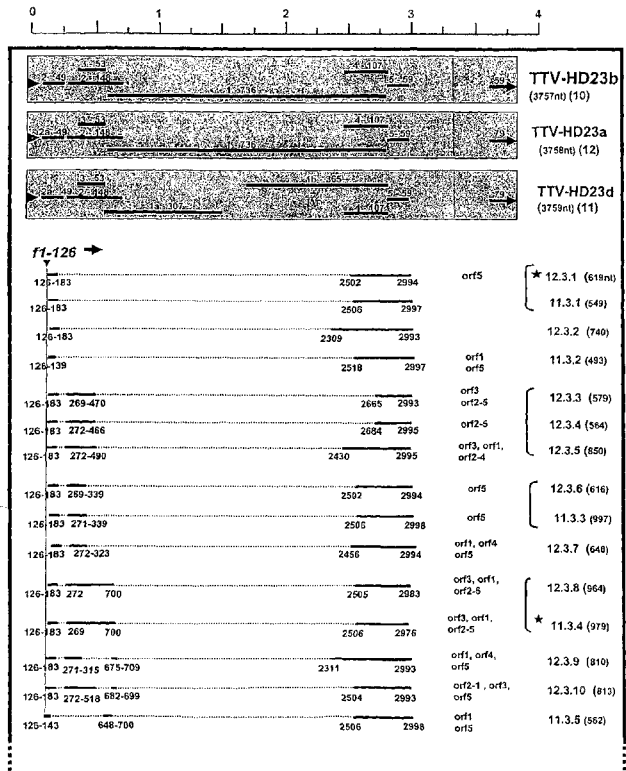


【 図 1 6 - 2 】

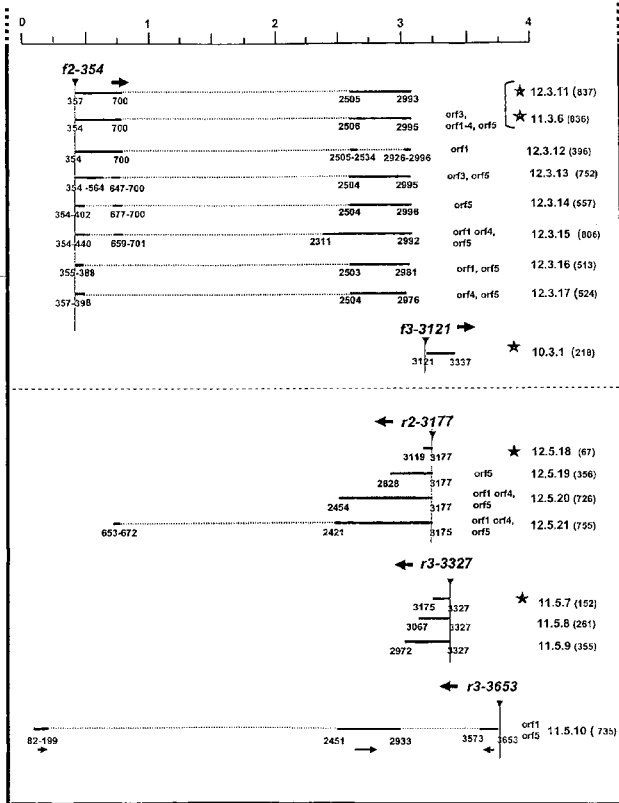


【 図 1 7 - 1 】

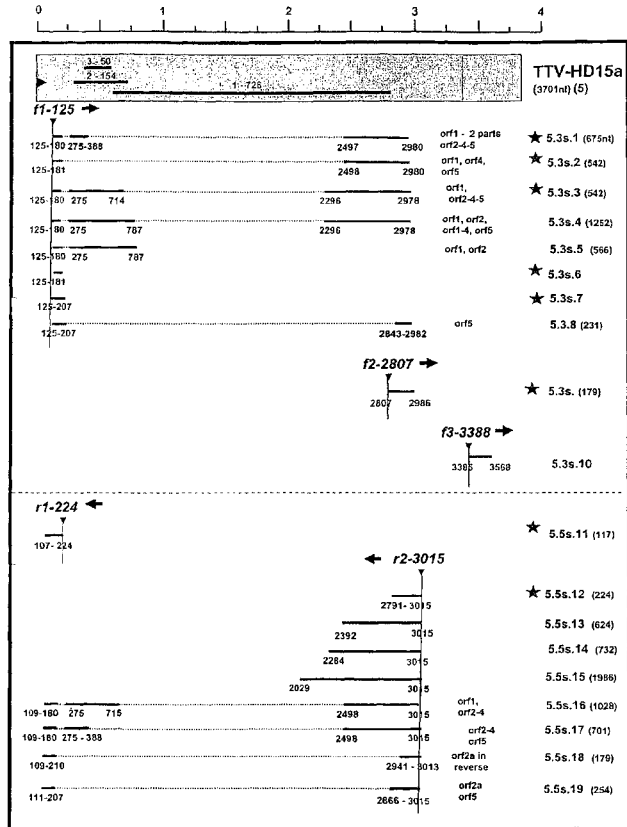
Figure 17



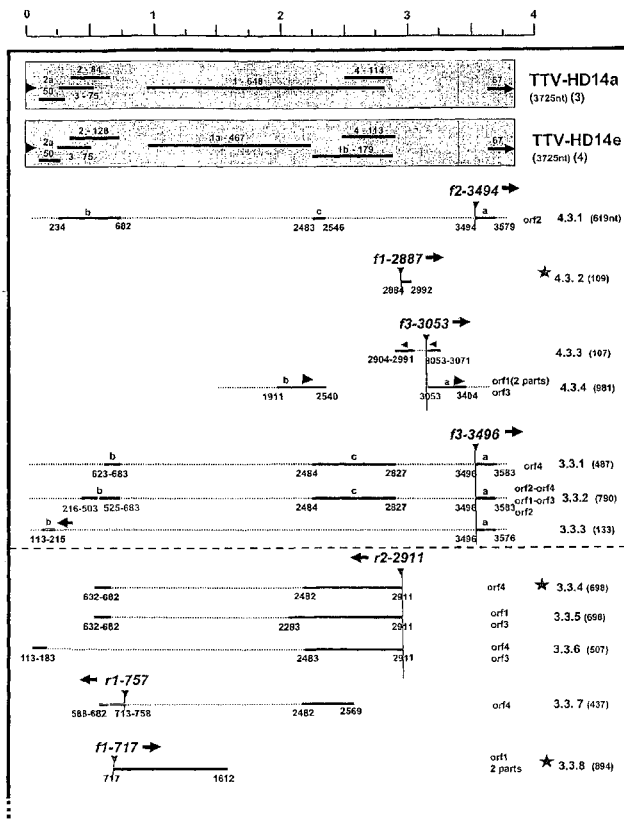
【 17 - 2 】



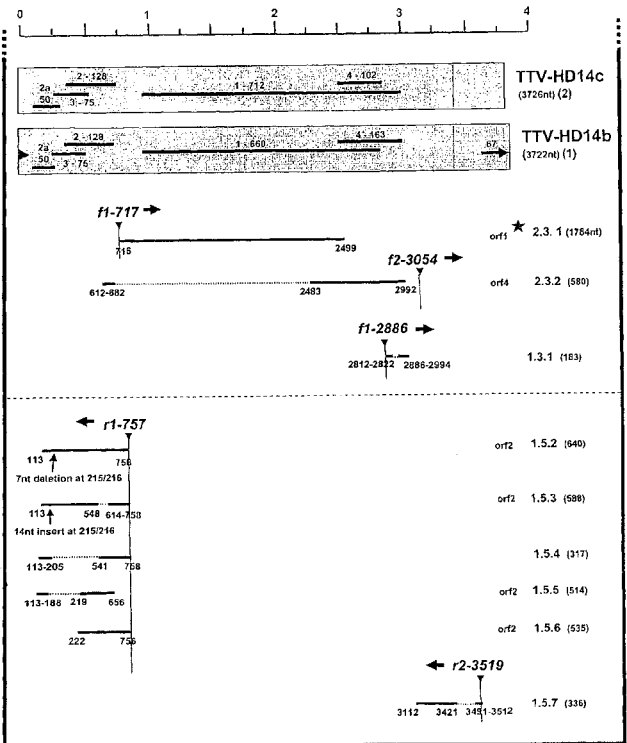
【 17 - 3 】



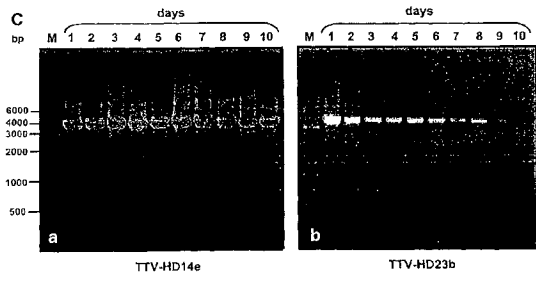
【 17 - 4 】



【 17 - 5 】



【 図 19 C 】



【 図 20 】

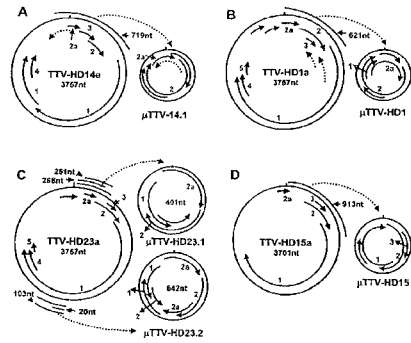


Figure 20

【 図 21 】

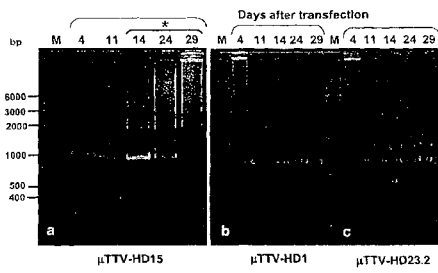


Figure 21

【 図 22 】

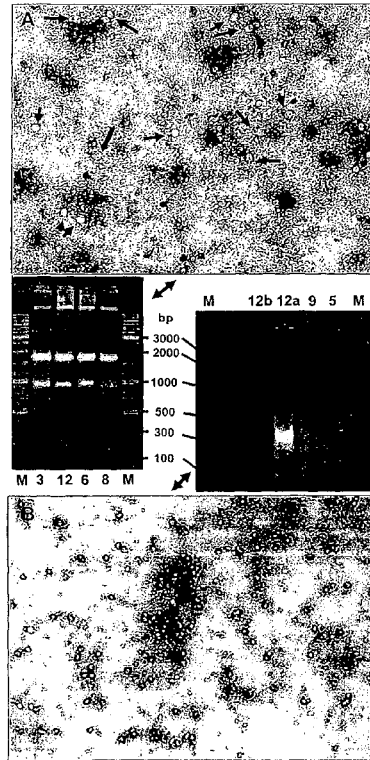


Figure 22

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No PCT/EP2011/003119

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K14/01 C12Q1/70 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) C07K C12Q		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, BIOSIS, Sequence Search, WPI Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2008/138619 A2 (DEUTSCHES KREBSFORSCH [DE]; DE VILLIERS-ZUR HAUSEN ETHEL-MICHELE [DE];) 20 November 2008 (2008-11-20) page 7 - page 15; examples 6,7; sequence 15, -----	1,3-5, 10-26, 34,35
X	JELCIC I ET AL: "Isolation of multiple TT virus genotypes from spleen biopsy tissue from a Hodgkin's disease patient: Genome reorganization and diversity in the hypervariable region", JOURNAL OF VIROLOGY, THE AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, US, vol. 78, no. 14, 1 January 2004 (2004-01-01), pages 7498-7507, XP002463335, ISSN: 0022-538X, DOI: DOI:10.1128/JVI.78.14.7498-7507.2004 page 7499 - page 7500 -/--	8
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input checked="" 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
7 November 2011		25/11/2011
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 Deleu, Laurent

