

(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2005-529591

(P2005-529591A)

(43) 公表日 平成17年10月6日(2005.10.6)

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00	Z N A A 4 B O 2 4
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	4 B O 6 3
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395	D 4 B O 6 5
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 39/395	N 4 C O 8 4
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 45/00	4 C O 8 5
	審査請求 未請求 予備審査請求 有	(全 69 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2003-586284 (P2003-586284)	(71) 出願人	504372993
(86) (22) 出願日	平成15年4月4日(2003.4.4)		フィッシュル、リチャード、エー.
(85) 翻訳文提出日	平成16年12月6日(2004.12.6)		アメリカ合衆国、19072 ペンシルバ
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/010302		ニア州、ペン バレー、スプレーグ ロー
(87) 国際公開番号	W02003/089573		ド 575
(87) 国際公開日	平成15年10月30日(2003.10.30)	(71) 出願人	504373004
(31) 優先権主張番号	60/370,376		ヨダー、クリスティン、イー.
(32) 優先日	平成14年4月5日(2002.4.5)		アメリカ合衆国、19072 ペンシルバ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		ニア州、ペン バレー、スプレーグ ロー
			ド 575
		(74) 代理人	100104411
			弁理士 矢口 太郎
		(74) 代理人	100104215
			弁理士 大森 純一
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 DNA修復経路及び／若しくはレトロウイルス感染を調節する化合物を同定する方法、その化合物、及びそれらの使用。

(57) 【要約】

【課題】

【解決手段】 レトロウイルスは、増殖性感染を実行するためにそれらのゲノムのDNAコピー(cDNA)を宿主ゲノムへ挿入する必要のある、RNAウイルスである。レトロウイルスcDNA組込みに対抗して防御する1つの宿主細胞性経路は、宿主DNA修復経路の高度に保存されたタンパク質を含む。これらのタンパク質は抗レトロウイルス薬剤に対する新規標的を表している。ここで示される発明は、とりわけ、DNA修復経路を誘導する及び／若しくは宿主ゲノムへのレトロウイルスcDNA組込みを阻害する化合物を同定する方法、それによって同定された化合物、そのような化合物の使用、DNA修復経路を誘導する、レトロウイルスcDNA組込みを阻害する、及びレトロウイルス感染を阻害する化合物を同定し、その能率を検定するキットを提供する。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

細胞の DNA 修復経路を誘導する化合物をスクリーニングする方法であって、

a) テスト化合物存在下で DNA 修復経路の少なくとも 1 つの成分を非環状化レトロウイルス cDNA と接触させる工程と、

b) 前記テスト化合物非存在下で DNA 修復経路の前記少なくとも 1 つの成分を非環状化レトロウイルス cDNA と接触させる工程と、

c) 前記テスト化合物非存在下のレトロウイルス cDNA 環状化の量と比較して、レトロウイルス cDNA 環状化の量が前記テスト化合物存在下で増加したかどうかを決定する工程と、

を有する方法。

10

【請求項 2】

請求項 1 の方法において、

テスト化合物と接触した前記成分は、XPA と、XPB と、XPC と、XPE と、XPF と、XPG と、RAD50 と、RAD52 と、RAD54 と、RAD57 と、RAD59 と、MSH2 と、CDC9 と、hRAD51 と、hRAD51B と、hRAD51C と、hRAD51D と、hXRCC2 と、hXRCC3 と、XRCC4 と、リガーゼ IV と、hMRE11 と、XRS2 (NBS1) と、DNA-PK と、Ku70/80 ヘテロダイマー、及びそれらの相同体から成る群から選択されたポリペプチドをコード化している核酸分子である。

20

【請求項 3】

請求項 2 の方法において、

前記核酸分子は XPB 若しくは XPD をコード化しているものである。

【請求項 4】

請求項 3 の方法において、

前記 XPB は配列 ID : 2 のアミノ酸配列を有しており、

前記 XPD は配列 ID : 4 のアミノ酸配列を有しているものである。

【請求項 5】

請求項 3 の方法において、

XPB をコード化している前記核酸分子は配列 ID : 1 のヌクレオチド配列を有しており、

30

XPD をコード化している前記核酸分子は配列 ID : 3 のヌクレオチド配列を有しているものである。

【請求項 6】

請求項 1 の方法において、

テスト化合物と接触した前記成分は、XPA と、XPB と、XPC と、XPD と、XPE と、XPF と、XPG と、RAD50 と、RAD52 と、RAD54 と、RAD57 と、RAD59 と、MSH2 と、CDC9 と、hRAD51 と、hRAD51B と、hRAD51C と、hRAD51D と、hXRCC2 と、hXRCC3 と、XRCC4 と、リガーゼ IV と、hMRE11 と、XRS2 (NBS1) と、DNA-PK と、Ku70/80 ヘテロダイマー、及びそれらの相同体から成る群から選択されたポリペプチドである。

40

【請求項 7】

請求項 6 の方法において、

前記ポリペプチドは XPB 若しくは XPD である。

【請求項 8】

請求項 7 の方法において、

前記 XPB は配列 ID : 2 のアミノ酸配列を有しており、

前記 XPD は配列 ID : 4 のアミノ酸配列を有しているものである。

【請求項 9】

請求項 1 の方法において、

50

前記テスト化合物非存在下での前記DNA修復経路の少なくとも1つの成分は、前記成分の野生型生物活性と比較して減少した生物活性を示すものである。

【請求項10】

請求項9の方法において、

減少した生物活性を示している前記成分は、XPAと、XPBと、XPCと、XPDと、XPEと、XPFと、XPGと、RAD50と、RAD52と、RAD54と、RAD57と、RAD59と、MSH2と、CDC9と、hRAD51と、hRAD51Bと、hRAD51Cと、hRAD51Dと、hXRCC2と、hXRCC3と、XRCC4と、リガーゼIVと、hMRE11と、XRS2(NBS1)と、DNA-PKと、Ku70/80ヘテロダイマー、及びそれらの相同体から成る群から選択されたポリペプチドをコード化する核酸分子である。 10

【請求項11】

請求項10の方法において、

前記核酸分子はXPB若しくはXPDをコード化するものである。

【請求項12】

請求項11の方法において、

前記XPBは配列ID:2のアミノ酸配列を有しており、

前記XPDは配列ID:4のアミノ酸配列を有しているものである。

【請求項13】

請求項11の方法において、 20

XPBをコード化している前記核酸分子は配列ID:1のヌクレオチド配列を有しており、

XPDをコード化している前記核酸分子は配列ID:3のヌクレオチド配列を有しているものである。

【請求項14】

請求項9の方法において、

減少した生物活性を示している前記成分はXPAと、XPBと、XPCと、XPDと、XPEと、XPFと、XPGと、RAD50と、RAD52と、RAD54と、RAD57と、RAD59と、MSH2と、CDC9と、hRAD51と、hRAD51Bと、hRAD51Cと、hRAD51Dと、hXRCC2と、hXRCC3と、XRCC4と、リガーゼIVと、hMRE11と、XRS2(NBS1)と、DNA-PKと、Ku70/80ヘテロダイマー、及びそれらの相同体から成る群から選択されたポリペプチドである。 30

【請求項15】

請求項14の方法において、

前記ポリペプチドはXPB若しくはXPDである。

【請求項16】

請求項15の方法において、

前記XPBは配列ID:2のアミノ酸配列を有しており、

前記XPDは配列ID:4のアミノ酸配列を有しているものである。 40

【請求項17】

請求項1の方法において、

前記テスト化合物はDNA修復経路の少なくとも1つの成分の発現を直接的に若しくは間接的に上方制御するものである。

【請求項18】

請求項17の方法において、

DNA修復経路の前記上方制御された成分は、XPAと、XPBと、XPCと、XPDと、XPEと、XPFと、XPGと、RAD50と、RAD52と、RAD54と、RAD57と、RAD59と、MSH2と、CDC9と、hRAD51と、hRAD51Bと、hRAD51Cと、hRAD51Dと、hXRCC2と、hXRCC3と、XRCC4 50

と、リガーゼⅠⅤと、hMRE11と、XRS2(NBS1)と、DNA-PKと、Ku70/80ヘテロダイマー、及びそれらの相同体から成る群から選択されたポリペプチドをコード化する核酸分子である。

【請求項19】

請求項18の方法において、

前記核酸分子はXPB若しくはXPDをコード化するものである。

【請求項20】

請求項19の方法において、

前記XPBは配列ID:2のアミノ酸配列を有しており、

前記XPDは配列ID:4のアミノ酸配列を有しているものである。

10

【請求項21】

請求項19の方法において、

XPBをコード化している前記核酸分子は配列ID:1のヌクレオチド配列を有しており、

XPDをコード化している前記核酸分子は配列ID:3のヌクレオチド配列を有しているものである。

【請求項22】

請求項1の方法において、

前記テスト化合物はDNA修復経路の少なくとも1つの成分の生物活性を直接的に若しくは間接的に上方制御するものである。

20

【請求項23】

請求項22の方法において、

DNA修復経路の前記上方制御された成分は、XPAと、XPBと、XPCと、XPDと、XPEと、XPFと、XPGと、RAD50と、RAD52と、RAD54と、RAD57と、RAD59と、MSH2と、CDC9と、hRAD51と、hRAD51Bと、hRAD51Cと、hRAD51Dと、hXRCC2と、hXRCC3と、XRCC4と、リガーゼⅠⅤと、hMRE11と、XRS2(NBS1)と、DNA-PKと、Ku70/80ヘテロダイマー、及びそれらの相同体から成る群から選択されたポリペプチドである。

【請求項24】

30

請求項22の方法において、

前記ポリペプチドはXPB若しくはXPDである。

【請求項25】

請求項24の方法において、

前記XPBは配列ID:2のアミノ酸配列を有しており、

前記XPDは配列ID:4のアミノ酸配列を有しているものである。

【請求項26】

請求項1の方法において、

前記レトロウイルスcDNAは少なくとも1つのマーカー遺伝子と少なくとも1つのプロモーターとを有するものであり、

40

前記マーカー遺伝子はレトロウイルスcDNA環状化上の前記プロモーターから発現されるものである。

【請求項27】

請求項26の方法において、

前記レトロウイルスcDNA環状化の増加は、前記テスト化合物非存在下での前記マーカー遺伝子の発現レベルと比較して、前記テスト化合物存在下での前記マーカー遺伝子の発現レベルの増加によって検出されるものである。

【請求項28】

請求項26の方法において、

前記レトロウイルスcDNA環状化の増加は、前記テスト化合物非存在下での前記マ

50

カー遺伝子から発現されたポリペプチドの活性レベルと比較して、前記テスト化合物存在下での前記マーカージ遺伝子から発現されたポリペプチドの活性レベルの増加によって検出されるものである。

【請求項 29】

請求項 27 の方法において、

前記マーカージ遺伝子は、緑色蛍光タンパク質 (GFP)、赤色蛍光タンパク質 (DsRed)、アルカリホスファターゼ (AP)、βラクタマーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (CAT)、アデノシンデアミナーゼ (ADA)、アミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ (neor、G418r)、ジヒドロ葉酸還元酵素 (DHFR)、ハイグロマイシンBホスホトランスフェラーゼ (HPH)、チミジンキナーゼ (TK)、lacZ (βガラクトシダーゼをコード化している)、ルシフェラーゼ (luc)、若しくはキサンチンゲアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (XGPR T) をコード化しているものである。

10

【請求項 30】

請求項 26 の方法において、

前記プロモーターは、アデノウイルスプロモーター、SV40プロモーター、パルボウイルスプロモーター、ワクシニアウイルスプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、MSH2プロモーター、若しくは哺乳動物ゲノムDNAプロモーターである。

【請求項 31】

請求項 26 の方法において、

前記プロモーターは、3-ホスホグリセリン酸キナーゼ遺伝子プロモーター、アルコールデヒドロゲナーゼ-2プロモーター、若しくはメタロチオニンプロモーターである。

20

【請求項 32】

請求項 1 の方法において、

工程 (a) 及び (b) は細胞中若しくは細胞抽出物中で生じるものである。

【請求項 33】

請求項 32 の方法において、

前記細胞は哺乳動物細胞若しくは酵母細胞である。

【請求項 34】

請求項 1 の方法において、

前記化合物は細胞のゲノムへのレトロウイルス cDNA 組込みを阻害するものである。

30

【請求項 35】

請求項 34 の方法において、

前記化合物はレトロウイルス感染を予防するものである。

【請求項 36】

請求項 1 の方法によって同定された、細胞の DNA 修復経路を誘導する化合物。

【請求項 37】

レトロウイルス感染を治療するための薬剤組成物であって、

前記薬剤組成物は、治療的に有効な量で請求項 1 の方法によって同定された少なくとも 1 つの化合物若しくはそれらの薬剤的に許容可能な塩類と、薬剤的に許容可能な賦形剤とを有するものである。

40

【請求項 38】

細胞の DNA 修復経路を誘導する方法であって、

前記方法は、請求項 1 の方法によって同定された少なくとも 1 つの化合物を前記細胞へ投与する工程を有するものである。

【請求項 39】

請求項 38 の方法において、

前記化合物は、前記細胞のゲノムへのレトロウイルス cDNA 組込みを阻害するものである。

【請求項 40】

50

患者のレトロウイルス感染を治療するための方法であって、

前記方法は請求項 1 の方法によって同定された少なくとも 1 つの化合物を前記患者へ投与する工程を有するものである。

【請求項 4 1】

請求項 4 0 の方法において、前記患者は哺乳動物である。

【請求項 4 2】

請求項 4 1 の方法において、

前記哺乳動物は、鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、若しくはヒトである。

【請求項 4 3】

請求項 4 2 の方法において、前記哺乳動物はヒトである。

【請求項 4 4】

請求項 4 0 の方法において、

前記レトロウイルス感染は、後天性免疫不全症候群 (AIDS)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV - 1) 感染、癌、ヒト成人 T 細胞白血病、リンパ腫、ネコ免疫不全ウイルス (FIV)、I 型糖尿病、及び多発性硬化症から成る群から選択された少なくとも 1 つの状態に関連するものである。

【請求項 4 5】

請求項 4 4 の方法において、

前記レトロウイルス感染は HIV 感染若しくは AIDS である。

【請求項 4 6】

DNA 修復経路を誘導する化合物を同定するためのキットであって、

前記キットは、レトロウイルス cDNA 環状化上で発現されたマーカー遺伝子を持つレトロウイルス若しくはレトロウイルスベクターを有するものである。

【請求項 4 7】

請求項 4 6 のキットであって、

前記キットはさらに少なくとも 1 つの従来のキット構成成分を有するものである。

【請求項 4 8】

レトロウイルス感染を治療するための薬剤組成物の製造における請求項 1 の方法によって同定された化合物の使用。

【請求項 4 9】

宿主ゲノムへのレトロウイルス cDNA 組込みを阻害する化合物を同定する方法であって、

(a) テスト化合物存在下で第 1 の細胞若しくは細胞抽出物を非環状化レトロウイルス cDNA と接触させる工程と、

(b) 前記テスト化合物非存在下で第 2 の細胞若しくは細胞抽出物を非環状化レトロウイルス cDNA と接触させる工程であって、前記第 1 及び前記第 2 の細胞若しくは細胞抽出物が同じ細胞の種類である、接触させる工程と、

(c) 前記テスト化合物非存在下でのレトロウイルス cDNA 環状化の量と比較して、前記テスト化合物存在下でのレトロウイルス cDNA 環状化の量が増加されているかどうかを決定する工程と、

を有する方法。

【請求項 5 0】

請求項 4 9 の方法において、

前記レトロウイルス cDNA は少なくとも 1 つのマーカー遺伝子と少なくとも 1 つのプロモーターとを有しており、

前記マーカー遺伝子はレトロウイルス cDNA 環状化上のプロモーターから発現されるものである。

【請求項 5 1】

請求項 5 0 の方法において、

10

20

30

40

50

前記レトロウイルス c D N A 環状化の増加は、前記テスト化合物非存在下での前記マーカー遺伝子の発現レベルと比較して、前記テスト化合物存在下での前記マーカー遺伝子の発現レベルの増加によって決定されるものである。

【請求項 5 2】

請求項 5 0 の方法において、

前記レトロウイルス c D N A 環状化の増加は、前記テスト化合物非存在下での前記マーカー遺伝子から発現されたポリペプチドの活性レベルと比較して、前記テスト化合物存在下での前記マーカー遺伝子から発現されたポリペプチドの活性レベルの増加によって検出されるものである。

【請求項 5 3】

10

請求項 5 0 の方法において、

前記マーカー遺伝子は、緑色蛍光タンパク質 (G F P)、赤色蛍光タンパク質 (D s R e d)、アルカリホスファターゼ (A P)、βラクタマーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (C A T)、アデノシンデアミナーゼ (A D A)、アミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ (n e o r、G 4 1 8 r)、ジヒドロ葉酸還元酵素 (D H F R)、ハイグロマイシン B ホスホトランスフェラーゼ (H P H)、チミジンキナーゼ (T K)、l a c Z (β ガラクトシダーゼをコード化している)、ルシフェラーゼ (l u c)、若しくはキサンチンゲアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (X G P R T) をコード化しているものである。

【請求項 5 4】

20

請求項 5 0 の方法において、

前記プロモーターは、アデノウイルスプロモーター、S V 4 0 プロモーター、パルボウイルスプロモーター、ワクシニアウイルスプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、M S H 2 プロモーター、若しくは哺乳動物ゲノム D N A プロモーターである。

【請求項 5 5】

請求項 5 0 の方法において、

前記プロモーターは、3 - ホスホグリセリン酸キナーゼ遺伝子プロモーター、アルコールデヒドロゲナーゼ - 2 プロモーター、若しくはメタロチオニンプロモーターである。

【請求項 5 6】

請求項 4 9 の方法において、

30

前記細胞種類は哺乳動物若しくは酵母である。

【請求項 5 7】

請求項 4 9 の方法によって同定された宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みを阻害する化合物。

【請求項 5 8】

レトロウイルス感染を治療するための薬剤組成物であって、

前記薬剤組成物は、治療的に有効な量の請求項 4 9 の方法によって同定された少なくとも 1 つの化合物若しくはそれらの薬剤的に許容可能な塩類と、薬剤的に許容可能な賦形剤とを有するものである。

【請求項 5 9】

40

請求項 4 9 の方法によって同定された化合物を前記細胞に投与することによる、宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みを阻害する方法。

【請求項 6 0】

患者のレトロウイルス感染を治療する方法であって、

前記方法は、請求項 4 9 の方法によって同定された少なくとも 1 つの化合物を前記患者に投与する工程を有するものである。

【請求項 6 1】

請求項 6 0 の方法において、前記患者は哺乳動物である。

【請求項 6 2】

請求項 6 1 の方法において、

50

前記哺乳動物は、鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、若しくはヒトである。

【請求項 6 3】

請求項 6 2 の方法において、前記哺乳動物はヒトである。

【請求項 6 4】

請求項 6 0 の方法において、

前記レトロウイルス感染は、後天性免疫不全症候群 (A I D S)、ヒト免疫不全ウイルス (H I V - 1) 感染、癌、ヒト成人 T 細胞白血病、リンパ腫、ネコ免疫不全ウイルス (F I V)、I 型糖尿病、及び多発性硬化症から成る群から選択された少なくとも 1 つの状態に関連するものである。

10

【請求項 6 5】

請求項 6 4 の方法において、

前記レトロウイルス感染は H I V 感染若しくは A I D S である。

【請求項 6 6】

レトロウイルス感染を治療するための薬剤組成物の製造における請求項 4 9 の方法によって同定された化合物の使用。

【請求項 6 7】

宿主ゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みを阻害する化合物を同定するためのキットであって、

前記キットは、レトロウイルス c D N A 環状化上で発現されたマーカー遺伝子を持つレトロウイルス若しくはレトロウイルスベクターを有するものである。

20

【請求項 6 8】

請求項 6 7 のキットであって、

前記キットはさらに少なくとも 1 つの従来のキット構成成分を有するものである。

【請求項 6 9】

レトロウイルスベクターであって、

前記レトロウイルスベクターは、前記核酸分子の環状化上で発現されたプロモーター及びマーカー遺伝子を持つ核酸分子を有するものである。

【請求項 7 0】

請求項 6 9 のレトロウイルスベクターにおいて、

30

前記マーカー遺伝子は、緑色蛍光タンパク質 (G F P)、赤色蛍光タンパク質 (D s R e d)、アルカリホスファターゼ (A P)、βラクタマーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (C A T)、アデノシンデアミナーゼ (A D A)、アミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ (n e o r、G 4 1 8 r)、ジヒドロ葉酸還元酵素 (D H F R)、ハイグロマイシン B ホスホトランスフェラーゼ (H P H)、チミジンキナーゼ (T K)、l a c Z (βガラクトシダーゼをコード化している)、ルシフェラーゼ (l u c)、若しくはキサンチンゲアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (X G P R T) をコード化しているものである。

【請求項 7 1】

請求項 6 9 のレトロウイルスベクターにおいて、

40

前記プロモーターは、アデノウイルスプロモーター、S V 4 0 プロモーター、パルボウイルスプロモーター、ワクシニアウイルスプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、M S H 2 プロモーター、若しくは哺乳動物ゲノム D N A プロモーターである。

【請求項 7 2】

請求項 6 9 のレトロウイルスベクターにおいて、

前記プロモーターは、3 - ホスホグリセリン酸キナーゼ遺伝子プロモーター、アルコールデヒドロゲナーゼ - 2 プロモーター、若しくはメタロチオニンプロモーターである。

【請求項 7 3】

請求項 6 9 のレトロウイルスベクターであって、

前記ベクターは、配列 I D : 5 若しくは配列 I D : 6 のヌクレオチド配列を有するもの

50

である。

【請求項 74】

細胞の DNA 修復経路を誘導する化合物をスクリーニングする方法であって、前記方法は、

(a) テスト化合物存在下で DNA 修復経路の少なくとも 1 つの成分を非環状化レトロウイルス cDNA と接触させる工程と、

(b) レトロウイルス cDNA 環状化の量を決定する工程とを有するものである。

【請求項 75】

宿主ゲノムへのレトロウイルス cDNA 組込みを阻害する化合物を同定する方法であって、

(a) テスト化合物存在下で細胞若しくは細胞抽出物を非環状化レトロウイルス cDNA と接触させる工程と、

(b) レトロウイルス cDNA 環状化の量を決定する工程とを有するものである。

【請求項 76】

細胞の DNA 修復経路を阻害する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) テスト化合物存在下で DNA 修復経路の少なくとも 1 つの成分を非環状化レトロウイルス cDNA と接触させる工程と、

(b) 前記テスト化合物非存在下で前記 DNA 修復経路の少なくとも 1 つの成分を非環状化レトロウイルス cDNA と接触させる工程と、

(c) 前記テスト化合物非存在下でのレトロウイルス cDNA 環状化の量と比較して、前記テスト化合物存在下でのレトロウイルス cDNA 環状化の量が減少されているかどうかを決定する工程と

を有する方法。

【請求項 77】

請求項 76 の方法において、

テスト化合物と接触した前記成分は、XPA と、XPB と、XPC と、XPD と、XPE と、XPF と、XPG と、RAD50 と、RAD52 と、RAD54 と、RAD57 と、RAD59 と、MSH2 と、CDC9 と、hRAD51 と、hRAD51B と、hRAD51C と、hRAD51D と、hXRCC2 と、hXRCC3 と、XRCC4 と、リガーゼ IV と、hMRE11 と、XRS2 (NBS1) と、DNA-PK と、Ku70/80 ヘテロダイマー、及びそれらの相同体から成る群から選択されたポリペプチドをコード化している核酸分子である。

【請求項 78】

請求項 77 の方法において、

前記核酸分子は XPB 若しくは XPD をコード化しているものである。

【請求項 79】

請求項 78 の方法において、

前記 XPB は配列 ID : 2 のアミノ酸配列を有しており、

前記 XPD は配列 ID : 4 のアミノ酸配列を有しているものである。

【請求項 80】

請求項 78 の方法において、

XPB をコード化している前記核酸分子は配列 ID : 1 のヌクレオチド配列を有しており、

XPD をコード化している前記核酸分子は配列 ID : 3 のヌクレオチド配列を有しているものである。

【請求項 81】

請求項 76 の方法において、

テスト化合物と接触した前記成分は、XPA と、XPB と、XPC と、XPD と、XPE と、XPF と、XPG と、RAD50 と、RAD52 と、RAD54 と、RAD57 と、RAD59 と、MSH2 と、CDC9 と、hRAD51 と、hRAD51B と、hRA

10

20

30

40

50

D 5 1 C と、h R A D 5 1 D と、h X R C C 2 と、h X R C C 3 と、X R C C 4 と、リガーゼ I V と、h M R E 1 1 と、X R S 2 (N B S 1) と、D N A - P K と、K u 7 0 / 8 0 ヘテロダイマー、及びそれらの相同体から成る群から選択されたポリペプチドである。

【請求項 8 2】

請求項 8 1 の方法において、前記ポリペプチドは X P B 若しくは X P D である。

【請求項 8 3】

請求項 8 2 の方法において、

前記 X P B は配列 I D : 2 のアミノ酸配列を有しており、

前記 X P D は配列 I D : 4 のアミノ酸配列を有しているものである。

【請求項 8 4】

請求項 7 6 の方法において、

前記テスト化合物は、D N A 修復経路の少なくとも 1 つの成分の発現を直接的に若しくは間接的に下方制御するものである。

【請求項 8 5】

請求項 8 4 の方法において、

D N A 修復経路の前記下方制御された成分は、X P A と、X P B と、X P C と、X P D と、X P E と、X P F と、X P G と、R A D 5 0 と、R A D 5 2 と、R A D 5 4 と、R A D 5 7 と、R A D 5 9 と、M S H 2 と、C D C 9 と、h R A D 5 1 と、h R A D 5 1 B と、h R A D 5 1 C と、h R A D 5 1 D と、h X R C C 2 と、h X R C C 3 と、X R C C 4 と、リガーゼ I V と、h M R E 1 1 と、X R S 2 (N B S 1) と、D N A - P K と、K u 7 0 / 8 0 ヘテロダイマー、及びそれらの相同体から成る群から選択されたポリペプチドをコード化する核酸分子である。

【請求項 8 6】

請求項 8 5 の方法において、

前記核酸分子は X P B 若しくは X P D をコード化しているものである。

【請求項 8 7】

請求項 8 6 の方法において、

前記 X P B は配列 I D : 2 のアミノ酸配列を有しており、

前記 X P D は配列 I D : 4 のアミノ酸配列を有しているものである。

【請求項 8 8】

請求項 8 6 の方法において、

X P B をコード化している前記核酸分子は配列 I D : 1 のヌクレオチド配列を有しており、

X P D をコード化している前記核酸分子は配列 I D : 3 のヌクレオチド配列を有しているものである。

【請求項 8 9】

請求項 7 6 の方法において、

前記テスト化合物は D N A 修復経路の少なくとも 1 つの成分の生物活性を直接的に若しくは間接的に下方制御するものである。

【請求項 9 0】

請求項 8 9 の方法において、

D N A 修復経路の前記下方制御された成分は、X P A と、X P B と、X P C と、X P D と、X P E と、X P F と、X P G と、R A D 5 0 と、R A D 5 2 と、R A D 5 4 と、R A D 5 7 と、R A D 5 9 と、M S H 2 と、C D C 9 と、h R A D 5 1 と、h R A D 5 1 B と、h R A D 5 1 C と、h R A D 5 1 D と、h X R C C 2 と、h X R C C 3 と、X R C C 4 と、リガーゼ I V と、h M R E 1 1 と、X R S 2 (N B S 1) と、D N A - P K と、K u 7 0 / 8 0 ヘテロダイマー、及びそれらの相同体から成る群から選択されたポリペプチドである。

【請求項 9 1】

請求項 8 9 の方法において、前記ポリペプチドは X P B 若しくは X P D である。

【請求項 9 2】

請求項 9 1 の方法において、

前記 X P B は配列 I D : 2 のアミノ酸配列を有しており、

前記 X P D は配列 I D : 4 のアミノ酸配列を有しているものである。

【請求項 9 3】

請求項 7 6 の方法において、

前記レトロウイルス c D N A は少なくとも 1 つのマーカー遺伝子と少なくとも 1 つのプロモーターとを有しており、

前記マーカー遺伝子はレトロウイルス c D N A 環状化上のプロモーターから発現されるものである。

10

【請求項 9 4】

請求項 9 3 の方法において、

前記レトロウイルス c D N A 環状化の減少は、前記テスト化合物非存在下での前記マーカー遺伝子の発現レベルと比較して、前記テスト化合物存在下での前記マーカー遺伝子の発現レベルの減少によって決定されるものである。

【請求項 9 5】

請求項 9 3 の方法において、

前記レトロウイルス c D N A 環状化の減少は、前記テスト化合物非存在下での前記マーカー遺伝子から発現されたポリペプチドの活性レベルと比較して、前記テスト化合物存在下での前記マーカー遺伝子から発現されたポリペプチドの活性レベルの減少によって検出されるものである。

20

【請求項 9 6】

請求項 9 3 の方法において、

前記マーカー遺伝子は、緑色蛍光タンパク質 (G F P)、赤色蛍光タンパク質 (D s R e d)、アルカリホスファターゼ (A P)、βラクタマーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (C A T)、アデノシンデアミナーゼ (A D A)、アミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ (n e o r 、 G 4 1 8 r)、ジヒドロ葉酸還元酵素 (D H F R)、ハイグロマイシン B ホスホトランスフェラーゼ (H P H)、チミジンキナーゼ (T K)、l a c Z (β ガラクトシダーゼをコード化している)、ルシフェラーゼ (l u c)、若しくはキサンチンゲアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (X G P R T) をコード化しているものである。

