

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A) (11)特許出願公表番号

特表2003 - 501084

(P2003 - 501084A)

(43)公表日 平成15年1月14日(2003.1.14)

(51) Int.Cl ⁷	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 39/395	D 2 G 0 4 5
A 6 1 K 39/395			N 4 B 0 2 4
		45/00	4 B 0 6 4
45/00		A 6 1 P 31/10	4 B 0 6 5
A 6 1 P 31/10		C 0 7 K 14/40	4 C 0 8 4
審査請求 未請求 予備審査請求 (全 97数) 最終頁に続く			

(21)出願番号 特願2001 - 502570(P2001 - 502570)

(86)(22)出願日 平成12年6月8日(2000.6.8)

(85)翻訳文提出日 平成13年12月10日(2001.12.10)

(86)国際出願番号 PCT/FR00/01567

(87)国際公開番号 W000/075305

(87)国際公開日 平成12年12月14日(2000.12.14)

(31)優先権主張番号 99/07250

(32)優先日 平成11年6月9日(1999.6.9)

(33)優先権主張国 フランス(FR)

(71)出願人 アベンティス ファルマ ソシエテ アノニム

フランス国 エフ92160 アントニー、アヴニユ レーモン アロン、20

(72)発明者 ジャンルイ ララン

フランス国 エフ94120 フォントネイ スー プワ、アヴニユ デュ マレシャル、110

(72)発明者 コルニエ ロシェ

フランス国 エフ75012 パリ、リュ エリザ レモニエ、3

(74)代理人 弁理士 倉内 基弘 (外1名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 新規なカンジダ・アルビカンス遺伝子及びこれらの遺伝子によりコードされるタンパク質

(57)【要約】

この発明は、カンジダ・アルビカンス遺伝子のタンパク質(以後、PcaDR472、PcaDR489、1PcaDR527、1PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361と呼ぶ)及びそれらの類似体並びに該タンパク質又は該タンパク質のポリペプチド類似体をコードするポリヌクレオチド(RNA、DNA)、該ポリペプチド及びポリヌクレオチドの製造方法、それらの、抗カビ剤として利用することのできる該タンパク質のインヒビターの製造のための利用及びかかるインヒビターを含む医薬組成物に関するものである。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 下記の群から選択するヌクレオチド配列をそれぞれ含む単離したポリヌクレオチド：

a) SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14から選択する配列と同じ機能を有し且つ相同なアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと少なくとも50%の又は少なくとも60%の、好ましくは少なくとも70%の同一性を有するポリヌクレオチド

b) ポリヌクレオチドa)の相補的ポリヌクレオチド

c) a)及びb)で規定したポリヌクレオチドの少なくとも15の連続する塩基を含むポリヌクレオチド。

【請求項2】 ポリヌクレオチドが、DNAである、請求項1で規定したポリヌクレオチド。

【請求項3】 ポリヌクレオチドが、RNAである、請求項1で規定したポリヌクレオチド。

【請求項4】 SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11及びSEQ ID NO: 13から選択するヌクレオチド配列をそれぞれ含む、請求項2で規定したポリヌクレオチド。

【請求項5】 DNA配列が、それぞれカンジダ・アルビカンスのタンパク質(タンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361と同じ機能を有するもの)をコードする遺伝子のものであり、各々がSEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11及びSEQ ID NO: 14から選択するヌクレオチド配列を含むことを特徴とする、請求項1、2及び4で規定したポリヌクレオチド。

【請求項6】 SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14から選択するアミノ酸配列をそれぞれコードする、請求項5に記載の遺伝子のDNA配列。

【請求項7】 請求項5及び6に記載のタンパク質PCaDR472、PC

aDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361をコードするDNA配列並びにこれらとハイブリダイズし及び/又はこれらの配列若しくはその断片と有意の相同性を有し及び同じ機能を有するタンパク質をコードするDNA配列。

【請求項8】 タンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361と同じ活性を有するタンパク質をコードする少なくとも一つのヌクレオチドの抑制、挿入及び/又は置換により導入された改変を含む、請求項5～7に記載のDNA配列。

【請求項9】 請求項5～8の一つに記載のDNA配列並びに該DNA配列と少なくとも50%の又は少なくとも60%の好ましくは少なくとも70%のヌクレオチド配列相同性を有するDNA配列。

【請求項10】 請求項5～9の一つに記載のDNA配列並びに類似の機能を有するタンパク質をコードするDNA配列であって、該タンパク質の各AA配列が該DNA配列によりコードされるAA配列と少なくとも40%の、特に45%の又は少なくとも50%の、むしろ少なくとも60%の、好ましくは少なくとも70%の相同性を有する、上記のDNA配列。

【請求項11】 請求項5～10の一つに記載のDNA配列によりコードされるSEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14から選択するアミノ酸配列をそれぞれ有するポリペプチド及びこれらのポリペプチドの類似体。

【請求項12】 アミノ酸配列SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14をそれぞれ有する組換えタンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361の製造方法であって、これらのタンパク質の各々を製造するために、請求項5～10の一つに記載のこのタンパク質をコードするDNA配列の適当な宿主での発現とその後の該組換えタンパク質の単離精製を含む当該製造方法。

【請求項13】 請求項5～10の一つに記載のDNA配列の一つをそれぞれ

れ含む発現ベクター。

【請求項14】 請求項13に記載のベクターでトランスフォームした宿主細胞。

【請求項15】 宿主細胞が、DH5alpha大腸菌又はXL1-Blue大腸菌である、請求項12で規定した方法。

【請求項16】 宿主細胞が、サッカロミセス・セレビスエである、請求項13で規定した方法。

【請求項17】 CNCMに、番号I-2214、I-2215、I-2216、I-2217、I-2211、I-2212及びI-2213にて寄託された少なくとも一つのプラスミド。

【請求項18】 抗カビ産物のスクリーニング方法であって、請求項11で規定したタンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361の一つの活性を、抗カビ特性を測定することを希望する各産物の存在下で測定し、この活性に対する阻害効果を有する産物を選択する段階を含むことを特徴とする、当該スクリーニング方法。

【請求項19】 請求項18に記載の方法により選択した産物の抗カビ剤を得るための利用。

【請求項20】 カンジダ・アルビカンスの遺伝子の又は請求項5～11の一つに記載の遺伝子によりコードされるタンパク質の、これらの遺伝子によりコードされるカンジダ・アルビカンスのタンパク質のインヒビターとしての請求項19に記載の抗カビ特性を有する産物の選択ための利用。

【請求項21】 少なくとも一種の請求項20で規定したカンジダ・アルビカンスのタンパク質のインヒビターを活性成分として含む医薬組成物。

【請求項22】 請求項21で規定した組成物の抗カビ剤としての利用。

【請求項23】 請求項11で規定したポリペプチド又はこのポリペプチドの同じ機能を有する断片の、哺乳動物を病気から防護することを可能にする抗体を生成させる医薬の接種により哺乳動物における免疫応答を誘導することを意図した該医薬の製造のための利用。

【請求項24】 請求項11で規定したポリペプチド又は同じ機能を有するこのポリペプチドの断片に対する抗体。

【請求項25】 タンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361又はこれらのタンパク質の断片の何れか一つに対する、請求項24で規定した抗体。

【請求項26】 遺伝子CaDR472、CaDR489、1CaDR527、2CaDR527、CaFL024、CaNL260及びCaDR361の何れか一つの又は請求項5～11の一つに記載の遺伝子によりコードされるタンパク質の一つの、病原性酵母カンジダ・アルビカンスにより引き起こされる病気の診断又は治療に利用することのできる組成物の製造のための利用。

【請求項27】 カビの感染の診断のためのキットであって、請求項5～10の一つで規定したDNA配列又は類似の機能を有する配列又はこの配列の機能的断片、この配列によりコードされるポリペプチド又は同じ機能を有するポリペプチド断片又はこのDNA配列によりコードされるかかるポリペプチド若しくはこのポリペプチドの断片に対する抗体を含む当該キット。

【発明の詳細な説明】**【0001】**

本発明は、新規なカンジダ・アルビカンス遺伝子及びこれらの遺伝子によりコードされるタンパク質並びにこれらのタンパク質又はこれらのタンパク質のポリペプチド類似体をコードするポリヌクレオチド(RNA、DNA)に関する。

【0002】

本発明は又、これらのポリペプチド及びポリヌクレオチドの製造方法、病原性真菌類特にカンジダ・アルビカンスの研究のための及び本発明のこれらの遺伝子によりコードされるタンパク質のインヒビターの製造のためのそれらの利用にも関係し、これらのインヒビターは、抗真菌剤として用いることができる。本発明は又、かかるインヒビターを含む医薬組成物にも関係する。

【0003】

従って、本発明は、特に、カンジダ・アルビカンスの新規なタンパク質及びこれらのタンパク質をコードするヌクレオチド配列、それらの製造方法及びそれらの利用に関する。

【0004】

又、以下においては、次の略号を用いる：アミノ酸についてのAA、核酸についてのNA、リボ核酸についてのRNA、メッセンジャーRNAについてのmRNA、リボヌクレアーゼについてのRNアーゼ、デオキシリボ核酸についてのDNA、相補的DNAについてのcDNA、塩基対についてのbp、ポリメラーゼ連鎖反応についてのPCR、カンジダ・アルビカンスについてのC.a.又はC.アルビカンス、大腸菌についてのE.coli及びサッカロミセス・セレビシエについてのS.セレビシエ。

【0005】

以後用いる用語のスクリーニングは、アングロサクソン用語のスクリーニングに対応する。用語ポリヌクレオチドは、以後、本発明のタンパク質をコードするポリヌクレオチド又はDNA配列を(及びRNAをも)指し、同じ機能を有するタンパク質をコードするそれらの同族体をも指す。

【0006】

用語ポリペプチドは、以後、本発明のポリペプチド又は本発明のタンパク質又は以下で定義する(それ故、同じ機能を有する)それらの機能的類似体若しくは同族体を指す。

【0007】

用語真菌類は、以後、胞子を有する真核生物であって、吸着により栄養摂取が起き、葉緑素を欠き、生殖を有性又は無性様式で行う当該真核生物を指す。

【0008】

真菌症は、病原性のカビにより引き起こされるヒト又は動物の感染症(浅在性であっても深在性であってもよい)である。深在性真菌症の場合には、それらは、非常に重く、予後は致命的であり得る。

【0009】

静真菌効果又は殺真菌効果を有する抗真菌性物質が、真菌症の治療において用いられる。この治療は、治療剤のために利用可能な抗真菌性物質が少なく、それらは、しばしば、それらの使用を制限する副作用を有するので、困難なものである。例えば、深在性真菌症のために選択される代表的治療剤のアンホテリシンBは、腎毒性の副作用を有する。

【0010】

それ故、病原性のカビに対して有効であり且つ真菌感染症に対する治療剤において利用することのできる新規な物質に対する強い要求が存在している。これらの物質は、免疫抑制の重い状態の場合の予防又は真菌感染症の医薬治療において用いることができよう。加えて、これらの物質は、それらが真菌類の細胞の成長を阻害し又は該細胞を殺すがヒトの細胞の必須機能を変化させない作用の特異的様式を有するべきである。

【0011】

本発明の主題は、抗真菌性物質特にカンジダ属のカビによる感染症の治療を可能にする物質の同定のための新規な標的を構成することのできる遺伝子を提供することである。

【0012】

これらの遺伝子は、特に、これらの細胞の生存及び繁殖に欠くことのできない

必須遺伝子である。

【0013】

種々の方法を用いて、ある遺伝子の産物がカビの生存に必須であるか又は感染の確立若しくは維持に必須であるかどうかを測定することができる。遺伝子の必須の性質の同定は、その機能に関する更なる情報を与え且つ、遺伝子産物が抗真菌性物質のための有用な標的を構成する当該遺伝子の選択を可能にする。これらの方法の例は、以下に、簡単にまとめてある。これらの方法は、下記の刊行物に記載されている：

- Guthrie C.及びFink G.R.編、Methods in Enzymology, Vol 194, 1991, 「Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology」、Academic Press Inc.
- Pink A.H., A.E.Wheals and J.S.Harrison編、The yeast, Vol.6, 1995, 「Yeast Genetics」、Academic Press Inc. Ausubel F.等編、「Short Protocols in Molecular Biology」、1995, Wiley.
- Brown A.J.P.及びTuite M.F.(編)「Yeast Gene Analysis」Methods in Microbiology, Vol26, 1998, Academic Press Inc.

【0014】

場合によっては、これらの記載された方法の一つ又は他のものを、求める結果の関数として利用することとなろう。特に、この操作を、遺伝子の直接的不活性化により又は遺伝子の一時的不活性化法によって実施することができる。

【0015】

酵母サッカロミセス・セレビスエにおいて、最も一般的に利用される方法は、酵母の染色体中の研究している遺伝子の不活性化である。野生型対立遺伝子を、遺伝的マーカー(例えば、栄養要求性遺伝子又は耐性マーカー)の挿入によって不活性化する。この挿入は、一般に、Guthrie C.及びFink G.R.編、Methods in Enzymology, Vol 194,1991, 「Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology」、Academic Press Inc.又はGultner等、Nucleic Acids Research,1996,24:2519-2524に記載されたような公知の方法により調製される線状欠失用カセットを用いる遺伝子変換法によって得られる。

【0016】

この不活性化は、二倍体株において起き、次いで、減数分裂が、窒素欠乏培地での増殖等の標準的方法により誘導されて、個々の子嚢に由来する4つの胞子を顕微操作により単離する。必須遺伝子の不活性化は、選択マーカーを獲得した2つの胞子(4つの内の)の生存力の喪失を生じる。これらの胞子の生存力は、野生型遺伝子の1コピーを有する動原体又は複製可能なプラスミドの該株への導入により回復され得る。

【0017】

この操作は又、遺伝子の一時的な不活性化によって行うこともでき：制御可能なプロモーターの利用も又、ある遺伝子が細胞の生存に必須であるか否かの決定を可能にする。これを行うためには、その遺伝子のネイティブなプロモーターを染色体上の又は染色体外プラスミド上の直接制御可能なプロモーターにより置き換える。例えば、GALプロモーター若しくはその誘導体又はtetOプロモーターを利用することができる(Mumberg等、1994, Nucleic Acid Research, 22:5767-5768 ; Belli等、1998, Yeast, 14:1127-1138)。従って、研究中の遺伝子の必須の特性は、用いたプロモーターが、酵母S.セレビシエの一倍体株において又はC.アルビカンス等の二倍体微生物中の第二の対立遺伝子の不活性化後に、抑制されたときに認められる。

【0018】

一の種において公知の必須遺伝子から出発して、他の真菌種における類似の機能を有する相同遺伝子の同定を行うことができ：公知の方法を利用して、他の真菌種において研究している遺伝子の相同遺伝子(いわゆる「オルソログス」遺伝子)又は研究している遺伝子と類似の機能を有する遺伝子を同定することができる。これらの方法は、下記の書籍に記載されている：

【0019】

Sambrook等、1989, Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Press.

- Ausubel F.等編、「Short Protocols in Molecular Biology」, 1995, Wiley.
- Guthrie C.及びFink G.R.編、Methods in Enzymology, Vol 194, 1991, 「

Guide to Yeast Genetics and Molecular Biology」, Academic Press Inc.

【0020】

この操作は、例えば、相同性によるスクリーニングにより、遺伝子相補性により行うことができ又は病原性真菌類のゲノムDNAライブラリー若しくは相補的DNA(cDNA)ライブラリーに由来する特異的プローブを用いるPCRによる増幅によっても行うことができる。

【0021】

ゲノムDNA又はcDNAライブラリーを公知の方法に従って調製することができ、得られたポリヌクレオチド断片を、S・セレビスエと同様に大腸菌中에서도有用である発現ベクター例えばpRS423又はその誘導體中に組み込む。このバンクのスクリーニングは、それらの細菌コロニーについての標準的イン・シトゥーハイブリダイゼーション法によって行うことができる。これらのハイブリダイゼーション条件は、多かれ少なかれ研究している遺伝子との高い相同性を有する断片を同定するために、反応に望ましい緊縮度に適合される。

【0022】

真菌類の他の種の遺伝子は、「遺伝子相補性」と呼ばれる公知の方法によっても同定することができる。例えば、同定された必須遺伝子が制御可能なプロモーターの制御下に置かれたS・セレビスエ株を、研究している真菌類例えばC・アルピカンスに対応するDNA又はcDNAバンクの代表的試料によってトランスフォームすることができる。これらの酵母を、このプロモーターが抑制される条件下で培養した場合には、最初の必須遺伝子と機能的に同等な研究している真菌の配列を含む組換えベクターを有する酵母のみが生存できる。研究している真菌の遺伝子の配列を、次いで、公知の方法によって、組換えベクターを単離して配列決定することにより同定する。同様に、いわゆる「プラスミドシャッフル」法は、最初の必須遺伝子の発現を失っており且つ他の真菌に由来する機能的に同等な配列を含んでいる酵母の選択を可能にする。

【0023】

この研究は、種々の種において行うことができ：必須遺伝子と機能的に同等の遺伝子又は該必須遺伝子の配列における同族体を他の真菌類において、特にヒト

に影響を及ぼす種々の病原性真菌類において単離することができる。このためには、特に、接合菌類、担子菌類、子囊菌類及び不完全菌類綱を用いる。特に、これらの真菌類は、次の亜綱に属する：カンジダ種、特に、カンジダ・アルビカンス、カンジダ・グラブラタ(*glabrata*)、カンジダ・トロピカリス(*tropicalis*)、カンジダ・パラプシロシス(*parapsilosis*)及びカンジダ・クルゼイ(*krusei*)。これらの真菌類は又、次の亜綱にも属している：アスペルギルス・フミガーツス(*fumigatus*)、コクシジオイデス・イミチス(*Coccidioides immitis*)、クリプトコッカス・ネオフォルマンズ(*neoformans*)、ヒストプラズマ・キャプスラーツム(*Histoplasma capsulatum*)、ブラストミセス・デルマチデイス(*dermatidis*)、パラコクシジオイデス・ブラジリエンシス(*Paracoccidioides brasiliensis*)及びスプロトトリクス・シェンキイ(*Sporothrix schenckii*)。

【0024】

それ故、本発明は、抗真菌性物質、例えば、特に、抗カンジダ・アルビカンス物質の同定に関係する。

【0025】

それ故、本発明は、抗カビ剤として利用することのできるカビタンパク質のインヒビターに関係する。

【0026】

こうして、ヒトに感染症を引き起こす微生物例えば病原性酵母カンジダ・アルビカンスが知られている。病気を治療する手段を見出す目的をもって、例えば、本発明の細胞内タンパク質等の標的を選択することができ、本発明の遺伝子によりコードされる少なくとも一種の本発明のタンパク質をこれらの標的の一つ又は幾つかであってよい。