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/003119

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	-& DATABASE EMBL [Online] 3 February 2009 (2009-02-03), "Torque teno virus, isolate tth25, complete genome", XP002610817, retrieved from EBI accession no. AJ620222 Database accession no. AJ620222 the whole document	
X	----- MIREIA SOSPEDRA ET AL: "Recognition of Conserved Amino Acid Motifs of Common Viruses and Its Role in Autoimmunity", PLOS PATHOGENS, vol. 1, no. 4, 1 January 2005 (2005-01-01) , page E41, XP55011250, ISSN: 1553-7366, DOI: 10.1371/journal.ppat.0010041 cited in the application page 339 - page 346	1,3-7,9, 10,12, 15, 22-25, 27-32,34
X	----- WO 00/46407 A2 (ABBOTT LAB [US]) 10 August 2000 (2000-08-10) page 111 - page 112; claim 1; figures 1,2 claims 19-26; examples 2,3,9	1,4-7, 10,15, 16,18, 22,24,25
X	----- WO 03/023027 A2 (DEUTSCHES KREBSFORSCH [DE]; DE VILLIERS-ZUR HAUSEN ETHEL-M [DE]; ZUR H) 20 March 2003 (2003-03-20) claims 1-15; figure 54; example 3; sequence 68	1,3-5, 10,12, 13,15, 19-31, 33-35
X	----- LAURA KAKKOLA ET AL: "Construction and biological activity of a full-length molecular clone of human Torque teno virus (TTV) genotype 6", FEBS JOURNAL, vol. 274, no. 18, 1 September 2007 (2007-09-01), pages 4719-4730, XP55011217, ISSN: 1742-464X, DOI: 10.1111/j.1742-4658.2007.06020.x page 4720 - page 4721 -/--	38,39

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/EP2011/003119

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	-& DATABASE EMBL [Online] 27 August 2004 (2004-08-27), "Torque teno virus 3 strain HEL32, complete genome.", XP002662777, retrieved from EBI accession no. EMBL:AY666122 Database accession no. AY666122 sequence -----	
X	WO 01/42299 A2 (ROCHE DIAGNOSTICS GMBH [DE]) 14 June 2001 (2001-06-14) claims 3-18; sequence 5 -----	1,4,5, 10, 19-26, 34,35
X	WO 2007/130519 A2 (US GOV HEALTH & HUMAN SERV [US]; BAPTISTA CASSIO S [US]; WU XIAOLIN [U]) 15 November 2007 (2007-11-15) claims 1-16; sequence 5627 -----	10-15
A	PENG Y H ET AL: "Analysis of the entire genomes of thirteen TT virus variants classifiable into the fourth and fifth genetic groups, isolated from viremic infants", ARCHIVES OF VIROLOGY, vol. 147, no. 1, January 2002 (2002-01), pages 21-41, XP002610938, ISSN: 0304-8608 page 23 -----	2
A	WO 00/28039 A2 (DIASORIN S R L [IT]; PRIMI DANIELE [IT]; FIORDALISI GIANFRANCO [IT]; M) 18 May 2000 (2000-05-18) claims 1-60 -----	1-35
A	DE VILLIERS E M ET AL: "Intragenomic rearrangement in TT viruses: a possible role in the pathogenesis of disease.", CURRENT TOPICS IN MICROBIOLOGY AND IMMUNOLOGY 2009 LNKD- PUBMED:19230559, vol. 331, 2009, pages 91-107, XP009153717, ISSN: 0070-217X page 98 - page 104 -----	1-39

