

(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2016-505267

(P2016-505267A)

(43) 公表日 平成28年2月25日(2016.2.25)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C12N 15/09 (2006.01)	C12N 15/00 ZNAA	2G045
C12N 7/00 (2006.01)	C12N 7/00	4B024
C12N 5/16 (2006.01)	C12N 5/16	4B063
C07K 14/075 (2006.01)	C07K 14/075	4B064
C07K 16/08 (2006.01)	C07K 16/08	4B065
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求		(全 82 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2015-552912 (P2015-552912)
 (86) (22) 出願日 平成26年1月15日 (2014.1.15)
 (85) 翻訳文提出日 平成27年8月28日 (2015.8.28)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2014/011624
 (87) 国際公開番号 W02014/113436
 (87) 国際公開日 平成26年7月24日 (2014.7.24)
 (31) 優先権主張番号 61/752,876
 (32) 優先日 平成25年1月15日 (2013.1.15)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 506115514
 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ
 ティ オブ カリフォルニア
 アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94
 607 オークランド フランクリン ス
 トリート 1111 トゥエルフス フロ
 ア
 (71) 出願人 515192531
 テキサス バイオメディカル リサーチ
 インスティテュート
 アメリカ合衆国 テキサス州 サンアント
 ニオ ノースウェスト ループ 410
 7620

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 アデノウイルスおよびその使用

(57) 【要約】

ヒシアデノウイルス (BaAdV) -2/4およびBaAdV-3を本明細書に開示する。BaAdV-2/4およびBaAdV-3のポリヌクレオチド、ポリペプチド、ならびにBaAdV-2/4および/またはBaAdV-3に特異的に結合する抗体を開示する。BaAdV-2/4およびBaAdV-3を検出するための方法を開示する。BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3を処置する、防止する、およびそれらに対する免疫応答を誘導するための方法も開示する。キットも提供する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、またはそれらの相補物に対して全長にわたり少なくとも90%の配列同一性を有している少なくとも100ヌクレオチド長の核酸配列を含む単離された核酸分子。

【請求項 2】

(a) SEQ ID NO:1として示された核酸配列のヌクレオチド1~29685および29867~34391と少なくとも90%同一の核酸配列；

(b) SEQ ID NO:2として示された核酸配列のヌクレオチド1~29865および29867~34391と少なくとも90%同一の核酸配列；

(c) SEQ ID NO:3のヌクレオチド1~28677および29812~34402として示されたヌクレオチド配列と少なくとも90%同一のヌクレオチド配列を含む単離された核酸分子。

【請求項 3】

SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3として示された核酸配列、またはそれらの縮重パリアントを含む、請求項1または請求項2に記載の単離された核酸分子。

【請求項 4】

SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、またはSEQ ID NO:3のオープンリーディングフレームと少なくとも90%同一の核酸配列を含む、単離された核酸分子。

【請求項 5】

SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、またはSEQ ID NO:3として示された核酸配列のオープンリーディングフレームを含む、請求項4に記載の単離されたヌクレオチド分子。

【請求項 6】

請求項1~5のいずれか一項に記載の核酸配列によってコードされた、単離されたポリペプチド。

【請求項 7】

SEQ ID NO:5~109のうちの一つとして示されたアミノ酸配列と少なくとも90%同一のアミノ酸配列を含む、請求項6に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 8】

請求項5に記載のヌクレオチド配列によってコードされたアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 9】

請求項1~5のいずれか一項に記載の核酸配列を含むかまたは請求項6~8のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする、単離された発現ベクター。

【請求項 10】

請求項9に記載の発現ベクターを含む、単離された宿主細胞。

【請求項 11】

ヒト細胞である、請求項10に記載の単離された宿主細胞。

【請求項 12】

非ヒト霊長類細胞である、請求項10に記載の単離された宿主細胞。

【請求項 13】

請求項1~5のいずれか一項に記載のヌクレオチド配列を含むかまたは請求項6~8のいずれか一項に記載のポリペプチドをコードする、単離されたアデノウイルスベクター。

【請求項 14】

アデノウイルスが複製欠損型である、請求項13に記載の単離されたアデノウイルスベクター。

【請求項 15】

アデノウイルスがE1、E3、またはE4の欠失を有している、請求項13~14のいずれか一項に記載の単離されたアデノウイルスベクター。

【請求項 16】

10

20

30

40

50

異種タンパク質をコードする、請求項13～15のいずれか一項に記載の単離されたアデノウイルスベクター。

【請求項17】

請求項6～8のいずれか一項に記載のポリペプチドと特異的に結合する、単離された抗体。

【請求項18】

モノクローナル抗体である、請求項17に記載の単離された抗体。

【請求項19】

標識されている、請求項17に記載の単離された抗体。

【請求項20】

請求項1～5のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項6～8のいずれか一項に記載のポリペプチド、または請求項9に記載のベクター、請求項10～12のいずれか一項に記載の宿主細胞、請求項13～16のいずれか一項に記載のアデノウイルス、または請求項17～19のいずれか一項に記載の抗体の有効量と、薬学的に許容される担体とを含む組成物。

【請求項21】

ヒシアデノウイルス (BaAdV) -3またはBaAdV-2/4のアデノウイルスを検出する方法であって、

(a) アデノウイルス核酸を含むと推測される試料を、ストリンジントな条件の下で、請求項1、4、または5のいずれか一項に記載の核酸と接触させる工程；および

(b) 該試料への該ヌクレオチド配列のハイブリダイゼーションの存在または欠如を検出する工程であって、ハイブリダイゼーションの存在によって、BaAdV-3またはBaAdV-2/4のアデノウイルスを検出する、工程を含む方法。

【請求項22】

ヒシアデノウイルス (BaAdV) -3またはBaAdV-2/4の核酸を検出する方法であって、

(a) アデノウイルス核酸を含むと推測される試料を、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、および/またはSEQ ID NO:3として示されたヌクレオチド配列とストリンジントな条件の下でハイブリダイズする少なくとも1種のプライマーと接触させる工程；

(b) PCR反応を実施する工程；ならびに

(c) PCR反応からの反応生成物の存在または欠如を検出する工程であって、反応生成物の存在によって、BaAdV-3またはBaAdV-2/4のアデノウイルスを検出する、工程を含む方法。

【請求項23】

対象におけるヒシアデノウイルス (BaAdV) -3またはBaAdV-2/4の感染を検出する方法であって、

(a) BaAdV-3またはBaAdV-2/4に起因する感染を有すると推測される対象に由来し、該対象由来の抗体を含む試料を、請求項6～8のいずれか一項に記載のポリペプチドと接触させる工程；および

(b) 該抗体と該ポリペプチドとの結合を検出し、それによって、BaAdV-3またはBaAdV-2/4の感染を検出する工程を含む方法。

【請求項24】

対象におけるヒシアデノウイルスBaAdV-3またはBaAdV-2/4の感染を検出する方法であって、

(a) BaAdV-3またはBaAdV-2/4に起因する感染を有すると推測される対象に由来する試料を、請求項17～19のいずれか一項に記載の抗体と接触させる工程；および

(b) 該抗体と該試料中のポリペプチドとの結合を検出する工程であって、該抗体と該ポリペプチドとの結合によって、BaAdV-3またはBaAdV-2/4の感染の存在を検出する、工程を含む方法。

【請求項25】

10

20

30

40

50

抗体が標識されている、請求項24に記載の方法。

【請求項 26】

試料がヒトに由来する、請求項21～25のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 27】

試料が非ヒト霊長類に由来する、請求項21～25のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 28】

試料が血液、血清、または血漿の試料である、請求項21～27のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 29】

BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3を区別する、請求項21～28のいずれか一項に記載の方法。

10

【請求項 30】

ヒシアデノウイルス (BaAdV-2/4) および/またはBaAdV-3を阻害する薬剤を検出する方法であって、

(a) 請求項13～16のいずれか一項に記載のアデノウイルスベクターを含む試料を、薬剤と接触させる工程；および

(b) 化合物がアデノウイルスポリペプチドの機能、ウイルスパッケージング、またはウイルス複製を阻害するかどうかを決定する工程、

(c) それによって、該化合物がBaAdV-2/4またはBaAdV-3アデノウイルスを阻害すると同定する工程

20

を含む方法。

【請求項 31】

薬剤が抗体である、請求項30に記載の方法。

【請求項 32】

薬剤が阻害性mRNAまたは小分子である、請求項30に記載の方法。

【請求項 33】

対象におけるヒシアデノウイルス (BaAdV) -2/4またはBaAdV-3の感染を処置するかまたは防止する方法であって、請求項30に記載の方法によって同定された薬剤、請求項1～5のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項6～8のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそれらの免疫原性断片、請求項14または15に記載の複製欠損型アデノウイルス、請求項17～19のいずれか一項に記載の抗体のうちの1種以上の、治療的に有効な用量を、対象へ投与し、それによって、該対象の感染を処置するかまたは防止する工程を含む方法。

30

【請求項 34】

対象におけるヒシアデノウイルス (BaAdV) -2/4またはBaAdV-3の感染に対する免疫応答を誘導する方法であって、請求項30に記載の方法によって同定された薬剤、請求項1～5のいずれか一項に記載の核酸分子、請求項6～8のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはそれらの免疫原性断片、請求項14または15に記載の複製欠損型アデノウイルス、請求項17～19のいずれか一項に記載の抗体のうちの1種以上の、治療的に有効な用量を、対象へ投与し、それによって、免疫応答を誘導する工程を含む方法。

40

【請求項 35】

対象がヒトである、請求項33または請求項34に記載の方法。

【請求項 36】

対象が非ヒト霊長類である、請求項33または請求項34に記載の方法。

【請求項 37】

ポリペプチドまたはその免疫原性断片を対象へ投与する工程を含む、請求項34～36のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 38】

抗体を対象へ投与する工程を含む、請求項34～36のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 39】

薬剤がアダマーを含む、請求項34～36のいずれか一項に記載の方法。

50

【請求項 4 0】

アプタマーが、約15～約60ヌクレオチド長の二本鎖領域を含むsiRNA分子またはアンチセンス分子であって、かつSEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、またはSEQ ID NO:3の対応するセグメントに対して全長にわたり少なくとも90%の同一性を有している、請求項39に記載の方法。

【請求項 4 1】

薬剤が、経口的に、局所的に、関節内に、静脈内に、筋肉内に、皮内に、腹腔内に、または皮下に投与される、請求項33～40のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 4 2】

請求項1～5のいずれか一項に記載の核酸分子、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、もしくはSEQ ID NO:3として示されたヌクレオチド配列と高度にストリンジェントな条件の下でハイブリダイズするプライマー、請求項6～8のいずれか一項に記載のポリペプチドもしくはその免疫原性断片、または請求項17～19のいずれか一項に記載の抗体を含む容器と、キットを使用するための説明書とを含むキット。 10

【請求項 4 3】

請求項6～8のいずれか一項に記載のポリペプチドと、対象に由来する試料における、ヒシアデノウイルス（BaAdV）-3またはBaAdV-4に特異的に結合する抗体の存在の検出のための説明書とを含むキット。 20

【請求項 4 4】

請求項17～19のいずれか一項に記載の抗体と、対象に由来する試料における、ヒシアデノウイルス（BaAdV）-3またはBaAdV-4のポリペプチドの存在の検出のための説明書とを含むキット。

【請求項 4 5】

請求項10～12のいずれか一項に記載の宿主細胞を培養する工程を含む、タンパク質を発現させる方法。

【請求項 4 6】

請求項6～8のいずれか一項に記載のポリペプチドまたはその免疫原性断片によって哺乳動物を免疫化し、それによって、該ポリペプチドに特異的に結合する抗体を作製する工程を含む、抗体を作製する方法。 30

【請求項 4 7】

SEQ ID NO:5～109のうちの一つとして示されたアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド。

【請求項 4 8】

SEQ ID NO:5～109のうちの一つとして示されたアミノ酸配列からなる、請求項47に記載の単離されたポリペプチド。

【請求項 4 9】

請求項47または請求項48に記載のポリペプチドを含むアデノウイルス。 40

【請求項 5 0】

請求項13～16のいずれか一項に記載のベクターを含むアデノウイルス。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

優先権主張

本願は、参照によって本明細書に組み入れられる2013年1月15日出願の米国仮出願第61/752,876号の恩典を主張する。

【0002】

政府の支援に関する記述

本発明は、National Institutes of Healthによって授与されたグラント番号U54-AI057156、U54-AI57168、R56-AI089532、およびR01-HL105704の下で政府の支援を受けて作成された。政府は本発明における一定の権利を有している。

【0003】

分野

本開示は、ウイルス自体、ウイルスベクター、検出の方法、および処置の方法を含む、アデノウイルスの分野に関する。

【背景技術】

【0004】

背景

エボラウイルスおよびH5N1トリインフルエンザに起因するものを含め、ヒトにおける多くの新興感染症が、動物由来である (Morens et al., 2004, Nature 430:242-249 (非特許文献1))。ヒトと非ヒト霊長類 (NHP) との間の近い系統発生的関係のため、ヒトは、類人猿およびサルが保有する病原体からの異種間感染を特に受けやすい (Pedersen and Davies, Ecohealth 6:496-508 (非特許文献2))。NHPとヒトとの間の疾患転移のリスクは、ヒトがNHPの多様な近縁種と頻繁に接触する、中央アフリカおよび西アフリカの森林ならびにアマゾン盆地のようなホットスポットにおいて、最も大きい可能性がある (Pedersen and Davies (前記))。動物園および捕獲されたNHPを収容する研究施設も、新興病原体の異種間伝達が起こり得る状況を表す (Chen et al., 2011, PLoS Pathog 7:e1002155 (非特許文献3); Miller and Fowler, 2012, Fowler's zoo and wild animal medicine: current therapy. St. Louis, Mo.: Elsevier/Saunders. xviii, 669 p. (非特許文献4); Murphy et al., 2006, J Zoo Wildl Med 37:219-233 (非特許文献5))。

【0005】

アデノウイルス (AdV) は、ヒトおよびNHPを含む広範囲の脊椎動物宿主を天然に感染させる二本鎖DNAウイルスである (Wold and Horwitz, 2007, Adenoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. Fields Virology. 5th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. pp. 2395-2436 (非特許文献6))。ヒトにおいて、AdVに起因する感染には、結膜炎、胃腸炎、肝炎、心筋炎、および肺炎が含まれる (Wold and Horwitz, 2007 (前記); Lewis et al., 2009, J Infect Dis 199:1427-1434 (非特許文献7); Louie et al., 2008, Clin Infect Dis 46:421-425 (非特許文献8))。霊長類を感染させるAdVを包含するマストアデノウイルス (Mastadenovirus) 属のメンバーは、7つのヒトAdV種A~G (HAdV-A~HAdV-G) および1つのサルAdV種A (SAdV-A) を含むものとして、International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) によって分類されている (Harrach et al., 2011, Family Adenoviridae. In: King A, Adams M, Carstens E, Lefkowitz E, editors. Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Elsevier. pp. 95-111 (非特許文献9))。最近、系統発生的に異なるAdV種群のメンバーSAdV-Bも、捕獲された無症候性アカゲザルに由来する糞便試料中に発見された (Roy et al., 2012, Emerg Infect Dis 18:1081-1088 (非特許文献10))。AdVは、それぞれの宿主との共進化のため、極めて狭い宿主域を示すと従来考えられているが (Wold and Horwitz, 2007 (前記); Roy et al., 2009, PLoS Pathog 5:e1000503 (非特許文献11))、サルとヒトとの間のAdVの異種間伝達の可能性を支持する証拠は増えてきている。NHP由来の糞便試料中に同定されたAdVは、ヒト株との著しい類似性を共有することが見出され、従来の「ヒト」種群HAdV-A~HAdV-Eへ系統発生的に分類され得た (Roy et al., 2011 (前記); Wevers et al., 2011, J Virol 85:10774-10784 (非特許文献12))。流行地域に住むヒトにおいて、大規模な血清学的調査によって、サルAdVに対する抗体が検出された (Ersching et al., 2010, Virology 407:1-6 (非特許文献13); Xiang et al., 2006, Emerg Infect Dis 12:1596-1599 (非特許文献14))。さらに、新規AdV、ティティモンキーアデノウイルス (TMAdV) は、新世界ティティモンキーのコロニーにおける肺炎および肝炎の致死性大流行の原因として以前に記載されたが、それは、大流行を調査した科学者および家族における異種間呼吸器感染に

10

20

30

40

50

も関連していた (Chen et al., 2011 (前記))。NHPアデノウイルスを同定し、これらのウイルスのうちのどれがヒトを感染させ得るかを決定する必要が、残存している。

【先行技術文献】

【非特許文献】

【0006】

【非特許文献1】Morens et al., 2004, Nature 430:242-249

【非特許文献2】Pedersen and Davies, Ecohealth 6:496-508

【非特許文献3】Chen et al., 2011, PLoS Pathog 7:e1002155

【非特許文献4】Miller and Fowler, 2012, Fowler's zoo and wild animal medicine: current therapy. St. Louis, Mo.: Elsevier/Saunders. xviii, 669 p.

10

【非特許文献5】Murphy et al., 2006, J Zoo Wildl Med 37:219-233

【非特許文献6】Wold and Horwitz, 2007, Adenoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. Fields Virology. 5th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. pp.2395-2436

【非特許文献7】Lewis et al., 2009 J Infect Dis 199:1427-1434

【非特許文献8】Louie et al., 2008, Clin Infect Dis 46:421-425

【非特許文献9】Harrach et al., 2011, Family Adenoviridae. In: King A, Adams M, Carstens E, Lefkowitz E, editors. Virus Taxonomy: Classification and Nomenclature of Viruses Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses. San Diego: Elsevier. pp.95-111

20

【非特許文献10】Roy et al., 2012, Emerg Infect Dis 18:1081-1088

【非特許文献11】Roy et al., 2009, PLoS Pathog 5:e1000503

【非特許文献12】Wevers et al., 2011, J Virol 85:10774-10784

【非特許文献13】Ersching et al., 2010, Virology 407:1-6

【非特許文献14】Xiang et al., 2006, Emerg Infect Dis 12:1596-1599

【発明の概要】

【0007】

概要

単離されたヒビアデノウイルス (BaAdV) -2/4およびBaAdV-3が、本明細書に開示される。いくつかの態様において、BaAdV-2/4およびBaAdV-3のポリヌクレオチド、ポリペプチド、ならびにBaAdV-2/4および/またはBaAdV-3に特異的に結合する抗体が開示される。付加的な態様において、BaAdV-2/4およびBaAdV-3を検出するための方法が開示される。さらなる態様において、BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3の感染を処置し、防止し、それらに対する免疫応答を誘導する方法が、開示される。

30

【0008】

いくつかの態様において、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3、またはそれらの相補物に対して全長にわたり少なくとも90%の配列同一性を有している少なくとも100ヌクレオチド長のヌクレオチド配列を含む単離された核酸が提供される。他の態様において、単離された核酸は (a) SEQ ID NO:1として示された核酸配列のヌクレオチド1~29686および29812~34402と少なくとも90%同一の核酸配列; (b) SEQ ID NO:2として示された核酸配列のヌクレオチド1~11334および13060~34391と少なくとも90%同一の核酸配列; または (c) SEQ ID NO:3のヌクレオチド1~11334および13060~34391として示されたヌクレオチド配列と少なくとも90%同一のヌクレオチド配列を含む。いくつかの具体的な非限定的な例において、これらの核酸は組換え核酸であり得る。付加的な非限定的な例において、これらの核酸はcDNAである。複製欠損型ウイルスを含む、これらのポリヌクレオチドを含むウイルスも提供される。付加的な態様において、これらの核酸によってコードされたポリペプチドをコードする発現ベクターおよびこれらの核酸によって形質転換された宿主細胞が提供される。

40

【0009】

付加的な態様は、これらのポリヌクレオチドによってコードされたポリペプチドおよび

50

これらのポリペプチドに結合する抗体を含む。

【0010】

これらの核酸、ポリペプチド、ウイルス、発現ベクター、宿主細胞、および抗体は、BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3の感染を検出する、処置する、防止する、およびそれらに対する免疫応答を生成するための方法において有用である。

【0011】

上記およびその他の特色および利点は、添付の図面を参照しながら進む、以下のいくつかの態様の詳細な説明から、より明白になるであろう。

【0012】

配列表

10

配列表は、37CFR 1.821(c)の下で許容されるように、2014年1月15日に作成され、およそ564キロバイトというサイズを有する「Sequence_Listing.txt」と命名されたASCIIコンプライアントテキストファイルとして本明細書と共に提出される。上記ファイル中のデータは、参照によってその全体が本明細書に組み入れられる。核酸およびアミノ酸は、37C.F.R.1.822に定義されるような、ヌクレオチド塩基のための標準的な略語、およびアミノ酸のための3文字記号または1文字記号を使用して示される。各核酸配列の一方の鎖のみが示されるが、表示された鎖を参照することによって、相補鎖が含まれることが理解される。

【0013】

SEQ ID NO:1は、BaAdV-2の核酸配列である。

20

【0014】

SEQ ID NO:2は、BaAdV-4の核酸配列である。

【0015】

SEQ ID NO:3は、BaAdV-3の核酸配列である。

【0016】

SEQ ID NO:4は、BaAdV-1の核酸配列である。

【0017】

SEQ ID NO:5~39は、BaAdV-2によってコードされたポリペプチドのアミノ酸配列である。

【0018】

SEQ ID NO:40~74は、BaAdV-4によってコードされたポリペプチドのアミノ酸配列である。

30

【0019】

SEQ ID NO:75~109は、BaAdV-3によってコードされたポリペプチドのアミノ酸配列である。

【0020】

SEQ ID NO:110~143は、BaAdV-1によってコードされたポリペプチドのアミノ酸配列である。SEQ ID NO:1~4のオープンリーディングフレームの位置は、実施例のセクションに提供される。

【図面の簡単な説明】

40

【0021】

【図1A】ヒシアデノウイルス大流行の疫学的特色。成体雌ヒヒおよびその乳仔の画像。大流行は、以前は健康であった新生仔ヒヒにおける致死性肺炎の症例に関連していた。

【図1B】ヒシアデノウイルス大流行の疫学的特色。肺炎で死亡したヒヒ（骨格）、呼吸器症状を含む臨床的疾患を有したが、生存したヒヒ（黒）、および無症候性ヒヒ（灰色）の位置を示している、2個の別々の部屋にケージが置かれている、大流行の間のヒヒナースアリーの地図。この研究において遺伝学的に特徴決定された新規AdV（BaAdV₁、BaAdV₂、BaAdV₃、BaAdV₄）は、病気のヒヒ（B5）ならびに無症候性ヒヒ（B4、B8、およびB9）の両方に由来する鼻スワブから単離された。

【図2】ディープシーケンシングによる新規ヒシアデノウイルス（BaAdV₁、BaAdV₂、BaAd

50

V_3 、BaAdV₄) のゲノムカバレッジ。ウイルスゲノムの一部は、デノボアセンブリアプローチを使用して、ディープシーケンシングリードから直接回収された (黒バー)。サンガー配列決定によるゲノムの完成および確認の後、ディープシーケンシングリードが、対応するAdVゲノムにマッピングされる。ゲノム (x軸) に沿って各位置において達成されたカバレッジ (y軸) が、対数スケールでプロットされる。略語: nt、ヌクレオチド。

【図3 A】BaAdV₁ およびBaAdV_{2,4} のゲノム構成ならびに関連アデノウイルスとのペアワイズアライメント。2種のヒビAdV、種SAdV-B AdVであるBaAdV₁ (A) および種H AdVであるBaAdV_{2,4} (B) に対応するゲノム構成のマップが示される。中央の黒線の上のボックスは、順方向鎖上にコードされたオープンリーディングフレーム (ORF) を表し、黒線より下のボックスは、逆方向鎖によってコードされたORFを表す。初期領域ORFは灰色の影付きである。選択された関連するヒトAdV (薄い灰色)、サルAdV (濃い灰色)、または新規ヒビAdV (中間の灰色) と比べたBaAdV₁ (A) およびBaAdV_{2,4} (B) のヌクレオチドペアワイズ同一性のスキニングが、全体パーセント同一性が減少する順に示される。x軸は、ゲノムに沿ったヌクレオチド位置をさす。

10

【図3 B】BaAdV₁ およびBaAdV_{2,4} のゲノム構成ならびに関連アデノウイルスとのペアワイズアライメント。2種のヒビAdV、種SAdV-B AdVであるBaAdV₁ (A) および種H AdVであるBaAdV_{2,4} (B) に対応するゲノム構成のマップが示される。中央の黒線の上のボックスは、順方向鎖上にコードされたオープンリーディングフレーム (ORF) を表し、黒線より下のボックスは、逆方向鎖によってコードされたORFを表す。初期領域ORFは灰色の影付きである。選択された関連するヒトAdV (薄い灰色)、サルAdV (濃い灰色)、または新規ヒビAdV (中間の灰色) と比べたBaAdV₁ (A) およびBaAdV_{2,4} (B) のヌクレオチドペアワイズ同一性のスキニングが、全体パーセント同一性が減少する順に示される。x軸は、ゲノムに沿ったヌクレオチド位置をさす。

20

【図4 A】他のアデノウイルスと比べたBaAdV₁、BaAdV_{2,4}、およびBaAdV₃ のアミノ酸系統発生学的分析。ヘキソン。種A~Gの代表的な霊長類AdV、SAdV-AおよびSAdV-B、ならびに非霊長類AdVが、系統発生学的分析に含まれた。ベイズのサポートレベルが各分岐点に示される。この研究において同定された4種の新規BaAdVおよび提唱された「種H」表記は太字で示されている。略語およびGENBANK (登録商標) アクセッション番号は本文中に記載される。

【図4 B】他のアデノウイルスと比べたBaAdV₁、BaAdV_{2,4}、およびBaAdV₃ のアミノ酸系統発生学的分析。ペントンベース。種A~Gの代表的な霊長類AdV、SAdV-AおよびSAdV-B、ならびに非霊長類AdVが、系統発生学的分析に含まれた。ベイズのサポートレベルが各分岐点に示される。この研究において同定された4種の新規BaAdVおよび提唱された「種H」表記は太字で示されている。略語およびGENBANK (登録商標) アクセッション番号は本文中に記載される。

30

【図4 C】他のアデノウイルスと比べたBaAdV₁、BaAdV_{2,4}、およびBaAdV₃ のアミノ酸系統発生学的分析。DNAポリメラーゼ。種A~Gの代表的な霊長類AdV、SAdV-AおよびSAdV-B、ならびに非霊長類AdVが、系統発生学的分析に含まれた。ベイズのサポートレベルが各分岐点に示される。この研究において同定された4種の新規BaAdVおよび提唱された「種H」表記は太字で示されている。略語およびGENBANK (登録商標) アクセッション番号は本文中に記載される。

40

【図4 D】他のアデノウイルスと比べたBaAdV₁、BaAdV_{2,4}、およびBaAdV₃ のアミノ酸系統発生学的分析。ファイバー。種A~Gの代表的な霊長類AdV、SAdV-AおよびSAdV-B、ならびに非霊長類AdVが、系統発生学的分析に含まれた。ベイズのサポートレベルが各分岐点に示される。この研究において同定された4種の新規BaAdVおよび提唱された「種H」表記は太字で示されている。略語およびGENBANK (登録商標) アクセッション番号は本文中に記載される。

【図5 A】他のアデノウイルスと比べたBaAdV₁ およびBaAdV_{2,4} のアミノ酸ペアワイズ同一性。代表的なヒト、サル、およびマウスのAdVに対して比較がなされる。アミノ酸ペアワイズ同一性の表がヒートマップとして示される; グレースケールは、10~100%のペアワ

50

イズ同一性に対応する(パー)。

【図5B】他のアデノウイルスと比べたBaAdV₁およびBaAdV_{2,4}のアミノ酸ペアワイズ同一性。代表的なヒト、サル、およびマウスのAdVに対して比較がなされる。アミノ酸ペアワイズ同一性の表がヒートマップとして示される；グレースケールは、10~100%のペアワイズ同一性に対応する(パー)。

【図6A】種HアデノウイルスBaAdV₃における組換えの証拠。BaAdV₃と比べた種SAdV-B、F、G、およびHのAdVの類似性プロット(上)およびブートスキャニングプロット(下)が示される。ブートスキャニング分析は、相違しているショートファイバー遺伝子(星印)に対応する領域における可能性の高い組換えブレイクポイントを明らかにしている。x軸はヌクレオチド位置をさす。ゲノム構成マップは、図3と同様の注釈が付けられる。略語：nt、ヌクレオチド。

【図6B】種HアデノウイルスBaAdV₃における組換えの証拠。BaAdV_{2,4}と、未だ同定されていないAdVに由来するショートファイバー遺伝子とを含む組換えイベントによってBaAdV₃が生成されるという仮説モデルが示される。略語：nt、ヌクレオチド。

【発明を実施するための形態】

【0022】

詳細な説明

ヒトおよび非ヒト霊長類においてインフルエンザ様症状を引き起こすヒシアデノウイルスが、本明細書に開示される。これらのアデノウイルスは、ヒシアデノウイルス(BaAdV)-1に関連しているが、ヒシアデノウイルス群FおよびGの中間の新しいアデノウイルス群に含まれる。これらのアデノウイルスには、BaAdV-2およびBaAdv-2/4が含まれる。

【0023】

BaAdV-2/4およびBaAdV-3のポリヌクレオチド、ポリペプチド、ならびにBaAdV-2/4および/またはBaAdV-3に特異的に結合する抗体が開示される。付加的な態様において、BaAdV-2/4およびBaAdV-3を検出する方法が開示される。BaAdV-3、BaAdV-2/4、BaAdVの核酸(BaAdV-3およびBaAdV-2/4の両方のゲノムおよび遺伝子)、BaAdV-2/4およびBaAdV-3の抗体、ならびにBaAdV-2/4およびBaAdV-3のポリペプチドを検出する診断アッセイが、本明細書に開示される。方法は、対象におけるBaAdV-2/4および/またはBaAdV-3の初期感染を診断するために使用され得る。

【0024】

さらなる態様において、対象におけるBaAdV-2/4および/またはBaAdV-3の感染を処置し、防止し、それらに対する免疫応答を誘導する方法が、開示される。

【0025】

II. 用語

他に示されない限り、技術用語は従来用法に従って使用される。分子生物学における一般的な用語の定義は、Benjamin Lewin, Genes V, published by Oxford University Press, 1994 (ISBN 0-19-854287-9); Kendrew et al. (eds.), The Encyclopedia of Molecular Biology, published by Blackwell Science Ltd., 1994 (ISBN 0-632-02182-9); および Robert A. Meyers (ed.), Molecular Biology and Biotechnology: a Comprehensive Desk Reference, published by VCH Publishers, Inc., 1995 (ISBN 1-56081-569-8)に見出され得る。本開示の様々な態様の検討を容易にするため、具体的な用語の以下の説明が提供される：

【0026】

アデノウイルス：DNAを含有している正二十面体(20の面を有する)ウイルスの科。2つの属、マストアデノウイルスおよびトリアデノウイルス(Aviadenovirus)が、アデノウイルス科に含まれる。アデノウイルスの40を超えるセロタイプ株が存在し、それらの大部分がヒトにおける良性気道感染を引き起こすが、亜群Cのセロタイプ2または5は、主にベクターとして使用される。ライフサイクルは、通常、宿主ゲノムへの組み込みを含まず、むしろ、アデノウイルスは、宿主細胞の核内でエピソーム要素として複製し、ゲノムへは挿入されない。「アデノウイルスベクター」は、公に利用可能なアデノウイルスDNAに由来するベクターである。最低でも、アデノウイルスベクターは、アデノウイルスの末端逆

10

20

30

40

50

位配列を含む。

【0027】

投与 (Administering) または投与 (administration) : 治療の過程で有効量の組成物または医薬を治療的にまたは予防的に投与すること。予防的投与は、アデノウイルス感染に特徴的な症状の顕在化の前に行われ得る。

【0028】

動物 : 例えば、哺乳動物およびトリを含むカテゴリである、生存している多細胞脊椎生物。

【0029】

抗体 : アデノウイルスポリペプチドまたはその抗原性断片のようなアナライト (抗原) に特異的に結合し、それを認識する、免疫グロブリン遺伝子によって実質的にコードされたポリペプチドまたはその抗原結合断片。免疫グロブリン遺伝子には、カッパ、ラムダ、アルファ、ガンマ、デルタ、イプシロン、およびミュー定常領域遺伝子、ならびに無数の免疫グロブリン可変領域遺伝子が含まれる。

10

【0030】

抗体は、例えば、完全な免疫グロブリン、および様々なペプチダーゼによる消化によって作製された多数のよく特徴決定された断片として存在する。例えば、アデノウイルスに特異的に結合するFab、Fv、および一本鎖Fv (scFv) は、アデノウイルスに特異的な結合剤であろう。scFvタンパク質は、免疫グロブリンの軽鎖可変領域および免疫グロブリンの重鎖可変領域が、リンカーによって結合している融合タンパク質であり、dsFvにおいては、鎖の会合を安定化するジスルフィド結合を導入するため、鎖が変異させられている。その用語には、(ヒト化マウス抗体のような)キメラ抗体、二重特異性抗体のようなヘテロコンジュゲート抗体のような、遺伝子的に操作された形態も含まれる。Pierce Catalog and Handbook, 1994-1995 (Pierce Chemical Co., Rockford, IL); Kuby, J., Immunology, 3rd Ed., W.H. Freeman & Co., New York, 1997も参照すること。

20

【0031】

抗体断片は、以下のように定義される : (1) Fab、完全な軽鎖および1本の重鎖の一部を与えるため、酵素パインによる完全抗体の消化によって作製される、抗体分子の1価抗原結合断片を含有している断片 ; (2) Fab'、完全な軽鎖および重鎖の一部を与えるため、ペプシンによって完全抗体を処理した後、還元することによって入手される、抗体分子の断片 ; 1抗体分子につき2個のFab'断片が入手される ; (3) (Fab')₂、酵素ペプシンによって完全抗体を処理することによって、その後、還元することなく入手される、抗体の断片 ; (4) F(ab')₂、2個のジスルフィド結合によってつながれた2個のFab'断片の二量体 ; (5) Fv、2本の鎖として発現された軽鎖の可変領域および重鎖の可変領域を含有している遺伝子的に操作された断片 ; ならびに (6) 一本鎖抗体 (「SCA」)、遺伝学的に融合された一本鎖分子として、適当なポリペプチドリナーによって連結された、軽鎖の可変領域、重鎖の可変領域を含有している遺伝子的に操作された分子。「抗体」という用語には、本明細書において使用されるように、完全抗体の修飾によって作製された抗体断片または組換えDNA方法論を使用してデノボ合成されたものも含まれる。

30

【0032】

典型的には、天然に存在する免疫グロブリンは、ジスルフィド結合によって相互接続された重鎖 (H) および軽鎖 (L) を有する。2つの型の軽鎖、ラムダ () およびカッパ () が存在する。抗体分子の機能的活性を決定する5つの主な重鎖クラス (またはアイソタイプ) が存在する : IgM、IgD、IgG、IgA、およびIgE。