30

【請求項 9 7】

請求項 9 3 の方法において、

前記プロモーターは、アデノウイルスプロモーター、S V 4 0 プロモーター、パルボウイルスプロモーター、ワクシニアウイルスプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、M S H 2 プロモーター、若しくは哺乳動物ゲノム D N A プロモーターである。

【請求項 9 8】

請求項 9 3 の方法において、

前記プロモーターは、3 - ホスホグリセリン酸キナーゼ遺伝子プロモーター、アルコールデヒドロゲナーゼ - 2 プロモーター、若しくはメタロチオニンプロモーターである。

40

【請求項 9 9】

請求項 7 6 の方法において、

工程 (a) 及び (b) は細胞中若しくは細胞抽出物中で生じるものである。

【請求項 1 0 0】

請求項 9 9 の方法において、

前記細胞は哺乳動物細胞若しくは酵母細胞である。

【請求項 1 0 1】

請求項 7 6 の方法において、

前記化合物は細胞のゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みを増加するものである。

【請求項 1 0 2】

50

請求項 76 の方法によって同定された細胞の DNA 修復経路を阻害する化合物。

【請求項 103】

遺伝子治療における遺伝子運搬の効率を増加するための薬剤組成物であって、

前記薬剤組成物は、治療的に有効な量の請求項 76 の方法によって同定された少なくとも 1 つの化合物若しくはそれらの薬剤的に許容可能な塩類と、薬剤的に許容可能な賦形剤とを有するものである。

【請求項 104】

細胞の DNA 修復経路を阻害する方法であって、

前記方法は、請求項 76 の方法によって同定された少なくとも 1 つの化合物を前記細胞に投与する工程を有するものである。

10

【請求項 105】

請求項 104 の方法において、

前記化合物は前記細胞のゲノムへのレトロウイルス cDNA 組込みを増加するものである。

【請求項 106】

患者の遺伝子治療における遺伝子運搬の効率を改善する方法であって、

前記方法は、請求項 76 の方法によって同定された少なくとも 1 つの化合物を前記患者へ投与する工程を有するものである。

【請求項 107】

請求項 106 の方法において、前記患者は哺乳動物である。

20

【請求項 108】

請求項 107 の方法において、

前記哺乳動物は、鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、若しくはヒトである。

【請求項 109】

請求項 108 の方法において、前記哺乳動物はヒトである。

【請求項 110】

DNA 修復経路を阻害する化合物を同定するためのキットであって、

前記キットは、レトロウイルス cDNA 環状化上で発現されたマーカー遺伝子を持つレトロウイルス若しくはレトロウイルスベクターを有するものである。

30

【請求項 111】

請求項 110 のキットであって、

前記キットはさらに少なくとも 1 つの従来のキット構成成分を有するものである。

【請求項 112】

遺伝子治療における遺伝子運搬の効率を増加するための薬剤組成物の製造における請求項 76 の方法によって同定された化合物の使用。

【請求項 113】

宿主ゲノムへのレトロウイルス cDNA 組込みを増加する化合物を同定する方法であって、

(a) テスト化合物存在下で第 1 の細胞若しくは細胞抽出物を非環状化レトロウイルス cDNA と接触させる工程と、

40

(b) 前記テスト化合物非存在下で第 2 の細胞若しくは細胞抽出物を非環状化レトロウイルス cDNA と接触させる工程であって、前記第 1 及び前記第 2 の細胞若しくは細胞抽出物が同じ細胞の種類である、接触させる工程と、

(c) 前記テスト化合物非存在下でのレトロウイルス cDNA 環状化の量と比較して、前記テスト化合物存在下でのレトロウイルス cDNA 環状化の量が増加されているかどうかを決定する工程と

を有する方法。

【請求項 114】

請求項 113 の方法において、

50

前記レトロウイルス c D N A は少なくとも 1 つのマーカ－遺伝子と少なくとも 1 つのプロモーターとを有しており、

前記マーカ－遺伝子はレトロウイルス c D N A 環状化上のプロモーターから発現されるものである。

【請求項 1 1 5】

請求項 1 1 3 の方法において、

前記レトロウイルス c D N A 環状化の減少は、前記テスト化合物非存在下での前記マーカ－遺伝子の発現レベルと比較して、前記テスト化合物存在下での前記マーカ－遺伝子の発現レベルの減少によって決定されるものである。

【請求項 1 1 6】

請求項 1 1 4 の方法において、

前記レトロウイルス c D N A 環状化の減少は、前記テスト化合物非存在下での前記マーカ－遺伝子から発現されたポリペプチドの活性レベルと比較して、前記テスト化合物存在下での前記マーカ－遺伝子から発現されたポリペプチドの活性レベルの減少によって検出されるものである。

【請求項 1 1 7】

請求項 1 1 4 の方法において、

前記マーカ－遺伝子は、緑色蛍光タンパク質 (G F P)、赤色蛍光タンパク質 (D s R e d)、アルカリホスファターゼ (A P)、βラクターマーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (C A T)、アデノシンデアミナーゼ (A D A)、アミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ (n e o r、G 4 1 8 r)、ジヒドロ葉酸還元酵素 (D H F R)、ハイグロマイシン B ホスホトランスフェラーゼ (H P H)、チミジンキナーゼ (T K)、l a c Z (β ガラクトシダーゼをコード化している)、ルシフェラーゼ (l u c)、若しくはキサンチンゲアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (X G P R T) をコード化しているものである。

【請求項 1 1 8】

請求項 1 1 4 の方法において、

前記プロモーターは、アデノウイルスプロモーター、S V 4 0 プロモーター、パルボウイルスプロモーター、ワクシニアウイルスプロモーター、サイトメガロウイルスプロモーター、M S H 2 プロモーター、若しくは哺乳動物ゲノム D N A プロモーターである。

【請求項 1 1 9】

請求項 1 1 4 の方法において、

前記プロモーターは、3 - ホスホグリセリン酸キナーゼ遺伝子プロモーター、アルコールデヒドロゲナーゼ - 2 プロモーター、若しくはメタロチオニンプロモーターである。

【請求項 1 2 0】

請求項 1 1 3 の方法において、

前記細胞種類は哺乳動物若しくは酵母である。

【請求項 1 2 1】

請求項 1 1 3 の方法によって同定された、宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みを増加する化合物。

【請求項 1 2 2】

遺伝子治療における遺伝子運搬の効率を増加するための薬剤組成物であって、

前記薬剤組成物は、治療的に有効な量の請求項 1 1 3 の方法によって同定された少なくとも 1 つの化合物若しくはそれらの薬剤的に許容可能な塩類と、薬剤的に許容可能な賦形剤とを有するものである。

【請求項 1 2 3】

請求項 1 1 3 の方法によって同定された化合物を前記細胞へ投与することによって宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みを増加する方法。

【請求項 1 2 4】

患者の遺伝子治療における遺伝子運搬の効率を改善する方法であって、

10

20

30

40

50

前記方法は、請求項 1 1 3 の方法によって同定された少なくとも 1 つの化合物を前記患者へ投与する工程を有するものである。

【請求項 1 2 5】

請求項 1 2 4 の方法において、前記患者は哺乳動物である。

【請求項 1 2 6】

請求項 1 2 5 の方法において、

前記哺乳動物は、鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、若しくはヒトである。

【請求項 1 2 7】

請求項 1 2 6 の方法において、前記哺乳動物はヒトである。

10

【請求項 1 2 8】

遺伝子治療における遺伝子運搬の効率を増加するための薬剤組成物の製造における請求項 1 1 3 の方法によって同定された化合物の使用。

【請求項 1 2 9】

宿主ゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みを増加する化合物を同定するためのキットであって、

前記キットは、レトロウイルス c D N A 環状化上で発現されたマーカー遺伝子を持つレトロウイルス若しくはレトロウイルスベクターを有するものである。

【請求項 1 3 0】

請求項 1 2 9 のキットであって、

20

前記キットはさらに少なくとも 1 つの従来のキット構成成分を有するものである。

【請求項 1 3 1】

細胞の D N A 修復経路を阻害する化合物をスクリーニングする方法であって、

(a) テスト化合物存在下で D N A 修復経路の少なくとも 1 つの成分を非環状化レトロウイルス c D N A と接触させる工程と、

(b) レトロウイルス c D N A 環状化の量を決定する工程とを有するものである。

【請求項 1 3 0】

宿主ゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みを増加する化合物を同定する方法であって、

(a) テスト化合物存在下で細胞若しくは細胞抽出物を非環状化レトロウイルス c D N A と接触させる工程と、

30

(b) レトロウイルス c D N A 環状化の量を決定する工程とを有する方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連特許

本明細書は 2 0 0 2 年 4 月 5 日に出願された米国特許仮出願第 6 0 / 3 7 0 , 3 7 6 号に対して優先権を主張しており、その全体で開示されている内容はこの参照により組み込まれる。

40

【0 0 0 2】

連邦政府後援の研究に関する記述

この発明はアメリカ国立予防衛生研究所 (N I H) からの研究助成金 (グラント許可番号 G M 6 2 5 5 6) によって一部補助されたものである。米国政府は本発明の一部の権利を有している。

【0 0 0 3】

本発明は 1 つには、D N A 修復経路を誘導するための方法と、D N A 修復経路を誘導する及び / 若しくはレトロウイルス感染を阻害する化合物を同定する方法と、レトロウイルス感染によって引き起こされた症状を D N A 修復経路を誘導する及び / 若しくは宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みを阻害する化合物によって治療する方法と、D

50

NA修復経路を阻害する及び／若しくはレトロウイルスcDNA組込みを増加する方法と、DNA修復経路を阻害する及び／若しくはレトロウイルス感染を増加する化合物の同定のための方法と、DNA修復経路を阻害する及び／宿主細胞ゲノムへのレトロウイルスcDNA組込みを増加する化合物を有する遺伝子運搬の改良による状態の治療方法と、に関するものである。

【背景技術】

【0004】

レトロウイルスは、増殖性感染を行うために宿主染色体へそれらのゲノムのDNAコピー（レトロウイルスcDNA）を挿入する必要があるRNAウイルスである。レトロウイルス組込みはcDNA挿入部位での遺伝子の変異原性不活性化、若しくは隣接する宿主遺伝子の異常発現をもたらし、それら両方は宿主生物に有害な結果を導くことができる。さらに、レトロウイルスは、限定されるものではないが、例えば後天性免疫不全症候群（AIDS：ヒト免疫不全ウイルスHIV-1が原因である）、様々な動物癌、猫免疫不全ウイルス（FIV）及びヒト成人T細胞白血病／リンパ腫などの疾患を引き起こすという事実からも明らかなように、レトロウイルスはヒト及び動物の健康に著しいリスクを与える。レトロウイルスは他の一般的な障害は、例えばこれに限定されるものではないが、I型糖尿病及び多発性硬化症などにも関連していた。

【0005】

そのようなレトロウイルス感染性疾患に対抗するための最近の努力は、感染に関連するレトロウイルスタンパク質のインヒビター（阻害剤）の同定に焦点が当てられてきた。2つのメカニズムはレトロウイルスの感染機序、すなわち逆転写及び組換え（Coffin, J. M., S. H. Hughes, and H. E. Varmus. RETROVIRUSES. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997）を特徴付ける。2つの過程はレトロウイルスが細胞へ増殖性感染するために重要である（Tisdale, M., T. Schulze, B. A. Larder, and K. Moelling. Mutations within the RNase H domain of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase abolish virus infectivity. Journal of General Virology, 72: 59~66, 1991; LaFemina, R. L., C. L. Schneider, H. L. Robbins, P. O. Callahan, K. LeGrow, E. Roth, W. A. Schleif, and E. A. E. Emini. Requirement of active human immunodeficiency virus type 1 integrase enzyme for productive infection of human T-lymphoid cells. Journal of Virology, 66: 7414~7419, 1992; Sakai, H., M. Kawamura, J. Sakuragi, S. Sakuragai, R. Shibata, A. Ishimoto, N. Ono, S. Ueda, and A. Adachi. Integration is essential for efficient gene expression of human immunodeficiency virus type 1. Journal of Virology, 67: 1169~1174, 1993; Englund, G., T. S. Theodore, E. O. Freed, A. Engleman, and M. A. Martin. Integration is required for productive infection of monocyte-derived macrophages by human immunodeficiency virus type 1. Journal of Virology, 69: 3216~3219, 1995）。今まで、多くの薬剤開発プログラムは、レトロウイルス逆転写酵素及びプロテアーゼを含むウイルス性コード化産物の阻害に焦点が当てられてきた。しかしながら、レトロウイルスの短い生活環及びそれら固有の高確

率の遺伝的变化或いは変異を考えると、そのような戦略はウイルス性コード化標的分子の変化を通じた薬剤耐性ウイルス誘導体の発生に終わる。従って、ウイルス性コード化タンパク質を干渉する多くの抗レトロウイルス薬剤は、仮にあるとすれば限定期間のみに対して有効である。レトロウイルスタンパク質を標的にしている薬剤の別の制限は、これらの多くは幅広い適用性を有していないこと、及び特定のウイルス或いは特定のウイルスのある系統に対して高特異性であることである。

【0006】

レトロウイルスタンパク質を標的とする現在のレトロウイルス治療の制限の一例として、HIVレトロウイルスによって引き起こされるAIDSに対する現在の治療は、HAART (highly active anti-retroviral therapy : 高活性抗レトロウイルス剤療法) (Autran, B., G. Carcelain, T. S. Li, C. Blanc, D. Mathez, R. Tubiana, C. Katlama, P. Debre, and J. Leibowitch. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4+ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. Science, 277: 112 ~ 116, 1997) と呼ばれる3若しくは4つの抗レトロウイルス薬剤のカクテル(反応混液)から成る。前記レトロウイルス逆転写酵素は、HAART薬剤成分であるヌクレオチド類似体及び非ヌクレオチドインヒビター、の2つのファミリーによって阻害される。HAART中で用いられている残りの薬剤はレトロウイルスプロテアーゼインヒビターであり、別のHIV酵素を標的にしている。しかしながら、78%の新規HIV感染は少なくとも1つのHAART薬剤成分に対して耐性を示し、効果的なHIVワクチンは開発されていない(Richman, D. In: Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Chicago, IL, 2001; Cohen, J. Debate begins over new vaccine trials. Science, 293: 1973, 2001)。さらに、HIVの前記レトロウイルス組込み酵素(インテグラーゼ)を阻害する多くの既知薬剤は、特異性の欠如若しくは低い生物学的利用能が原因でヒトへの試行は不成功であった(Craigie, R. HIV integrase, a brief overview from chemistry to therapeutics. Journal of Biological Chemistry, 276: 23213 ~ 23216, 2001; Hazuda, D. J., P. Felock, M. Witmer, A. Wolfe, K. Stillmock, J. A. Grobler, A. Espeseth, L. Gabryelski, W. Schleif, C. Blau, and M. D. Miller. Inhibitors of strand transfer that prevent integration and inhibit HIV-1 replication in cells. Science, 287: 646 ~ 650, 2000)。従って、新規HIV感染及びAIDSの薬物療法の開発は重大である。さらに効果的なHIVワクチンの開発も非常に重要である。

【0007】

レトロウイルスは遺伝子運搬にも用いられ、遺伝子治療においてますます重要な役割を演じると思われる。従って、宿主ゲノムへのレトロウイルスcDNA組込みを増加し、このため遺伝子運搬を増加する方法及び化合物が非常に重要となる。

【0008】

従って、レトロウイルス機能がどのようなものか、それらがどのように制御され得るかを理解することは非常に商業的で医学的に重要である。そのような理解はレトロウイルス感染を治療するための、及び遺伝子治療方法論での遺伝子運搬を改善するための新規戦略の開発を可能にする。

【0009】

本発明は、レトロウイルス感染に関与するDNA修復経路とその成分を提供することに

よって解明し、とりわけ (inter alia)、レトロウイルス cDNA 組込みを阻害する及び / 若しくは DNA 修復経路を誘導する化合物を同定するための方法及びアッセイ (検定法) システム、DNA 修復経路を誘導する及び / 若しくはレトロウイルス cDNA 組込みを阻害するための方法、DNA 修復経路を誘導する及び / 若しくは宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス cDNA 組込みを阻害する化合物によってレトロウイルス感染を治療する方法、DNA 修復経路を阻害するための及び / 若しくはレトロウイルス cDNA 組込みを増加するための方法、DNA 修復経路を阻害する及び / 若しくはレトロウイルス感染を増加する化合物を同定するための方法、及び DNA 修復経路を阻害する及び / 若しくは宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス cDNA 組込みを増加する化合物を有する遺伝子運搬を改良することによって状態を治療する方法を提供することによってなされる。

10

【0010】

ここに示されたような内因性宿主防御メカニズムの刺激は、HIV、若しくは他のあらゆるレトロウイルス感染の治療に対して有益な相加作用である。第1に、レトロウイルスが薬剤作用を回避するような方法で変異することは困難である若しくは不可能である。宿主細胞要因は、レトロウイルス薬剤耐性の発生の基礎である高変異原性ウイルス複製過程の影響は受けない。第2に、組込みは全てのレトロウイルスが感染性であるために必須条件であるので、1-LTR若しくは2-LTR環の形成を誘導する薬剤は広範囲のレトロウイルスの種対に対して有効的である。さらに、これは刺激された内因性システム (すなわち宿主細胞要因) であるので、この治療形態には毒性がほとんどない。ここに示されたレトロウイルス感染に対する治療は他の現在利用可能な抗ウイルス薬剤との組合わせで、例えば HAART の一部として使用されると期待される。

20

【発明の開示】

【発明の効果】

【0011】

本発明の1実施形態において、テスト化合物存在下で細胞若しくは細胞抽出物と非環状化レトロウイルス cDNA とを接触させること ; テスト化合物非存在下で同じ種類の細胞若しくは細胞抽出物と非環状化レトロウイルス cDNA とを接触させること ; 及び前記テスト化合物非存在下で生じるレトロウイルス cDNA 環状化のレベルと比較して、前記テスト化合物存在下でレトロウイルス cDNA 環状化の量が増加するかどうか決定することによって、レトロウイルス cDNA 組込みを阻害する化合物を同定するための方法が提供される。

30

【0012】

本発明の別の1実施形態において、テスト化合物存在下で細胞若しくは細胞抽出物と非環状化レトロウイルス cDNA とを接触させること、及びレトロウイルス cDNA 環状化の量を決定することによって、レトロウイルス cDNA 組込みを阻害する化合物を同定するための方法が提供される。

【0013】

本発明の1態様では、テスト化合物存在下で DNA 修復経路の少なくとも1つの成分と非環状化レトロウイルス cDNA とを接触させること ; テスト化合物非存在下で DNA 修復経路の成分と非環状化レトロウイルス cDNA とを接触させること ; 及び前記テスト化合物非存在下で生じるレトロウイルス cDNA 環状化の量と比較して、前記テスト化合物存在下でレトロウイルス cDNA 環状化の量が増加するかどうか決定することによって、細胞中の DNA 修復経路を誘導する化合物を同定するための方法を提供する。本発明の前記方法は細胞中若しくは細胞抽出物で行われる。本発明の方法で使用される細胞若しくはそれらから由来する細胞抽出物は、例えばヒト、鳥などを含む哺乳動物、酵母、及び植物細胞などが含まれる。直接的若しくは間接的に前記テスト化合物によって接触する或いは上方制御される DNA 修復経路の成分は、限定されるものではないが、XPA と、XPB と、XPC と、XPD と、XPE と、XPF と、XPG と、RAD50 と、RAD52 と、RAD54 と、RAD57 と、RAD59 と、MSH2 と、CDC9 と、hRAD50 と、hRAD51 と、hRAD51B と、hRAD51C と、hRAD51D と、hX

40

50

R C C 2 と、h X R C C 3 と、X R C C 4 と、リガーゼ I V と、h M R E 1 1 と、X R S 2 (N B S 1) と、D N A - P K と、K u 7 0 / 8 0 ヘテロダイマーとをコード化する核酸分子の少なくとも 1 つと、それらによってコード化されるポリペプチドと、それらの相同体とを含む。

【 0 0 1 4 】

本発明のいくつかの実施形態において、D N A 修復経路の少なくとも 1 つの成分は、前記テスト化合物非存在下での成分の野生型生物活性と比較して、前記テスト化合物非存在下で減少した生物活性を示す。減少した生物活性を示す前記成分は、限定されるものではないが、X P A と、X P B と、X P C と、X P D と、X P E と、X P F と、X P G と、R A D 5 0 と、R A D 5 2 と、R A D 5 4 と、R A D 5 7 と、R A D 5 9 と、M S H 2 と、C D C 9 と、h R A D 5 0 と、h R A D 5 1 と、h R A D 5 1 B と、h R A D 5 1 C と、h R A D 5 1 D と、h X R C C 2 と、h X R C C 3 と、X R C C 4 と、リガーゼ I V と、h M R E 1 1 と、X R S 2 (N B S 1) と、D N A - P K と、K u 7 0 / 8 0 ヘテロダイマーとをコード化する核酸分子の少なくとも 1 つと、それらによってコード化されるポリペプチドと、それらの相同体とを含む。

10

【 0 0 1 5 】

本発明のいくつかの態様において、前記レトロウイルス c D N A は少なくとも 1 つのマーカー遺伝子と少なくとも 1 つのプロモーターとを有しており、前記マーカー遺伝子はレトロウイルス c D N A 環状化上の前記プロモーターから発現される。本発明の前記方法でのレトロウイルス c D N A 環状化の増加は、前記テスト化合物非存在下のそれらと比較して、前記マーカー遺伝子の発現レベルの増加、若しくは前記化合物存在下の前記マーカー遺伝子によってコード化されたポリペプチドの活性レベルの増加によって検出される。本発明の前記方法で用いられるマーカー遺伝子の例として、これに限定されるものではないが、緑色蛍光タンパク質 (G F P)、赤色蛍光タンパク質 (D s R e d)、アルカリホスファターゼ (A P)、βラクターマーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ (C A T)、アデノシンデアミナーゼ (A D A)、アミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ (n e o r 、 G 4 1 8 r)、ジヒドロ葉酸還元酵素 (D H F R)、ハイグロマイシン B ホスホトランスフェラーゼ (H P H)、チミジンキナーゼ (T K)、l a c Z (βガラクトシダーゼをコード化している)、ルシフェラーゼ (l u c)、若しくはキサンチンゲアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ (X G P R T) などをコード化している遺伝子が含まれる。本発明の前記方法で用いられるプロモーターの例として、これに限定されるものではないが、アデノウイルス、S V 4 0、パルボウイルス、ワクシニアウイルス、サイトメガロウイルス、或いは哺乳動物ゲノム D N A から由来したプロモーターと、M S H 2 プロモーターと、3 - ホスホグリセリン酸キナーゼや他の様々な解糖系酵素遺伝子プロモーターを含む構成プロモーターと、若しくはアルコールデヒドロゲナーゼ - 2 プロモーター或いはメタロチオニンプロモーターを含む誘導性プロモーターとを含む。

20

30

【 0 0 1 6 】

ここではプロモーターと核酸分子の環状化上で発現されるマーカー遺伝子とを含む核酸分子を有するレトロウイルスベクターも提供される。本発明のいくつかの実施形態において、前記レトロウイルスベクターは配列 I D 番号 : 5 若しくは配列 I D 番号 : 6 の核酸配列を有する。

40

【 0 0 1 7 】

本発明のいくつかの態様において、D N A 修復経路を誘導する及び / 若しくは宿主細胞のゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みを阻害する化合物が提供される。本発明のいくつかの実施形態において、前記宿主細胞のレトロウイルス感染を阻止する化合物が提供される。本発明の別の態様において、D N A 修復経路を阻害する及び / 若しくはレトロウイルス c D N A 組込みを増加する化合物が提供される。

【 0 0 1 8 】

本発明のいくつかの態様は、本発明の化合物の薬剤組成物に関するものである。本発明の薬剤組成物は、例えばレトロウイルス感染の治療のためであり、本発明の方法に従って

50

同定された治療的に有効な量の少なくとも1つの化合物若しくは薬剤的に許容可能なそれらの塩類、及び薬剤的に許容可能な賦形剤を含む。

【0019】

本発明の付加的な実施形態は、本発明の方法によって同定された少なくとも1つの化合物を細胞に投与することによって細胞のDNA修復経路を誘導する方法に関するものである。本発明のいくつかの態様において、前記化合物は前記細胞のゲノムへのレトロウイルスcDNA組込みを阻害する。

【0020】

本発明のいくつかの実施形態は、本発明の前記方法によって同定された少なくとも1つの化合物、若しくはそれらの薬剤組成物を患者へ投与することによって患者のレトロウイルス感染を治療する方法を提供する。前記患者は植物若しくは、これに限定されるものではないが、鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、及びヒトを含む哺乳動物である。本発明の前記方法に従って治療されるレトロウイルス感染の例としては、これに限定されるものではないが、後天性免疫不全症候群(AIDS)、ヒト免疫不全ウイルス(HIV-1)感染、癌、ヒト成人T細胞白血病/リンパ腫、FIV、I型糖尿病、及び多発性硬化症の少なくとも1つの状態に関連したレトロウイルス感染を含む。

【0021】

本発明の1態様は、テスト化合物存在下でDNA修復経路の少なくとも1つの成分と非環状化レトロウイルスcDNAとを接触させる；前記テスト化合物非存在下で前記DNA修復経路の成分と非環状化レトロウイルスcDNAとを接触させる；及び前記テスト化合物非存在下で生じるレトロウイルスcDNA環状化の量と比較して、前記テスト化合物存在下で生じるレトロウイルスcDNA環状化の量が増加するかどうか決定することによって、DNA修復経路を阻害する及び/若しくはレトロウイルスcDNA組込みを増加する化合物を同定するための方法を提供する。本発明の前記方法は細胞中若しくは細胞抽出物中で行われる。本発明の方法で使用される細胞若しくはそれらから由来する細胞抽出物は、例えばヒト、鳥などを含む哺乳動物、酵母、及び植物細胞などが含まれる。直接的または間接的に前記テスト化合物によって接触される或いは上方制御されるDNA修復経路の化合物は、限定されるものではないが、XPAと、XPBと、XPCと、XPDと、XPEと、XPFと、XPGと、RAD50と、RAD52と、RAD54と、RAD57と、RAD59と、MSH2と、CDC9と、hRAD50と、hRAD51と、hRAD51Bと、hRAD51Cと、hRAD51Dと、hXRCC2と、hXRCC3と、XRCC4と、リガーゼIVと、hMRE11と、XRS2(NBS1)と、DNA-PKと、Ku70/80ヘテロダイマーとをコード化する核酸分子の少なくとも1つと、それらによってコード化されるポリペプチドと、それらの相同体とを含む。

【0022】

本発明のいくつかの態様において、前記レトロウイルスcDNAは少なくとも1つのマーカー遺伝子と少なくとも1つのプロモーターとを含み、前記マーカー遺伝子はレトロウイルスcDNA環状化上の前記プロモーターから発現される。本発明の前記方法におけるレトロウイルスcDNA環状化の減少は、前記テスト化合物非存在下でのそれらと比較した、前記マーカー遺伝子の発現レベルの減少若しくは前記化合物存在下の前記マーカー遺伝子によってコード化されたポリペプチドの活性レベルの減少によって検出される。本発明の前記方法で用いられるマーカー遺伝子の例として、これに限定されるものではないが、緑色蛍光タンパク質(GFP)、赤色蛍光タンパク質(DsRed)、アルカリホスファターゼ(AP)、βラクタマーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ(CAT)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)、アミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ(neor、G418r)、ジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)、ハイグロマイシンBホスホトランスフェラーゼ(HPH)、チミジンキナーゼ(TK)、lacZ(βガラクトシダーゼをコード化している)、ルシフェラーゼ(luc)、若しくはキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(XGPR)などをコード化している遺伝子が含まれる。本発明の前記方法で用いられるプロモーターの例として、これに限定され

10

20

30

40

50

るものではないが、アデノウイルス、SV40、パルボウイルス、ワクシニアウイルス、サイトメガロウイルス、或いは哺乳動物ゲノムDNAから由来したプロモーターと、MSH2プロモーターと、3-ホスホグリセリン酸キナーゼや他の様々な解糖系酵素遺伝子プロモーターを含む構成プロモーターと、若しくはアルコールデヒドロゲナーゼ-2プロモーター或いはメタロチオニンプロモーターを含む誘導性プロモーターとを含む。

【0023】

本発明のいくつかの態様において、DNA修復経路を阻害する及び/若しくは宿主細胞のゲノムへのレトロウイルスcDNA組込みを増加する化合物が提供される。本発明のいくつかの実施形態において、前記方法に従って同定された化合物が提供される。

【0024】

本発明のいくつかの態様は本発明の化合物の薬剤組成物に関するものである。本発明の薬剤組成物は、例えば遺伝子治療における遺伝子運搬の効率を改善するためであり、本発明の方法に従って同定された治療的に有効な量の少なくとも1つの化合物若しくは薬剤的に許容可能なそれらの塩類、及び薬剤的に許容可能な賦形剤を含む。

【0025】

本発明の付加的な実施形態は、本発明の方法によって同定された少なくとも1つの化合物を細胞に投与することによってDNA修復経路を阻害する及び/若しくは細胞のレトロウイルスcDNA組込みを増加する方法に関するものである。

【0026】

本発明の付加的な実施形態は、本発明の化合物を投与することによって遺伝子治療における遺伝子運搬の効率を増加するための方法を提供する。前記患者は植物若しくは、これに限定されるものではないが、鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、及びヒトを含む哺乳動物である。