【0027】

従って、本発明は、カンジダ・アルビカンスのタンパク質をコードするDNA及びRNAポリヌクレオチドを単離してそれらのヌクレオチド配列をもたらすことを可能にする。

【0028】

本発明のカンジダ・アルビカンスのタンパク質をコードする本発明の遺伝子は

、次のように呼ばれる：CaDR472、CaDR489、CaDR527(2つの異なる対立遺伝子形態即ち1CaDR527及び2CaDR527にて)、CaFL024、CaNL260及びCaDR361。

【0029】

これらの遺伝子(及びCaDR527の2つの対立遺伝子)のヌクレオチド配列は、それぞれ、次のように呼ばれる：

- CaDR472のSEQ ID NO: 1、
- CaDR489のSEQ ID NO: 3、
- CaDR527の第一の対立遺伝子即ち1CaDR527のSEQ ID NO: 5、
- CaDR527の第二の対立遺伝子即ち2CaDR527のSEQ ID NO: 7、
- CaFL024のSEQ ID NO: 9、
- CaNL260のSEQ ID NO: 11
- 及びCaDR361のSEQ ID NO: 13。

【0030】

本発明の遺伝子によりコードされるタンパク質のポリペプチド配列は、それぞれ、次のように呼ばれる：

- CaDR472によりコードされるタンパク質のSEQ ID NO: 2即ちPCaDR472、
- CaDR489によりコードされるタンパク質のSEQ ID NO: 4即ちPCaDR489、
- 1CaDR527によりコードされるタンパク質のSEQ ID NO: 6即ち1PCaDR527、
- 2CaDR527によりコードされるタンパク質のSEQ ID NO: 8即ち2PCaDR527、
- CaFL024によりコードされるタンパク質のSEQ ID NO: 10即ちPCaFL024、
- CaNL260によりコードされるタンパク質のSEQ ID NO: 12即ちPCaNL260
- 及びCaDR361によりコードされるタンパク質のSEQ ID NO: 14即ちP

C a D R 3 6 1。

【 0 0 3 1 】

それ故、本発明の主題は、各々下記の群から選択するヌクレオチド配列を含む単離されたポリヌクレオチドである：

a) 上で規定した及び以下で規定するSEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14から選択する配列と同じ機能を有し且つ該配列と相同なアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドと少なくとも50%の又は少なくとも60%の、好ましくは少なくとも70%の同一性を有するポリヌクレオチド、

b) ポリヌクレオチドa)の相補的ポリヌクレオチド、

c) a)及びb)に規定した少なくとも15の連続する塩基を含むポリヌクレオチド。

【 0 0 3 2 】

それ故、本発明の主題は、DNAである上で規定したポリヌクレオチドである。

【 0 0 3 3 】

それ故、本発明の主題は、RNAである上で規定したポリヌクレオチドである。

【 0 0 3 4 】

本発明の一層正確な主題は、各々が、上で規定し及び以下で規定するSEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11及びSEQ ID NO: 13から選択するヌクレオチド配列を含む上で規定したポリヌクレオチドである。

【 0 0 3 5 】

それ故、本発明は、それぞれ、カンジダ・アルビカンスのタンパク質PCaDR427、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361をコードするDNA配列の単離を可能にする。

【 0 0 3 6 】

本発明は又、本発明の遺伝子の核酸配列及びこれらの遺伝子にコードされるタンパク質PCaER472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361のアミノ酸配列をもたらすことをも可能にする。

【0037】

それ故、本発明の主題は、それぞれ、カンジダ・アルビカンスのタンパク質(PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361と同じ機能を有するもの)をコードする遺伝子であり、各々、上で規定し及び以下で規定するSEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11及びSEQ ID NO: 13から選択するヌクレオチド配列を含むことを特徴とする上記のポリヌクレオチドにより規定されるDNA配列である。

【0038】

それ故、かかる本発明のSEQ ID NO: 1は、747ヌクレオチドを含む。

【0039】

それ故、かかる本発明のSEQ ID NO: 3は、711ヌクレオチドを含む。

【0040】

それ故、かかる本発明のSEQ ID NO: 5は、1383ヌクレオチドを含む。

【0041】

それ故、かかる本発明のSEQ ID NO: 7は、1383ヌクレオチドを含む。

【0042】

それ故、かかる本発明のSEQ ID NO: 9は、2262ヌクレオチドを含む。

【0043】

それ故、かかる本発明のSEQ ID NO: 11は、447ヌクレオチドを含む。

【0044】

それ故、かかる本発明のSEQ ID NO: 13は、966ヌクレオチドを含む。

【0045】

本発明の主題は又、各々、SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14から選択するア

ミノ酸配列をコードする上で規定した遺伝子のDNA配列でもある。

【0046】

それ故、タンパク質PCaDR472のSEQ ID NO: 2は、248AAを含む。

【0047】

それ故、タンパク質PCaDR489のSEQ ID NO: 4は、236AAを含む。

【0048】

それ故、タンパク質1PCaDR527のSEQ ID NO: 6は、460AAを含む

。

【0049】

それ故、タンパク質2PCaDR527のSEQ ID NO: 8は、460AAを含む

。

【0050】

それ故、タンパク質PCaFL024のSEQ ID NO: 10は、753AAを含む

。

【0051】

それ故、タンパク質PCaNL260のSEQ ID NO: 12は、148AAを含む

。

【0052】

それ故、タンパク質PCaDR361のSEQ ID NO: 14は、321AAを含む

。

【0053】

本発明の特別の主題は、上で規定したタンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361をコードするDNA配列並びにこれらとハイブリダイズし及び/又はこれらの配列若しくはこれらの断片との有意の相同性を与え及び同じ機能を有するタンパク質をコードするDNA配列である。

【0054】

本発明の主題は又、上で規定したタンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaN

L260、PCaDR361と同じ活性を有するタンパク質をコードする少なくとも一つのヌクレオチドの抑制、挿入及び/又は置換により導入された改変を含む上で規定したDNA配列でもある。

【0055】

特に、本発明の主題は、上で規定したDNA配列並びに該DNA配列と少なくとも50%の又は少なくとも60%の、好ましくは少なくとも70%のヌクレオチド配列相同性を有するDNA配列である。

【0056】

それ故、本発明の主題は又、上で規定したDNA配列並びに類似の機能のタンパク質をコードするDNA配列でもある(それぞれのAA配列は、該DNA配列によりコードされるAA配列と少なくとも40%の、特に45%の、又は少なくとも50%の、むしろ少なくとも60%の、好ましくは少なくとも70%の相同性を有する)。

【0057】

ハイブリダイズする配列は、上記のDNA配列の一つと高、中又は低緊縮の標準的条件下でハイブリダイズし及び同じ機能を有するポリペプチドをコードするDNA配列を含む。これらの緊縮条件は、当業者に公知の条件下で実施されるもの、例えば、Sambrook等、Molecular cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989に記載されたものである。かかる緊縮条件は、例えば、5×SSPE; 10×デンハート; 100µg/ml ssDNA; 1% SDS溶液中での、65で18時間のハイブリダイゼーションとそれに続く2×SSCによる5分ずつ3回の洗浄とその後の1×SSC; 0.1% SDS中での65で15分ずつ3回の洗浄である。高緊縮条件は、例えば、5×SSPE; 10×デンハート; 100µg/ml ssDNA; 1% SDS溶液中での65で18時間のハイブリダイゼーション及び、それに続く2×SSC; 0.05% SDS溶液による65で20分ずつ2回の洗浄とその後の0.1×SSC; 0.1% SDS溶液中での65で45分間の最終洗浄を含む。中位の緊縮条件は、例えば、0.2×SSC、0.1% SDS溶液中での65で20分間の最終洗浄を含む。

【0058】

有意の相同性を有する配列は、上記のDNA配列及び同じ機能を有するタンパク質をコードするDNA配列の一つとの中位の又はかなりのヌクレオチド配列同一性を有する配列を含む。

【0059】

それ故、類似のDNA配列は、カンジダ・アルビカンス以外の新菌類特にS.c.に属し得るDNA配列又は上で規定したカンジダ・アルビカンスの遺伝子のDNA配列と類似し若しくは同一のDNA配列を意味する。これらの類似のDNA配列は、上で規定した遺伝子のDNA配列と必ずしも同一ではない。ヌクレオチドレベルでの配列相同性は、中位又はかなりのものであってよい。従って、本発明は、特に、本発明の遺伝子の配列と少なくとも50%の好ましくは少なくとも60%の尚一層好ましくは少なくとも70%のヌクレオチド配列相同性を有するDNA配列に関係する。

【0060】

その上、これらの類似DNA配列は、アミノ酸配列レベルで、上で規定した遺伝子によりコードされるタンパク質と同じタンパク質を必ずしもコードしない。従って、本発明は、特に、本発明の遺伝子によりコードされるタンパク質と少なくとも40%の、特に45%の、好ましくは少なくとも50%の、一層好ましくは少なくとも60%の尚一層好ましくは少なくとも70%のアミノ酸配列相同性を有するいわゆる相同タンパク質をコードするDNA配列に関係する。

【0061】

本発明の各遺伝子は、それぞれ以下の配列表に表示したSEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11及びSEQ ID NO: 13に示したように一本鎖DNA配列として表されるが、本発明がこの胃本鎖DNA配列の相補的DNA配列を含み且つこれらの2つの互いに相補的なDNA配列により構成されるいわゆる二本鎖DNA配列をも含むということは理解される。

【0062】

上で規定したDNA配列は、上で規定したアミノ酸配列SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSE

Q ID NO: 14 にそれぞれ対応するアミノ酸をコードするコドンの組合せの例であるが、本発明が、これらの同じアミノ酸配列をコードするコドンの他の任意な自由な組合せを含むということも理解される。

【0063】

ポリヌクレオチド特に上で規定したDNA配列、前記の改変されたDNA配列(又は、上で規定したような相同なDNA配列)の製造のためには、当業者に公知の技術特にSambrook, J. Fritsh, E.F. & Maniatis, T. (1989)の「Molecular cloning: a laboratory manual」、Laboratory, Cold Spring Harbor NY.に記載されたものを利用することができる。

【0064】

上で規定した相同DNA配列は、特に、当業者に公知の方法例えば縮重ヌクレオチドプライマーを利用してこのDNAを対応する真菌類のゲノム又はcDNAライブラリーから増幅するPCR技術によって単離することができる。このcDNAは又、本発明の範囲内で研究している、異なる種の真菌類例えばカンジダ・アルビカンスから単離したmRNAから調製することもでき、以下の種からも全く同様に調製することができる：カンジダ・ステラトイデア(Stellatoidea)、カンジダ・トロピカリス、カンジダ・パラプシロシス、カンジダ・クルゼイ、カンジダ・シュードトロピカリス、カンジダ・キラールモンディー(quiillermondii)、カンジダ・グラブラタ、カンジダ・ルイジアニ(luisianiae)又はカンジダ・ルゴサ(rugosa)又はサッカロミセス・セレビシエ等の真菌類、又はアスペルギルス若しくはクリプトコッカス等の真菌類特に例えばアスペルギルス・フミガーツス、コクシジオイデス・イミチス、クリプトコッカス・ネオフォルマンズ、ヒストプラスマ・キャプスラーツム、ブラストミセス・デルマティティディス、パラコクシジオイデス・ブラジリエンス及びスポロトリクス・シェンキイ又は藻菌類若しくは真菌類綱の真菌類特に担子菌類、子囊菌類、半子囊菌類(酵母)及び不整子囊菌目の亜綱、ギムナスカレス(gymnascales)(皮膚及び毛髪のカビ)又はヒフォミコーシス綱、特に、分生子菌亜綱及び葉状体胞子菌目{その内の、次の種：ケカビ、クモノスカビ、コクシジオイデス、パラコクシジオイデス(ブラストミセス、ブラジリエンシス)、エンドミセス(ブラストミセス)、アスペルギルス、メニ

シリウム(スコブラリオプシス)、トリコフィトン(クテノミセス)、エピデルモフトン、ミクロスポロン、ピエドライア、ホルモデンドロン、フィアロフォラ、スポロトリコン、クリプトコッカス、カンジダ、ゲオトリクム、トリコスポロン又はトロブスロシスも}。

【0065】

従って、本発明のポリヌクレオチドは、通常のクローニング及びスクリーニング方法例えば細胞から抽出された染色体DNAの断片からの(又は、遺伝子バンク由来でもよい)クローニング及びシーケンシングの方法を利用することにより得ることができる。例えば、本発明のポリヌクレオチドを得るために、染色体DNA断片のバンクを利用することができる。放射性元素で標識したオリゴヌクレオチドに対応するプローブ(好ましくは、17ヌクレオチドより構成され又は20ヌクレオチド以上より構成されたもの及び部分配列に由来するもの)を調製することができる。このプローブのDNAと同一のDNAを含むクローンは、緊縮条件下でこの方法において同定され得る。この方法において同定された個々のクローンの配列決定(元の配列に由来する配列決定用プライマーを用いる)により、完全な遺伝子配列を決定するために、両方向への配列の拡張が可能となる。通常の及び効率的な様式で、かかる配列決定は、プラスミドから調製した変性された二本鎖DNAの利用により実施され得る。かかる技術は、上で示したManiatis, T. Fritsch, E.F.及びSambrookにより記載されている(Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, New York(1989)(特に、ハイブリダイゼーション及び変性した二本鎖DNAからの配列決定によるスクリーニングについての章中の1.90及び13.70)。

【0066】

本発明の範囲内で、特に、以下に実験部に記載の実施例に示すように、カンジダ・アルビカンスの染色体DNA断片のバンクを利用することができる。

【0067】

本発明を実施した操作条件の詳細な記載を以下に与える。

【0068】

この発明の全く特別の主題は、各々、上で規定したDNA配列によりコードさ

れるSEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14から選択するアミノ酸配列を有するポリペプチド及びこれらのポリペプチドの類似体である。

【0069】

ポリペプチド類似体とは、アミノ酸配列が少なくとも一つのアミノ酸の置換、抑制又は付加により改変されているが同じ生物学的機能を保持しているポリペプチドと理解される。かかるポリペプチド類似体は、自然に生成し得るし又は転写後改変により又は当業者に公知の技術を用いて上に示したような本発明のDNA配列を改変することによっても生成することができ、これらの技術の中で、当業者に公知の指定された突然変異誘発(Kramer, W.等、Nucl. Acids Res., 12, 9441(1984); Kramer, W.及びFritz, H.J., Methods in Enzymology, 154, 350(1987); Zoller, M.J.及びSmith, M. Methods in Enzymology, 100, 468(1983))を特に挙げることができる。

【0070】

改変されたDNAの合成は、上に示したように実施することができ、特に、周知の化学合成技術例えばホスホトリエステル法[Letsinger, R.L及びOgilvie, K.K., K. Am. CHEM. Soc., 91, 3350(1969); Merrifield, R.B., Sciences, 150, 178(1968)]又はホスホアミダイト法[Beaucage, S.L及びCaruthers, M.H., Tetrahedron Lett., 22, 1859(1981); McBRIDE, L.J.及びCaruthers, M.H. Tetrahedron Lett., 24 245(1983)]又はこれらの方法の組合せを利用することにより実施することができる。

【0071】

それ故、本発明のポリペプチドは、当業者に公知の技術を用いて、特に化学合成により又は以下に示すように原核若しくは真核宿主細胞中での発現による組換えDNA技術によっても製造することができる。

【0072】

本発明の特別の主題は、上で規定したアミノ酸配列SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14をそれぞれ有する組換えタンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL

260、PCaDR361の製造方法であって、該製造方法は、これらのタンパク質の各々の製造のために、このタンパク質をコードする上で規定したDNA配列の適当な宿主における発現と、その後の、該組換えタンパク質の単離精製を含んでいる。

【0073】

本発明のポリペプチドの製造のために、当業者に公知の、遺伝子工学を利用する組換えDNA技術及び細胞培養法を特に利用することができる。次いで、以下の段階を実施することができる：先ず、適当な遺伝子を調製し、次いで、この遺伝子をベクターに組み込み、この遺伝子のキャリアーベクターを適当な宿主細胞にトランスファーし、その遺伝子の発現によりそのポリペプチドを生成し、そのポリペプチドを単離し、こうして生成されたポリペプチドを次いで精製することができる。

【0074】

本発明のポリヌクレオチドの発現により得られる本発明のポリペプチドは、トランスフォームされた細胞培養物から当業者に周知の方法例えば硫酸アンモニウム又はエタノールによる沈殿、酸性条件下での抽出、アニオン若しくはカチオン交換クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、ヒドロキシルアパタイトクロマトグラフィー及び高性能液体クロマトグラフィー(HPLC)により精製することができる。当業者に周知の技術を用いて、タンパク質が単離精製中に変性した場合にそのタンパク質を再生することができる。

【0075】

本発明によるDNA配列特にSEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11及びSEQ ID NO: 13は、当業者に公知の方法により、特に、化学合成により又は合成オリゴヌクレオチドプローブを用いて公知のハイブリダイゼーション技術並びに単離された断片からのDNAの増幅により又は逆転写酵素によるメッセンジャーRNA(mRNA)からのDNAの増幅により遺伝子バンクをスクリーニングすることによって製造することができる。

【0076】

先ず全RNAの抽出によってmRNAを単離し、次いで、これらのmRNAから逆転写酵素によってcDNAを合成することを含む技術の利点は、特に、mRNAは、たとえイントロンがゲノムDNA中に存在しても、これらの非コード配列を含まないという事実にある。

【0077】

従って、当業者に公知の通常のクローニング技術、特に、Sambrook, J. Fritsch, E.F. & Maniatis, T. (1989)により書物「Molecular cloning: a laboratory manual, Laboratory, Cold Spring Harbor NY」に記載されたものを実施することができる。

【0078】

これらの技術において、クローニングを、断片を、適当な市販のキットにより提供されるプラスミドに挿入してから、そうして得られたプラスミドにより細菌株をトランスフォームすることにより実施することができる。特に、XL1Blue又はDH5alpha大腸菌株を用いることができる。次いで、これらの株を、上記の当業者に公知の標準的技術(Sambrook, Fritsch及びManiatis)によりプラスミドDNAを抽出するために培養することができる。次いで、プラスミドDNA中に含まれる増幅された断片のDNA配列決定を行うことができる。

【0079】

本発明のポリペプチドは、本発明のポリヌクレオチド特に適当なプロモーターが先行する本発明のポリペプチドをコードするDNA配列を含む宿主細胞中での発現によって得ることができる。この宿主細胞は、原核細胞例えば大腸菌又は真核細胞例えば酵母例えばサッカロミセスが属する子囊菌類若しくは例えばCos細胞等の哺乳動物細胞であってよい。

【0080】

本発明の特別の主題は、各々、上で規定した本発明のDNA配列の一つを含む発現ベクターである。

【0081】

それ故、これらの発現ベクターの各々において、かかるDNA配列は、特に、カンジダ・アルビカンスのタンパク質をコードする本発明の遺伝子の及びSEQ ID

NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11及びSEQ ID NO: 13から選択するヌクレオチド配列を含むDNA配列である。

【0082】

それ故、これらの発現ベクターの各々において、かかるDNA配列は、尚一層特に、上で規定され及び以下で規定されるアミノ酸配列SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14の一つをコードする上で規定した遺伝子のDNA配列である。