40

【0033】

重鎖および軽鎖は、各々、定常領域および可変領域を含有している (領域は「ドメイン」としても公知である)。重鎖および軽鎖の可変領域の組み合わせが、抗原に特異的に結合する。軽鎖および重鎖の可変領域は、「相補性決定領域」または「CDR」とも呼ばれる3個の超可変領域によって中断された「フレームワーク」領域を含有している。フレームワーク領域およびCDRの範囲は定義されている (参照によってその全体が本明細書に組み入

50

れられるKabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services, 1991を参照すること)。カバットデータベースは現在オンラインで維持されている。他のデータベースにはIMGTデータベースが含まれる。異なる軽鎖または重鎖のフレームワーク領域の配列は、種内で比較的保存されている。構成している軽鎖および重鎖のフレームワーク領域の組み合わせである抗体のフレームワーク領域は、三次元空間におけるCDRの位置を決め整列させるために役立つ。

【0034】

CDRは、抗原のエピトープへの結合を主として担っている。各鎖のCDRは、典型的には、N末端から順に番号付けられてCDR1、CDR2、およびCDR3と呼ばれ、典型的には、特定のCDRが位置する鎖によっても同定される。従って、 V_H CDR3は、それが見出される抗体の重鎖の可変ドメインに位置し、 V_L CDR1は、それが見出される抗体の軽鎖の可変ドメインに由来するCDR1である。軽鎖CDRは、CDR L1、CDR L2、およびCDR L3と呼ばれる場合もある。重鎖CDRは、CDR H1、CDR H2、およびCDR H3と呼ばれる場合もある。

10

【0035】

「 V_H 」または「VH」との言及は、Fv、scFv、dsFv、またはFabのような抗体断片のものを含む、免疫グロブリン重鎖の可変領域をさす。「 V_L 」または「VL」との言及は、Fv、scFv、dsFv、またはFabのものを含む、免疫グロブリン軽鎖の可変領域をさす。

【0036】

「モノクローナル抗体」とは、Bリンパ球の単一のクローンによって、または単一の抗体の軽鎖および重鎖の遺伝子がトランスフェクトされた細胞によって産生される抗体である。モノクローナル抗体は、当業者に公知の方法によって、例えば、骨髄腫細胞の免疫脾細胞との融合からハイブリッド抗体形成細胞を作成することによって作製される。これらの融合細胞およびそれらの子孫は「ハイブリドーマ」と名付けられている。モノクローナル抗体には、ヒト化モノクローナル抗体が含まれる。いくつかの例において、モノクローナル抗体は、対象から単離される。そのような単離されたモノクローナル抗体のアミノ酸配列を決定することができる。

20

【0037】

「ポリクローナル」抗体とは、同一の抗原に特異的に結合する異なるBリンパ球から入手される抗体である；抗体は、同一の抗原の数種のエピトープに結合することができる。いくつかの態様において、これらの抗体は、限定されないが、マウス、ウサギ、またはヤギのような適当な哺乳動物への抗原の接種によって作製される。高力価高親和性抗血清を作製するために設計された、ポリクローナル抗体の作製のための多くの方法論が、当技術分野において公知である。

30

【0038】

「ヒト化」免疫グロブリンとは、ヒトフレームワーク領域と、(マウス、ラット、または合成のような)非ヒト免疫グロブリンに由来する1個以上のCDRとを含む免疫グロブリンである。CDRを提供する非ヒト免疫グロブリンは「ドナー」と名付けられ、フレームワークを提供するヒト免疫グロブリンは「アクセプター」と名付けられている。一つの態様において、ヒト化免疫グロブリンにおける全てのCDRが、ドナー免疫グロブリンに由来する。定常領域は、必ずしも存在しなくてもよいが、存在する場合には、ヒト免疫グロブリン定常領域に実質的に同一、例えば、少なくとも約85~90%、例えば、約95%以上、同一でなければならない。従って、おそらくCDR以外のヒト化免疫グロブリンの全ての部分が、天然ヒト免疫グロブリン配列の対応する部分と実質的に同一である。「ヒト化抗体」とは、ヒト化軽鎖およびヒト化重鎖免疫グロブリンを含む抗体である。ヒト化抗体は、CDRを提供するドナー抗体と同一の抗原に結合する。ヒト化免疫グロブリンまたはヒト化抗体のアクセプターフレームワークは、ドナーフレームワークから取られたアミノ酸による限られた数の置換を有していてもよい。ヒト化抗体またはその他のモノクローナル抗体は、抗原結合またはその他の免疫グロブリン機能に対して実質的に効果を及ぼさない付加的な保存的アミノ酸置換を有していてもよい。ヒト化免疫グロブリンは、遺伝子操作によって構築され得る(例えば、米国特許第5,585,089号を参照すること)。

40

50

【0039】

抗体親和性は、抗体のその抗原との特異的結合の尺度である。一つの態様において、親和性は、Frankel et al., Mol. Immunol., 16:101-106, 1979によって記載されたスキャッチャード法の修飾によって計算される。別の態様において、結合親和性は、抗原/抗体解離速度によって測定される。さらに別の態様において、高い結合親和性は、競合ラジオイムノアッセイによって測定される。いくつかの例において、高い結合親和性は、少なくとも約 1×10^{-8} Mである。他の態様において、高い結合親和性は、少なくとも約 1.5×10^{-8} 、少なくとも約 2.0×10^{-8} 、少なくとも約 2.5×10^{-8} 、少なくとも約 3.0×10^{-8} 、少なくとも約 3.5×10^{-8} 、少なくとも約 4.0×10^{-8} 、少なくとも約 4.5×10^{-8} 、または少なくとも約 5.0×10^{-8} Mである。

10

【0040】

「特異的に（または選択的に）結合する」または「特異的に（または選択的に）免疫反応性の」という語句は、タンパク質またはペプチドをさす時、しばしばタンパク質およびその他の生物製剤の不均一な集団における、タンパク質の存在の決定因となる結合反応をさす。従って、指定されたイムノアッセイ条件の下で、指定の抗体は、バックグラウンドの少なくとも2倍、より典型的には、バックグラウンドの10~100倍を超えて、特定のタンパク質に結合する。そのような条件の下での抗体との特異的結合は、特定のタンパク質に対する特異性について選択される抗体を必要とする。例えば、BaAdV-3、多形バリエーション、対立遺伝子、オルソログ、および保存的に修飾されたバリエーション、もしくはスプライスバリエーション、またはそれらの一部に特異的に結合する抗体は、BaAdV-3と特異的に免疫反応性であり、BaAdV-1および/またはBaAdV-2/4のもののような他のタンパク質とは免疫反応性でない抗体のみを得るために選択され得る。同様に、BaAdV-2/4、多形バリエーション、対立遺伝子、オルソログ、および保存的に修飾されたバリエーション、もしくはスプライスバリエーション、またはそれらの一部に特異的に結合する抗体は、BaAdV-2/4と特異的に免疫反応性であり、BaAdV-1および/またはBaAdV-3のもののような他のタンパク質とは免疫反応性でない抗体のみを得るために選択され得る。この選択は、他の分子と交差反応する抗体を差し引くことによって達成され得る。本明細書に記載されるように、多様なイムノアッセイフォーマットを、特定のタンパク質と特異的に免疫反応性の抗体を選択するために使用することができる。

20

【0041】

アンチセンス、センス、およびアンチジーン：二本鎖DNA (dsDNA) は、2本の鎖（プラス鎖と呼ばれる5'→3'鎖、およびマイナス鎖と呼ばれる3'→5'鎖）を有している。RNAポリメラーゼは5'→3'方向に核酸を付加するため、DNAのマイナス鎖は、転写においてRNAの鋳型として役立つ。従って、形成されたRNAは、（チミンが塩基ウラシルに置換される以外）マイナス鎖に相補的でありプラス鎖と同一である配列を有するであろう。

30

【0042】

アンチセンス分子は、RNAまたはDNAのプラス鎖のいずれかに特異的にハイブリダイズ可能であるかまたは特異的に相補的である分子である。センス分子は、DNAのマイナス鎖に特異的にハイブリダイズ可能であるかまたは特異的に相補的である分子である。アンチジーン分子は、DNA標的に指し向けられたアンチセンス分子またはセンス分子のいずれかである。

40

【0043】

アダプター：標的に対して望ましい作用を及ぼす、天然に存在しない核酸。望ましい作用には、標的の結合、標的の触媒的な変化、標的または標的の機能的活性を修飾する/改変するような標的との反応、自殺阻害剤の場合のような標的への共有結合性の付着、標的と別の分子との間の反応の促進が含まれるが、これらに限定されない。アダプター作用は、標的分子に対する特異的な結合親和性であり得、そのような標的分子は、主にワトソン/クリック塩基対合または三重ヘリックス結合に依る機序を通して核酸リガンドに結合するポリヌクレオチド以外の三次元化学構造であり、核酸リガンドは、標的分子が結合するという既知の生理学的機能を有する核酸ではない。

50

【 0 0 4 4 】

「siRNA」分子または「RNAi」分子とは、siRNAが遺伝子または標的遺伝子と同一の細胞において発現された時に、遺伝子または標的遺伝子の発現を低下させるかまたは阻害する能力を有する二本鎖RNAを形成する核酸をさす。従って、「siRNA」とは、相補鎖によって形成された二本鎖RNAをさす。二本鎖分子を形成するためにハイブリダイズするsiRNAの相補的な部分は、典型的には、実質的または完全な同一性を有している。一つの態様において、siRNAとは、標的遺伝子に対する実質的または完全な同一性を有しており、二本鎖siRNAを形成する核酸をさす。siRNAの配列は、全長標的遺伝子またはその部分配列に対応し得る。典型的には、siRNAは、少なくとも約15~50ヌクレオチド長である（例えば、二本鎖siRNAの各相補配列は、15~50ヌクレオチド長であり、二本鎖siRNAは、約15~50塩基対長、好ましくは、約20~30塩基ヌクレオチド、好ましくは、約20~25または約24~29ヌクレオチド長、例えば、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30ヌクレオチド長である。参照によってその全体が本明細書に組み入れられるPCT/US03/07237も参照すること。

10

【 0 0 4 5 】

「アンチセンス」という用語は、それがハイブリダイズする標的核酸分子に少なくとも部分的に相補的であるオリゴマー化合物または分子をさす。アンチセンス化合物またはアンチセンス分子には、オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオシド、オリゴヌクレオチド類似体、オリゴヌクレオチド模倣体、およびキメラ組み合わせが含まれるが、これらに限定されない。

20

【 0 0 4 6 】

siRNAまたはRNAiが、標的核酸を発現する細胞において発現された時に、核酸の発現を少なくとも約10%低下させる場合、そのsiRNAまたはアンチセンス分子またはRNAi分子は、その標的核酸に対して「特異的」である。

【 0 0 4 7 】

ヒシアデノウイルス（BaAdV）：ウイルスの遺伝成分、例えば、ゲノムおよびそのRNA転写物、（構造タンパク質および非構造タンパク質を含む）ゲノムによってコードされたタンパク質、Bのようなヒシアデノウイルスのウイルス粒子をさすために使用される用語。核酸配列とは、BaAdV-3およびBaAdV-2/4のようなBaAdVをさす時、以下のような核酸およびポリペプチドの多形パリアント、対立遺伝子、変異体、および異種間相同体をさすことができる。（1）SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、およびSEQ ID NO:3のヌクレオチド配列に対して、好ましくは、少なくとも約25、50、100、200、500、1000、またはそれ以上の核酸、全長配列までの領域において、約90%より大きい、好ましくは、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%、またはそれ以上のヌクレオチド配列同一性を有するヌクレオチド配列を有するもの；（2）SEQ ID NO:1~3のオープンリーディングフレーム（ORF）によってコードされたタンパク質のアミノ酸配列；および保存的に修飾されたそれらのパリアントを含む免疫原に対して作製された抗体、例えば、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体に結合するもの；（3）SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、およびSEQ ID NO:3の核酸配列、ならびにそれらのパリアントに対応するアンチセンス鎖とストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の下で特異的にハイブリダイズするもの；（4）SEQ ID NO:1、2、および3のオープンリーディングフレームによってコードされた（ショートファイバー、E1、E3、E4等のタンパク質のような）ポリペプチドに対して、好ましくは、少なくとも約25アミノ酸、50アミノ酸、100アミノ酸、200アミノ酸、500アミノ酸、1000アミノ酸、またはそれ以上の領域において、約60%より大きいヌクレオチド配列同一性、65%、70%、75%、80%、85%、90%、好ましくは、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%、またはそれ以上のヌクレオチド配列同一性を有するアミノ酸配列を有するタンパク質をコードするもの。オープンリーディングフレームの位置は、添付の付録において示され、コードされたポリペプチドのアミノ酸配列が提供される。

30

40

【 0 0 4 8 】

50

「BaAdVによってコードされたポリペプチド」またはBaAdVオープンリーディングフレーム（ORF）との同一性を含む「ヌクレオチド配列によってコードされたポリペプチド」とは、以下のようなアデノウイルスの構造タンパク質および非構造タンパク質をさす：（１）SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、およびSEQ ID NO:3のヌクレオチド配列に対して、好ましくは、少なくとも約25、50、100、200、500、1000、またはそれ以上の核酸、全長配列までの領域において、約60%より大きいヌクレオチド配列同一性、65%、70%、75%、80%、85%、90%、好ましくは91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%、またはそれ以上のヌクレオチド配列同一性を有するヌクレオチド配列を有する核酸によってコードされたもの；（２）SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、およびSEQ ID NO:3のオープンリーディングフレームによってコードされたタンパク質のアミノ酸配列；および保存的に修飾されたそれらのパリアントを含む免疫原に対して作製された抗体、例えば、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体に特異的に結合するもの；（３）SEQ ID NO:5～109のうちの一つのような、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、およびSEQ ID NO:3のオープンリーディングフレームによってコードされたタンパク質に対して、好ましくは、少なくとも約25アミノ酸、50アミノ酸、100アミノ酸、200アミノ酸、500アミノ酸、1000アミノ酸、またはそれ以上の領域において、約60%より大きいヌクレオチド配列同一性、65%、70%、75%、80%、85%、90%、好ましくは、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、もしくは99%、またはそれ以上を有するアミノ酸配列を有するタンパク質をコードするもの。ウイルスの構造タンパク質および非構造タンパク質のアミノ酸配列は、本開示の配列を他のアデノウイルス配列と整列させることによって、本明細書に開示されたアルゴリズムを使用して、当業者によって容易に同定され得る。

【0049】

「BaAdV感染」とは、細胞または対象におけるBaAdVの侵入、増殖、および/または存在をさす。

【0050】

結合または安定的結合：結合の検出を可能にするために十分な量のオリゴヌクレオチドが標的核酸と塩基対を形成するかまたはハイブリダイズする場合、そのオリゴヌクレオチドは、その標的核酸に結合するかまたは安定的に結合する。結合は、標的:オリゴヌクレオチド複合体の物理的特性または機能的特性のいずれかによって検出され得る。標的とオリゴヌクレオチドとの間の結合は、機能的または物理的な結合アッセイの両方を含む当業者に公知の手法によって検出され得る。結合は、遺伝子の発現、DNAの複製、転写、翻訳等のような生合成過程に対して結合が観察可能な効果を及ぼすかどうかを決定することによって機能的に検出され得る。

【0051】

DNAまたはRNAの相補鎖の結合を検出する物理的方法は、当技術分野において周知であり、DNase Iまたはケミカルフットプリント法、ゲルシフトアッセイおよびアフィニティ切断アッセイ、ノーザンプロット法、ドットプロット法、ならびに光吸収検出法のような方法を含む。例えば、極めて単純で信頼性があるため、広く使用されている方法は、温度を徐々に上げながら、220～300nmで、オリゴヌクレオチド（または類似体）および標的核酸を含有している溶液の光吸収の変化を観察することを含む。オリゴヌクレオチドまたは類似体が標的に結合していた場合、特徴的な温度において、オリゴヌクレオチド（または類似体）と標的とが解離するかまたは融解するため、吸収の急激な増加が起こる。

【0052】

オリゴマーと標的核酸との間の結合は、オリゴマーの50%が標的から融解する温度（ T_m ）によって特徴決定されることが多い。より高い（ T_m ）は、より低い（ T_m ）を有する複合体と比べて、より強力なまたはより安定的な複合体を意味する。

【0053】

生物学的試料：生検試料および剖検試料、ならびに組織学的目的のために採取された凍結切片のような組織の切片を含む、生存している生物に由来する試料。そのような試料には、血液および血液画分または血液製剤（例えば、血清、血漿、血小板、赤血球等）、痰

10

20

30

40

50

、総排出腔スワブ、粘膜、組織、培養細胞、例えば、初代培養物、外植片、および形質転換細胞、生物学的液体、便、尿等が含まれる。生物学的試料は、典型的には、真核生物から得られる。試料採取される組織は、例えば、皮膚、脳（例えば、大脳、小脳、視葉）、脊髄、副腎、胸筋、肺、心臓、肝臓、素囊、前胃、胃、十二指腸、小腸、大腸、総排泄腔、腎臓、ファブリキウス嚢、脾臓、膵臓、副腎、骨髄、腰仙部脊髄、または血液であり得る。試料の接触とは、反応を起こすために適当な条件に試料を曝すことをさす。

【0054】

カプシド：ウイルス粒子を覆うタンパク質またはウイルス粒子の外被。カプシドは、ピリオンの核タンパク質コアまたは核酸を覆うタンパク質コートである。カプシドは、一般に、正二十面体対称を示し、（アデノウイルスではない）いくつかのウイルスにおいては、エンベロープに包囲されている。カプシドは、特定のウイルスに典型的なパターンで自己集合するサブユニット（60の倍数、厳密な正二十面体対称を与えるのに必要な数）から構築される。サブユニットは、しばしば、より小さいカプシドにおいて、形態学的単位（キャプソメア）を構成する5個または6個のメンバーからなる環（ペンタマーまたはヘキサマー）へ詰め込まれる。カプシドは細胞のウイルス感染のために必要とされる。

10

【0055】

検出：細胞内、細胞上、および/または細胞もしくはウイルスが接触した培地における、ウイルスペプチドを含むウイルスまたはウイルス粒子の存在の、任意の方法を使用した決定。方法は、細胞変性効果の観察、例えば、免疫蛍光、ELISA、またはウエスタンブロットハイブリダイゼーションによるウイルスタンパク質の検出、例えば、PCR、RT-PCR、サザンブロット、およびノーザンブロット、核酸ハイブリダイゼーション、核酸アレイによるウイルス核酸配列の検出等によって例示されるが、これらに限定されない。

20

【0056】

発現ベクター：所望のタンパク質をコードする核酸配列を挿入するかまたは導入することができる、当技術分野において公知のプラスミド、ウイルス、またはその他の媒体。

【0057】

必須遺伝子：ウイルスの複製、パッケージング、または感染のために必要とされる遺伝子。必須遺伝子の欠失は、ウイルスを複製欠損型にする。例えば、アデノウイルスにおいては、E1およびE2が必須遺伝子である。

【0058】

機能的欠失：例えば、欠失、挿入、または置換によってパッケージングシグナルまたは必須遺伝子産物の機能を排除する、配列の欠失と等価な効果を有する配列の変異。

30

【0059】

機能的効果：BaAdVの活性をモジュレートする薬剤を試験するためのアッセイ、またはBaAdV感染の処置もしくは防止のためのアッセイに関して、間接的にまたは直接、BaAdVの影響下にあるパラメータ、例えば、ウイルスゲノム複製、ウイルスのRNAおよびタンパク質の産生、ウイルスパッケージング、ウイルス粒子産生（特に、複製コンピテントウイルス粒子産生）、細胞受容体結合、ウイルス形質導入、細胞感染、抗体結合、細胞性または体液性の免疫応答の誘導、ウイルスタンパク質酵素活性等を増加させるかまたは減少させる能力のような、表現型的または化学的な効果の決定を含む。「機能的効果」には、インビトロ、インビボ、およびエクスピボの活性が含まれる。そのような機能的効果は、当業者に公知の任意の手段、例えば、分光学的特徴（例えば、蛍光、吸光度、屈折率）の変化；タンパク質の水力学的特性（例えば、形）；クロマトグラフ的特性；または溶解特性；タンパク質の誘導可能マーカーまたは転写活性化の測定；結合活性の測定または結合アッセイ、例えば、抗体との結合；リガンドまたは基質の結合活性の変化の測定；ウイルス複製の測定；細胞表面マーカー発現の測定；タンパク質レベルの変化の測定；RNA安定性の測定；例えば、化学発光、蛍光、比色定量反応、抗体結合、および誘導可能マーカーを介した、下流またはレポーター遺伝子発現（CAT、ルシフェラーゼ、0-gal、GFP等）の同定によって測定され得る。

40

【0060】

50

機能的に等価：本明細書に記載されるのと同じの結果を与える、導入ベクターまたはパッケージングベクターの配列のいずれかにおける配列改変。そのような配列改変には、保存的置換、欠失、変異、フレームシフト、および挿入が含まれるが、これらに限定されない。本発明のE1欠失アデノウイルスベクターにおいて、E4のようなもう一つの遺伝子の欠失は、E3欠失を含む類似したベクターと機能的に等価である。さらに、導入ベクターゲノムの増強されたカプシド形成を与えるアデノウイルスベクター配列の改変は、本発明の導入ベクターと機能的に等価である。

【0061】

異種：異種配列とは、通常（即ち、野生型配列において）第2の配列に隣接して見出されない配列である。一つの態様において、配列は、第2の配列とは異なるウイルスまたは生物のような遺伝子起源に由来する。

10

【0062】

宿主細胞：外因性の核酸構築物または発現ベクターによる形質転換、トランスフェクション、形質導入、コンジュゲーション等を受け入れる細胞。宿主細胞は、哺乳動物、植物、細菌、酵母、真菌、昆虫、動物等に由来し得る。宿主細胞は、ヒトまたは非ヒト霊長類に由来し得る。

【0063】

感染性：ウイルスまたはベクターは、それが細胞を形質導入し、複製し、（補足的なウイルスまたはベクターの利益なしに）最初の形質導入ウイルスまたは形質導入ベクターと同一の型の子孫ベクターまたは子孫ウイルスを、生物または細胞培養物における他の細胞へ伝播し、子孫ベクターまたは子孫ウイルスが、生物または細胞培養物の全体に繁殖し広がる同一の能力を有する時、「感染性」である。従って、例えば、たとえ細胞をトランスフェクトするために核酸を使用することができても、その核酸がパッケージングされ得ない場合（例えば、アデノウイルス粒子がパッケージング部位を欠く場合）には、そのアデノウイルス粒子をコードする核酸は感染性でない。同様に、アデノウイルス粒子によってパッケージングされたアデノウイルス核酸は、それがパッケージングされるアデノウイルスカプシドタンパク質をコードしない場合、感染性でない。

20

【0064】

免疫応答：抗原特異的な抗体応答および/または細胞傷害応答の生成を含む、宿主の体内における抗原に対する免疫系の反応。その用語は、免疫原性生成物に対する誘導された感受性の状態をもたらす免疫系応答をさらにさす。

30

【0065】

末端逆位配列（ITR）：各鎖の末端に位置するアデノウイルスに見出される配列。これらの配列は逆方向反復である。ウイルスが変性した時、反復配列は、単一の核酸鎖に由来する100~140bpの「突出」構造の形成を可能にする。

【0066】

単離された：「単離された」核酸は、核酸が天然に存在している生物の細胞の他の核酸配列、即ち、他の染色体および染色体外のDNAおよびRNAから実質的に分離されているかまたは精製されている。従って、「単離された」という用語には、標準的な核酸精製法によって精製された核酸が包含される。その用語には、宿主細胞における組換え発現によって調製された核酸および化学的に合成された核酸も内含される。「単離された」という用語は、DNAまたはRNAのような核酸に関して、本明細書において使用されるように、高分子の天然起源に存在する他のDNAまたはRNAからそれぞれ分離された分子をさす。単離されたとは、断片としては天然に存在しておらず、天然の状況においては見出されない核酸断片を含むものとする。単離されたという用語は、本明細書において使用されるように、組換えDNA技術によって作製された時には、細胞材料、ウイルス材料、または培養培地を実質的に含まず、化学合成された時には、化学前駆物質またはその他の化学物質を実質的に含まない核酸またはペプチドもさす。

40

【0067】

標識：その存在、欠如、またはレベルが直接または間接的にモニタリング可能である、

50

検出可能なモエティ、またはその原子、分子、もしくは一部。多様な検出可能モエティが当業者に周知であり、分光学的手段、光化学的手段、生化学的手段、免疫化学的手段、電気的手段、光学的手段、または化学的手段によって検出可能な任意の材料であり得る。そのような検出可能標識には、磁性ビーズ、蛍光色素、放射標識、酵素、およびコロイド金または色ガラスもしくは色プラスチックビーズのような比色標識が含まれるが、これらに限定されない。

【0068】

哺乳動物：この用語には、ヒトおよび非ヒト哺乳動物の両方が含まれる。同様に、「対象」という用語には、ヒトおよび獣医学的対象の両方が含まれる。

【0069】

核酸：デオキシリボヌクレオチドまたはリボヌクレオチド、および一本鎖または二本鎖のいずれかの形態のそれらのポリマー、ならびにそれらの相補物。他に示されない限り、特定の核酸配列には、明示された配列と同様に、その保存的に修飾されたバリエーション（例えば、縮重コドン置換）および相補配列も暗示的に包含される。具体的には、縮重コドン置換は、1個以上の選択された（または全ての）コドンの3番目の位置が混合塩基および/またはデオキシイノシン残基に置換された配列を生成することによって達成され得る（Batzler et al., *Nucleic Acid Res.* 19:5081(1991) ; Ohtsuka et al., *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608(1985) ; Rossolini et al., *Mol. Cell. Probes* 8:91-98(1994)）。核酸という用語は、遺伝子、cDNA、mRNA、オリゴヌクレオチド、およびポリヌクレオチドと交換可能に使用される。特定のヌクレオチド配列には、「スプライスバリエーション」も暗示的に包含される。「スプライスバリエーション」とは、その名称が示唆するように、遺伝子のオルタナティブスプライシングの産物である。転写後、初期核酸転写物は、異なる（選択的）核酸スプライス産物が異なるポリペプチドをコードするようなスプライシングを受ける場合がある。スプライスバリエーションの作製の機序は、変動するが、エキソンの選択的スプライシングを含む。リードスルー転写によって同一の核酸から得られる選択的ポリペプチドも、この定義に包含される。スプライス産物の組換え型を含むスプライシング反応の産物も、この定義に含まれる。ポリヌクレオチドは、一般に、100ヌクレオチド塩基長を超える配列を含む、直鎖状のヌクレオチド配列である。

【0070】

機能的に連結された：第1の核酸配列が、第2の核酸配列と機能的な関係に置かれている時、その第1の核酸配列は、その第2の核酸配列と機能的に連結されている。例えば、プロモーターがコード配列の転写または発現に影響を与える場合、そのプロモーターは、そのコード配列に機能的に連結されている。一般に、機能的に連結されたDNA配列は、連続しており、2個のタンパク質コード領域を接合する必要がある場合には、同一のリーディングフレーム内にある。

【0071】

ORF（オープンリーディングフレーム）：終結コドンを含まないアミノ酸をコードするヌクレオチド三つ組（コドン）の連続。これらの配列は、一般的に、ペプチドへ翻訳可能である。一般に、これらは、開始シグナルまたは起始シグナルと終結シグナルとの間に通常位置する、ペプチドへ翻訳され得るDNA配列またはRNA配列の区間である。例示的な非限定的なオープンリーディングフレームは、SEQ ID NO:5~109のうちの一つとして示されたポリペプチドをコードする。

【0072】

パッケージング細胞：導入ベクターによって細胞へ導入された遺伝子のためにトランスにパッケージング機能を提供するが、それ自体のゲノムはカプシド形成しない細胞。

【0073】

パッケージングベクター：パッケージングベクター核酸は、パッケージングベクター核酸に対応するDNAの、アデノウイルスカプシドへのパッケージングのために必要な核酸を欠く。即ち、パッケージングベクター核酸は、それ自体、それらがコードするウイルス粒子にカプシド形成されない、即ち、感染性でない。パッケージングベクターは、ウイルス

10

20

30

40

50

粒子の作製のために必要な成分の全てを任意で含むか、またはウイルスパッケージングのために必要な成分のサブセットを任意で含む。例えば、パッケージング細胞は、各々がアデノウイルス粒子の作製における補足的な役割を有している複数のパッケージングベクターによって形質転換され得る。

【0074】

2種（またはそれ以上）のアデノウイルスベースのパッケージングベクターは、アデノウイルスパッケージングのために必要な機能の全てを共同でコードし、かつ各々が個々にはパッケージングのために必要な機能の全てをコードしない時、「補足的」である。例えば、2種のベクターが、単一の細胞を形質導入し、アデノウイルスパッケージング粒子の作製のための情報を共同でコードする時、その2種のベクターは「補足的」である。補足的なベクターの使用は、組換えイベントが感染性ウイルスを産生する可能性を低下させることによって、パッケージングベクターによる形質転換によって作成されるパッケージング細胞の安全性を増加させる。

10

【0075】

アデノウイルスパッケージング細胞株は、アデノウイルス粒子を形成するために使用され得るアデノウイルスカプシドタンパク質をコードする核酸分子を含む細胞である。アデノウイルス粒子は、パッケージング部位を有している標的アデノウイルスをパッケージングする能力を有する。

【0076】

ポリペプチドまたはペプチドまたはタンパク質：アミノ酸残基のポリマー。これらの用語は、天然に存在するアミノ酸ポリマーおよび天然に存在しないアミノ酸ポリマーのみならず、1個以上のアミノ酸残基が、対応する天然に存在するアミノ酸の人工の化学的模倣体であるアミノ酸ポリマーにも当てはまる。ポリペプチド構造のような高分子構造は、様々な構成のレベルに関して記載され得る。この構成の全般的な考察については、例えば、Alberts et al., *Molecular Biology of the Cell* (3rd ed., 1994) および Cantor and Schimmel, *Biophysical Chemistry Part I: The Conformation of Biological Macromolecules* (1980) を参照すること。「一次構造」とは、特定のペプチドのアミノ酸配列をさす。「二次構造」とは、ポリペプチド内の局所的に秩序だった三次元構造をさす。これらの構造は、ドメイン、例えば、酵素ドメイン、細胞外ドメイン、膜貫通ドメイン、孔ドメイン、および細胞質テールドメインとして一般的に公知である。ドメインは、ポリペプチドのコンパクトな単位を形成し、典型的には15~350アミノ酸長であるポリペプチドの一部である。例示的なドメインには、酵素活性を有するドメインが含まれる。典型的なドメインは、3-シートおよび α -ヘリックスのストレッチのような、より低次の構成のセクションから構成される。「三次構造」とは、ポリペプチドモノマーの完全な三次元構造をさす。「四次構造」とは、独立の三次単位の非共有結合性の会合によって形成された三次元構造をさす。異方性項はエネルギー項としても公知である。

20

30

【0077】

「アミノ酸」という用語は、天然に存在するアミノ酸および合成アミノ酸、ならびに天然に存在するアミノ酸と同様に機能するアミノ酸類似体およびアミノ酸模倣体をさす。天然に存在するアミノ酸とは、遺伝暗号によってコードされたものである。アミノ酸は、一般的に公知の3文字記号またはIUPAC-IUB Biochemical Nomenclature Commissionによって推奨されている1文字記号によって、本明細書において言及され得る。ヌクレオチドも、同様に、一般的に認められている1文字コードによって言及され得る。改変が、あるアミノ酸の化学的に類似したアミノ酸への置換をもたらす場合、コードされた配列における個々のまたは小さな割合のアミノ酸に対するアミノ酸の置換、欠失、または付加は、保存的に修飾されたバリエーションである。機能的に類似したアミノ酸を提供する保存的置換の表は、当技術分野において周知である。そのような保存的に修飾されたバリエーションは、付加的なものであり、本発明の多形バリエーション、異種間相同体、および対立遺伝子を排除しない。以下の8つの群は、各々、相互に保存的置換であるアミノ酸を含有している：(1)アラニン(A)、グリシン(G)；(2)アスパラギン酸(D)、グルタミン酸(E)；(3)アス

40

50

パラギン(N)、グルタミン(Q)；(4)アルギニン(R)、リジン(K)；(5)イソロイシン(I)、ロイシン(L)、メチオニン(M)、バリン(V)；(6)フェニルアラニン(F)、チロシン(Y)、トリプトファン(W)；(7)セリン(S)、トレオニン(T)；および(8)システイン(C)、メチオニン(M)(例えば、Creighton, Proteins(1984)を参照すること)。

【0078】

組換え：天然に存在しない、核酸分子またはタンパク質のような分子。いくつかの態様において、天然に存在しない核酸分子は、プロモーターまたはエンハンサーのような異種制御要素に機能的に連結されたタンパク質をコードするDNA、cDNA分子、または特異的な核酸配列が欠損するよう操作されたウイルスゲノムである。この核酸を含むウイルス粒子は、複製欠損型であり、弱毒化されており、かつ/またはウイルスによって通常コードされるタンパク質の産生が欠損しているであろう。

10

【0079】

配列同一性：相互に対応する2つ以上の核酸またはポリペプチド配列に関して、例えば、下記のデフォルトパラメータによるBLASTもしくはBLAST 2.0配列比較アルゴリズムを使用して、または手動アライメントおよび視覚的検査(例えば、NCBIウェブサイトncbi.nlm.nih.gov/BLAST等を参照すること)によって測定されるような、同一であるか、または同一であるアミノ酸残基もしくはヌクレオチドを指定の割合で有している、2つ以上の配列または部分配列をさす(即ち、比較され、比較ウィンドウまたは指定された領域において最大の一一致のために整列させられた時、指定の領域における約60%の同一性、好ましくは、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれ以上の同一性)。その場合、そのような配列は「実質的に同一」とあると言われ、「実質的に同一」という用語に内含される。この定義は、試験配列の相補物もさすか、または相補物にも適用され得る。その定義には、欠失および/または付加を有する配列、ならびに置換を有するものも含まれる。下記のように、好ましいアルゴリズムは、ギャップ等を考慮することができる。好ましくは、同一性は、指定の配列全体もしくはその指定の一部、または少なくとも約25アミノ酸長もしくは25ヌクレオチド長である配列の領域、またはより好ましくは、50~100アミノ酸長もしくは50~100ヌクレオチド長である領域に存在する。対応する領域は、参照配列内の任意の領域である。