【0027】

本発明の付加的な態様はDNA修復経路を誘導する化合物を同定するためのアッセイシステムを提供する。本発明のいくつかの態様において、DNA修復経路の少なくとも1つの成分と、レトロウイルスcDNA環状化上で発現されるマーカー遺伝子を有する非環状化レトロウイルスcDNAと、ゲノムDNAとを含んでいる、DNA修復経路を誘導する化合物を同定するための無細胞系が提供される。ここにおいてマーカー遺伝子を有するレトロウイルスと、DNA修復経路の少なくとも1つの成分を有する細胞とを含む、DNA修復経路を誘導する化合物を同定するための細胞ベースシステムも提供される。前記アッセイシステムのいくつかの実施形態において、前記DNA修復経路の成分は、前記成分の野生型生物活性と比較して減少した生物活性を示す。本発明のいくつかの実施形態において、レトロウイルスcDNA組込みを阻害する化合物を同定するための、細胞と環状化マーカー遺伝子を含むレトロウイルスとを有する細胞ベースアッセイシステムが提供され、レトロウイルスcDNA組込みを阻害する化合物を同定するための、宿主ゲノムDNAと環状化マーカー遺伝子を有する非環状化レトロウイルスcDNAとを有する無細胞系アッセイシステムも本発明の範囲内に含まれている。

【0028】

本発明の別の態様は、本発明のレトロウイルス若しくはレトロウイルスベクターを含むキットである。そのようなキットは、限定されるものではないが、容器、ラベル及び説明書を含む従来のキット構成成分を含む。

【0029】

本発明の他の態様は、DNA修復経路の少なくとも1つの成分をテスト化合物にさらし；DNA修復を誘導し；レトロウイルスcDNA環状化（ここにおいて前記環状化はプロモーターをマーカー遺伝子の隣りに並べる、レトロウイルスcDNAの物理的組換えである）の量の1つを測定し；マーカー遺伝子の発現を定量化し；宿主細胞ゲノムへの前記レトロウイルスcDNAの組込みを阻害し；前記化合物を同定することによって、レトロウイルス感染力を阻害する化合物をスクリーニングするための方法を含む。DNA修復経路の成分をテスト化合物にさらし；DNA修復を誘導し；レトロウイルスcDNA環状化（

10

20

30

40

50

ここにおいて前記環状化はプロモーターをマーカー遺伝子の隣りに並べる、レトロウイルス cDNA の物理的組換えである) の量の 1 つを測定し; 環状化の増加を意味するマーカー遺伝子の発現量を測定し; 宿主細胞ゲノムへの前記レトロウイルス cDNA の組込みを阻害し; 前記化合物を同定することによって、レトロウイルス感染力を阻害する化合物をスクリーニングするための方法も提供される。前記 DNA 修復経路の前記成分は、X P B 若しくは X P D の少なくとも 1 つであるが、前記 DNA 修復経路の前記 X P B 若しくは X P D メンバーに限定されるものではない。前記 DNA 修復経路の前記成分は DNA 修復経路の遺伝子であり、DNA 修復を誘導する前記化合物は前記遺伝子を上方制御し、その結果 DNA 修復が誘導されレトロウイルス組込みは阻害される。前記 DNA 修復経路の前記成分は前記 DNA 修復経路のタンパク質でもあり、DNA 修復を誘導する前記化合物は前記タンパク質の活性若しくは機能を誘導し、その結果 DNA 修復が誘導されレトロウイルス組込みは阻害される。本発明の付加的な実施形態は、同定された化合物を細胞に投与し、前記細胞のゲノムへのレトロウイルス組込みを阻害することによって細胞中のレトロウイルス感染力を阻害する方法を含む。スクリーニング方法によって同定された化合物と薬剤的に許容可能な賦形剤とから成る薬剤組成物も提供される。レトロウイルス組込みを阻害する化合物はここに開示された前記方法に従って同定された。レトロウイルス組込みを阻害する化合物は本発明の方法に従って同定され、ここにおいて前記化合物は宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス組込みの阻害を引き起こす薬剤のさらなる開発のためのリード化合物となる。

10

20

30

40

50

【0030】

同定された前記テスト化合物を対象へ投与し、前記対象のゲノムへのレトロウイルス組込みを阻害することによって対象内のレトロウイルス感染力を阻害する方法が付加的に提供される。別の実施形態において、細胞内で DNA 修復を誘導する(ここにおいて DNA 修復の誘導は宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス組込みを阻害する)化合物を、DNA 修復経路の成分をテスト化合物にさらし;(相同性組換え若しくは非相同性末端結合を介する)レトロウイルス cDNA 環形成の量の 1 つをマーカー遺伝子の発現と、レトロウイルス cDNA の物理的組換えとを定量化することによって測定し; 前記宿主細胞ゲノムへの前記レトロウイルス cDNA の組込みを阻害し; 前記化合物を同定することによって、スクリーニングする方法が提供される。前記 DNA 修復経路の前記成分は、X P B 若しくは X P D の少なくとも 1 つであるが、前記 DNA 修復経路の前記 X P B 若しくは X P D メンバーに限定されるものではない。細胞内の DNA 修復を誘導する方法も本発明によって含まれ、ここにおいて DNA 修復の誘導は、本発明の方法で同定されたテスト化合物を細胞へ投与し; DNA 修復を誘導し; 前記細胞のゲノムへのレトロウイルス組込みを阻害することによって、前記細胞のゲノムへのレトロウイルス組込みを阻害する。本発明の別の態様は、本発明の方法に従って同定された DNA 修復を誘導する化合物(ここにおいて DNA 修復の誘導は宿主細胞ゲノムレトロウイルス組込みを阻害する)と、前記化合物の薬剤的組成物と、薬剤的に許容可能な賦形剤とを含む。本発明の 1 実施形態は、対象に対して同定されたテスト化合物を投与し; DNA 修復を誘導し; 対象のゲノムへのレトロウイルス組込みを阻害することによって、対象内の DNA 修復を誘導する方法を含む。前記化合物は DNA 修復経路の遺伝子を上方制御することによって DNA 修復を誘導し、それにより DNA 修復が誘導されレトロウイルス組込みは阻害される。

【0031】

対象に対して本発明の方法で同定されたテスト化合物を投与し、DNA 修復を誘導することによって、対象内の DNA 修復を誘導する方法も本発明によって提供される。本発明の方法に従って同定された DNA 修復を誘導する化合物は宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス組込みの阻害を引き起こす薬剤のさらなる開発のためのリード化合物となる。

【0032】

本発明の別の態様は、DNA 修復経路の成分をテスト化合物にさらし; DNA 修復を誘導し;(相同性組換え若しくは非相同性末端結合を介する)レトロウイルス cDNA 環形成の量の 1 つをマーカー遺伝子の発現と、レトロウイルス cDNA の物理的組換えとを定

量化することによって測定し；前記化合物を同定することによって、細胞内でDNA修復（ここにおいてDNA修復の誘導は宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス組込みを阻害する）を誘導する化合物をスクリーニングするための方法を含む。

【0033】

ここに提供された物質、方法、及び実施例は説明のためのものであり、これに限定されることを意図したものではない。本発明の他の特徴及び利点は以下の詳細な説明及び請求項から明らかになるだろう。

【発明を実施するための最良の形態】

【0034】

ここに参照されている参考資料、特許、特許明細書、及び科学文献は当業者の知識を確立するために参照され、それぞれがこの参照により組み込まれると明確に、個別に開示されたものと同程度に、それらの全体の内容はこの参照により組み込まれる。ここに引用されたあらゆる文献と本明細書の特定の教示の間の全ての不一致は、後者を支持して解決されるものである。同様に、単語や語句の本発明分野で理解されている定義と本明細書中で特に指示された単語や語句の定義の間の全ての不一致は、後者を支持して解決されるものである。

【0035】

組換えDNA技術の一般的な原理を説明している標準的な参考資料は当業者に知られている（Ausubel et al., Current Protocols In Molecular Biology, John Wiley & Sons, New York, 1998; Sambrook et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Plainview, New York, 1989; Kaufman et al., Eds., Handbook of Molecular and Cellular Methods in Biology and Medicine, CRC Press, Boca Raton, 1995; McPherson, Ed., Directed Mutagenesis: A Practical Approach, IRL Press, Oxford, 1991）。

【0036】

本発明は増殖性感染を実行するためにレトロウイルスがその遺伝物質を真核生物宿主細胞のゲノムに挿入する過程に関連するものである。より具体的には、本発明は効果的なレトロウイルスcDNA組込みに必要とされる前記宿主細胞の高度に保存されたタンパク質に関連するものである。これらのタンパク質は抗レトロウイルス薬剤に対する、及びレトロウイルスによる改善された遺伝子運搬のための薬剤に対する新規標的を示す。とりわけ、in vivo、in vitroでの同様なレトロウイルスアッセイ及び薬剤を比較しテストすると共に、抗レトロウイルス化合物及びレトロウイルス遺伝子運搬を増加する化合物をスクリーニングするために用いることができる方法及びアッセイシステムがここにおいて提供される。

【0037】

ここで用いられる"DNA修復経路"という語句は、これに限定されるものではないが、相同性組換え及び非同源性末端結合を含む前記宿主DNAの修復を容易にする宿主細胞のあらゆる経路を意味している。"DNA修復経路の成分"は、限定するものではないが、宿主細胞のDNA修復経路に関与する核酸分子及びポリペプチドを含むあらゆる分子を意味している。DNA修復経路の成分の例として、これに限定されるものではないが、XPAと、XPBと、XPCと、XPDと、XPEと、XPFと、XPGと、RAD50と、RAD52と、RAD54と、RAD57と、RAD59と、MSH2と、CDC9と、hRAD50と、hRAD51と、hRAD51Bと、hRAD51Cと、hRAD51Dと、hXRCC2と、hXRCC3と、XRCC4と、リガーゼIVと、hMRE11と

10

20

30

40

50

、X R S 2 (N B S 1) と、D N A - P K と、K u 7 0 / 8 0 ヘテロダイマー、及びそれらの同等な相同体とを含む。

【 0 0 3 8 】

ここで用いられたように、"接触させる"という用語は直接的若しくは間接的に化合物を目的の分子の物理的に近くへ一緒に運ぶことを意味している。接触させることは、例えば、あらゆるバッファー、塩類、溶液中で、若しくは細胞或いは細胞抽出物中で生じる。

【 0 0 3 9 】

ここで用いられたように、"抗体"という用語は、完全で無傷な抗体、及び F a b、F a b '、F (a b) 2、及びそれらの他の断片を言及することを意味している。完全で無傷な抗体はマウスモノクローナル抗体、キメラ抗体、及びヒト化抗体などのモノクローナル抗体を含む。

10

【 0 0 4 0 】

ここで用いられたように、"結合"という用語は2つのタンパク質或いは化合物、関連するタンパク質或いは化合物、若しくはそれらの組み合わせの間の物理的な若しくは化学的な相互作用を意味している。結合はイオン結合、非イオン結合、水素結合、ファンデルワールス、疎水結合などを含む。前記物理的な相互作用、結合は直接的若しくは間接的であり、間接的とは別のタンパク質若しくは化合物の影響を介する若しくはそれらに起因することである。直接的結合とは、別のタンパク質若しくは化合物の影響を介して若しくは起因して行われないことではなく、他の実質的な化学中間体なしでの相互作用を意味する。結合は多くの異なる方法で検出される。限定されない例として、2つの分子間の前記物理的結合相互作用は標識化合物を用いて検出され得る。結合を検出する他の方法は当業者にはよく知られたものである。

20

【 0 0 4 1 】

ここで用いられたように、"相補的な"という用語は核酸分子のヌクレオチド単位間のワトソン-クリック塩基対形成を意味している。

【 0 0 4 2 】

ここで用いられたように、"緊縮性ハイブリダイゼーション状態"若しくは"緊縮性状態"という用語は、その状態下でオリゴヌクレオチドがその標的配列と特異的にハイブリダイゼーションするであろう状態を意味している。緊縮性状態は配列依存性であり、異なる環境では異なるであろう。より長い配列はより高温で特異的にハイブリダイゼーションする。一般的に、緊縮性状態は定義されたイオン強度及びpHで、前記特異的配列に対する熱融解点(T_m)より約5℃低い。前記T_mは(定義されたイオン強度、pH、及び核酸濃度条件下で)前記標的配列に対して相補的な前記オリゴヌクレオチドの50%が平衡状態で前記標的配列とハイブリダイゼーションする温度である。前記標的配列は一般的に過度に存在するので、T_mでは50%の前記ハイブリダイゼーションしているオリゴヌクレオチドが平衡状態で占めている。一般的に緊縮性状態においては、それらの塩濃度が約0.1Mナトリウムイオン以下であり、通常はpH7.0~8.3で約0.01~1.0Mナトリウムイオン(若しくは他の塩類)であり、温度は短いオリゴヌクレオチド(例えば10~50ヌクレオチド)に対しては少なくとも約30℃、より長いオリゴヌクレオチドに対しては少なくとも約60℃である。緊縮性状態は例えばホルムアミドなどの不安定化因子の添加によっても達成される。

30

40

【 0 0 4 3 】

"マーカー遺伝子"若しくは"レポーター遺伝子"という用語は、発現した時、形質転換された細胞に物理的、形態学的、若しくは生物化学的レベルで表現型を与える産物をコード化している遺伝子を意味し、これは標準的な技術を用いて直接的若しくは間接的に、容易に同定可能であり、これに限定されるものではないが、緑色蛍光タンパク質(GFP)、赤色蛍光タンパク質(DsRed)、アルカリホスファターゼ(AP)、βラクタマーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ(CAT)、アデノシンデアミナーゼ(ADA)、アミノグリコシドホスホトランスフェラーゼ(neo^r、G418^r)、ジヒドロ葉酸還元酵素(DHFR)、ハイグロマイシンBホスホトランスフェラーゼ(H

50

P H)、チミジンキナーゼ(T K)、l a c Z(β ガラクトシダーゼをコード化している)、ルシフェラーゼ(l u c)、若しくはキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ(X G P R T)などが含まれる。本発明の実行に係る標準的な手順の多くと同様に、当業者はマーカー若しくはレポーターの機能に貢献できる付加的な配列を認識するであろう。従って、このリストはただ単に何が使用されるかの例を示すことを意味しているものに過ぎず、本発明の限定を意味したものではない。ここで用いられているような"普遍的マーカー"若しくは"普遍的マーカー遺伝子"という用語は、宿主ゲノムへのレトロウイルスc D N Aの組込み若しくはレトロウイルスc D N A環状化の場合でも発現しているレトロウイルスc D N Aの遺伝子を意味しており、従って宿主細胞核へのレトロウイルスc D N A移入に対するポジティブコントロールとして働く。"環状化マーカー遺伝子"若しくは"環状化マーカー"という用語は、レトロウイルスc D N Aの環状化の場合にのみ発現されるレトロウイルスc D N Aの遺伝子を意味している。

10

20

30

40

50

【0044】

ここで用いられるように、"プロモーター"という用語は、目的の核酸分子の発現を制御し、調節し、促進する制御要素を意味しており、アデノウイルス、SV40、パルボウイルス、ワクシニアウイルス、サイトメガロウイルス、或いは哺乳動物ゲノムD N Aから由来したものであり得る。哺乳動物に対して適したプロモーターの例として、これに限定されるものではないが、CMV及びMSH2プロモーターが含まれる。酵母での使用に適したプロモーターは、これに限定されるものではないが、3-ホスホグリセリン酸キナーゼや他の様々な解糖系酵素遺伝子プロモーターを含む構成プロモーターと、若しくはアルコールデヒドロゲナーゼ-2プロモーター或いはメタロチオニンプロモーターを含む誘導性プロモーターである。さらに、本発明の実行に関連した標準的な手段の多くと同様に、当業者はマーカー若しくはレポーターの発現を指示する機能に貢献する付加的なプロモーターを認識するであろう。従って、前記リストはただ単に何が使用されるかの例を示すことを意味しているものに過ぎず、本発明の限定を意味したものではない。

【0045】

"ポリペプチド"、"ペプチド"及び"タンパク質"という用語はここにおいては同語的に用いられている。

【0046】

ここで用いられているように、"アミノ酸"という用語はアミノ基及びカルボキシル基の両方を含む分子を意味している。いくつかの好ましい実施形態において、前記アミノ酸は α -、 β -、 γ -、若しくは δ -アミノ酸であり、それらの立体異性体及びラセミ体を含む。ここで用いられているように、"L-アミノ酸"という用語は α -炭素の周りにL立体配置を有している α -アミノ酸を意味しており、この α -アミノ酸はL-立体配置を有する、通常CH(COOH)(NH₂)-(側鎖)式のカルボキシル酸である。"D-アミノ酸"という用語は同様に α -炭素の周りにD-立体配置を有している通常CH(COOH)(NH₂)-(側鎖)式のカルボキシル酸を意味している。L-アミノ酸の側鎖は天然由来部分及び非天然由来部分を含む。非天然由来(不自然)アミノ酸側鎖は例えばアミノ酸類似体中で天然由来アミノ酸側鎖の代わりに用いられる部分である。アミノ酸置換基はそれらのカルボニル基を通じて、その酸素若しくはカルボニル炭素を通じて、若しくはそれらのアミノ基を通じて、若しくはそれらの側鎖部分に存在する官能基を通じて付加される。

【0047】

ここで用いられるように"ポリヌクレオチド"は核酸分子を意味し、ゲノムD N A、c D N A、R N A、m R N A、及びそれらと同等のものを含む。

【0048】

ここで用いられるように、"アンチセンスオリゴヌクレオチド"は少なくとも目的の標的ヌクレオチド配列の1部分と相補的であり、生理的条件下で前記標的ヌクレオチド配列に特異的にハイブリダイゼーションする核酸分子を意味している。ここで用いられているように"二本鎖R N A"若しくは"d s R N A"という用語はR N A干渉する能力がある二本鎖

RNA分子を意味しており、低分子干渉RNA(sirRNA)(例として、Bass, Nature, 411, 428~429(2001); Elbashir et al., Nature, 411, 494~498(2001)を参照のこと)を含む。

【0049】

ここで用いられるように"合成された"とは、酵素的に対立するものとして、純粋化学方法によって産生されたポリヌクレオチドを意味している。"完全に"合成されたDNA配列はその結果化学的手段によって完全に産生されたものであり、"部分的に"合成されたDNAは、結果生じるDNAの1部分のみが化学的手段によって産生されたDNAを含む。

【0050】

"レトロウイルスcDNA環状化"は環形成を意味し、例えばレトロウイルスcDNAの1-LTR若しくは2-LTR環形成である。 10

【0051】

ここで用いられるように"レトロウイルスcDNA組込み"は宿主細胞ゲノムDNAへのレトロウイルスcDNAの組み込みを意味している。

【0052】

ここで用いられるように"レトロウイルス感染"はレトロウイルスが宿主細胞内で増殖する過程を意味しており、レトロウイルスcDNAに対するレトロウイルスRNAの逆転写、及び宿主ゲノムへのレトロウイルスcDNAの組み込みの工程を含む。ここで用いられるように"非環状化レトロウイルスcDNA"若しくは"直線状レトロウイルスcDNA"は、例えば1-LTR若しくは2-LTR環などへ環状化されていないレトロウイルスcDNAを意味している。"環状化レトロウイルスcDNA"は宿主細胞ゲノムへの組み込みの能力がなく、例えば1-LTR若しくは2-LTR環などの環の形状であるレトロウイルスcDNAを意味している。 20

【0053】

ここで用いられるように、"調節する"若しくは"修飾する"という用語は、特異的活性若しくはタンパク質の量、質、若しくは効果における増加若しくは減少を意味している。

【0054】

"阻害因子(インヒビター)"、"活性化因子(アクチベーター)"及び"修飾因子(モジュレーター)"は、例えばアゴニスト(作用物質)、アンタゴニスト(拮抗物質)、及びそれらの相同体に対するin vivo、in vitroアッセイを用いて同定されたあらゆる阻害性若しくは活性分子を意味しており、ここに定義されたように前記分子と実質的に同じ生物活性を示す断片、変異体、擬態を含む。"阻害因子(インヒビター)"は減少する、阻止する、阻害する、活性を遅らせる、不活性化する、脱感作する、若しくは前記生物活性或いは分子の発現や目的の経路を下方制御する化合物であり、例えばアンタゴニストである。"誘導因子"若しくは"活性化因子"は増加する、誘導する、刺激する、開く、活性化する、容易にする、活性を増強する、感作する、若しくは目的の分子或いは経路を上方制御する化合物であり、例えばアゴニストである。本発明のいくつかの実施形態において、分子の発現或いは生物活性、若しくは目的の経路の阻害若しくは上方制御のレベルは、約50%、60%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、若しくは99%以上の減少(阻害若しくは下方制御)若しくは増加(上方制御)を意味している。前記阻害若しくは上方制御は、直接的すなわち目的の分子若しくは経路自身に作用する、若しくは間接的すなわち目的の分子若しくは経路に影響を及ぼす目的の分子若しくは経路に作用するものである。 30 40

【0055】

ここで用いられる"約"は基準値の+/-10%を意味している。

【0056】

ここで用いられるように、"相同性ヌクレオチド配列"若しくは"相同性アミノ酸配列"若しくはそれらの変異は、ヌクレオチドレベル若しくはアミノ酸レベルで、参照配列に対して、少なくとも約60%であり、好ましくは少なくとも約70%、より好ましくは少なくとも約80%、より好ましくは少なくとも90%か95%、最も好ましくは少なくとも9 50

8 %の相同性によって特徴付けられた配列と、若しくは機能ドメインをコード化する或いは有しているそれらの部分が断片とを意味しており、これに限定されるものではないが、例えば配列ID: 1若しくは配列ID: 3の前記ヌクレオチド配列、若しくはエンコード化されたポリペプチド(配列ID: 2若しくは配列ID: 4)、配列ID: 2或いは配列ID: 4のアミノ酸配列を有するポリペプチドの機能ドメインをコード化している配列ID: 1若しくは配列ID: 3の部分、或いは完全長ポリペプチドの機能ドメインを有しているそれらの断片である。相同性ヌクレオチド配列は、例えばアイソフォームと、種変異体と、対立遺伝子変異体と、目的のタンパク質の断片とを含む相同体をコード化しているそれらの配列を含む。アイソフォームは例えばRNAの選択的スプライシングの結果として同じ生物の異なる組織で発現され得る。代わりに、アイソフォームは異なった遺伝子によってコード化され得る。相同性ヌクレオチド配列はタンパク質の特異的変異体をコード化しているヌクレオチド配列を含む。相同性ヌクレオチド配列は、限定されるものではないが、天然由来対立遺伝子の変異体と、ここに説明された前記ヌクレオチド配列の変異体とを含む。相同性アミノ酸配列は、本発明の方法に従って同定されたポリペプチド中と同様に、配列ID: 2若しくは配列ID: 4のアミノ酸配列を有するポリペプチド中の保存性アミノ酸置換をコード化するそれらのアミノ酸配列を含む。パーセント相同性は好ましくは、例えばSmithとWaterman (Smith and Waterman, Adv. Appl. Math., 2: 482~489, 1981)によるアルゴリズムを使用する初期設定を用いるGapプログラム(Wisconsin Sequence Analysis Package, Version 8 for Unix (登録商標), Genetics Computer Group, University Research Park, Madison Wis.)によって決定される。本発明の核酸断片は前記参照ヌクレオチド配列の少なくとも約5、少なくとも約10、少なくとも約15、少なくとも約20、少なくとも約25、少なくとも約50、若しくは少なくとも約100ヌクレオチドを有する。好ましくは本発明の前記核酸断片は、完全長核酸配列によってコード化されているポリペプチドの生物特性と実質的に同じである、少なくとも1つの生物特性若しくは機能を有しているポリペプチドをコード化する。

【0057】

本分野ではよく知られているように、遺伝暗号の縮重が原因で、目的のヌクレオチド配列によってコード化されているポリペプチドの同じポリペプチドをコード化できる多数のDNAとRNA分子が存在する。従って本発明は、発現中、目的の核酸分子によってコード化されているポリペプチドをコード化するそれらの他のDNA及びRNA分子を意図する。ここに特に開示されたDNA及びRNA分子以外の、特異的アミノ酸に対するコドン中の変化によって単純に特徴付けられているDNA及びRNA分子は、本発明の範囲内である。

【0058】

本発明は相同的で、少なくとも1つの生物特性若しくは機能を有するタンパク質を含み、これは参照ポリペプチドの生物特性と実質的に同じであるものであることが理解される。好ましくは、前記生物特性の生物活性の範囲は、前記参照ポリペプチドの前記細胞特性の活性の少なくとも10%、より好ましくは少なくとも20%、より好ましくは少なくとも30%、より好ましくは少なくとも40%、より好ましくは少なくとも50%、より好ましくは少なくとも60%、より好ましくは少なくとも70%、より好ましくは少なくとも80%、より好ましくは少なくとも90%、及び最も好ましくは100%である。そのようなタンパク質は変異体とも呼ばれている。この定義は断片、アイソマー、天然対立遺伝子変異体、及びスプライシング変異体を含むことを意図されている。これらの変異体形態は例えば選択性スプライシング若しくは同種の生物の異なる組織中の差異(ディファレンシャル)発現に起因する。前記変異体形態は例えばアミノ酸挿入、欠損、若しくは置換によって特徴付けられる。この結合において、前記参照配列に対して少なくとも約60%、少なくとも70%配列相同性、少なくとも80%配列相同性、好ましくは約90%配列相同性、より好ましくは95%配列相同性及び最も好ましくは98%配列相同性を有する

アミノ酸配列を有する変異体形態が本発明に含まれる。好ましい相同性ポリペプチドは前記参照ポリペプチドと比較して少なくとも1つの保存性アミノ酸置換を有している。アミノ酸"挿入""置換"若しくは"欠損"はアミノ酸配列への変化若しくはアミノ酸配列内にある。特異的なアミノ酸配列中で認められた変異は合成的なペプチドの産生によって、若しくは組換えDNA技術を用いた核酸配列中にヌクレオチドの挿入、欠損、若しくは置換を系統的に作ることによって実験的に決定される。本発明のポリペプチド断片は、前記参照ポリペプチドの少なくとも5、10、15、20、25、30、35、若しくは40連続アミノ酸を有する。好ましくはポリペプチド断片は、前記参照ポリペプチド及びその対立遺伝子、種相同性に独特の若しくは特異的な抗原性特性を示す。目的の生物学的及び免疫学的特性を有する本発明の断片はよく知られ、本分野で日常的に実行されているあらゆる方法によって準備され得る。 10

【0059】

前記天然由来アミノ酸配列の変化はあらゆる多くの既知の技術によって達成され得る。例えば、変異はオリゴヌクレオチド定方向変異原性などの当業者によく知られた手順によって特異的な位置でポリペプチドをコード化している前記ポリヌクレオチドへ誘導され、これは米国特許番号第4,518,584号、及び第4,737,462号に記載されている。

【0060】

好ましくは、本発明のポリペプチド相同体は天然由来参照ポリペプチドの実質的な生物活性を示す。"天然由来ポリペプチドの実質的な生物活性を示す"ことによって、本発明の範囲内の変異体は保存的に置換された配列を有することができること、つまりポリペプチドの1若しくはそれ以上のアミノ酸残基は異なる残基に置き換えられ、前記ポリペプチドの2次及び/若しくは3次構造は変わらないことを意味している。そのような置換は例えば1つの脂肪族残基(Ile、Val、Leu、もしくはAla)の別の残基への置換、若しくは塩基性残基LysとArg間、酸性残基GluとAsp間、アミド残基GlnとAsn間、ヒドロキシル残基SerとTyr間、若しくは芳香族残基PheとTyr間の置換などの、同様な物理化学的な特性を有する残基によるアミノ酸の置換を含む。表現型的サイレントアミノ酸交換を作ることに關するさらなる情報は本技術で知られている(Bowie et al., Science, 247:1306~1310, 1990)。前記参照ポリペプチドの前記生物活性を実質的に保存する他のポリペプチド相同体は、アミノ酸置換が本発明の機能領域外の領域で作られる相同体である。 20 30

【0061】

本発明で用いられた核酸分子若しくはポリペプチドの、若しくは本発明のスクリーニング方法によって同定された化合物のヌクレオチド及び/若しくはアミノ酸配列は、ヌクレオチド及びアミノ酸配列データベースで類似度の領域をGapped BLAST(Altschul et al., Nuc. Acids Res., 25:3389, 1997)を用いて検索するために使用される。簡潔には、Basic Local Alignment Search Toolを表す前記BLASTアルゴリズムは配列類似性の決定に適している(Altschul et al., J. Mol. Biol., 215:403~410, 1990)。ソフトウェア若しくは実行BLAST解析は全米バイオテクノロジー情報センター(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)を通じて公に利用可能である。このアルゴリズムはまずクエリー配列中の長さWの短い単語を同定することによる、高スコア配列対(HSPs)を同定することを含み、このクエリー配列はデータベース配列中の同じ長さの単語と一直線になったいくつかの正值の閾値(positive-valued threshold)スコアに一致しているか若しくは満たしているかのどちらかである。Tは隣接単語スコア閾値として言及される(Altschul et al., J. Mol. Biol., 215:403~410, 1990)。これらの開始隣接単語ヒットは、それらを含むHSPsを見つけるための検索を開始するためのシードとして働く。前記単語ヒットは、各配列に沿って累積アラインメントスコアが増加され得る範囲において両方向へ広げられる。各方向での前記単語ヒットの延長 40 50