【0083】

それ故、本発明の発現ベクターの各々において、かかるDNA配列は、タンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361の一つをコードする上で規定したDNA配列並びにこれとハイブリダイズし及び/又はこの配列と若しくはこれの断片と有意の相同性を有するDNA配列であり、又は同じ活性を有するタンパク質をコードする、少なくとも1ヌクレオチドの抑制、挿入及び/若しくは置換によって導入された改変を含むDNA配列でもある。

【0084】

発現ベクターの各々において、かかるDNA配列は、特に、上で規定したDNA配列並びに該DNA配列と少なくとも50%の又は少なくとも60%の、好ましくは少なくとも70%のヌクレオチド配列相同性を有する類似のDNA配列であり、又はAA配列が該DNA配列によりコードされるAA配列と少なくとも40%の、特には45%の、又は少なくとも50%の、むしろ少なくとも60%の好ましくは少なくとも70%の相同性を有するタンパク質をコードする類似DNA配列でもある。

【0085】

これらの発現ベクターは、適当なプロモーターの制御下でタンパク質の発現を可能にするベクターである。かかるベクターは、プラスミド、コスミド又はウイルスDNAであってよい。原核細胞については、プロモーターは、例えば、lacプロモーター、trpプロモーター、tacプロモーター、 λ -ラクタマーゼ

プロモーター又はP Lプロモーターであってよい。酵母細胞については、プロモーターは、例えば、P G Kプロモーター又はG A Lプロモーターであってよい。哺乳動物細胞については、プロモーターは、例えば、S V 4 0プロモーター又はアデノウイルスプロモーターであってよい。

【0086】

バキュロウイルス型ベクターも又、昆虫細胞における発現用に利用することができる。

【0087】

宿主細胞は、例えば、原核細胞又は真核細胞である。原核細胞は、例えば、大腸菌、バチルス又はストレプトミセスである。真核宿主細胞は、酵母並びに一層高等な生物の細胞例えば哺乳動物細胞又は昆虫細胞を包含する。これらの哺乳動物細胞は、例えば、ハムスターのC H O又はB H K細胞及びサルのコ s 細胞である。昆虫細胞は、例えば、S F 9細胞である。

【0088】

それ故、本発明は、タンパク質P C a D R 4 7 2、P C a D R 4 8 9、1 P C a D R 5 2 7、2 P C a D R 5 2 7、P C a F L 0 2 4、P C a N L 2 6 0、P C a D R 3 6 1の一つをコードする本発明のポリヌクレオチドの、本発明のポリヌクレオチドにより特にアミノ酸配列SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14をコードするDNA配列によりトランスフォームされた宿主細胞における発現を含む方法に関係する。かかる方法の履行において、宿主細胞は、特に、真核細胞である。

【0089】

本発明の履行のために、用いるベクターは、例えば、p G E X又はp B A Dであってよく、宿主細胞は、大腸菌であってよいし、又は例えばベクターp Y X 2 2 2で、宿主は、特に、サッカロミセス・セレビスエであってよい。

【0090】

本発明の特別の主題は、上で規定したベクターであって本発明のDNA配列を含むベクターによりトランスフォームされた宿主細胞である。

【0091】

それ故、本発明の主題は、上で規定した本発明の組換えタンパク質の製造方法であり、該方法において、宿主細胞は、DH5alpha大腸菌又はXL1-Blue大腸菌であり又は特にサッカロミセス・セレビシエである。

【0092】

上記の操作を実施することのできる条件の詳細な説明は、以下の実験部に与える。こうして、本発明の遺伝子が挿入されたプラスミドが得られ、次いで、宿主細胞へ導入されるこのプラスミドが、当業者に公知の通常の技術により操作することによって得られる。

【0093】

本発明の非常に正確な主題は、1999年5月25日にCollection Nationale de Cultures de Microorganismes (CNCM) INSTITUT PASTEUR 25, rue du Docteur Roux 75724 PARIS Cedex 15に、次の番号にて寄託した7つのプラスミドである：I-2214、I-2215、I-2216、I-2217、I-2211、I-2212及びI-2213。

【0094】

I-2214は、本発明の実施例1に示したようにして調製した本発明のカンジダ・アルビカンスCaDR472の遺伝子を有するプラスミドを含む細菌XL1-blue大腸菌により構成されたCaDR472.10株の登録番号である。

【0095】

それ故、この遺伝子は、SEQ ID NO: 1の配列CaDR472に対応している。

【0096】

I-2215は、本発明の実施例2に示したようにして調製した本発明のカンジダ・アルビカンスCaDR489の遺伝子を有するプラスミドを含む細菌XL1-blue大腸菌により構成されたCaDR489.37株の登録番号である。

【0097】

それ故、この遺伝子は、SEQ ID NO: 3の配列CaDR489に対応している。

【0098】

I - 2216は、本発明の実施例3に示したようにして調製した本発明のカンジダ・アルビカンスCaDR527の遺伝子(対立遺伝子1)を有するプラスミドを含む細菌XL1-blue大腸菌により構成されたCaDR527.2株の登録番号である。

【0099】

それ故、この遺伝子は、SEQ ID NO: 5の配列1CaDR527に対応している。

【0100】

I - 2217は、本発明の実施例3に示したようにして調製した本発明のカンジダ・アルビカンスCaDR527の遺伝子(対立遺伝子2)を有するプラスミドを含む細菌XL1-blue大腸菌より構成されたCaDR527.3株の登録番号である。

【0101】

それ故、この遺伝子は、SEQ ID NO: 7の配列2CaDR527に対応している。

【0102】

I - 2211は、本発明の実施例4に示したようにして調製した本発明のカンジダ・アルビカンスCaFL024の遺伝子を有するプラスミドを含む細菌XL1-blue大腸菌により構成されたCaFL024.4株の登録番号である。

【0103】

それ故、この遺伝子は、SEQ ID NO: 9の配列CaFL024に対応している。

【0104】

I - 2212は、本発明の実施例5に示したようにして調製した本発明のカンジダ・アルビカンスCaNL260の遺伝子を有するプラスミドを含む細菌XL1-blue大腸菌により構成されたCaNL260.4株の登録番号である。

【0105】

それ故、この遺伝子は、SEQ ID NO: 11の配列CaNL260に対応している。

【0106】

I - 2213は、本発明の実施例6に示したようにして調製した本発明のカンジダ・アルビカンスCaDR361の遺伝子を有するプラスミドを含む細菌XL1-blue大腸菌により構成されたCaDR361.3株の登録番号である。

【0107】

それ故、この遺伝子は、SEQ ID NO: 13の配列CaDR361に対応している。

【0108】

それ故、本発明の非常に正確な主題は、番号I - 2214、I - 2215、I - 2216、I - 2217、I - 2211、I - 2212及びI - 2213にて寄託した少なくとも一つのプラスミドである。

【0109】

本発明を実施した操作条件は、以下の実験部に記載する。

【0110】

それ故、本発明の主題は、上で規定したタンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361の一つの活性を、抗カビ特性を測定することを希望する各産物の存在下で測定し、そしてこの活性に対する阻害効果を有する産物を選択するステージを含むことを特徴とする抗カビ産物のスクリーニング方法である。

【0111】

特に、本発明のタンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361をコードする遺伝子がカンジダ・アルビカンスの細胞の生存に必須であれば、かかるタンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361の阻害性物質は、抗カビ剤として(医薬として又は工業レベルで)有用であろう。

【0112】

例えば、抗カビ物質例えばカンジダ・アルビカンスに対して活性な物質をスクリーニングするために、本発明の遺伝子によりコードされるタンパク質又はその機能的同族体の一つの活性を測定し、そのタンパク質を、抗カビ特性を測定することを希望する各産物の存在下に置き、そしてこの活性に対する阻害効果を有する産物を選択する。

【0113】

かかるスクリーニングは、本発明のタンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361の一つの活性を、試験すべき潜在的アクチベーター又はインヒビターの存在下で、例えば適当な反応媒質中でイン・ビトロで測定することにより測定することにより実施することができる。

【0114】

本発明のタンパク質の活性は又、適当な細胞試験により、イン・ビボでも測定することができる。例えば、タンパク質PCaDR472、PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361の活性を、有利に、本発明の遺伝子の一つによってトランスフォームされて、サッカロミセス・セレビスエの相同なタンパク質PYDR472w、PYDR489w、PYDR577w、PYFL024c、PYNL260c及びPYDR361cを発現しないサッカロミセス・セレビスエの変異体の細胞において測定することができる。

【0115】

この発明は又、上で示したように本発明のタンパク質の一つに対する阻害特性について選択した産物の、抗カビ剤を得るための利用をも包含している。

【0116】

本発明は、後述の本発明の遺伝子CaDR472、CaDR489、1CaDR527、2CaDR527、CaFL024、CaNL260及びCaDR361のクローニングを記載した実験部を利用して、一層よく理解される。

【0117】

それ故、本発明の主題は、抗カビ剤を得るために上で規定したような抗カビ産

物をスクリーニングする方法により選択した産物の利用である。

【0118】

本発明の主題は、本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の又は上に規定したこれらの遺伝子によりコードされるタンパク質の利用であって、上で規定した抗カビ特性を有し且つこれらの遺伝子によりコードされるカンジダ・アルビカンスのタンパク質のインヒビターとして利用される産物の選択のための利用でもある。

【0119】

本発明の主題は又、少なくとも一種の上で規定した本発明のカンジダ・アルビカンスのタンパク質のインヒビターを活性成分を含む医薬組成物でもある。

【0120】

かかる組成物は、特に、局所的及び全身性の真菌感染症の治療に有用であり得る。

【0121】

上で示した医薬組成物は、口内、直腸、非経口経路により又は局所的経路により、皮膚及び粘膜への局所適用として、又は静脈若しくは筋肉経路による注射によって投与することができる。これらの組成物は、固体であっても液体であってもよく、ヒトの医薬において普通に用いられるすべての医薬形態例えば無糖衣錠剤若しくは糖衣錠、ゼラチンカプセル、顆粒、座薬、注射用剤、軟膏、クリーム、ゲル及びエアゾール製剤において提供することができ；それらは、通常の方法によって製造される。活性成分は、これらの医薬組成物において通常使用される賦形剤例えばタルク、アラビアゴム、ラクトース、澱粉、マグネシウムステアレート、ココアバター、水性若しくは非水性ビヒクル、動物若しくは植物起源の脂肪物質、パラフィン誘導体、グリコール、種々の湿潤剤、分散剤若しくは乳化剤及び防腐剤に組み込むことができる。

【0122】

この投与量は、使用する産物、治療される患者及び問題の病気によって変化し得る。

【0123】

それ故、本発明の特別の主題は、上で規定した組成物の抗カビ剤としての利用である。

【0124】

本発明の主題は又、哺乳動物において免疫応答を誘導する方法であって、上で規定した本発明のポリペプチド又は同じ機能を有するその断片を、この哺乳動物を病気から防護する抗体を生成するためにこの哺乳動物に接種することを含む当該方法でもある。

【0125】

それ故、本発明の主題は又、上で規定したポリペプチド又は同じ機能を有するその断片の、哺乳動物において、その哺乳動物を病気から防護する抗体を生成する医薬の接種によって、免疫応答を誘導することを意図した医薬の製造のための利用である。

【0126】

本発明の主題は又、上で規定した本発明のポリペプチド又は同じ機能を有し且つ本発明のポリヌクレオチドにより特に上で規定したDNA配列によってコードされるその断片に対する抗体でもある。

【0127】

それ故、本発明のポリペプチドは、これらのポリペプチドの免疫特異的な抗体を生成するための免疫原として利用することができる。この用いられる用語抗体は、等しく、モノクローナルの、ポリクローナルの、キメラの、一本鎖の、非ヒト抗体及びヒト抗体並びにFab断片(Fab免疫グロブリンバンクの産物を含む)を指す。本発明のポリペプチドに対して生成された抗体は、モノクローナル抗体製造のための日常的プロトコールを利用することにより、本発明のポリペプチド又はエピトープを有する断片、それらの類似体(又は動物細胞好ましくは非ヒト)の投与によって得ることができる。かかる抗体は、この分野で周知の方法例えば書物Antibodies, Laboratory manual, Harbow及びDavid Larre編、Cold Spring Harbor laboratory編、1988に記載された方法によって製造することができる。

【0128】

それ故、本発明の全く特別の主題は、本発明のタンパク質PCADR472、

PCaDR489、1PCaDR527、2PCaDR527、PCaFL024、PCaNL260、PCaDR361の何れか一つ又はこれらのタンパク質の断片に対する抗体である。かかる断片は、特に、それが由来したタンパク質と同じ機能を有する。

【0129】

本発明の主題は又、本発明の遺伝子CaDR472、CaDR489、1CaDR527、2CaDR527、CaFL024、CaNL260、CaDR361又は上で規定したこれらの遺伝子にコードされるタンパク質の、病原性酵母カンジダ・アルビカンスにより引き起こされる病気の診断又は治療に用いることのできる組成物の製造ための利用でもある。

【0130】

本発明は又、本発明のポリヌクレオチドの、診断用試薬としての利用にも関係する。本発明のカンジダ・アルビカンスのタンパク質の一つをコードする本発明のポリヌクレオチド又はその類似体の真核生物特に哺乳動物(一層特にヒト)における検出は、病気の診断手段を構成することができ：従って、本発明のかかるポリヌクレオチド特にDNA配列を、広範囲の技術によって、本発明のポリヌクレオチドの少なくとも一つを含む微生物に感染した真核生物特に哺乳動物(一層特にヒト)において検出することができる。かかる診断の道具としての利用のための核酸を、感染した細胞又は組織例えば骨、血液、筋肉、軟骨又は皮膚において検出することができる。この検出のために、ゲノムDNAを直接利用することもできるし、PCRその他の増幅技術によって増幅することもできる。RNA又はDNA及びcDNAも又、同じ目的で利用することができる。増幅技術により、真核生物特に哺乳動物(一層特にヒト)に存在する真菌類の株を、遺伝子型の分析によって特性決定することができる。欠失又は挿入は、増幅生成物のサイズの変化により、参照配列の遺伝子型との比較によって検出することができる。変異点は、増幅されたDNAを、放射性元素で標識した本発明のポリヌクレオチド配列とハイブリダイゼーションさせることによって同定することができる。それ故、完全に、相補的配列を、ヌクレアーゼによる消化に対して抵抗性の弱い二本鎖から区別することができる。これらのDNA配列の差異も又、変性剤を伴う又は伴わ

ないゲル中でのDNA断片の電気泳動移動度の変化により、又は直接DNA配列決定法(参考文献: Myers等、Science, 230:1242(1985))によって検出することができる。

【0131】

特異的位置における配列の変化も又、RNアーゼ及びS1等のヌクレアーゼに対する防護実験により又は化学的開裂法(参考文献: Cotton等、Proc Natl Acad Sci, USA, 85:4397-4401(1985))によって明らかにすることができる。

【0132】

突然変異又は多型を有する本発明のポリヌクレオチドの一つを含む細胞も又、特に血清型を決定することを可能にする多くの技術によって検出することができる。例えば、RT-PCR技術を用いて、突然変異を検出することができる。RT-PCR技術を自動検出システム(例えば、GeneScan技術)と共に利用することは、特に好ましい。RNA及びcDNAを、PCR又はRT-PCR技術において利用することができる。例えば、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの相補的プライマーを利用して、突然変異を同定し、分析することができる。

【0133】

それ故、プライマーを用いて、感染を受けた個体から単離されたDNAを増幅することができる。この方法において、DNA配列中の突然変異を検出ことができ、感染を診断し、感染性因子の血清型を決定し又は分類をするために利用することができる。かかる技術は、当業者には標準的なものであり、特に、マニュアル「Current Protocols in Molecular Biology」、Ausubel等編、John Wiley & Sons, Inc., 1995に記載されている。

【0134】

それ故、本発明は、病気の診断方法に、好ましくはカンジダ・アルビカンスにより引き起こされる真菌感染症(上記の真菌症等)の診断方法に関係し、この方法は、感染を受けた個体から採った試料での本発明のポリヌクレオチドの一つの量の増加の測定を含む。かかるポリヌクレオチドは、特に、上記の本発明のDNA配列を有してよい。

【0135】

ポリヌクレオチドの量の増加又は減少を当業者に周知の技術(特に、増幅、PCR、RT-PCR、ノーザンブロットィング又は他のハイブリダイゼーション技術)によって測定することができる。

【0136】

加えて、本発明による診断方法は、本発明のポリペプチドの、感染の存在の検出に用いられる正常の非感染組織より構成される対照用試料と比較して大きすぎる発現の検出よりなる。

【0137】

それ故、宿主細胞試料中で発現されるタンパク質の量を検出するために利用することのできる技術は、当業者に周知である。それ故、例えば、放射免疫アッセイ又は競争的結合アッセイ、ウエスタンブロット分析及びELISA試験(上記のAusubel参照)を挙げることができる。

【0138】

本発明の主題は又、真菌感染症の診断のためのキットであって、上で規定した本発明のDNA配列若しくは類似の配列若しくはこの配列の機能的断片、この配列によりコードされるポリペプチド若しくは同じ機能を有するポリペプチド断片又はこのDNA配列によりコードされるかかるポリペプチド若しくはこのポリペプチドの断片に対する抗体を含む当該キットでもある。

【0139】

それ故、このキットは、上で規定したような本発明のDNA配列例えばDNA配列SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11若しくはSEQ ID NO: 13又はこの配列の断片を含むことができる。

【0140】

かかるキットは、同様に、本発明のポリペプチド又はこのポリペプチドの断片を、特に、AA配列SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14を有する本発明のタンパク質の一つ又は上で規定した抗体を含むことができる。

【0141】

かかるキットは、当業者に周知の方法によって製造することができる。

【0142】

配列表のSEQ ID NO: 1～32及び図1～6は、以後、本発明の一層良好な説明を可能にする下記の例証を示す。

【0143】

配列SEQ ID NO: 1～32は、本発明中において示されたヌクレオチド又はペプチド配列を表す。

【0144】

配列SEQ ID NO: 1～14は、本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子のヌクレオチド配列及びこれらの遺伝子に由来するペプチド配列を記載している。

【0145】

従って、配列SEQ ID NO: 1、SEQ ID NO: 3、SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11又はSEQ ID NO: 13は、それぞれ、本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子のヌクレオチド配列：CaDR427、CaDR489、1CaDR527、2CaDR527、CaFL024、CaNL260及びCaDR361を記載している。

【0146】

配列SEQ ID NO: 2、SEQ ID NO: 4、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 10、SEQ ID NO: 12及びSEQ ID NO: 14は、それぞれ、本発明の遺伝子に由来するタンパク質のペプチド配列を記載している。

【0147】

従って、例えば、配列SEQ ID NO: 1及びSEQ ID NO: 2は、それぞれ、遺伝子CaDR472のヌクレオチド配列及びこの遺伝子に由来するタンパク質のペプチド配列即ちPCaDR472を表している。