20

【0080】

配列比較のため、典型的には、一つの配列が、試験配列が比較される参照配列として機能する。配列比較アルゴリズムを使用する時、試験配列および参照配列はコンピュータへ入力され、必要であれば、部分配列座標が指定され、配列アルゴリズムプログラムパラメータが指定される。好ましくは、デフォルトプログラムパラメータが使用されてもよいし、または代替パラメータが指定されてもよい。次いで、配列比較アルゴリズムが、プログラムパラメータに基づき、参照配列と比べた試験配列のパーセント配列同一性を計算する。比較ウィンドウには、2つの配列を最適に整列させた後、配列を同一の連続位置数の参照配列と比較することができる、20~600、一般的には、約50~約200、より一般的には、約100~約150からなる群より選択される連続位置数のいずれかのセグメントへの言及が含まれる。比較のための配列のアライメントの方法は、当技術分野において周知である。比較のための配列の最適アライメントは、例えば、Smith & Waterman, Adv. Appl. Math. 2:482 (1981)のローカルホモロジーアルゴリズム(local homology algorithm)、Needleman & Wunsch, J. Mol. Biol. 48:443(1970)のホモロジーアライメントアルゴリズム(homology alignment algorithm)、Pearson & Lipman, Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444(1988)の類似性検索法(search for similarity method)、これらのアルゴリズムのコンピュータ化された実装(Wisconsin Genetics Software Package (Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI)のGAP、BESTFIT、FASTA、およびTFASTA)、または手動アライメントおよび視覚的検査(例えば、Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel et al., eds. 1995 supplement))によって実施され得る。

30

40

【0081】

50

パーセント配列同一性および配列類似性を決定するために適当なアルゴリズムの一例は、それぞれ、Altschul et al., *Nuc. Acids Res.* 25:3389-3402(1977)およびAltschul et al., *J. Mol. Biol.* 215:403-410(1990)に記載されているBLASTアルゴリズムおよびBLAST 2.0アルゴリズムである。BLASTおよびBLAST 2.0は、本発明の核酸およびタンパク質についてのパーセント配列同一性を決定するため、本明細書に記載されたパラメータと共に使用される。BLAST分析を実施するためのソフトウェアは、National Center for Biotechnology Information (ncbi.nlm.nih.gov) を通して公に入手可能である。このアルゴリズムは、データベース配列内の同一の長さのワードと整列させた時、一致するかまたは正の値の閾値スコアTを満たすクエリ配列内の長さWのショートワードを同定することによって、高スコア配列対(HSP)をまず同定することを含む。Tは、近隣ワードスコア閾値と呼ばれる(Altschul et al. (前記))。これらの初期近隣ワードヒットは、それらを含んでいるより長いHSPを見出すための探索を開始するためのシードとして機能する。ワードヒットは、累積アライメントスコアが増加し得る限り、各配列に沿って両方向に伸長される。累積スコアは、ヌクレオチド配列の場合、パラメータM(一致残基の対のためのリワードスコア; 常に >0) およびN(不一致残基のためのペナルティスコア; 常に <0) を使用して計算される。アミノ酸配列の場合、スコアリングマトリクスが累積スコアを計算するために使用される。各方向へのワードヒットの伸長は、累積アライメントスコアが、その最大達成値から量Xだけ減少した時; 1個以上の負のスコアの残基アライメントの蓄積のために、累積スコアが0以下になった時; またはいずれかの配列の末端に到達した時、停止される。BLASTアルゴリズムパラメータW、T、およびXは、アライメントの感度および速度を決定する。(ヌクレオチド配列のための)BLASTNプログラムは、11のワード長(W)、10の期待値(E)、 $M=5$ 、 $N=-4$ 、および両方の鎖の比較を、デフォルトとして使用する。アミノ酸配列について、BLASTPプログラムは、3のワード長、および10の期待値(E)、およびBLOSUM62スコアリングマトリクス(Henikoff & Henikoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:10915(1989)を参照すること)、50のアライメント(B)、10の期待値(E)、 $M=5$ 、 $N=-4$ 、および両方の鎖の比較を、デフォルトとして使用する。

10

20

30

40

50

【0082】

薬学的に許容される担体：本発明において有用な薬学的に許容される担体は、従来のものである。Remington's *Pharmaceutical Sciences*, by E.W.Martin, Mack Publishing Co., Easton, PA, 15th Edition(1975)は、本明細書に開示された融合タンパク質の薬学的送達のために適当な組成物および製剤を記載している。

【0083】

一般に、担体の性質は、利用される特定の投与モードに依るであろう。例えば、非経口製剤は、一般的に、水、生理食塩水、平衡塩溶液、水性デキストロース、グリセロールのような薬学的にかつ生理学的に許容される液体を含む、注射可能な液体を、媒体として含む。固体組成物(例えば、粉末、丸剤、錠剤、またはカプセル形態)のための従来の非毒性固体担体には、例えば、薬学的等級のマニトール、乳糖、デンプン、またはステアリン酸マグネシウムが含まれ得る。生物学的に中性の担体に加えて、投与される薬学的組成物は、湿潤剤または乳化剤のような微量の非毒性補助物質、保存剤、およびpH緩衝剤等、例えば、酢酸ナトリウムまたはモノラウリン酸ソルビタンを含有することができる。

【0084】

ストリンジェントな条件：プローブが、典型的には、核酸の複雑な混合物において、標的部分配列にハイブリダイズし、他の配列にはハイブリダイズしない条件。「ハイブリダイズする」という用語は、核酸配列の一本鎖が、相補的なヌクレオチドの間の水素結合を通して二重ヘリックスセグメントを形成する過程をさす。ストリンジェントな条件は、配列依存性であり、異なる環境において異なるであろう。より長い配列は、より高い温度で特異的にハイブリダイズする。核酸のハイブリダイゼーションについての広範囲の案内は、Tijssen, *Techniques in Biochemistry and Molecular Biology--Hybridization with Nucleic Probes*, "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays"(1993)に見出される。一般に、ストリンジェントな条件は、明確なイオ

ン強度pHにおける特定の配列についての熱融点 (T_m) より約5~10 低く選択される。 T_m は、平衡時に、標的に相補的なプローブの50%が標的配列にハイブリダイズする(明確なイオン強度、pH、および核酸濃度における)温度である(標的配列が過剰に存在するため、 T_m においては、平衡時、プローブの50%が占有される)。ストリンジェントな条件は、ホルムアミドのような不安定化剤の添加によっても達成され得る。選択的または特異的なハイブリダイゼーションのため、陽性シグナルは、バックグラウンドの少なくとも2倍、好ましくは、バックグラウンドハイブリダイゼーションの10倍である。例示的なストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、以下の通りであり得る: 50%ホルムアミド、 $5 \times \text{SSC}$ 、および1%SDS、42 °Cでのインキュベーション、または $5 \times \text{SSC}$ 、1%SDS、65 °Cでのインキュベーション、65 °Cでの $0.2 \times \text{SSC}$ および0.1%SDSにおける洗浄。ストリンジェントな条件の下で相互にハイブリダイズしない核酸であっても、それらがコードするポリペプチドが実質的に同一である場合には、実質的に同一である。例えば、遺伝暗号によって許容される最大コドン縮重を使用して、核酸のコピーが作出される時、これが起こる。そのようなケースにおいて、核酸は、典型的には、中程度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の下でハイブリダイズする。例示的な「中程度にストリンジェントなハイブリダイゼーション条件」には、37 °Cでの40%ホルムアミド、1M NaCl、1%SDSの緩衝液におけるハイブリダイゼーション、および45 °Cでの $1 \times \text{SSC}$ における洗浄が含まれる。陽性ハイブリダイゼーションは、バックグラウンドの少なくとも2倍である。当業者は、類似したストリンジェンシーの条件を提供するため、代替のハイブリダイゼーションおよび洗浄の条件を利用し得ることを容易に認識するであろう。ハイブリダイゼーションパラメータを決定するための付加的なガイドラインは、多数の参照に提供されている(例えば、Current Protocols in Molecular Biology, ed. Ausubel, et al.)。

10

20

【0085】

対象: BaAdV感染を示す1種以上の症状を呈する、ヒト、ヒビ、およびその他の非ヒト霊長類を含むが、これらに限定されない動物。

【0086】

試験薬剤または薬剤: 腫瘍細胞増殖を直接または間接的にモジュレートする能力について試験される、天然に存在するかまたは合成の分子または化合物、例えば、タンパク質、オリゴペプチド(例えば、約5~約25アミノ酸長、好ましくは、約10~20アミノ酸長または12~18アミノ酸長、好ましくは、12アミノ酸長、15アミノ酸長、または18アミノ酸長)、小有機分子、多糖、脂質、脂肪酸、ポリヌクレオチド、オリゴヌクレオチド等。試験薬剤は、十分な多様性の範囲を提供するコンビナトリアルライブラリまたはランダムライブラリのような試験化合物のライブラリの形態をとり得る。試験薬剤は、融合パートナー、例えば、ターゲティング化合物、レスキュー化合物、二量体形成化合物、安定化化合物、アドレス可能化合物、およびその他の機能モエティに任意で連結される。慣習的に、有用な特性を有する新たな化学的実体は、何らかの望ましい特性または活性、例えば、阻害活性を有する(「リード薬剤」と呼ばれる)試験薬剤を同定し、リード化合物のバリエーションを作出し、それらのバリエーション化合物の特性および活性を評価することによって生成される。しばしば、ハイスループットスクリーニング(HTS)法が、そのような分析のために利用される。薬剤は、BaAdVの核酸およびポリペプチド配列の阻害剤、活性化剤、またはモジュレーターであり得、BaAdVの核酸およびポリペプチド配列のインビトロおよびインビボのアッセイを使用して同定された活性化分子、阻害分子、またはモジュレーティング分子をさすために使用される。阻害剤は、例えば、BaAdVに結合するか、BaAdVの活性を部分的にもしくは完全に阻止するか、BaAdVを減少させるか、BaAdVを防止するか、BaAdVの活性化を遅らせるか、BaAdVを不活化するか、BaAdVを脱感作するか、またはBaAdVの活性もしくは発現をダウンレギュレートする薬剤、例えば、アンタゴニストである。活性化剤は、BaAdVを増加させるか、BaAdVを開くか、BaAdVを活性化するか、BaAdVを促進するか、BaAdVの活性化を増強するか、BaAdVを感作するか、BaAdVを刺激するか、またはBaAdV活性をアップレギュレートする薬剤、例えば、アゴニストである。阻害剤、活性化剤、またはモジュレーターには、BaAdVの遺伝学的に修飾されたバージョン、例えば、改変された活

30

40

50

性を有するバージョンも含まれ、例えば、天然に存在するリガンドおよび合成リガンド、基質、アンタゴニスト、アゴニスト、抗体、ペプチド、環状ペプチド、核酸、アンチセンス分子、リボザイム、または小化学的分子も含まれる。

【0087】

「小有機分子」という語句は、約50ダルトンより大きく約2500ダルトンより小さい、好ましくは、約2000ダルトン未満、好ましくは、約100～約1000ダルトン、より好ましくは、約200～約500ダルトンの分子量を有する、天然に存在するかまたは合成の有機分子をさす。

【0088】

治療的に有効な量：効果を生じる投与用量。正確な用量は、処置の目的に依り、公知の技術を使用して当業者によって確認可能であろう（例えば、Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 1992) ; Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999) ; および Pickar, Dosage Calculations (1999) を参照すること）。

10

【0089】

処置 (Treating) または処置 (treatment) : 疾患もしくは状態、疾患もしくは状態の症状、または疾患もしくは状態のリスクを治癒させるか、修正するか、緩和するか、軽減するか、改変するか、矯正するか、寛解させるか、改善するか、または影響を与えることを目的とした、BaAdVに感染しているかもしくはBaAdV感染の症状を有する対象への組成物の適用もしくは投与、または対象に由来する細胞もしくは組織への組成物の投与が含まれる。「防止 (preventing)」または「防止 (prevention)」という用語には、BaAdV感染に関連した疾患、障害、または症状を、それが完全に発生する前に、停止させるかまたは妨害することが含まれる。

20

【0090】

ワクチン：動物における免疫学的応答を誘導する少なくとも1種の免疫学的活性を有する成分を含み、活性成分の免疫学的活性を増強する1種以上の付加的な成分を含んでもよいし、含んでいなくてもよい薬学的組成物。ワクチンは、付加的に、薬学的組成物に典型的なさらなる成分を含むことができる。ワクチンの免疫学的活性を有する成分には、最初の形態の、またはいわゆる修飾型生ワクチン (MLV) における弱毒化された粒子もしくはいわゆる不活化ワクチン (KV) における適切な方法によって不活化された粒子としての、完全ウイルス粒子が含まれ得る。抗原性物質を含むワクチンを、BaAdV感染によって誘発された疾患に対する特異的な能動免疫を誘導する目的のため、投与することができる。ワクチンは、BaAdV抗原に対して予め生成された抗体の形態で、受動免疫を提供することもできる。

30

【0091】

ベクター：宿主細胞へ導入され、それによって、形質転換宿主細胞を作製する核酸分子。ベクターは、複製起点のような宿主細胞における複製を可能にする核酸配列を含み得る。ベクターは、1種以上の治療用遺伝子および/または選択可能マーカー遺伝子をコードする配列、ならびに当技術分野において公知のその他の遺伝要素も含み得る。ベクターは、細胞を形質導入するか、形質転換するか、または感染させ、それによって、細胞にとってネイティブのもの以外の核酸および/またはタンパク質を細胞に発現させることができる。ベクターは、ウイルス粒子、リボソーム、タンパク質コーティング等のような、核酸の細胞への進入の達成を助けるための材料を任意で含む。ベクターは、アデノウイルスベクターのような、ウイルスに由来するウイルスベクターであり得る。

40

【0092】

他に説明されない限り、本明細書において使用される技術用語および科学用語は、全て、本開示が属する技術分野の当業者によって一般的に理解されるのと同じの意味を有している。単数形「(a)」、「(an)」、および「(the)」は、前後関係によって他に明白に示されない限り、複数の指示物を含む。同様に、「または」という単語には、前後関係によって他に明白に示されない限り、「および」が含まれるものとする。核酸またはポリペプチドのために与えられた全ての塩基サイズまたはアミノ酸サイズおよび全ての分子量ま

50

たは分子質量の値は、概略的なものであり、説明のために提供されていることがさらに理解されるべきである。本明細書に記載されたものに類似しているかまたは等価である方法および材料を、本開示の実施または試行において使用することができるが、適当な方法および材料が以下に記載される。「含む (comprise)」という用語は「含む (include)」を意味する。本明細書において言及された刊行物、特許出願、特許、およびその他の参照は、全て、参照によってその全体が組み入れられる。矛盾する場合には、用語の説明を含む本明細書が優先されるであろう。さらに、材料、方法、および例は、例示的なものに過ぎず、限定するためのものではない。

【 0 0 9 3 】**ヒビアデノウイルス (BaAdV) 核酸**

本明細書に開示されたヒビアデノウイルス (BaAdV) 核酸配列には、BaAdV-3 (SEQ ID NO:3) のヌクレオチド1~34402ならびに / もしくはBaAdV-2/4 (SEQ ID NO:1およびSEQ ID NO:2) のヌクレオチド1~34391と少なくとも約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%同一、もしくは約100%同一の核酸配列、または少なくとも100ヌクレオチド長、少なくとも200ヌクレオチド長、少なくとも300ヌクレオチド長、少なくとも400ヌクレオチド長、もしくは少なくとも500ヌクレオチド長のヌクレオチドが含まれる。SEQ ID NO:1、2、および3に由来するオープンリーディングフレームと少なくとも約91%、約92%、約93%、約94%、約95%、約96%、約97%、約98%、約99%、または約100%同一の核酸配列、およびその核酸配列を含むアデノウイルスも提供される。SEQ ID NO:1、2、および3の配列に相補的な鎖である核酸配列、ならびにオープンリーディングフレームに対応するRNA配列およびcDNA配列、ならびにそれらの相補鎖も提供される。SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3と95~98%、例えば、約99~99.9%相同または同一の核酸配列が、さらに含まれる。SEQ ID NO:1、2、および3のうちの一つとして示された核酸配列またはそれらの縮重バリエーションを含むかまたはそれからなる核酸も、本明細書に提供される。

【 0 0 9 4 】

(a) SEQ ID NO:1として示された核酸配列のヌクレオチド1~29685および29867~34391と少なくとも約90%、91%、92%、93%、95%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一の核酸配列；(b) SEQ ID NO:2として示された核酸配列のヌクレオチド1~29865および29867~34391と少なくとも約99%、91%、92%、93%、95%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一の核酸配列；(c) SEQ ID NO:3のヌクレオチド1~28677および29812~34402として示されたヌクレオチド配列と少なくとも約90%、91%、92%、93%、95%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一のヌクレオチド配列を含むかまたはそれからなる核酸も提供される。SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、またはSEQ ID NO:3のオープンリーディングフレームと少なくとも約90%、91%、92%、93%、95%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一の核酸配列を含むかまたはそれからなる核酸も提供される。SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、またはSEQ ID NO:3のオープンリーディングフレームを含むかまたはそれからなる核酸も提供される。

【 0 0 9 5 】

SEQ ID NO:5~109のうちの一つとして示されたアミノ酸配列と少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一のポリペプチドをコードする核酸も提供される。いくつかの態様において、SEQ ID NO:5~10のうちの一つとして示されたアミノ酸配列を含むかまたはそれからなるポリペプチドをコードする核酸が提供される。いくつかの態様において、SEQ ID NO:5~109のうちの一つとして示されたアミノ酸配列と少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一のポリペプチドをコードするcDNAが提供される。いくつかの態様において、SEQ ID NO:5~109のうちの一つとして示されたアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする核酸またはその縮重バリエーションが提供される。これらの核酸はcDNAであり得る。

【 0 0 9 6 】

いくつかの態様において、BaAdV-1および/またはBaAdV-2/4のAd ITR配列を含有している核酸分子が提供される。他の態様において、初期遺伝子もしくは後期遺伝子の産物、ロングファイバーもしくはショートファイバー、またはポリメラーゼを含むが、これらに限定されない、所望の遺伝子産物をコードするBaAdV-1およびBaAdV-2/4の核酸配列を含む核酸が、提供される。これらの核酸はcDNAであり得る。本明細書に開示された配列を使用して構築されるさらなる他の核酸分子は、本明細書に提供された情報を考慮すれば、当業者に容易に明白になるであろう。例えば、SEQ ID NO:1および/またはSEQ ID NO:2および/またはSEQ ID NO:3および/またはそれらの相補物と全長にわたり少なくとも約91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%の配列同一性を有している、少なくとも50ヌクレオチド長、少なくとも100ヌクレオチド長、少なくとも250ヌクレオチド長、少なくとも500ヌクレオチド長、少なくとも1000ヌクレオチド長、少なくとも1500ヌクレオチド長、少なくとも2000ヌクレオチド長、または少なくとも3,000ヌクレオチド長のヌクレオチド配列を含む核酸が提供される。具体的な非限定的な例において、これらの核酸は、天然に存在しないものである。

10

【0097】

BaAdV-1およびBaAdV-2/4のアデノウイルス核酸配列は、(例えば、治療用モエティをコードする核酸を含めることによって)治療剤として、そして多様なベクター系および宿主細胞の構築において使用され得る。本明細書において使用されるように、ベクターには、裸のDNA、プラスミド、ウイルス、コスミド、またはエピソームを含む任意の適当な核酸分子が含まれ得る。これらの配列および産物は、単独で使用されてもよいし、または他のアデノウイルス配列もしくは断片と組み合わせて、もしくは他のアデノウイルス配列もしくは非アデノウイルス配列に由来する要素と組み合わせて、使用され得る。アデノウイルス配列は、アンチセンス送達ベクター、遺伝子治療ベクター、またはワクチンベクターとして使用され得る。

20

【0098】

一つの態様において、本明細書において同定されたヒビAd遺伝子領域は、異種分子の細胞への送達のための多様なベクターにおいて使用され得る。例えば、ウイルスベクターを生成するための、アデノウイルスカプシドタンパク質(またはその断片)の、パッケージング宿主細胞における発現のためのベクターが生成される。そのようなベクターは、トランス発現のために設計され得る。あるいは、そのようなベクターは、所望のアデノウイルス機能を発現する配列、例えば、E1a、E1b、末端反復配列、E2a、E2b、E4、E4ORF6領域のうちの1種以上を安定的に含有している細胞を提供するために設計される。

30

【0099】

さらに、アデノウイルス遺伝子配列およびその断片は、ヘルパー依存性ウイルス(例えば、必須機能が欠失したアデノウイルスベクターまたはアデノ随伴ウイルス(AAV))の作製のために必要なヘルパー機能を提供するために使用され得る。アデノウイルスヘルパー機能を使用してヒトアデノウイルスセロタイプを有するrAAVを作製する方法は、文献に詳細に記載されている(米国特許第6,258,595号;米国特許第5,871,982号;PCT公開第WO 99/14354号;PCT公開第WO 99/15685号;およびPCT公開第WO 99/47691号を参照すること)。(E1a、E1b、E2a、および/またはE4 ORF6のような)必要なヘルパー機能を提供するヒビアデノウイルス遺伝子配列は、典型的にはヒト起源であるrAAVパッケージング細胞に存在する他のアデノウイルスとの組換えの可能性を最小限にするかまたは排除しながら、必要なアデノウイルス機能を提供するために有用であり得る。

40

【0100】

あるいは、組換えアデノウイルスヒビベクターを、これらの方法において利用することができる。そのような組換えアデノウイルスヒビベクターは、例えば、AAVの3'ITRおよび/または5'ITRならびにその発現を調節する制御配列の調節下にあるトランスジーンから構成されたrAAV発現カセットに、ヒビAd配列が隣接している、ハイブリッドヒビAd/AAVを、例えば、含み得る。当業者は、さらなる他のヒビアデノウイルスベクターおよび/または遺伝子配列が、アデノウイルスヘルパー機能に依存性のrAAVおよびその他のウイルスの

50

作製のために有用であることを認識するであろう。

【0101】

さらに別の態様において、核酸分子は、所望の生理学的効果を達成するため、宿主細胞における1種以上の選択されたアデノウイルス遺伝子産物の送達および発現のために設計される。例えば、アデノウイルスE1aタンパク質をコードする配列を含有している核酸分子は、癌治療薬として使用するため、対象へ送達され得る。任意で、そのような分子は、脂質ベースの担体で製剤化され、癌細胞を優先的に標的とする。そのような製剤は、他の癌治療薬（例えば、シスプラチン、タキソール等）と組み合わせられてもよい。本明細書に提供されるアデノウイルス配列のためのさらなる他の使用は、当業者に容易に明白であろう。

10

【0102】

さらに、治療用分子および免疫原性分子のインビトロ、エクスピボ、またはインピボの送達のための多様なウイルスベクター系および非ウイルスベクター系の使用のため、本明細書に開示されたアデノウイルス配列が容易に適合し得ることを、当業者は容易に理解するであろう。例えば、本明細書に開示されたゲノムは、多様な組換えアデノウイルス（rAd）ベクター系および非rAdベクター系において利用され得る。そのようなベクター系には、とりわけ、プラスミド、レンチウイルス、レトロウイルス、ボックスウイルス、ワクシニアウイルス、およびアデノ随伴ウイルス系が含まれ得るが、これらに限定されない。本明細書に開示されたヒビAd DNA配列を含むポリヌクレオチドを含む分子は、裸のDNA、プラスミド、ウイルス、またはその他の遺伝要素の形態をとり得る。

20

【0103】

一つの態様において、本明細書において同定されたヒビアデノウイルス遺伝子領域は、異種分子の細胞への送達のための多様なベクターとしてまたは多様なベクターにおいて使用され得る。例えば、ウイルスベクターを生成する目的のためのアデノウイルスカプシドタンパク質（またはその断片）のパッケージング宿主細胞における発現のためのベクターが生成される。そのようなベクターはトランス発現のために設計され得る。あるいは、そのようなベクターは、所望のアデノウイルス機能を発現する配列、例えば、E1a、E1b、末端反復配列、E2a、E2b、E4、E4 ORF領域のうちの1種以上を安定的に含有している細胞を提供するために設計される。

【0104】

アデノウイルスヘルパー機能を使用して、ヒトアデノウイルスセロタイプを有する組換え（r）AAVを作製する方法は、記載されている（例えば、米国特許第6,258,595号；米国特許第5,871,982号；PCT公開第WO 99/14354号；PCT公開第WO 99/15685号；およびPCT公開第WO 99/47691号を参照すること）。これらの方法は、非ヒト霊長類AAVセロタイプを含む非ヒトセロタイプAAVの作製においても使用され得る。必要なヘルパー機能を提供するヒビアデノウイルス遺伝子（例えば、E1a、E1b、E2a、および/またはE4 ORF6）が、必要なアデノウイルス機能を提供するために特に有用であり得る。理論によって拘束されないが、それらは、典型的にヒト起源であるrAAVパッケージング細胞に存在する他のアデノウイルスとの組換えの可能性を最小化するかまたは排除することができる。従って、本発明のアデノウイルス配列の選択された遺伝子またはオープンリーディングフレームは、これらのrAAV作製法において利用され得る。組換えアデノウイルスサルベクターには、例えば、AAVの3' ITRおよび/または5' ITRならびにその発現を調節する制御配列の調節下にあるトランスジーンから構成されたrAAV発現カセットに、ヒビアデノウイルスAd配列が隣接している、ハイブリッドヒビアデノウイルス（Ad）/AAVが、例えば、含まれる。本発明のさらなる他のサルアデノウイルスベクターおよび/または遺伝子配列が、アデノウイルスヘルパーに依存性のrAAVおよびその他のウイルスの作製のために有用であることを、当業者は認識するであろう。

30

40

【0105】

ポリペプチドの作製のために有用な分子も、本明細書に開示される。本発明のヒビアデノウイルス核酸配列を含むポリヌクレオチドを含むそのような分子は、裸のDNA、プラス

50

ミド、ウイルス、またはその他の遺伝要素の形態をとり得る。マーカーおよび治療用タンパク質を含む任意のタンパク質が、これらのベクターによってコードされ得る。従って、ベクターは、標的細胞への異種ポリペプチドの送達のために使用され得る。いくつかの態様において、異種ポリペプチドをコードする核酸は、プロモーターおよび/またはエンハンサーのような、1種以上の発現調節配列に機能的に連結される。当業者は、本明細書に開示されたアデノウイルス核酸を、関心対象のポリペプチドをコードする異種核酸配列を含み、宿主細胞においてポリペプチドを発現するよう、容易に操作することができる。同様に、異種のプロモーターおよびエンハンサーを、アデノウイルスポリペプチドをコードする核酸に機能的に連結することができる。

【0106】

発現

以下に限定されないが、SEQ ID NO:5~109のうちの一つと少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一のポリペプチドのような、本明細書に開示されたオープンリーディングフレームによってコードされたポリペプチドのような、クローニングされた遺伝子またはゲノムの高レベルの発現を入手するためには、典型的には、転写を指図する強力なプロモーター、転写/翻訳ターミネーターを含有しており、タンパク質をコードする核酸の場合には、翻訳開始のためのリボソーム結合部位も含有している発現ベクターへ、核酸をサブクローニングする。オープンリーディングフレームには、添付の配列情報にリストされたもののいずれかが含まれる。適当な細菌プロモーターは、当技術分野において周知であり、例えば、Sambrook et al.およびAusubel et al (前記)に記載されている。タンパク質を発現させるための細菌発現系は、例えば、大腸菌 (*E. coli*)、パチルス (*Bacillus*) 種、およびサルモネラ (*Salmonella*) において利用可能である (Palva et al., *Gene* 22:229-235(1983); Mosbach et al., *Nature* 302:543-545(1983))。そのような発現系のためのキットが市販されている。哺乳動物細胞、酵母、および昆虫細胞のための真核生物発現系は、当技術分野において周知であり、やはり市販されている。レトロウイルス発現系を使用することができる。

【0107】

異種核酸の発現を指図するために使用されるプロモーターの選択は、特定の適用に依る。プロモーターは、好ましくは、天然の状況における転写開始部位からの距離とほぼ同一の異種転写開始部位からの距離に位置する。しかしながら、当技術分野において公知であるように、この距離のいくらかの変動は、プロモーター機能の損失なしに順応し得る。核酸の部分に関して、異種とは、核酸が、自然界における相互の関係と同一の関係で見出されない2種以上の部分配列を含むことを示す。例えば、典型的には、新しい機能性核酸を作成するために配置された無関係な遺伝子に由来する2種以上の配列、例えば、一つの起源に由来するプロモーターおよび別の起源に由来するコード領域を有する核酸が、組換えによって作製される。同様に、異種タンパク質とは、タンパク質が、自然界における相互の関係と同一の関係で見出されない2種以上の部分配列を含むことを示す (例えば、融合タンパク質)。

【0108】

プロモーターに加えて、発現ベクターは、典型的には、宿主細胞における核酸の発現のために必要とされる全ての付加的な要素を含有している転写単位または発現カセットを含有している。従って、典型的な発現カセットは、選択の核酸をコードする核酸配列に機能的に連結されたプロモーター、ならびに転写物の効率的なポリアデニル化、リボソーム結合部位、および翻訳終結のために必要とされるシグナルを含有している。カセットの付加的な要素には、エンハンサーが含まれ得、ゲノムDNAが構造遺伝子として使用される場合には、機能的なスプライドナー部位およびアクセプター部位を含むイントロンが含まれ得る。

【0109】

プロモーター配列に加えて、発現カセットは、効率的な終結を提供するため、構造遺伝子の下流に転写終結領域も含有しているべきである。終結領域は、プロモーター配列と同

10

20

30

40

50

一の遺伝子から入手されてもよいし、または異なる遺伝子から入手されてもよい。

【0110】

遺伝情報を細胞へ輸送するために使用される特定の発現ベクターは、特に重要ではない。真核細胞または原核細胞における発現のために使用される従来のベクターのいずれかを、使用することができる。標準的な細菌発現ベクターには、pBR322ベースのプラスミド、pSKF、pET23Dのようなプラスミド、ならびにMBP、GST、およびLacZのような融合発現系が含まれる。便利な単離法を提供するため、エピトープタグ、例えば、c-mycを、組換えタンパク質に付加することもできる。異種アデノウイルスベクターを使用することができる。核酸レスキューのため、配列タグを発現カセットに含めることができる。蛍光タンパク質、緑色蛍光タンパク質または赤色蛍光タンパク質、13-gal、CAT等のようなマーカーを、ベクター形質導入のマーカーとしてベクターに含めることができる。

10

【0111】

真核生物ウイルスに由来する制御要素を含有している発現ベクターは、典型的には、真核生物発現ベクター、例えば、SV40ベクター、パピロマウイルスベクター、レトロウイルスベクター、およびエプスタインバーウイルス由来ベクターにおいて使用される。他の例示的な真核生物ベクターには、pMSG、pAV009/A⁺、pMT010/A⁺、pMAMneo-5、パキキュロウイルスpDSVE、ならびにCMVプロモーター、SV40初期プロモーター、SV40後期プロモーター、メタロチオネインプロモーター、マウス乳房腫瘍ウイルスプロモーター、ラウス肉腫ウイルスプロモーター、ポリヘドリンプロモーター、または真核細胞における発現のために有効であることが示されたその他のプロモーターの指図の下でタンパク質の発現を可能にするその他のベクターが含まれる。

20

【0112】

真核生物ベクターからのタンパク質の発現は、誘導可能プロモーターを使用して制御されてもよい。誘導可能プロモーターによる発現レベルは、テトラサイクリンのような誘導剤のための応答要素をプロモーターへ組み入れることによって、これらの薬剤の濃度に結び付けられる。一般に、誘導可能プロモーターからは、誘導剤の存在下でのみ高レベル発現が入手され；基底発現レベルは最小である。

【0113】

ベクターは、制御可能プロモーター、例えば、tet制御系およびRU-486系を有し得る（例えば、Gossen & Bujard, PNAS 89:5547(1992)；Oligino et al., Gene Ther. 5:491-496(1998)；Wang et al., Gene Ther. 4:432-441(1997)；Neering et al., Blood 88:1147-1155(1996)；およびRendahl et al., Nat. Biotechnol. 16:757-761(1998)を参照すること）。これらは、候補標的核酸の発現に対する小分子調節を与える。この有益な特色は、所望の表現型が、体細胞変異ではなく、トランスフェクトされたcDNAによって引き起こされたことを決定するために使用され得る。

30

【0114】

いくつかの発現系は、チミジンキナーゼおよびジヒドロ葉酸還元酵素のような遺伝子増幅を提供するマーカーを有している。あるいは、選択の配列を、ポリヘドリンプロモーターまたはその他の強力なパキキュロウイルスプロモーターの指図の下に置き、昆虫細胞においてパキキュロウイルスベクターを使用するような、遺伝子増幅を含まない高収率発現系も、適当である。

40

【0115】

発現ベクターに典型的に含まれる要素には、大腸菌において機能するレプリコン、組換えプラスミドを保有する細菌の選択を可能にする抗生物質耐性をコードする遺伝子、および真核生物配列の挿入を可能にするプラスミドの非必須領域内の独特の制限部位が含まれる。当技術分野において公知の多くの耐性遺伝子のうちの任意のものが適当であるため、選択される特定の抗生物質耐性遺伝子は重要ではない。原核生物配列は、必要であれば、好ましくは、真核細胞におけるDNAの複製に干渉しないよう選択される。

【0116】

大量のタンパク質を発現する細菌細胞株、哺乳動物細胞株、酵母細胞株、または昆虫細

50

胞株を作製するため、標準的なトランスフェクション法が使用され、次いで、それらは標準的な技術を使用して精製される（例えば、Colley et al., J. Biol. Chem. 264:17619-17622(1989); Guide to Protein Purification, in Methods in Enzymology, vol. 182(Deutscher, ed., 1990)を参照すること）。真核細胞および原核細胞の形質転換は、標準的な技術に従って実施される（例えば、Morrison, J. Bact. 132:349-351(1977); Clark-Curtiss & Curtiss, Methods in Enzymology 101:347-362(Wu et al., eds, 1983)を参照すること）。

【0117】

外来ヌクレオチド配列を宿主細胞へ導入するため、周知の手法のいずれかを使用することができる。これらには、リン酸カルシウムトランスフェクション、ポリプレソ、プロトプラスト融合、電気穿孔、微粒子銃、リボソーム、微量注入、プラズマ(plasma)ベクター、ウイルスベクター、およびクローニングされたゲノムDNA、cDNA、合成DNA、またはその他の外来遺伝子材料を宿主細胞へ導入するためのその他の周知の方法のいずれかの使用が含まれる（例えば、Sambrook et al. (前記)を参照すること）。使用される特定の遺伝子操作手法は、BaAdVのタンパク質および核酸を発現することができる宿主細胞へ少なくとも1種の遺伝子を成功裡に導入し得ることのみが必要である。宿主細胞は、ヒト細胞または非ヒト霊長類細胞であり得る。

10

【0118】

発現ベクターが細胞へ導入された後、トランスフェクトされた細胞は、選択のタンパク質の発現にとって好都合な条件の下で培養され、そのタンパク質が、以下に同定される標準的な技術を使用して培養物から回収される。