は以下の：１）前記累積アライメントスコアがその最大達成値から量 X へ落ちた、２）前記累積アライメントスコアが、１若しくはそれ以上の負のスコアリング残基アライメントの蓄積が原因でゼロ若しくはそれ以下になった、若しくは３）どちらかの配列の末端に到達する時、中止される。前記BLASTアルゴリズムパラメーター W 、 T 、 X は前記アライメントの感度とスピードを決定する。前記BLASTプログラムは初期値として単語の長さ（ W ）は１１と、BLOSUM62スコアリンクマトリックス（Henikoff et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:10915~10919, 1992）と、アライメント（ B ）は５０と、期待値（ E ）は１０と、 $M=5$ と、 $N=4$ と、及び両鎖の比較とを用いる。前記BLASTアルゴリズム（Karlin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:5873~5877, 1993）とGapped BLASTは２つの配列間の類似性の動的解析を行う。前記BLASTアルゴリズムによって提供された類似性の１つの測定は最小合計確率（ $P(N)$ ）であり、これは２つのヌクレオチド若しくはアミノ酸配列間のマッチが偶然起こることによって前記確率の目安を提供する。例えば、テスト核酸と前期参照核酸配列との比較において前記最小合計確率が約１以下、好ましくは０．１以下、より好ましくは０．０１以下、最も好ましくは０．００１以下である時、核酸は遺伝子若しくはcDNAと同じであると考えられる。

【００６２】

ここで用いられるように"生物活性"は生物システム中の目的の分子若しくは経路の特異的な機能（例えば酵素活性）のレベルを意味している。"野生型生物活性"は目的の分子若しくは経路の機能の通常レベルを意味している。"減少した生物活性"は、その分子若しくは経路の生物活性の参照レベルと比較して、目的の分子若しくは経路の機能の減少したレベルを意味している。例えば、減少した生物活性は目的の分子若しくは経路の前記野生型生物活性と比較した生物活性の減少したレベルを意味している。"増加した生物活性"は、その分子若しくは経路の生物活性の参照レベルに対して、目的の分子若しくは経路の機能の増加したレベルを意味している。例えば、増加した生物活性は目的の分子若しくは経路の前記野生型生物活性に対する生物活性の増加したレベルを言及する。

【００６３】

ここで用いられるように、"単離された"核酸分子という用語はその自然の環境から取り除かれた核酸分子（DNA若しくはRNA）を意味する。単離された核酸分子の例として、これに限定されるものではないが、ベクター内に含まれた組換えDNA分子、異種性宿主細胞中に維持された組換えDNA分子、部分的に若しくは実質的に精製された核酸分子、及び合成DNA或いはRNA分子を含む。

【００６４】

ここで用いられるように、"擬態"という用語は宿主DNA修復経路の誘導因子として同定された化合物と立体的に同じ化合物であり、従って前記分子は生物活性、すなわち宿主DNA修復経路の誘導を保持する。擬態は本発明によって同定されたDNA修復経路を誘導する化合物と構造的に及び機能的に等価物である。

【００６５】

"患者"及び"対象"という用語はここにおいて同語的に用いられており、これに限定されるものではないが、鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、及びヒトを含む。"宿主細胞"は例えば哺乳動物細胞、酵母細胞、若しくは植物細胞を含む。本発明の哺乳動物細胞は、これに限定されるものではないが、ヒト及びトリ細胞（例えばDT40細胞）が含まれる。

【００６６】

ここで用いられるように"治療"という用語はレトロウイルス感染の予防、治療、回復の成功のあらゆる徴候、若しくは遺伝子治療の遺伝子運搬の有効性の改良の成功の徴候を意味する。レトロウイルス感染の治療はあらゆる対象若しくは対象パラメーター、これに限定されるものではないが例えば患者内のレトロウイルス粒子数の寛解・緩解・減少、症状若しくは副作用の数若しくは重症度の減少、感染に対する患者の耐性の増加、患者の変性

若しくは減退の割合の緩徐化など、を含む。レトロウイルス感染の治療は、レトロウイルスの増加したリスクにさらされているが、まだその症状を経験若しくは現れていない患者の症状の発症の予防も含む。

【 0 0 6 7 】

"遺伝子治療の遺伝子運搬の有効性の改善"は、宿主細胞ゲノムへレトロウイルス若しくはレトロウイルスベクターの遺伝子の組み込みを増加することに成功したあらゆる徴候を意味している。"遺伝子治療"は、治療効果のために患者へ遺伝子を導入するあらゆる治療方法を意味しており、例えばこれに限定されるものではないが内因性核酸若しくはポリペプチドの上方制御若しくは下方制御などである。

【 0 0 6 8 】

レトロウイルス cDNA 組込み

ここにおいて開示された本発明のいくつかの実施形態は、保存された細胞性宿主防御メカニズムである DNA 修復を刺激することによってレトロウイルス cDNA 組込みを阻害する。本発明の他の実施形態は、保存された細胞性宿主防御メカニズムを阻害することによってレトロウイルス cDNA 組込みを刺激する。逆転写に続き、前記レトロウイルスはそのゲノムの cDNA コピーを前期宿主染色体へ組み込まなくてはならない (Coffin, J. M., S. H. Hughes, and H. E. Varmus. RETROVIRUSES. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1997; LaFemina, R. L., C. L. Schneider, H. L. Robbins, P. O. Callahan, K. LeGrow, E. Roth, W. A. Schleif, and E. A. E. Emini. Requirement of active human immunodeficiency virus type 1 integrase enzyme for productive infection of human T-lymphoid cells. Journal of Virology, 66: 7414~7419, 1992; Sakai, H., M. Kawamura, J. Sakuragi, S. Sakuragi, R. Shibata, A. Ishimoto, N. Ono, S. Ueda, and A. Adachi. Integration is essential for efficient gene expression of human immunodeficiency virus type 1. Journal of Virology, 67: 1169~1174, 1993; Englund, G., T. S. Theodore, E. O. Freed, A. Engleman, and M. A. Martin. Integration is required for productive infection of monocyte-derived macrophages by human immunodeficiency virus type 1. Journal of Virology, 69: 3216~3219, 1995)。組込まれた時、前記ウイルスはプロウイルスと呼ばれる。ウイルスが組込みプロウイルスの形を完了できなかった場合、感染を続けることができない。レトロウイルス cDNA 組込みの過程、組込み前複合体 (pre-integration complex: PIC) を介した、は図 1 A に図示されている。前記感染反応に影響すると示されている宿主因子は、これに限定されるものではないが、高移動度タンパク質ファミリー (HMG I (Y))、自己組込み因子バリアー (BAF)、DNA 依存性タンパク質キナーゼ (DNA-PK)、Ku70/80 ヘテロダイマー、XRCC4、及びリガーゼ IV を含む (Farnet, C. M., and F. D. Bushman. HIV-1 cDNA integration: requirement of HMG I (Y) protein for function of preintegration complexes in vitro. Cell, 88: 483~492, 1997; Lee, M. S., and R. Craigie. A previously unidentified host protein protects retroviral DNA from autointegration. Proceedings

10

20

30

40

50

of the National Academy of Sciences, 95: 1528~1533, 1998; Daniel, R., R. A. Katz, A. M. Skalka. A role for DNA-PK in retroviral DNA integration. Science, 284, 1999; Li, L., J. M. Olvera, K. E. Yoder, R. S. Mitchell, S. L. Butler, M. Lieber, S. L. Martin, and F. D. Bushman. Role of the non-homologous DNA end-joining pathway in the early steps of retroviral infection. EMBO Journal, 20: 3272~3281, 2001)。HMG I(Y)及びBAFの両方は、HIVレトロウイルスcDNA組込みをin vitroで刺激することが示されていた。XRCC4、Ku70/80ヘテロダイマー、及びリガーゼIVタンパク質は非相同性末端結合(NHEJ)を触媒し、直線型のレトロウイルスcDNAを末端反復配列(LTR)で結合した環状分子(2-LTR)へ変換することができる(図1B)(Li, L., J. M. Olvera, K. E. Yoder, R. S. Mitchell, S. L. Butler, M. Lieber, S. L. Martin, and F. D. Bushman. Role of the non-homologous DNA end-joining pathway in the early steps of retroviral infection. EMBO Journal, 20: 3272~3281, 2001)。レトロウイルスcDNAのこの2-LTR環状形成は宿主細胞ゲノムへの組込みを不可能にする(Brown, P. O., B. Bowerman, H. E. Varmus, and J. M. Bishop. Retroviral integration: structure of the initial covalent product and its precursor, and a role for the viral IN protein. Proceedings of the National Academy of Sciences, 86: 2525~2529, 1989; Engelman, A., G. Englund, J. M. Orenstein, M. A. Martin, and R. Craigie. Multiple effects of mutants in human immunodeficiency virus type 1 integrase on viral replication. Journal of Virology, 69: 2729~2736, 1995)。直線型レトロウイルスcDNAの選択性運命は、前記LTR間の相同性組換えによって形成された1-LTR環の形成である(図1B)。

【0069】

ここに示された結果は、前記レトロウイルスcDNAの1-LTR及び2-LTR環の形成の刺激、例えば宿主細胞のDNA修復経路の誘導によってなど、は前記宿主ゲノムへのレトロウイルスcDNA組込み、及び従ってレトロウイルス感染力を阻害することを示している。代わりに、レトロウイルスcDNAの1-LTR及び/若しくは2-LTR環形成の阻害、例えばDNA修復経路の阻害などによる、は宿主細胞ゲノムへのレトロウイルスcDNA組込み、及び従ってレトロウイルス感染力を増加する。

【0070】

DNA修復遺伝子は組込みの効率を制御する

レトロウイルス感染の間、ほぼ全ての前記直線型ウイルスcDNAは宿主ゲノムへ組込みする若しくは1-LTR或いは2-LTR環になる(Zennou, V., C. Petit, D. Guetard, U. Nerhbass, L. Montagnier, and P. Charneau. HIV-1 genomic nuclear import is mediated by a central DNA flap. Cell, 101: 173~185, 2000; Butler, S. L., M. S. T. Hansen, and F. D. Bushman. A quantitative assay for HIV DNA integration in vivo. Nature Medicine, 7: 631~634, 2001)。1-LTR若しくは2-LTR環形

成を仲介する宿主因子の誘導は 1 - L T R 若しくは 2 - L T R 環の数を増加し、それによって組込み現象の数の減少にを生じる。逆に、1 - L T R 若しくは 2 - L T R 環形成を仲介する宿主因子の阻害若しくはノックアウトは、レトロウイルス c D N A 環状かを減少し、それによって組込み現象の数の増加が生じる (表 1)。ここに示された本発明は、組込みに対して形質転換受容性 (コンピテント) な直線型レトロウイルス c D N A 分子が 1 - L T R 若しくは 2 - L T R 環形成の選択性デッドエンド (dead-end) 経路へ向けられる戦略を記載する。本発明は 1 - L T R 若しくは 2 - L T R 環形成を阻害することによってレトロウイルス c D N A 組込み現象の数を増加するための戦略も記載する。酵母研究は、組込みを制御するこのシステムの能力は非常に高いことを示唆する。

【0071】

酵母 (*Saccharomyces*) はレトロウイルス様要素ファミリー Ty (レトロトランスポゾンと呼ばれる) を含むことが示されていた。前記 Ty レトロトランスポゾンファミリーは、レトロウイルスを示している gag 及び pol 遺伝子を含む。前記 gag 遺伝子はウイルス様粒子に関連する構造タンパク質の全てをコード化している。前記 pol 遺伝子は逆転写酵素、プロテアーゼ、インテグラーゼを含む。ポリプロテインは前記 gag 及び pol 遺伝子から翻訳され、次にプロテアーゼによって機能タンパク質へとプロセッシングされる。Ty は外被 (env) 遺伝子を欠いている。env 遺伝子なしでは Ty 粒子は酵母細胞から出芽することはできず、それ故細胞外には存在しない。従って、Ty ゲノム DNA は転写されウイルス様粒子として細胞質中にパッケージされ、次に脱外被され、逆転写され、前記酵母ゲノムへ組み込まれる。生活環の細胞外段階の欠如は、Ty をトランスポゾンとして定義する。

【0072】

酵母中の Ty トランスポゾンの研究はいくつかの酵母細胞性 DNA 修復遺伝子はレトロウイルス c D N A 組込みの効率を制御することを示していた。これらの修復遺伝子は、これに限定されるものではないが、rad25、rad3、rad50、rad51、rad52、rad54、rad57 を含む (例えば表 1 参照のこと: Lee, B. - S., C. P. Lichtenstein, B. Faiola, L. A. Rinckel, W. Wysock, M. J. Curcio, and D. J. Garfinkel. Posttranslational inhibition of Ty1 retrotransposition by nucleotide excision repair / transcription factor TFIIH subunits Ssl2p and Rad3p. *Genetics*, 148:1743~1761, 1998; Rattray, A. J., B. K. Shafer, and D. J. Garfinkel. The *Saccharomyces cerevisiae* DNA recombination and repair functions of the RAD52 epistasis group inhibit Ty1 transposition. *Genetics*, 154:543~556, 2000)。これらの遺伝子の変異は組込み効率の大きな増加を導く。逆に、野生型 DNA 修復遺伝子 / タンパク質の存在は前記組込み反応を大きく減少させる若しくは阻害する。

【0073】

相同性組換えの 3 タイプは真核生物中で同定されており、それらは組換えを誘導する配列相同性の量によって区別されている: マイクロ相同性組換え (関与している親 DNA 分子間の 1 ~ 5 塩基対の相同性配列を必要とする)、短配列組換え (関与している親 DNA 分子間の 20 ~ 300 塩基対の相同性配列を必要とする)、及び相同性組換え (関与している親 DNA 分子間の 300 塩基対以上の相同性配列を必要とする)。マイクロ相同性組換えは Rad50p、MRE11p、XRS2 (NBS1)p、及び DNA リガーゼ (XRCC4 / Lig4p) を必要とするように見える。短配列及び相同性組換えは、これに限定されるものではないが、RAD51 と、RAD52 と、RAD54 と、RAD55 と、RAD57 と、RAD59 を含む rad52 経路遺伝子を必要とするように見える。加えて、rad3 及び rad25 遺伝子は短配列相同性組換え経路の一部になることが発見

10

20

30

40

50

されていた。これら組換え経路遺伝子の全てはヒト相同体を有しており、前記経路のタイプの全てはヒト細胞中に保存されている。

【0074】

実は、酵母 *S. cerevisiae* 中の Ty レトロトランスポゾン組込みを阻害する若しくは阻止する同じ宿主防御メカニズムは、ヒトを含む哺乳動物細胞中にも保存されている。例えば、酵母遺伝子 *rad25*、*rad3*、*rad1*、*rad2*、*rad14*、*rad50*、*rad51*、*rad52*、*rad54*、*rad57*、*msh2*、及び *cdc9* のヒト相同体はそれぞれ *XPB*、*XPB*、*XPB*、*XPB*、*XPB*、*hRAD50*、*hRAD51*、*hRAD52*、*hRAD54*、*hRAD57*、*hMSH2* 及び *リガーゼ I* である。多くのヒト遺伝子、これに限定されるものではないが、*XPB*、*XPB*、*hRAD51*、*hMSH2*、*hRAD51B*、*hRAD51C*、*hRAD51D*、*hXRCC2*、*hXRCC3* を含む、は相同性組換えに関連するヒト DNA 修復経路の化合物として同定されていた。*Rad25p* と *Rad3p*、*XPB* と *XPB* の各前記ヒト相同体は外因性 DNA の組換えを阻害する (図 2)。 *XPB* と *XPB* は、タンパク質の 2 つの大きな複合体：転写複合体 *TFIIH* 及びヌクレオチド除去修復 (NER) 複合体、に關与するヘリカーゼになると示されていた。ヒトにおいて、7 つの NER 遺伝子 (*XPB*、*XPB*、*XPB*、*XPB*、*XPB*、*XPB*、及び *XPB*) の少なくとも 1 つでの変異は、欠損 NER に關連する遺伝病である *xeroderma pigmentosum* (*XP*) を引き起こす。NER 因子は共に働き、障害性 DNA 上に多タンパク質複合体を形成する (*Riou, L., L. Zeng, O. Chevallier-Lagente, A. Stary, O. Nikaido, A. Taieb, G. Weeda, M. Mezzina, and A. Sarasin. The relative expression of mutated XPB genes results in xeroderma pigmentosum / Cockayne's syndrome or trichothiodystrophy cellular phenotypes. Human Molecular Genetics, 8: 1125 ~ 1133, 1999*)。 10 20

【0075】

本発明は、前記 DNA ヘリカーゼ *XPB* 及び *XPB* は、レトロウイルス cDNA を環状化、例えば 1 - LTR 環などに、するための前記直線型レトロウイルス cDNA の形質転換に關与することを示す。1 - LTR 環の形成は、レトロウイルス cDNA の直接反復 LTR 間の相同性組換えによって制御される。レトロウイルス cDNA 組換え阻害のレベルは逆に *in vivo* の *XPB* 修復活性のレベルに比例している (図 2)。 30

【0076】

第 2 の宿主細胞性 DNA 修復メカニズムである非相同性末端結合 (NHEJ) は、2 - 末端反復配列 (2 - LTR) 環を形成するために前記レトロウイルス cDNA の末端に連結する。前記タンパク質 DNA-PK、Ku70/80 ヘテロダイマー、XRCC4、リガーゼ IV、hMRE11、hRAD50、及び XRS2 (NBS1) は NHEJ に關与している。Ku70/80 ヘテロダイマー、リガーゼ IV、XRCC4 を含む前記 NHEJ 経路のメンバーは、前記直線型レトロウイルス cDNA を、前記末端反復 (LTR) 配列に結合した環状分子 (2 - LTR) へ変換すると示されていた (図 1B)。 40

【0077】

DNA 修復経路及び抗レトロウイルス作用

DNA 修復経路の少なくとも 1 つの化合物の阻害はレトロウイルス cDNA 組込みを増加する。DNA 修復経路の少なくとも 1 つの化合物の刺激はレトロウイルス cDNA 組込みを減少する。

【0078】

本発明のいくつかの態様において、DNA 修復経路内の遺伝子及び/若しくはタンパク質は誘導され、DNA 修復はレトロウイルス cDNA 組込みを阻害するために刺激される。本発明のいくつかの実施形態において、DNA 修復経路中の遺伝子の発現は上方制御され、それによって DNA 修復経路の少なくとも 1 つの化合物の産生が増加する。本発明の 50

いくつかの実施形態において、DNA修復に関与するタンパク質の生物活性若しくは機能は、DNA修復経路の少なくとも1つの化合物と直接的に若しくは間接的に相互作用する化合物によって誘導される。

【0079】

本発明のいくつかの態様において、DNA修復経路内の遺伝子及び/若しくはタンパク質はレトロウイルスcDNA組込みを増加するために阻害される。本発明のいくつかの実施形態において、DNA修復経路中の遺伝子の発現は下方制御され、それによってDNA修復経路の少なくとも1つの化合物の産生が減少する。本発明のいくつかの実施形態において、DNA修復経路に関与するタンパク質の生物活性若しくは機能はDNA修復経路の少なくとも1つの化合物と直接的に若しくは間接的に相互作用する化合物によって減少される。

10

【0080】

化合物のスクリーニング

本発明は宿主ゲノムへのレトロウイルスcDNA組込みを調節する化合物を同定する方法を提供する。本発明のいくつかの態様において、DNA修復経路の成分は、DNA修復経路の成分を特異的に誘導する或いは阻害する分子、若しくはそれらの活性を増強する或いは減少するためにDNA修復経路の成分と結合する分子を検出するためのスクリーニング方法で用いられていた。1実施形態において、そのようなアッセイは抗レトロウイルス薬剤、もしくは薬剤開発用のリード化合物として有用である分子のスクリーニングのために実行される。

20

【0081】

宿主ゲノムへのレトロウイルスcDNA組込みを調節する化合物のスクリーニング方法は、テスト化合物存在下で細胞或いは細胞抽出物を非環状化レトロウイルスcDNAと接触させる工程と、生じたレトロウイルスcDNA環状化を測定する工程とを含む。テスト化合物存在下で生じたレトロウイルスcDNA環状化の量は、前記テスト化合物で処理していない比較可能な反応培地中で生じるレトロウイルスcDNA環状化と比較される。レトロウイルスcDNA組込みを増加する化合物は、前記テスト化合物非存在下の対照と比較してレトロウイルスcDNA環状化の減少を生じる。レトロウイルスcDNA組込みを減少する化合物は、前記テスト化合物の非存在下の対照と比較してレトロウイルスcDNA環状化の増加を生じる。

30

【0082】

DNA修復を誘導する化合物をスクリーニングする方法は、1若しくはそれ以上のテスト化合物を、目的の生物（この生物はこれに限定されるものではないが、鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、及びヒトを含む多くの異なる種の1つであり得る）のDNA修復経路の1若しくはそれ以上の成分と、適切な反応培地中で接触させる工程と、化合物/成分相互作用を例えばDNA修復経路の活性、若しくはその成分を評価することによって検定する工程と、この活性を前記テスト化合物で処理していない比較可能な反応培地中の活性と比較する工程とを含む。処理されたサンプルと未処理のサンプル間の活性の違いは、関連するテスト化合物の調節効果の指標である。DNA修復に影響を及ぼす若しくは調節する実際の能力をスクリーニングされる前に、テスト化合物はDNA修復経路の成分と物理的に相互作用する能力をスクリーニングされる。これは、例えば化合物による生物活性を調節する実際の能力を検定する前の粗いスクリーニングとして用いられる。

40

【0083】

前記スクリーニングアッセイ中で用いられたDNA修復経路の前記成分は、前記テスト化合物にさらされるために細胞中に提供される。代わりに前記アッセイは*in vitro* DNA修復システムにおいて実行され、これは無傷DNAを制限エンドヌクレアーゼ、化学薬品、放射線、若しくは組換えレトロウイルスと処理することによって作られたDNA鎖切断を連結する精度及び効率を測定する。

【0084】

50

DNA修復経路の活性化は分解からの宿主DNAの保護、従ってレトロウイルスcDNA組込みからの保護を導く。DNA修復経路の活性化はDNA二本鎖切断(DSBs)によって、DNA二重らせん中の一本鎖ギャップによって、若しくはDNA二重らせんの他の破壊によって引き起こされる。これらの構造はレトロウイルスcDNAの末端に存在し、レトロウイルスcDNA組込みの過程の中間体として生じる。DNA修復、レトロウイルス或いはレトロウイルスcDNA、レトロウイルスcDNA組込みでの中間体、若しくはこれらの全てを擬態するDNAの合成標品に対するアッセイが提供される。

【0085】

本発明の方法は、レトロウイルスcDNA環(1-LTR若しくは2-LTR)形成を調節するそれらの能力によってDNA修復及び/若しくはレトロウイルスcDNA組込みを調節する化合物を同定する。前記テスト化合物によるDNA修復の誘導若しくはレトロウイルスcDNA組込みの阻害は、レトロウイルスcDNA環形成の増加によって変えられる。前記テスト化合物によるDNA修復の阻害若しくはレトロウイルスcDNA組込みの刺激は、レトロウイルスcDNA環形成の減少によって変えられる。レトロウイルスcDNA環形成は標準遺伝的、生物化学的、細胞性、若しくは組織学的技術を用いてスコア化される。本発明を制限する意味ではないが、例えばレトロウイルスベクターは、1-LTR環の形成を導く前記短配列相同性組換え、若しくは2-LTR環の形成を導く非相同性末端結合の結果、プロモーターとこれに限定されるものではないが例えば緑色蛍光タンパク質(GFP)などの環状化マーカー遺伝子とが近位になるように設計される。前記マーカー遺伝子に対する前記プロモーターの近接は、GFPなどの前記マーカー遺伝子の発現に起因し、それにより細胞性若しくは生物化学的技術によって発現したマーカー遺伝子を直接測定することが可能になる。本発明はDNA修復経路の成分の生物活性に影響を与えるテスト化合物の能力を検定することも考慮している。従って、例えば化合物はDNA-PKリン酸化などに影響を与えるそれらの能力を検定される。

【0086】

DNA修復経路の発現した組換えタンパク質成分を有する有機若しくはペプチドライブラリーのスクリーニングは、DNA修復経路の活性を調節する薬剤的分子の同定に有用である。1実施形態においてスクリーニングは、1-LTR若しくは2-LTR形成の誘導によって決定されるような、DNA修復を刺激する化合物を選択するために実行される。別の実施形態においてスクリーニングは、1-LTR若しくは2-LTR形成の阻害によって決定されるような、DNA修復を阻害する化合物を選択するために行われる。

【0087】

ランダム若しくは組合わせペプチドライブラリー若しくは非ペプチドライブラリーなどの多様性ライブラリーは、DNA修復を特異的に刺激する若しくは阻害する分子に対しても検定される。多くのライブラリーは本分野で知られており、限定するものではないが、例えば化学的合成ライブラリー、組換え(例えばファージディスプレイライブラリーなど)及びin vitro翻訳ベースライブラリーなどが用いられ得る。非ペプチドライブラリーの1例として、ベンゾジアゼピンライブラリーが用いられる。ペプチドライブラリーも用いられる。用いられるライブラリーの別の例として、ペプチド中のアミド官能性は化学的に形質転換組み合わせライブラリーを作成するためにパーメチル化された。これらの方法は当業者にはよく知られており、標準分子技術参考文献中に見つけることができる。

【0088】

ライブラリーをスクリーニングすることは一般に知られた方法のあらゆる多様性によって達成され得る。

【0089】

テストシステム

本発明の方法のための宿主細胞は好ましくは真核細胞である。酵母の操作の容易さを考えると、本発明に従ったアッセイはテスト化合物を酵母システムに適用する工程を含む。これに限定されるものではないが、ヒト細胞及びトリ細胞(例えばDT40細胞など)を

含む哺乳動物細胞、及び植物細胞も本発明の方法で用いられる。

【0090】

治療目的のために、DNA修復経路、若しくはその1若しくはそれ以上の成分（若しくはサブユニット）は前記アッセイで用いられる。前記DNA修復経路、若しくはその成分は、これに限定されるものではないが例えば鳥、ネコ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、及びヒトである。異なる真核生物中のDNA修復成分間の高保存を考えると、哺乳動物例えばヒトのシステム中で前記化合物を用いて同様な結果が得られる。言い換えると、酵母中でDNA修復を誘導できると同定された化合物は他の真核生物中でDNA修復を誘導できる。更なるアプローチは、別の真核生物例えばヒトなどのDNA修復経路の1若しくはそれ以上の成分若しくはサブユニットを発現する酵母細胞を作成するために、標準組換え技術を用いることである。植物DNA修復経路、若しくはその1若しくはそれ以上の成分或いは前記成分を有する細胞も、植物中のレトロトランスポゾン若しくはレトロエレメント活性を調節するのに有用である化合物を検定するための、本発明に従ったアッセイで用いられる。

10

【0091】

代わりに、本発明の方法における化合物をスクリーニングするシステムは無細胞系、例えば細胞抽出物中である。

【0092】

前記スクリーニング方法によって同定された化合物

本発明に従ったアッセイで検定しポジティブであった化合物、すなわちレトロウイルスcDNA組込みを阻害する及び/若しくはDNA修復を刺激すると見出された化合物、若しくは代わりにDNA修復を阻害する及び/若しくはレトロウイルスcDNA組込みを増加すると見出された化合物、は天然でペプチド若しくは非ペプチドである。ここで用いられるように、“化合物”という用語はあらゆる同定可能な化学薬品若しくは分子を意味しており、これに限定されるものではないが、小分子、ペプチド、タンパク質、糖、ヌクレオチド、或いは核酸、及び天然の若しくは合成されたそのような化合物を含む。そのような化合物は例えば抗体、アンチセンスオリゴヌクレオチド、及び小分子を含む。本発明のスクリーニング方法によって同定された“化合物”は、DNA修復及び/若しくはレトロウイルスcDNA組込みに同じ機能的効果を有するその相同体及び擬態に加えてそのように同定された化合物を含む。

20

30

【0093】

アンチセンス及びsiRNA

本発明の方法に従って同定されたDNA修復を阻害する化合物は、DNA修復経路の成分に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド及び低分子干渉RNA（siRNA）分子を含む。

【0094】

アンチセンスオリゴヌクレオチドはDNA修復経路の少なくとも1つの成分を破壊するために細胞若しくは細胞抽出物へ投与される。前記アンチセンスオリゴヌクレオチドはDNA修復経路の成分をコード化するポリヌクレオチドにハイブリダイズする。完全長及びポリヌクレオチド断片の両方はアンチセンスオリゴヌクレオチドとしての使用に適している。本発明の“アンチセンスオリゴヌクレオチド断片”はこれに限定されるものではないが、DNA修復経路の成分をコード化する（他の既知ポリペプチドをコード化するオリゴヌクレオチドに対する、DNA修復経路の成分をコード化するオリゴヌクレオチドの配列比較によって決定されたような）DNA若しくはRNAに特異的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドを含む。本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドの例として、これに限定するものではないが、配列ID：1若しくは配列ID：3とハイブリダイズするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。DNA修復成分コード化オリゴヌクレオチドに対して実質的に独特である配列の同定はあらゆる公共に利用可能な配列データベースの解析によって、及び/若しくはあらゆる商業的に利用可能な配列比較プログラムで確認され得る。アンチセンス分子は、これに限定されるものではないが、化学合成、in vitro転

40

50

写反応中の発現、アンチセンス分子を産生するように転写されたベクターを有する形質転換細胞中の発現、制限消化及び単離、ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）およびそれらと同等なものを含むあらゆる手段によって作成される。

【0095】

当業者は、DNA修復経路の成分の発現及び/若しくは生物活性を阻害する前記アンチセンスオリゴヌクレオチドは、DNA修復経路の成分をコード化するあらゆる遺伝子を用いることを予想していることに気が付く。特に、アンチセンス核酸分子は少なくとも5、10、15、20、25、30、35、40、45、50、100、250若しくは500ヌクレオチドに対して相補的な配列、若しくは完全DNA修復遺伝子配列を有する。好ましくは、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドはDNA修復成分コード化配列の有意鎖の約15連続ヌクレオチドに相補的な配列を有する。 10