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2011/003119

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008138619	A2	20-11-2008	EP 1992691 A1	19-11-2008
WO 0046407	A2	10-08-2000	CA 2361599 A1	10-08-2000
			EP 1220946 A2	10-07-2002
			JP 4087569 B2	21-05-2008
			JP 2003525583 A	02-09-2003
			US 6395472 B1	28-05-2002
			US 2001041331 A1	15-11-2001
WO 03023027	A2	20-03-2003	AU 2002340728 A1	24-03-2003
			DE 10144346 A1	03-04-2003
WO 0142299	A2	14-06-2001	AU 2212901 A	18-06-2001
			BR 0016289 A	13-08-2002
			CA 2393644 A1	14-06-2001
			CN 1433430 A	30-07-2003
			EP 1240189 A2	18-09-2002
			JP 2003516136 A	13-05-2003
			MX PA02005655 A	29-11-2002
			PL 364797 A1	13-12-2004
WO 2007130519	A2	15-11-2007	US 2008003565 A1	03-01-2008
WO 0028039	A2	18-05-2000	AU 1381600 A	29-05-2000
			JP 2002529092 A	10-09-2002
			NO 20012276 A	09-07-2001

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	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/00	1 0 1	4 C 0 8 5
C 0 7 K	14/01	(2006.01)	C 0 7 K	14/01		4 C 0 8 6
C 0 7 K	16/08	(2006.01)	C 0 7 K	16/08		4 H 0 4 5
C 1 2 N	15/02	(2006.01)	C 1 2 N	15/00	C	
C 1 2 Q	1/04	(2006.01)	C 1 2 Q	1/04		
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)	C 1 2 Q	1/68	A	
C 4 0 B	40/08	(2006.01)	C 4 0 B	40/08		
A 6 1 K	39/395	(2006.01)	A 6 1 K	39/395	N	
A 6 1 K	48/00	(2006.01)	A 6 1 K	48/00		
A 6 1 K	31/7088	(2006.01)	A 6 1 K	31/7088		
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00		
A 6 1 P	37/06	(2006.01)	A 6 1 P	37/06		
A 6 1 P	25/00	(2006.01)	A 6 1 P	25/00		
A 6 1 P	11/06	(2006.01)	A 6 1 P	11/06		
A 6 1 P	19/02	(2006.01)	A 6 1 P	19/02		
A 6 1 P	3/10	(2006.01)	A 6 1 P	3/10		
A 6 1 P	17/02	(2006.01)	A 6 1 P	17/02		
A 6 1 P	1/04	(2006.01)	A 6 1 P	1/04		
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/02		
A 6 1 K	39/12	(2006.01)	A 6 1 K	39/12		
G 0 1 N	33/53	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	D	
G 0 1 N	33/564	(2006.01)	G 0 1 N	33/53	N	
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	G 0 1 N	33/564	Z	
			C 1 2 P	21/08		

(31) 優先権主張番号 EP10006541

(32) 優先日 平成22年6月23日(2010.6.23)

(33) 優先権主張国 欧州特許庁 (EP)

(81) 指定国 AP (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, T M), 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, RO, R S, 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, HU, I D, 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, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74) 代理人 100129713

弁理士 重森 一輝

(74) 代理人 100137213

弁理士 安藤 健司

(74) 代理人 230105223

弁護士 城山 康文

(72) 発明者 デ・ヴィリエルスー, エテル - ミケレ

ドイツ連邦共和国、6 9 4 8 3・ヴァルトミヒェルバッハ、アイヒェンシュトラッセ・1

(72) 発明者 ツアー・ハウゼン, ハラルド

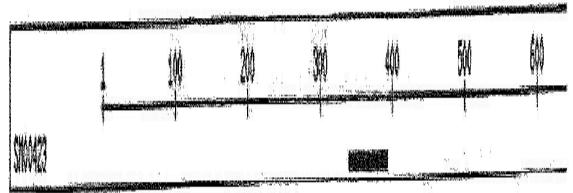
ドイツ連邦共和国、6 9 4 8 3・ヴァルトミヒェルバッハ、アイヒェンシュトラッセ・1