20

【0119】

天然に存在するBaAdVタンパク質または組換えBaAdVタンパク質のいずれかは、診断アッセイにおいて使用するため、（診断および治療のための）抗体ならびにワクチンを作成するため、そして抗ウイルス化合物についてアッセイするため、精製され得る。天然に存在するタンパク質は、例えば、霊長類組織試料から精製され得る。組換えタンパク質は、任意の適当な発現系から精製され得る。

【0120】

BaAdVポリペプチド

本明細書において特定されたオープンリーディングフレームによってコードされたもののようなBaAdVポリペプチドおよびそれらの機能的断片は、硫酸アンモニウムのような物質による選択的沈殿；カラムクロマトグラフィ、免疫精製法等を含む標準的な技術によって、実質的に純粋になるまで精製され得る（例えば、Scopes, Protein Purification: Principles and Practice(1982); 米国特許第4,673,641号; Ausubel et al. (前記); および Sambrook et al. (前記)を参照すること）。SEQ ID NO:5~109のうちの一つと少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一のポリペプチドのような、例示的なBaAdVポリペプチドが、本明細書に提供される。具体的な非限定的な例において、ポリペプチドは、SEQ ID NO:5~109のうちの一つとして示されたアミノ酸配列を含むかまたはそれからなる。

30

【0121】

組換えタンパク質を精製する時、多数の手法を利用することができる。例えば、確立された分子付着特性を有するタンパク質を、タンパク質に可逆的に融合させることができる。適切なリガンドまたは基質によって、特定のタンパク質を、精製カラムに選択的に吸着させ、次いで、比較的純粋な形態でカラムから溶出させることができる。次いで、融合したタンパク質を、酵素活性によって除去する。最後に、イムノアフィニティカラムを使用して、タンパク質を精製することができる。酵母細胞、昆虫細胞、細菌細胞、および哺乳動物細胞を含む任意の適当な起源から、組換えタンパク質を精製することができる。

40

【0122】

組換えタンパク質は、典型的には、プロモーター誘導後に、大量に発現され、形質転換細菌から精製され得るが；発現は構成性であってもよい。IPTGによるプロモーター誘導は、誘導可能プロモーター系の一例である。細菌は当技術分野における標準的な手法に従っ

50

て増殖させられる。新鮮なまたは凍結した細菌細胞が、タンパク質の単離のために使用される。

【0123】

細菌において発現されたタンパク質は、不溶性凝集物（「封入体」）を形成する場合がある。いくつかのプロトコルが、タンパク質封入体の精製のために適当である。例えば、封入体の精製は、典型的には、細菌細胞の破壊、例えば、50mM TRIS/HCL pH7.5、50mM NaCl、5mM MgCl₂、1mM DTT、0.1mM ATP、および1mM PMSFの緩衝液におけるインキュベーションによる、封入体の抽出、分離、および/または精製を含む。細胞懸濁物は、フレンチプレスへの2~3回の通過を使用して溶解されるか、Polytron (Brinkman Instruments) を使用して均質化されるか、または氷上で超音波処理され得る。細菌溶解の代替法は、当業者に明白である（例えば、Sambrook et al. (前記) ; Ausubel et al. (前記) を参照すること）。

10

【0124】

必要であれば、封入体を可溶化し、溶解された細胞懸濁物を、典型的には、不要の不溶物を除去するため、遠心分離する。封入体を形成していたタンパク質を、適合性の緩衝液による希釈または透析によって再生させることができる。適当な溶媒には、尿素（約4M~約8M）、ホルムアミド（少なくとも約80%、体積/体積基準）、および塩酸グアニジン（約4M~約8M）が含まれるが、これらに限定されない。凝集物形成タンパク質を可溶化することができるいくつかの溶媒、例えば、SDS（ドデシル硫酸ナトリウム）、70%ギ酸は、免疫原性および/または活性の欠如を伴うタンパク質の不可逆的な変性の可能性のため、この手法において使用するために不適切である。塩酸グアニジンおよび類似の薬剤は、変性剤であるが、この変性は、不可逆性ではなく、変性剤の（例えば、透析による）除去または希釈によって、再生が起こり、免疫学的活性および/または生物学的活性を有するタンパク質の再形成を可能にし得る。他の適当な緩衝液は、当業者に公知である。ヒトタンパク質は、標準的な分離技術によって、例えば、Ni-NTAアガロース樹脂によって、他の細菌タンパク質から分離される。

20

【0125】

あるいは、細菌周辺質から組換えタンパク質を精製することが可能である。細菌の溶解後、当業者に公知の他の方法に加えて、低温浸透圧ショックによって、細菌の周辺質画分を単離することができる。周辺質から組換えタンパク質を単離するため、細菌細胞を遠心分離してペレットを形成させる。ペレットを、20%ショ糖を含有している緩衝液に再懸濁させる。細胞を溶解するため、細菌を遠心分離し、ペレットを氷冷5mM MgSO₄に再懸濁させ、およそ10分間氷浴中に維持する。細胞懸濁物を遠心分離し、上清を取り出し、保存する。当業者に周知の標準的な分離技術によって、上清中に存在する組換えタンパク質を、宿主タンパク質から分離することができる。

30

【0126】

溶解度分画は、タンパク質を精製するための標準的なタンパク質分離技術として使用され得る。第一工程として、特に、タンパク質混合物が複雑である場合、最初の塩分画によって、関心対象の組換えタンパク質から不要の宿主細胞タンパク質（または細胞培養培地に由来するタンパク質）の多くを分離することができる。好ましい塩は、硫酸アンモニウムである。硫酸アンモニウムは、タンパク質混合物中の水の量を効果的に低下させることによって、タンパク質を沈殿させる。その時、タンパク質はそれらの溶解度に基づき沈殿する。タンパク質が疎水性であればあるほど、より低い硫酸アンモニウム濃度で沈殿する可能性が高くなる。典型的なプロトコルは、結果として硫酸アンモニウム濃度が20~30%となるよう、飽和硫酸アンモニウムをタンパク質溶液へ添加することを含む。この濃度は、タンパク質のうち最も疎水性のものを沈殿させるであろう。次いで、（関心対象のタンパク質が疎水性でない限り）沈殿物を廃棄し、硫酸アンモニウムを、関心対象のタンパク質を沈殿させることが既知の濃度で上清へ添加する。次いで、沈殿物を緩衝液中で可溶化し、必要であれば、透析またはダイアフィルトレーションのいずれかを通して過剰の塩を除去する。冷エタノール沈殿のような、タンパク質の溶解度に頼るその他の方法は、当業

40

50

者に周知であり、複雑なタンパク質混合物を分画するために使用され得る。

【0127】

異なる孔サイズの膜（例えば、Amicon膜またはMillipore膜）による限外ろ過を使用して、より大きいサイズのタンパク質およびより小さいサイズのタンパク質から単離するため、タンパク質の分子量を使用することができる。第一工程として、タンパク質混合物を、関心対象のタンパク質の分子量より低い分子量カットオフを有する孔サイズを有する膜によって限外ろ過する。次いで、限外ろ過の残余分を、関心対象のタンパク質の分子量より大きい分子カットオフを有する膜に対して限外ろ過する。組換えタンパク質は、膜を通過し、濾液へ移るであろう。次いで、濾液を下記のようなクロマトグラフィに供することができる。

10

【0128】

カラムクロマトグラフィを使用して、サイズ、正味の表面電荷、疎水性、およびリガンドまたは基質に対する親和性に基つき、タンパク質を他のタンパク質から分離することもできる。さらに、タンパク質に対する抗体をカラムマトリックスにコンジュゲートし、タンパク質を免疫精製することができる。これらの方法は、全て、当技術分野において周知である。クロマトグラフィ技術は、任意の規模で、多くの異なる製造業者（例えば、Pharmacia Biotech）からの機器を使用して実施され得ることが、当業者には明白であろう。

【0129】

本明細書に開示されたポリペプチドは、対象に由来する生物学的試料におけるBaAdV-2/4またはBaAdV-3に特異的に結合する抗体の存在を検出するために使用され得る。生物学的試料は、血液または血清の試料を含むが、これらに限定されない、任意の試料であり得る。方法は、抗体が1種以上のポリペプチドとの免疫複合体を形成するために十分な時間、生物学的試料を本明細書に開示されたポリペプチドのうちの1種以上と接触させる工程、および免疫複合体の存在を検出する工程を含む。免疫複合体の存在を検出する方法は、当技術分野において公知であり、以下に開示される。いくつかの態様において、方法は、ヒト抗体に特異的に結合する二次抗体の使用を含む。いくつかの例において、二次抗体は標識される。

20

【0130】

プローブ、プライマー、およびBaAdV核酸の検出

BaAdV-2/4およびBaAdV-3の感染のようなBaAdV感染は、生物学的試料中の特定のBaAdVのRNAまたはDNAのレベルに基つき、検出され得る。BaAdVに特異的なプライマーおよびプローブを、BaAdVの検出、BaAdV感染の診断、初期感染の確認、BaAdVウイルス量の決定のために使用することができる。いくつかの態様において、BaAdV-2/4に特異的に結合するプローブおよび/またはプライマーを、BaAdV-2/4の検出、診断、BaAdV-2/4ウイルス量の決定のために使用することができる。他の態様において、BaAdV-3に特異的に結合するプローブおよび/またはプライマーを、BaAdV-3の検出、診断、およびBaAdV-3ウイルス量の決定のために使用することができる。さらなる態様において、これらの方法は、例えば、BaAdV-2/4感染および/またはBaAdV-1感染からBaAdV-3感染を区別する。さらなる態様において、BaAdV-2/4由来のプライマーを、BaAdV-2/4の検出、診断、およびBaAdV-2/4ウイルス量の決定のために使用することができる。さらなる態様において、これらの方法は、例えば、BaAdV-3感染および/またはBaAdV-1感染からBaAdV-2/4感染を区別する。いくつかの態様において、方法は、BaAdV-1からBaAdV-2/4および/またはBaAdV-3を区別する。付加的な態様において、アッセイは多重アッセイである。

30

40

【0131】

例えば、公開された米国特許出願第2003/0104009号に記載された方法を使用して、選択のゲノム、核酸部分配列、ORF、またはタンパク質を検出するため、任意の適当なプライマーを使用することができる。いくつかの例において、本発明の核酸組成物を、生物学的試料（例えば、ヒト細胞の抽出物）に存在し得る、BaAdV-2/4 mRNAまたはそのようなmRNAから生成されたcDNAの検出のため、一本鎖または二本鎖のプローブまたはプライマーとして使用することができる。他の例において、本発明の核酸組成物を、生物学的試料（例え

50

ば、ヒト細胞の抽出物)に存在し得る、BaAdV-3 mRNAまたはそのようなmRNAから生成されたcDNAの検出のため、一本鎖または二本鎖のプロブまたはプライマーとして使用することができる。いくつかの態様において、プロブまたはプライマーは、BaAdV-2/4またはBaAdV-3のショートファイバー遺伝子に特異的である。

【0132】

BaAdV-2/4およびBaAdV-3のポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの付加的なコピーを生成するため、アンチセンスオリゴヌクレオチドを生成するため、そして三重鎖形成オリゴヌクレオチドとして、使用されてもよい。例えば、2種のオリゴヌクレオチドプライマーを、生物学的試料に由来するBaAdV cDNAの一部を増幅するためのポリメラーゼ連鎖反応(PCR)ベースのアッセイにおいて利用することができ、それらのオリゴヌクレオチドプライマーの少なくとも一方は、BaAdVポリヌクレオチドに特異的である(即ち、ハイブリダイズする)。いくつかの例において、プライマーは、BaAdV-3核酸に特異的に結合し、従って、BaAdV-2/4および/またはBaAdV-1からBaAdV-3を識別するために使用され得る。他の例において、プライマーは、BaAdV-2/4核酸に特異的に結合し、従って、BaAdV-3および/またはBaAdV-1からBaAdV-2/4を識別するために使用され得る。具体的な非限定的な例において、プロブおよび/またはプライマーは、ショートファイバーポリペプチドをコードする核酸に特異的に結合する。

【0133】

プライマーは、少なくとも、もしくは約12ヌクレオチド(nt)、15nt、16nt、18nt、20nt、22nt、24nt、25nt、30nt、35nt、40nt、45nt、もしくは50ntであり得、または、例えば、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3の連続配列、もしくはBaAdV-2/4もしくはBaAdV-3のポリペプチドをコードするその他のポリヌクレオチド配列の約12~50nt長、15~30nt長、15~25nt長、もしくは20~30nt長の断片である。次いで、増幅されたcDNAを、ゲル電気泳動のような当技術分野において周知の技術を使用して、分離し、検出する。同様に、BaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリヌクレオチドに特異的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドプロブを、生物学的試料中のそれぞれBaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリヌクレオチドの存在を検出するため、ハイブリダイゼーションアッセイにおいて使用することができる。

【0134】

PCRのため、約36℃の温度が低ストリンジェンシー増幅のために典型的であるが、アニーリング温度は、プライマー長に依って、約32℃~48℃で変動し得る。高ストリンジェンシーPCR増幅のためには、約62℃の温度が典型的であるが、高ストリンジェンシーアニーリング温度は、プライマー長および特異性に依って、約50℃~約65℃の範囲にあり得る。高ストリンジェンシー増幅および低ストリンジェンシー増幅の両方のための典型的なサイクル条件には、90℃~95℃、30秒~2分の変性期、30秒~2分続くアニーリング期、および約72℃、1~2分の伸長期が含まれる。低ストリンジェンシーおよび高ストリンジェンシーの増幅反応のためのプロトコルおよびガイドラインは、(例えば、Innis et al.(1990)PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications, Academic Press, Inc. N.Y.に)提供されている。

【0135】

いくつかの態様において、ヒシアデノウイルス(BaAdV)-3またはBaAdV-2/4の核酸を検出する方法が提供される。方法は、(a)SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、および/またはSEQ ID NO:3として示されたヌクレオチド配列とストリンジェントな条件の下でハイブリダイズする少なくとも1種のプライマーと、アデノウイルス核酸を含むと推測される試料を接触させる工程；(b)PCR反応を実施する工程；ならびに(c)PCR反応からの反応生成物の存在または欠如を検出する工程であって、反応生成物の存在によって、BaAdV-3またはBaAdV-2/4のアデノウイルスを検出する、工程を含む。

【0136】

BaAdV-2/4およびBaAdV-3のポリヌクレオチド(天然または誘導)のためのプロブは、ハイブリダイゼーションによる独特のウイルス配列の検出を可能にする長さまたは配列を

有する。約6~8ヌクレオチドが有用であり得るが、より長い配列、例えば、約10~12ヌクレオチド、または約15ヌクレオチド、16ヌクレオチド、17ヌクレオチド、18ヌクレオチド、19ヌクレオチド、20ヌクレオチド、またはそれ以上の配列が、より有効であり得る。いくつかの態様において、これらの配列は、ウイルス単離物間の不均一性を欠く領域に由来するであろう。

【0137】

BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3に特異的な核酸プローブまたはプライマーは、本明細書に開示されたポリヌクレオチド配列を使用して生成され得る。いくつかの態様において、プローブは、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3の連続配列、またはBaAdV-2/4および/もしくはBaAdV-3の縮重パリアントのようなBaAdVポリペプチドをコードするその他のポリヌクレオチド配列の少なくとも約12ヌクレオチド(nt)、15nt、16nt、18nt、20nt、22nt、24nt、または25ntの断片である。核酸プローブは、約200bp未満、150bp、100bp、75bp、50bp、60bp、40bp、30bp、25by、2kb、1.5kb、1kb、0.5kb、0.25kb、0.1kb、または0.05kbの長さを有し得る。プローブは、例えば、化学合成、PCR増幅、制限酵素を使用したより長いポリヌクレオチドからの生成、または当技術分野において周知のその他の方法によって作製され得る。一般に、プライマーおよびプローブは、BaAdV核酸配列と同一であり、非BaAdV配列とは異なっている。上述のように、プライマーおよびプローブは、BaAdV-2/4およびBaAdV-3を相互に区別し、BaAdV-2/4およびBaAdV-3をBaAdV-1から区別するため、使用され得る。

10

【0138】

本明細書に記載されたポリヌクレオチドは、特に、診断アッセイにおいてプローブとして使用される場合、検出可能に標識され得る。例示的な検出可能標識には、放射標識、蛍光色素(例えば、フルオレセインイソチシアネート(FITC)、ローダミン、テキサスレッド、フィコエリトリン、アロフィコシアニン、6-カルボキシフルオレセイン(6-FAM)、2',7'-ジメトキシ-4',5'-ジクロロ-6-カルボキシフルオレセイン、6-カルボキシ-X-ローダミン(ROX)、6-カルボキシ-2',4',T,4,7-ヘキサクロロフルオレセイン(HEX)、5-カルボキシフルオレセイン(5-FAM)、またはN,N,N',N'-テトラメチル-6-カルボキシローダミン(TAMRA))、放射性標識(例えば、³²P、³⁵S、および³H)等が含まれるが、これらに限定されない。検出可能標識は、2段階系(例えば、ビオチン-アビジン、ハプテン-抗ハプテン抗体等)を含むことができる。

20

30

【0139】

非PCRベースの配列特異的なDNA増幅技術を、BaAdV配列を検出するため、本発明において使用することができる。そのような技術の例には、Invaderアッセイ(例えば、Kwiatkowski et al. Mol Diagn. December 1999, 4:353-64および米国特許第5,846,717号を参照すること)が含まれるが、これに限定されない。

【0140】

他の態様において、本明細書に記載されたポリヌクレオチドのいずれかを含む、アレイのような固体基質が提供される。ポリヌクレオチドは、当技術分野において公知の方法を使用して、アレイ上に固定化される。アレイは1種以上の異なるポリヌクレオチドを有することができる。

40

【0141】

特異的なBaAdV核酸(例えば、RNAまたはDNA)を検出するための当技術分野において公知の任意の適当な定性的または定量的な手法を使用することができる。BaAdV核酸は、例えば、組織切片におけるインサイチューハイブリダイゼーションによって、ハイブリダイズする核酸の間の一塩基対の違いを検出する方法を使用して(例えば、米国特許第5,846,717号に記載されたINVADER(登録商標)テクノロジーを、例えば、使用して)、逆転写酵素PCRによって、またはポリA mRNAを含有しているノーザンプロットにおいて、そして当技術分野において周知のその他の方法によって、検出され得る。血液または血液由来試料におけるBaAdV-2/4およびBaAdV-3のポリヌクレオチドの検出のため、一塩基対ミスマッチの検出を可能にする方法の使用が好ましい。

50

【0142】

所望のBaAdV核酸にハイブリダイズし、従って、試料中の特異的なBaAdVウイルスの検出および感染個体の同定ならびにウイルスゲノムのさらなる特徴決定において有用である核酸プローブ（例えば、少なくとも約8ヌクレオチド以上のオリゴマーを含む、上記を参照すること）は、BaAdV-2/4およびBaAdV-3の核酸を基礎として使用して、組換えポリヌクレオチドからの切り出しまたは合成のいずれかによって調製され得る。いくつかの例において、プローブおよびプライマーは、BaAdV-2/4およびBaAdV-3の両方を検出するために設計され得る。いくつかの例において、プローブおよびプライマーは、BaAdV-2/4およびBaAdV-3をBaAdV-1から区別する。他の態様において、プローブおよびプライマーは、BaAdV-2/4のみを検出するために設計され得る。いくつかの例において、プローブおよびプライマーは、BaAdV-2/4をBaAdV-3およびBaAdV-1から区別する。さらなる態様において、プローブおよびプライマーは、BaAdV-3のみを検出するために設計され得る。いくつかの例において、プローブおよびプライマーは、BaAdV-3をBaAdV-2/4およびBaAdV-1から区別する。

10

【0143】

核酸プローブは、自動オリゴヌクレオチド合成法を含むルーチンの方法を使用して調製され得る。BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3のゲノムの独特の一部、例えば、試料中に存在し得る他のウイルス、例えば、BaAdV-1アデノウイルスのような他のBaAdVまたは他のアデノウイルスから関心対象のBaAdVを区別することを可能にするゲノムの一部に対する相補物が、十分なものであろう。プローブとして使用するためには、完全な相補性が望ましいが、断片の長さが増加すれば、それは不要になり得る。

20

【0144】

そのようなプローブの診断薬としての使用のため、血液または血清のような分析される生物学的試料を、所望により、そこに含有されている核酸を抽出するために処理することができる。試料から得られた核酸を、ゲル電気泳動またはその他のサイズ分離技術に供してもよいし；あるいは、核酸試料をサイズ分離することなくドットプロットしてもよい。プローブは、一般的に、検出可能標識によって標識される。適当な標識およびプローブを標識する方法は、当技術分野において公知であり、例えば、ニックトランスレーションまたはキナーゼ法（kinasing）によって組み入れられた放射性標識、ビオチン、蛍光プローブ、および化学発光プローブを含み得る。次いで、試料から抽出された核酸を、適当なストリンジェンシーのハイブリダイゼーション条件の下で、標識されたプローブによって処理する。

30

【0145】

プローブは、BaAdV-2/4および/もしくはBaAdV-3のゲノムまたはその一部（例えば、BaAdVポリペプチドをコードする配列の全部または一部）に完全に相補的に作成され得る。従って、一般的には、高ストリンジェンシー条件が、偽陽性を防止するかまたは少なくとも最小化するために望ましい。しかしながら、プローブが、BaAdVウイルス単離物間の不均一性を欠くウイルスゲノムの領域に相補的である場合には、高ストリンジェンシー条件のみが使用されるべきである。ハイブリダイゼーションのストリンジェンシーは、温度、イオン強度、時間の長さ、およびホルムアミドの濃度を含む、ハイブリダイゼーション中および洗浄手法中の多数の因子によって決定される（Sambrook et al.(1989), "Molecular Cloning; A Laboratory Manual," Second Edition(Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, N.Y.)）。

40

【0146】

一般に、BaAdV-2/4またはBaAdV-3の配列は、細胞 10^6 個あたりおよそ $10^2 \sim 10^4$ のBaAdV-2/4またはBaAdV-3の配列のような比較的低いレベルで、感染個体から入手された生物学的試料（例えば、血液、細胞等）の中に存在することが予想される。このレベルは、ハイブリダイゼーションアッセイにおいて増幅技術を使用することを必要とし得る。そのような技術は当技術分野において公知である。

【0147】

例えば、Enzo Biochemical Corporationの「Bio-Bridge」系は、未修飾の3'ポリdTター

50

ルをDNAプローブに付加するために末端デオキシヌクレオチドトランスフェラーゼを使用する。ポリdTテール付きプローブを、標的ヌクレオチド配列にハイブリダイズさせ、次いで、ビオチンによって修飾されたポリAにハイブリダイズさせる。PCT公開第W084/03520号および欧州出願第EPA124221号は、(1)酵素標識されたオリゴヌクレオチドに相補的な一本鎖DNAプローブにアナライトをアニールさせ；(2)得られたテール付き二重鎖を、酵素によって標識されたオリゴヌクレオチドにハイブリダイズさせる、DNAハイブリダイゼーションアッセイを記載している。公開された欧州特許出願第204510号は、ポリdTテールのようなテールを有するプローブ、ポリA配列のようなプローブのテールにハイブリダイズする配列を有し、多数の標識された鎖に結合することができるアンプリファイヤー鎖と、アナライトDNAを接触させる、DNAハイブリダイゼーションアッセイを記載している。

10

【0148】

ある技術は、最初に、血清中のBaAdV-2/4および/またはBaAdV-3の標的配列を、およそ10,000倍、例えば、およそ10配列/mLに増幅することを含み得る。これは、例えば、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)技術によって達成され得る(Saiki et al.(1986)、Mullisの米国特許第4,683,195号、およびMullisらの米国特許第4,683,202号)。他の増幅法は当技術分野において周知である。

【0149】

プローブ、あるいは試料に由来する核酸は、そのようなアッセイのための溶液中に提供されてもよいし、または支持体(例えば、固体もしくは半固体の支持体)に固定されてもよい。使用され得る支持体の例は、ニトロセルロース(例えば、膜またはマイクロタイターウェルの形態)、ポリ塩化ビニル(例えば、シートまたはマイクロタイターウェル)、ポリスチレンラテックス(例えば、ビーズまたはマイクロタイタープレート)、フッ化ポリビニリデン、ジアゾ化ペーパー、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。

20

【0150】

プローブ(または試料核酸)は、検出のためにアレイ上に提供されてもよい。アレイは、例えば、二次元のマトリックスまたはアレイの基質(例えば、ガラス、ニトロセルロース等)へポリヌクレオチドプローブをスポットすることによって作出され得る。プローブは、共有結合または疎水的相互作用のような非特異的な相互作用のいずれかによって、基質に結合し得る。ポリヌクレオチドの試料を、(例えば、放射性または蛍光性の標識を使用して)検出可能に標識し、次いで、プローブにハイブリダイズさせることができる。プローブポリヌクレオチドに結合した標識された試料ポリヌクレオチドを含む二本鎖ポリヌクレオチドを、試料の未結合部分を洗浄除去した後、検出することができる。アレイを構築するための技術およびこれらのアレイを使用する方法は、EP 799 897 ; WO 97/29212 ; WO 97/27317 ; EP 785 280 ; WO 97/02357 ; 米国特許第5,593,839号 ; 米国特許第5,578,832号 ; EP 728 520 ; 米国特許第5,599,695号 ; EP 721 016 ; 米国特許第5,556,752号 ; WO 95/22058 ; および米国特許第5,631,734号に記載されている。アレイは、例えば、単一の試料を2種以上の核酸標的領域の存在について分析する場合、標的領域の各々のためのプローブならびに対照(陽性および陰性の両方)を、単一のアレイに提供することができるため、特に有用である。従って、アレイは、迅速な便利な分析を容易にする。

30

40

【0151】

BaAdV抗体

本明細書に記載されるように、BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3に対して作製された抗体は、BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3の検出のための診断アッセイを含むが、これに限定されない、多様な目的のために役立ち得る。これらの抗体は、処置のためにも使用され得る。抗体は、BaAdV-2/4ポリペプチドまたはBaAdV-3ポリペプチドに特異的に結合する。具体的な非限定的な例には、SEQ ID NO:5~109のうちの一つと少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一のポリペプチドに特異的に結合する抗体が含まれる。抗体には、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体が含まれる。いくつかの態様において、抗体は、SEQ ID NO:1~3のうちの一つによ

50

てコードされたポリペプチドに特異的に結合し、SEQ ID NO:4によってコードされたポリペプチドには特異的に結合しない。

【0152】

BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3のタンパク質、ウイルス、または核酸の一部を含む多数の免疫原を、BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3と特異的に反応性の抗体を作製するために使用することができる。いくつかの態様において、抗体は、BaAdV-2/4に特異的に結合し、BaAd-3またはBaAdV-1には結合しない。他の態様において、抗体は、BaAdV-3に特異的に結合し、BaAd-2/4またはBaAdV-1には結合しない。さらなる態様において、抗体は、BaAdV-3およびBaAd-2/4に特異的に結合し、BaAdV-1には結合しない。いくつかの非限定的な例において、抗体は、SEQ ID NO:5~109のうちの一つに特異的に結合する。抗体は、SEQ ID NO:5~109のうちの一つに特異的に結合するモノクローナル抗体またはそれらの断片であり得る。

10

【0153】

いくつかの態様において、BaAdV-2/4またはBaAdV-3の組換えタンパク質またはそれらの抗原性断片は、本明細書に記載されるように単離され得る。組換えタンパク質を、上記のような真核細胞または原核細胞において発現させ、一般に上記のように精製することができる。次いで、組換えタンパク質を、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体の作製のための免疫原として使用することができる。あるいは、本明細書に開示された配列に由来し、担体タンパク質にコンジュゲートされた合成ペプチドを、免疫原として使用することができる。天然に存在するタンパク質も、純粋な形態または非純粋な形態のいずれかで使用することができる。次いで、生成物を、抗体を産生することができる動物へ注射する。ポリペプチドを測定するためのイムノアッセイにおいて後に使用するため、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体のいずれかを生成することができる。

20

【0154】

BaAdV-2/4またはBaAdV-3に特異的に結合する抗体を作製する方法は、本明細書に開示されている。抗体、例えば、組換え抗体、モノクローナル抗体、またはポリクローナル抗体の調製のため、多くの技術を使用することができる(例えば、Kohler & Milstein, Nature 256:495-497(1975); Kozbor et al., Immunology Today 4:72(1983); Cole et al., pp.77-96 in Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy, Alan R. Liss, Inc. (1985); Coligan, Current Protocols in Immunology(1991); Harlow & Lane, Antibodies, A Laboratory Manual(1988); and Goding, Monoclonal Antibodies: Principles and Practice(2d ed.1986)を参照すること)。

30

【0155】

ポリクローナル抗体の作製の方法は、当業者に公知である。マウス(例えば、BALB/Cマウス)またはウサギの近交系を、フロイントアジュバントのような標準的なアジュバントおよび標準的な免疫化プロトコルを使用して、タンパク質によって免疫化する。試験血液を採取し、ベータサブユニットに対する反応性の力価を決定することによって、動物の免疫原調製物に対する免疫応答をモニタリングする。免疫原に対する抗体の適切に高い力価が入手される時、血液を動物から収集し、抗血清を調製する。所望により、タンパク質に反応性の抗体を濃縮するため、抗血清のさらなる分画を行うことができる(Harlow & Lane(前記)を参照すること)。

40

【0156】

当業者に周知の様々な技術によって、モノクローナル抗体を入手することができる。簡単に説明すると、BaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリペプチドのような所望の抗原によって免疫化された動物に由来する脾細胞を、一般的には、骨髄腫細胞との融合によって、不死化する(Kohler & Milstein, Eur. J. Immunol. 6:511-519(1976)を参照すること)。不死化の代替的な方法には、エプスタインバーウイルス、癌遺伝子、もしくはレトロウイルスによる形質転換、または当技術分野において周知のその他の方法が含まれる。単一の不死化細胞から発生するコロニーを、抗原に対する所望の特異性および親和性を有する抗体の産生についてスクリーニングし、そのような細胞によって産生されたモノクローナル抗体の収

50

率を、脊椎動物宿主の腹腔腔への注射を含む、様々な技術によって増強することができる。あるいは、Huse, et al., Science 246:1275-1281(1989)によって概説された一般的なプロトコルに従って、ヒトB細胞由来のDNAライブラリをスクリーニングすることによって、モノクローナル抗体またはその結合断片をコードするDNA配列を単離することができる。

【0157】

モノクローナル抗体およびポリクローナル血清を収集し、イムノアッセイ、例えば、固体支持体上に固定化された免疫原を用いた固相イムノアッセイにおいて、免疫原タンパク質に対して滴定する。典型的には、 10^4 以上の力価を有するポリクローナル抗血清を選択し、競合結合イムノアッセイを使用して、非BaAdVのタンパク質および核酸に対する交差反応性について試験する。特異的なポリクローナル抗血清およびモノクローナル抗体は、一般的には、少なくとも約0.1mM、より一般的には、少なくとも約1uM、好ましくは、少なくとも約0.1uM以下、最も好ましくは、0.01uM以下のKdで結合するであろう。特定のBaAdVタンパク質にのみ特異的な抗体も、他の交差反応性タンパク質を差し引くことによって作成することができる。このようにして、選択のタンパク質にのみ結合する抗体を入手することができる。

10

【0158】

BaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリペプチドのような選択された抗原に特異的に結合する抗体およびヘテロマーFab断片を同定するため、ファージディスプレイテクノロジーを使用することができる（例えば、McCafferty et al., Nature 348:552-554(1990); Marks et al., Biotechnology 10:779-783(1992)を参照すること）。抗体は、二重特異性、即ち、2種の異なる抗原を認識し得るようにも作成され得る（例えば、WO 93/08829、Traunecker et al., EMBO J. 10:3655-3659(1991); およびSuresh et al., Methods in Enzymology 121:210(1986)を参照すること）。抗体は、ヘテロコンジュゲート、例えば、共有結合で接合された2種の抗体、またはイムノトキシンであってもよい（例えば、米国特許第4,676,980号、WO 91/00360; WO 92/200373; およびEP 03089を参照すること）。

20

【0159】

(a) 抗原結合部位（可変領域）が、異なるかもしくは改変されたクラス、エフェクター機能、および/もしくは種の定常領域、もしくはキメラ抗体へ新しい特性を付与する完全に異なる分子、例えば、酵素、毒素、ホルモン、増殖因子、薬物等に連結されるよう、定常領域もしくはその一部が改変されているか、置換されているか、もしくは交換されている抗体分子、または(b)可変領域もしくはその一部が、異なるかもしくは改変された抗原特異性を有する可変領域によって改変されているか、置換されているか、もしくは交換されている抗体分子である、キメラ抗体が使用されてもよい。

30

【0160】

ヒト化抗体または霊長類化抗体が使用されてもよい。一般に、ヒト化抗体は、非ヒトである起源から導入された1個以上のアミノ酸残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基は、しばしば、インポート残基と呼ばれ、典型的には、インポート可変ドメインから得られる。非ヒト抗体をヒト化または霊長類化する方法は、当技術分野において周知である。ヒト化は、ヒト抗体の対応する配列を齧歯類のCDRまたはCDR配列に置換することによって、Winterおよび共同研究者らの方法に従って本質的に実施され得る（例えば、Jones et al., Nature 321:522-525(1986); Riechmann et al., Nature 332:323-327(1988); Verhoeven et al., Science 239:1534-1536(1988)、およびPresta, Curr. Op. Struct. Biol. 2:593-596(1992)を参照すること）。従って、そのようなヒト化抗体は、完全ヒト可変ドメインより実質的に少ない部分が、非ヒト種に由来する対応する配列に置換されたキメラ抗体（米国特許第4,816,567号）である。実際、ヒト化抗体は、典型的には、いくつかのCDR残基およびおそらくいくつかのFR残基が、齧歯類抗体の類似した部位に由来する残基に置換されたヒト抗体である。

40

【0161】

重鎖および軽鎖の可変領域を含む、Fab、F(ab')₂、およびFvのような抗体断片は、本開示に包含される。これらの抗体断片は、抗原に選択的に結合する能力を保持している。こ

50

これらの断片には、以下のものが含まれる：

(1) 抗体分子の1価抗原結合断片を含有している断片であるFabは、酵素パパインによって完全抗体を消化して、1本の完全な軽鎖および1本の重鎖の一部を与えることによって作製され得る；

(2) 抗体分子の断片であるFab'は、ペプシンによって完全抗体を処理した後、還元することによって、1本の完全な軽鎖および1本の重鎖の一部を与えることによって入手される；1抗体分子につき2個のFab'断片が入手される；

(3) 酵素ペプシンによって完全抗体を処理することによって、その後の還元なしに入手され得る抗体の断片である(Fab')₂。F(ab')₂は、2個のジスルフィド結合によってつながり合わされた2個のFab'断片の二量体である；