【0148】

配列SEQ ID NO: 15～20は、それぞれ、以下の実験部で示すように、本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の調製に用いられる6つのプローブの配列を表している。

【0149】

配列SEQ ID NO: 21 ~ 32は、それぞれ、以下の実験部で示すように、本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の調製のためのプローブの増幅に用いられる2 × 6オリゴヌクレオチドの配列を表している。

【0150】

図1 ~ 6は、以後、それぞれ、本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の6つの調製物、即ち：CaDR472、CaDR489、1CaDR527 / 2CaDR527、CaFL024、CaNL260及びCaDR361の一つを示しており、これらの製法は、以下の実験部中に実施例1 ~ 6に記載してある。

【0151】

図1 ~ 6の各々は、本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の一つの調製のために用いたプローブ(配列SEQ ID NO: 15 ~ 20を有する使用した6つのプローブ)に由来するタンパク質の、カンジダ・アルビカンスのこの遺伝子の調製の出発点として採ったS . c . の遺伝子の配列との比較を記載している。

【0152】

従って、本発明の遺伝子CaDR472の調製の実施例1を参照して、図33は、CaDR472のプローブ(SEQ ID NO: 15)に由来するタンパク質の、S . セレビスエの遺伝子YDR472wに由来するタンパク質との比較を表している。

【0153】

以下の実験部は、本発明を説明するが、それを限定するものではない。

【0154】

実施例1：遺伝子CaDR472のクローニング及び配列決定

(方法A)

スタンフォードのインターネットサイト

(<http://candida.stanford.edu/>)は、カンジダ・アルビカンスのゲノムの予備配列への直接的アクセスを与える。これらの配列の一つは、S . セレビスエの遺伝子YDR472wとの相同性を有している。この配列中で次の2つのオリゴヌクレオチドを選択した：

【化1】

5' CAATTTATTC ATGTTTCGNAT CTGGAAATTG ATTTT 3' (SEQ ID NO: 21)及び

5' CCAAATCTCA AACTCTCTCT AATTTAAAC 3' (SEQ ID NO: 22)。

【0155】

これら2つのオリゴヌクレオチドを用いて、C. アルビカンスの断片を増幅する。クローニングの後に、予想された配列に近い320塩基対のCaDR472のいわゆるプローブ配列が得られたが：CaDR472のプローブを、SEQ ID NO: 15と呼ぶ。CaDR472のプローブ(SEQ ID NO: 15)に由来するタンパク質をYDR472wのそれと比較したが、これは、これらの2つのAA配列間の48%の同一性を示す(この比較は、図1に示してある)。

【0156】

C. アルビカンスの320塩基対の断片を、C. アルビカンスの遺伝子バンクをスクリーニングするためのプローブとして利用したが、このC. a. のバンクは、C. アルビカンスのゲノムDNAのSau3AIによる部分消化とベクターYEP24のBamHI制限部位でのクローニングにより調製されたものである。これらの遺伝子バンクのクローンを、次いで、ディッシュ当たり2000クローンの密度でプレートし：次いで、各ディッシュをニトロセルロースフィルターで覆い、それを0.5M NaOHで5分間；1M トリス(pH7.7)で5分間；0.5M トリス(pH7.7)、1.25M NaClで5分間、連続的に処理する。乾燥後に、これらのフィルターを、2時間、80℃に保持する。予備ハイブリダイゼーションとハイブリダイゼーションを、40%ホルムアミド、5×SSC、20mM トリス(pH7.7)、1×デンハート、0.1% SDSの緩衝液中で行う。次いで、プローブを、Rediprime及びdCTP32pキット(Amersham, 英国)を用いてP32で標識する。ハイブリダイゼーションを、42℃で17時間行う。その後、これらのフィルターを、1×SSC、0.1% SDSで洗い(周囲温度で、各5分ずつ3回)、次いで、60℃で、各30分ずつ2回洗い、次いで、一晚、オートラジオグラフィーにかける。得られたスポットに対応するコロニーを、低密度での新たなプレーティングとその後のハイブリダイゼーションにより単離し：こうして、8の陽性のクローンが得られ(60000

から)、その後、それらをABI 377デバイスを用いて配列決定する。配列を、ABIソフトウェアを用いて編集してから、GCGソフトウェアパッケージを用いて分析する。8クローンの一つは、用いたプローブに対応する完全なコード配列を含むことが示され：この遺伝子は、CaDR 472といい、この配列は、SEQ ID NO: 1という。

【0157】

CaDR 472は、S.セレビスエのYDR 472wに対して47.5%のヌクレオチド同一性を有する。

【0158】

アミノ酸への翻訳に関しては、C.アルビカンスにおいては、CTGコドンがセリンに翻訳される(CaDR 472中には、1つのCTGコドンがある)という事実を考慮した。遺伝子CaDR 472 (SEQ ID NO: 1)に由来するタンパク質即ちSEQ ID NO: 2 (PCaDR 472)は、YDR 472w由来のタンパク質と52.4%のアミノ酸の類似性と44%のアミノ酸の同一性を有する。

【0159】

遺伝子CaDR 472の完全な配列は、CTGコドンを含む。

【0160】

実施例2：遺伝子CaDR 489のクローニング及び配列決定

操作を、スタンフォードのインターネットサイト

(<http://candida.stanford.edu/>)由来のカンジダ・アルビカンスのゲノムの予備配列から出発して実施例1におけるように行う。これらの配列の一つは、S.セレビスエの遺伝子YDR 489wと相同性を有する。この配列において、2つのオリゴヌクレオチド即ち：

【化2】

5' GTTCATGTTT GGTGACTCAG AGCGTCTCAA CTATATTG 3' (SEQ ID NO: 23)

及び

5' TTTGATAAAC ACAGGCTGGT CTAAATCTGG CTC 3' (SEQ ID NO: 24)

を選択した。

【0161】

これら2つのオリゴヌクレオチドを用いて、C. アルビカンスの断片を増幅する。クローニング後に、予想される配列に近い295塩基対のCaDR489のいわゆるプローブ配列が得られ:このCaDR489のプローブを、SEQ ID NO: 16と呼ぶ。CaDR489のプローブ(SEQ ID NO: 16)に由来するタンパク質をYDR489wのそれと比較したが、これは、これら2つのAA配列間の41%の同一性を示す(この比較を、図2に示す)。

【0162】

C. アルビカンスの295塩基対の断片を、実施例1のように行うC. アルビカンスのゲノムDNAの部分消化により調製したC. アルビカンスの遺伝子バンクをスクリーニングするためのプローブとして用いた。

【0163】

クローニングを実施例1に示したように行い、予備ハイブリダイゼーションとハイブリダイゼーションを実施例1に示したように行った後に、4つの陽性クローンが得られる(40000から)。得られた配列の配列決定と分析を実施例1に示したように行い、そうして、用いたプローブに対応する完全なコード配列を含むことの示されるクローンが得られる(この遺伝子をCaDR489と呼び、この配列をSEQ ID NO: 4と呼ぶ)。

CaDR489は、S. セレビシエのYDR489wと同一の48.1%のヌクレオチドを有する。

【0164】

遺伝子CaDR489(SEQ ID NO: 3)に由来するタンパク質即ちSEQ ID NO: 4即ちPcaDR489は、YDR489由来のタンパク質と50%のアミノ酸類似性を有し、37%のアミノ酸同一性を有する。

【0165】

遺伝子CaDR489の完全な配列は、CTGコドンを含む。

【0166】

実施例3: 遺伝子CaDR527のクローニング及び配列決定

操作を、スタンフォードのインターネットサイト

(<http://candida.stanford.edu/>)由来のカンジダ・アルビカンスのゲノムの予

備配列から出発して、実施例1におけるように行う。これらの配列の一つは、S . セレシエの遺伝子YDR527wと相同性を有する。この配列において、2つのオリゴヌクレオチド即ち：

【化3】

5' ATCTCTGATA TGAGATTTGG CTTTAAAGGC GA 3' (SEQ ID NO: 25)

及び

5' GGTCTTTTTT CCATCAGCTG CCTCTGTTAT TG 3' (SEQ ID NO: 26)

を選択した。

【0167】

これら2つのオリゴヌクレオチドを用いて、C . アルビカンスの断片を増幅する。クローニング後に、予想される配列に近い392塩基対のCaDR527のいわゆるプローブ配列が得られた(このCaDR527のプローブは、SEQ ID NO: 17と呼ばれる)。このCaDR527のプローブ(SEQ ID NO: 17)に由来するタンパク質を、YDR527wのそれと比較したが、これは、これら2つのAA配列間の41%の同一性を示した(この比較を、図3に示す)。

【0168】

C . アルビカンスの392塩基対の断片を、実施例1におけるように行うC . アルビカンスのゲノムDNAの部分消化により調製したC . アルビカンスの遺伝子バンクのスクリーニングのためのプローブとして利用した。

【0169】

クローニングを実施例1に示したように行い、予備ハイブリダイゼーションとハイブリダイゼーションを実施例1に示したように行った後で、7つの陽性クローンが得られた(40000から)。これらの得られた配列の配列決定及び分析を、実施例1に示したように行う。

【0170】

こうして、得られた2つのクローンは、各々、用いたプローブの対立遺伝子にそれぞれ対応する完全なコード配列を含むことが示され：この遺伝子はCaDR527と呼ばれ、2つの対立遺伝子は、従って、1CaDR527及び2CaDR527と呼ばれ、それらの各配列は、それぞれ、SEQ ID NO: 5及びSEQ ID NO:

7と呼ばれる。

【0171】

これらの対立遺伝子1CaDR527と2CaDR527 (SEQ ID NO: 5及びSEQ ID NO: 7)の遺伝子が、13ヌクレオチドだけ異なるということは注意される。

【0172】

遺伝子CaDR527 (第一の対立遺伝子)は、S.セレビスエのYDR527wに対して53.8%のヌクレオチド同一性を有する。

【0173】

これらの対立遺伝子に由来するタンパク質即ち、第一の対立遺伝子1CaDR527に由来するSEQ ID NO: 6 (PCaDR527)及び第二の対立遺伝子1CaDR527に由来するSEQ ID NO: 8は、それらの間で5アミノ酸だけ異なる。

【0174】

遺伝子CaDR527に由来するタンパク質 (SEQ ID NO: 6)は、YDR527に由来するタンパク質と58.9%のアミノ酸類似性及び47.9%のアミノ酸同一性を有する。

【0175】

遺伝子CaDR527の完全な配列は、CTGコドンを含まない。

【0176】

実施例4：遺伝子CaFL024のクローニング及び配列決定

(方法B)

スタンフォードのインターネットサイト (<http://candida.stanford.edu/>)は、カンジダ・アルビカンスのゲノムの予備配列への直接的アクセスを可能にする。これらの配列の一つは、S.セレビスエの遺伝子YFL024cとの相同性を有する。この配列において、2つのオリゴヌクレオチド即ち：

【化4】

5' ATTCCCACAC CGGACGCTTC 3' (SEQ ID NO: 27)

及び 5' GACAACCTCCT CGTACGATAG 3' (SEQ ID NO: 28)

を選択した。

【0177】

これら2つのオリゴヌクレオチドを用いて、C. アルビカンスの断片を増幅する。クローニング後に、予想された配列に近い335塩基対のCaFL024のいわゆるプローブ配列が得られ:このCaFL024のプローブは、SEQ ID NO: 18と呼ばれる。このCaFL024のプローブ(SEQ ID NO: 18)に由来するタンパク質をYFL024cのそれと比較したが、これは、これら2つのAA配列間での62%の類似性と58%の同一性を示した(この比較を図4に示す)。

【0178】

C. アルビカンスの335塩基対の断片を、C. アルビカンスの遺伝子バンクのスクリーニングのためのプローブとして利用した(このC. a. の遺伝子バンクは、C. アルビカンスのゲノムDNAのSauIIIAによる部分消化とベクターYEP-24中のBamHI制限部位へのクローニングにより調製した)。これらの遺伝子バンクのクローンを、次いで、ディッシュ当たり2000クローンの密度でプレートし:次いで、各ディッシュをニトロセルロースフィルターで覆い、これを1.5M NaCl / 0.5M NaOHで5分間; 1.5M NaCl / 0.5M トリス-HCl (pH7.2) / 1mM EDTAで3分間(2回)連続的に処理する。

【0179】

このDNAを、次いで、フィルター(紫外線架橋剤、Amersham Life Science)に「架橋」する。

【0180】

このプローブ(100ng)を、次いで、Rediprime及びdCTPキット(Amersham Life Science)を用いて、p32で標識する。

【0181】

これらのフィルターの予備ハイブリダイゼーション及びハイブリダイゼーションを、30%のホルムアミド、5×SSC、5%のデンハート溶液、1% SDS、100µg/mlのサケ精子DNA及び10(6)cpm/mlのプローブ濃度の緩衝液中で行い:このハイブリダイゼーションを、42℃で16時間にわたって行う。

【0182】

次いで、これらのフィルターを、各5分ずつ周囲温度で、 $2 \times \text{SSC} / 0.1\%$ SDSで3回洗い、次いで、各20分ずつ60℃で、 $1 \times \text{SSC} / 0.1\%$ SDSで3回洗う。これらのフィルターを、一晚、オートラジオグラフィーにかけ、陽性クローンに対応するコロニー(得られたスポット)を単離して、新たに低密度でプレートしてからハイブリダイゼーションを行うことによる第二のスクリーニングにかけ：こうして、6つのクローンが得られ(144000から)、それらを、次いで、ABI377デバイスを用いて配列決定する。配列をABIソフトウェアを用いて編集してから、GCGソフトウェアパッケージを用いて分析する。6つのクローンの内の一つが、用いたプローブに対応する完全なコード配列を含むことが示され：この遺伝子はCaFL024と呼ばれ、この配列はSEQ ID NO: 9と呼ばれる。

【0183】

CaFL024は、C.セレビスエのYFL024cに対して49.1%同一のヌクレオチドを有する。

【0184】

CaFL024中には、2つのCTGコドンがある。遺伝子CaFL024(SEQ ID NO: 9)に由来するタンパク質即ちSEQ ID NO: 10(PCaFL024)は、YFL024cに由来するタンパク質と51.8%のアミノ酸類似性と44.0%のアミノ酸同一性を有する。

【0185】

実施例5：遺伝子CaNL260のクローニング及び配列決定

操作を、スタンフォードのインターネットサイト (<http://candida.stanford.edu/>)におけるカンジダ・アルビカンスのゲノムの予備配列から出発して、実施例4におけるように行う。これらの配列の一つは、S.セレビスエの遺伝子YN1260cとの相同性を有する。この配列において、2つのオリゴヌクレオチド即ち：

【化5】

5' AGATAATGTATTAATTTAG 3' (SEQ ID NO: 29)

及び 5' CTCTTAATTTATTTCTTGCC 3' (SEQ ID NO: 30)

を選択した。

【0186】

これら2つのオリゴヌクレオチドを用いて、C. アルビカンスの断片を増幅する。クローニング後に、予想される配列に近い326塩基対のCaNL260のいわゆるプローブ配列が得られ：このCaNL260のプローブは、SEQ ID NO: 19と呼ばれる。CaNL260のプローブ(SEQ ID NO: 19)に由来するタンパク質をYNL260cのそれと比較したが、これは、これら2つのAA配列間の56.7%の類似性と40.3%の同一性を示す(この比較を図5に示す)。

【0187】

このC. アルビカンスの326塩基対の断片を、実施例4におけるように、C. アルビカンスのゲノムDNAの部分消化により調製したC. アルビカンスの遺伝子バンクのスクリーニングのためのプローブとして用いた。

【0188】

予備ハイブリダイゼーションとハイブリダイゼーションを実施例4に示したように行い、2つの陽性クローンが得られた(40000から)。得られた配列の配列決定と分析を、実施例4に示したように行い、こうして得られたクローンは、用いたプローブに対応する完全なコード配列を含むことが示された(この遺伝子はCaNL260と呼ばれ、この配列はSEQ ID NO: 11と呼ばれる)。

【0189】

CaNL260は、S. セレビスエのYNL260cに対して同一のヌクレオチド47.6%を有する。

【0190】

遺伝子CaNL260(SEQ ID NO: 11)由来のタンパク質即ちSEQ ID NO: 12(PCaNL260)は、YNL260c由来のタンパク質と50.7%のアミノ酸類似性と32.6%のアミノ酸同一性を有する。

【0191】

CaNL260中には、CTGコドンはない。

【0192】

実施例6：遺伝子C a D R 3 6 1のクローニング及び配列決定

操作を、カンジダ・アルビカンスのゲノムの予備配列から出発して実施例4におけるように行い：スタンフォードのインターネットサイト(<http://candida.stanford.edu/>)は、カンジダ・アルビカンスのゲノムの予備配列への直接的アクセスを可能にする。

【0193】

これらの配列の一つは、S . セレビスエの遺伝子Y D R 3 6 1 cとの相同性を有する。この配列において、2つのオリゴヌクレオチド即ち：

【化6】

5' CCTCAAATTGATTTCCATGC 3' (SEQ ID NO: 3 1)

及び 5' GTGGAATCACTTCAACTGGC 3' (SEQ ID NO: 3 2)

を選択した。

【0194】

これら2つのオリゴヌクレオチドを用いて、C . アルビカンスの断片を増幅する。クローニング後に、予想される配列に近い374塩基対のC a D R 3 6 1のいわゆるプローブ配列が得られ：このC a D R 3 6 1のプローブは、SEQ ID NO: 20と呼ばれる。C a D R 3 6 1のプローブ(SEQ ID NO: 20)に由来するタンパク質をY D R 3 6 1 cのそれと比較したが、これは、これら2つのA A配列間の52.4%の類似性と40.0%の同一性を示す(この比較を図6に示す)。

【0195】

このC . アルビカンスの374塩基対の断片を、C . アルビカンスのゲノムDNAをS a u 1 1 / Aで部分消化してベクターY E P 2 4(選択マーカ-T r p)のB a m H I制限部位にクローン化することにより調製したC . アルビカンスの遺伝子バンクをスクリーニングするためのプローブとして利用した。

【0196】

予備ハイブリダイゼーションとハイブリダイゼーションを実施例4に示したように行い、4つの陽性クローンを得る(40000から)。得られた配列の配列決定と分析を実施例4に示したように行い、そうして、用いたプローブに対応する完全なコード配列を含むことが示されたクローンが得られる(この遺伝子はC a

D R 3 6 1 と呼ばれ、この配列はSEQ ID NO: 1 3 と呼ばれる)。

【 0 1 9 7 】

C a D R 3 6 1 は、S . セレビシエのY D R 3 6 1 c と同一の5 3 . 9 % のヌクレオチドを有する。

【 0 1 9 8 】

C a D R 3 6 1 中には、C T G コドンはない。

【配列表】

LISTE DE SEQUENCES

<110> Hoechst Marion Roussel

<120> Nouveaux gènes de Candida albicans et les protéines
codées par ces gènes.