【0096】

1実施形態において、アンチセンス核酸分子はDNA修復経路成分タンパク質をコード化しているヌクレオチド配列の有意鎖の"コード領域"に対してアンチセンスである。前記有意鎖はDNA修復経路成分配列の制御領域も含む。"有意鎖"という用語はアミノ酸残基へ翻訳されるコドンを含むヌクレオチド配列の領域を意味している。別の実施形態において、アンチセンス核酸分子はDNA修復タンパク質をコード化しているヌクレオチド配列の有意鎖の"非コード領域"に対するアンチセンスである。"非コード領域"という用語は、アミノ酸へ翻訳されない前記コード領域に隣接する5'及び3'配列を意味している（すなわち5'及び3'非翻訳領域（UTR）としても言及されている）。 20

【0097】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、DNA修復タンパク質をコード化しているヌクレオチド配列、若しくはそれに対応するmRNAの制御領域を意味しており、これに限定するものでないが、開始コドン、TATAボックス、エンハンサー配列、及びそれと同等のものを含む。ここに提供された前記有意鎖配列を考えると、本発明のアンチセンス核酸はWatson and Crick若しくはHoogsteen塩基対のルールに従って設計され得る。前記アンチセンス核酸分子はDNA修復成分mRNAの完全コード領域に対して相補的であるだけでなく、前記mRNAのコード領域若しくは非コード領域の一部のみに対するアンチセンスであるオリゴヌクレオチドである。例えば、前記アンチセンスオリゴヌクレオチドはmRNAの翻訳開始部位の周りの領域に対して相補的であり得る。 30
アンチセンスオリゴヌクレオチドは例えば長さ約5、10、15、20、25、30、35、40、45、若しくは50ヌクレオチドであり得る。

【0098】

本発明に従ったDNA修復経路成分の活性を阻害するための別の手段は、RNA干渉（RNAi）を介してである（例えば、Elbashir et al., Nature, 411: 494~498 (2001); Elbashir et al., Genes Development, 15: 188~200 (2001)を参照のこと）。RNAiは配列特異的、転写後遺伝子サイレンシングの過程であって、サイレンス遺伝子に対する配列中の相同体（例えばDNA修復経路成分の配列に対する配列中の相同体であり、これに限定されるものではないが例えば配列ID: 1若しくは配列ID: 3に説明されたような配列である。）である二本鎖RNA（dsRNA）によって開始される。siRNA仲介サイレンシングは転写後に及び/若しくは転写性に起こると考えられている。例えばsiRNA二本鎖は、mRNA認識及び標的切断を導くsiRNA-タンパク質複合体（siRNPs）の再構成によって転写後遺伝子サイレンシングを仲介する。 40

【0099】

従って、本発明のDNA修復経路阻害化合物の別の形態は、DNA修復経路成分コード配列に対する低分子干渉RNA（siRNA）である。siRNAの例としては、siRNA二本鎖（例えば長さ10~25、好ましくは20、21、22、23、24、若しくは25残基である）であり、これらは相同性の配列、若しくは配列ID: 1として説明されているXPB配列と；配列ID: 3のXPD配列の断片と同一である配列を有しており 50

、対照的な 2 - ヌクレオチド 3' オーバーハングを有している。前記 2 - ヌクレオチド 3' オーバーハングは好ましくは (2' デオキシ) チミジンから成り、なぜならそれは RNA 合成のコストを減らし、細胞培養培地中及び形質移入された細胞内の siRNA のヌクレアーゼ抵抗性を増強するからである。3' オーバーハング中のチミジンによるウリジンの置換は哺乳動物細胞中で許容され、前記オーバーハングの配列は標的認識に貢献しないように見える。

【0100】

抗体

本発明により、抗体 (例えばモノクローナル及びポリクローナル抗体、一本鎖抗体、キメラ抗体、二機能性/二重特異性抗体、ヒト化抗体、ヒト抗体、及び本発明のポリペプチドを特異的に認識する CDR 配列を含む相補性決定領域 (CDR) 移植抗体など) も含まれ、この抗体は DNA 修復経路の成分若しくはその断片に特異的である。本発明の好ましい抗体はヒト抗体であり、これは 1993 年 6 月 20 日に公開された国際特許第 WO 93 / 11236 号に記載された方法に従って作成され同定される。Fab、Fab'、F(ab')₂、及び Fv を含む抗体断片も本発明によって提供される。本発明の抗体を描写するために用いられる際 "特異的である" という用語は、本発明の抗体の可変領域は DNA 修復経路の成分を独占的に認識し結合することを意味している (すなわち、同一性、相同性若しくは類似性局在配列が存在する可能性があるのにも関わらず、結合親和性における測定可能な違いの特性によって他の既知分子から前記成分を区別できる)。特異的抗体は他のタンパク質 (例えば ELISA 技術における S. aureus タンパク質 A 若しくは他の抗体) と、特に前記分子の定常部中の前記抗体の可変領域の外の配列との相互作用を介して、相互作用することが理解される。本発明の抗体の結合特異性を決定するためのスクリーニングアッセイはよく知られており、本分野では日常的に実験されている。そのようなアッセイの包括的な議論は、Harlow ら (編集), ANTIBODIES A LABORATORY MANUAL; Cold Spring Harbor Laboratory; Cold Spring Harbor, NY (1988), 第 6 章を参照のこと。本発明の DNA 修復経路の成分の断片を認識し結合する抗体は、前記抗体が DNA 修復経路の成分に特異的であることも検討され、提供される。本発明の抗体はよく知られており本分野では日常的に行われているあらゆる方法を用いて作成され得る。

【0101】

本発明は DNA 修復経路の成分若しくはそのエピトープに特異的である抗体を提供する。本発明の抗体の例としてこれに限定されるものではないが、配列 ID: 2 若しくは配列 ID: 4 のアミノ酸配列、若しくはそのエピトープに対する抗体を含む。抗体特異性は以下に詳細に記載されている。交差 (cross-reactive) 抗体は DNA 修復経路の成分に "特異的" な抗体ではない。抗体が特異的か若しくは他の分子との交差 (cross-reactive) かの決定は、本分野でよく知られているいくつかのアッセイ、例えばウエスタンブロッティングアッセイなどを用いてなされる。

【0102】

好ましい 1 応用において、本発明はモノクローナル抗体を提供する。そのような抗体を産生するハイブリドーマも本発明の態様として意図される。別の応用において、本発明はヒト化抗体を提供する。ヒト化抗体は in vivo 治療指標に有用である。

【0103】

別の応用において、本発明はポリクローナル光来を有する無細胞組成物を提供し、そこにおいて前記抗体の少なくとも 1 つは DNA 修復経路の成分に特異的である本発明の抗体である。動物から単離された抗血清は例示的な組成物であり、水に若しくは別の希釈液、賦形剤、若しくは担体中に懸濁された抗血清の抗体フラクションを有する組成物である。

【0104】

更なる関連実施形態において、本発明は DNA 修復経路の成分に特異的な抗体に特異的な抗イディオタイプ抗体を提供する。

抗体は化学的に若しくは組換え技術によって単離され得る比較的小さな抗原結合ドメイン

10

20

30

40

50

を含むことが知られている。そのようなドメインはDNA修復経路成分結合分子それ自身に有用であり、ヒト抗体へ再導入される若しくは毒若しくは他のポリペプチドと融合される。従って更なる別の実施形態において、本発明はDNA修復経路成分特異的抗体の断片を有するポリペプチドを提供し、そこにおいては前記断片及び前記ポリペプチドはDNA修復経路の成分に結合する。限定されない例において、本発明は一本鎖抗体及びCDR（相補性決定領域）-移植抗体であるポリペプチドを提供する。

【0105】

非ヒト抗体は本分野は知られたあらゆる方法によってヒト化される。1つの方法において、前記非ヒトCDRsはヒト抗体若しくはコンセンサス抗体フレームワーク配列へ挿入される。さらに、次には親和性若しくは免疫原性を調節するために抗体フレームワークへ変化が導入される。

10

【0106】

本発明の抗体は例えば治療目的（DNA修復経路の成分の活性を調節することによって）に有用である。

【0107】

擬態

ここで同定された成分の擬態若しくは模倣（構造の重要な部分を模倣するように処方された立体的に同じ化合物）は薬剤的使用に対して設計される。擬態は、DNA修復を刺激しそのため機能的に等価物でもある本発明によって同定された化合物と同じ方法で用いられる。構造的・機能的等価物の産生は当業者に知られたモデリング及び化学設計の技術によって達成される。全てのそのような立体的に同じ構成は本発明の範囲内に収まることは理解されるだろう。

20

【0108】

既知の薬剤的活性化合物に対する擬態の設計は、“リード”化合物に基づく医薬品開発のための既知のアプローチである。活性化合物は合成が困難で高価である、若しくは投与の特定の方法に適していない、例えばペプチドは消化性管中のプロテアーゼによって素早く消化される傾向があるため、経口組成物に対する活性因子には適していないため、これが望ましい。DNA修復を誘導する化合物からの擬態の設計で共通して行われるいくつかの過程がある。まず、そのDNA修復誘導特性を決定する上で重大及び/若しくは重要である前記化合物の特異的部分が決定される。ポリペプチドの場合、これは前記ペプチド中の前記アミノ酸残基を系統的に変化することによって、例えば各残基を順番に置換することによってなどで、行われ得る。ペプチドのアラニン走査（スキャン）はそのようなペプチドモチーフを精製するために共通的に用いられる。

30

【0109】

一度前記化合物の前記活性領域が同定されたら、その構造は例えば立体化学、結合、大きさ及び/若しくは電荷などのその物理的特性に従って、これに限定されるものではないが、分光技術、X線回折データ、及びNMRなどのソースの範囲からのデータを用いてモデル化される。当業者には知られているコンピュータ的解析、類似度マッピング（原子間の結合よりは電荷及び/若しくは前記活性領域の量をモデル化する）、及び他の技術はこのモデル化過程において用いられ得る。

40

【0110】

このアプローチの応用において、DNA修復を誘導する前記化合物の3次元構造とDNA修復経路の標的成分の活性領域とはモデル化される。これら化合物のどちらか若しくは両方は結合における高次構造を変化するのでこれは特に有用である。

【0111】

次に、DNA修復を誘導する化合物を擬態する化学基が移植される化学基に鋳型分子が選択される。その中に移植された前記鋳型分子及びその化学基は都合よく選択され、前記擬態の合成が容易になり、薬剤的に許容可能になり、前記リード化合物の生物活性を残したままin vivoで分解されない。あるいは、前記擬態がペプチドベースの状態で、さらに安定性は前記ペプチドの開環によって達成され、それによってその硬度が増加する

50

。従って前記擬態若しくはこのアプローチによって発見された擬態は次に本発明の方法によってスクリーニングすることによって、それらがDNA修復を誘導する能力を有しているかどうかを検討される。さらに次に *in vivo* 若しくは臨床テスト用の1若しくはそれ以上の最終擬態に到達するように最適化若しくは修飾が実行される。

【0112】

薬剤組成物

DNA修復を誘導する及び/若しくはレトロウイルスcDNA組込みを阻害する、若しくは代わりにDNA修復を阻害する及び/若しくはレトロウイルスcDNA組込みを刺激する化合物の同定に従って、前記化合物は製造される及び/若しくは薬剤組成物の調製で用いられる。これらはこれに限定されるものではないが、鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、及びヒトを含む患者に投与される。

10

【0113】

従って本発明は様々な態様、すなわちここに開示された方法に従って同定された化合物だけでなく、薬剤組成物、薬剤、若しくはそのような化合物を有する他の組成物と；例えばレトロウイルス疾患の治療のため（予防的治療を含む）若しくは遺伝子治療の遺伝子運搬の効率を改善するためのそのような組成物の患者への投与方法と；患者へ投与するための組成物の製造におけるそのような化合物の使用と；そのような化合物と、薬剤的に許容可能な賦形剤、媒体若しくは担体と、任意に他の成分との混合物を有する組成物を作成する方法へと拡張する。

【0114】

本発明の前記薬剤組成物は、ここに開示された方法に従って同定された化合物、若しくはその薬剤的に許容可能な塩類の治療的に有効な量と、薬剤的に許容可能な担体若しくは賦形剤とを有する。

20

【0115】

本発明の前記化合物は中性若しくは塩形態として処方され得る。薬剤的に許容可能な塩類は、例えば塩酸、リン酸、酢酸、シュウ酸、酒石酸などから由来した塩類などの遊離アミノ基と共に処方された塩類と、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム、水酸化第2鉄、イソプロピルアミン、トリエチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインなどから由来した塩類などの遊離カルボキシル基と共に処方された塩類とを含む。

30

【0116】

薬剤的に許容可能な担体は、これに限定されるものではないが、生理食塩水、リン酸緩衝食塩水、ブドウ糖、水、グリセロール、エタノール、及びその組合せを含む。前記担体及び組成物は無菌である。前記調製は投与形態に適しているべきである。

【0117】

もし望まれれば前記組成物は、少量の湿潤剤或いは乳化剤、若しくはpH緩衝剤を含むこともできる。前記組成物は液体、懸濁液、乳剤、錠剤、ピル、カプセル、徐放性処方、若しくは粉末であり得る。前記組成物は、従来の結合剤とトリグリセリドなどの担体とを有する坐薬として処方され得る。経口処方は例えばマンニトール、ラクトース、デンプン、マグネシウムステアリン酸、セルロース、マグネシウム炭酸塩、などの標準的な担体を含む。

40

【0118】

1実施形態において、前記組成物は、対象への経口（例えば錠剤、顆粒、シロップ）若しくは非経口（例えば軟膏、注射）投与に適応した薬剤組成物として通常の手順に従って処方される。様々な運搬システムが知られており、DNA修復を誘導する及び/若しくはレトロウイルスcDNA組込みを阻害する化合物を投与するために、例えばリポソーム中への封入、微粒子、マイクロカプセル、組換え細胞による発現、レセプター仲介エンドサイトーシス、レトロウイルスもしくは他のベクターの一部として治療的核酸の構成などが用いられる。導入の方法はこれに限定されるものではないが、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、局所的、及び経口経路を含む。

50

【0119】

本発明の前記化合物は、例えば注入若しくは大量瞬時投与や、上皮若しくは粘膜皮膚内面（例えば口腔粘膜、直腸及び腸管粘膜など）を介した吸収などによるあらゆる便利な経路によって投与され、例えばH A A R T治療などで他の生物的活性因子と共に投与される。投与は全身的若しくは局所的である。加えて本発明の薬剤組成物は、脳室内及びくも膜下腔内注射を含むあらゆる適した経路によって、中枢神経系にも導入されることが望ましい；前記脳室内注射は例えばO m m a y a貯蔵所などの貯蔵所に付属している脳室カテーテルによって容易になる。

【0120】

特定の実施形態において、本発明の前記薬剤組成物は治療が必要な領域に局所的に投与されることが望ましく、これはこれに限定されるものではないが例えば手術中の局所的注射、局所的な適用（例えば手術後の創傷包帯剤と併せる）、注射、カテーテル手段、坐薬手段、若しくは移植手段によって達成され、前記移植は多孔性、非多孔性、若しくはs i a l a s t i c膜若しくは線維などの膜を含むゼラチン質物質である。

10

【0121】

前記組成物はユニット用量形態で投与され、薬剤分野ではよく知られたあらゆる方法、例えばR E M I N G T O N ' S P H A R M A C E U T I C A L S C I E N C E S (M a c k P u b l i s h i n g C o . , E a s t o n , P A) に記載されたような方法によって調製される。DNA修復を誘導する及び／若しくはレトロウイルスcDNA組込みを阻害する、若しくは代わりにDNA修復を阻害する及び／若しくはレトロウイルスcDNA組込みを増加する、特異的障害若しくは状態の治療に効果的である本発明の前記化合物の量は、これに限定されるものではないが、用いる化合物の化学的特性、投与の経路、年齢、体重、及び患者の症状、障害若しくは状態の本質を含む要因に依存し、標準的な臨床技術によって決定され得る。一般的な治療は前記化合物の低レベルから開始され、望ましい治療効果が達成されるまで増加される。加えて、最適な用量範囲の決定を助けるためにi n v i t r oアッセイが任意に用いられる。静脈内投与に適した用量範囲は一般的に20～500マイクログラム活性化合物／キログラム体重である。鼻腔内投与に適した用量範囲は一般的に0.01pg/kg体重から1mg/kg体重である。坐薬は一般的に活性成分を体重の0.5%～10%の範囲で含み、経口処方では好ましくは10%～95%の活性成分を含む。効果的な用量は、i n v i t r o若しくは動物モデル検定システムに由来する用量-反応曲線から推定される。

20

30

【0122】

一般的に、静脈内投与に対する組成物は無菌等張水溶緩衝液の溶液である。必要であれば、前記組成物は可溶化因子、及び注射部位の痛みを緩和するためのリグノカインなどの局所的麻酔も含む。従来、前記成分は例えば活性因子の量を指示するアンプル若しくはs a c h e t t eなどの密閉シールド容器中の凍結乾燥粉末若しくは無水濃縮物などとしてのユニット用量形態で、別々に若しくは共に混合されて適用される。前記組成物が注入によって投与される場合、無菌薬剤等級水若しくは生理食塩水を含む注入ボトルに調剤される。

40

【0123】

前記組成物が注射によって投与される場合、注射用の無菌水のアンプル若しくは生理食塩水は前記成分が投与前に混合されるように提供される。

【0124】

治療方法

本発明は、DNA修復を誘導する及び／若しくは宿主ゲノムへのレトロウイルスcDNA組込みを阻害する化合物の効果的な量を対象若しくは患者に投与することによってレトロウイルス感染を治療する方法を提供する。本発明のいくつかの態様において、本発明の前記化合物若しくは薬剤組成物はレトロウイルス感染の増加したリスクにさらされている、若しくは感染している患者へ投与される。前記患者は例えば鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、及びヒトである。前記レトロウイルス感染は、後天性

50

免疫不全症候群（AIDS）、ヒト免疫不全症ウイルス（HIV）感染、癌、ヒト成人T細胞白血病、リンパ腫、FIV、I型糖尿病、及び多発性硬化症の少なくとも1つに関連する。

【0125】

本発明は、例えば遺伝子運搬を改良することによる、レトロウイルスcDNA組込みを増加する及び/若しくはDNA修復を阻害する化合物の効果的な量を患者若しくは対象に投与することによる、治療方法も提供する。前記患者は例えば鳥、ネコ、イヌ、ウシ、ヒツジ、ブタ、ウマ、げっ歯類、サル、及びヒトである。

【0126】

環状化マーカー遺伝子を有するレトロウイルスのキット

本発明のキットは、厳重な管理下にある、例えばバイアル、チューブ、及びそれと同等なものなどの1若しくはそれ以上の容器媒体を局限して受けるために区分化された担体手段を有し、各前記容器媒体は本発明の方法において用いられる要素を有している。例えば、容器手段の1つは、環状化マーカー遺伝子を持つ本発明のレトロウイルス若しくはレトロウイルスベクターを有している。前記キットは1若しくはそれ以上の従来のキット構成成分、例えばこれに限定されるものではないが、説明書、テストチューブ、エッペンドルフ（登録商標）チューブ、ラベル、マーカー遺伝子発現の定量化に役立つ試薬などを含む。

【0127】

【表1】

TABLE 1. DNA修復経路成分ノックアウトは組込みを増加する

<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (出芽酵母) 遺伝子	Ty 遺伝子転位の の～倍増加 ¹	ヒト 遺伝子	HIV 組込み の～倍増加 ²
<i>rad25</i>	2-1125 ³	<i>XPB</i>	2.5
<i>rad3</i>	17-41 ³	<i>XPB</i>	2
<i>rad1</i>	1		
<i>rad2</i>	1		
		<i>XPA</i>	1
<i>rad50</i>	12		
<i>rad51</i>	11		
<i>rad52</i>	24		
<i>rad54</i>	5		
<i>rad57</i>	21		
<i>msh2</i>	1	<i>hMSH2</i>	1
<i>cdc9</i>	38		

1 細胞の増殖及び解析を通じた連続遺伝子転位/組込み

2 組込みの単一ラウンド感染産生増加

3 有意染色バックグラウンド効果

【図面の簡単な説明】

【0128】

【図1】図1A及び1Bは宿主細胞のレトロウイルス感染の例を説明している。図1Aは細胞のHIV感染は宿主細胞膜タンパク質CD4、及びCCR5或いはCXCR4に、HIV外被タンパク質gp120が結合することで始まることを図示している。この結合現象は、第2HIV外被タンパク質gp41によって仲介され、レトロウイルス及び細胞膜の融合を誘発する。膜融合に続き、レトロウイルスキャプシドコアは前記宿主細胞へ侵入し、細胞質で分解される。HIV逆転写酵素はレトロウイルスゲノムRNAをcDNA分

子へ複写する。前記レトロウイルスcDNAは組込み前複合体(PIC)の一部であり、宿主タンパク質HMG I(Y)と同様に、少なくとも前記レトロウイルスタンパク質インテグラーゼ(組込み酵素)、逆転写酵素、マトリックス、キャプシド、及びvprを含む。タンパク質のこの複合体及び核酸は前記宿主細胞核へ侵入する。レトロウイルスインテグラーゼは前記レトロウイルスcDNAの3'末端と宿主ゲノムDNAとの結合を触媒する。前記レトロウイルスcDNAは宿主配列の5塩基ギャップとHIV配列の5'ジヌクレオチドフラップに隣接される。宿主DNA修復酵素は前記隣接ギャップと5'フラップの修復によって組込み反応を完了し、プロウイルスを産生する。組込みが完了した後、レトロウイルス及び宿主転写因子はレトロウイルスmRNA及びゲノムRNAの転写を促進する。前記レトロウイルスmRNAは細胞質中へ翻訳されレトロウイルスポリタンパク質を産生する。これらポリタンパク質はレトロウイルスゲノムRNAを有して細胞形質膜に集合する。未成熟レトロウイルス粒子は前記細胞から出芽する。出芽後、前記レトロウイルス酵素プロテアーゼは前記レトロウイルスポリタンパク質を切断し成熟な感染ウイルス粒子(ビリオン)を産生する。図1Bは前記PICが宿主細胞核に侵入した後、レトロウイルスcDNAの組込みが前記細胞の増殖性感染を引き起こすことを説明している。一方、少なくとも2つのメカニズムの1つによる前記レトロウイルスcDNAの環状化は、増殖性でなく、レトロウイルス感染の完了を阻害するものである。相同性組換えの宿主細胞性DNA修復メカニズムは1-末端反復配列(1-LTR)環を産生する。前記レトロウイルスcDNAの両末端は相同性ヌクレオチド配列、すなわち末端反復配列(LTRs)を有している。宿主DNA修復機構は、1-LTR環を産生するための組換え反応において前記相同性LTR末端を使用する。第2宿主細胞性DNA修復メカニズムである非相同性末端結合(NHEJ)は前記レトロウイルスcDNAの末端を連結し、2-末端反復配列(2-LTR)環を産生する。1-LTR環でも2-LTR環でもないものは次にレトロウイルスcDNA組込み産物に変換される。

【図2】図2はHIVcDNA組込みは宿主細胞DNA修復によって調節されることを図示している。HIVベクター粒子は、DNA修復機能を変えられた細胞株における相対性レトロウイルスcDNA組込み効率を決定するために使用される。レトロウイルスcDNA組込み現象の成功は前記HIVベクター粒子によってコード化された緑色蛍光タンパク質(GFP)の発現によって表される。細胞株はXPB遺伝子の変異を持つ2人の患者から由来したものである(Riou, L., L. Zeng, O. Chevallier-Lagente, A. Stary, O. Nikaïdo, A. Taïeb, G. Weeda, M. Mezzina, and A. Sarasin. The relative expression of mutated XPB genes results in xeroderma pigmentosum/Cockayne's syndrome or trichothiodystrophy cellular phenotypes. Human Molecular Genetics, 8:1125~1133, 1999)。3つの前記細胞株はXPB導入遺伝子の付加によって救出された。5つの細胞株はXPBを必要とするDNA修復のレベルの変化を示す。XPB機能のレベルは三角形によって表される。前記細胞株は、293Tヒト線維芽細胞の形質導入によって決定されたような、相対的な感染効率(MOI)0、0.5、及び2で、HIVベクター粒子によって形質導入された。形質導入に続き、前記細胞は固定され、GFP発現に対するフローサイトメトリーによって検討された。ベクター粒子が加えられなかった(0MOI)細胞はGFPを発現しなかった。0.5MOI及び2MOI両方においては、GFPを発現している細胞のパーセンテージ(GFP+細胞)はXPB機能のレベルに対して逆に比例していた。

【図3A】図3A及び3Bは本発明の範囲内に含まれたレトロウイルスcDNA環状形成に対するスクリーンの1実施例を説明している。図3Aは、プロモーター(例えば、サイトメガロウイルス(CMV)プロモーター若しくはMSH2プロモーター)によって促進される、普遍的マーカー遺伝子(例えばDsRed)を含むように構成された組換えレトロウイルスベクターを示している。赤色蛍光の検出はレトロウイルスcDNAが前記宿主

細胞核に侵入することを示すためのポジティブコントロールとして使用される。

【図 3 B】図 3 A 及び 3 B は本発明の範囲内に含まれたレトロウイルス c D N A 環状形成に対するスクリーンの 1 実施例を説明している。図 3 B は 1 - L T R 若しくは 2 - L T R 環の効率的な形成は、5' スプライシングドナーと 3' スプライシング受容部位によって隣接された介在性 L T R (1 - L T R 若しくは 2 - L T R) を有して、第 2 のプロモーター (例えば C M V プロモーター若しくは M S H 2 プロモーター) と環状化マーカー遺伝子 (例えば G F P) を並べる。この第 2 プロモーターからの転写は前記介在性 L T R (s) が除去されたスプライシング m R N A を生じ、環状化マーカー遺伝子 (例えば G F P) を発現するようになり、従って (G F P の場合、緑色蛍光として) 検出される。G F P はレトロウイルス c D N A 環状化の場合にのみ発現するので、緑色蛍光のレベルはレトロウイルス c D N A 環形成対宿主細胞ゲノムへのレトロウイルス c D N A 組込みの能率を意味している。

10

【図 4 A】図 4 A 及び 4 B はヒト X P B 遺伝子 (配列 I D : 1) のヌクレオチド配列及びそれによってコード化されている X P B ポリペプチドのアミノ酸配列 (配列 I D : 2) のそれぞれを説明している (G e n B a n k アクセッション番号 N M _ 0 0 0 1 2 2) 。図 4 C 及び 4 D はヒト X P D 遺伝子のヌクレオチド配列 (配列 I D : 3) 及びそれによってコード化されている X P D ポリペプチドのアミノ酸配列 (配列 I D : 4) のそれぞれを提供している (G e n B a n k アクセッション番号 N M _ 0 0 0 4 0 0) 。

【図 4 B】図 4 A 及び 4 B はヒト X P B 遺伝子 (配列 I D : 1) のヌクレオチド配列及びそれによってコード化されている X P B ポリペプチドのアミノ酸配列 (配列 I D : 2) のそれぞれを説明している (G e n B a n k アクセッション番号 . N M _ 0 0 0 1 2 2) 。

20

【図 4 C】図 4 C 及び 4 D はヒト X P D 遺伝子のヌクレオチド配列 (配列 I D : 3) 及びそれによってコード化されている X P D ポリペプチドのアミノ酸配列 (配列 I D : 4) のそれぞれを提供している (G e n B a n k アクセッション番号 . N M _ 0 0 0 4 0 0) 。

【図 4 D】図 4 C 及び 4 D はヒト X P D 遺伝子のヌクレオチド配列 (配列 I D : 3) 及びそれによってコード化されている X P D ポリペプチドのアミノ酸配列 (配列 I D : 4) のそれぞれを提供している (G e n B a n k アクセッション番号 . N M _ 0 0 0 4 0 0) 。

30

【図 5 A】図 5 A ~ 5 D は、図 3 に示されている前記レトロウイルスベクターの 1 実施例のヌクレオチド配列 (配列 I D : 5) を説明しており、前記普遍的マーカー遺伝子は D s R e d であり、その発現は C M V プロモーターによって調節されており、環状化マーカー遺伝子は G F P であり、その発現はレトロウイルス c D N A 環状化上の C M V プロモーターによって促進される。

【図 5 B】図 5 A ~ 5 D は、図 3 に示されている前記レトロウイルスベクターの 1 実施例のヌクレオチド配列 (配列 I D : 5) を説明しており、前記普遍的マーカー遺伝子は D s R e d であり、その発現は C M V プロモーターによって調節されており、環状化マーカー遺伝子は G F P であり、その発現はレトロウイルス c D N A 環状化上の C M V プロモーターによって促進される。

40

【図 5 C】図 5 A ~ 5 D は、図 3 に示されている前記レトロウイルスベクターの 1 実施例のヌクレオチド配列 (配列 I D : 5) を説明しており、前記普遍的マーカー遺伝子は D s R e d であり、その発現は C M V プロモーターによって調節されており、環状化マーカー遺伝子は G F P であり、その発現はレトロウイルス c D N A 環状化上の C M V プロモーターによって促進される。

【図 5 D】図 5 A ~ 5 D は、図 3 に示されている前記レトロウイルスベクターの 1 実施例のヌクレオチド配列 (配列 I D : 5) を説明しており、前記普遍的マーカー遺伝子は D s R e d であり、その発現は C M V プロモーターによって調節されており、環状化マーカー遺伝子は G F P であり、その発現はレトロウイルス c D N A 環状化上の C M V プロモーターによって促進される。

50

【図 6 A】図 6 A ~ 6 D は、図 3 に示されている前記レトロウイルスベクターの別の実施例のヌクレオチド配列（配列 I D : 6）を説明しており、前記普遍的マーカーは D s R e d であり、その発現は M S H 2 プロモーターによって調節されており、環状化マーカー遺伝子は G F P であり、その発現はレトロウイルス c D N A 環状化上の C M V プロモーターによって促進される。

【図 6 B】図 6 A ~ 6 D は、図 3 に示されている前記レトロウイルスベクターの別の実施例のヌクレオチド配列（配列 I D : 6）を説明しており、前記普遍的マーカーは D s R e d であり、その発現は M S H 2 プロモーターによって調節されており、環状化マーカー遺伝子は G F P であり、その発現はレトロウイルス c D N A 環状化上の C M V プロモーターによって促進される。

10

【図 6 C】図 6 A ~ 6 D は、図 3 に示されている前記レトロウイルスベクターの別の実施例のヌクレオチド配列（配列 I D : 6）を説明しており、前記普遍的マーカーは D s R e d であり、その発現は M S H 2 プロモーターによって調節されており、環状化マーカー遺伝子は G F P であり、その発現はレトロウイルス c D N A 環状化上の C M V プロモーターによって促進される。

【図 6 D】図 6 A ~ 6 D は、図 3 に示されている前記レトロウイルスベクターの別の実施例のヌクレオチド配列（配列 I D : 6）を説明しており、前記普遍的マーカーは D s R e d であり、その発現は M S H 2 プロモーターによって調節されており、環状化マーカー遺伝子は G F P であり、その発現はレトロウイルス c D N A 環状化上の C M V プロモーターによって促進される。

20

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Fishel, Richard A.
Yoder, Kristine E.