(4) 2本の鎖として発現された軽鎖の可変領域および重鎖の可変領域を含有している遺伝子的に操作された断片であるFv；ならびに

(5) 遺伝学的に融合された一本鎖分子として、適当なポリペプチドリンカーによって連結された軽鎖の可変領域、重鎖の可変領域を含有している、遺伝的に操作された分子として定義される(scFvのような)一本鎖抗体。

(6) scFVの二量体として定義される一本鎖抗体の二量体(scFV₂)。これは「ミニ抗体」とも呼ばれている。

【0162】

これらの断片を作成する方法は、当技術分野において公知である(例えば、Harlow and Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1988を参照すること)。

【0163】

いくつかの態様において、抗体およびその抗原結合断片を、標識または毒素のようなエフェクター分子にコンジュゲートすることができる。有用な検出剤には、フルオレセイン、フルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、5-ジメチルアミン-1-ナフタレンスルホニルクロリド、フィコエリトリン、ランタニド蛍光体等を含む蛍光化合物が含まれる。ルシフェラーゼ、緑色蛍光タンパク質、黄色蛍光タンパク質のような生物発光マーカースも、有用である。抗体またはその抗原結合断片は、西洋ワサビペルオキシダーゼ、ガラクトシダーゼ、ルシフェラーゼ、アルカリホスファターゼ、グルコースオキシダーゼ等のような検出のために有用な酵素によっても標識され得る。抗体またはその抗原結合断片が検出可能酵素によって標識される時、それは、鑑別され得る反応生成物が生じるよう、酵素が使用する付加的な試薬を添加することによって、検出され得る。例えば、薬剤西洋ワサビペルオキシダーゼが存在する時、過酸化水素およびジアミノベンジジンの添加は、視覚的に検出可能である有色の反応生成物をもたらす。抗体またはその抗原結合断片は、ビオチンによって標識され、アビジンまたはストレプトアビジンの結合の間接的な測定を通して検出されてもよい。アビジン自体を酵素または蛍光標識によって標識してもよいことに注意すべきである。

【0164】

抗体またはその抗原結合断片は、ガドリニウムのような磁性薬剤によって標識されてもよい。抗体および抗原結合断片は、(ユーロピウムおよびジスプロシウムのような)ランタニドならびにマンガンによって標識されてもよい。超常磁性酸化鉄のような常磁性粒子も、標識として有用である。抗体または抗原結合断片は、(ロイシンジッパー対配列、二次抗体の結合部位、金属結合ドメイン、エピトープタグのような)二次的なレポーターによって認識される予め決定されたポリペプチドエピトープによって標識されてもよい。いくつかの態様において、標識は、可能性のある立体障害を低下させるため、様々な長さのスペーサーアームによって付着させられる。

【0165】

抗体は、放射標識されたアミノ酸によって標識されてもよい。放射標識は、診断目的にも治療目的にも使用され得る。ポリペプチドのための標識の例には、以下の放射性同位体または放射性ヌクレオチド(radionucleotides)：³H、¹⁴C、¹⁵N、³⁵S、⁹⁰Y、⁹⁹Tc、¹¹¹I

10

20

30

40

50

n、¹²⁵I、¹³¹Iが含まれるが、これらに限定されない。

【0166】

抗体または抗原結合断片は、ポリエチレングリコール（PEG）、メチル基もしくはエチル基、または炭水化物基のような化学基によって誘導体化されてもよい。これらの基は、抗体の生物学的特徴を改善するため、例えば、血清半減期を増加させるかまたは組織結合を増加させるため、有用であり得る。

【0167】

そのような標識を検出する手段は、当業者に周知である。従って、例えば、放射標識は、写真用フィルムまたはシンチレーション計数器を使用して検出され得、蛍光マーカは、放射された光を検出するための光検出器を使用して検出され得る。酵素標識は、典型的には、酵素に基質を提供し、基質に対する酵素の作用によって生成された反応生成物を検出することによって検出され、比色定量標識は、単純に有色の標識を可視化することによって検出される。

【0168】

BaAdVポリペプチドの検出

BaAdV-2/4およびBaAdV-3の感染のようなBaAdV感染は、特定のBaAdVポリペプチド試料のレベルに基づき検出され得る。BaAdVに特異的な抗体は、BaAdVの検出、BaAdV感染の診断、初期感染の確認、およびBaAdVウイルス量の決定のために使用され得る。いくつかの態様において、BaAdV-2/4に特異的に結合する抗体は、BaAdV-2/4の検出、診断、およびBaAdV-2/4ウイルス量の決定のために使用され得る。他の態様において、BaAdV-3に特異的に結合する抗体は、BaAdV-3の検出、診断、およびBaAdV-3ウイルス量の決定のために使用され得る。さらなる態様において、これらの方法は、例えば、BaAdV-2/4感染および/またはBaAdV-1感染から、BaAdV-3感染を区別する。さらなる態様において、BaAdV-2/4に特異的に結合する抗体は、BaAdV-2/4の検出、診断、およびBaAdV-2/4ウイルス量の決定のために使用され得る。さらなる態様において、これらの方法は、例えば、BaAdV-3感染および/またはBaAdV-1感染から、BaAdV-2/4感染を区別する。いくつかの態様において、方法は、BaAdV-1からBaAdV-2/4および/またはBaAdV-3を区別する。

【0169】

従って、ある種の態様において、BaAdV-2/4ポリペプチドに特異的に結合し、BaAdV-3またはBaAdV-1のポリペプチドには結合しない抗体を利用し、従って、BaAdV-2/4の特異的な検出のために使用され得る方法が提供される。従って、その抗体は、BaAdV-3およびBaAdV-1の感染からBaAdV-2/4感染を区別する（識別する）ために使用され得る。他の態様において、BaAdV-3ポリペプチドに特異的に結合し、BaAdV-2/4またはBaAdV-1のポリペプチドには結合しない抗体を利用し、従って、BaAdV-3の特異的な検出のために利用され得る方法が提供される。従って、その抗体は、BaAdV-1およびBaAdV-2/4の感染からBaAdV-3感染を区別する（識別する）ために使用され得る。さらなる態様において、BaAdV-3およびBaAdV-2/4のポリペプチドの両方に特異的に結合する抗体を利用し、従って、BaAdV-1は検出せずに、BaAdV-3およびBaAdV-2/4の両方を特異的に検出するために利用され得る方法が提供される。従って、その抗体は、BaAdV-1感染からBaAdV-3/BaAdV-2/4感染を区別する（識別する）ために使用され得る。いくつかの態様において、抗体はモノクローナル抗体である。他の態様において、抗体は直接標識される。いくつかの非限定的な例において、抗体は、SEQ ID NO:5~109のうちの一つと少なくとも約90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、または100%同一のポリペプチドのようなBaAdV-2/4ポリペプチドおよび/またはBaAdV-3ポリペプチドに特異的に結合する。

【0170】

BaAdVのタンパク質、ウイルス、または核酸に対する特異的な抗体が利用可能になった後は、多数のよく認識された免疫学的結合アッセイのいずれかを使用して、抗原を検出しかつ/または定量化することができる（例えば、米国特許第4,366,241号；第4,376,110号；第4,517,288号；および第4,837,168号を参照すること）。BaAdVウイルス粒子は、ウイルス粒子として提示されるようなウイルスタンパク質によって定義されたエピトープおよ

10

20

30

40

50

び/またはウイルス粒子とは別のウイルスタンパク質によって定義されたエピトープに基づき検出され得る。この状況において使用されるように、その場合、「抗原」とは、BaAdVポリペプチドもBaAdVウイルス粒子もさすものとする。一般的なイムノアッセイの概説については、Methods in Cell Biology:Antibodies in Cell Biology,volume 37(Asai,ed.1993);Basic and Clinical Immunology(Stites & Terr,eds.,7th ed.1991)も参照すること。免疫学的結合アッセイ(またはイムノアッセイ)は、典型的には、選択のタンパク質または抗原に特異的に結合する抗体を使用する。当業者に周知の多数の手段のいずれかによって、上記のように、抗体を生成することができる。試料中のBaAdVのタンパク質、ウイルス、および核酸を検出するためのイムノアッセイは、競合型であってもよいしまたは非競合型であってもよく、定量的であってもよいしまたは非定量的であってもよい。

10

【0171】

非競合型イムノアッセイは、抗原を直接検出し、いくつかの場合において、抗原の量を直接測定するアッセイである。免疫蛍光アッセイ(IFA)、酵素連結免疫吸着アッセイ(ELISA)、イムノプロットティング(ウエスタン)、およびキャプチャーアッセイのような酵素によって媒介されるイムノアッセイは、BaAdVタンパク質の非競合型の検出を達成するために容易に適応し得る。

【0172】

BaAdVの検出のために有効なELISA法は、例えば、以下の通りであり得る:(1)抗体または抗原を基質に結合させる;(2)結合した受容体を、ウイルス、ウイルス抗原、またはウイルスに対する抗体を含有している液体または組織試料と接触させる;(3)上記のものを、検出可能モエティ(例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ酵素またはアルカリホスファターゼ酵素)と結合した抗体と接触させる;(4)上記のものを、酵素のための基質と接触させる;(5)上記のものを、発色試薬と接触させる;(6)色の変化を観察する。上記の方法は、試料中の抗BaAdV抗体の存在または特異的なBaAdVポリペプチドおよびウイルスを検出するために容易に修飾され得る。

20

【0173】

試料中のBaAdV抗原の存在を検出し定量化するため、ウエスタンブロット(イムノプロット)分析を使用することができる。その技術は、一般に、分子量に基づきゲル電気泳動によって試料タンパク質を分離すること、分離されたタンパク質を(ニトロセルロースフィルタ、ナイロンフィルタ、または誘導体化ナイロンフィルタのような)適当な固体支持体に移すこと、およびBaAdV抗原に特異的に結合する抗体と共に試料をインキュベートすることを含む。抗BaAdV抗原抗体は、固体支持体上のBaAdV抗原に特異的に結合する。これらの抗体は、直接標識されてもよいし、あるいは、抗BaAdV抗原抗体に特異的に結合する標識された抗体(例えば、標識されたヒツジ抗マウス抗体)を使用して後に検出されてもよい。

30

【0174】

他のアッセイフォーマットには、特異的な分子(例えば、抗体)に結合し、封入された試薬またはマーカーを放出するよう設計されたリボソームを使用するリボソームイムノアッセイ(LIA)が含まれる。次いで、放出された化学物質が、標準的な技術に従って検出される(Monroe et al.,Amer.CIM.Prod.Rev.5:34-41(1986)を参照すること)。

40

【0175】

BaAdV抗原および/またはウイルスに対する患者の抗体は、キャプチャーアッセイを利用して検出され得る。簡単に説明すると、患者試料中のBaAdVに対する抗体を検出するため、患者の免疫グロブリンに対する抗体、例えば、抗IgG(またはIgM)を固相基質に結合させ、血清に由来する患者の免疫グロブリンを捕獲するために使用する。次いで、BaAdV、またはBaAdVの反応性断片を固相と接触させ、その後、標識された抗体を添加する。次いで、標識された抗体の結合の量によって、患者のBaAdV特異的な抗体の量を定量化することができる。いくつかの態様において、対象におけるヒビアデノウイルス(BaAdV)-3またはBaAdV-2/4の感染を検出する方法が、提供される。方法は、(a)BaAdV-3またはBaAdV-2/4に起因する感染を有すると推測される対象に由来し、該対象由来の抗体を含む試料

50

を、BaAdv-3またはBaAdv-2/4のポリペプチドと接触させる工程、および(b)該抗体と該ポリペプチドとの結合を検出し、それによって、BaAdv-3またはBaAdv-2/4の感染を検出する工程を含む。

【0176】

競合アッセイにおいては、試料中に存在する未知のBaAdv抗原によって抗BaAdv抗原抗体から追い出された(競合された)、既知の添加された(外因性)BaAdv抗原に関連した検出可能シグナルの減少を検出することによって、試料中に存在するBaAdv抗原を間接的に検出することができる。

【0177】

競合アッセイは、試料中に存在するBaAdv抗原の量の間接的な測定を提供するためにも適応し得る。簡単に説明すると、対象に由来する血清またはその他の体液を、基質(例えば、ELISA 96穴プレート)に結合した抗体と反応させる。過剰の血清を十分に洗浄除去する。次いで、標識された(酵素と連結された、蛍光性、放射性等)モノクローナル抗体を、予め反応させたBaAdvウイルス-抗体複合体と反応させる。モノクローナル抗体結合の阻害の量を、対照に対して相対的に測定する。抗体-ウイルス複合体に対して特異的に反応性のMABについては、IFAによる試料中の直接検出のために、MABを使用することもできる。

10

【0178】

ハプテン阻害アッセイは、別の競合アッセイである。このアッセイにおいては、既知のBaAdv抗原を固体基質上に固定化することができる。抗BaAdv抗体の既知量を試料に添加し、次いで、試料を固定化されたBaAdv抗原と接触させる。既知の固定化されたBaAdv抗原に結合する抗BaAdv抗体の量は、試料中に存在するBaAdv抗原の量に反比例する。固定化された抗体の画分または溶液中に残存する抗体の画分のいずれかを検出することによって、固定化された抗体の量を検出することができる。検出は、抗体が標識されている場合、直接であってもよいし、または、上記のような抗体に特異的に結合する標識されたモエティの後の添加による間接的なものであってもよい。

20

【0179】

競合結合フォーマットにおけるイムノアッセイは、交差反応性決定のためにも使用され得る。例えば、BaAdv抗原を固体支持体に固定化することができる。固定化された抗原への抗血清の結合に競合するタンパク質を、アッセイに添加することができる。添加されたタンパク質の、固定化されたタンパク質への抗血清の結合に競合する能力を、BaAdv抗原のそれ自体と競合する能力と比較する。上記のタンパク質についてのパーセント交差反応性は、標準的な計算を使用して計算される。上にリストされた添加されたタンパク質の各々の10%未満の交差反応性を有する抗血清を選択しプールする。交差反応性抗体は、任意で、添加された考慮されたタンパク質、例えば、遠縁の相同体による免疫吸着によって、プールされた抗血清から除去される。

30

【0180】

次いで、おそらくBaAdv抗原の対立遺伝子または多形バリエーションであると考えられる第2のタンパク質を免疫原タンパク質と比較するため、上記のような競合結合イムノアッセイにおいて、免疫吸着されプールされた抗血清を使用することができる。この比較を行うため、2種のタンパク質を各々広範囲の濃度でアッセイし、固定化されたタンパク質への抗血清の結合の50%を阻害するために必要とされる各タンパク質の量を決定する。結合の50%を阻害するために必要とされる第2のタンパク質の量が、結合の50%を阻害するために必要とされるBaAdv抗原の量の10倍未満である場合、その第2のタンパク質は、BaAdv抗原に対して生成されたポリクローナル抗体に特異的に結合すると言われる。

40

【0181】

イムノアッセイ(競合型および非競合型の両方)は、抗体および抗原によって形成された複合体に特異的に結合し、それを標識するための標識剤もしばしば使用する。標識剤は、それ自体、抗体/抗原複合体を構成するモエティのうちの一つであり得る。従って、標識剤は、標識されたBaAdvタンパク質核酸または標識された抗BaAdv抗体であり得る。ある

50

いは、標識剤は、抗体/抗原複合体に特異的に結合する二次抗体のような第3のモエティであり得る（二次抗体は、典型的には、一次抗体が由来する種の抗体に特異的である）。プロテインAまたはプロテインGのような、免疫グロブリン定常領域に特異的に結合することができるその他のタンパク質も、標識剤として使用され得る。これらのタンパク質は、多様な種に由来する免疫グロブリン定常領域との強力な非免疫原性の反応性を示す（例えば、Kronval et al., J. Immunol. 111:1401-1406(1973) ; Akerstrom et al., J. Immunol. 135:2589-2542(1985)を参照すること）。標識剤は、ストレプトアビジンのような別の分子が特異的に結合することができるビオチンのような検出可能モエティによって修飾され得る。多様な検出可能モエティが、当業者に周知であり、分光学的手段、光化学的手段、生化学的手段、免疫化学的手段、電気的手段、光学的手段、または化学的手段によって検出可能な任意の材料であり得る。そのような検出可能標識は、免疫アッセイの分野において十分に開発されており、磁性ビーズ（例えば、DYNABEADS（商標））、蛍光色素（例えば、フルオレセインイソチオシアネート、テキサスレッド、ローダミン等）、放射標識（例えば、 ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、または ^{32}P ）、酵素（例えば、西洋ワサビペルオキシダーゼ、アルカリホスファターゼ、およびELISAにおいて一般的に使用されるその他のもの）、ならびにコロイド金または有色のガラスもしくはプラスチックビーズ（例えば、ポリスチレン、ポリプロピレン、ラテックス等）のような比色定量標識を含み得るが、これらに限定されない。

10

【0182】

標識は、当技術分野において周知の方法に従って、アッセイの所望の成分に直接または間接的にカップリングされ得る。上述のように、多様な標識が使用され得、標識の選択は、必要とされる感度、化合物とのコンジュゲーションの容易さ、安定性要件、利用可能な機器、および廃棄規定に依る。

20

【0183】

非放射性標識は、しばしば、間接手段によって付着させられる。一般に、リガンド分子（例えば、ビオチン）を、分子と共有結合で結合させる。次いで、リガンドを、本質的に検出可能であるか、または検出可能な酵素、蛍光化合物、もしくは化学発光化合物のようなシグナル系に結合共有で結合している別の分子（例えば、ストレプトアビジン）に結合させる。リガンドおよびその標的は、BaAdV抗原を認識する抗体または抗BaAdV抗原を認識する二次抗体と適当に組み合わせられて使用され得る。

30

【0184】

分子は、例えば、酵素またはフルオロフォアとのコンジュゲーションによって、シグナル生成化合物に直接コンジュゲートされてもよい（上記を参照すること）。標識として重要な酵素は、主に、加水分解酵素、特に、ホスファターゼ、エステラーゼ、およびグリコシダーゼ、または酸化酵素、特に、ペルオキシダーゼであろう。蛍光化合物には、フルオレセインおよびその誘導体、ローダミンおよびその誘導体、ダンシル、ウンベリフェロン等が含まれる。化学発光化合物には、ルシフェリン、および2,3-ジヒドロフタラジンジオン、例えば、ルミノールが含まれる。使用され得る様々な標識またはシグナル発生系の概説については、米国特許第4,391,904号を参照すること。

【0185】

標識を検出する手段は、当業者に周知である。従って、例えば、標識が放射性標識である場合、検出の手段には、シンチレーション計数器またはオートラジオグラフィーの場合のような写真用フィルムが含まれる。標識が蛍光標識である場合、それは、光の適切な波長によって蛍光色素を励起し、得られた蛍光を検出することによって検出され得る。蛍光は、電荷結合素子（CCD）または光電子増倍管等のような電子検出器の使用によって視覚的に検出されてもよい。同様に、酵素標識は、酵素のための適切な基質を提供し、得られた反応生成物を検出することによって検出され得る。比色定量標識または化学発光標識は、単純に、標識に関連した色を観察することによって検出され得る。従って、様々なディップスティックアッセイにおいて、コンジュゲートされた金はしばしばピンクに見え、様々なコンジュゲートされたビーズはビーズの色に見える。

40

50

【0186】

いくつかのアッセイフォーマットは、標識された成分の使用を必要としない。例えば、微小凝集試験も、試験試料中のBaAdVの存在を検出するために使用され得る。簡単に説明すると、ラテックスビーズを抗体でコーティングし、抗体と特異的に反応性の、組織または体液の中のBaAdVが、受容体と架橋し、凝集を引き起こすよう、試験試料と混合する。沈殿物内の凝集した抗体-ウイルス複合体は、肉眼または分光光度計によって可視である。他のアッセイには、IgGおよびIgMの相対濃度が測定される血清学的アッセイが含まれる。

【0187】

当業者は、イムノアッセイにおける非特異的結合を最小化することがしばしば望ましいことを認識するであろう。特に、アッセイが固体基質上に固定化された抗原または抗体を含む場合、基質への非特異的結合の量を最小化することが望ましい。そのような非特異的結合を低下させる手段は、当業者に周知である。典型的には、この技術は、タンパク質組成物で基質をコーティングすることを含む。具体的には、ウシ血清アルブミン(BSA)、無脂肪粉乳、およびゼラチンのようなタンパク質組成物が広く使用されており、粉乳が最も好ましい。

【0188】

上記の診断法において、試料は、対象から直接、または部分的に精製された形態で、採取され得る。試料は、血液、血清、または血漿を含む関心対象の任意の試料であり得る。特定のBaAdVに特異的な抗体が、ウイルスに結合することによって反応する(一次反応)。その後、検出可能モエティに結合したまたは検出可能モエティによって標識された抗体との二次反応を、一次反応の検出を増強するために添加することができる。一般に、二次反応において、ウイルスの異なる結合部位(エピトープ)と特異的にまたは非特異的に反応性である抗体またはその他のリガンドが、抗体およびウイルスの複合体上の複数の部位と反応する能力のため選択されるであろう。従って、例えば、二次反応中の抗体のいくつかの分子は、一次反応によって形成された各複合体と反応し、一次反応をより検出可能にすることができる。

【0189】

BaAdVのモジュレーターについてのアッセイ

BaAdV-2/4またはBaAdV-3のようなBaAdVのモジュレーションは、細胞ベースのモデルを含む多様なインビトロおよびインビボのアッセイを使用して査定され得る。そのようなアッセイは、BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3の阻害剤および活性化剤について試験するために使用され得る。BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3のモジュレーターは、選択の組換えタンパク質または天然に存在するタンパク質のいずれかを使用して試験される。モジュレーションには、感染、複製、受容体結合、細胞進入、粒子形成等のモジュレーションが含まれ得るが、これらに限定されない。

【0190】

組換えのまたは天然に存在しているBaAdV-2/4および/もしくはBaAdV-3のポリペプチド、またはBaAdV-2/4および/もしくはBaAdV-3を発現している細胞のモジュレーションの測定は、本明細書に記載されたようなインビトロ、インビボ、およびエクスビボの多様なアッセイを使用して、実施され得る。活性、例えば、酵素活性、細胞表面マーカー発現、ウイルスの複製および増殖に影響を与える適当な物理的、化学的、または表現型の変化を、本発明のポリペプチドに対する試験化合物の影響を査定するために使用することができる。完全な細胞または動物を使用して機能的な効果が決定される時、多様な効果を測定することもできる。

【0191】

BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3をモジュレートする活性を有する化合物を同定するアッセイは、インビトロで実施され得る。そのようなアッセイは、全長のBaAdV-2/4もしくはBaAdV-3のポリペプチド、またはそれらのパリアント、またはそれらの変異体、またはそれらの断片を使用することができる。精製された組換えのまたは天然に存在するタンバ

10

20

30

40

50

ク質は、本発明のインビトロの方法において使用され得る。組換えのまたは天然に存在するタンパク質は、細胞溶解物または細胞膜の一部であってもよい。下に開示されるように、結合アッセイは、固体または可溶性のいずれかであり得る。好ましくは、タンパク質または膜を、共有結合でまたは非共有結合で固体支持体に結合させる。しばしば、本発明のインビトロアッセイは、非競合型または競合型のいずれかの、基質またはリガンドの結合アッセイまたはアフィニティアッセイである。他のインビトロアッセイは、タンパク質についての分光学的特性（例えば、蛍光、吸光度、屈折率）、水力学的特性（例えば、形）、クロマトグラフィ特性、または溶解特性の変化を測定することを含む。

【0192】

タンパク質またはその断片を可能性のあるモジュレーターと接触させ、適当な量の時間インキュベートするハイスループット結合アッセイを実施することができる。一つの態様において、可能性のあるモジュレーターが固体支持体に結合しており、タンパク質が添加される。別の態様において、タンパク質が固体支持体に結合している。小有機分子、ペプチド、抗体等を含む、多様なモジュレーターが、下記のように使用され得る。標識されたタンパク質-タンパク質結合アッセイ、電気泳動移動度シフト、イムノアッセイ、酵素アッセイ等を含む、多様なアッセイが、BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3のモジュレーター結合を同定するために使用され得る。いくつかのケースにおいて、可能性のあるモジュレーターの存在下で、公知のリガンドまたは基質の結合への干渉が測定される、競合結合アッセイの使用を通して、候補モジュレーターの結合が決定される。モジュレーター、既知リガンド、または基質のいずれかをまず結合させ；次いで、競合剤を添加する。タンパク質を洗浄した後、可能性のあるモジュレーター、または既知のリガンドもしくは基質のいずれかの結合への干渉が、決定される。しばしば、可能性のあるモジュレーターまたは既知のリガンドもしくは基質のいずれかが標識される。

10

20

30

40

50

【0193】

ウイルスモジュレーターを同定するため、BaAdV-2/4またはBaAdV-3を細胞において発現させ、機能的変化、物理的变化、化学的变化、および表現型の変化をアッセイする、細胞ベースのアッセイを使用することができる。当技術分野において周知であるように、ウイルス阻害アッセイに加えて、本明細書に記載されるような適当な機能的効果を測定することができる。BaAdV-2/4またはBaAdV-3は、天然に存在するものであってもよいまたは組換えであってもよい。BaAdV-2/4もしくはBaAdV-3の断片またはキメラタンパク質も、細胞ベースのアッセイにおいて使用することができる。さらに、触媒部位によって必要とされる必須残基における点変異体を、これらのアッセイにおいて使用することができる。

【0194】

一つの態様において、ハイスループットスクリーニング法は、多数の可能性のある治療用化合物（可能性のあるモジュレーターまたはリガンド化合物）を含有している小有機分子またはペプチドのコンビナトリアルライブラリを提供することを含む。次いで、そのような「コンビナトリアルケミカルライブラリ」または「リガンドライブラリ」を、所望の特徴的な活性を示すライブラリメンバー（特定の化学種またはサブクラス）を同定するため、本明細書に記載される1種以上のアッセイにおいてスクリーニングする。このようにして同定された化合物は、従来の「リード化合物」として役立つもよいし、または、それ自体、可能性のあるもしくは実際の治療薬として使用されてもよい。

【0195】

コンビナトリアルケミカルライブラリは、試薬のような多数の化学的「ビルディングブロック」を組み合わせることによって、化学合成または生物学的合成のいずれかによって生成された多様な化合物のコレクションである。例えば、ポリペプチドライブラリのような直鎖コンビナトリアルケミカルライブラリは、所定の化合物の長さ（即ち、ポリペプチド化合物におけるアミノ酸の数）についての全ての可能な方式で化学的ビルディングブロック（アミノ酸）のセットを組み合わせるによって形成される。化学的ビルディングブロックのそのような組み合わせ混合を通して、数百万種の化合物を合成することができる。抗体もしくは阻害性RNAのような分子薬剤のライブラリをスクリーニングするか、ま

たは小分子のライブラリをスクリーニングするため、アッセイを使用することもできる。

【0196】

コンビナトリアルケミカルライブラリの調製およびスクリーニングは、当業者に周知である。そのようなコンビナトリアルケミカルライブラリには、ペプチドライブラリが含まれるが、これに限定されない（例えば、米国特許第5,010,175号、Furka, *Int. J. Pept. Prot. Res.* 37:487-493(1991)、およびHoughton et al., *Nature* 354:84-88(1991)を参照すること）。ケミカルダイバーシティ（diversity）ライブラリを生成するためのその他の化学も使用することができる。そのような化学には、以下のものが含まれるが、これらに限定されない：ペプトイド（例えば、PCT公開第WO 91/19735号）、コードされたペプチド（例えば、PCT公開第WO 93/20242号）、ランダムバイオオリゴマー（例えば、PCT公開第WO 92/00091号）、ベンゾジアゼピン（例えば、米国特許第5,288,514号）、ヒダントイン、ベンゾジアゼピン、およびジペプチドのようなダイバーソマー（diversomers）（Hobbs et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90:6909-6913(1993)）、ビニロガス（vinylogous）ポリペプチド（Hagihara et al., *J. Amer. Chem. Soc.* 114:6568(1992)）、グルコース足場を有する非ペプチド性ペプチド模倣体（Hirschmann et al., *J. Amer. Chem. Soc.* 114:9217-9218(1992)）、小化合物ライブラリ（Chen et al., *J. Amer. Chem. Soc.* 116:2661(1994)）、オリゴカルバメート（Cho et al., *Science* 261:1303(1993)）、および/またはペプチジルホスホネート（Campbell et al., *J. Org. Chem.* 59:658(1994)）の類似の有機合成、核酸ライブラリ（Ausubel, Berger, および Sambrook（全て前記）を参照すること）、ペプチド核酸ライブラリ（例えば、米国特許第5,539,083号を参照すること）、抗体ライブラリ（例えば、Vaughn et al., *Nature Biotechnology*, 14(3):309-314(1996)を参照すること）、炭水化物ライブラリ（例えば、Liang et al., *Science*, 274:1520-1522(1996)および米国特許第5,593,853号を参照すること）、小有機分子ライブラリ（例えば、ベンゾジアゼピン、Baum C & EN, Jan 18, page 33(1993)；イソプレノイド、米国特許第5,569,588号；チアゾリジノンおよびメタチアザノン、米国特許第5,549,974号；ピロリジン、米国特許第5,525,735号および第5,519,134号；モルホリノ化合物、米国特許第5,506,337号；ベンゾジアゼピン、第5,288,514号等を参照すること）。

【0197】

コンビナトリアルライブラリの調製のための装置が市販されている（例えば、357 MPS、390 MPS（Advanced Chem Tech, Louisville KY）、Symphony（Rainin, Woburn, MA）、433 A（Applied Biosystems, Foster City, CA）、9050 Plus（Millipore, Bedford, MA）を参照すること）。さらに、多数のコンビナトリアルライブラリ自体が市販されている（例えば、ComGenex, Princeton, N.J.、Asinex, Moscow, Ru、Tripos, Inc., St. Louis, MO、ChemStar, Ltd, Moscow, RU、3D Pharmaceuticals, Exton, PA、Martek Biosciences, Columbia, MD等を参照すること）。

【0198】

BaAdV-2/4もしくはBaAdV-3、またはBaAdV-2/4もしくはBaAdV-3のタンパク質を発現している細胞もしくは組織を使用して、固体または可溶性のハイスループットアッセイを使用することができる。BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3を固相に付着させる、固相ベースのインビトロアッセイを、ハイスループットフォーマットで使用することができる。本明細書に記載されたアッセイは、いずれも、ハイスループットスクリーニングに適応し得る。

【0199】

可溶性または固体のいずれかのハイスループットアッセイにおいて、1日に数千もの異なるモジュレーターまたはリガンドをスクリーニングすることが可能である。インビトロのBaAdV-2/4もしくはBaAdV-3のため、またはBaAdVを含む細胞ベースのアッセイもしくは細胞膜ベースのアッセイのため、この方法論を使用することができる。具体的には、マイクロタイタープレートの各ウェルを、選択された可能性のあるモジュレーターに対する別々のアッセイを実行するために使用してもよいし、または濃度もしくはインキュベーション時間の効果を観察する場合には、5~10個のウェル全てが単一のモジュレーターを試験してもよい。従って、1枚の標準的なマイクロタイタープレートは、約100（例えば、96）

のモジュレーターをアッセイすることができる。1536穴プレートが使用される場合には、1枚のプレートが、約100～約1500の異なる化合物を容易にアッセイすることができる。1日に多くのプレートをアッセイすることが可能であり；本発明の集積システムを使用して、約6,000、20,000、50,000、または100,000以上の異なる化合物のアッセイスクリーニングが可能である。

【0200】

固体反応については、関心対象のタンパク質もしくはその断片、例えば、細胞外ドメイン、または融合タンパク質の一部としての関心対象のタンパク質もしくはその断片を含む細胞もしくは細胞膜を、共有結合性または非共有結合性の連結を介して、直接または間接的に固体成分に結合させることができる。共有結合性または非共有結合性の結合のためのタグは、多様な成分のいずれかであり得る。一般には、タグに結合する分子（タグ結合剤）を固体支持体に固定し、タグ付きの関心対象の分子を、タグとタグ結合剤との相互作用によって固体支持体に付着させる。

10

【0201】

文献中によく記載された公知の分子相互作用に基づき、多数のタグおよびタグ結合剤を使用することができる。例えば、タグが、天然の結合剤を有するもの、例えば、ビオチン、プロテインA、またはプロテインGである場合、それを、適切なタグ結合剤（アビジン、ストレプトアビジン、ニュートラアビジン、免疫グロブリンのFc領域等）と共に使用することができる。ビオチンのような天然の結合剤を有する分子に対する抗体、および適切なタグ結合剤も、広く入手可能である（SIGMA Immunochemicals 1998 catalogue SIGMA, St. Louis MOを参照すること）。

20

【0202】

同様に、ハプテン化合物または抗原性化合物を、タグ/タグ結合剤対が形成されるよう、適切な抗体と組み合わせて使用することができる。数千の特異的な抗体が市販されており、多くの付加的な抗体が文献中に記載されている。例えば、一つの一般的な構成において、タグは一次抗体であり、タグ結合剤は一次抗体を認識する二次抗体である。抗体-抗原相互作用に加えて、受容体-リガンド相互作用も、タグとタグ結合剤との対として適切である。例えば、細胞膜受容体のアゴニストおよびアンタゴニスト（例えば、トランスフェリン、c-kit、ウイルス受容体リガンド、サイトカイン受容体、ケモカイン受容体、インターロイキン受容体、免疫グロブリン受容体および抗体、カドヘリンファミリー、インテグリンファミリー、セレクトインファミリー等のような細胞受容体-リガンド相互作用（例えば、Pigott & Power, The Adhesion Molecule Facts Book I(1993)を参照すること）。同様に、毒素および毒、ウイルスエピトープ、ホルモン（例えば、オピエート、ステロイド等）、（例えば、ステロイド、甲状腺ホルモン、レチノイド、およびビタミンD；ペプチドを含む様々な小リガンドの効果を媒介する）細胞内受容体、薬物、レクチン、糖、核酸（直鎖状および環状の両方のポリマー構成）、オリゴ糖、タンパク質、リン脂質、ならびに抗体は、全て、様々な細胞受容体と相互作用することができる。

30

【0203】

ポリウレタン、ポリエステル、ポリカーボネート、ポリ尿素、ポリアミド、ポリエチレンイミン、ポリアリレンスルフィド、ポリシロキサン、ポリイミド、およびポリアセテートのような合成ポリマーも、適切なタグまたはタグ結合剤を形成することができる。他の多くのタグ/タグ結合剤対も、本開示を参照することによって当業者に明白となるように、本明細書に記載されたアッセイ系において有用である。

40

【0204】

ペプチド、ポリエーテル等のような一般的なリンカーも、タグとして役立つことができ、約5～200アミノ酸のポリgly配列のようなポリペプチド配列を含み得る。そのようなフレキシブルリンカーは当業者に公知である。例えば、ポリエチレングリコールリンカーは、Shearwater Polymers, Inc. (Huntsville, Alabama) より入手可能である。これらのリンカーは、任意で、アミド連結、スルフヒドリル連結、またはヘテロ官能性連結を有する。