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 AA12 AA14 BA32 CA02 CA06 DA03 FA01 GA11
HA14 HA15 HA17
4B063 QA13 QA18 QA19 QQ02 QQ08 QQ10 QQ43 QQ53 QR32 QR36
QR55 QR62 QR72 QR77 QR79 QS02 QS33 QS34 QS38 QX01
4B064 AG27 DA13 DA14 DA15
4B065 AA93X AA95X AA95Y AB01 AC14 BA01 CA24 CA25 CA45 CA46
4C084 AA13 NA14 ZA022 ZA622 ZA682 ZA892 ZA962 ZB082 ZB262 ZB272
ZC352
4C085 AA03 AA14 BA51 BB11 CC08 CC23 EE01
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA02 ZA62 ZA68 ZA89
ZA96 ZB08 ZB26 ZB27 ZC35
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA01 DA76 DA86 EA31 EA51 EA53
FA74

专利名称(译)	重组的TT病毒分子用于癌症和自身免疫的诊断，预防和治疗		
公开(公告)号	JP2013538044A	公开(公告)日	2013-10-10
申请号	JP2013515772	申请日	2011-06-24
[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	デヴィリエルスーエテルミケレ ツアーハウゼンハラルド		
发明人	デ・ヴィリエルスー,エテル-ミケレ ツアー・ハウゼン,ハラルド		
IPC分类号	C12N15/09 C12N7/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K14/01 C07K16/08 C12N15/02 C12Q1/04 C12Q1/68 C40B40/08 A61K39/395 A61K48/00 A61K31/7088 A61P35/00 A61P37/06 A61P25/00 A61P11/06 A61P19/02 A61P3/10 A61P17/02 A61P1/04 A61P35/02 A61K39/12 G01N33/53 G01N33/564 C12P21/08		
CPC分类号	A61P1/04 A61P11/06 A61P17/02 A61P19/02 A61P25/00 C07K14/005 C12N2750/00022 C12N2750 /00043 C12Q1/701		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N7/00 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.101 C07K14/01 C07K16/08 C12N15/00.C C12Q1/04 C12Q1/68.A C40B40/08 A61K39/395.N A61K48/00 A61K31/7088 A61P35/00 A61P37/06 A61P25/00 A61P11/06 A61P19/02 A61P3/10 A61P17/02 A61P1/04 A61P35/02 A61K39/12 G01N33/53.D G01N33/53.N G01N33/564.Z C12P21/08		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/AA12 4B024/AA14 4B024/BA32 4B024/CA02 4B024/CA06 4B024 /DA03 4B024/FA01 4B024/GA11 4B024/HA14 4B024/HA15 4B024/HA17 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ10 4B063/QQ43 4B063/QQ53 4B063/QR32 4B063 /QR36 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QR77 4B063/QR79 4B063/QS02 4B063/QS33 4B063/QS34 4B063/QS38 4B063/QX01 4B064/AG27 4B064/DA13 4B064/DA14 4B064/DA15 4B065 /AA93X 4B065/AA95X 4B065/AA95Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065 /CA25 4B065/CA45 4B065/CA46 4C084/AA13 4C084/NA14 4C084/ZA022 4C084/ZA622 4C084 /ZA682 4C084/ZA892 4C084/ZA962 4C084/ZB082 4C084/ZB262 4C084/ZB272 4C084/ZC352 4C085 /AA03 4C085/AA14 4C085/BA51 4C085/BB11 4C085/CC08 4C085/CC23 4C085/EE01 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA02 4C086/ZA62 4C086 /ZA68 4C086/ZA89 4C086/ZA96 4C086/ZB08 4C086/ZB26 4C086/ZB27 4C086/ZC35 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA01 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA31 4H045 /EA51 4H045/EA53 4H045/FA74		
代理人(译)	小野 诚 金山 贤教 安藤健二		
优先权	12/952300 2010-11-23 US 12/821634 2010-06-23 US 2010014907 2010-11-23 EP 2010006541 2010-06-23 EP		
其他公开文献	JP6235903B2 JP2013538044A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

描述了 (a) 特定TT病毒序列的重排分子和 (b) 编码多肽的核苷酸序列，其显示与癌症和自身免疫疾病相关的哺乳动物蛋白质的同源性，其能够自主复制以用于疾病的诊断，预防和治疗。像癌症和自身免疫。



IPR003659; IPR016201; (ブレキシソ様)は1383蛋白質にマッチする。短い名称 ブレキシソ様フォルネーム