<120> Methods Of Identifying Compounds That Modulate A DNA Repair
Pathway And/or Retroviral Infectivity, The Compounds, And Uses
Thereof

<130> SCHN0003

<160> 6

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 2751

<212> DNA

<213> Homo sapiens

10

<400> 1
gggagcttcc ggattgagcc ggaagtcccc ccagagcgga tgcccgggcg ggccgtgtgg 60
agcgggggtca tcttctctct gctgctgtag ctgccatggg caaaagagac cgagcggacc 120
gcgacaagaa gaaatccagg aagcggcact atgaggatga agaggatgat gaagaggacg 180
ccccggggaa cgacctcag gaagcgggtc cctcggcggc ggggaagcag gtggatgagt 240
caggcaccaa agtggatgaa tatggagcca aggactacag gctgcaaatg ccgctgaagg 300
acgaccacac ctccaggccc ctctgggttg ctcccgatgg ccataatctt ttggaagcct 360
tctctccagt ttacaaatat gcccaagact tcttggtggc tattgcagag ccagtgtgcc 420
gaccaaccca tgtgcatgag tacaaactaa ctgcctactc cttgtatgca gctgtcagcg 480
ttgggctgca aaccagtgc atcaccgagt acctcaggaa gctcagcaag actggagtc 540
ctgatggaat tatgcagttt attaagttgt gtactgtcag ctatggaaaa gtcaagctgg 600
tcttgaagca caacagatac ttcggtgaaa gttgccacco tgatgtaatc cagcatcttc 660
tccaggaccc cgtgatccga gaatgccgt taagaaactc tgaaggggag gccactgagc 720
tcatcacaga gactttcaca agcaaactct ccatctctaa gactgctgaa agcagtgggtg 780
ggccctccac ttcccgagt acagatccac agggtaaact tgacatcccc atggacctgt 840
ttgacttcta tgagcaaatg gacaaggatg aagaagaaga agaagagaca cagacagtgt 900
cttttgaagt caagcaggaa atgattgagg aactccagaa acgttgcatc cacctggagt 960
accctctgtt ggcagaatat gacttccgga atgattctgt caacctgat atcaacattg 1020
acctaaagcc caccagctgtc ctccagacct atcaggagaa gagcttgcca aagatgtttg 1080
gaaacggggc tgcacgttcg ggggtcattg ttcttccctg cgggtgctgga aagtccctgg 1140
ttggtgtgac tgctgcatgc actgtcagaa aacgctgtct ggtgctgggc aactcagctg 1200
tttctgtgga gcagtggaaa gccagttca agatgtggtc caccattgac gacagccaga 1260
tctgccgggtt cactccgat gccaaaggaa agcccatcgg ctgctccggt gccattagca 1320
cctactccat gctgggccac accacaaaaa ggtcctggga ggccgagcga gtcattggagt 1380
ggctcaagac ccaggagtgg ggcctcatga tcttgatga agtgcacacc ataccagcca 1440
agatgttccg aagggtgctc accatcgtgc aggccactg taagctgggt ttgactgcga 1500

20

30

40

ccctcgctccg cgaagatgac aaaattgtgg atttaaattt tctgattggg cctaagctct 1560
 acgaagccaa ctggatggag ctgcagaata atggctacat cgccaaagtc cagtgtgctg 1620
 aggtctgggt ccctatgtct cctgaatttt accgggaata tgtggcaatc aaaaccaaga 1680
 aacgaatctt gctgtacacc atgaacccca acaaatttag agcttgccag tttctgatca 1740
 agtttcatga aaggaggaat gacaagatta ttgtctttgc tgacaatgtg ttgcccata 1800
 aggaatatgc cattogactg aacaaaccct atatctacgg acctacgtct cagggggaaa 1860
 ggatgcaaat tctccagaat ttcaagcaca accccaaaat taacaccatc ttcatatcca 1920
 aggtaggtga cacttcgttt gatctgccgg aagcaaatgt cctcattcag atctcatccc 1980
 atggtggctc caggcgctag gaagcccaaa ggctagggcg ggtgcttcga gctaaaaaag 2040
 ggatggttgc agaagagtac aatgcctttt tctactcact ggtatcccag gacacacagg 2100
 aaatggctta ctcaaccaag cggcagagat tcttggtaga tcaaggttat agcttcaagg 2160
 tgatcacgaa actcgctggc atggaggagg aagacttggc gttttcgaca aaagaagagc 2220
 aacagcagct cttacagaaa gtccctggcag ccaactgacct ggatgccgag gaggagggtg 2280
 tggctgggga atttggctcc agatccagcc aggcactctc gcgctttggc accatgagtt 2340
 ctatgtctgg ggccgacgac actgtgtaca tggagtacca ctcatcgcg agcaaggcgc 2400
 ccagcaaaca tgtacacccg ctcttcaagc gctttaggaa atgatgctta ggcagggtac 2460
 ttcgttcaag accggcgctt ggcacccttg ttggaaaggg attttcagca taacattttc 2520
 cttccacctc tttgaccttc cctccagcgt tggccaaatt gtgctgagga agatgcatca 2580
 agggcttggc tgtgccttca taggtcatct agggttttat aaaggaggag gagacaatat 2640
 tttttcaaac tttttgggga gtggggtoat ttctgtatat aaaaaatggt aatatttaag 2700
 gtgtatttat gttaccgttc tgaataaaca gaatggacca ttgaaccagt a 2751

<210> 2
 <211> 782
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens
 <400> 2

Met Gly Lys Arg Asp Arg Ala Asp Arg Asp Lys Lys Lys Ser Arg Lys
 1 5 10 15

Arg His Tyr Glu Asp Glu Glu Asp Asp Glu Glu Asp Ala Pro Gly Asn
 20 , 25 30

Asp Pro Gln Glu Ala Val Pro Ser Ala Ala Gly Lys Gln Val Asp Glu
 35 40 45

Ser Gly Thr Lys Val Asp Glu Tyr Gly Ala Lys Asp Tyr Arg Leu Gln
 50 55 60

Met Pro Leu Lys Asp Asp His Thr Ser Arg Pro Leu Trp Val Ala Pro
 65 70 75 80

Asp Gly His Ile Phe Leu Glu Ala Phe Ser Pro Val Tyr Lys Tyr Ala

10

20

30

40

85										90					95				
Gln	Asp	Phe	Leu	Val	Ala	Ile	Ala	Glu	Pro	Val	Cys	Arg	Pro	Thr	His				
			100					105					110						
Val	His	Glu	Tyr	Lys	Leu	Thr	Ala	Tyr	Ser	Leu	Tyr	Ala	Ala	Val	Ser				
		115					120					125							
Val	Gly	Leu	Gln	Thr	Ser	Asp	Ile	Thr	Glu	Tyr	Leu	Arg	Lys	Leu	Ser				
	130					135					140								
Lys	Thr	Gly	Val	Pro	Asp	Gly	Ile	Met	Gln	Phe	Ile	Lys	Leu	Cys	Thr				
145					150				155					160					
Val	Ser	Tyr	Gly	Lys	Val	Lys	Leu	Val	Leu	Lys	His	Asn	Arg	Tyr	Phe				
				165				170						175					
Val	Glu	Ser	Cys	His	Pro	Asp	Val	Ile	Gln	His	Leu	Leu	Gln	Asp	Pro				
			180					185					190						
Val	Ile	Arg	Glu	Cys	Arg	Leu	Arg	Asn	Ser	Glu	Gly	Glu	Ala	Thr	Glu				
		195					200					205							
Leu	Ile	Thr	Glu	Thr	Phe	Thr	Ser	Lys	Ser	Ala	Ile	Ser	Lys	Thr	Ala				
	210					215					220								
Glu	Ser	Ser	Gly	Gly	Pro	Ser	Thr	Ser	Arg	Val	Thr	Asp	Pro	Gln	Gly				
225					230					235				240					
Lys	Ser	Asp	Ile	Pro	Met	Asp	Leu	Phe	Asp	Phe	Tyr	Glu	Gln	Met	Asp				
				245					250					255					
Lys	Asp	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Glu	Thr	Gln	Thr	Val	Ser	Phe	Glu	Val				
			260					265					270						
Lys	Gln	Glu	Met	Ile	Glu	Glu	Leu	Gln	Lys	Arg	Cys	Ile	His	Leu	Glu				
		275					280					285							
Tyr	Pro	Leu	Leu	Ala	Glu	Tyr	Asp	Phe	Arg	Asn	Asp	Ser	Val	Asn	Pro				
	290					295					300								
Asp	Ile	Asn	Ile	Asp	Leu	Lys	Pro	Thr	Ala	Val	Leu	Arg	Pro	Tyr	Gln				
305					310					315				320					
Glu	Lys	Ser	Leu	Arg	Lys	Met	Phe	Gly	Asn	Gly	Arg	Ala	Arg	Ser	Gly				
				325					330					335					
Val	Ile	Val	Leu	Pro	Cys	Gly	Ala	Gly	Lys	Ser	Leu	Val	Gly	Val	Thr				
			340					345					350						
Ala	Ala	Cys	Thr	Val	Arg	Lys	Arg	Cys	Leu	Val	Leu	Gly	Asn	Ser	Ala				
		355					360					365							

10

20

30

Val Ser Val Glu Gln Trp Lys Ala Gln Phe Lys Met Trp Ser Thr Ile
 370 375 380
 Asp Asp Ser Gln Ile Cys Arg Phe Thr Ser Asp Ala Lys Asp Lys Pro
 385 390 395 400
 Ile Gly Cys Ser Val Ala Ile Ser Thr Tyr Ser Met Leu Gly His Thr
 405 410 415
 Thr Lys Arg Ser Trp Glu Ala Glu Arg Val Met Glu Trp Leu Lys Thr
 420 425 430
 Gln Glu Trp Gly Leu Met Ile Leu Asp Glu Val His Thr Ile Pro Ala
 435 440 445
 Lys Met Phe Arg Arg Val Leu Thr Ile Val Gln Ala His Cys Lys Leu
 450 455 460
 Gly Leu Thr Ala Thr Leu Val Arg Glu Asp Asp Lys Ile Val Asp Leu
 465 470 475 480
 Asn Phe Leu Ile Gly Pro Lys Leu Tyr Glu Ala Asn Trp Met Glu Leu
 485 490 495
 Gln Asn Asn Gly Tyr Ile Ala Lys Val Gln Cys Ala Glu Val Trp Cys
 500 505 510
 Pro Met Ser Pro Glu Phe Tyr Arg Glu Tyr Val Ala Ile Lys Thr Lys
 515 520 525
 Lys Arg Ile Leu Leu Tyr Thr Met Asn Pro Asn Lys Phe Arg Ala Cys
 530 535 540
 Gln Phe Leu Ile Lys Phe His Glu Arg Arg Asn Asp Lys Ile Ile Val
 545 550 555 560
 Phe Ala Asp Asn Val Phe Ala Leu Lys Glu Tyr Ala Ile Arg Leu Asn
 565 570 575
 Lys Pro Tyr Ile Tyr Gly Pro Thr Ser Gln Gly Glu Arg Met Gln Ile
 580 585 590
 Leu Gln Asn Phe Lys His Asn Pro Lys Ile Asn Thr Ile Phe Ile Ser
 595 600 605
 Lys Val Gly Asp Thr Ser Phe Asp Leu Pro Glu Ala Asn Val Leu Ile
 610 615 620
 Gln Ile Ser Ser His Gly Gly Ser Arg Arg Gln Glu Ala Gln Arg Leu
 625 630 635 640
 Gly Arg Val Leu Arg Ala Lys Lys Gly Met Val Ala Glu Glu Tyr Asn
 645 650 655

10

20

30

40

Ala Phe Phe Tyr Ser Leu Val Ser Gln Asp Thr Gln Glu Met Ala Tyr
660 665 670

Ser Thr Lys Arg Gln Arg Phe Leu Val Asp Gln Gly Tyr Ser Phe Lys
675 680 685

Val Ile Thr Lys Leu Ala Gly Met Glu Glu Glu Asp Leu Ala Phe Ser
690 695 700

Thr Lys Glu Glu Gln Gln Gln Leu Leu Gln Lys Val Leu Ala Ala Thr
705 710 715 720

Asp Leu Asp Ala Glu Glu Glu Val Val Ala Gly Glu Phe Gly Ser Arg
725 730 735

Ser Ser Gln Ala Ser Arg Arg Phe Gly Thr Met Ser Ser Met Ser Gly
740 745 750

Ala Asp Asp Thr Val Tyr Met Glu Tyr His Ser Ser Arg Ser Lys Ala
755 760 765

Pro Ser Lys His Val His Pro Leu Phe Lys Arg Phe Arg Lys
770 775 780

10

<210> 3
<211> 2318
<212> DNA
<213> Homo sapiens

20

<400> 3
atgaagctca acgtggacgg gctcctggtc tacttcccggt acgactacat ctaccccgag 60
cagttctcct acatcgcgga gctcaaagcg acgctggacg ccaaggggtca tggagtcctg 120
gagatgccct caggcaaccg gaagacagta tccctgttgg cctgatcat ggcataccag 180
agagcatatc cgctggaggt gaccaaactc atctactgct caagaactgt gccagagatt 240
gagaaggtga ttgaagagct tcgaaagttg ctcaacttct atgagaagca ggagggcgag 300
aagctgccgt ttctgggact ggctctgagc tcccgcaaaa acttgtgtat tcaccctgag 360
gtgacacccc tgcgcttttg gaaggacgtc gatgggaaat gccacagcct cacagcctcc 420
tatgtgcggg cgcagtacca gcatgacacc agcctgcccc actgccgatt ctatgaggaa 480
tttgatgcc atgggcggtga ggtgcccctc ccgctgggca tctacaacct ggatgacctg 540
aaggccctgg ggcggcgcca gggctgggtc ccatacttcc ttgctcgata ctcaatcctg 600
catgccaatg tgggtgttta tagctaccac tacctcctgg accccaagat tgcagacctg 660
gtgtccaagg aactggcccg caaggccgtc gtggtcttcg acgaggccca caacattgac 720
aacgtctgca tcgactccat gagcgtcaac ctcaccggcc ggacccttga ccggtgccag 780
ggcaacctgg agacctgca gaagacgggt ctcaggatca aagagacaga cgagcagcgc 840
ctgcgggacg agtaccggcg tctggtggag gggctgctgg aggccagcgc cgcgggggag 900
acggacgccc acctggccaa cccgctgctg ccgacgaag tgctgcagga ggcagtgcct 960

30

ggctccatcc gcacggccga gcatttcctg ggcttcctga ggcggctgct ggagtacgtg 1020
 aagtggcggc tgcgtgtgca gcatgtggtg caggagagcc cgcgcgcctt cctgagcggc 1080
 ctggcccagc gcgtgtgcat ccagcgcaag cccctcagat tctgtgtga acgcctccg 1140
 tcctgtgtgc atactctgga gatcacgac cttgtgtgact tctcccgtct caccctcctt 1200
 gctaactttg ccacccttgt cagcacctac gccaaaggct tcaccatcat catcgagccc 1260
 tttgacgaca gaaccccgcac cattgccaac cccatcctgc acttcagctg catggacgcc 1320
 tcgtgggcca tcaaaccgct atttgagcgt ttccagtctg tcatcatcac atctgggaca 1380
 ctgtcccgcg tggacatcta cccaagatc ctggacttcc acccgtcac catggcaacc 1440
 ttaccatga cgtggcacg ggtctgcctc tgcctatga tcatcgccg tggcaatgac 1500
 caggtggcca tcagctccaa atttgagacc cgggaggata ttgtgtgat ccggaactat 1560
 gggaacctcc tgcgtggagat gtccgctgtg gtccctgatg gcacgtggc cttcttcacc 1620
 agctaccagt acatggagag caccgtggc tcctggtatg agcaggggat ccttgagaac 1680
 atccagagga acaagctgct ctttatgtag acccaggatg gtgccgaaac cagtgtcgcc 1740
 ctggagaagt accaggagcg ctgcgagaat ggccgcgggg ccacccctgct gtcagtggc 1800
 cggggcaaaag tgtccgaggg aatcgacttt gtgcaccact acggggcgggc cgtcatcatg 1860
 tttggcgctc cctacgtcta cacacagagc cgcattctca aggcgcggct ggaatacctg 1920
 cgggaccagt tccagattcg tgagaatgac tttcttacct tcgatgccat gcgccacg 1980
 gccagtggtg tgggtcgggc catcaggggc aagacggact acggcctcat ggtctttg 2040
 gacaagcggg ttgcccggtg ggacaagcgg gggaagctgc cccgtggat ccaggagcac 2100
 ctacagatg ccaacctcaa cctgaccgtg gacgagggtg tccaggtggc caagtacttc 2160
 ctgcggcaga tggcacagcc cttccaccgg gaggatcagc tgggcctgtc cctgctcagc 2220
 ctggagcagc tagaatcaga ggagacgctg aagaggatag agcagattgc tcagcagctc 2280
 tgagtggggc ggttggggcc ataaacggtt cctggtga 2318

<210> 4
 <211> 760
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 4

Met Lys Leu Asn Val Asp Gly Leu Leu Val Tyr Phe Pro Tyr Asp Tyr
1 5 10 15

Ile Tyr Pro Glu Gln Phe Ser Tyr Met Arg Glu Leu Lys Arg Thr Leu
20 25 30

Asp Ala Lys Gly His Gly Val Leu Glu Met Pro Ser Gly Thr Gly Lys
35 40 45

Thr Val Ser Leu Leu Ala Leu Ile Met Ala Tyr Gln Arg Ala Tyr Pro
50 55 60

Leu Glu Val Thr Lys Leu Ile Tyr Cys Ser Arg Thr Val Pro Glu Ile

10

20

30

40

30

Ser Pro Pro Ala Phe Leu Ser Gly Leu Ala Gln Arg Val Cys Ile Gln
 355 360 365
 Arg Lys Pro Leu Arg Phe Cys Ala Glu Arg Leu Arg Ser Leu Leu His
 370 375 380
 Thr Leu Glu Ile Thr Asp Leu Ala Asp Phe Ser Pro Leu Thr Leu Leu
 385 390 395 400
 Ala Asn Phe Ala Thr Leu Val Ser Thr Tyr Ala Lys Gly Phe Thr Ile
 405 410 415
 Ile Ile Glu Pro Phe Asp Asp Arg Thr Pro Thr Ile Ala Asn Pro Ile
 420 425 430
 Leu His Phe Ser Cys Met Asp Ala Ser Leu Ala Ile Lys Pro Val Phe
 435 440 445
 Glu Arg Phe Gln Ser Val Ile Ile Thr Ser Gly Thr Leu Ser Pro Leu
 450 455 460
 Asp Ile Tyr Pro Lys Ile Leu Asp Phe His Pro Val Thr Met Ala Thr
 465 470 475 480
 Phe Thr Met Thr Leu Ala Arg Val Cys Leu Cys Pro Met Ile Ile Gly
 485 490 495
 Arg Gly Asn Asp Gln Val Ala Ile Ser Ser Lys Phe Glu Thr Arg Glu
 500 505 510
 Asp Ile Ala Val Ile Arg Asn Tyr Gly Asn Leu Leu Leu Glu Met Ser
 515 520 525
 Ala Val Val Pro Asp Gly Ile Val Ala Phe Phe Thr Ser Tyr Gln Tyr
 530 535 540
 Met Glu Ser Thr Val Ala Ser Trp Tyr Glu Gln Gly Ile Leu Glu Asn
 545 550 555 560
 Ile Gln Arg Asn Lys Leu Leu Phe Ile Glu Thr Gln Asp Gly Ala Glu
 565 570 575
 Thr Ser Val Ala Leu Glu Lys Tyr Gln Glu Ala Cys Glu Asn Gly Arg
 580 585 590
 Gly Ala Ile Leu Leu Ser Val Ala Arg Gly Lys Val Ser Glu Gly Ile
 595 600 605
 Asp Phe Val His His Tyr Gly Arg Ala Val Ile Met Phe Gly Val Pro
 610 615 620
 Tyr Val Tyr Thr Gln Ser Arg Ile Leu Lys Ala Arg Leu Glu Tyr Leu
 625 630 635 640

10

20

30

40

Arg Asp Gln Phe Gln Ile Arg Glu Asn Asp Phe Leu Thr Phe Asp Ala
645 650 655

Met Arg His Ala Ala Gln Cys Val Gly Arg Ala Ile Arg Gly Lys Thr
660 665 670

Asp Tyr Gly Leu Met Val Phe Ala Asp Lys Arg Phe Ala Arg Gly Asp
675 680 685

Lys Arg Gly Lys Leu Pro Arg Trp Ile Gln Glu His Leu Thr Asp Ala
690 695 700

Asn Leu Asn Leu Thr Val Asp Glu Gly Val Gln Val Ala Lys Tyr Phe
705 710 715 720

Leu Arg Gln Met Ala Gln Pro Phe His Arg Glu Asp Gln Leu Gly Leu
725 730 735

Ser Leu Leu Ser Leu Glu Gln Leu Glu Ser Glu Glu Thr Leu Lys Arg
740 745 750

Ile Glu Gln Ile Ala Gln Gln Leu
755 760

10

<210> 5
<211> 9731
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

20

<220>
<223> Synthesized retroviral vectors

<400> 5
cagggtggcac ttttcgggga aatgtgcgcg gaacccctat ttgtttatTT ttctaaatac 60
attcaaatat gtatccgctc atgagacaat aaccctgata aatgcttcaa taatattgaa 120
aaaggaagag tatgagtatt caacatttcc gtgtgcgcct tattcccttt tttgcggcat 180
tttgccctcc tgtttttgct caccagaaa cgctgggtgaa agtaaaagat gctgaagatc 240
agttgggtgc acgagtgggt tacatcgaa tggatctcaa cagcggtaag atccttgaga 300
gttttcgccc cgaagaacgt ttccaatga tgagcacttt taaagttctg ctatgtggcg 360
cggattatcc ccgtattgac gccgggcaag agcaactcgg tcgccgcata cactattctc 420
agaatgactt ggttgagtac tcaccagtca cagaaaagca tcttacggat ggcattgacag 480
taagagaatt atgcagtgtc gccataacca tgagtataa cactgcggcc aacttacttc 540
tgacaacgat cggaggaccg aaggagctaa ccgctttttt gcacaacatg ggggatcatg 600
taactcgcct tgatcgttgg gaaccggagc tgaatgaagc cataccaaac gacgagcgtg 660
acaccacgat gcctgtagca atggcaacaa cgttgcgcaa actattaact ggcgaaactac 720
ttactctagc ttcccggcaa caattaatag actggatgga gccggataaa gttgcaggac 780
cacttctgcy ctcggccctt ccggctggct ggtttattgc tgataaatct ggagccggtg 840
agcgtgggtc tcgcgggtatc attgcagcac tggggccaga tggtaaagccc tcccgtatcg 900

30

40

tagttatcta caccagcggg agtcaggcaa ctatggatga acgaaataga cagatcgctg 960
 agatagggtgc ctcaactgatt aagcatttgg aactgtcaga ccaagtttac tcatatatac 1020
 ttttagatiga tttaaaactt catttttaaat ttaaaaggat ctagggtgaag atcctttttg 1080
 ataattctcat gacaaaaato ccttaacgtg agtttttcgtt ccactgagcg tcagaccccg 1140
 tagaaaagat caaaggatct tcttgagatc ctttttttct gcgcgtaatc tgctgcttgc 1200
 aaacaaaaaa accaccgcta ccagcgggtg tttgtttgcc ggatcaagag ctaccaactc 1260
 tttttccgaa ggtaactggc ttcagcagag cgcagatacc aaatactgtc cttctagtgt 1320
 agccgtagtt agggcaccac ttcaagaact ctgtagcacc gcctacatac ctgcctctgc 1380
 taatcctgtt accagtggct gctgccagtg gcgataagtc gtgtcttacc gggttggact 1440
 caagacgata gttaccggat aaggcgcagc ggtcgggctg aacggggggt tcgtgcacac 1500
 agcccagctt ggagcgaacg acctacaccg aactgagata cctacagcgt gagctatgag 1560
 aaagcgcac gcttcccgaa gggagaaagg cggacaggtc tccggttaagc ggcagggctc 1620
 gaacaggaga gcgcacgagg gagcttccag ggggaaacgc ctggtatctt tatagtctg 1680
 tcgggtttcg ccacctctga cttgagcgtc gatttttgtg atgctcgtca gggggcgga 1740
 gcctatggaa aaacgccagc aacgcggcct tttacggtt cctggcctt tgctggcctt 1800
 ttgctcacat gttctttctt gcgttatccc ctgattctgt ggataaccgt attaccgcct 1860
 ttgagtgagc tgataccgct cgcgcagcc gaacgaccga gcgcagcag tcagtgagcg 1920
 aggaagcggg agagcgccca atacgcaaac cgcctctccc cgcgcgttgg ccgattcatt 1980
 aatgcagctg gcacgacagg tttcccgact ggaagcggg cagtgagcgc aacgcaatta 2040
 atgtgagtta gctcaactcat taggcacccc aggcctttaca ctttatgctt ccggctcgta 2100
 tgttgtgtgg aattgtgagc ggataacaat ttcacacagg aaacagctat gaccatgatt 2160
 acgccaagcg cgcaattaac cctcactaaa gggaaacaaa gctggagctg caagcttaat 2220
 gtagtcttat gcaatactct tgtagtcttg caacatggta acgatgagtt agcaacatgc 2280
 cttacaagga gaaaaaagc accgtgcatt ccgattgggt gaagtaaggt ggtacgatcg 2340
 tgccttatta ggaaggcaac agacgggtct gacatggatt ggacgaacca ctgaattgcc 2400
 gcattgcaga gatattgtat ttaagtgcct agctcgatac aataaacggg tctctctggt 2460
 tagaccagat ctgagcctgg gagctctctg gctaactagg gaaccactg ctttaagctc 2520
 aataaagctt gccttgagt cttcaagtag tgtgtgcccg tctgttgtgt gactctggta 2580
 actagagatc cctcagaccc ttttagtcag tgtggaaaat ctotagcagt ggcgcccga 2640
 cagggacctg aaagcgaaa ggaaccaga gctctctcga cgcaggactc ggcttgctga 2700
 agcgcgcacg gcaagaggcg agggcgggcg actggtgagt acgccaaaaa ttttgactag 2760
 cggaggctag aaggagagag atgggtgcga gagcgtcagt attaacggg ggagaattag 2820
 atcgcgatgg gaaaaaatc ggttaaggcc aggggggaaag aaaaaatata aattaaaaca 2880
 tatagtatgg gcaagcagg agctagaacg attcgcagtt aatcctggcc tgttagaacc 2940
 atcagaaggc tgtagacaaa tactgggaca gctacaacca tcccttcaga caggatcaga 3000