【0205】

50

タグ結合剤は、現在利用可能な多様な方法のいずれかを使用して、固体基質に固定される。固体基質は、一般的に、基質の全部または一部を、タグ結合剤の一部と反応性である表面に化学基を固定する化学的試薬に曝すことによって、誘導体化または官能化される。例えば、より長い鎖の部分への付着のために適当である基には、アミン基、ヒドロキシル基、チオール基、およびカルボキシル基が含まれるであろう。アミノアルキルシランおよびヒドロキシアルキルシランは、ガラス表面のような多様な表面を官能化するために使用され得る。そのような固相バイオポリマーアレイの構築は、文献中に十分に記載されている（例えば、（例えば、ペプチドの固相合成を記載している）Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2154(1963)；（ピンにおける固相成分の合成を記載している）Geysen et al., J. Immun. Meth. 102:259-274(1987)；（セルロースディスクにおける様々なペプチド配列の合成を記載している）Frank & Doring, Tetrahedron 44:60316040(1988)；（全て、固体基質に固定されたバイオポリマーのアレイを記載している）Fodor et al., Science, 251:767-777(1991)；Sheldon et al., Clinical Chemistry 39(4):718-719(1993)；およびKozal et al., Nature Medicine 2(7):753759(1996)）。タグ結合剤を基質に固定するための非化学的アプローチには、熱、UV線による架橋等のような、その他の一般的な方法が含まれる。

10

【0206】

BaAdV-2/4またはBaAdV-3のモジュレーターとして試験される化合物は、小有機分子、またはタンパク質、例えば、抗体もしくはペプチド、糖、核酸、例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドもしくはリボザイムもしくはsiRNA、もしくは脂質のような生物学的実体であり得る。

20

【0207】

あるいは、モジュレーターは、BaAdVの遺伝学的に改変されたバージョンであり得る。典型的には、試験化合物は、小有機分子、ペプチド、環状ペプチド、siRNA、アンチセンス分子、リボザイム、および脂質であろう。

【0208】

本質的に任意の化学的化合物が、本発明のアッセイにおいて可能性のあるモジュレーターまたはリガンドとして使用され得るが、最もしばしば、化合物は、水性または有機の（特に、DMSOベースの）溶液に溶解させられる。アッセイは、アッセイ工程を自動化し、任意の便利な起源の化合物をアッセイに供給し、それを、典型的には（例えば、ロボットアッセイにおけるマイクロタイタープレート上のマイクロタイターフォーマットで）平行に実行することによって、大規模なケミカルライブラリをスクリーニングするために設計される。Sigma (St. Louis, MO)、Aldrich (St. Louis, MO)、Sigma-Aldrich (St. Louis, MO)、Fluka Chemika-Biochemica Analytika (Buchs Switzerland) 等を含む、化学的化合物の多くの供給元が存在することが認識されるであろう。

30

【0209】

BaAdVの処置 / 防止および薬学的組成物

本明細書に記載された態様は、BaAdV-2/4および / もしくはBaAdV-3のウイルスタンパク質の発現またはウイルスの繁殖を阻止するかまたはモジュレートするための様々な技術の治療的、予防的、および研究的な使用にさらに関する。BaAdV-2/4および / またはBaAdV-3に対する免疫応答を誘導する方法も、提供される。BaAdV-2/4および / またはBaAdV-3を処置するかまたは防止するために有用なBaAdV-2/4および / またはBaAdV-3のモジュレーターには、当技術分野において周知であるような、BaAdV-2/4および / またはBaAdV-3の遺伝学的に修飾されたバージョン、例えば、改変された活性を有するバージョン、熱によって不活化されたウイルスおよび弱毒化されたウイルス、ならびに天然に存在するリガンドおよび合成リガンド、基質、アンタゴニスト、アゴニスト、抗体、ペプチド、環状ペプチド、アプタマー、核酸、アンチセンス分子、リボザイム、siRNA分子、miRNA分子、ならびに小化学的分子が含まれるが、これらに限定されない。

40

【0210】

対象におけるヒシアデノウイルス (BaAdV) -2/4またはBaAdV-3の感染を処置するかまた

50

は防止する方法が、本明細書に提供される。これらの方法は、本明細書に開示されたアッセイを使用して同定された薬剤、本明細書に開示された核酸分子、本明細書に開示されたポリペプチドもしくはその免疫原性断片、本明細書に開示された複製欠損アデノウイルス、または本明細書に開示された抗体のうちの1種以上の、治療的に有効な用量を、対象へ投与する工程を含む。

【0211】

ヒシアデノウイルス (BaAdV) -2/4またはBaAdV-3に対する免疫応答を誘導する方法が、本明細書に開示される。これらの方法は、本明細書に開示されたアッセイを使用して同定された薬剤、本明細書に開示された核酸分子、本明細書に開示されたポリペプチドもしくはその免疫原性断片、本明細書に開示された複製欠損アデノウイルス、または本明細書に開示された抗体のうちの1種以上の、治療的に有効な用量を、対象へ投与する工程を含む。対象は、ヒトまたは非ヒト霊長類を含む、任意の関心対象の対象であり得る。

10

【0212】

いくつかの態様において、アプタマーが対象へ投与される。アプタマーは、約15~約60ヌクレオチド長の二本鎖領域を含むsiRNAまたはアンチセンス分子であり、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、またはSEQ ID NO:3の対応するセグメントに対して全長にわたり少なくとも90%の同一性を有している。

【0213】

治療目的または予防目的のためのBaAdV-2/4およびBaAdV-3のワクチンが、さらに本明細書に開示される。ある種の局面において、BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3のウイルス、タンパク質、またはペプチド、およびそれらの免疫原性断片、ならびに/またはポリヌクレオチド、ならびに抗BaAdV-2/4抗体および抗BaAdV-3抗体、ならびに/またはT細胞を、薬学的組成物または免疫原性組成物へ組み入れることができる。完全ウイルスワクチン(生および弱毒化、もしくは複製不全、もしくは不活化)、またはBaAdV-2/4および/もしくはBaAdV-3の構造タンパク質もしくは非構造タンパク質もしくはそれらの免疫原性断片のようなサブユニットワクチンを、対象における免疫応答を誘発することによって、それぞれBaAdV-2/4および/またはBaAdV-3の感染を処置するかまたは防止するために使用することができる。あるいは、薬学的組成物は、抗原提示細胞がそれぞれBaAdV-2/4またはBaAdV-3のペプチドを発現するよう、BaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリヌクレオチドによってトランスフェクトされた抗原提示細胞(例えば、樹状細胞)を含み得る。

20

30

【0214】

BaAdV-2/4および/またはBaAdV-3のゲノム、構造タンパク質もしくは非構造タンパク質またはそれらの断片をコードする核酸ワクチンも、それぞれBaAdV-2/4および/またはBaAdV-3の感染を処置するかまたは防止するため、免疫応答を誘発するために使用することができる。Rolland(1998)Crit.Rev.Therap.Drug Carrier Systems 15:143-198およびそこに引用された参照によって記載されたもののような、多数の遺伝子送達技術が、当技術分野において周知である。適切な核酸発現系は、(適切なプロモーターおよび終結シグナルのような)患者における発現のために必要なDNA配列を含有している。好ましい態様において、非病原性(欠陥)複製コンピテントウイルスの使用を含み得る、ウイルス発現系(例えば、ワクシニア、ボックスウイルス、レトロウイルス、またはアデノウイルス)を使用して、DNAを導入することができる。適当な系は、例えば、Fisher-Hoch et al.(1989)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:317-321; Flexner et al.(1989)Ann.N.Y.Acad.Sci.569:86-103; Flexner et al.(1990)Vaccine 8:17-21; 米国特許第4,603,112号、第4,769,330号、第4,777,127号、および第5,017,487号; PCT公開第WO 89/01973号; グレートブリテン公開第2,200,651号; 欧州公開第0,345,242号; PCT公開第WO 91/02805号; Berkner(1988)Biotechniques 6:616-627; Rosenfeld et al.(1991)Science 252:431-434; Kolls et al.(1994)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91:215-219; Kass-Eisler et al.(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:11498-11502; Guzman et al.(1993)Circulation 88:2838-2848; ならびにGuzman et al.(1993)Cir.Res.73:1202-1207に開示されている。そのような発現系へDNAを組み入れるための技術は、当業者に周知である。DNAは、例えば、Ulmer et al.(1993)Science 259:1

40

50

745-1749に記載され、Cohen(1993)Science 259:1691-1692によって概説されているような「裸」であってもよい。裸のDNAの取り込みは、細胞へ効率的に輸送される生分解性ビーズへDNAをコーティングすることによって増加し得る。ワクチンがポリヌクレオチド成分およびポリペプチド成分の両方を含み得ることは明白であろう。そのようなワクチンは、増強された免疫応答を提供することができる。

【0215】

ワクチン調製は、例えば、Powell and Newman, eds., Vaccine Design (the subunit and adjuvant approach), Plenum Press (NY, 1995) に一般に記載されている。ワクチンは、抗体免疫、および/またはCTL細胞もしくはCD4+T細胞から発生するもののような細胞性免疫を生成するために設計され得る。

【0216】

非特異的免疫応答増強剤は、外因性抗原に対する免疫応答を増強する任意の物質であり得る。非特異的免疫応答増強剤の例には、アジュバント、生分解性マイクロスフェア（例えば、ポリ乳酸ガラクトド (polylactic galactide)）、およびリポソーム（化合物が組み入れられたもの；例えば、米国特許第4,235,877号を参照すること）が含まれる。大部分のアジュバントは、水酸化アルミニウムもしくは鉱油のような急速な異化から抗原を防御するよう設計された物質、およびリピドA、百日咳菌 (*Bordetella pertussis*)、または結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 由来タンパク質のような免疫応答の刺激剤を含有している。適当なアジュバントは、例えば、フロイント不完全アジュバントおよび完全アジュバント (Difco Laboratories, Detroit, MI)；メルクアジュバント65 (Merck and Company, Inc., Rahway, NJ)；AS-2 (SmithKline Beecham)；水酸化アルミニウムゲル (ミョウバン) またはリン酸アルミニウムのようなアルミニウム塩；カルシウム、鉄、または亜鉛の塩；アシル化チロシンの不溶性懸濁物；アシル化糖；カチオン性またはアニオン性に誘導体化された多糖；ポリホスファゼン；生分解性マイクロスフェア；モノホスホリリピドAおよびquil Aとして市販されている。GM-CSF、またはインターロイキン2、インターロイキン7、もしくはインターロイキン12のようなサイトカインも、アジュバントとして使用され得る。これらは、免疫応答の誘導において有用である。

【0217】

薬学的組成物およびワクチンは、生物学的活性を有していてもよいしまたは有していなくてもよい他の化合物も含有することができる。例えば、他の抗原の1種以上の免疫原性部分が、融合ポリペプチドへ組み入れられて、または別々の化合物として、組成物またはワクチンに存在することができる。ポリペプチドは、例えば、米国特許第4,372,945号および第4,474,757号に記載されるような他の高分子へコンジュゲートされてもよいが、コンジュゲートされなくてもよい。薬学的組成物およびワクチンは、一般に、予防目的および治療目的のために使用され得る。

【0218】

経口投与のための適当な製剤は、(a) 水、生理食塩水、またはPEG 400のような希釈剤に懸濁した、有効量のパッケージングされた核酸のような液体溶液；(b) 液体、固体、顆粒、またはゼラチンとして、予め決定された量の活性成分を各々含有しているカプセル、サシェ (sachets)、または錠剤；(c) 適切な液体による懸濁液；および (d) 適当な乳濁液からなることができる。錠剤形態は、乳糖、ショ糖、マンニトール、ソルビトール、リン酸カルシウム、コーンスターチ、ジャガイモデンプン、結晶セルロース、ゼラチン、コロイド状二酸化ケイ素、タルク、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸、およびその他の賦形剤、着色剤、増量剤、結合剤、希釈剤、緩衝剤、湿潤剤、保存剤、風味剤、色素、崩壊剤、ならびに薬学的に適合性の担体のうちの1種以上を含み得る。ロゼンジ (Lozenge) 形態は、風味剤、例えば、ショ糖の中に活性成分を含むことができ、トローチ (pastilles) は、ゼラチンおよびグリセリンまたはショ糖およびアラビアゴムのような不活性基剤の中に活性成分を含み、乳濁液、ゲル等は、活性成分に加えて、当技術分野において公知の担体を含んでいる。

【0219】

10

20

30

40

50

エアロゾル製剤は、吸入を介して投与される（即ち、「噴霧」され得る）。エアロゾル製剤は、ジクロロジフルオロメタン、プロパン、窒素等のような加圧された許容される噴霧剤の中に置かれ得る。

【0220】

例えば、関節内（関節への）経路、静脈内経路、筋肉内経路、皮内経路、腹腔内経路、および皮下経路による非経口投与のための適当な製剤には、抗酸化剤、緩衝剤、静菌剤、および製剤を意図されたレシピエントの血液と等張にする溶質を含有し得る水性および非水性の等張無菌注射溶液、ならびに懸濁剤、可溶化剤、増粘剤、安定剤、および保存剤を含み得る水性および非水性の無菌懸濁液が含まれる。組成物は、例えば、静脈内注入、吸入によって、非経口的に、経口的に、局所的に、皮内に、腹腔内に、静脈内に、膀胱内に、直腸に、またはくも膜下腔内に、投与され得る。製剤は、アンプルおよびバイアルのような単位用量または多用量の密封容器に提示され得る。薬学的に許容される担体は、一部分、投与される特定の組成物（例えば、核酸、タンパク質、調整化合物、または形質導入された細胞）によっても決定されるし、組成物を投与するために使用される特定の方法によっても決定される。従って、本発明の薬学的組成物の多様な適当な製剤が存在する（例えば、Remington's Pharmaceutical Sciences, 17th ed., 1989を参照すること）。

10

【0221】

そのような組成物は、緩衝液（例えば、中性緩衝生理食塩水またはリン酸緩衝生理食塩水）、炭水化物（例えば、グルコース、マンノース、ショ糖、またはデキストラン）、マンニトール、タンパク質、ポリペプチド、またはグリシンのようなアミノ酸、抗酸化剤、静菌剤、EDTAまたはグルタチオンのようなキレート剤、アジュバント（例えば、水酸化アルミニウム）、製剤をレシピエントの血液と等張、低張、またはわずかに高張にする溶質、懸濁化剤、増粘剤、および/または保存剤も含み得る。あるいは、本発明の組成物は、凍結乾燥物として製剤化され得る。化合物は、周知のテクノロジーを使用して、リボソーム内に封入されてもよい。

20

【0222】

注射用の溶液および懸濁液は、以前に記載された種類の無菌の粉末、顆粒、および錠剤から調製され得る。エクスピボ治療のための核酸によって形質導入された細胞も、静脈内にまたは非経口的に投与され得る。

【0223】

対象へ投与される用量は、経時的に対象において有益な治療的応答をもたらし、かつ/または免疫応答を誘導するのに十分なものであるべきである。用量は、利用される特定の薬剤の効力および対象の状態、ならびに処置される対象の体重または表面積によって決定されるであろう。用量のサイズは、特定の対象における、特定のベクターまたは形質導入された細胞型の投与に伴う有害な副作用の存在、性質、および程度によっても決定されるであろう。いくつかの態様において、薬剤は、経口的に、局所的に、関節内に、静脈内に、筋肉内に、皮内に、腹腔内に、または皮下に投与される。

30

【0224】

投与のため、本発明の化合物および形質導入された細胞は、阻害剤、ベクター、または形質導入された細胞型のLD-50、および患者の体重および全体的健康が受けるような、様々な濃度における阻害剤、ベクター、または細胞型の副作用によって決定された速度で投与され得る。投与は、単回でまたは数回に分けて達成され得る。

40

【0225】

薬学的組成物およびワクチン組成物は、密封されたアンプルまたはバイアルのような単位用量または多用量の容器において提示され得る。そのような容器は、好ましくは、使用時まで製剤の無菌性を保存するため、気密的に密封される。一般に、製剤は、油性または水性の媒体による懸濁液、溶液、または乳濁液として保管され得る。あるいは、ワクチンまたは薬学的組成物は、使用直前の無菌液体担体の添加のみを必要とするフリーズドライ状態で保管され得る。

【0226】

50

付加的な診断法および治療法

BaAdV-2/4またはBaAdV-3の感染の増加したリスクを有する対象のような対象を同定し、対象の治療的処置を管理する方法も、提供される。いくつかの態様において、方法は、対象におけるBaAdV-2/4またはBaAdV-3の感染を検出するため、本明細書に開示されたBaAdV-2/4またはBaAdV-3の核酸、ポリペプチド、または抗体を使用する工程を含む。対象は、ヒヒを収容するもののような霊長類コロニーの労働者のような増加した感染リスクを有する者であり得る。対象は、以下に限定されないが、家族のような、霊長類コロニーの労働者と接触する個体でもあり得る。いくつかの態様において、対象は無症候性であり得る。

【0227】

BaAdV-2/4またはBaAdV-3を同定する提供された方法は、感染した対象のための治療の選択に関して医師を支援するために使用され得る。これらの治療には、治療的に有効な量の抗ウイルス剤、ならびに / またはBaAdV-2/4もしくはBaAdV-3に対する免疫応答を誘導するのに十分な、BaAdV-2/4もしくはBaAdV-3のポリペプチド、ポリヌクレオチド、および / もしくは抗体が含まれるが、これらに限定されない。

【0228】

いくつかの態様において、BaAdV-2/4またはBaAdV-3を同定する開示された方法は、症候性感染を発症するリスクを有する対象を同定するために使用され得る。対象が、(例えば、BaAdV-2/4またはBaAdV-3の核酸、ポリペプチド、または抗体の検出によって) BaAdV-2/4またはBaAdV-3の感染を有すると同定されているが症候性でない場合、対象は処置される。

【0229】

いくつかの態様において、BaAdV-2/4またはBaAdV-3を同定する開示された方法は、対象のための治療の選択および / またはモニタリングに関して医師を支援するために使用され得る。付加的な態様において、治療を受ける対象(例えば、BaAdV-2/4またはBaAdV-3の感染を有する対象)は、対象に由来する生物学的試料におけるBaAdV-2/4および / またはBaAdV-3のポリヌクレオチド、ポリペプチド、および / または抗体の存在についてモニタリングされ得る。いくつかの態様において、対象は、最初に、(例えば、本明細書に記載されるような対象に由来する生物学的試料におけるBaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリペプチド、ポリヌクレオチド、または抗体の検出によって) BaAdV-2/4またはBaAdV-3の感染を有すると同定される。対象は関心対象の治療剤を投与される。いくつかの例において、BaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリペプチド、ポリヌクレオチド、または抗体のレベルが、治療剤の投与後に、対照と比較して減少する場合、治療は有効である。他の例において、BaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリペプチド、ポリヌクレオチド、または抗体のレベルが、治療剤の投与後に、対照と比較して増加するかまたは変化しない場合、治療は無効である。いくつかの例において、BaAdV-2/4またはBaAdV-3の感染のより重度の症状が、対象に出現する場合には、処置を中止するか、または治療剤の投薬量を増加させることができる。

【0230】

対照は標準値であり得る。対照は、以下に限定されないが、治療の開始前のような過去の時点における対象に由来する試料のような、対照試料におけるBaAdV-2/4もしくはBaAdV-3のポリペプチド、ポリヌクレオチド、もしくは抗体のレベルであってもよいし、または既知の感染を有する対象に由来する試料におけるBaAdV-2/4もしくはBaAdV-3のポリペプチド、ポリヌクレオチド、もしくは抗体のレベルであってもよい。

【0231】

BaAdV-2/4またはBaAdV-3の感染の予後を決定する方法も提供される。いくつかの例において、BaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリペプチド、ポリヌクレオチド、または抗体のレベルが、対照と比較して減少する場合、対象は、BaAdV-2/4またはBaAdV-3による活動性の感染を発症しないであろう。他の例において、BaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリペプチド、ポリヌクレオチド、または抗体のレベルが、対照と比較して増加する(または変化しない)場合、対象は、BaAdV-2/4またはBaAdV-3による活動性の感染を発症するであろう。対照は標準値であり得る。対照は、以下に限定されないが、感染前の対象に由来する試料のような

10

20

30

40

50

、対照試料におけるBaAdV-2/4もしくはBaAdV-3のポリペプチド、ポリヌクレオチド、もしくは抗体のレベルであってもよいし、または感染していないことが既知の対象に由来する試料におけるBaAdV-2/4もしくはBaAdV-3のポリペプチド、ポリヌクレオチド、もしくは抗体のレベルであってもよい。

【0232】

いくつかの態様において、対象は、毎日、毎週、隔週、毎月、隔月、年四回、または毎年、モニタリングされ得る。

【0233】

キット

本発明は、例えば、ELISAおよび「サンドイッチ」型イムノアッセイのようなイムノアッセイ、ならびに核酸アッセイ、例えば、PCRアッセイを含む、多様な診断アッセイにおいて使用するための、診断用試薬、および1種以上のそのような試薬を含むキットをさらに提供する。関連する態様において、アッセイは、フロースルーフォーマットまたはストリップテストフォーマットで実施され、結合剤がニトロセルロースのような膜の上に固定化される。

【0234】

いくつかの態様において、キットは、本明細書に開示される核酸分子、核酸によってコードされたポリペプチドもしくはその免疫原性断片、核酸を含むベクター、ベクターを含む宿主細胞、核酸を含むアデノウイルス、またはポリペプチドに特異的に結合する抗体、またはSEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、もしくはSEQ ID NO:3として示されたヌクレオチド配列に高度にストリンジェントな条件の下でハイブリダイズするプライマーを含む容器、およびキットを使用するための説明書を含む。

【0235】

付加的な態様において、キットは、本明細書に開示されるポリペプチド、および対象に由来する試料におけるヒシアデノウイルス (BaAdV) -3またはBaAdV-4に特異的に結合する抗体の存在の検出のための説明書を含み得る。さらなる態様において、キットは、本明細書に開示される抗体、および対象に由来する試料におけるヒシアデノウイルス (BaAdV) -3またはBaAdV-4のポリペプチドの存在の検出のための説明書を含む。

【0236】

キットは、BaAdV-3またはBaAdV-2/4の核酸配列に特異的な1種以上のプローブまたはプライマーを含み得る。キットは、BaAdV-3またはBaAdV-2/4のポリペプチドに特異的に結合するモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体のような1種以上の抗体を含み得る。キットは、1種以上のBaAdV-2/4またはBaAdV-3のポリペプチドも含み得る。

【0237】

いくつかの態様において、そのようなキットは、少なくとも、第1のペプチド、本発明の第1の抗体または抗原結合断片、その機能的断片、またはそれらのカクテル、または第1の核酸分子、およびシグナル生成手段を含み得る。キットの成分は、固体支持体に予め附着させられてもよいし、またはキットが使用される時に固体支持体の表面へ適用されてもよい。シグナル生成手段は、本発明の抗体もしくは核酸と予め会合させられてもよいし、または使用前に、1種以上の成分、例えば、緩衝液、核酸、抗体-酵素コンジュゲート、酵素基質等との組み合わせを必要としてもよい。

【0238】

キットは、付加的な試薬、例えば、固相表面への非特異的な結合を低下させるためのブロッキング試薬、洗浄試薬、酵素基質、酵素等も含み得る。固相表面は、マイクロタイタープレート、マイクロスフェア、または核酸、タンパク質、ペプチド、もしくはポリペプチドを固定化するために適当なその他の材料の形態をとり得る。化学発光性または発色性の生成物の形成または化学発光性もしくは発色性の基質の還元を触媒する酵素は、シグナル生成手段の一つのそのような成分である。そのような酵素は当技術分野において周知である。放射標識、発色性、蛍光発生性、またはその他の型の検出可能標識または検出手段が、キット内に含まれる場合、標識剤は、診断用または治療用の組成物自体と同一の容器

10

20

30

40

50

に提供されてもよいし、あるいは、この第2の組成物を入れ、適当に分配することができる第2の別個の容器手段に置かれてもよい。あるいは、検出試薬および標識は、単一の容器手段において調製され得、ほとんどの場合、キットは、典型的には、販売および/または便利な包装および送達のための密閉されたバイアルを含有するための手段を含むであろう。

【0239】

キットは、開示された抗体、核酸、またはポリペプチドの保管のための1個以上の容器、ならびに容器上のまたは容器に関連したラベルまたはパッケージインサートを含み得る。適当な容器には、例えば、ボトル、バイアル、注射器等が含まれる。容器は、ガラスまたはプラスチックのような多様な材料から形成されていてよい。容器は、診断および/または処置のために有効な組成物を保持する。いくつかの態様において、容器は、無菌アクセスポートを有し得る（例えば、容器は、皮下注射針によって貫通可能な栓を有する静脈内溶液バッグまたはバイアルであり得る）。ラベルまたはパッケージインサートは、特定の状態を処置するため、または検出/診断のため、内容物が使用されることを示す。

10

【0240】

いくつかの態様において、キットは、BaAdv-3またはBaAd-2/4のポリペプチド、核酸、または抗体の使用の手段を開示するパッケージインサートのような説明材料を含む。説明材料は、書面であってもよいし、（コンピュータディスクもしくはコンパクトディスクのような）電子的形態にあってもよいし、または（ビデオファイルのような）視覚的なものであってもよい。キットは、キットが設計されている特定の適用を容易にするための付加的な成分も含み得る。従って、例えば、キットは、（酵素標識のための酵素基質、蛍光標識を検出するためのフィルタセット、二次抗体のような適切な二次標識等のような）標識を検出する手段を付加的に含有していてもよい。キットは、特定の方法の実施のためにルーチンに使用されている緩衝液およびその他の試薬を付加的に含む得る。

20

【0241】

開示は、以下の非限定的な例によって例示される。

【実施例】

【0242】

アデノウイルス（AdV）は、ヒトおよび非ヒト霊長類を含む脊椎動物宿主を感染させ、広範囲の臨床的疾患を引き起こすDNAウイルスである。以下に開示されるように、霊長類研究施設の捕獲されたヒヒ（9匹中4匹）における致死率50%の急性呼吸器疾患の大流行に関係して、新規のAdV種が同定され、「種H」と仮に命名された。肺炎で死亡した2匹のヒヒを含む、大流行中のヒヒから単離されたAdV（BaAdV）は、HAdV種A～FおよびSAdV-Aと反応性の血清を使用した中和アッセイによってタイピング不能であった。全ゲノム配列決定によって特徴決定された4種のBAAdVのうち、1種（BaAdV₁）は最近記載されたサルSAdV-B種のメンバーであり、残りの3種のAdV、BaAdV₂、BaAdV₃、およびBaAdV₄（BaAdV₂と遺伝学的に同一）は種Hのメンバーであった。BaAdV_{2,4}と近縁の種H AdV、BaAdV₃は、4種のうち、臨床的疾患を有するヒヒから単離された唯一のAdVであり、従って、肺炎大流行の原因であると考えられた。BaAdV₃は、全体として>90%のゲノム配列同一性をBaAdV_{2,4}と共有していたが、ショートファイバータンパク質（およそ58%アミノ酸同一性）の有意な相違およびブートスキャン分析から、BaAdV₃は未知の起源の希少な種H組換え体であることが示唆された。この可能性を支持して、霊長類研究施設の現時点で健常なヒヒおよびスタッフ職員の両方において、BaAdV₁およびBaAdV_{2,4}に対する特異的な中和抗体が検出されたが、BaAdV₃に対するものは検出されなかった。これらの結果は、ヒヒコロニーにおける致死性肺炎大流行に新規の種H AdVが関与していることを示し、ヒトと非ヒト霊長類との間のAdVの異種間伝達の可能性をさらに確立する。

30

40

【0243】

実施例1

材料および方法

動物：全ての研究を、確立されているガイドラインに従って実施した。過剰の臨床試料

50

のみが分析されたため、動物研究プロトコルは使用されなかった。

【0244】

生物学的安全性：この研究において記載された剖検後組織の分析および新規ヒビアデノウイルスの培養は、生物学的安全性レベル2 (BSL-2) またはBSL-3の条件下で実施された。

【0245】

大流行の管理および調査：最初の大流行は、およそ3週間続いた。影響を受けたヒビは、呼吸器症状の発症直後に隔離された。2例の致死例は、臨床的徴候の開始の5日後および13日後に死亡したかまたは人道的に安楽死させられた。臨床的パラメータおよび疫学的パラメータに関する毎日の報告を、獣医および管理スタッフが追跡し記録した。

10

【0246】

大流行に応じて、全ての保育室をパラホルムアルデヒドガスで除染した。ケージ、壁、床、および全ての露出している作業区域表面を、2.6%緩衝グルタルアルデヒド (METRICIDE (商標)) または漂白剤によって清浄化した。少なくとも2週間の間、給餌の時、またはその他の理由で乳仔ヒビと接触する時には、必ず、使い捨ての防護服および手袋を着用した。細菌、マイコプラズマ (Mycoplasma)、および真菌の血液学的試験および培養を実施した。RSV、インフルエンザ、パラインフルエンザ、ヒトアデノウイルス、およびCMVを含むヘルペスウイルスについても、試料を試験した。さらに、呼吸器試料を外部実験室に送り、百日咳菌 (*Bordetella pertussis*)、クラミジア (*Chlamydia*) 種、マイコプラズマ種、ウレアプラズマ (*Ureaplasma*) 種、レジオネラ (*Legionella*) 種、およびハンタウイルスについても試験した。HAdV種A~FおよびSAdV-Aのウイルスに対して反応性の血清を使用したウイルス中和試験によるAdVタイピングも実施した。

20

【0247】

病理学：剖検組織の肉眼的分析および組織病理学的分析が、委員会によって認定された獣医病理学者によって実施された。剖検組織を10%ホルマリンで固定し、パラフィンで包埋した。次いで、5 μ mの切片をマイクロトームを使用して切断し、ヘマトキシロンおよびエオシン (H&E) で染色し、光学顕微鏡下で可視化した。

【0248】

核酸抽出：市販のキット (Qiagen, Valencia, CA) を使用して、AdV培養上清から全核酸を抽出した。200 μ Lの試料を、細菌および細胞片を除去するため、0.4 μ mフィルタに通し、次いで、RNase (Invitrogen, Carlsbad, CA) によって処理した。

30

【0249】

ウイルス培養：サル細胞 (PMK、または初代サル腎臓; CyMK、またはカニクイザル腎臓; およびVero、アフリカミドリザル腎臓) の接種は、全て、初代鼻スワブ標本を使用して行われた。ヒト細胞および細胞株の接種は、サル細胞における1回の継代の後、P1ウイルスによって行われた。細胞または細胞株は、1 \times 非必須アミノ酸 (Invitrogen, Carlsbad, CA)、10%ウシ胎仔血清、100Uのペニシリン/mL、および100 μ gのストレプトマイシン/mLが補足された、ハンクス培地 (A549細胞のため) またはダルベッコ修飾イーグル培地 (DMEM) (その他の細胞のため) からなる培地において培養された。80~90%コンフルエンスを達成した後、細胞培養培地を、2%FBSを含む維持培地に交換し、200 μ Lの臨床試料または100 μ Lの継代されたウイルス上清を接種した。接種前に、鼻試料を10分 \times 4000gの遠心分離によって清澄化し; 肺組織を5倍容量の緩衝液において組織ホモジナイザーを使用して均質化した。継代前に、細胞培養上清を3回の凍結解凍サイクルへ供し、上記のように清澄化した。細胞変性効果 (CPE) についての光学顕微鏡下での視覚的検査によって、2週間にわたり、ウイルス複製をモニタリングした。ウイルス上清を、エンドポイント希釈アッセイによって定量化した。

40

【0250】

ディープシーケンシングライブラリ調製：TruSeqプロトコル (Illumina, San Diego, CA) の変法を使用して、全ゲノムAdV配列決定のためのディープシーケンシングライブラリを調製した (Chen et al., 2011, PLoS Pathog 7:e1002155)。簡単に説明すると、以前に

50

記載されたようなラウンドA/B法 (Chen et al., 2011, J. Vis. Exp. ; Greninger et al., 2010, PLoS One 5:e13381) を使用して、核酸抽出物をcDNAヘランダムに増幅し、次いで、37

で2時間、制限酵素BpmI (New England Biolabs, Ipswich, MA) を使用して消化した後、それぞれ、クレノウおよびTaqポリメラーゼ (Invitrogen, Carlsbad, CA) を用いて末端修復およびAテール付加を行った。次いで、AMPURE (登録商標) ビーズを使用して、200~300bp断片を標的とするサイズ選択を実施した後、DNAリガーゼを使用して、6ヌクレオチドバーコードタグを含有しているアダプターを付着させた。最終ライブラリを、Bioanalyzer DNA 12000チップ (Agilent) およびSYBR FAST (登録商標) qPCR系 (KAPA Biosystems) を使用して定量化し、単一レーンへプールし、Illumina HiSeq2000装置において配列決定した (100bp対末端配列決定)。

10

【0251】

デノボウイルスゲノムアセンブリ：生ディープシーケンシングリードを、最初に、アダプター、プライマー、および低複雑度/低品質配列の除去によってトリミングした。部分AdVゲノムのデノボアセンブリを、PRICEアセンブラー (Grard et al., 2012, PLoS Pathogens 8:e1002924) を使用して実施した。GENBANK (登録商標) 内のサルおよびヒトの参照AdVに対するディープシーケンシングリードのBLASTnまたはBLASTxによるアライメントによってギャップを埋めた後 (Altschul et al., 1990, J Mol Biol 215:403-410)、GENEIOUS (登録商標) ソフトウェア (Drummond et al., 2010, Geneious v5.6.3. Available on the internet from geneious.com, as downloaded November, 2012) を使用して、手動のアセンブリを行った。シーケンスカバレッジがほとんどまたは全くない領域を、PCRおよびサン

20

【0252】

構造的な特徴および系統発生的分析：GENBANK (登録商標) 内の種FおよびGのAdVの完全にアノテートされたゲノム配列を参照として使用して、BaAdV₁、BaAdV₂、BaAdV₃、BaAdV₄のゲノムにおける予測されるコード領域を同定した。まず、各BaAdVゲノムをGENBANK (登録商標) 内の最も類似した参照ゲノムへ整列させた後、GENEIOUS (登録商標) を使用して、全てのオープンリーディングフレーム (ORF) を同定した。アノテートされた参照ゲノムの対応するORFと最適に一致する候補ORFを選択した。スプライシングを受けた遺伝子の正確なORFを特定するため、GT-AGイントロントスタート-ストップシグナルを使用した。次いで、予測されたコード領域の正確さを確認するため、同定された各ORFを、GenBank内の全てのアデノウイルスタンパク質からなる参照データベースへ、BLASTxを使用して整列させた。全ゲノムヌクレオチドペアワイズ同一性プロット (100のウィンドウサイズ) およびアミノ酸ペアワイズ同一性計算をGeneiousで実施した。類似性プロットおよびブートストラッピングプロットを、1000bpのウィンドウサイズおよび50bpのステップサイズで、SIMPLLOT (登録商標) (Lole et al., 1999, J Virol 73:152-160) を使用して生成した。