<130> 2517 PCT SEQUENCES EN FRANCAIS

<140>

<141>

<150> FR 9907250

<151> 1999-06-09

<160> 32

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 747

<212> ADN

<213> Candida albicans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(747)

<220>

<221> modified_base

<222> (136)..(138)

<400> 1

atg tca aat gac gat ata ata ctc cca tca gtt tca tcc tta tcg aaa 48

Met Ser Asn Asp Asp Ile Ile Leu Pro Ser Val Ser Ser Leu Ser Lys

1

5

10

15

cta act ata aat gat gta tca aaa tca gga ttt gga tac aat ccg tcc	96
Leu Thr Ile Asn Asp Val Ser Lys Ser Gly Phe Gly Tyr Asn Pro Ser	
20 25 30	
ata gga cca ata tca aat act att acc cta gaa tct tca ctg gta tta	144
Ile Gly Pro Ile Ser Asn Thr Ile Thr Leu Glu Ser Ser Ser Val Leu	
35 40 45	
tta aat aaa cgt aca ata tca tta aca cca aca tca tct gac tcc att	192
Leu Asn Lys Arg Thr Ile Ser Leu Thr Pro Thr Ser Ser Asp Ser Ile	
50 55 60	
tat gat aga aat att atc acg aaa aag cca cac gaa atc aac tta tct	240
Tyr Asp Arg Asn Ile Ile Thr Lys Lys Pro His Glu Ile Asn Leu Ser	
65 70 75 80	
tcg tta tca ttt ttg ttt tgt gag att att agt tgg gca cac tct aat	288
Ser Leu Ser Phe Leu Phe Cys Glu Ile Ile Ser Trp Ala His Ser Asn	
85 90 95	
tcc aaa ggc att caa gat tta gaa aat cgt tta aac gga tta ggt tat	336
Ser Lys Gly Ile Gln Asp Leu Glu Asn Arg Leu Asn Gly Leu Gly Tyr	
100 105 110	
caa ata ggt caa cga tat ctc gaa ttg tgt aaa ata aga gaa ggt ttt	384
Gln Ile Gly Gln Arg Tyr Leu Glu Leu Cys Lys Ile Arg Glu Gly Phe	
115 120 125	
aaa aac agt aaa cga gag att aga ctt ttg gaa atg tta caa ttt att	432
Lys Asn Ser Lys Arg Glu Ile Arg Leu Leu Glu Met Leu Gln Phe Ile	
130 135 140	
cat ggt ccg ttc tgg aaa ttg att ttt ggt aaa act gct aat gaa tta	480
His Gly Pro Phe Trp Lys Leu Ile Phe Gly Lys Thr Ala Asn Glu Leu	
145 150 155 160	

Ile Gly Pro Ile Ser Asn Thr Ile Thr Leu Glu Ser Ser Ser Val Leu
 35 40 45

Leu Asn Lys Arg Thr Ile Ser Leu Thr Pro Thr Ser Ser Asp Ser Ile
 50 55 60

Tyr Asp Arg Asn Ile Ile Thr Lys Lys Pro His Glu Ile Asn Leu Ser
 65 70 75 80

Ser Leu Ser Phe Leu Phe Cys Glu Ile Ile Ser Trp Ala His Ser Asn
 85 90 95

Ser Lys Gly Ile Gln Asp Leu Glu Asn Arg Leu Asn Gly Leu Gly Tyr
 100 105 110

Gln Ile Gly Gln Arg Tyr Leu Glu Leu Cys Lys Ile Arg Glu Gly Phe
 115 120 125

Lys Asn Ser Lys Arg Glu Ile Arg Leu Leu Glu Met Leu Gln Phe Ile
 130 135 140

His Gly Pro Phe Trp Lys Leu Ile Phe Gly Lys Thr Ala Asn Glu Leu
 145 150 155 160

Glu Lys Ser Gln Asp Leu Pro Asn Glu Tyr Met Ile Val Glu Asn Val
 165 170 175

Pro Leu Leu Asn Arg Phe Ile Ser Ile Pro Lys Glu Tyr Gly Asp Leu
 180 185 190

Asn Cys Ser Ala Phe Val Ala Gly Ile Ile Glu Gly Ala Leu Asp Asn
 195 200 205

Ser Gly Phe Asn Ala Asp Val Thr Ala His Thr Val Ala Thr Asp Ala
 210 215 220

Asn Pro Leu Arg Thr Val Phe Leu Ile Lys Phe Asp Asp Ser Val Leu
 225 230 235 240

Ile Arg Glu Ser Leu Arg Phe Gly

245

<210> 3

<211> 711

<212> ADN

<213> Candida albicans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(711)

<220>

<221> modified_base

<222> (577)..(579)

<400> 3

atg gat att gac gat att tta aaa gaa ttt gaa gag tct tca aaa gat 48
Met Asp Ile Asp Asp Ile Leu Lys Glu Phe Glu Glu Ser Ser Lys Asp
1 5 10 15

gaa aag att agc agt aaa aca tcg tct atc aac tta tat caa gac ttg 96
Glu Lys Ile Ser Ser Lys Thr Ser Ser Ile Asn Leu Tyr Gln Asp Leu
20 25 30

cta aga gct atg atc aac gaa cgt atg gct ccg gaa tta ttg cca tac 144
Leu Arg Ala Met Ile Asn Glu Arg Met Ala Pro Glu Leu Leu Pro Tyr
35 40 45

aaa caa gat tta atg tcc act gtt tta aca atg atg tct aac caa caa 192
Lys Gln Asp Leu Met Ser Thr Val Leu Thr Met Met Ser Asn Gln Gln
50 55 60

caa tat tta tta gaa tct cac gaa tat ggt gat atg aat ggc gac agt 240
Gln Tyr Leu Leu Glu Ser His Glu Tyr Gly Asp Met Asn Gly Asp Ser
65 70 75 80

ggc gta tta tcc gga gac ttt aaa tta caa cta atg att atc gaa act 288
 Gly Val Leu Ser Gly Asp Phe Lys Leu Gln Leu Met Ile Ile Glu Thr

85

90

95

gat tta gag cgt ctc aac tat att gtt cga tta tac ata cga act cga 336
 Asp Leu Glu Arg Leu Asn Tyr Ile Val Arg Leu Tyr Ile Arg Thr Arg

100

105

110

ttg agt aag ttg aat aaa ttt act att ttt tac atc aat gaa agc agt 384
 Leu Ser Lys Leu Asn Lys Phe Thr Ile Phe Tyr Ile Asn Glu Ser Ser

115

120

125

caa aat gat aat tta ttg tcc aaa gag gaa aga gat tat ata cac aaa 432
 Gln Asn Asp Asn Leu Leu Ser Lys Glu Glu Arg Asp Tyr Ile His Lys

130

135

140

tat ttc cag att ttg act caa tta tat aac aac tgt ttc ctc aaa aaa 480
 Tyr Phe Gln Ile Leu Thr Gln Leu Tyr Asn Asn Cys Phe Leu Lys Lys

145

150

155

160

cta cca caa atg ttg acc tat ttg gat gac acc agt ggt gga caa tca 528
 Leu Pro Gln Met Leu Thr Tyr Leu Asp Asp Thr Ser Gly Gly Gln Ser

165

170

175

atg atc gtt gag cca gat tta gac cag cct gtg ttt atc aaa tgt acc 576
 Met Ile Val Glu Pro Asp Leu Asp Gln Pro Val Phe Ile Lys Cys Thr

180

185

190

ctg gaa gtc cca ata tta cta gat tac gac ggt gct aca gag ata gat 624
 Ser Glu Val Pro Ile Leu Leu Asp Tyr Asp Gly Ala Thr Glu Ile Asp

195

200

205

tta gaa tta ata aaa aag gga gtc tac gtg gtg aaa tac agc cta gtc 672
 Leu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Val Tyr Val Val Lys Tyr Ser Leu Val

210

215

220

aaa aga tat att gat att gga gat gtg gta ttg ata tga 711
 Lys Arg Tyr Ile Asp Ile Gly Asp Val Val Leu Ile
 225 230 235

<210> 4

<211> 237

<212>

<213> Candida albicans

<400> 4

Met Asp Ile Asp Asp Ile Leu Lys Glu Phe Glu Glu Ser Ser Lys Asp
 1 5 10 15

Glu Lys Ile Ser Ser Lys Thr Ser Ser Ile Asn Leu Tyr Gln Asp Leu
 20 25 30

Leu Arg Ala Met Ile Asn Glu Arg Met Ala Pro Glu Leu Leu Pro Tyr
 35 40 45

Lys Gln Asp Leu Met Ser Thr Val Leu Thr Met Met Ser Asn Gln Gln
 50 55 60

Gln Tyr Leu Leu Glu Ser His Glu Tyr Gly Asp Met Asn Gly Asp Ser
 65 70 75 80

Gly Val Leu Ser Gly Asp Phe Lys Leu Gln Leu Met Ile Ile Glu Thr
 85 90 95

Asp Leu Glu Arg Leu Asn Tyr Ile Val Arg Leu Tyr Ile Arg Thr Arg
 100 105 110

Leu Ser Lys Leu Asn Lys Phe Thr Ile Phe Tyr Ile Asn Glu Ser Ser
 115 120 125

Gln Asn Asp Asn Leu Leu Ser Lys Glu Glu Arg Asp Tyr Ile His Lys
 130 135 140

Tyr Phe Gln Ile Leu Thr Gln Leu Tyr Asn Asn Cys Phe Leu Lys Lys
 145 150 155 160

Leu Pro Gln Met Leu Thr Tyr Leu Asp Asp Thr Ser Gly Gly Gln Ser
 165 170 175

Met Ile Val Glu Pro Asp Leu Asp Gln Pro Val Phe Ile Lys Cys Thr
 180 185 190

Ser Glu Val Pro Ile Leu Leu Asp Tyr Asp Gly Ala Thr Glu Ile Asp
 195 200 205

Leu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Val Tyr Val Val Lys Tyr Ser Leu Val
 210 215 220

Lys Arg Tyr Ile Asp Ile Gly Asp Val Val Leu Ile
 225 230 235

<210> 5

<211> 1383

<212> ADN

<213> Candida albicans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1383)

<400> 5

atg gat ttc ata gga gag att ata gag cat gag aca gag gca cct aaa 48

Met Asp Phe Ile Gly Glu Ile Ile Glu His Glu Thr Glu Ala Pro Lys
 1 5 10 15

gaa cca acc cca aaa ccc aca att ggt gga ttc ccc gaa ctt aaa aaa 96

Glu Pro Thr Pro Lys Pro Thr Ile Gly Gly Phe Pro Glu Leu Lys Lys
 20 25 30

tta aaa gaa aag aaa gtc tca aga tgg agg caa aag caa caa cag gaa	144
Leu Lys Glu Lys Lys Val Ser Arg Trp Arg Gln Lys Gln Gln Gln Glu	
35 40 45	
cag agc aca act tcc cca aaa act act gaa atc cgt tca gag gct tcc	192
Gln Ser Thr Thr Ser Pro Lys Thr Thr Glu Ile Arg Ser Glu Ala Ser	
50 55 60	
aaa att cac caa gaa aat atc gag aag atg gct caa atg tca gag gaa	240
Lys Ile His Gln Glu Asn Ile Glu Lys Met Ala Gln Met Ser Glu Glu	
65 70 75 80	
gag att ttg caa gag cgt gag gag tta cta aag ggt tta gat cct aaa	288
Glu Ile Leu Gln Glu Arg Glu Glu Leu Leu Lys Gly Leu Asp Pro Lys	
85 90 95	
tta att gaa agt ttg att ggt aga tcc aag aaa agg gaa gca aca gac	336
Leu Ile Glu Ser Leu Ile Gly Arg Ser Lys Lys Arg Glu Ala Thr Asp	
100 105 110	
cat gaa cac aat gga cat gct cat gaa cat gca gag gga tac cat gga	384
His Glu His Asn Gly His Ala His Glu His Ala Glu Gly Tyr His Gly	
115 120 125	
tgg att gga tca atg aaa act tct gaa gga tta aca gat tta tct caa	432
Trp Ile Gly Ser Met Lys Thr Ser Glu Gly Leu Thr Asp Leu Ser Gln	
130 135 140	
tta gat aag gaa gat gtg gac cgt gca ttg ggt ata agt tca tta tcc	480
Leu Asp Lys Glu Asp Val Asp Arg Ala Leu Gly Ile Ser Ser Leu Ser	
145 150 155 160	
tta tct gaa cct gag ggt ggc agt aat acg aaa aaa gtc gct ttc gac	528
Leu Ser Glu Pro Glu Gly Gly Ser Asn Thr Lys Lys Val Ala Phe Asp	
165 170 175	

gat aat atc aag acg gtt aaa ttt gaa gat ttg gat gat gga att gaa	576
Asp Asn Ile Lys Thr Val Lys Phe Glu Asp Leu Asp Asp Gly Ile Glu	
180 185 190	
ttg gat cca aat gga tgg gag gac gtt act gat gtc aat gaa tta gtt	624
Leu Asp Pro Asn Gly Trp Glu Asp Val Thr Asp Val Asn Glu Leu Val	
195 200 205	
cct aat aat gat cac att gca cct gac gat tac cag att aat cct gat	672
Pro Asn Asn Asp His Ile Ala Pro Asp Asp Tyr Gln Ile Asn Pro Asp	
210 215 220	
agc gat gaa gaa gga ttg aat aat act gtt cat ttt aca aaa ccc aaa	720
Ser Asp Glu Glu Gly Leu Asn Asn Thr Val His Phe Thr Lys Pro Lys	
225 230 235 240	
cag cca gat ttg gat ata aat gat ccc gat ttc ttt gat aag cta cat	768
Gln Pro Asp Leu Asp Ile Asn Asp Pro Asp Phe Phe Asp Lys Leu His	
245 250 255	
gag aaa tac tat cct gat ttg cct aaa gaa aca gaa aag ttg tca tgg	816
Glu Lys Tyr Tyr Pro Asp Leu Pro Lys Glu Thr Glu Lys Leu Ser Trp	
260 265 270	
atg aca cag cca atg cca aaa caa ttg tct acc gtt tat gaa tca ata	864
Met Thr Gln Pro Met Pro Lys Gln Leu Ser Thr Val Tyr Glu Ser Ile	
275 280 285	
tct gat atg aga ttt gac ttt aaa gga gat tta att gaa ttg ggt cca	912
Ser Asp Met Arg Phe Asp Phe Lys Gly Asp Leu Ile Glu Leu Gly Pro	
290 295 300	
gag gga gaa gaa cca aaa gat agt tca tcc gaa ata cct act tat atg	960
Glu Gly Glu Glu Pro Lys Asp Ser Ser Ser Glu Ile Pro Thr Tyr Met	
305 310 315 320	

gga ctt cat cat cat tcg gag aac cca cat atg gca ggt tat aca ttg 1008
 Gly Leu His His His Ser Glu Asn Pro His Met Ala Gly Tyr Thr Leu
 325 330 335

ggt gag ttg gca cat tta gcc aga tcg act tta gct gga caa aga tgc 1056
 Gly Glu Leu Ala His Leu Ala Arg Ser Thr Leu Ala Gly Gln Arg Cys
 340 345 350

ttg agc att caa aca tta ggg aga atc tta cat aaa ttg gga tta cat 1104
 Leu Ser Ile Gln Thr Leu Gly Arg Ile Leu His Lys Leu Gly Leu His
 355 360 365

aaa tac agt ata cta cca aaa aca gac tca gat gat cag agt ttt aca 1152
 Lys Tyr Ser Ile Leu Pro Lys Thr Asp Ser Asp Asp Gln Ser Phe Thr
 370 375 380

gat gaa atc aaa caa cta tca ctt gac ttt gaa gat atg atg tgg gac 1200
 Asp Glu Ile Lys Gln Leu Ser Leu Asp Phe Glu Asp Met Met Trp Asp
 385 390 395 400

ttg ata gac caa tta cga atc att gaa aca ata aca gag gca gct gat 1248
 Leu Ile Asp Gln Leu Arg Ile Ile Glu Thr Ile Thr Glu Ala Ala Asp
 405 410 415

gaa aaa aag acc aga aac tta tct gtc aga aat tat gca ata gag gca 1296
 Glu Lys Lys Thr Arg Asn Leu Ser Val Arg Asn Tyr Ala Ile Glu Ala
 420 425 430

ttg tgg tta tat aga act gga ggt gga aga cca gag ata act aaa caa 1344
 Leu Trp Leu Tyr Arg Thr Gly Gly Gly Arg Pro Glu Ile Thr Lys Gln
 435 440 445

acc gaa gag gat ttg ata gca caa gca gtt cag aaa taa 1383
 Thr Glu Glu Asp Leu Ile Ala Gln Ala Val Gln Lys
 450 455 460

<211> 461

<212>

<213> *Candida albicans*

<400> 6

Met Asp Phe Ile Gly Glu Ile Ile Glu His Glu Thr Glu Ala Pro Lys
 1 5 10 15

Glu Pro Thr Pro Lys Pro Thr Ile Gly Gly Phe Pro Glu Leu Lys Lys
 20 25 30

Leu Lys Glu Lys Lys Val Ser Arg Trp Arg Gln Lys Gln Gln Gln Glu
 35 40 45

Gln Ser Thr Thr Ser Pro Lys Thr Thr Glu Ile Arg Ser Glu Ala Ser
 50 55 60

Lys Ile His Gln Glu Asn Ile Glu Lys Met Ala Gln Met Ser Glu Glu
 65 70 75 80

Glu Ile Leu Gln Glu Arg Glu Glu Leu Leu Lys Gly Leu Asp Pro Lys
 85 90 95

Leu Ile Glu Ser Leu Ile Gly Arg Ser Lys Lys Arg Glu Ala Thr Asp
 100 105 110

His Glu His Asn Gly His Ala His Glu His Ala Glu Gly Tyr His Gly
 115 120 125

Trp Ile Gly Ser Met Lys Thr Ser Glu Gly Leu Thr Asp Leu Ser Gln
 130 135 140

Leu Asp Lys Glu Asp Val Asp Arg Ala Leu Gly Ile Ser Ser Leu Ser
 145 150 155 160

Leu Ser Glu Pro Glu Gly Gly Ser Asn Thr Lys Lys Val Ala Phe Asp
 165 170 175

Asp Asn Ile Lys Thr Val Lys Phe Glu Asp Leu Asp Asp Gly Ile Glu
 180 185 190

Leu Asp Pro Asn Gly Trp Glu Asp Val Thr Asp Val Asn Glu Leu Val
 195 200 205

Pro Asn Asn Asp His Ile Ala Pro Asp Asp Tyr Gln Ile Asn Pro Asp
 210 215 220

Ser Asp Glu Glu Gly Leu Asn Asn Thr Val His Phe Thr Lys Pro Lys
 225 230 235 240

Gln Pro Asp Leu Asp Ile Asn Asp Pro Asp Phe Phe Asp Lys Leu His
 245 250 255

Glu Lys Tyr Tyr Pro Asp Leu Pro Lys Glu Thr Glu Lys Leu Ser Trp
 260 265 270

Met Thr Gln Pro Met Pro Lys Gln Leu Ser Thr Val Tyr Glu Ser Ile
 275 280 285

Ser Asp Met Arg Phe Asp Phe Lys Gly Asp Leu Ile Glu Leu Gly Pro
 290 295 300

Glu Gly Glu Glu Pro Lys Asp Ser Ser Ser Glu Ile Pro Thr Tyr Met
 305 310 315 320

Gly Leu His His His Ser Glu Asn Pro His Met Ala Gly Tyr Thr Leu
 325 330 335

Gly Glu Leu Ala His Leu Ala Arg Ser Thr Leu Ala Gly Gln Arg Cys
 340 345 350

Leu Ser Ile Gln Thr Leu Gly Arg Ile Leu His Lys Leu Gly Leu His
 355 360 365

Lys Tyr Ser Ile Leu Pro Lys Thr Asp Ser Asp Asp Gln Ser Phe Thr
 370 375 380

Asp Glu Ile Lys Gln Leu Ser Leu Asp Phe Glu Asp Met Met Trp Asp
385 390 395 400

Leu Ile Asp Gln Leu Arg Ile Ile Glu Thr Ile Thr Glu Ala Ala Asp
405 410 415

Glu Lys Lys Thr Arg Asn Leu Ser Val Arg Asn Tyr Ala Ile Glu Ala
420 425 430

Leu Trp Leu Tyr Arg Thr Gly Gly Gly Arg Pro Glu Ile Thr Lys Gln
435 440 445

Thr Glu Glu Asp Leu Ile Ala Gln Ala Val Gln Lys
450 455 460

<210> 7

<211> 1383

<212> ADN

<213> Candida albicans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1380)