10

20

30

agaacttaga tcattatata atacagtagc aacctctat tgtgtgcac aaaggataga 3060
 gataaaagac accaaggaag ctttagacaa gatagaggaa gagcaaaaca aaagtaagac 3120
 caccgcacag caagcgccg ctgatcttca gacctggagc gctcgaggcg acttacctct 3180
 ctagagtcgg tgtcttctat ggagggtcaaa acagcgtgga tggcgtctcc aggcgatctg 3240
 acgggttcaat aaacgagctc tgcttatata gacctccac cgtacacgcc taccgcccac 3300
 ttgcgtcaat gggcgaggat tggttacgaca ttttggaag tcccggtgat tttgggtgca 3360
 aaacaaactc ccattgacgt caatggggtg gagacttga aatcccggtg agtcaaaccg 3420
 ctatccacgc ccattgatgt actgcaaaa ccgcatcacc atggtaatag cgatgactaa 3480
 tacgtagatg tactgccaag taggaaagtc ccataaggtc atgtactggg cataatgcca 3540
 ggcgggcccac ttaccgtcat tgacgtcaat agggggcgta cttggcatac gatacacttg 3600
 atgtactgcc aagtgggcag ttaccgttaa atactccacc cattgacgtc aatggaaagt 3660
 ccctattggc gttactatgg gaacatacgt cattattgac gtcaatgggc gggggtcgtt 3720
 gggcggtcag ccaggcgggc catttaccgt aagttatgia acgcggaact cccaagctta 3780
 togaggagga gatatgaggg acaattggag aagtgaatta tataaatata aagtagtaaa 3840
 aattgaacca ttaggagtag caccaccaa ggcaaagaga agagtgggtc agagagaaaa 3900
 aagagcagtg ggaataggag ctttgttctt tgggttcttg ggagcagcag gaagcactat 3960
 gggcgcgacc tcaatgacgc tgacggtaca ggcagacaa ttattgtctg gtatagtga 4020
 gcagcagaac aatttgtcga gggctattga ggcgcaacag catctgttgc aactcacagt 4080
 ctggggcacc aagcagctcc aggcagaagt cctggctgtg gaaagatacc taaaggatca 4140
 acagctcctg gggatttggg gttgctctgg aaaactcatt tgcaccactg ctgtgccttg 4200
 gaatgctagt tggagtaata aatctctgga acagattgga atcacacgac ctggatggag 4260
 tgggacagag aaattaacaa ttacacaagc ttaatacact cottaattga agaatcgaa 4320
 aaccagcaag aaaagaatga acaagaatta ttggaattag ataaatgggc aagtttgttg 4380
 aattggttta acataacaaa ttggctgttg tatataaaat tattcataat gatagtagga 4440
 ggcttggtag gtttaagaat agtttttgct gtactttcta tagtgaatag agttaggcag 4500
 ggatattcac cattatcgtt tcagacccac ctcccaacc cgaggggacc cgacaggccc 4560
 gaaggaatag aagaagaagg tggagagaga gacagagaca gatccattcg attagtgaac 4620
 ggatctcgac ggttaacttt taaaagaaaa ggggggattg gggggtacag tgcaggggaa 4680
 agaatagtag acataatagc aacagacata caaactaaag aattacaaaa acaaattaca 4740
 aaaattcaaa attttatcgc atgttctttc ctgcgttacc cctgattct gtggataacc 4800
 gtattaccgc catgcattag ttattaatag taatcaatta cggggtcatt agttcatagc 4860
 ccataatagg agttccggt tacataactt acggtaaatg gccgccttg ctgaccgcc 4920
 aacgaccccc gccattgac gtcaataatg acgtatgttc ccatagtaac gccaataggg 4980
 actttccatt gacgtcaatg ggtggagtat ttacggtaaa ctgcccactt ggcagtacat 5040
 caagtgtatc atatgccaag tacgccccct attgacgtca atgacggtaa atggcccgcc 5100
 tggcattatg ccagtagcat gaccttatgg gactttccta cttggcagta catctacgta 5160

10

20

30

40

ttagtcatcg ctattacat ggtgatcggt ttttggcagt acatcaatgg gctgggatag 5220
 cggtttgact caccgggatt tccaagtctc caccocattg acgtcaatgg gagtttgttt 5280
 tggcaccaaa atcaacggga ctttccaaaa tgtcgtaaca actccgccc attgacgcaa 5340
 atgggcggtg ggcgtgtacg gtgggaggtc tatataagca gagctgggtt agtgaaccgt 5400
 cagatccgct agcgtaccg gactcagatc tcgagctcaa gcttcgaatt ctgcagtcga 5460
 cggtagccg ggcggggat ccacgggtc ccaccatggc ctccctcgag aacgtcatca 5520
 ccgagttcat gcgcttcaag gtgcgcatgg agggcaccgt gaacggccac gagttcgaga 5580
 tcgagggcga gggcgagggc cgcctctacg agggccacaa caccgtgaag ctgaagggtga 5640
 ccaagggcgg cccctctccc ttgcctggg acatcctgtc ccccagttc cagtacggct 5700
 ccaaggtgta cgtgaagcac ccgcgcgaca tcccgcacta caagaagctg tccttcccgc 5760
 agggcctcaa gtgggagcgc gtgatgaact tcgaggacgg cggcgtggcg accgtgacct 5820
 aggactctc cctgcaggac ggctgcttca tctacaaggt gaagttcctc ggcgtgaact 5880
 tcccctccga cggcccccgt atgcagaaga agaccatggg ctgggaggcc tccaccgagc 5940
 gcctgtacct ccgcgacggc gtgctgaagg gcgagaccca caaggccctg aagctgaagg 6000
 acggcgccca ctacctgtg gagttcaagt ccctctacat ggccaagaag cccgtgcagc 6060
 tgccccgcta ctactacgtg gacgccaagc tggacatcac ctcccacaac gaggactaca 6120
 ccatcgtgga gcagtacgag gcgaccgagg gcggccacca cctgttccctg tagcggggcc 6180
 tcgacaatca acctctggat tacaaaaatt gtgaaagatt gactggtatt cttactatg 6240
 ttgctccttt tacgtatgt ggatacgtg ctttaatgcc tttgtatcat gctattgctt 6300
 cccgtatggc ttctatttct tctccttgt ataaatcctg gttgctgtct ctttatgagg 6360
 agttgtggcc cgtgtcagg caacgtggcg tgggtgtgac tgtgtttgct gacgaaccc 6420
 ccactgggtg gggcattgcc accacctgtc agctccttcc cgggacttcc gctttccccc 6480
 tccctattgc cagggcgaa ctcatcgcc cctgccttgc ccgctgctg acaggggctc 6540
 ggctgttgg cactgacaat tccgtggtgt tgtcgggaa gctgacgtcc ttccatggc 6600
 tgctcgctg tgttgccacc tggattctgc gcgggacgtc cttctgtac gtcccttcgg 6660
 ccctcaatcc agcggacctt ccttcccgcg gcctgctgcc ggctctgcgg cctcttccgc 6720
 gtcttcgct tcgccctcag acgagtcgga tctcccttg ggcgcctcc ccgctggaa 6780
 ttccgcgact ctgatcata atcagcata ccacatttgt agaggtttta cttgctttaa 6840
 aaaacctccc acctcccc ctgaacctga aacataaaat gaatgcaatt gttgttgtta 6900
 acttgtttat tgcagcttat aatggttaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa 6960
 ataaagcatt tttttcactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcctc aatgtatctt 7020
 aaccaggcgg ggaggcgcc caaagggaga tccgactcgt ctgagggcga aggcgaagac 7080
 gcggaagagg ccgcagagcc ggcagcaggc cgcgggaagg aaggccgct ggattgaggg 7140
 ccgaagggac gtagcagaag gacgtccgc gcagaatcca ggtggcaaca caggcgagca 7200
 gccatggaaa ggacgtcagc tccccgaca acaccaagga attgtcagtg cccaacagcc 7260

10

20

30

gagccctgt ccagcagcgg gcaaggcagg cggcgatgag ttccgcogtg gcaataggga 7320
 gggggaaagc gaaagtcccg gaaaggagct gacagggtgt ggcaatggcc caaccagtgg 7380
 ggggttgcgc agcaaacaca gtgcacacca cgccacgttg cctgacaacg gccacaact 7440
 cctcataaag agacagcaac caggatttat acaaggagga gaaaatgaaa gccatacggg 7500
 aagcaatagc atgatacaaa ggcattaaag cagcgtatcc acatagcgta aaaggagcaa 7560
 catagttaag aataccagtc aatctttcac aaattttgta atccagaggt tgattgtcga 7620
 cgcgcgcgct ttacttgtac agctcgtcca tgcgagaggt gatcccgccg gcggtcacga 7680
 actccagcag gaccatgtga tcgcgcttct cgttggggtc tttgctcagg gcggactggg 7740
 tgctcaggta gtggttgcgc ggcagcagca cggggcgcgc gccgatgggg gtgttctgct 7800
 ggtagtggtc ggcgagctgc acgctgccgt cctcgatgtt gtggcgatc ttgaagtcca 7860
 ccttgatgcc gttcttctgc ttgtcggcca tgatatagac gttgtggctg ttgtagttgt 7920
 actccagctt gtgccccagg atgttgccgt cctccttgaa gtcgatgcc ttccagctcga 7980
 tgcggttcac cagggtgtcg cctcgaact tcacctcggc gcgggtcttg tagttgccgt 8040
 cgtccttgaa gaagatggtg cgtctctgga cgtagccttc gggcatggcg gacttgaaga 8100
 agtcgtgctg ctccatgtgg tcggggtagc ggctgaagca ctgcacgccg taggtcaggg 8160
 tggtcacgag ggtggggcag ggcacgggca gcttgccggt ggtgcagatg aacttcaggg 8220
 tcagcttgcc gtaggtggca tcgcctcgc cctcgccgga cacgctgaac ttgtggccgt 8280
 ttacgtgcc gtccagctcg accaggatgg gcaccacccc ggtgaacagc tctcgcctt 8340
 tgctcaccat ggtggcgacc ggtggatcct gaagaaaagg gagaattcga attcgagctc 8400
 ggtaccttta agaccaatga cttacaaggc agctgtagat cttagccact ttttaaaga 8460
 aaagggggga ctggaagggc taattcactc ccaacgaaga caagatctgc tttttgcttg 8520
 tactgggtct ctctggttag accagatctg agcctgggag ctctctggct aactaggga 8580
 cccactgctt aagcctcaat aaagcttgcc ttgagtgcct caagtagtgt gtgcccgtct 8640
 gttgtgtgac tctggtaact agagatccct cagacccttt tagtcagtgt ggaaaatctc 8700
 tagcagtagt agttcatgtc atcttattat tcagtattta taacttgcaa agaaatgaat 8760
 atcagagagt gagaggaact tgtttattgc agcttataat ggttacaaat aaagcaatag 8820
 catcacaaat ttacaaaata aagcattttt ttactgcat totagttgtg gtttgtccaa 8880
 actcatcaat gtatcttata atgtctggct ctactatcc cgcacctaac tccgccaggt 8940
 tccgccatt ctccgccca tggctgacta atttttttta tttatgcaga ggccgaggcc 9000
 gctcggcct ctgagctatt ccagaagtag tgaggaggct tttttggagg cctaggcttt 9060
 tgcgtcgaga cgtacccaat tcgcctata gtgagtcgta ttacgcgcgc tcaactggccg 9120
 tcgttttaca acgtcgtgac tgggaaaacc ctggcggttac ccaacttaat cgccttgacg 9180
 cacatcccc ttccgccagc tggcgtaata gcgaagagc cgcacccgat cgccttccc 9240
 aacagttgcg cagcctgaat ggcgaatggc gcgacgcgcc ctgtagcgcc gcattaagcg 9300
 cggcggtgtt ggtggttaac cgcagcgtga ccgtacact tgccagcgcc ctagegcccc 9360
 ctcttttcgc tttcttccct tctttctcgc ccacgttcgc cggctttccc cgtcaagctc 9420

10

20

30

40

taaatcgggg gctcccttta gggttccgat ttagtgcttt acggcacctc gaccccaaaa 9480
 aacttgatta gggatgatgt tcacgtagtg ggccatcgcc ctgatagacg gtttttcgcc 9540
 ctttgacgtt ggagtcacg ttctttaata gtggactctt gttccaaact ggaacaacac 9600
 tcaacctat ctgggtctat tcttttgatt tataagggat ttgccgatt tcggcctatt 9660
 ggtaaaaaa tgagctgatt taacaaaaat ttaacgcgaa ttttaacaaa atattaacgt 9720
 ttacaatttc c 9731

<210> 6
 <211> 9782
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

10

<220>
 <223> Synthesized retroviral vectors

<400> 6
 ccggtcgcca ccatggcctc ctccgagaac gtcataccg agttcatgcg cttcaagggtg 60
 cgcattggagg gcaccgtgaa cggccacgag ttccgagatcg agggcgaggg cgagggccgc 120
 ccctacgagg gccacaacac cgtgaagctg aaggtagcca agggcgggcc cctgcccttc 180
 gcctgggaca tctgtctccc ccagttccag tacggctcca aggtgtacgt gaagcacccc 240
 gccgacatcc ccgactacaa gaagctgtcc tccccgagg gcttcaagtg ggagcgcggtg 300
 atgaacttcg aggacggcgg cgtggcgacc gtgaccgagg actcctccct gcaggacggc 360
 tgcttcatct acaagggtgaa gttcatcggc gtgaacttcc cctccgacgg ccccgatgatg 420
 cagaagaaga ccatgggctg ggaggcctcc accgagcgcc tgtacccccg cgacggcggtg 480
 ctgaaggggcg agaccacaaa ggccctgaag ctgaaggacg gcggccacta cctggtggag 540
 ttcaagtcca ttacatggc caagaagccc gtgcagctgc ccggtacta ctacgtggac 600
 gccaaactgg acatcacctc ccacaacgag gactacacca tcgtggagca gtacgagcgc 660
 accgagggcc gccaccacct gttcctgtag cggccgcgac tctagatcat aatcagccat 720
 accacatttg tagaggtttt acttgcttta aaaaacctcc cacacctccc cctgaacctg 780
 aaacataaaa tgaatgcaat tgttgttgtt aacttgttta ttgcagctta taatggttac 840
 aaataaagca atagcatcac aaatttcaca aataaagcat ttttttact gcattctagt 900
 tggatccttt atttgtgaaa ttigtgatgc tattgcttta tttgtaacca ttataagctg 960
 caataaaciaa gtttaacaaca acaattgcat tcattttatg tttcagggtc agggggaggt 1020
 gtgggaggtt ttttaagca agtaaacct ctacaaatgt ggtatggctg aattccaggc 1080
 ggggagggcg cccaaaggga gatccgactc gtctgagggc gaaggcgaag acgcggaaga 1140
 ggccgcagag ccggcagcag gccgcgggaa ggaaggctcg ctggattgag ggccgaaggg 1200
 acgtagcaga aggacgtccc gcgcagaatc cagggtggca cacaggcgag cagccatgga 1260
 aaggacgtca gcttccccga caacaccacg gaattgtcag tgcccaacag ccgagccctt 1320
 gtccagcagc gggaaggca ggccgcgatg agttccgcg tggcaatagg gagggggaaa 1380
 gcgaaagtcc cggaaaggag ctgacagggtg gtggcaatgc cccaaccagt gggggttgcg 1440

20

30

tcagcaaaca cagtgcacac cagccacgt tgcccgacaa cgggccacaa ctccataa 1500
 agagacagca accaggattt atacaaggag gagaaaatga aagccatagc ggaagcaata 1560
 gcatgatata aaggcattaa agcagcgtat ccacatagcg taaaaggagc aacatagtta 1620
 agaataccag tcaatcttct acaaatcttg taatccagag gttgattgtc gacgcggccg 1680
 ctttacttgt acagctcgtc catgccgaga gtgatcccg cggcggtcac gaactccagc 1740
 aggaccatgt gatcgcgctt ctggttgagg tctttgctca gggcggtcag ggtgctcagg 1800
 tagtggttgt cgggcagcag caccgggccc tcgccgatgg ggtgtgtctg ctggtagtgg 1860
 tcggcgagct gcacgctgcc gtccctcgat ttgtggcgga tcttgaagtt caccctgatg 1920
 ccgttcttct gcttgcggc catgatatag acgttggtgc tgttgtagtt gtactccagc 1980
 ttgtgcccc ggatgttgcc gtccctcttg aagtcgatgc ccttcagctc gatgcgggtc 2040
 accagggtgt cgcctcgaa cttcacctcg gcgcgggtct ttagttgccc gtcgtccttg 2100
 aagaagatgg tgcgctcctg gacgtagcct tcgggcatgg cggacttgaa gaagtcgtgc 2160
 tgcttcatgt ggtcggggta gcggctgaag cactgcacgc cgtaggtcag ggtggtcagc 2220
 aggttgggcc agggcacggg cagcttgccg gtggtgcaga tgaacttcag ggtcagcttg 2280
 ccgtagggtg catcgcctc gccctcgccg gacacgctga acttggtggc gtttacgtcg 2340
 ccgtccagct gcaccaggat gggcaccacc ccggtgaaca gtcctcgcct cttgctcacc 2400
 atctgaagaa aaggagggtt cctttaagac caatgactta caaggcagct gtagatctta 2460
 gccacttttt aaaagaaaag gggggactgg aagggtctat tcaactccaa cgaagacaag 2520
 atatccttga tctgtggatc taccacacac aaggctactt ccctgattgg cagaactaca 2580
 caccagggcc agggatcaga tatccactga cctttggatg gtgctacaag ctagtaccag 2640
 ttgagcaaga gaaggtagaa gaagccaatg aaggagagaa caccgccttg ttacaccctg 2700
 tgagcctgca tgggatggat gaccgcgaga gagaagtatt agagtggagg tttgacagcc 2760
 gcctagcatt tcatcacatg gcccgagagc tgcacccgga gtacttcaag aactgctgac 2820
 atcgagcttg ctacaaggga ctttcgctg gggactttcc agggagggct ggcctgggcg 2880
 ggactgggga gtggcgagcc ctccagatgt gcataataag agctgctttt tgcttgact 2940
 gggctctctt ggttagacca gatctgagcc tgggagctct ctggctaact agggaaacca 3000
 ctgcttaagc ctcaataaag cttgccttga gtgcttcaag tagtgtgtgc ccgtctgttg 3060
 tgtgactctg gtaactagag atccctcaga cccttttagt cagtgtggaa aatctctagc 3120
 agtagtagtt catgtcatct tattattcag tatttataac ttgcaaagaa atgaatatca 3180
 gagagtgaga ggccttgaca ttataataga tttagcagga attgaactag gagtggagca 3240
 cacaggcaaa gctgcagaag tacttggaag aagccaccag agatactcac gattctgcac 3300
 atacctggct aatccagat cctaaggatt acattaagtt tactaacatt tatataatga 3360
 tttatagttt aaagtataaa cttatctaatt ttactattct gacagatatt aattaatcct 3420
 caaatatcat aagagatgat tactattatc ccattttaac acaagaggaa actgagaggg 3480
 aaagatgttg aagtaatttt ccacaaatta cagcatccgt tagttacgac tctatgatct 3540
 tctgacacaa attccattta ctccctcacc tatgactcag tcgaatatat caaagttatg 3600

10

20

30

40

gacattatgc taagtaacaa attacccttt tatatagtaa atactgagta gattgagaga 3660
 agaaattggt tggcaaacct gaatagcttc cagaagaaga gaagtgagga taagaataac 3720
 agttgtcatt aaccagtttt aacaagtaac ttggttagaa agggattcaa atgcataaag 3780
 caagggataa atttttctgg caacaagact atacaatata accttaaata tgacttcaaa 3840
 taattgttgg aacttgataa aactaattaa atattattga agattatcaa tattataaat 3900
 gtaatttact tttaaaaagg gaacatagaa atgtgtatca ttagagtaga aaacaatcct 3960
 tattatcaca atttgtcaaa acaagtttgt tattaacaca agtagaatac tgcattcaat 4020
 taagttgact gcagattttg tgttttgta aaattagaaa gagataacaa caatttgaat 4080
 tattgaaagt aacatgtaaa tagttctaca tacgttcttt tgacatcttg ttcaatcatt 4140
 gatcgaagtt ctttatcttg gaagaatttg ttccaaagac tctgaataa ggaaaacaat 4200
 ctattatata gtctcacacc ttgtttttac ttttagtgat ttcaatttaa taatgtaa 4260
 ggttaaaatt tatttctctc tgagatcatt tcacattgca gatagaaaac ctgagactgg 4320
 ggtaattttt attaaaatct aatttaatct cagaacaca tctttattct aacatcaatt 4380
 tttccagttt gatattatca tataaagtca gccttctca tctgcagggt ccacaacaaa 4440
 aatccaacca actgtggatc aaaaatattg ggaaaaaatt aaaaatagca atacaacaat 4500
 aaaaaatac aaatcagaaa aacagcacag tataacaact ttatttagca tttacaatct 4560
 attaggtatt ataagtaac tagaattaat tccgtgtatt ctatagtgtc acctaaatcg 4620
 tatgtgtatg atacataagg ttatgtatta attgtagccg cgttctaacg acaatatgta 4680
 caagcctaatt tgtgtagcat ctggcttact gaagcagacc ctatcatctc tctcgtaaac 4740
 tgccgtcaga gtccggtttg ttggacgaac cttctgagtt tctggtaacg ccgttccgca 4800
 ccccgaaat ggtcagcgaa ccaatcagca ggtcatcgc tagccagatc ctctacgccg 4860
 gacgcacgt ggccggcatc accggcgcca cagggtcgggt tgctggcgcc tataatcgccg 4920
 acatcaccca tggggaagat cgggctcgcc acttcgggct catgagcgct tgtttcgccg 4980
 tgggtatggt ggcaggcccc gtggccgggg gactgttggg cgccatctcc ttgcatgcac 5040
 cattccttgc ggccggcgtg ctcaacggcc tcaacctact actgggctgc ttctaatagc 5100
 aggagtcgca taaggagag cgtcgatatg gtgcactctc agtacaatct gctctgatgc 5160
 cgcatagtta agccagcccc gacaccgccc aacaccgct gacgcgccct gacgggcttg 5220
 tctgtcccg gcatccgctt acagacaagc tgtgaccgtc tccgggagct gcatgtgtca 5280
 gaggttttca cgtcatcac cgaaacgcgc gagacgaaag ggctcgtga tacgctatt 5340
 tttatagggt aatgtcatga taataatggt ttcttagacg tcagggtggca cttttcgggg 5400
 aaatgtgcgc ggaaccccta tttgtttatt tttctaaata cattcaaata tgtatccgct 5460
 catgagacaa taacctgat aaatgcttca ataattattga aaaaggaaga gtatgagtat 5520
 tcaacatttc cgtgtcgccc ttattccctt ttttgccgca ttttgccctc ctgtttttgc 5580
 tcaaccagaa acgctggtga aagtaaaaga tgctgaagat cagttgggtg cacgagtggtg 5640
 ttacatcgaa ctggatctca acagcggtaa gatccttgag agttttcgcc ccgaagaacg 5700

10

20

30

ttttccaatg atgagcactt ttaaagttct gctatgtggc gcggtattat cccgtattga 5760
 cgcggggcaa gagcaactcg gtcgccgcat acactattct cagaatgact tggttgagta 5820
 ctcaccagtc acagaaaagc atcttacgga tggcatgaca gtaagagaat tatgcagtgc 5880
 tgccataacc atgagtata acactgccc caacttactt ctgacaacga tcggaggacc 5940
 gaaggagcta accgcttttt tgcacaacat gggggatcat gtaactcgcc ttgatcggtg 6000
 ggaaccggag ctgaatgaag ccataccaaa cgacgagcgt gacaccaaga tgccgttagc 6060
 aatggcaaca acgttgcgca aactattaac tggcgaacta cttactctag cttccggca 6120
 acaattaata gactggatgg agggcgataa agttgcagga ccacttctgc gctcggccct 6180
 tcggctggc tggttttatt ctgataaact tggagccggt gagcgtgggt ctcgcggtat 6240
 cattgcagca ctggggccag atggtaagcc ctcccgatc gtagttatct acacgacggg 6300
 gagtcaggca actatggatg aacgaaatag acagatcgct gagataggtg cctcactgat 6360
 taagcattgg taactgtcag accaagttta ctcatatata ctttagattg atttaaaact 6420
 tcatttttaa tttaaaagga tctaggtgaa gatccttttt gataatctca tgacaaaaat 6480
 cccttaacgt gagttttcgt tccactgagc gtcagacccc gtagaaaaga tcaaaggatc 6540
 ttcttgagat ctttttttct tgcgcgtaat ctgctgcttg caaacaaaaa aaccaccgct 6600
 accagcggtg gtttgtttgc cggatcaaga gctaccaact ctttttccga aggtaactgg 6660
 cttcagcaga gcgcagatac caaatactgt ccttctagt tagccgtagt taggccacca 6720
 cttcaagaac tctgtagcac cgcctacata cctcgctctg ctaatcctgt taccagtggc 6780
 tgctgccagt ggcgataagt cgtgtcttac cgggttggac tcaagacgat agttaccgga 6840
 taaggcgag cggtcgggct gaacgggggg tctgtgcaca cagcccagct tggagcgaac 6900
 gacctacacc gaactgagat acctacagcg tgagctatga gaaagcgcca cgcttccga 6960
 agggagaaag gcggacaggt atccggtaag cggcagggtc ggaacaggag agcgacagag 7020
 ggagcttcca gggggaacg cctggtatct ttatagtctt gtcgggtttc gccacctctg 7080
 acttgagcgt cgatttttgt gatgctcgtc agggggggcg agcctatgga aaaacgccag 7140
 caacggggcc tttttacggt tcctggcctt ttgctggcct tttgctcaca tgttctttcc 7200
 tgcttatcc cctgattctg tggataaccg tattaccgc tttgagttag ctgataccgc 7260
 tcgcccagc cgaacgaccg agcgcagcga gtcagtgagc gaggaagcgg aagagcggcc 7320
 aatacgcaaa ccgcctctcc ccgcgcttg gcgattcat taatgcagct gtggaatgtg 7380
 tgtcagttag ggtgtggaaa gtcccagc tcccagcag gcagaagtat gcaaagcatg 7440
 catctcaatt agtcagcaac caggtgtgga aagtcaccag gctcccagc aggcagaagt 7500
 atgcaaagca tgcatctcaa ttagtcagca accatagtc ccgccctaac tccgccatc 7560
 ccgccctaa ctcgccag ttccgccat tctccgcc atggctgact aatttttttt 7620
 atttatgcag aggcgagcg ccctcggcc tctgagctat tccagaagta gtgaggaggc 7680
 ttttttgag gcctaggctt ttgcaaaaag cttggacaca agacaggctt gcgagatatg 7740
 tttgagaata ccactttatc ccgcgtcagg gagaggcagt gcgtaaaaag acgcggactc 7800
 atgtgaaata ctggttttta gtgcgcaga tctctataat ctgcgcaac ctattttccc 7860

10

20

30

40

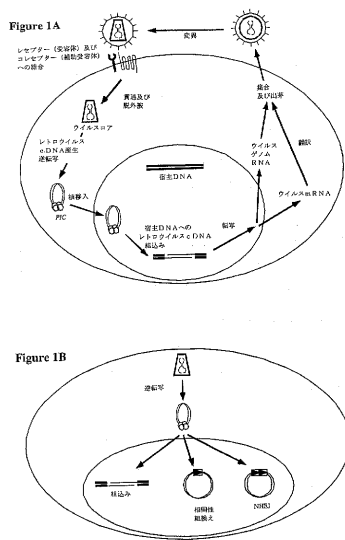
ctogaacact ttttaagccg tagataaaca ggctgggaca cttcacatga gcgaaaaata 7920
 catcgtcacc tgggacatgt tgcagatcca tgcacgtaaa ctgcgaagcc gactgatgcc 7980
 ttctgaacaa tggaaaggca ttattgccgt aagccgtggc ggtctgtacc ggggtgcgtta 8040
 ctggcgcggtg aactgggtat tgcgtcatgtc gataccgttt gtatttccag ctacgatcac 8100
 gacaaccagc gcgagcttaa agtgcgtgaaa cgcgcagaag gcgatggcga aggccttcac 8160
 gttattgatg acctgggtga taccgggtgt actgcggttg cgattcgtga aatgtatcca 8220
 aaagcgcaact ttgtcaccat cttcgcaaaa ccggctggtc gtccgctggt tgatgactat 8280
 gttgttgata tcccgcaaga tacctggatt gaacagccgt gggatatggg cgtcgtattc 8340
 gtcccgccaa tctccggctg ctaactcttt caacgcctgg cactgcgggg cgttgttctt 8400
 ttttaactca ggcggggttac aatagtttcc agtaagtatt ctggaggctg catccatgac 8460
 acaggcaaac ctgagcgaaa ccctgttcaa accccgcttt aaacatcctg aaacctcgac 8520
 gctagtccgc cgctttaatc acggcgcaaca accgcctgtg cagtgcggcc ttgatggtaa 8580
 aaccatccct cactgggtatc gcatgattaa cgtctgatg tggatctggc gcggcattga 8640
 cccacgcgaa atcctcgacg tccaggcacg tattgtgatg agcgatgccg aacgtaccga 8700
 cgatgattta tacgatacgg tgattggcta ccgtggcggc aactggattt atgagtgggc 8760
 cccggatctt tgtgaaggaa ccttacttct gtggtgtgac ataattggac aaactaccta 8820
 cagagattta aagctctaag gttaaataaa aatttttaag tgtataatgt gttaaacctac 8880
 tgattctaat tgtttgtgta ttttagattc caacctatgg aactgatgaa tgggagcagt 8940
 ggtggaatgc ctttaatgag gaaaacctgt tttgctcaga agaaatgoca tctagtgatg 9000
 atgaggctac tgctgactct caacattcta ctctccaaa aaagaagaga aaggtagaag 9060
 accccaagga ctttcttca gaattgctaa gttttttgag tcatgctgtg tttagtaata 9120
 gaactcttgc ttgctttgct atttacacca caaaggaaaa agctgcactg ctatacaaga 9180
 aaattatgga aaaatattct gtaaccttta taagtaggca taacagtat atcataaca 9240
 tactgttttt tcttactcca cacaggcata gagtgtctgc tattaataac tatgctcaaa 9300
 aattgtgtac ctttagcttt ttaatttgta aaggggttaa taagggaatat ttgatgtata 9360
 gtgccttgac tagagatcat aatcagccat accacatttg tagaggtttt acttgcttta 9420
 aaaaacctcc cacacctccc cctgaacctg aaacataaaa tgaatgcaat tgttgttgtt 9480
 aacttgitta ttgcagctta taatgggttac aaataaagca atagcatcac aaatttcaca 9540
 aataaagcat ttttttact gcattctagt tgtggtttgt ccaaactcat caatgtatct 9600
 tatcatgtct ggatcaactg gataactcaa gctaaccaaa atcatccaa acttcccacc 9660
 ccatacccta ttaccactgc caattacctg tggtttcatt tactctaac ctgtgattcc 9720
 tctgaattat tttcatttta aagaaattgt atttgtaaa tatgtactac aaacttagta 9780
 gt 9782