30

【0253】

ヘキソン、ペントンベース、DNAポリメラーゼ、およびショート/ロングファイバータンパク質に対応するアミノ酸系統発生樹を構築するため、種群A~Gの代表的なヒトおよびサルのAdV、SAdV-AおよびSAdV-B、ならびに非霊長類AdVに対応する翻訳されたタンパク質配列を、まずGENBANK (登録商標) よりダウンロードした。次いで、デフォルトパラメータでMAFFTのFFT-NS-1x1000アルゴリズム (Kato et al., 2002, Nucleic Acids Res 30:3059-3066) を使用して、多重配列アライメントを実施した。マウスアデノウイルスA (MADV-A) をアウトグループとして使用して、Jukes-Cantorの近隣結合法および100,000のブートストラップ複製を使用して、Geneiousで進化系統樹を構築した。

40

【0254】

ヒシアデノウイルス中和アッセイ (ヒトおよびヒヒの血清) : BaAdV₁、BaAdV₂、および

50

BaAdV₃のウイルスストックを、Vero E6細胞での継代によって生成し、等分し、エンドポイント希釈によって定量化した。ウイルス中和アッセイを実施するため、100 μLのウイルス上清または対照血清を、正確な希釈率で混合し、37 °Cで1時間インキュベートした。インキュベーションの後、混合物を、1ウェル当たり4,000個のVero E6細胞を含有しているウェルへ接種し、37 °C、5%CO₂でインキュベートした。プレートウェル内の細胞をCPEの証拠について1日おきに観察した。1:10のスクリーニング希釈率でウイルスCPEの阻害を示したウェルについて、対応する血清試料を6回2倍希釈し、次いで、再試験した。レプリケートウェル単層が<3+CPEを示した最も高い希釈率の逆数を、中和抗体力価として採択した。

【0255】

ヒトアデノウイルスA~F型交差中和アッセイ（ウサギタイピング血清）：ヒトAdVセロタイプ1~41（種A~F）に対する抗体を集合的に含有しているCalifornia DPHのウサギ過剰免疫参照血清の7つのプールが、試験のために利用可能であった。各プールについて、100 μLのウサギ血清および10³/mLのTCID₅₀の100 μLのウイルス上清を、1:10のスクリーニング希釈率で混合し、Vero E6細胞に接種するために使用した。プレートウェル内の細胞を、CPEの証拠について、2週間1日おきに観察した。1:10のスクリーニング希釈率でウイルスCPEの阻害を示したウェルについて、対応する血清試料を6回2倍希釈し、次いで、再試験した。HAdV-40およびHAdV-41（種F AdV）と反応性の個々のウサギ血清を、確認試験のために使用した。

【0256】

ヒトアデノウイルスG型間接交差中和アッセイ（ヒヒ血清）：ヒトHAdV-52（種G）に対する中和参照血清が入手可能でなかったため、種SAdV-BおよびH AdVに対する中和抗体について陽性であることが以前に示されたヒヒB107に由来する血清試料（表2）を、間接中和アッセイにおいてHAdV-52の交差中和について試験した。アッセイを実施するため、10³/mLのTCID₅₀の100 μLのHAdV-52上清を、1:10のスクリーニング希釈率でヒヒB107に由来する血清と混合し、Vero E6細胞に接種するために使用した。プレートウェル内の細胞を、CPEの証拠について2週間1日おきに観察した。

【0257】

ヌクレオチド配列アクセッション番号：図3、4、および5において使用されたアデノウイルス配列についてのGENBANK（登録商標）アクセッション番号は、以下の通りである：C AdV-1（イヌアデノウイルス1）、AC_000003；NC_002501；HAdV-1、AC_000017；HAdV-3、DQ086466；HAdV-4、AY458656；HAdV-7、AC_000018；HAdV-8、AF532578；HAdV-12、NC_001460；HAdV-14、FJ822614；HAdV-18、GU191019；HAdV-21、AY601633；HAdV-36、GQ384080；HAdV-40、NC_001454；HAdV-41、DQ315364；HAdV-48、EF153473；HAdV-49、DQ393829；HAdV-50、AY737798；HAdV-52、DQ923122；MAdV-2（マウスアデノウイルス2）、NC_014899；P AdV-A（ブタアデノウイルスA）、AC_000009；SAdV-1、AY771780；SAdV-3、NC_006144；SAdV-6、JQ776547；SAdV-7、DQ792570；SAdV-18、FJ025931；SAdV-20、HQ605912；SAdV-21、AC_000010；SAdV-22、AY530876；SAdV-48、HQ241818；SAdV-49、NC_015225；SAdV-50、HQ241820；SAdV-A1139、JN880448；SAdV-A1163、JN880449；SAdV-A1173、JN880450；SAdV-A1258、JN880451；SAdV-A1312、JN880454；SAdV-A1335、JN880456；TMAV（ティティモンキーアデノウイルス）、HQ913600；TSAV（ツパイアデノウイルス）、NC_004453。これらの配列は、2013年1月2日に入手可能であるように、参照によってその全体が本明細書に組み入れられる。

【0258】

実施例2

ヒヒコロニーにおける致死性肺炎の大流行

ある大流行において、TBRIの乳仔ヒヒ9匹のうちの4匹が、RSウイルスに関する調査研究に備えて出生時から隔離された後、間もなく急性呼吸器感染を発症した（図1AおよびB）。指針症例（図1B、B1）は、雌乳仔ヒヒであった。生後、彼女はナーサリーに入れられ、1週間保育器において維持され、次いで、専用ナーサリーベイ内の個々のケージへ移され

10

20

30

40

50

た。12日齢で、透明な粘液の排出を伴うくしゃみが認められた。発熱はなかった。実験室は、全血球数（CBC）が正常であり、白血球（WBC）数が $5.6 \times 10^6/\text{mL}$ （57%好中球）であることを明らかにした。状態は、その後の4日間に急速に悪化し、進行性の倦怠、食欲不振、>20%の体重減少、および息切れ（呼吸困難）を発症した。体温は 95°F 未満に降下した。胸部放射線写真は、両側性間質性肺炎を明らかにした。抗生物質（アンピシリンおよびゲンタマイシン）、酸素、ならびに静脈内輸液による積極的治療にも関わらず、症状の開始の13日後、25日齢で死亡した。

【0259】

剖検によると、肺組織には出血があり、斑状のコンソリデーションの領域があった。好中球が、気道に認められ、小気道、間質、および肺胞腔へと伸張していた。特に、核内封入体が、気道上皮全体に明らかであり、主気道において最も明らかであった。扁桃腺は、増加した数の好中球を含む多巣性の壊死の区域を含有しており、縦隔リンパ節は過剰の炎症細胞を含有していた。軽度の細胞壊死が肝臓に認められた。心臓、腎臓、副腎、または脾臓においては、組織学的病変は観察されなかった。最終病理学的診断は、扁桃腺炎、リンパ節炎、および軽度の肝臓壊死を伴う、おそらく病因的にはウイルス性である、気管支間質性肺炎であった。肺組織のグラム染色は生物について陰性であったが、細菌培養によってメチシリン感受性黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）（MSSA）および稀なクルイペラ・アスコルパタ（*Kluyvera ascorbata*）（Sarría et al., 2001, Clin Infect Dis 33:E69-74）が増殖した。肺組織からの試験は、百日咳菌、クラミドフィラ（*Chlamydia*）種、マイコプラズマ種、ウレアプラズマ種、レジオネラ種、およびハンタウイルスについて陰性であった。肺組織の呼吸器ウイルス培養物は、AdVについて陽性であった。HAdV種A~FおよびSAdV-Aに反応性の血清を使用した外部実験室におけるウイルス中和試験によると、単離物はタイピング不能であった。

【0260】

2番目の症例（図1B、B2）は、雄乳仔ヒヒであった。彼も、生後、ナーサリーに入れられ、生後1週間は保育器において維持され、次いで、ナーサリーベイ内の個々のケージへ移された。16日齢で、くしゃみをし、咳によって鼻からミルクを吐き出すようになった。WBC数は $5.8 \times 10^6/\text{mL}$ （46%好中球）と正常であったが、少数の異型リンパ球が存在した。動物は、臨床的に悪化し、嗜眠、>20%の体重減少、異常に低い体温、および呼吸困難を有した。その時点で収集された鼻スワブは、MSSAについて陽性であったが、気管支肺胞洗浄液および血液の培養物は、MSSAについて陰性であった。静脈内輸液、酸素、および抗生物質による積極的処置も行われたが、筋痙縮（後弓反張）発症の3日後、症状開始の5日後、21日齢で、人道的に安楽死させられた。

【0261】

剖検によると、肺は、うっ血（浮腫）およびコンソリデーションの顕著な区域を有する気管支間質性肺炎を明らかにした。炎症性好中球浸潤物が、主気道において明らかであり、間質および肺胞腔へと伸張していた。核内封入体が、上皮細胞および気管支下（subtracheal）腺上皮において明らかであり、過剰の炎症細胞が縦隔リンパ節において可視化された。他の組織は、ストレスと一致する胸腺の骨髄壊死を例外として、組織学的病変について陰性であった。稀なWBCが見られたが、肺組織のグラム染色および培養は、細菌または真菌について陰性であった。肺組織の呼吸器ウイルス培養物は、AdVについて陽性であり、単離物は、やはり、中和試験によってタイピング不能であった。

【0262】

症例B1およびB2が致死性肺炎を呈したのとほぼ同時期に、部屋の中の他の2匹の動物に、くしゃみおよび咳が認められた（図1B、B3およびB5）。これらの2匹の症候性個体のうちの1匹から収集された鼻スワブは、アデノウイルスについて培養陽性であった（図1B、BaAdV₃）。症候性症例と同一の部屋の中の唯一の残りの無症候性ヒヒ（図1B、ルーム1、B4）、および近いが別の部屋（図1B、ルーム2）にいた無症候性ヒヒからも、鼻スワブを収集した。これらの鼻スワブからは、3種の付加的なAdV単離物が入手された（図1B、BaAdV₁、BaAdV₂、およびBaAdV₄）。ルーム1の2匹の症候性ヒヒ、症例B3およびB5は、隔離され、

静脈内輸液、酸素投与、および経験的抗生物質を含む支持療法によって1週間以内に完全に回復した。4種のヒビAdV単離物（BaAdV₁、BaAdV₂、BaAdV₃、BaAdV₄）は、いずれも、この時点で行われた中和試験によって、HAdV種A～FまたはSAdV-Aとしてタイピングされなかった。

【0263】

実施例3

新規ヒビアデノウイルス（BaAdV-1～BaAdV-4）の細胞培養指向性

最初の大流行の間に病気のヒビおよび無症候性ヒビから単離された4種のアデノウイルスを、多様なヒトおよびサル細胞株において培養した。試験された細胞および細胞株の大多数は、細胞変性効果（CPE）の大きさによって決定されるような増殖性感染をもたらした（表1）。

【0264】

（表1）ヒト細胞およびサル細胞における4種の新規ヒビアデノウイルスの指向性。

ウイルス	起源	名称	細胞型	増殖
BaAdV ₁	ヒト	A549	ヒト上皮肺腺癌	+++
		HFDL	ヒト胎児二倍体肺	-
		HFDK	ヒト胎児二倍体腎臓	-
	サル	PMK	初代アカゲザル腎臓（旧世界	+++
		B95a	マーモセットリンパ芽球様（新世界	-
		Vero	アフリカミドリザル腎臓（旧世界	+++
		CyMK	カニクイザル腎臓（旧世界ザル）	+++
BaAdV _{2,4}	ヒト	A549	ヒト上皮肺腺癌	+++
		HFDL	ヒト胎児二倍体肺	-
		HFDK	ヒト胎児二倍体腎臓	-
	サル	PMK	初代アカゲザル腎臓（旧世界	+++
		B95a	マーモセットリンパ芽球様（新世界	-
		Vero	アフリカミドリザル腎臓（旧世界	+++
		CyMK	カニクイザル腎臓（旧世界ザル）	+++
BaAdV ₃	ヒト	A549	ヒト上皮肺腺癌	+++
		HFDL	ヒト胎児二倍体肺	++
		HFDK	ヒト胎児二倍体腎臓	++
	サル	PMK	初代アカゲザル腎臓（旧世界	+++
		B95a	マーモセットリンパ芽球様（新世界	-
		Vero	アフリカミドリザル腎臓（旧世界	+++
		CyMK	カニクイザル腎臓（旧世界ザル）	+++

+++、強力な細胞変性効果（CPE）；++、中程度のCPE；-、CPEなし

【0265】

4種のヒビアデノウイルスは、全て、他の旧世界サル種（アカゲザル、カニクイザル、アフリカミドリザル）に由来する細胞において成功裡に繁殖した。BaAdVを、ヒト細胞株における増殖について試験した；4種は、全て、ヒトAdVの単離において一般的に利用されているヒト肺腺癌A549細胞株（Lipson et al., 1993, FEMS Microbiol Lett 113:175-18）において効率的に増殖した。特に、他の3種のAdV株と異なり、BaAdV₃は、2種の付加的なヒト細胞株からも成功裡に培養された。新世界サルであるマーモセットに由来するリンパ芽球様B95a細胞においては、増殖は観察されなかった。

【0266】

実施例4

新規ヒビアデノウイルス（BaAdV-1～BaAdV-4）のデノボアセンブリおよび全ゲノム系統発

10

20

30

40

50

生学的分析

ヒヒから単離された4種のアデノウイルスを、全ゲノム配列決定および系統発生的分析によってさらに特徴決定した。アデノウイルスのヘキソン、ポリメラーゼ、およびファイバーの配列を、サンガー配列決定によって最初に回収した。全ゲノムを配列決定するため、単離物BaAdV-1~BaAdV-4に対応する初期継代培養物を、Illumina HiSeq2000でのバイアスなしのディープシーケンシングに供した(図2)。3290万~4520万の生リードから、ゲノムの61.3%~93.1%を、4種のアデノウイルス株の各々についてデノボでアセンブルし;次いで、ゲノムの残りを、ディープシーケンシングリードから手動でアセンブルし、ギャップを埋めるためにサンガー配列決定を使用した。

【0267】

アセンブルされたゲノムにおけるヌクレオチドペアワイズ同一性プロットのスキャンニングによって、4種のヒヒアデノウイルス株が、全て、主要なコアアデノウイルスタンパク質を保持しており、種SAdV-B、F、およびGのAdVと同様に、4種の株は、全て、2種のファイバータンパク質、ロングファイバーおよびショートファイバーを含有していることが明らかになった(図3)。大流行の部屋の無症候性ヒヒ(図1B、B4)から単離された株BaAdV₁は、捕獲されたアカゲザルの便から単離された以前に記載されたSAdV-B種AdV(SAdV-A1335、GENBANK(登録商標)アクセッション番号JN880456、97.8%同一性)(図3A)(Roy et al.,2009,PLoS Pathog 5:e1000503)と密接に関連することが見出された。いずれも別の部屋に大流行の位置から離れて収容されていた無症候性ヒヒ(図1B、B8およびB9)から単離されたBaAdV₂およびBaAdV₄は、相互に100%同一であり、アデノウイルス肺炎で死亡した2匹のヒヒの近くに位置していた症候性ヒヒ(図1B、B5)から単離された株BaAdV₃は、株BaAdV_{2,4}と91.2%同一であった(図3B)。BaAdV_{2,4}およびBaAdV₃に最も近い近縁種は、アデノウイルス種FおよびGのメンバーであった(図3Bおよび4A~D)。個々のヘキソン、ペントンベース、DNAポリメラーゼ、およびファイバータンパク質の系統発生的分析、ならびにアミノ酸ペアワイズ同一性比較は、BaAdV₁が、SAdV-B種群のメンバーであることを明らかにしたが(図4A~Dおよび5A)、BaAdV_{2,4}およびBaAdV₃は、FとGとの中間の新しい種のメンバーであると考えられ、「種H」と仮に命名された(図4A~Dおよび5B)。種A~GのヒトAdVに対する中和抗体を含有している血清を使用した2012における反復血清学的試験(表2)は、BaAdV₁(SAdV-B)およびBaAdV_{2,4}(種H)による種F AdVに対する低レベルの交差中和活性のみを明らかにした。種A~GのヒトAdVによる交差中和は、BaAdV₃によ

【0268】

特に、ゲノムにおいて91.2%の全体ヌクレオチド同一性を共有しているにも関わらず(図3B)、4種のうち、症候性ヒヒから単離された唯一のAdV、BaAdV₃の配列は、ショートファイバー領域においてBaAdV_{2,4}と有意に相違していた。他の主要なアデノウイルスタンパク質は>90%同一であったが、BaAdV₃のショートファイバーは、BaAdV_{2,4}のものとは比べて58%のアミノ酸同一性しか共有していなかった(図5B)。これは、BaAdV_{2,4}およびBaAdV₃のショートファイバーを含む組換えイベントの可能性を強く示唆した。BaAdV_{2,4}(種H)および種SAdV-A、F、およびGの関連AdVと比べたBaAdV₃の類似性プロットおよびブートスキャンニングプロットによって、組換えイベントの可能性が確認された(図6A)。しかしながら、BaAdV₃のショートファイバーが近縁の系統発生的近隣を欠くことが見出されたため(BaAdV_{2,4}に対しておよそ58%、GENBANK(登録商標)内のその他の配列決定されたファイバータンパク質に対しては50%のアミノ酸同一性)、ショートファイバーの推定AdVドナー株は未だ同定されていない。

【0269】

実施例5

ヒヒおよびヒトにおけるBaAdV₁、BaAdV₃、およびBaAdV_{2,4}の血清有病率

注目すべきことに、多くのスタッフメンバーが、このヒヒ大流行の開始時期に「インフルエンザ様」症状を経験したことを逸話的に報告した。動物由来(ヒヒからヒトへ)または人類由来(ヒトからヒヒへ)のいずれかの異種間伝達イベントが起こった可能性を調査

10

20

30

40

50

するため、TBRIにおいて曝露された可能性のあるヒトスタッフ職員（表2、H1～H6）に由来する大流行前および大流行後の血清を、盲検的に、ウイルス中和によって、BaAdV₁、BaAdV₃、およびBaAdV_{2,4}に対する抗体について試験した。基線血清有病率のための付加的な対照として、無作為に選択された5歳未満の5人のヒト子供に由来する血清、および肺炎により影響を受けたヒヒとほぼ同時に生まれたが、大流行に巻き込まれなかった10匹のヒヒから入手可能であった血清を、試験した。有意に、6人中5人（83%）および6人中6人（100%）の職員が、大流行前には血清反応陰性であったが、大流行後に、それぞれBaAdV₁およびBaAdV_{2,4}に対する中和抗体力価の証拠を有していた。中和抗体応答の最も大きな大きさ、1：80は、大流行の間に病気のヒヒと最も密接に接触していた研究者（表2、H1）に相当した。興味深いことに、BaAdV₃に対する中和は、いずれのスタッフ職員においても観察されなかった。中和アッセイの特異性は、全てBaAdV₁、BaAdV_{2,4}、およびBaAdV₃に対する中和抗体について陰性であった5歳未満の5人の疫学的に無関係の子供（表2、H8～H12）のスクリーニングによってさらに確認された。この大流行に巻き込まれなかったコロニー内の10匹の健常なヒヒのうち、10匹中4匹（40%）および10匹中3匹（30%）が、それぞれ、BaAdV₁およびBaAdV_{2,4}に対する抗体を保有していた（表2、B100～B110）。BaAdV₃に対する中和はほとんど～全く観察されず；1：10力価の中和抗体は、密接に関連する株BaAdV_{2,4}に対する1：80という高い既存の力価を有する1匹のヒヒB107においてのみ検出された。

10

【 0 2 7 0 】

（表2）HAdV種A～Fに対するウサギ中和血清、研究室スタッフ（H1～H6）、幼児（H8～H12）、および現在収容されているヒヒ（B100～B110）における、BaAdV₁、BaAdV_{2,4}、およびBaAdV₃に対する中和抗体力価。HAdV種A～Fとの交差反応性は、BaAdV₁およびBaAdV_{2,4}のHAdV種Fに対するウサギ中和血清との低レベルの交差中和を除き観察されず、BaAdV₃の交差中和は観察されない。BaAdV₁、BaAdV₃、およびBaAdV_{2,4}（B107）と反応性のヒヒ血清試料による間接中和アッセイにおいて、種GアデノウイルスHAdV-52に対する交差反応性の証拠も存在しなかった。略語：N/A、適用不可。

20

血清試料	同定	BaAdV ₁	BaAdV _{2,4}	BaAdV ₃
HAAdV (A~F) に対する ウサギ中和血清、7プール	N/A	HAAdV-Fのプールの のみ、1:20	HAAdV-Fの プールのみ、 1:20	—
HAAdV-F (HAAdV-40および HAdV-41) に対する ウサギ中和血清	N/A	1:20	1:20	—
	霊長類			
H1 (大流行前)	霊長類	—	—	—
H1 (大流行後)	霊長類	≥1:80	≥1:80	—
H2 (大流行前)	霊長類	—	—	—
H2 (大流行後)	霊長類	1:80	1:80	—
H3 (大流行前)	霊長類	—	—	—
H3 (大流行後)	霊長類	1:80	1:80	—
H4 (大流行前)	霊長類	—	—	—
H4 (大流行後)	霊長類	1:40	1:40	—
H5 (大流行前)	霊長類	—	—	—
H5 (大流行後)	霊長類	—	1:80	—
H6 (大流行前)	霊長類	—	—	—
H6 (大流行後)	霊長類	1:80	1:80	—
H8	5歳未満の子供	—	—	—
H9	5歳未満の子供	—	—	—
H10	5歳未満の子供	—	—	—
H11	5歳未満の子供	—	—	—
H12	5歳未満の子供	—	—	—
B100	霊長類	—	—	—
B101 (初期)	霊長類	—	—	—
B101 (後期)	霊長類	1:10	—	—
B102	霊長類	—	1:10	—
B103	霊長類	—	—	—
B104	霊長類	—	—	—
B105	霊長類	—	—	—
B106	霊長類	—	—	—
B107	霊長類	1:10	1:80	1:10
B108	霊長類	1:10	1:10	—
B109	霊長類	—	—	—
B110	霊長類	1:10	—	—

10

20

30

40

【 0 2 7 1 】

このように、乳仔ヒヒにおける急速に致死性のアデノウイルス肺炎の大流行が起こった。最初のAdV感染の診断は、末梢循環における異型リンパ球の存在、肺および肝臓における出血性病変および壊死性病変、ならびに気管支上皮における核内封入体によって支持され、肺組織からのAdVの直接単離によって後に確認された。急性呼吸器感染を呈した4匹のヒヒのうち2匹(50%)は、大流行中に死亡した。数は低い、50%という致死率は、典型的には、感受性のヒトの子供において<15%というはるかに低い死亡率を引き起こすAdV感染にしては高い(Hong et al., 2001, Clin Infect Dis 32:1423-1429; Siminovich et al., 2011, Pediatr Dev Pathol 14:214-217; Murtagh et al., 2009, Pediatr Pulmonol 4

50

4:450-456)。高い死亡率の一つの説明は、2匹のヒヒのうちの少なくとも1匹におけるMSS Aのような細菌の同時同定であり得る。それが、重度の、致死性である可能性のある肺の細菌重複感染の素因を、AdV感染ヒヒに与えた可能性がある (Bakaletz, 1995, Trends Microbiol 3:110-114)。免疫低下個体、高齢の個体、または極めて若い個体においてより重度の疾患を引き起こし得るAdVによる重度の感染に、新生仔ヒヒが一般に高度に感受性であるという可能性もある (Wold W, Horwitz M (2007) Adenoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors. Fields Virology. 5th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins. pp. 2395-2436 | Echavarria, 2008, Clin Microbiol Rev 21:704-715)。

【0272】

肺炎で死亡した2匹のヒヒに由来する肺組織から単離されたAdV株は、ヒト呼吸器疾患および肺炎に典型的に関連している (Echavarria et al., 2006, J Clin Microbiol 44:625-627) 種B、C、およびEのHADVを含む、HADV種A~FのAdVおよびSAdV-Aについてのウイルス中和試験によってタイピング不能であった。この所見より、大流行の病原体が、未知の病原性を有する新規AdV株であるという可能性が生じた。2例の致死例に由来する組織および初代培養物が、外部実験室に送付されており、さらなる分析のために利用不能であったため、大流行に関与した他の症候性ヒヒおよび/または無症候性ヒヒから単離されたAdV (BaAdV) を特徴決定した。4種のAdV単離物 (BaAdV₁、BaAdV₂、BaAdV₃、BaAdV₄) が鼻スワブから成功裡に培養され、そのうちの1種、BaAdV₃のみが、急性呼吸器症状を有する生存ヒヒに由来した。死亡したヒヒに由来する2種のAdV株と同様に、4種の単離物は、ウイルス中和試験によって、HADV種A~FおよびSAdV-Aについて、大流行の時点でタイピング不能であった (ただし、HADV種A~Gに対するその後の反復中和試験によって、BaAdV₁またはBaAdV_{2,4}と種F HADVとの間の低レベルの血清学的交差反応性が見出された) (表2)。

【0273】

これらのタイピング不能AdVをさらに特徴決定するため、4種全ての単離物に相当するゲノムを、ディープシーケンシング、伝統的なサンガー配列決定、およびデノボアセンブリアプローチの組み合わせによって回収した (図2)。BaAdV₁は、最近記載されたSAdV-B種 (Roy et al., 2012, Emerg Infect Dis 18:1081-1088) のメンバーであることが見出されたが、BaAdV₂、BaAdV₃、およびBaAdV₄ (BaAdV₂と同一) は、新規である可能性のある種のメンバーを表すことが見出された (図3Bおよび4)。BaAdV_{2,4}およびBaAdV₃の両方が、最も近いAdV近隣、種FおよびGのメンバーからの>10%の系統発生的距離を示すことによって、新しいAdV種のための2個のICTV基準のうちの1個を満たす (図3B)。他方の基準である他のAdVとの交差中和の欠如は、少なくともBaAdV₃によっては満たされるようである (表2)。これらの新しいAdVがヒト起源であるかまたはサル起源であるかは現在のところ不明であるため、「種H」という表記を、この新しい種のメンバーのために提唱した。

【0274】

興味深いことに、BaAdV₃は、BaAdV_{2,4}との91.2%の全体ヌクレオチド同一性を有する種H AdVであるにも関わらず (図3B)、ヒトおよびヒヒの両方の血清の試験において、BaAdV_{2,4}との交差反応性をほとんど~全く示さない (表2)。この血清学的特異性の基礎は、BaAdV_{2,4}および他の全ての配列決定されたAdVの両方と比べてBaAdV₃において有意に相違している (アミノ酸レベルで 58%の同一性) ショートファイバーの配列であり得る (図5B)。ブートスキャン分析は、BaAdV_{2,4}のような種H AdVと、相違しているBaAdV₃ショートファイバーを保有している未同定のドナー株とを含む組換えイベントから、BaAdV₃が発生したことを示唆する (図6)。2種のヒト胎児細胞株において、BaAdV₃による増殖性感染は観察されたが、BaAdV_{2,4}によるものは観察されなかったため (表1)、このドナー株は、ヒトアデノウイルス、または少なくともヒト指向性である可能性がある。

【0275】

ヒヒ大流行の時期のスタッフメンバーにおける「インフルエンザ様」症状の事例報告のため、現在コロニーにいるヒヒおよび曝露された可能性のあるスタッフ職員における、BaAdV₁、BaAdV_{2,4}、およびBaAdV₃に対する血清学的応答を調査した。BaAdV₁ (種SAdV-B) お

10

20

30

40

50

よびBaAdV_{2,4} (種H) に対する中和抗体力価は、ヒヒおよびヒトの両方において検出された (表2)。これらの力価がヒト種F AdVとのボーダーライン交差反応性を反映している可能性はあるが (表1)、BaAdV₁ (種SAdV-B) およびBaAdV_{2,4} (種H) は、種F AdVとの低いタンパク質相同性 (図5) および血清転換の高い率および比較的短期間における曝露されたスタッフ職員における抗体力価上昇の大きさ (表2) から、HAdV-F種とは血清学的に異なる可能性の方がはるかに高い。従って、血清学的結果は、種SAdV-B株の推定サルAdV、BaAdV₁の、曝露されたヒトへの動物由来伝達の最初の所見を提供する可能性が高い。曝露されたスタッフ職員において観察されたBaAdV_{2,4} に対する血清転換も、ヒトにおける新規種H AdV感染の病原性に関する懸念を投げかける。種H AdVの起源および貯蔵宿主が未知のままであるため、BaAdV_{2,4}の伝達方向が、動物由来であるかそれとも人類由来であるかは不明である。これらの所見は、サルとヒトとの間の異種間伝達能力を有する、病原性である可能性のあるAdVからの脅威を強調し続ける。

【0276】

ヒヒにおける呼吸器および腸の疾病の以前の大流行 (Eugster et al., 1969, Arch Gesamte Virusforsch 26:260-270) において、原因は、サバンナモンキーにおける肺腸炎の大流行に関連して株V340として最初に単離された種SAdV-A AdV、SAdV-20であることが見出された (Kim et al., J Infect Dis 117:292-300, 1967)。本明細書に提示されたデータは、新規種H AdV、BaAdV₃が、この肺炎大流行の最も可能性の高い原因であることを示す。BaAdV₃は、回収された種HおよびSAdV-B AdVの中で、病気のヒヒから単離された唯一の配列決定されたAdVであり、肺炎で死亡した2匹のヒヒは、HAdV種A~FおよびSAdV-Aについて以前に大流行の時点で試験陰性であった。現在捕獲されているヒヒおよびヒトスタッフにおけるBaAdV₃に対する血清反応性がほとんど~全くないことを示している血清学的試験と合わせて、これらのデータは、BaAdV₃がその出現が大流行を発生させた稀な病原性の種H組換え体であることを示唆している。

【0277】

実施例6

アノテートされた配列情報

SEQ ID NO:1~4におけるオープンリーディングフレーム (コード配列、CDS) の位置を、コードされたタンパク質の同一性に関する情報と共に、以下に提供する。末端反復 (ITR) の位置も提供される。

【0278】

10

20

30

BaAdV-2 (SEQ ID NO: 1)

LOCUS BaAdV-2_final_an 34391 bp DNA linear
 DEFINITION .
 ACCESSION urn.local...1357154693134.16
 VERSION urn.local...1357154693134.16
 KEYWORDS .
 SOURCE .
 ORGANISM .