<400> 7

atg gat ttc ata gga gag att ata gag cat gag aca gag gca cct aaa 48
Met Asp Phe Ile Gly Glu Ile Ile Glu His Glu Thr Glu Ala Pro Lys
1 5 10 15

gaa cca acc cca aaa ccc aca att ggt gga ttc ccc gaa ctt aaa aaa 96
Glu Pro Thr Pro Lys Pro Thr Ile Gly Gly Phe Pro Glu Leu Lys Lys
20 25 30

tta aaa gaa aag aaa gtc tca aga tgg agg caa aag caa caa cag gag 144
Leu Lys Glu Lys Lys Val Ser Arg Trp Arg Gln Lys Gln Gln Gln Glu
35 40 45

cag agc aca act tcc cca aaa act act gaa atc cgt tca gag gct tcc	192
Gln Ser Thr Thr Ser Pro Lys Thr Thr Glu Ile Arg Ser Glu Ala Ser	
50 55 60	
aaa att cac caa gaa aat atc gag aag atg gct caa atg tca gag gaa	240
Lys Ile His Gln Glu Asn Ile Glu Lys Met Ala Gln Met Ser Glu Glu	
65 70 75 80	
gag att ttg caa gag cgt gag gag tta cta aag ggt tta gac cct aaa	288
Glu Ile Leu Gln Glu Arg Glu Glu Leu Leu Lys Gly Leu Asp Pro Lys	
85 90 95	
tta att gaa agt ttg att ggt aga tcc aag aaa agg gaa gca aca gac	336
Leu Ile Glu Ser Leu Ile Gly Arg Ser Lys Lys Arg Glu Ala Thr Asp	
100 105 110	
cat gaa cac aat gga cat gct cat gaa cat gca gag gga tac cat gga	384
His Glu His Asn Gly His Ala His Glu His Ala Glu Gly Tyr His Gly	
115 120 125	
tgg att gga tca atg aaa act tct gaa gga tta aca gat tta tct caa	432
Trp Ile Gly Ser Met Lys Thr Ser Glu Gly Leu Thr Asp Leu Ser Gln	
130 135 140	
tta gat aag gaa gat gtg gac cgt gct ttg ggt ata agt tca tta tcc	480
Leu Asp Lys Glu Asp Val Asp Arg Ala Leu Gly Ile Ser Ser Leu Ser	
145 150 155 160	
tta tct gaa cct gag ggt ggc agc aat acg aaa aaa gtc gct ttc gac	528
Leu Ser Glu Pro Glu Gly Gly Ser Asn Thr Lys Lys Val Ala Phe Asp	
165 170 175	
gat aat atc aag acg gtt aaa ttt gaa gct ttg gat gat gaa att gaa	576
Asp Asn Ile Lys Thr Val Lys Phe Glu Ala Leu Asp Asp Glu Ile Glu	
180 185 190	

ttg gat cca aat gga tgg gag gac gtt act gat gtc aat gaa tta gtt	624
Leu Asp Pro Asn Gly Trp Glu Asp Val Thr Asp Val Asn Glu Leu Val	
195 200 205	
cct aat aat gat cac att gca cct gac gat tac cag att aat cct gat	672
Pro Asn Asn Asp His Ile Ala Pro Asp Asp Tyr Gln Ile Asn Pro Asp	
210 215 220	
agc gat gaa gaa gga ttg aat aat act gtt cat ttt aca aaa ccc aaa	720
Ser Asp Glu Glu Gly Leu Asn Asn Thr Val His Phe Thr Lys Pro Lys	
225 230 235 240	
cag cca gat ttg gat ata aat gat ccc gat ttc ttt gat aag cta cat	768
Gln Pro Asp Leu Asp Ile Asn Asp Pro Asp Phe Phe Asp Lys Leu His	
245 250 255	
gag aaa tac tat cct gat ttg cct aaa gaa aca gaa aag ttg tca tgg	816
Glu Lys Tyr Tyr Pro Asp Leu Pro Lys Glu Thr Glu Lys Leu Ser Trp	
260 265 270	
atg aca cag cca atg cca aaa caa ttg tct aca gtt tat gaa tca ata	864
Met Thr Gln Pro Met Pro Lys Gln Leu Ser Thr Val Tyr Glu Ser Ile	
275 280 285	
tct gat atg aga ttt gac ttc aaa gga gat tta att gaa ttg agc gca	912
Ser Asp Met Arg Phe Asp Phe Lys Gly Asp Leu Ile Glu Leu Ser Ala	
290 295 300	
gag gga gaa gaa cca aaa gat agt tca ttc gaa ata cct act tat atg	960
Glu Gly Glu Glu Pro Lys Asp Ser Ser Phe Glu Ile Pro Thr Tyr Met	
305 310 315 320	
gga ctt cat cat cat tcg gag aac cca cat atg gca ggt tat aca ttg	1008
Gly Leu His His His Ser Glu Asn Pro His Met Ala Gly Tyr Thr Leu	
325 330 335	

ggt gag ttg gca cat tta gcc aga tcg act tta gct gga caa aga tgc 1056
 Gly Glu Leu Ala His Leu Ala Arg Ser Thr Leu Ala Gly Gln Arg Cys
 340 345 350

ttg agc att caa aca tta ggg aga ata tta cat aaa ttg gga tta cat 1104
 Leu Ser Ile Gln Thr Leu Gly Arg Ile Leu His Lys Leu Gly Leu His
 355 360 365

aaa tac agt ata cta cca aaa aca gac tca gat gat cag agt ttt aca 1152
 Lys Tyr Ser Ile Leu Pro Lys Thr Asp Ser Asp Asp Gln Ser Phe Thr
 370 375 380

gat gaa atc aaa caa cta tca ctt gac ttt gaa gat atg atg tgg gac 1200
 Asp Glu Ile Lys Gln Leu Ser Leu Asp Phe Glu Asp Met Met Trp Asp
 385 390 395 400

ttg ata gac caa tta cga atc att gaa aca ata aca gag gca gct gat 1248
 Leu Ile Asp Gln Leu Arg Ile Ile Glu Thr Ile Thr Glu Ala Ala Asp
 405 410 415

gaa aaa aag acc aga aac tta tct gtc aga aat tat gca ata gag gca 1296
 Glu Lys Lys Thr Arg Asn Leu Ser Val Arg Asn Tyr Ala Ile Glu Ala
 420 425 430

ttg tgg tta tat aga act gga ggt gga aga cca gag ata act aaa caa 1344
 Leu Trp Leu Tyr Arg Thr Gly Gly Gly Arg Pro Glu Ile Thr Lys Gln
 435 440 445

acc gaa gag gat ttg ata gca caa gca gtt cag aaa taa 1383
 Thr Glu Glu Asp Leu Ile Ala Gln Ala Val Gln Lys
 450 455 460

<210> 8

<211> 460

<212>

<213> *Candida albicans*

<400> 8

Met Asp Phe Ile Gly Glu Ile Ile Glu His Glu Thr Glu Ala Pro Lys
 1 5 10 15
 Glu Pro Thr Pro Lys Pro Thr Ile Gly Gly Phe Pro Glu Leu Lys Lys
 20 25 30
 Leu Lys Glu Lys Lys Val Ser Arg Trp Arg Gln Lys Gln Gln Gln Glu
 35 40 45
 Gln Ser Thr Thr Ser Pro Lys Thr Thr Glu Ile Arg Ser Glu Ala Ser
 50 55 60
 Lys Ile His Gln Glu Asn Ile Glu Lys Met Ala Gln Met Ser Glu Glu
 65 70 75 80
 Glu Ile Leu Gln Glu Arg Glu Glu Leu Leu Lys Gly Leu Asp Pro Lys
 85 90 95
 Leu Ile Glu Ser Leu Ile Gly Arg Ser Lys Lys Arg Glu Ala Thr Asp
 100 105 110
 His Glu His Asn Gly His Ala His Glu His Ala Glu Gly Tyr His Gly
 115 120 125
 Trp Ile Gly Ser Met Lys Thr Ser Glu Gly Leu Thr Asp Leu Ser Gln
 130 135 140
 Leu Asp Lys Glu Asp Val Asp Arg Ala Leu Gly Ile Ser Ser Leu Ser
 145 150 155 160
 Leu Ser Glu Pro Glu Gly Gly Ser Asn Thr Lys Lys Val Ala Phe Asp
 165 170 175
 Asp Asn Ile Lys Thr Val Lys Phe Glu Ala Leu Asp Asp Glu Ile Glu
 180 185 190

Leu Asp Pro Asn Gly Trp Glu Asp Val Thr Asp Val Asn Glu Leu Val
 195 200 205

Pro Asn Asn Asp His Ile Ala Pro Asp Asp Tyr Gln Ile Asn Pro Asp
 210 215 220

Ser Asp Glu Glu Gly Leu Asn Asn Thr Val His Phe Thr Lys Pro Lys
 225 230 235 240

Gln Pro Asp Leu Asp Ile Asn Asp Pro Asp Phe Phe Asp Lys Leu His
 245 250 255

Glu Lys Tyr Tyr Pro Asp Leu Pro Lys Glu Thr Glu Lys Leu Ser Trp
 260 265 270

Met Thr Gln Pro Met Pro Lys Gln Leu Ser Thr Val Tyr Glu Ser Ile
 275 280 285

Ser Asp Met Arg Phe Asp Phe Lys Gly Asp Leu Ile Glu Leu Ser Ala
 290 295 300

Glu Gly Glu Glu Pro Lys Asp Ser Ser Phe Glu Ile Pro Thr Tyr Met
 305 310 315 320

Gly Leu His His His Ser Glu Asn Pro His Met Ala Gly Tyr Thr Leu
 325 330 335

Gly Glu Leu Ala His Leu Ala Arg Ser Thr Leu Ala Gly Gln Arg Cys
 340 345 350

Leu Ser Ile Gln Thr Leu Gly Arg Ile Leu His Lys Leu Gly Leu His
 355 360 365

Lys Tyr Ser Ile Leu Pro Lys Thr Asp Ser Asp Asp Gln Ser Phe Thr
 370 375 380

Asp Glu Ile Lys Gln Leu Ser Leu Asp Phe Glu Asp Met Met Trp Asp
 385 390 395 400

Leu Ile Asp Gln Leu Arg Ile Ile Glu Thr Ile Thr Glu Ala Ala Asp
 405 410 415

Glu Lys Lys Thr Arg Asn Leu Ser Val Arg Asn Tyr Ala Ile Glu Ala
 420 425 430

Leu Trp Leu Tyr Arg Thr Gly Gly Gly Arg Pro Glu Ile Thr Lys Gln
 435 440 445

Thr Glu Glu Asp Leu Ile Ala Gln Ala Val Gln Lys
 450 455 460

<210> 9

<211> 2262

<212> ADN

<213> Candida albicans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(2262)

<220>

<221> modified_base

<222> (1093)..(1095)

<220>

<221> modified_base

<222> (1828)..(1830)

<400> 9

atg gca gca gca cca cca cca cca gcg aaa aac cag ggt aag gca aaa 48

Met Ala Ala Ala Pro Pro Pro Pro Ala Lys Asn Gln Gly Lys Ala Lys

1 5 10 15

cag cat gtt aca ggt gcc agg ttc cgt cag cga aaa atc tcg gta aag 96

Gln His Val Thr Gly Ala Arg Phe Arg Gln Arg Lys Ile Ser Val Lys

20 25 30

cag ccc ttg act att tat aaa cag aga gac cta cct act cta gat agc	144
Gln Pro Leu Thr Ile Tyr Lys Gln Arg Asp Leu Pro Thr Leu Asp Ser	
35 40 45	
aat gag tta gag cct agt caa gtc cat cat tta aat tct aat gcg tca	192
Asn Glu Leu Glu Pro Ser Gln Val His His Leu Asn Ser Asn Ala Ser	
50 55 60	
tca tca tca aca caa caa ccg aga gac ctt cat gca gtt gaa act ggg	240
Ser Ser Ser Thr Gln Gln Pro Arg Asp Leu His Ala Val Glu Thr Gly	
65 70 75 80	
gtt gac aag aat gag gaa gag gaa gtg cat ctt cag caa gtt atc aat	288
Val Asp Lys Asn Glu Glu Glu Glu Val His Leu Gln Gln Val Ile Asn	
85 90 95	
gct gca caa aaa gca ctt ttg ggt tcg aaa aaa gaa gaa aaa agc agt	336
Ala Ala Gln Lys Ala Leu Leu Gly Ser Lys Lys Glu Glu Lys Ser Ser	
100 105 110	
gat atg tat att ccc aca ccg gac gct tcg agg ata tgg ccc gag gca	384
Asp Met Tyr Ile Pro Thr Pro Asp Ala Ser Arg Ile Trp Pro Glu Ala	
115 120 125	
cac aag tat tac aag gat caa aag ttc aag cag cca gag aca tat atc	432
His Lys Tyr Tyr Lys Asp Gln Lys Phe Lys Gln Pro Glu Thr Tyr Ile	
130 135 140	
aag ttt agt gcg aca gta gag gac aca gtg ggt gtg gag tac aat atg	480
Lys Phe Ser Ala Thr Val Glu Asp Thr Val Gly Val Glu Tyr Asn Met	
145 150 155 160	
gac gag gta gat gaa aag ttt tat aga gag aca cta tgc aag tac tat	528
Asp Glu Val Asp Glu Lys Phe Tyr Arg Glu Thr Leu Cys Lys Tyr Tyr	
165 170 175	

ccc aaa aag aaa aac aag tca gat gag aac aat cga aag tgt act gaa	576
Pro Lys Lys Lys Asn Lys Ser Asp Glu Asn Asn Arg Lys Cys Thr Glu	
180 185 190	
ttg gag ttt gaa aca atc tgt gac aag ttg gaa aag acc att gaa gca	624
Leu Glu Phe Glu Thr Ile Cys Asp Lys Leu Glu Lys Thr Ile Glu Ala	
195 200 205	
cga caa ccg ttt ttg tct atg gac ccc agc aac att cta tcg tac gag	672
Arg Gln Pro Phe Leu Ser Met Asp Pro Ser Asn Ile Leu Ser Tyr Glu	
210 215 220	
gag ttg tcg tcg tac att gtg gat cag ttt aaa agt gca gtg aaa aca	720
Glu Leu Ser Ser Tyr Ile Val Asp Gln Phe Lys Ser Ala Val Lys Thr	
225 230 235 240	
agc aac ccg tat att gtt acc aat ggt ggg aat cta gag tat ata tcg	768
Ser Asn Pro Tyr Ile Val Thr Asn Gly Gly Asn Leu Glu Tyr Ile Ser	
245 250 255	
acg aca gct tta aaa gag aga ttg tcg aag gaa ata aag tat gaa ccg	816
Thr Thr Ala Leu Lys Glu Arg Leu Ser Lys Glu Ile Lys Tyr Glu Pro	
260 265 270	
ttt gtt act att ttt gat aag aac caa atg tcc aca agt gcg gtg aga	864
Phe Val Thr Ile Phe Asp Lys Asn Gln Met Ser Thr Ser Ala Val Arg	
275 280 285	
cct att ccc aaa ttg ttt gag ttg ttc ggc aga cct gtt tat gat cat	912
Pro Ile Pro Lys Leu Phe Glu Leu Phe Gly Arg Pro Val Tyr Asp His	
290 295 300	
tgg aag gag aga aaa ata gaa aga aag ggc aaa acc atc cag ccc aca	960
Trp Lys Glu Arg Lys Ile Glu Arg Lys Gly Lys Thr Ile Gln Pro Thr	
305 310 315 320	

ctc aaa ttt gag gat cct aac tcg aac gaa aag gaa aac gac aat gac	1008
Leu Lys Phe Glu Asp Pro Asn Ser Asn Glu Lys Glu Asn Asp Asn Asp	
325 330 335	
cca tat ata tgt ttc aga cga cgt gag ttt agg caa gca aga aag acg	1056
Pro Tyr Ile Cys Phe Arg Arg Arg Glu Phe Arg Gln Ala Arg Lys Thr	
340 345 350	
aga aga gcc gat aca att ggt gca gag aga ata aga ctg atg caa aag	1104
Arg Arg Ala Asp Thr Ile Gly Ala Glu Arg Ile Arg Ser Met Gln Lys	
355 360 365	
tcg ttg cac cgc gca cgt gat ttg ata atg agt gtt agt gaa aga gag	1152
Ser Leu His Arg Ala Arg Asp Leu Ile Met Ser Val Ser Glu Arg Glu	
370 375 380	
atc ctc aaa ctc gac aat ttt caa gca gag cat gaa ttg ttt aaa gcc	1200
Ile Leu Lys Leu Asp Asn Phe Gln Ala Glu His Glu Leu Phe Lys Ala	
385 390 395 400	
agg tgc gct acc aag gct tgt aag agg gag ctc aat atc aag ggt gac	1248
Arg Cys Ala Thr Lys Ala Cys Lys Arg Glu Leu Asn Ile Lys Gly Asp	
405 410 415	
gaa tac ttg ttc ttt ccg cat aaa aag aag aaa att gtt cgt act gaa	1296
Glu Tyr Leu Phe Phe Pro His Lys Lys Lys Lys Ile Val Arg Thr Glu	
420 425 430	
gat gaa gaa agg gag aag aag aga gaa aag aag aag caa gac caa gaa	1344
Asp Glu Glu Arg Glu Lys Lys Arg Glu Lys Lys Lys Gln Asp Gln Glu	
435 440 445	
ctt gca ctc aag caa caa caa gca cta cag caa cag cag caa caa cca	1392
Leu Ala Leu Lys Gln Gln Gln Ala Leu Gln Gln Gln Gln Gln Pro	
450 455 460	