10

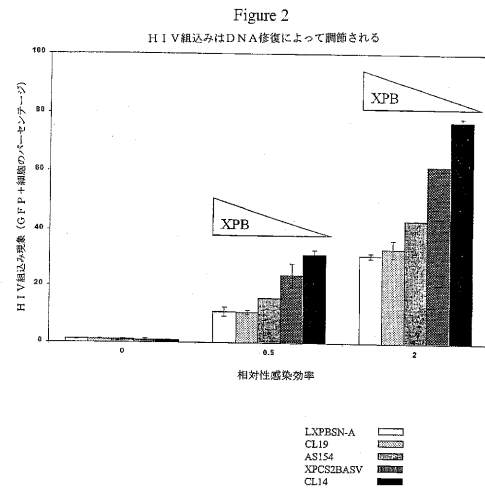
20

30

【図 1】



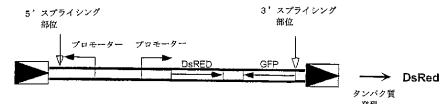
【図 2】



【図 3 A】

Figure 3A

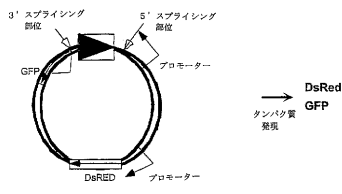
レトロウイルスプロウイルス



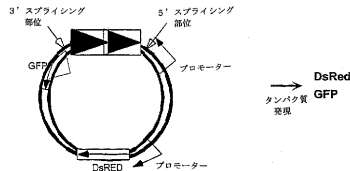
【図 3 B】

Figure 3B

レトロウイルス 1-LTR 型



レトロウイルス 2-LTR 型



【図 4 A】

Figure 4A

```

1  GGGAGCTTCGGGATTGAGCGGAAAGTCCCCCAGAGCGGATGCGCGCGCGGCTGTGGG
61  AGCGGGGTCACTTCTCTCTGCTGCTGATGCTGCGGCAAGAGACCGGCGGACCC
121  GCGACAAGAGAAATCCAGGAGCGCTACTATGAGGATGAGAGGATGATGAAGAGGAC
181  CCGCGGGAAAGCGCTCAGGAGCGGTCCCTCGCGCGCGGAGGAGCGGTGATGATG
241  CAGGACCAAGGTGGATGATATGAGGACCAAGGACTACAGGCTGCAATGCGCGTGAAG
301  AGACCAACACTCCAGGCGCTCTGAGGTGGTCCGATGAGCAATCTTTTGGAGAGCTT
361  TCTTTCGAGTTTCAAAATGCGCAAGACTTCTTGGTGGTATTCGAGGACGATGTGCT
421  GACCAACCGATGCGATGAGTCAAACTAACTGCTACTCTCTGATGAGGAGTGTGAGCG
481  TTGGGCTGCAACACGATCATCCGAGTACCTCAGGAGCTCAGCAAGCTGGAGTCC
541  CTGATGGAATTATGAGCTTTATTAAGTTGTGACTGTGAGTATGGAAGGTCAGGCTG
601  TCTTGAAGCAACAGATACTCTGTTGAAGTTGCGACCTGATGTAATCCAGCATCTTC
661  TCCAGGAGCGGTGATCGGAGAGGCGCTTAAGAACTCTGAGGAGGAGCGCATGAGC
721  TCATCAGAGAGCTTTCAAGAGCAATGCGCTCTTCTTAAGGCTGCTGAGGAGGAGTGT
781  GGCGCTCCACTTCCGAGTGAAGATCCAGGAGTAAATCTGAGATCCCGATGAGCTGT
841  TTGACTTCTATGAGCAATGAGCAAGGATGAGAGGAAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGT
901  CTTTGAAGTCAAGCAAGAAATGATTGAGGAACTCCAGAAAGTTCATCCACTGGAGT
961  ACCCTCTGTTGGCAGATATGACTTCGAGATGATCTGTCAGACCTGATCAACATTTG
1021  ACTTAAGCGGCGAGCTGCTCGAGCGCTATCAGAGAGAGGTTGCGAGAGATTTTG
1081  GAACGGGCTGCAAGTTCGGGCGTCAATGTTCTTCCCTGCGGTGCTGGAAGTCCCTGG
1141  TTGGTGTGCTGCTGATGAGCTGTGAGAAAGCGTGTCTGAGTGGGCACTGAGCTG
1201  TTTCTGTGAGGAGTGAAGAGCGGCTCAAGATGTTGTTCCACTTGAAGAGAGAGAG
1261  TGTGCGGTTCACTCCGATGCGAGGAGCAAGCCATCGGCTGCTCCCTGCTGCAATGAG
1321  CTTACTCGATGCTGGGCAACAGCAAGAAAGTCTGAGAGGCGGAGGAGTCTGAGAGT
1381  GGTCTAGAGAGCGGAGTGGGCTGATGCTGAGTGGTGGAGAGTGCACAGATACAGGCA
1441  AGAGTGTCCAGAGGTTGCTCAACCTGCTGAGGCGGCTGAGTGGGTTTGAAGTGGG
1501  CCTCTCGGAGATGACAAATTTGGATTTAAATTTTCTGATGGGCTGAGCTCT
1561  ACGAAGCGAATCGGATGAGCTGCAAGATTAATGCTCATCGCCAAAGTCCAGTGTGCT
1621  AGGTCTGGTCCCTATGTCTCTGAAATTTACCGGAGATATGAGCAATCAAAACCAAG
1681  AAGCAATCTTGTGACACCTGAGAGCCCAAGAGGCTGAGGCGGCTCTCGAGCTAAGAG
1741  AGTTTCAATGAGAGAGAGATGAGCAAGATTTATGCTTGTGCTGAGAAATGTTTGGCT
1801  AGGAATATGCACTGAGTGAACAACTTATATCTAGGAGCTAGCTCTCAGGAGGAGAA
1861  GATGCAAAATTTCCAGAAATTTCAAGCAACCCCAAAATTAACCATCTCTCATATCCA
1921  AGGTAGGTGACATCTGCTTGTATCTGCGAGAGCAAAATGTCCTCATTCAGATCTCATCC
1981  ATGTTGGCTCAGGCGTCAAGAGCCCAAGGCTGAGGCGGCTCTCGAGCTAAGAG
2041  GAGGAGTTCAGAGAGATCAATGCTTTTCTGATGAGTCTGAGTCTCAGAGAGAGAGG
2101  AATGAGTCTCAACCAAGCGGAGAGATCTTGTGATGATCAAGTTATAGCTTCAAGG
2161  TGATCAGAACTCGCTGGCATGAGAGAGAGAGTCTGGGCTTTTCCAGAAAGAGAGG
2221  AAGCAGAGCTCTTCAAGAAATCTGCGAGGCACTGAGCTGAGTGGAGAGAGAGAGTGG
2281  TGGTGGGAGATTTGGCTCAGATCAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGT
2341  CTAGTCTGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGT
2401  CAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG
2461  TTGCTTCAAGAGCGGCGCTGGGAGCGCTTGTGAGAGAGAGATTTTCAAGCAATTAAT
2521  CTTCCAGCTCTTGAACCTTCCCTCAGCGTGTGGCAAAATTTGTGAGAGAGAGAGAG
2581  AGGAGTGGGCTGCTGCTGATAGTCTATAGGCTTGTGAGAGAGAGAGAGAGAGAGAG
2641  TTTTTCAGAGATTTTGGAGAGTGGGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
2701  GTGATTTAGGTTACCTGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
  
```

【 図 4 C 】

Figure 4C

61 ATGAAGACCTCAATCGAGCGGGCTCGTGGCTACTCTCCGCGAGCATCATCTACCCGAGAC
62 CAGTCTTCTCAATCGAGCGGGCTCAAGCGAGTCCGAGCGAGGCTCAGTAGGCTCTGT
121 GAGATGGCTCTCAAGCGCGCGGAGAGCAAGTATCTCGTTGGCCCTCATCATCGGCTACCG
122 GAGAGTGGTCTCAAGCGCGCGGAGAGCAAGTATCTCGTTGGCCCTCATCATCGGCTACCG
123 GAGAGTGGTCTCAAGCGCGCGGAGAGCAAGTATCTCGTTGGCCCTCATCATCGGCTACCG
301 AAGCTCGCTCTGTTCGAGACATGGCTCGATGCTCGCGGAAAATCTGTGATTATCCAGCTT
302 GTGACACCCCTCGCTGTTCTGGAGAGAGCTCGATGGAGAAATGCCAGAGCTCAGAGCTC
421 TATGTCGGCGCCAGCTACACAGATACACCAAGCTCCGCCATCTGCAGATTATATGAGAA
422 TTGATGCTCGATCGGCGCTGAGTGCTGCTCCGCTCGGCATCGATACATCGATGATACCG
423 TATGTCGGCGCCAGCTACACAGATACACCAAGCTCCGCCATCTGCAGATTATATGAGAA
601 CATGCGACATGTTGGTGGTGTAGCTACCTACCTACCTCGGACCCGAGATGTCAGAGCT
602 GTGTCAAGAGATCGGCCCGACAGCTGCTGTGCTGTCTGACGAGAGGACCAACATTCAC
721 AAGCTCTGCACTCACTCATCGAGAGCTCAACTCGCGCGCGAGACCTGACCGGTGACG
722 GGCAACTGTGAGACCTCGATAGAGCGCTGCTCAGSAGTCAAGAGAGACAGACGACGCG
841 CTCTCGGACAGTACACCGGCGCTGCGGCGGAGCTCGAGAGAGCTCGGCGAGCTGAG
842 GAGAGTGGTCTCAAGCGCGCGGAGAGCAAGTATCTCGTTGGCCCTCATCATCGGCTACCG
961 GCTCTCAATCGAGCGCGGAGCAATCTTCGCGGCTCTCTGAGGCGCTCTGTGAGTATGAG
1021 AAGTGGCGCTCGCTGTGTGATCATCGAGCGAGCGCCGCTGCGCTCTCGTAGCGCG
1022 GTGCGCCAGCGCGCTGTGATCATCGAGCGAGCCGCTCAGATTCTGTGTGAGACCGCTCGG
1241 TCCTCGTCTGCATCATCTCGAGATACACGAGCTCTGCTGATCTCTCCGCGCTCAAGCTCTCT
1242 TCCTCGTCTGCATCATCTCGAGATACACGAGCTCTGCTGATCTCTCCGCGCTCAAGCTCTCT
1401 TTGAGACAGAGACCCCGACCATTCGCAACCCCATCTGCACTGATCGTCACTGATCGGCG
1402 TCCTCGTCTGCATCATCTCGAGATACACGAGCTCTGCTGATCTCTGATCATCATCTGGGAC
1321 GTGTCCGCTCGAGCATCATACCGAGATCTCGAGATCTCCACCCTGCTCACATGTCACAC
1441 TTGAGTGGTCTCGCTGTCGACAGCGGCTGCTCTGCCCTATATGATCTCGCGCTGTGATCATG
1501 CAGGTGCTGCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
1502 GCT
1621 AGCTACAGTATCAAGCGAGTACCGTTCGCTGCTGCTGTATGAGCAGGGGCTGTTGAGAAC
1622 ATCCAGAGAGACCAAGCTGCTCATTTGAGCACCGAGGATGCGGAGACCAAGCTGTGGC
1741 CTGAGAGATATCAAGAGAGGCTTCGAGAAATGGCCGCGCGGAGCTCCCTGTGCTGATCGG
1801 GCGAGTCAAGTATCAAGAGAGGCTTCGAGAAATGGCCGCGGAGCTCCCTGTGCTGATCGG
1802 GCGAGTCAAGTATCAAGAGAGGCTTCGAGAAATGGCCGCGGAGCTCCCTGTGCTGATCGG
1921 GCGAGTCAAGTATCAAGATTTGAGATAGTCACTTCTGATCTGTAGTGTGCTGCGGACGAG
1922 GCCAGTATGCTGCTGGCGCATCAGGCGACAGGAGCTGACATCGCTCATGTGCTTTGGC
2041 GACAGCGTGTTCGCCGTGGGACAGCGCGGAGAGTGGCCGCTGGATTCAGSAGATC
2101 CTCACAGATGCTGCTTCAATCTCAATCTCAGTGGCGAGGCTGTTCAGGTGAGAGATGCT
2102 CTCACAGATGCTGCTTCAATCTCAATCTCAGTGGCGAGGCTGTTCAGGTGAGAGATGCT
2221 CTGCGACGCTAGATATCAAGAGAGGCTCGAGAGAGATGAGCGATGCTCTCAGCAGCTAC
2222 TGAGTGGCGCGCTGGGCGCATAAACGCTTCGTTGGTGA

【 図 5 A 】

Figure 5A

[illegible]

【 図 5 C 】

Figure 5B

[illegible]

Figure 5C

ACGCGCGCCACTACCTGCTGTGGATGTTCAAGTCCATACATGACGCGCAAGAGCCGCTCAGC
TCCGCGGATCTACTACTGCTGACGCGCAACCTGCGATCACTCCCTCAACAGAGGACTATCA
TCATCTGGGAGCACTGCGAGCGCGACGAGGCGGCGACCACTCTGTTCTGATGCGCGGGCGG
TGCGACATCAAGCTCTGGAATACAAAATTTGGAAGATGATGTTCTGATGATGATGATGATG
TCTGCGGCGGCTGCTGCTGCTCTCTCTCTGATAAATCTGTTGGTCTGCTGTTTATGAGG
AGTCTGTGSGCGTCTTGTCAGGCAAGATGSGCTGGTGTCGATCTGTTCTGCGGCAACC
CCACTGTTTGGGCACTTGCCAACTCTGTCAGCTCTTCTTGGGCACTTGCTGCTTCCGCC
TCCCTATTTGCGCGCGGACATCTATCGGCGCTCTGCTCCGCTCTGTCGAGAGGCGGCG
GGCTGTTGGGCACTGACAAATTTCTGCTGCTGCTGCGCGGAGCTCTCTCTCTGCTCTCTG
TCTGCGGCGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CCGCAATCAGCGCAAGCTTCTTCCGCGCGCTGCTGCGCGCTCTGCGAGCTCTCTCCG
GTCTTGGCTCTTCCGCTCAGACGAGTGCGATCTCTCTTGGTCCGCGCTCTCCGCGCTGAA
TCTCGCGATCTTGATGATCAATCAGCATAACCACTATTGTAGAGGATTTACTGTGTTTAA
AAACCTCCCAACACTCCCCCTCAAGTCTGAAATCAATAAATGAAAGCAATTTCTGCTG
ACTTGTTATTTGCGATTTATATGTTTAAATCAATTTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
ATG
TACGAGGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
CCGCAAGGCGCTCGAGCGCGAGCGAGCGCGCTCCGCGCGATCTCAAGTGTGCAACAGAGGCGAG
CCGAGTGAAGAAGACTCGAGCTCCGCGCAACACCAAGGATTTGTCAGTCCAGGCTGCTG
GAGGCGGCTCTGCGCGCGCGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGG
GAGGCGGCTCTGCGCGCGCGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGG
GAGGCGGCTCTGCGCGCGCGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGG
CTCTTAAGAAGGCAACAGCCAGGATTTTCTCAAGAAGAGGATGATGATGATGATGATGATG
AAGCAATGATGATGATAAAGGATTTAAGAGCGATGACCAATAGGATGATAAAGAGGATG
CAGATGTTAGATTAACAGGTCAATTTCTTCAAGATTTTGTATTCAGAGAGTTGATGTTGCG
CGCGCGGCTCTTACTGTGTACAGCTGTGTCTGCTGCGAGCGAGTATTCGCGCGAGCTG
ACTCCAGCGAGCGACGTGATGTCAGCGAGCGAGCGAGCGAGCGAGCGAGCGAGCGAGCG
GAGGCGGCTCTGCGCGCGCGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGCGAGCGG
GTATGCTGCTGCGCGCGCGCGAGCGCTGCGCTCTGAGTTGTGAGCGATTTGATGATGATG
CTTTGATGCGGCTCTTCTGCTGTTCCGCGCATATAGAGATCTGTGCTGTCTGTATGTTG
ACTCCAGCTGTGCGCGAGGATGTGTGCTGCTGCTGCTGAGATGAGCGCTGAGCTGAGCTG
TGCAGTTTCCAGCGGCTGTCCGCTCGACTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
ACTGCTGCTGCTCATGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TGCTCAGAGGCTGCGCGCGCGCGCGAGCGAGCGAGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TCAGCTGCTGTAGTGTGAGTCAAGCTGCGCTGCTCCGCGCAAGCTGATCTGTGCGGCTG
TATCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TGTGCACTGTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
CCGACTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TCTGTTGACTCTGAGTCAATAGAGATCCCGCAGCTCTTATGTCAGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
TAGAGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
TCTG
CATCAAAATTTCAAAATAAAGCATTTTTCATGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATG
ACTCATCAATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
TCCGCCATTTCCGCCCATCTAGCTGATTTTTTTTTTTTATTTGTCAGAGCGCGAGGCT

【 図 5 D 】

【 図 6 A 】

Figure 5D

[illegible]

Figure 6A

[illegible]

【 図 6 C 】

Figure 6C

CCGCTATGCTGGTATTCTACACAGCGCGAGGATGACCAACTGATGCTTGAAGCAAAATGACGACAT
CCCTGAGATAGAGTGCCCTCACTGATTAAGCATATGATCTGTCAGACGAGTCTTACTCATATATATAT
CTTTAGATATGATATTAACATCTCAATTTTAAATGAAGATCTAGTGAGAGATCTCTTTTGATAT
ATCTCTGACGACCAAAATCTCTTAGAGTGAGTTTTCCTGCTACGAGAGAGACACCCCTGGTAAAAA
CTGAGTATGAGTCTCTGCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGCTGCTGCTGCAAAACAAAAAA
CAACCCCTACACGAGTCTGCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGT
CTGCTGTCAGAGAGCGAGATACAACATACTGCTCTCTGATGAGCGGTATGATGCGCAACGAA
CTTCAGAACTCTGTGATCGACCCGCTACACTGCTGCTCTGATTAACCTGCTGTACCACTGAGTGGCTG
CGCAGTSCGATATGCTGCTGCTACACCGTTGAGATCAAGACGAGTATATACGAGATATACGAGAGCG
AGCGTGTGGGCTGACGCGGGGGTCTGTGACACAGAGCCAGCTGTGAGCAAGCAACCACTACACCGCA
ACGAGATATCTACAGCGGTGAGTATGAGTACAGAGAGAGCCAGCGTCTCCGAGAGAGAGAGCGAGAC
CTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCT
CTGCTGATCTTTATATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
CTCTGTGAGGGGGCGAGCGCGTATGAGAAAAACGCGAGCAAGAGCGCTCTTTAGTACCTCTCGGGC
TTTTCGTGCGCTCTGCTGCTACATGCTCTGCTGCTGATATCCCTGATCTGAGTATTAACCTG
TATCGCGCTTTGAGTGAGTCTATATCGCTGCTGCGACGCGACGAGCGAGCGAGCGAGCGAGTCACT
TATGACGCTGCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGT
TATGACGCTGCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGT
AAATGATGCAAGCATGCTATCAATTAATGACGACAGCAGGTGTGAATGAAATCCGACGCTCCCGCA
CGAGGACGAGTATGCAAGACGATCATCAATTAATGACGACACATGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCT
CGCAGCATCCGCGCCCTACATCGCCGCAATCTCGCGCCATCTCCGCGCCATGCTGCTGATCTATTT
TTTATTATGACGAGCGCGAGCGCGCTCGGCTCTGAGTCTATCAAGAAATGATGAGGAGGCG
AGATGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGT
AGATGAGTCTTATCCCGCGCTGAGGACGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGT
TACTGCTGTTTAGTGCGCGAGATCTATTAATCTCGCGCAACTATTTCCCTCGAGCACTCT
TATAGCGCTGAGTAAACCGGTGGGACACTCATGATGAGCGAAATAACTGAGTCACTGGACCTGGAC
TATGTCGATCATGTCGACCTAACTCGGACCGGACGATGCTCTGTGATCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGT
TATGTCGTAAGCGGTGGCGTGTGTCGAGCGGTGGTCTGATGCGCGGTGAACTGGGTATGCT
CTGTCGATATCGCTTGTATTTCGACGAGTCTGACGACCAACGCGCGAGTCTAAATGTGTCGTA
TATGTCGATGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCT
TCGCTGTGCGATCTGCGATATGTCGTAAGTCTGCAAGAGCGCATCTGTCCGACATGAAACCGACCT
GGTGGTGGCGCTGATGATGACTGATTTGTGATGATCTGCGAGATGATCTGATGATGACAGCGCT
GGGATATGGGCTGCTGATGCTCGCCCACTCTCGGTGCGTAACTCTTACGCTCGGACCTGCGACCT
CGCGGCGCTGTGCTTTTAACTACAGCGGGTCTACAAGATGTTTCCGATAGATATCTGAGAG
TGCATCTGCGACACGAGCAAGCACTGAGCGAAACCTCTTCAACCGCTCTTATACATCTCGTAA
TATGTCGATGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGTCTGAGT
PSTAAACCACTCTGATCTGATGATGATTAACCTGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
CCCGACGAAATCTGCGAGCTGACGAGCACTGTGTGATGATGAGCGGTGCGAAGCTACCGACGAT
GACTTATGATACGCTGATGCTGCTACCTGACCTGAGTCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
TTTGTGAGAGCACTTACTCTGTGTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
TGTGAT
TGTGAT
TATTAATACGCTGCTCAAAAATGTGTACTTTGCTTTTAAATTTTAAAGSGTCTTAAATG
GAATATTTGATGATGATGCTGCTGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGATGAT
TCTTCTGCTTAAAAAACCTCCACACTCCCGCTGAGATCAACCAAAAAAAGTACGATTT

Figure 6D

TGTTGTTAACTGTTTATGTCAGCTTATAATGGTTTACAATAAAGCAATAGCATCACAAATTT
CACAAATAAAGCATTTTTTCACTGCATTTCTAGTTGTGGTTTGTCCAACTCATCAATGTATCT
TATCATCTCTGATCAACTGTGATAACTCAATGATACCAAATCATCCCAAATCTCCCAACCCAT
ACCTATTACTGCTCAACATACCTGTGGTTTCTTACTCTAAACCTGTGATTCCTCTGAATT
ATTTTCATTTTAAAGAAATGTGATTGTGTTAAATATGTATCTACCAAACTTAGTAGT

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US03/10302		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER				
IPC(7) : C12Q 1/70, 1/68; C12N 15/867 US CL : 435/5, 6, 320.1 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) U.S. : 435/5, 6, 320.1				
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) Please See Continuation Sheet				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
P, A	US 6,514,706 B1 (VON KALLE et al) 04 February 2003 (04.02.2003), see entire document and column 5, lines 10-23.	1-132		
A	US 5,759,768 A (HASELTINE et al) 02 June 1998 (02.06.1998), see entire document.	1-132		
A	US 6,242,175 B1 (JACKSON et al) 05 June 2001 (05.06.2001), see entire document.	1-132		
☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.				
* Special categories of cited documents: <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%;"> "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent 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 </td> <td style="width: 50%;"> "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 </td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent 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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent 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 23 August 2004 (23.08.2004)		Date of mailing of the international search report 08 SEP 2004		
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 872-9306		Authorized officer Nancy T. Vogel <i>N. Roberto for</i> Telephone No. (571) 272-1600		

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US03/10302

Continuation of B. FIELDS SEARCHED Item 3:

STN files Biosis, Medline, Caplus, Embase

EAST

search terms: retrovir?, integrat?, dna repair, induc? assay, screen, prevent?

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 3/10	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 6
A 6 1 P 25/00	A 6 1 P 3/10	4 H 0 4 5
A 6 1 P 31/18	A 6 1 P 25/00	
A 6 1 P 35/00	A 6 1 P 31/18	
A 6 1 P 35/02	A 6 1 P 35/00	
C 1 2 N 5/06	A 6 1 P 35/02	
C 1 2 Q 1/68	C 1 2 Q 1/68	A
// C 0 7 K 14/47	C 1 2 N 5/00	E
	C 0 7 K 14/47	

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

(74)代理人 100099656

弁理士 山口 康明

(72)発明者 フィッシュル、リチャード、エー .

アメリカ合衆国、1 9 0 7 2 ペンシルバニア州、ペン バレー、スプレーグ ロード 5 7 5

(72)発明者 ヨダー、クリスティン、イー .

アメリカ合衆国、1 9 0 7 2 ペンシルバニア州、ペン バレー、スプレーグ ロード 5 7 5

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA80 CA04 FA02 FA10 HA01 HA11
 4B063 QA01 QA06 QA08 QA18 QQ02 QQ07 QQ08 QQ79 QR06 QR07
 QR13 QR32 QR48 QS03 QS22 QS36 QX02
 4B065 AA72X AA90X AA90Y AA97Y AB04 AC20 BA01 CA24 CA44
 4C084 AA13 AA17 MA01 NA14 ZA012 ZB262 ZB272 ZB332 ZC352 ZC552
 4C085 AA13 AA14 DD88 EE01 GG01
 4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 EA16 MA01 MA04 NA14 ZA01 ZB26
 ZB27 ZB33 ZC35 ZC55
 4H045 AA10 AA20 BA10 CA40 DA01 EA20

专利名称(译)	鉴定调节DNA修复途径和/或逆转录病毒感染的化合物的方法，其化合物及其用途。		
公开(公告)号	JP2005529591A	公开(公告)日	2005-10-06
申请号	JP2003586284	申请日	2003-04-04
[标]申请(专利权)人(译)	Fischl理查德代理 呦大新恭麒		
申请(专利权)人(译)	Fischl，理查德，呃。 尤德，恭，E.		
[标]发明人	フィッシュルリチャードエー ヨダークリスティンイー		
发明人	フィッシュル、リチャード、エー。 ヨダー、クリスティン、イー。		
IPC分类号	C12N15/09 A61K31/7088 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P3/10 A61P25/00 A61P31/18 A61P35/00 A61P35/02 C07K14/47 C12N5/06 C12N15/867 C12Q1/68 G01N33/50 G01N33/53		
CPC分类号	A61P25/00 C07K14/47 C12N2740/10011 C12N2740/16011 G01N33/502 G01N33/5308 G01N2333 /91245		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K31/7088 A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61K48/00 A61P3/10 A61P25/00 A61P31/18 A61P35/00 A61P35/02 C12Q1/68.A C12N5/00.E C07K14/47		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/FA02 4B024/FA10 4B024/HA01 4B024 /HA11 4B063/QA01 4B063/QA06 4B063/QA08 4B063/QA18 4B063/QQ02 4B063/QQ07 4B063/QQ08 4B063/QQ79 4B063/QR06 4B063/QR07 4B063/QR13 4B063/QR32 4B063/QR48 4B063/QS03 4B063 /QS22 4B063/QS36 4B063/QX02 4B065/AA72X 4B065/AA90X 4B065/AA90Y 4B065/AA97Y 4B065 /AB04 4B065/AC20 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA44 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/MA01 4C084/NA14 4C084/ZA012 4C084/ZB262 4C084/ZB272 4C084/ZB332 4C084/ZC352 4C084/ZC552 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/DD88 4C085/EE01 4C085/GG01 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086 /AA03 4C086/AA04 4C086/EA16 4C086/MA01 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZA01 4C086/ZB26 4C086/ZB27 4C086/ZB33 4C086/ZC35 4C086/ZC55 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/BA10 4H045 /CA40 4H045/DA01 4H045/EA20		
代理人(译)	矢口太郎 大森纯一 山口泰明		
优先权	60/370376 2002-04-05 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

逆转录病毒是RNA病毒，必须将其基因组的DNA副本（cDNA）插入宿主基因组中才能进行生产性感染。防御逆转录病毒cDNA整合的一种宿主细胞途径涉及宿主DNA修复途径的高度保守的蛋白质。这些蛋白质代表了抗逆转录病毒药物的新靶标。本文提出的本发明尤其提供了鉴定诱导DNA修复途径和/或抑制逆转录病毒cDNA整合入宿主基因组的化合物的方法，由此鉴定的化合物，此类化合物的用途以及用于鉴定和测试其功效的试剂盒。这些化合物可诱导DNA修复途径，抑制逆转录病毒cDNA整合和抑制逆转录病毒感染。

(51) Int. Cl. ⁷	F 1	テーマコード (参)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B 0 2 4
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	4 B 0 6 3
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 39/395 D	4 B 0 6 5
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 39/395 N	4 C 0 8 4
A 6 1 K 48/00	A 6 1 K 45/00	4 C 0 8 5
審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 69 頁) 最終]		

(21) 出願番号	特願2003-586284 (P2003-586284)	(71) 出願人	504372993
(86) (22) 出願日	平成15年4月4日 (2003.4.4)		フィッシュル、リチャード、エー.
(85) 翻訳文提出日	平成16年12月6日 (2004.12.6)		アメリカ合衆国、1 9 0 7 2 ペン
(86) 国際出願番号	PCT/US2003/010302		ニア州、ベン バレー、スプレグ
(87) 国際公開番号	W02003/089573		ド 5 7 5
(87) 国際公開日	平成15年10月30日 (2003.10.30)	(71) 出願人	504373004
(31) 優先権主張番号	60/370, 376		ヨダー、クリスティン、イー.
(32) 優先日	平成14年4月5日 (2002.4.5)		アメリカ合衆国、1 9 0 7 2 ペン
(33) 優先権主張国	米国 (US)		ニア州、ベン バレー、スプレグ
			ド 5 7 5
		(74) 代理人	100104411
			弁理士 矢口 太郎
		(74) 代理人	100104215
			弁理士 大森 純一