FEATURES	Location/Qualifiers	
misc_feature	1..87 /label="ITR repeat"	10
CDS	order(982..1199,444..903) /label="E1A CDS"	
CDS	1320..1820 /label="E1B 19K CDS"	
CDS	1625..3049 /label="E1B 55K CDS"	
CDS	3056..3535 /label="IX CDS"	
CDS	order(complement(5190..5202),complement(3581..4911)) /label="IVa2 CDS"	20
CDS	order(complement(13081..13089),complement(4684..8232)) /label="pol CDS"	
CDS	order(complement(13081..13089),complement(8031..9968)) /label="pTP CDS"	
CDS	10187..11314 /label="52K CDS"	
CDS	11335..13059 /label="pIIIa CDS"	
CDS	13135..14646 /label="III (penton) CDS"	30
CDS	14649..15194 /label="pVII CDS"	
CDS	15251..16303 /label="pV CDS"	
CDS	16323..16532 /label="pX CDS"	
CDS	16564..17403 /label="pVI CDS"	
CDS	17490..20273 /label="II (hexon) CDS"	
CDS	20146..20898 /label="protease CDS"	40
CDS	complement(20948..22333) /label="DBP CDS"	
CDS	22357..24642 /label="100K protein CDS"	
CDS	order(24344..24664,24944..25144) /label="33K protein CDS"	

```

CDS          24344..24886
              /label="22K protein CDS"
CDS          25203..25904
              /label="pVIII CDS"
CDS          25904..26218
              /label="E3 12.5K CDS"
CDS          26175..26648
              /label="E3 CR1-alpha CDS"
CDS          26645..27517
              /label="E3 CR1-beta CDS"
CDS          27531..27803
              /label="E3 RID-alpha CDS"
CDS          27791..28132
              /label="E3 RID-beta CDS"
CDS          28125..28490
              /label="E3 14.7 CDS"
CDS          complement(28504..28665)
              /label="U exon CDS"
CDS          28676..29866
              /label="IV (fiber 1) CDS"
CDS          29697..31535
              /label="IV (fiber 2) CDS"
CDS
order(complement(32509..32652),complement(31559..31777))
              /label="E4 ORF 6/7 CDS"
CDS          complement(31795..32652)
              /label="E4 34K CDS"
CDS          complement(32585..32947)
              /label="E4 ORF4 CDS"
CDS          complement(32949..33299)
              /label="E4 ORF3 CDS"
CDS          complement(33296..33688)
              /label="E4 ORF2 CDS"
CDS          complement(33703..34083)
              /label="E4 ORF1 CDS"
misc_feature 34305..34391
              /label="ITR repeat"

```

BaAdV-4 (SEQ ID NO: 2)

```

LOCUS       BaAdV-4_final_an          34391 bp    DNA    linear
DEFINITION  .
ACCESSION   urn.local...1357154692931.12
VERSION     urn.local...1357154692931.12
KEYWORDS    .
SOURCE      .
ORGANISM    .
FEATURES    Location/Qualifiers
             misc_feature              1..87
             /label="ITR repeat"

```

CDS	order(444..903,982..1199)	
	/label="E1A CDS"	
CDS	1320..1820	
	/label="E1B 19K"	
CDS	1625..3049	
	/label="E1B 55K CDS"	
CDS	3056..3535	
	/label="IX CDS"	
CDS	order(complement(3581..4911),complement(5190..5202))	
	/label="IVa2 CDS"	
CDS		
order(complement(13081..13089),complement(4684..8232))		10
	/label="pol CDS"	
CDS		
order(complement(13081..13089),complement(8031..9968))		
	/label="pTP CDS"	
CDS	10187..11314	
	/label="52K CDS"	
CDS	11335..13059	
	/label="pIIIa CDS"	
CDS	13135..14646	
	/label="III (penton) CDS"	
CDS	14649..15194	20
	/label="pVII CDS"	
CDS	15251..16303	
	/label="pV CDS"	
CDS	16323..16532	
	/label="pX CDS"	
CDS	16564..17403	
	/label="pVI CDS"	
CDS	17490..20273	
	/label="II (hexon) CDS"	
CDS	20281..20898	
	/label="protease CDS"	
CDS	complement(20948..22333)	30
	/label="DBP CDS"	
CDS	22357..24642	
	/label="100K protein CDS"	
CDS	order(24876..25151,24344..24664)	
	/label="33K protein CDS"	
CDS	24344..24886	
	/label="22K protein CDS"	
CDS	25203..25904	
	/label="pVIII CDS"	
CDS	25904..26178	
	/label="E3 12.5K CDS"	40
CDS	26175..26648	
	/label="E3-CR-1-alpha CDS"	
CDS	26645..27517	
	/label="E3 CR1-beta CDS"	
CDS	27531..27803	
	/label="E3 RID-alpha CDS"	
CDS	27791..28132	

```

                /label="E3 RID-beta CDS"
CDS            28125..28490
                /label="E3 14.7 protein CDS"
CDS            complement(28504..28665)
                /label="U exon CDS"
CDS            28676..29866
                /label="IV (fiber1)"
CDS            29697..31535
                /label="IV (fiber 2) CDS"
CDS
order(complement(31559..31735),complement(32509..32652))
                /label="E4 ORF 6/7"
CDS            complement(31795..32652)
                /label="E4 34K CDS"
CDS            complement(32585..32947)
                /label="E4 ORF4 CDS"
CDS            complement(32949..33299)
                /label="E4 ORF3 CDS"
CDS            complement(33296..33688)
                /label="E4 ORF2 CDS"
CDS            complement(33703..34083)
                /label="E4 ORF1 CDS"
misc_feature   34305..34391
                /label="ITR repeat"

```

BaAdV-3 (SEQ ID NO: 3)

```

LOCUS          BaAdV-3_final_an          34402 bp      DNA      linear
DEFINITION    .
ACCESSION     urn.local...1350955631692.388
VERSION       urn.local...1350955631692.388
KEYWORDS      .
SOURCE
  ORGANISM
  .
FEATURES
  Location/Qualifiers
    misc_feature 1..124
                  /label="ITR repeat"
    CDS          order(1024..1241,487..949)
                  /label="E1A CDS"
    CDS          1364..1858
                  /label="E1B 19K"
    CDS          1669..3087
                  /label="E1B 55K CDS"
    CDS          3092..3571
                  /label="pIX CDS"
    CDS          order(complement(3608..4938),complement(5217..5229))
                  /label="IVa2 CDS"
    CDS
order(complement(13105..13113),complement(4711..8259))
                  /label="pol CDS"

```

```

CDS
order(complement(13105..13113),complement(8058..9989))
    /label="pTP CDS"
CDS    10208..11335
    /label="52K CDS"
CDS    11356..13080
    /label="pIIIIa CDS"
CDS    13159..14676
    /label="III (penton) "
CDS    14679..15230
    /label="pVII CDS"
CDS    15288..16328
    /label="pV CDS"
CDS    16342..16557
    /label="pX CDS"
CDS    16496..17422
    /label="pVI CDS"
CDS    17509..20301
    /label="II (hexon) "
CDS    20156..20926
    /label="protease CDS"
CDS    complement(20976..22361)
    /label="DBP CDS"
CDS    22385..24661
    /label="100K protein CDS"
CDS    order(24366..24683,24895..25163)
    /label="33K protein CDS"
CDS    24366..24905
    /label="22K protein CDS"
CDS    25222..25923
    /label="pVIII CDS"
CDS    25920..26231
    /label="E3 12.5K CDS"
CDS    26179..26724
    /label="E3-CR-1-alpha CDS"
CDS    26721..27533
    /label="E3 CR1-beta CDS"
CDS    27547..27819
    /label="E3 RID-alpha CDS"
CDS    27816..28145
    /label="E3 RID-beta CDS"
CDS    28138..28503
    /label="E7 14.7 protein CDS"
CDS    complement(28506..28667)
    /label="U exon CDS"
CDS    28678..29811
    /label="IV (fiber) "
CDS    29687..31480
    /label="IV (fiber 2) CDS"
CDS
order(complement(32482..32625),complement(31504..31680))
    /label="E4 ORF 6/7 CDS"
CDS    complement(31774..32625)

```

```

                /label="E4 34K CDS"
CDS             complement(32558..32920)
                /label="E4 ORF4 CDS"
CDS             complement(32922..33272)
                /label="E4 ORF3 CDS"
CDS             complement(33269..33661)
                /label="E4 ORF2 CDS"
CDS             complement(33675..34055)
                /label="E4 ORF1 CDS"
misc_feature    34279..34402
                /label="ITR repeat"

```

10

BaAdV-1 (SEQ ID NO: 4)

```

LOCUS           BaAdV-1_final_an           35537 bp    DNA    linear    UNA
DEFINITION      .
ACCESSION      urn.local...1357154805381.28
VERSION        urn.local...1357154805381.28
KEYWORDS       .
SOURCE
  ORGANISM

```

20

```

FEATURES             Location/Qualifiers
  misc_feature       1..215
                    /label="ITR repeat region"
  CDS                order(1171..1451,528..1101)
                    /label="E1A CDS"
  CDS                1579..2124
                    /label="E1B 19K"
  CDS                1884..3362
                    /label="E1B55K CDS"
  CDS                3429..3878
                    /label="IX CDS"
  CDS                order(complement(3916..5255),complement(5534..5546))
                    /label="IVa2 CDS"
  CDS
order(complement(13577..13585),complement(5025..8621))
                    /label="pol CDS"
  CDS
order(complement(13577..13585),complement(8420..10405))
                    /label="pTP CDS"
  CDS                10522..11736
                    /label="52K CDS"
  CDS                11755..13551
                    /label="pIIIa CDS"
  CDS                13636..15171
                    /label="III (penton) CDS"
  CDS                15200..15754
                    /label="pVII CDS"
  CDS                15803..16903
                    /label="pV CDS"

```

30

40

CDS	16925..17149	
	/label="pX CDS"	
CDS	17204..17998	
	/label="pVI CDS"	
CDS	18071..20833	
	/label="II (hexon) CDS"	
CDS	20834..21451	
	/label="protease CDS"	
CDS	complement(21499..22980)	
	/label="DBP CDS"	
CDS	23018..25381	10
	/label="100K CDS"	
CDS	order(25071..25627,25806..25902)	
	/label="33K CDS"	
CDS	25071..25775	
	/label="22K CDS"	
CDS	25948..26649	
	/label="pVIII CDS"	
CDS	26649..26975	
	/label="E3 12.5K CDS"	
CDS	26920..28341	
	/label="E3 CR1 alpha-beta CDS"	
CDS	28357..28629	20
	/label="E3 RID-alpha CDS"	
CDS	28536..28997	
	/label="E3 RID-beta CDS"	
CDS	29000..29392	
	/label="E3 14.7K protein CDS"	
CDS	complement(29409..29567)	
	/label="U exon CDS"	
CDS	29586..31196	
	/label="IV (fiber 1) CDS"	
CDS	31218..32474	
	/label="IV (fiber 2) CDS"	30
CDS	order(complement(32507..32716),complement(33481..33630))	
	/label="E4 ORF 6/7 CDS"	
CDS	complement(32755..33630)	
	/label="E4 34K CDS"	
CDS	complement(33563..33928)	
	/label="E4 ORF4 CDS"	
CDS	complement(33933..34283)	
	/label="E4 ORF3 CDS"	
CDS	complement(34294..34680)	
	/label="E4 ORF2 CDS"	
CDS	complement(34705..35088)	40
	/label="E4 ORF1 CDS"	
misc_feature	35323..35537	
	/label="ITR repeat"	

【 0 2 7 9 】

実施例7

アノテートされた配列情報

下記の表は、配列表にリストされた分子の同一性を提供する。

【 0 2 8 0 】

SEQ ID NO:	ヒシアデノウイルス	分子
1	BaAdv-2	ウイルスゲノム
2	BaAdv-4	ウイルスゲノム
3	BaAdv-3	ウイルスゲノム
4	BaAdv-1	ウイルスゲノム
5	BaAdv-2	100K_タンパク質_CDS_翻訳
6	BaAdv-2	22K_タンパク質_CDS_翻訳
7	BaAdv-2	33K_タンパク質_CDS_翻訳
8	BaAdv-2	52K_CDS_翻訳
9	BaAdv-2	DBP_CDS_翻訳
10	BaAdv-2	E1A_CDS_翻訳
11	BaAdv-2	E1B_55K_CDS_翻訳
12	BaAdv-2	E3_12.5K_CDS_翻訳
13	BaAdv-2	E3_14.7_CDS_翻訳
14	BaAdv-2	E3_CR1- α _CDS_翻訳
15	BaAdv-2	E3_CR1- β _CDS_翻訳
16	BaAdv-2	E3_RID- α _CDS_翻訳
17	BaAdv-2	E3_RID- β _CDS_翻訳
18	BaAdv-2	E4_34K_CDS_翻訳
19	BaAdv-2	E4_ORF_6/7_CDS_翻訳
20	BaAdv-2	E4_ORF1_CDS_翻訳
21	BaAdv-2	E4_ORF2_CDS_翻訳
22	BaAdv-2	E4_ORF3_CDS_翻訳
23	BaAdv-2	E4_ORF4_CDS_翻訳
24	BaAdv-2	II_(ヘキソン)_CDS_翻訳
25	BaAdv-2	III_(ペントン)_CDS_翻訳
26	BaAdv-2	IV_(ファイバー_1)_CDS_翻訳
27	BaAdv-2	IV_(ファイバー_2)_CDS_翻訳
28	BaAdv-2	IVa2_CDS_翻訳
29	BaAdv-2	IX_CDS_翻訳
30	BaAdv-2	pIIIa_CDS_翻訳
31	BaAdv-2	pol_CDS_翻訳
32	BaAdv-2	プロテアーゼ_CDS_翻訳
33	BaAdv-2	pTP_CDS_翻訳
34	BaAdv-2	pV_CDS_翻訳
35	BaAdv-2	pVI_CDS_翻訳
36	BaAdv-2	pVII_CDS_翻訳
37	BaAdv-2	pVIII_CDS_翻訳
38	BaAdv-2	pX_CDS_翻訳
39	BaAdv-2	U_エキソン_CDS_翻訳
40	BaAdv-4	U_エキソン_CDS_翻訳
41	BaAdv-4	pX_CDS_翻訳

10

20

30

40

42	BaAdv-4	pVIII_CDS_翻訳
43	BaAdv-4	pVII_CDS_翻訳
44	BaAdv-4	pVI_CDS_翻訳
45	BaAdv-4	pV_CDS_翻訳
46	BaAdv-4	pTP_CDS_翻訳
47	BaAdv-4	プロテアーゼ_CDS_翻訳
48	BaAdv-4	pol_CDS_翻訳
49	BaAdv-4	pIIIa_CDS_翻訳
50	BaAdv-4	IX_CDS_翻訳
51	BaAdv-4	IVa2_CDS_翻訳
52	BaAdv-4	IV_(ファイバー1)_CDS_翻訳
53	BaAdv-4	IV_(ファイバー2)_CDS_翻訳
54	BaAdv-4	III_(ペントン)_CDS_翻訳
55	BaAdv-4	II_(ヘキソン)_CDS_翻訳
56	BaAdv-4	E4_ORF4_CDS_翻訳
57	BaAdv-4	E4_ORF3_CDS_翻訳
58	BaAdv-4	E4_ORF2_CDS_翻訳
59	BaAdv-4	E4_ORF1_CDS_翻訳
60	BaAdv-4	E4_ORF_6/7_翻訳
61	BaAdv-4	E4_34K_CDS_翻訳
62	BaAdv-4	E3_RID- β _CDS_翻訳
63	BaAdv-4	E3_RID- α _CDS_翻訳
64	BaAdv-4	E3_CR1- β _CDS_翻訳
65	BaAdv-4	E3_CR1- α _CDS_翻訳
66	BaAdv-4	E3_14.7_タンパク質_CDS_翻訳
67	BaAdv-4	E3_12.5K_CDS_翻訳
68	BaAdv-4	E1B_55K_CDS_翻訳
69	BaAdv-4	E1A_CDS_翻訳
70	BaAdv-4	DBP_CDS_翻訳
71	BaAdv-4	52K_CDS_翻訳
72	BaAdv-4	33K_タンパク質_CDS_翻訳
73	BaAdv-4	22K_タンパク質_CDS_翻訳
74	BaAdv-4	100K_タンパク質_CDS_翻訳
75	BaAdv-3	100K_タンパク質_CDS_翻訳
76	BaAdv-3	22K_タンパク質_CDS_翻訳
77	BaAdv-3	33K_タンパク質_CDS_翻訳
78	BaAdv-3	52K_CDS_翻訳
79	BaAdv-3	DBP_CDS_翻訳
80	BaAdv-3	E1A_CDS_翻訳
81	BaAdv-3	E1B_55K_CDS_翻訳
82	BaAdv-3	E3_12.5K_CDS_翻訳
83	BaAdv-3	E3_14.7_タンパク質_CDS_翻訳
84	BaAdv-3	E3_CR1- β _CDS_翻訳
85	BaAdv-3	E3_RID- α _CDS_翻訳
86	BaAdv-3	E3_RID- β _CDS_翻訳
87	BaAdv-3	E3-CR1- α _CDS_翻訳
88	BaAdv-3	E4_34K_CDS_翻訳
89	BaAdv-3	E4_ORF_6/7_CDS_翻訳

10

20

30

40

90	BaAdv-3	E4_ORF1_CDS_翻訳
91	BaAdv-3	E4_ORF2_CDS_翻訳
92	BaAdv-3	E4_ORF3_CDS_翻訳
93	BaAdv-3	E4_ORF4_CDS_翻訳
94	BaAdv-3	pII_(ヘキソン)_翻訳
95	BaAdv-3	pIII_(ペントン)_翻訳
96	BaAdv-3	pIV_(ファイバー_2)_CDS_翻訳
97	BaAdv-3	pIV_(ファイバー)_翻訳
98	BaAdv-3	pIVa2_CDS_翻訳
99	BaAdv-3	pIIIa_CDS_翻訳
100	BaAdv-3	pIX_CDS_翻訳
101	BaAdv-3	pol_CDS_翻訳
102	BaAdv-3	プロテアーゼ_CDS_翻訳
103	BaAdv-3	pTP_CDS_翻訳
104	BaAdv-3	pV_CDS_翻訳
105	BaAdv-3	pVI_CDS_翻訳
106	BaAdv-3	pVII_CDS_翻訳
107	BaAdv-3	pVIII_CDS_翻訳
108	BaAdv-3	pX_CDS_翻訳
109	BaAdv-3	U_エキソン_CDS_翻訳
110	BaAdv-1	100K_CDS_翻訳
111	BaAdv-1	22K_CDS_翻訳
112	BaAdv-1	33K_CDS_翻訳
113	BaAdv-1	52K_CDS_翻訳
114	BaAdv-1	DBP_CDS_翻訳
115	BaAdv-1	E1A_CDS_翻訳
116	BaAdv-1	E1B_55K_CDS_翻訳
117	BaAdv-1	E3_12.5K_CDS
118	BaAdv-1	E3_14.7K_タンパク質_CDS_翻訳
116	BaAdv-1	E3_CR1_α-β_CDS_翻訳
1120	BaAdv-1	E3_RID-α_CDS_翻訳
121	BaAdv-1	E3_RID-β_CDS_翻訳
122	BaAdv-1	E4_34K_CDS_翻訳
123	BaAdv-1	E4_ORF_6/7_CDS_翻訳
124	BaAdv-1	E4_ORF1_CDS_翻訳
125	BaAdv-1	E4_ORF2_CDS_翻訳
126	BaAdv-1	E4_ORF3_CDS_翻訳
127	BaAdv-1	E4_ORF4_CDS_翻訳
128	BaAdv-1	II_(ヘキソン)_CDS_翻訳
129	BaAdv-1	III_(ペントン)_CDS_翻訳
130	BaAdv-1	IV_(ファイバー_1)_CDS_翻訳
131	BaAdv-1	IV_(ファイバー_2)_CDS_翻訳
132	BaAdv-1	IVa2_CDS_翻訳
133	BaAdv-1	pIIIa_CDS_翻訳
134	BaAdv-1	pIX_CDS_翻訳
135	BaAdv-1	pol_CDS_翻訳
136	BaAdv-1	プロテアーゼ_CDS_翻訳
137	BaAdv-1	pTP_CDS_翻訳

10

20

30

40

138	BaAdv-1	pV_CDS_翻訳
139	BaAdv-1	pVI_CDS_翻訳
140	BaAdv-1	pVII_CDS_翻訳
141	BaAdv-1	pVIII_CDS_翻訳
142	BaAdv-1	pX_CDS_翻訳
143	BaAdv-1	U_エクソン_CDS_翻訳

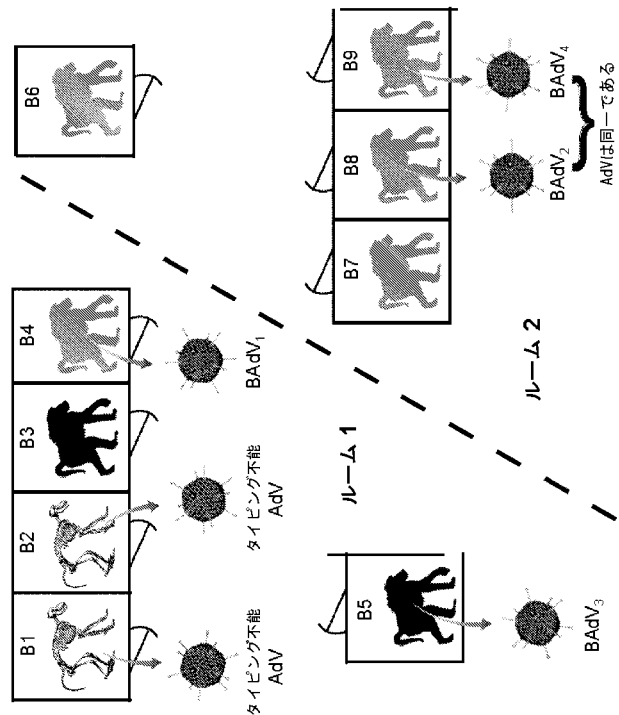
【 0 2 8 1 】

記載された方法または組成物の正確な詳細が、記載された本発明の精神から逸脱することなく、変更または改変され得ることは明白であろう。本発明者らは、添付の特許請求の範囲の範囲および精神に含まれるそのような改変および変更の全てを請求する。

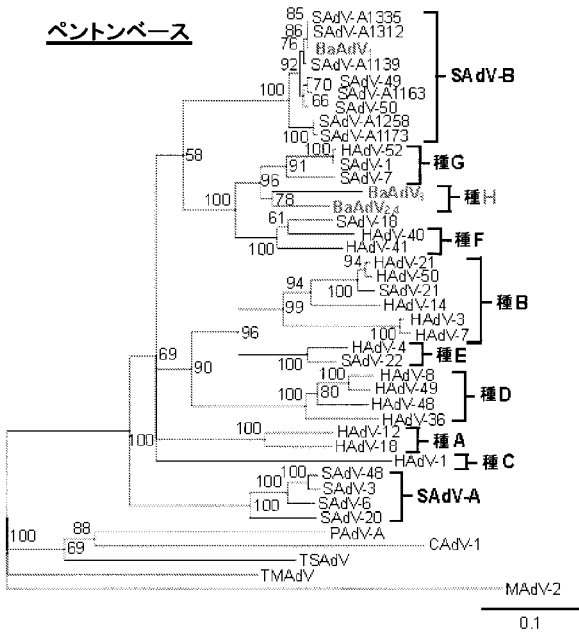
【 図 1 A 】



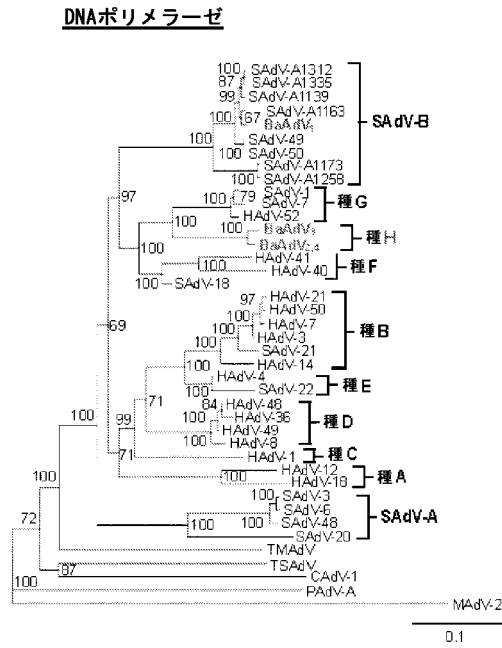
【 図 1 B 】



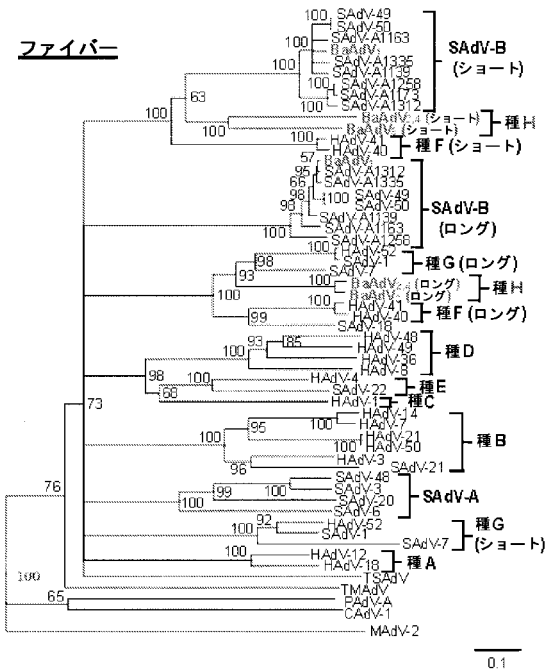
【 図 4 B 】



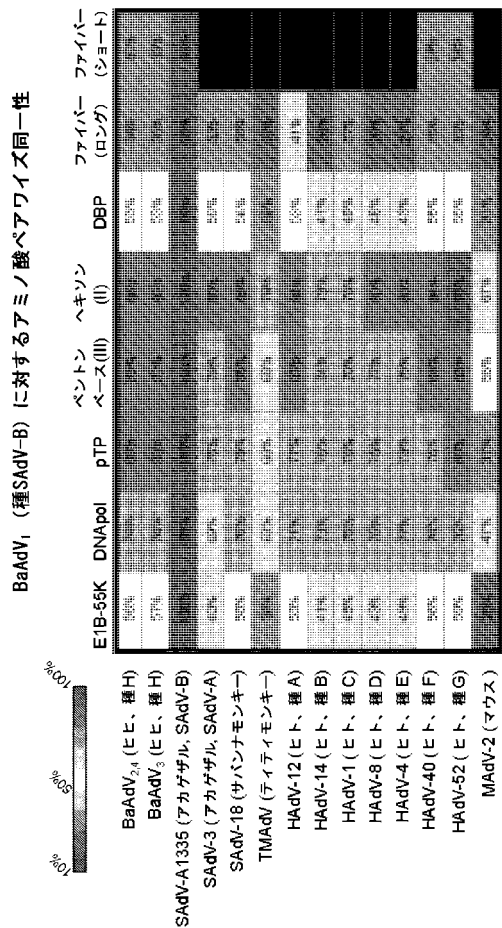
【 図 4 C 】



【 図 4 D 】



【 図 5 A 】



【配列表】

2016505267000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 2014/011624
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (see extra sheet) 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) C12N 15/34, C07K 14/075, C12N 15/63, 5/10, C07K 16/08, C12Q 1/68, C12P 21/02, C12N 15/861, A61K 39/12, A61P 31/20 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) PatSearch (RUPTO internal), EMBL, NCBI, PAJ, Espacenet, DWPI, Patentscope, USPTO, CIPO (Canada PO), SIPO DB		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2005/069866 A1 (WILSON JAMES M et al.) 31.03.2005, abstract, claims, paragraphs [0001], [0051] - [0056], [0061] - [0074], [0085] - [0087], [0092] - [0102], [0104] - [0143], [0155], examples 3, 13, SEQ ID NO: 29, 30	1, 6-20, 42, 45, 46, 50
A		2-5, 21-41, 43-44, 47-49
X	DATABASE GenBank , AY771780.1, 25.05.2005. Retrieved from the Internet:<URL:http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/ay771780>	1
X	DATABASE UniProtKB/TrEMBL, Q5C8Q7, 12.04.2005. Retrieved from the Internet:<URL: http://www.ebi.ac.uk/Tools/dbfetch/dbfetch?db=TR;id=Q5C8Q7;format=default>	6, 7
A	CHEN E.C. et al. Cross-species transmission of a novel adenovirus associated with a fulminant pneumonia outbreak in a new world monkey colony. PLoS Pathogens, 2011, Vol.7, no.7, e1002155, doi: 10.1371/journal.ppat.1002155, pp.1-16	1-50
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 10 April 2014 (10.04.2014)		Date of mailing of the international search report 15 May 2014 (15.05.2014)
Name and mailing address of the ISA/ FIPS Russia, 123995, Moscow, G-59, GSP-5, Berezhkovskaya nab., 30-1 Facsimile No. +7 (499) 243-33-37		Authorized officer I. Goretova Telephone No. (495)531-65-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Classification of subject matter

International application No.

PCT/US 2014/011624

C12N 15/34 (2006.01)
C07K 14/075 (2006.01)
C12N 15/63 (2006.01)
C12N 5/10 (2006.01)
C07K 16/08 (2006.01)
C12Q 1/68 (2006.01)
C12P 21/02 (2006.01)
C12N 15/861 (2006.01)
A61K 39/12 (2006.01)
A61P 31/20 (2006.01)

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 Q	1/68 (2006.01)	C 1 2 Q	1/68	A 4 C 0 8 4
C 1 2 P	21/08 (2006.01)	C 1 2 P	21/08	4 C 0 8 5
C 1 2 N	15/02 (2006.01)	C 1 2 N	15/00	C 4 C 0 8 6
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00	4 C 0 8 7
A 6 1 K	39/395 (2006.01)	A 6 1 K	39/395	N 4 H 0 4 5
A 6 1 K	35/761 (2015.01)	A 6 1 K	39/395	S
A 6 1 K	35/12 (2015.01)	A 6 1 K	39/395	D
A 6 1 K	31/7105 (2006.01)	A 6 1 K	35/761	
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	35/12	
A 6 1 P	31/20 (2006.01)	A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 P	37/04 (2006.01)	A 6 1 K	45/00	
A 6 1 K	31/7088 (2006.01)	A 6 1 P	31/20	
A 6 1 K	31/713 (2006.01)	A 6 1 P	37/04	
A 6 1 K	49/00 (2006.01)	A 6 1 K	31/7088	
A 6 1 K	51/00 (2006.01)	A 6 1 K	31/713	
G 0 1 N	33/53 (2006.01)	A 6 1 K	49/00	A
G 0 1 N	33/569 (2006.01)	A 6 1 K	49/02	A
G 0 1 N	33/50 (2006.01)	G 0 1 N	33/53	D
G 0 1 N	33/15 (2006.01)	G 0 1 N	33/569	L
A 6 1 K	38/00 (2006.01)	G 0 1 N	33/50	Z
		G 0 1 N	33/15	Z
		A 6 1 K	37/02	

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, H R, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, 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, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US

(71) 出願人 507347783

アメリカ合衆国

アメリカ合衆国 ジョージア州 アトランタ ビュフォード ハイウェイ (ケー79) 477
0

(74) 代理人 100102978

弁理士 清水 初志

(74) 代理人 100102118

弁理士 春名 雅夫

(74) 代理人 100160923

弁理士 山口 裕孝

(74) 代理人 100119507

弁理士 刑部 俊

(74) 代理人 100142929

弁理士 井上 隆一

(74) 代理人 100148699

弁理士 佐藤 利光

- (74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一
- (74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦
- (74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人
- (74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘
- (74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥
- (72)発明者 チウ チャールズ
アメリカ合衆国 カリフォルニア州 サンフランシスコ ベリー ストリート 185 ボックス
0134
- (72)発明者 パターソン ジーン エル.
アメリカ合衆国 テキサス州 サンアントニオ ピー . オー . ボックス 760549
- (72)発明者 リーランド メアリー ミシェル
アメリカ合衆国 テキサス州 サンアントニオ パーク ゲート ストリート 3814
- (72)発明者 キャリー ケネス ディー
アメリカ合衆国 テキサス州 サンアントニオ ノースウェスト ループ 410 7620
- (72)発明者 アードマン ディーン
アメリカ合衆国 ジョージア州 ディケーター ウィリビー プレイス 2156

F ターム(参考) 2G045 AA13 AA22 AA25 AA40 BA13 BB20 CA02 CA24 CA25 CA26
CB01 CB03 CB04 CB09 CB17 CB21 CB26 DA13 DA14 DA36
FA11 FA20 FB01 FB02 FB03 FB08 FB09 FB12 GC09 GC10
GC15 JA01 JA03
4B024 AA01 AA11 AA20 BA41 BA51 BA61 CA01 CA09 CA11 CA20
DA02 EA04 GA11 HA01 HA11 HA14
4B063 QA01 QA13 QA18 QQ02 QQ08 QQ42 QQ52 QR32 QR35 QR55
QR62 QS25 QS32 QX01
4B064 AG26 AG27 CA10 CA19 CC24 DA01 DA13
4B065 AA90X AA90Y AA95Y AB01 AC14 BA01 BA02 CA24 CA25 CA44
CA46
4C084 AA02 AA07 AA13 AA17 BA44 CA53 MA52 MA66 NA14 ZB091
ZB331
4C085 AA13 AA14 CC23 EE01 GG01 GG02 GG03 GG05 GG06 GG08
HH03 HH07 HH11 KA03 KA04 KA26 KB82
4C086 AA01 AA02 EA16 MA01 MA04 MA52 MA66 NA14 ZB09 ZB33
4C087 AA01 AA02 BB65 BC83 CA12 MA52 MA66 NA14 ZB09 ZB33
4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 DA76 EA20 EA50 FA74

专利名称(译)	腺病毒及其用途		
公开(公告)号	JP2016505267A	公开(公告)日	2016-02-25
申请号	JP2015552912	申请日	2014-01-15
[标]申请(专利权)人(译)	加利福尼亚大学董事会 得克萨斯生物医学研究所 美国政府		
申请(专利权)人(译)	加州大学董事会 得克萨斯生物医学研究所 美国		
[标]发明人	チウチャールズ パターソンジーンエル リーランドメアリーミシエル キャリーケネスディー アードマンディーン		
发明人	チウ チャールズ パターソン ジーン エル. リーランド メアリー ミシエル キャリー ケネス ディー アードマン ディーン		
IPC分类号	C12N15/09 C12N7/00 C12N5/16 C07K14/075 C07K16/08 C12Q1/68 C12P21/08 C12N15/02 A61K48/00 A61K39/395 A61K35/761 A61K35/12 A61K31/7105 A61K45/00 A61P31/20 A61P37/04 A61K31/7088 A61K31/713 A61K49/00 A61K51/00 G01N33/53 G01N33/569 G01N33/50 G01N33/15 A61K38/00		
CPC分类号	A61K2039/55566 A61P31/20 A61P37/04 C07K16/081 C07K2317/76 C12N7/00 C12N15/86 C12N2710/10321 C12N2710/10343 C12Q1/702 C12Q2563/131 C07K14/005 C07K14/075 C12N15/861 C12Q1/68 C12Q1/701 C12Q2600/156 G01N33/56983		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N7/00 C12N5/16 C07K14/075 C07K16/08 C12Q1/68.A C12P21/08 C12N15/00.C A61K48/00 A61K39/395.N A61K39/395.S A61K39/395.D A61K35/761 A61K35/12 A61K31/7105 A61K45/00 A61P31/20 A61P37/04 A61K31/7088 A61K31/713 A61K49/00.A A61K49/02.A G01N33/53.D G01N33/569.L G01N33/50.Z G01N33/15.Z A61K37/02		
F-TERM分类号	2G045/AA13 2G045/AA22 2G045/AA25 2G045/AA40 2G045/BA13 2G045/BB20 2G045/CA02 2G045/CA24 2G045/CA25 2G045/CA26 2G045/CB01 2G045/CB03 2G045/CB04 2G045/CB09 2G045/CB17 2G045/CB21 2G045/CB26 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FA11 2G045/FA20 2G045/FB01 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB08 2G045/FB09 2G045/FB12 2G045/GC09 2G045/GC10 2G045/GC15 2G045/JA01 2G045/JA03 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/AA20 4B024/BA41 4B024/BA51 4B024/BA61 4B024/CA01 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA01 4B024/HA11 4B024/HA14 4B063/QA01 4B063/QA13 4B063/QA18 4B063/QQ02 4B063/QQ08 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QS25 4B063/QS32 4B063/QX01 4B064/AG26 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA13 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AA95Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA44 4C084/CA53 4C084/MA52 4C084/MA66 4C084/NA14 4C084/ZB091 4C084/ZB331 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC23 4C085/EE01 4C085/GG01 4C085/GG02 4C085/GG03 4C085/GG05 4C085/GG06 4C085/GG08 4C085/HH03 4C085/HH07 4C085/HH11 4C085/KA03 4C085/KA04 4C085/KA26 4C085/KB82 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/MA52 4C086/MA66 4C086/NA14 4C086/ZB09 4C086/ZB33 4C087		

/AA01 4C087/AA02 4C087/BB65 4C087/BC83 4C087/CA12 4C087/MA52 4C087/MA66 4C087/NA14
4C087/ZB09 4C087/ZB33 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045
/DA75 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74

代理人(译)
清水初衷
井上隆一
佐藤俊光
小林智彦
正人大关
五十嵐弘

優先権
61/752876 2013-01-15 US

外部链接
Espacenet

摘要(译)

本文公开了狒狒腺病毒 (BaAdV) -2 / 4和BaAdV-3。公开了特异性结合 BaAdV-2/4和/或BaAdV-3的多核苷酸，多肽和抗体。公开了用于检测 BaAdV-2/4和BaAdV-3的方法。还公开了治疗，预防和诱导针对BaAdV-2/4和/或BaAdV-3的免疫应答的方法。还提供套件。

(21) 出願番号	特願2015-552912 (P2015-552912)	(71) 出願人	506115614 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ ティ オブ カリフォルニア アメリカ合衆国 カリフォルニア州 94 607 オークランド フランクリン ス トリート 1111 トゥエルフス フロ ア
(86) (22) 出願日	平成26年1月15日 (2014. 1. 15)	(71) 出願人	515192531 テキサス バイオメディカル リサーチ インスティテュート アメリカ合衆国 テキサス州 サンアント ニオ ノースウェスト ループ 410 7620
(85) 翻訳文提出日	平成27年8月28日 (2015. 8. 28)		
(86) 国際出願番号	PCT/US2014/011624		
(87) 国際公開番号	W02014/113436		
(87) 国際公開日	平成26年7月24日 (2014. 7. 24)		
(31) 優先権主張番号	61/752, 876		
(32) 優先日	平成25年1月15日 (2013. 1. 15)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く