cca caa cca cca caa caa gca cca tca aaa caa gat ggt aca tca acg 1440
 Pro Gln Pro Pro Gln Gln Ala Pro Ser Lys Gln Asp Gly Thr Ser Thr
 465 470 475 480

agc cag cct tat gtc aaa ctc cca ccc gca aaa gtt cca gat atg gat 1488
 Ser Gln Pro Tyr Val Lys Leu Pro Pro Ala Lys Val Pro Asp Met Asp
 485 490 495

ctt gtt aca gtt tcg ttg gta tta aag gaa aag aac gaa acc atc aaa 1536
 Leu Val Thr Val Ser Leu Val Leu Lys Glu Lys Asn Glu Thr Ile Lys
 500 505 510

cgt gct gtg ttg gag aaa ttg cgc aag aga aag gaa cac gac aag gga 1584
 Arg Ala Val Leu Glu Lys Leu Arg Lys Arg Lys Glu His Asp Lys Gly
 515 520 525

ttt atc aat ttg aca gac gat ccg tat cag cca ttt ttc gat att tca 1632
 Phe Ile Asn Leu Thr Asp Asp Pro Tyr Gln Pro Phe Phe Asp Ile Ser
 530 535 540

acc aat agg gcc gaa gag ttg agc cat att ccg tat tcg tcg att gcg 1680
 Thr Asn Arg Ala Glu Glu Leu Ser His Ile Pro Tyr Ser Ser Ile Ala
 545 550 555 560

gcc aca cac tat cac caa ttc aac aca tcg aac tac atg aac gac caa 1728
 Ala Thr His Tyr His Gln Phe Asn Thr Ser Asn Tyr Met Asn Asp Gln
 565 570 575

ctt aaa aag cta ctt gaa gag aaa aaa cct tta cct ggt gta aaa acg 1776
 Leu Lys Lys Leu Leu Glu Glu Lys Lys Pro Leu Pro Gly Val Lys Thr
 580 585 590

ttt ttg ggt tct aac ggg gag ttg gta cca tcg aag gca ttt cca cat 1824
 Phe Leu Gly Ser Asn Gly Glu Leu Val Pro Ser Lys Ala Phe Pro His
 595 600 605

ttg ctg tcg ttg ctt gag gaa aag tat aag gcg aca agt ggg tat att	1872
Leu Ser Ser Leu Leu Glu Glu Lys Tyr Lys Ala Thr Ser Gly Tyr Ile	
610 615 620	
gaa cga tta ttg caa agc gtg gag acg caa gat ttt agt tca tac acc	1920
Glu Arg Leu Leu Gln Ser Val Glu Thr Gln Asp Phe Ser Ser Tyr Thr	
625 630 635 640	
aat ggc ttt aaa gat gtt gag cca aaa gaa aca aat gaa cct gtt atg	1968
Asn Gly Phe Lys Asp Val Glu Pro Lys Glu Thr Asn Glu Pro Val Met	
645 650 655	
gcg ttt ccc cag aga ata cgt cga aga gtg ggc agg gct ggc agg gtt	2016
Ala Phe Pro Gln Arg Ile Arg Arg Arg Val Gly Arg Ala Gly Arg Val	
660 665 670	
ttt ttg gac cac cag caa gag tac ccg caa ccg aat ttt cag caa gac	2064
Phe Leu Asp His Gln Gln Glu Tyr Pro Gln Pro Asn Phe Gln Gln Asp	
675 680 685	
aca gat cgt gtg gga ggt atc cca gat gtg tat tgt aaa gag gat gcc	2112
Thr Asp Arg Val Gly Gly Ile Pro Asp Val Tyr Cys Lys Glu Asp Ala	
690 695 700	
att aaa cga tta cag tca aag tgg aag ttc gat aca gaa tat aaa aca	2160
Ile Lys Arg Leu Gln Ser Lys Trp Lys Phe Asp Thr Glu Tyr Lys Thr	
705 710 715 720	
act gaa cca ttt agt ttg gat cct tca aag ttg aat ggt att agt cca	2208
Thr Glu Pro Phe Ser Leu Asp Pro Ser Lys Leu Asn Gly Ile Ser Pro	
725 730 735	
tct acg caa tcg att aga ttt ggg tct atg ttg ttg aat aga aca cgt	2256
Ser Thr Gln Ser Ile Arg Phe Gly Ser Met Leu Leu Asn Arg Thr Arg	
740 745 750	
aaa tag	2262
Lys	

<210> 10

<211> 754

<212>

<213> Candida albicans

<400> 10

Met Ala Ala Ala Pro Pro Pro Pro Ala Lys Asn Gln Gly Lys Ala Lys

1 5 10 15

Gln His Val Thr Gly Ala Arg Phe Arg Gln Arg Lys Ile Ser Val Lys

20 25 30

Gln Pro Leu Thr Ile Tyr Lys Gln Arg Asp Leu Pro Thr Leu Asp Ser

35 40 45

Asn Glu Leu Glu Pro Ser Gln Val His His Leu Asn Ser Asn Ala Ser

50 55 60

Ser Ser Ser Thr Gln Gln Pro Arg Asp Leu His Ala Val Glu Thr Gly

65 70 75 80

Val Asp Lys Asn Glu Glu Glu Glu Val His Leu Gln Gln Val Ile Asn

85 90 95

Ala Ala Gln Lys Ala Leu Leu Gly Ser Lys Lys Glu Glu Lys Ser Ser

100 105 110

Asp Met Tyr Ile Pro Thr Pro Asp Ala Ser Arg Ile Trp Pro Glu Ala

115 120 125

His Lys Tyr Tyr Lys Asp Gln Lys Phe Lys Gln Pro Glu Thr Tyr Ile

130 135 140

Lys Phe Ser Ala Thr Val Glu Asp Thr Val Gly Val Glu Tyr Asn Met

145 150 155 160

Asp	Glu	Val	Asp	Glu	Lys	Phe	Tyr	Arg	Glu	Thr	Leu	Cys	Lys	Tyr	Tyr
				165					170					175	
Pro	Lys	Lys	Lys	Asn	Lys	Ser	Asp	Glu	Asn	Asn	Arg	Lys	Cys	Thr	Glu
				180				185					190		
Leu	Glu	Phe	Glu	Thr	Ile	Cys	Asp	Lys	Leu	Glu	Lys	Thr	Ile	Glu	Ala
			195				200						205		
Arg	Gln	Pro	Phe	Leu	Ser	Met	Asp	Pro	Ser	Asn	Ile	Leu	Ser	Tyr	Glu
	210						215					220			
Glu	Leu	Ser	Ser	Tyr	Ile	Val	Asp	Gln	Phe	Lys	Ser	Ala	Val	Lys	Thr
225					230					235				240	
Ser	Asn	Pro	Tyr	Ile	Val	Thr	Asn	Gly	Gly	Asn	Leu	Glu	Tyr	Ile	Ser
				245					250					255	
Thr	Thr	Ala	Leu	Lys	Glu	Arg	Leu	Ser	Lys	Glu	Ile	Lys	Tyr	Glu	Pro
			260					265						270	
Phe	Val	Thr	Ile	Phe	Asp	Lys	Asn	Gln	Met	Ser	Thr	Ser	Ala	Val	Arg
			275					280						285	
Pro	Ile	Pro	Lys	Leu	Phe	Glu	Leu	Phe	Gly	Arg	Pro	Val	Tyr	Asp	His
	290						295						300		
Trp	Lys	Glu	Arg	Lys	Ile	Glu	Arg	Lys	Gly	Lys	Thr	Ile	Gln	Pro	Thr
305					310					315				320	
Leu	Lys	Phe	Glu	Asp	Pro	Asn	Ser	Asn	Glu	Lys	Glu	Asn	Asp	Asn	Asp
					325					330				335	
Pro	Tyr	Ile	Cys	Phe	Arg	Arg	Arg	Glu	Phe	Arg	Gln	Ala	Arg	Lys	Thr
					340					345				350	
Arg	Arg	Ala	Asp	Thr	Ile	Gly	Ala	Glu	Arg	Ile	Arg	Ser	Met	Gln	Lys
					355				360					365	

Ser Leu His Arg Ala Arg Asp Leu Ile Met Ser Val Ser Glu Arg Glu
 370 375 380

Ile Leu Lys Leu Asp Asn Phe Gln Ala Glu His Glu Leu Phe Lys Ala
 385 390 395 400

Arg Cys Ala Thr Lys Ala Cys Lys Arg Glu Leu Asn Ile Lys Gly Asp
 405 410 415

Glu Tyr Leu Phe Phe Pro His Lys Lys Lys Lys Ile Val Arg Thr Glu
 420 425 430

Asp Glu Glu Arg Glu Lys Lys Arg Glu Lys Lys Lys Gln Asp Gln Glu
 435 440 445

Leu Ala Leu Lys Gln Gln Gln Ala Leu Gln Gln Gln Gln Gln Gln Pro
 450 455 460

Pro Gln Pro Pro Gln Gln Ala Pro Ser Lys Gln Asp Gly Thr Ser Thr
 465 470 475 480

Ser Gln Pro Tyr Val Lys Leu Pro Pro Ala Lys Val Pro Asp Met Asp
 485 490 495

Leu Val Thr Val Ser Leu Val Leu Lys Glu Lys Asn Glu Thr Ile Lys
 500 505 510

Arg Ala Val Leu Glu Lys Leu Arg Lys Arg Lys Glu His Asp Lys Gly
 515 520 525

Phe Ile Asn Leu Thr Asp Asp Pro Tyr Gln Pro Phe Phe Asp Ile Ser
 530 535 540

Thr Asn Arg Ala Glu Glu Leu Ser His Ile Pro Tyr Ser Ser Ile Ala
 545 550 555 560

Ala Thr His Tyr His Gln Phe Asn Thr Ser Asn Tyr Met Asn Asp Gln
565 570 575

Leu Lys Lys Leu Leu Glu Glu Lys Lys Pro Leu Pro Gly Val Lys Thr
580 585 590

Phe Leu Gly Ser Asn Gly Glu Leu Val Pro Ser Lys Ala Phe Pro His
595 600 605

Leu Ser Ser Leu Leu Glu Glu Lys Tyr Lys Ala Thr Ser Gly Tyr Ile
610 615 620

Glu Arg Leu Leu Gln Ser Val Glu Thr Gln Asp Phe Ser Ser Tyr Thr
625 630 635 640

Asn Gly Phe Lys Asp Val Glu Pro Lys Glu Thr Asn Glu Pro Val Met
645 650 655

Ala Phe Pro Gln Arg Ile Arg Arg Arg Val Gly Arg Ala Gly Arg Val
660 665 670

Phe Leu Asp His Gln Gln Glu Tyr Pro Gln Pro Asn Phe Gln Gln Asp
675 680 685

Thr Asp Arg Val Gly Gly Ile Pro Asp Val Tyr Cys Lys Glu Asp Ala
690 695 700

Ile Lys Arg Leu Gln Ser Lys Trp Lys Phe Asp Thr Glu Tyr Lys Thr
705 710 715 720

Thr Glu Pro Phe Ser Leu Asp Pro Ser Lys Leu Asn Gly Ile Ser Pro
725 730 735

Ser Thr Gln Ser Ile Arg Phe Gly Ser Met Leu Leu Asn Arg Thr Arg
740 745 750

Lys

<210> 11
 <211> 447
 <212> ADN
 <213> *Candida albicans*

<220>
 <221> CDS
 <222> (1)..(447)

<400> 11
 atg tca gat ata gat ata gat aat gta tta aat tta gaa gaa gaa caa 48
 Met Ser Asp Ile Asp Ile Asp Asn Val Leu Asn Leu Glu Glu Glu Gln
 1 5 10 15

 tat gaa tta gga ttt aaa gaa ggt caa ata caa gga aca aaa gat caa 96
 Tyr Glu Leu Gly Phe Lys Glu Gly Gln Ile Gln Gly Thr Lys Asp Gln
 20 25 30

 tat tta gaa gga aaa gaa tat ggt tat caa act gga ttt caa cga ttt 144
 Tyr Leu Glu Gly Lys Glu Tyr Gly Tyr Gln Thr Gly Phe Gln Arg Phe
 35 40 45

 tta atc att ggt tat att caa gaa tta atg aaa ttt tgg tta tcc cat 192
 Leu Ile Ile Gly Tyr Ile Gln Glu Leu Met Lys Phe Trp Leu Ser His
 50 55 60

 ata gat caa tat aat aac tct tct tca ctt cgg aat cat ttg aat aat 240
 Ile Asp Gln Tyr Asn Asn Ser Ser Ser Leu Arg Asn His Leu Asn Asn
 65 70 75 80

 ttg gaa gat att atg gca caa att tct ata acg aat gga gat aaa gaa 288
 Leu Glu Asp Ile Met Ala Gln Ile Ser Ile Thr Asn Gly Asp Lys Glu
 85 90 95

 gtt gaa gat tat gaa aaa aat att aaa aag gca aga aat aaa tta aga 336
 Val Glu Asp Tyr Glu Lys Asn Ile Lys Lys Ala Arg Asn Lys Leu Arg
 100 105 110

Val Glu Asp Tyr Glu Lys Asn Ile Lys Lys Ala Arg Asn Lys Leu Arg
 100 105 110

Val Ile Ala Ser Ile Thr Lys Glu Thr Trp Lys Ile Asp Ser Leu Asp
 115 120 125

Asn Leu Val Lys Glu Val Gly Gly Thr Leu Gln Val Ser Glu Asn Pro
 130 135 140

Asp Asp Met Trp
 145

<210> 13

<211> 966

<212> ADN

<213> Candida albicans

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(966)

<400> 13

atg ggt aaa aga aga gta gat gaa gaa tct gat tca gat att gat gtt 48
 Met Gly Lys Arg Arg Val Asp Glu Glu Ser Asp Ser Asp Ile Asp Val
 1 5 10 15

agt tca acc gat tca gaa act gaa tta gaa agc aca caa caa caa caa 96
 Ser Ser Thr Asp Ser Glu Thr Glu Leu Glu Ser Thr Gln Gln Gln Gln
 20 25 30

caa caa caa gaa ggt gct act aca att caa gaa act gtt gat gtt gat 144
 Gln Gln Gln Glu Gly Ala Thr Thr Ile Gln Glu Thr Val Asp Val Asp
 35 40 45

ttt gat ttt ttt gat tta aat cct caa att gat ttc cat gct act aag 192
 Phe Asp Phe Phe Asp Leu Asn Pro Gln Ile Asp Phe His Ala Thr Lys
 50 55 60

tca aga gtt tat caa tta gtt gat cca gtg gaa aga gaa gat gaa gat	672
Ser Arg Val Tyr Gln Leu Val Asp Pro Val Glu Arg Glu Asp Glu Asp	
210 215 220	
cac gaa aaa gaa tcc aat cgt aaa aag aag aac aag aat aag aag aag	720
His Glu Lys Glu Ser Asn Arg Lys Lys Lys Asn Lys Asn Lys Lys Lys	
225 230 235 240	
aaa ttg gct aat aat gaa cca aaa cca ata gaa atg gat tat ttc cat	768
Lys Leu Ala Asn Asn Glu Pro Lys Pro Ile Glu Met Asp Tyr Phe His	
245 250 255	
ctt gaa gat caa att ttg gaa tca aat act caa ttt aaa gga ata ttt	816
Leu Glu Asp Gln Ile Leu Glu Ser Asn Thr Gln Phe Lys Gly Ile Phe	
260 265 270	
gaa tat aat aat gaa aat aaa caa gaa aca gat tca aga aga gta ttt	864
Glu Tyr Asn Asn Glu Asn Lys Gln Glu Thr Asp Ser Arg Arg Val Phe	
275 280 285	
act gaa tat ggt att gat cct aaa tta agt tta atc tta att gat aaa	912
Thr Glu Tyr Gly Ile Asp Pro Lys Leu Ser Leu Ile Leu Ile Asp Lys	
290 295 300	
gat aat tta gct aaa tca gtc att gaa atg gaa caa caa ttc cca cct	960
Asp Asn Leu Ala Lys Ser Val Ile Glu Met Glu Gln Gln Phe Pro Pro	
305 310 315 320	
cca taa	966
Pro	

<210> 14

<211> 322

<212>

<213> Candida albicans

<400> 14

Met Gly Lys Arg Arg Val Asp Glu Glu Ser Asp Ser Asp Ile Asp Val
 1 5 10 15

 Ser Ser Thr Asp Ser Glu Thr Glu Leu Glu Ser Thr Gln Gln Gln Gln
 20 25 30

 Gln Gln Gln Glu Gly Ala Thr Thr Ile Gln Glu Thr Val Asp Val Asp
 35 40 45

 Phe Asp Phe Phe Asp Leu Asn Pro Gln Ile Asp Phe His Ala Thr Lys
 50 55 60

 Asn Phe Leu Arg Gln Leu Phe Gly Asp Asp Asn Gly Glu Phe Asn Leu
 65 70 75 80

 Ser Glu Ile Ala Asp Leu Ile Leu Arg Glu Asn Ser Val Gly Thr Ser
 85 90 95

 Ile Lys Thr Glu Gly Met Glu Ser Asp Pro Phe Ala Ile Leu Ser Val
 100 105 110

 Ile Asn Leu Thr Asn Asn Leu Asn Val Ala Val Ile Lys Gln Leu Ile
 115 120 125

 Glu Tyr Ile Ser Asn Lys Thr Lys Ser Lys Thr Glu Phe Asn Ile Ile
 130 135 140

 Leu Lys Lys Leu Leu Thr Asn Gln Asn Asp Thr Thr Arg Asp Arg Lys
 145 150 155 160

 Phe Lys Thr Gly Leu Ile Ile Ser Glu Arg Phe Ile Asn Met Pro Val
 165 170 175

 Glu Val Ile Pro Pro Met Tyr Lys Met Leu Leu Gln Glu Met Glu Lys
 180 185 190

Ala Glu Asp Ala His Glu Asn Tyr Glu Phe Asp Tyr Phe Leu Ile Ile
 195 200 205

Ser Arg Val Tyr Gln Leu Val Asp Pro Val Glu Arg Glu Asp Glu Asp
 210 215 220

His Glu Lys Glu Ser Asn Arg Lys Lys Lys Asn Lys Asn Lys Lys Lys
 225 230 235 240

Lys Leu Ala Asn Asn Glu Pro Lys Pro Ile Glu Met Asp Tyr Phe His
 245 250 255

Leu Glu Asp Gln Ile Leu Glu Ser Asn Thr Gln Phe Lys Gly Ile Phe
 260 265 270

Glu Tyr Asn Asn Glu Asn Lys Gln Glu Thr Asp Ser Arg Arg Val Phe
 275 280 285

Thr Glu Tyr Gly Ile Asp Pro Lys Leu Ser Leu Ile Leu Ile Asp Lys
 290 295 300

Asp Asn Leu Ala Lys Ser Val Ile Glu Met Glu Gln Gln Phe Pro Pro
 305 310 315 320

Pro

<210> 15

<211> 320

<212> ADN

<213> Candida albicans

<400> 15

caatttattc atggctccgtt ctggaaattg atttttggta aaactgctaa tgaattagaa 60

aaatcgcaag atttgcccaa tgaatatatg attgtggaga atgtgccatt attaaataga 120

tttattagta tacctaagga gtatggcgac ttaaattggt cagcatttgt tgcgggtata 180

attgagggag cacttgataa tagtggatcc aatgcgatg ttacagcaca cacggtcgct 240

acagatgcaa atccattaag aacagtattt ttgatcaagt ttgacgatcc tgttttaatt 300

agagagagtt tgagatttgg 320

<210> 16

<211> 295

<212> ADN

<213> Candida albicans

<400> 16

gttcatgttt ggtgactcag agcgtctcaa ctatattggt cgattatata tacgaactcg 60

attgagtaag ttgaataaat ttactatttt ttacatcaat gaaagcagtc aaaatgataa 120

tttattgtcc aaagaggaaa gagattatat acacaaatat ttccagattt tgactcaatt 180

atataacaac tgtttcctca aaaaactacc acaaagtgtg acctatttgg atgacaccag 240

tggtggacaa tcaatgatcg ttgagccaga tttagaccag cctgtgttta tcaaa 295

<210> 17

<211> 392

<212> ADN

<213> Candida albicans

<400> 17

atctctgata tgagatttgg ctttaaaggc gatttaattg aattggctcc agtgggagat 60

gcacccaaaag atagttcatc cgacatacgt actcatatgg gactocatca tcattcggag 120

acccacata tggcagggtta tacattgggt gagttggccc atttagccag atcgacttta 180

gctggacaaa gatgcttgag cattcaaaca ttagggagaa tcttccataa attgggatta 240
 cataaatata gtatactacc aaaccagctc aatgatcaga gttttacaga tgaatcaaaa 300
 ctatcacttg actttgaaga tagatgtggg acttgataga ccaattacga atcattgaaa 360
 caataacaga ggcagctgat ggaaaaaaga cc 392

<210> 18
 <211> 335
 <212> ADN
 <213> Candida albicans

<400> 18
 attccacac cggacgcttc gaggatatgg cccgaggcac acaagtatta caaggatcaa 60
 aagttcaagc agccagagac atatatcaag tttagtgcga cagtagagga cacagtgggt 120
 gtggagtaca atatggacga ggtagatgaa aagttttata gagagacact atgcaagtac 180
 tatcccaaaa agaaaaaaa gtcagatgag aacaatcgaa agtgtactga attggagttt 240
 gaaacaatct gtgacaagtt ggaaaagacc attgaagcac gacaaccgtt tttgtctatg 300
 gaccccagca acattotatc gtacgaggag ttgtc 335

<210> 19
 <211> 326
 <212> ADN
 <213> Candida albicans

<400> 19
 agatatagat aatgtattaa atttagaaga agatcaatat gaattaggat ttaaagaagg 60
 tcaaatataa ggaacaaaag atcaatattt agaaggaaaa gaatatgggt atcaaactgg 120

atttcaacga tttttaatca ttggttatat tcaagaatta atgaaatfff ggttatccca 180
 tatagatcaa tataataact cttcttcact tcggaatcat ttgaataatt tggagatat 240
 tatggcacia atttctataa cgaatggaga taaagaagtt gaagattatg aaaaaaatat 300
 taaaaaggca agaataaat taagag 326

<210> 20
 <211> 374
 <212> ADN
 <213> Candida albicans

<400> 20
 cctcaaattg atttccatgc tactaagaat ttttaagaca ttatttggtg atgataatgg 60
 agaatttaat ttaagtgaat tagccgattt aattttacga gaaaattccg tggggacatc 120
 aattaaaact gaaggaatgg aaagtgatcc atttgcaatt ttaagtgtat ttaatttaac 180
 taataattta aatgtggccg tgattaaaca attgattgaa tatattttta ataaaaccaa 240
 atctaaaact gaattcaata ttattttgaa aaaattgtta accaatcaga acgatactac 300
 tagagatagg aaatttaaaa ctggattaat aattagttaa agatttataa atatgccagt 360
 tgaagtgatt ccac 374

<210> 21
 <211> 35
 <212> ADN
 <213> Candida albicans

<400> 21
 caatttatcc atgttcgnat ctggaaattg atfff 35

<210> 22

<211> 29

<212> ADN

<213> Candida albicans

<400> 22

ccaaatctca aactctctct aattaaaac

29

<210> 23

<211> 38

<212> ADN

<213> Candida albicans

<400> 23

gttcatgttt ggtgactcag agcgtctcaa ctatattg

38

<210> 24

<211> 33

<212> ADN

<213> Candida albicans

<400> 24

tttgataaac acaggctggt ctaaactctgg ctc

33

<210> 25

<211> 32

<212> ADN

<213> Candida albicans

<400> 25

atctctgata tgagatttgg ctttaaaggc ga

32

<210> 26

<211> 32

<212> ADN

<213> *Candida albicans*

<400> 26

ggtctttttt ccatcagctg cctctgttat tg

32

<210> 27

<211> 20

<212> ADN

<213> *Candida albicans*

<400> 27

attcccacac cggacgcttc

20

<210> 28

<211> 20

<212> ADN

<213> *Candida albicans*

<400> 28

gacaactcct cgtacgatag

20

<210> 29

<211> 20

<212> ADN

<213> *Candida albicans*

<400> 29

agataatgta ttaaatttag

20

<210> 30

<211> 20

<212> ADN

<213> *Candida albicans*

<400> 30	
ctcttaattt atttcttgcc	20
<210> 31	
<211> 20	
<212> ADN	
<213> Candida albicans	
<400> 31	
cctcaaattg atttccatgc	20
<210> 32	
<211> 20	
<212> ADN	
<213> Candida albicans	
<400> 32	
gtggaatcac ttcaactggc	20

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の一つの調製のために用いたプローブに由来するタンパク質の、カンジダ・アルビカンスのこの遺伝子の調製の出発点として採ったS . c . の遺伝子由来のタンパク質の配列との比較を記載した図である。

【図2】

本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の一つの調製のために用いたプローブに由来するタンパク質の、カンジダ・アルビカンスのこの遺伝子の調製の出発点として採ったS . c . の遺伝子由来のタンパク質の配列との比較を記載した図である。

【図3】

本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の一つの調製のために用いたプローブに由来するタンパク質の、カンジダ・アルビカンスのこの遺伝子の調製の出発点として採ったS . c . の遺伝子由来のタンパク質の配列との比較を記載した図である。

【図4】

本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の一つの調製のために用いたプローブに由来するタンパク質の、カンジダ・アルビカンスのこの遺伝子の調製の出発点として採ったS.c.の遺伝子由来のタンパク質の配列との比較を記載した図である。

【図5】

本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の一つの調製のために用いたプローブに由来するタンパク質の、カンジダ・アルビカンスのこの遺伝子の調製の出発点として採ったS.c.の遺伝子由来のタンパク質の配列との比較を記載した図である。

【図6】

本発明のカンジダ・アルビカンスの遺伝子の一つの調製のために用いたプローブに由来するタンパク質の、カンジダ・アルビカンスのこの遺伝子の調製の出発点として採ったS.c.の遺伝子由来のタンパク質の配列との比較を記載した図である。

【図1】

CaDR472w x YDR472w プローブ比較翻訳：

```

      . . . . .
1  .....QFIHVRIWKLIFGKTXIELX 20
      ||| | :| :| :|
151 NERLQEKQTESLSNYITKMRRRDLKILDILQFIHGTLWSYLFNHVSDDLV 200

      . . . . .
21 NSQDLPMEYMIVENVPLLNRFISIPKEYGDLNCSAFVAGIIEGALDNSGF 70
      | : |||||:| | | .| || | ...| || |||. | | |. ||
201 KSSERDNEYMIVDNFPTLTQF..IPGE..NVSCEYFVCGIIKGFLEFNAGF 246

      . . . . .
71 NADVTAHTVATDANPLRTVFLIKFDDSVLIRESLRF.. 106
      |||| . . |||:| |. || || || |||
247 PCGVTAHRMPQGGHSQRTVYLIQFDRQVLDREGLRFG* 284

```

【図2】

CaDR489 x YDR489w プローブ比較翻訳：

```

      . . . . .
1  . . . . .FMFGDSERLNYIVRLYIRTRLSK 23
      | : ||| ::| ||| |||
101 ISMGFLDMQNASNANPPMPNESKLP LLCMETELERLKFVIRSYIRCRLSK 150
      . . . . .
24 LNKFTIFYINESSQNDN . . . . .LLSKEERDYIHKYFQILTQLYNNCF 66
      :. |||. : | : : . : :|      ||| :| | : | . | | . |
151 IDKFSL.YLRQLNEDENSLISLTDLLSKDEIKYHDTHSLIWLKLVNDSIL 199
      . . . . .
67 KKLPMQLTYLDDTSGGQSMIVEPDLQPVFIK . . . . . 98
      | : | : | : . || | . || ||| .. |||
200 KYMPEELQAINDEGSVNMIDEPDWNKFVFIHVNGPPDGKWNEDPLLQEN 249

```

【図3】

CaDR527 x YDR527w プローブ比較翻訳：

```

      . . . . .
1  . . . . .ISDMRFGFKGDLIE 14
      :| : || | ||| :
251 DKLHEKYFPDLPKEVDKWKWMQPVQQKTDKNYIIEDVSECRFDENGDLV : 299
      . . . . .
15 LAPVGDAPKDSSSDIRTHMGLHHHSETPHMAGYTLGELAEHLARSTLAGQR 64
      | | | | ||||| : . | : ||| : || ||||| ||
300 . . . . .PPTRQIDSTIHSGLHHHS DSPELAGYTIVELEHLARSTFPSQR 342
      . . . . .
65 CLSIQTLGRIFHKLGLHKYSILPNQLNDQSFTDESKLSLDFEDRCGT**T 114
      | : . ||||| : ||| | | : : . : : : | . | : .
343 CIAIQTLGRILYKLGQKSYYQLVPEIDADTYKEDGSIS.NVMDKIYSMF. 390
      . . . . .
115 NYESLKQ*QRQLMEKR . . . . . 130
      : : : | . . . |
391 .WDLIKDG..KVIESLEISSDEKFTRNLSVRNYAIDALWLWKQGGGFRT 437

```

【図4】

CaFL024 x YFL024c プローブ比較翻訳：

```

      . . . . .
1  . . . . . IPTPDASRIWPEAHKYYKDQKFKQPETYIK 30
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
101 EVHLHRILQMGSHTKHKDYIPTPDASMTWNEYDKFYTG.SFQETTSYIK 149

      . . . . .
31 FSATVEDTVGVEYNMDEVDEKIFYRETLCKYYPKKKNKSDENNRKCTELEF 80
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
150 FSATVEDCCGTNYNMDERDETFLNEQV.....NKGSSD....ILTEDEF 189

      . . . . .
81 ETICDKLEKTIEARQPFLSMDPSNILSYEEL..... 111
      | :| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
190 EILCSSFEHAIHERQPFLSMDPESILSFEELKPTLIKSDMADFNLRNQLN 239

```

【図5】

CaNL260c.x YNL260c. プローブ比較翻訳：

```

      . . . . .
1  . . . . . DIDNVLNLEEDQY 13
      | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
1 MVRNRFIRKMKKNLFKSNHLSYLKSKWKVKITGQIKMDFDNLNLEEQYY 50

      . . . . .
14 ELGFKEGQIQGTKDOYLEGKEYGYQTGFQRFLLIIGYIQELMKFWLSHIDQ 63
      : | | | | : | : | | | | : | | | | : | : | | | | : |
51 QEGFLEGQENIKQSFLEGKQYGLQVGFQRFLLGQMEGLCDV....IBS 96

      . . . . .
64 YN.NSSSLRNHLNLEDIMAQISITNGDKEVEDYEKNIKKARNKLR.... 108
      | . | . | . : . : : | : . | | . | : : | : : | : | | |
97 YGLHSPTLEKNIHTIRTLMKGLKMNNDDESVMFEFERVLIKLNKFKRTILI 146

```

【図6】

CaDR361 x YDR361c プローブ比較翻訳：

```

      . . . . .
1  . . . . .LKLISMLLRIFKTLFG.DDNGEFNLSEIADLILRENS 36
      : |||   ||| :.  || :|||| |
51 IDFDFFGGNPEVDFHALKNLLR...QLFGPQESTRIQLSSLADLIL..GS 95
      . . . . .
37 VGTSIKTEGMESDPFAILSVINLTNNLNVAVIKQLIEYILNKT KSKTEFN 86
      |.||||:| ||||: || :. |   | :|: |   .
96 PTTTIKTDGKESDPYCFLSFVDFKAN.....HLSDYVKYLQKVDMLRS 138
      . . . . .
87 IILKLLLTNQNDTTRDRKFKTGLIISERFINMPVEVIP..... 124
      | :. . |   | :||| ||| ||:|
139 TFFKTMIDSGNK.....NCALVLSERLINMPPEVVPPLYKITLEDVAT 181

```

【國際調查報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No. PCT/FR 00/01567		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12N15/11 C07K14/40 C12Q1/18 C12Q1/68 A61K39/00 C07K16/14		
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) IPC 7 C07K C12N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, MEDLINE, CHEM ABS Data, BIOSIS, STRAND, EMBL		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ALFONSO MENDOZA ET AL.: "Translation elongation factor 2 is encoded by a single essential gene in Candida albicans" GENE, vol. 229, no. 1-2, 18 March 1999 [1999-03-18], pages 183-191, XP004161173 AMSTERDAM NL abstract -----	1-18,20, 23-27
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents:		
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance		"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
"E" earlier document but published on or after the international filing date		"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
"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)		"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.
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means		"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed		
Date of the actual completion of the international search 30 November 2000		Date of mailing of the international search report 08.12.00
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 851 epo.nl. Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Montero Lopez, B

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ER 00/01567

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

See supplemental sheet INFORMATION FOLLOW-UP PCT/ISA/210

3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See supplemental sheet
After review as per PCT Rule 40.2(e), no additional fee to be refunded.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 00/01567

The International Preliminary Searching Authority found several (groups of) inventions in the international application, namely:

1. Claims: 1-27 (partly)

Polynucleotide comprising the sequence SEQ ID NO:1, analogues and fragments thereof; transformed vectors and host cells and their use for producing the polypeptide; plasmid I-2214 containing the polynucleotide; polypeptide of sequence SEQ ID NO:2 pCaDR472, analogues and fragments thereof; use in a method for screening antifungal products as well as use of resulting products; antibody against the polypeptide; use of the polynucleotide, of the polypeptide and of the antibody in diagnostic and therapeutic method; kit for diagnosis of fungal infections

2. Claims: 1-27 (partly)

Polynucleotide comprising the sequence SEQ ID NO:3, analogues and fragments thereof; transformed vectors and host cells and their use for producing the polypeptide; plasmid I-2215 containing the polynucleotide; polypeptide of sequence SEQ ID NO:4 pCaDR489, analogues and fragments thereof; use in a method for screening antifungal products as well as use of resulting products; antibody against the polypeptide; use of the polynucleotide, of the polypeptide and of the antibody in diagnostic and therapeutic method; kit for diagnosis of fungal infections

3. Claims: 1-27 (partly)

Polynucleotide comprising the sequence SEQ ID NO:5 or 7, analogues and fragments thereof; transformed vectors and host cells and their use for producing the polypeptide; plasmids I-2216 and I-2217 containing the polynucleotide; polypeptide of sequence SEQ ID NO:6 (1pCaDR527) or 8 (2pCaDR527), analogues and fragments thereof; use in a method for screening antifungal products as well as use of resulting products; antibody against the polypeptide; use of the polynucleotide, of the polypeptide and of the antibody in diagnostic and therapeutic method; kit for diagnosis of fungal infections

4. Claims: 1-27 (partly)

Polynucleotide comprising the sequence SEQ ID NO:9, analogues and fragments thereof; transformed vectors and host cells and their use for producing the polypeptide; plasmid I-2211 containing the polynucleotide; polypeptide of sequence SEQ ID NO:10 pCaFL024, analogues and fragments thereof; use in a method for screening antifungal products as well as use of resulting products; antibody against the polypeptide; use of the polynucleotide, of the polypeptide and of the antibody in diagnostic and therapeutic method; kit for diagnosis of fungal infections

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 00/01567

5. Claims: 1-27 (partly)

Polynucleotide comprising the sequence SEQ ID NO:11, analogues and fragments thereof; transformed vectors and host cells and their use for producing the polypeptide; plasmid I-2212 containing the polynucleotide; polypeptide of sequence SEQ ID NO:12 pCaNL260, analogues and fragments thereof; use in a method for screening antifungal products as well as use of resulting products; antibody against the polypeptide; use of the polynucleotide, of the polypeptide and of the antibody in diagnostic and therapeutic method; kit for diagnosis of fungal infections

6. Claims: 1-27 (partly)

Polynucleotide comprising the sequence SEQ ID NO:13, analogues and fragments thereof; transformed vectors and host cells and their use for producing the polypeptide; plasmid I-2213 containing the polynucleotide; polypeptide of sequence SEQ ID NO:14 pCaDR361, analogues and fragments thereof; use in a method for screening antifungal products as well as use of resulting products; antibody against the polypeptide; use of the polynucleotide, of the polypeptide and of the antibody in diagnostic and therapeutic method; kit for diagnosis of fungal infections

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR 00/01567

Continuation of Box I.2

Claims nos.: 19, 21, 22

Claims 19, 21 and 22 of the present application concern a product defined by reference to a desirable characteristic or property, namely having an inhibiting effect on *Candida albicans* proteins. The claims cover all the products exhibiting said characteristic or property, whereas the application does not provide a support basis as defined by PCT Article 6 and/or a disclosure as defined by PCT Article 5 for any specific example of such products. In the present case, the claims are lacking in support basis and the application is lacking in disclosure to such an extent that it is not possible to carry out any meaningful search on the whole spectrum covered by the claims. Notwithstanding the reasons mentioned above, the claims also lack clarity. Indeed, there has been an attempt to define the product by the result to be achieved. Said lack of clarity, in the present case, is likewise such that it is not possible to carry out any meaningful search on the whole spectrum covered. Consequently, no search has been carried out for Claims 19, 21 and 22.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, concerning inventions in respect of which no search report has been established need not be the subject of a preliminary examination report (PCT Rule 66.1(e)). The applicant is advised that the line of conduct adopted by the EPO acting in its capacity as International Preliminary Examining Authority is not to proceed with an examination of a subject matter in respect of which no search has been carried out. This attitude will remain unchanged, notwithstanding whether the claims have been modified or not, either after the search report has been received, or during any procedure under Chapter II.

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)	
C 0 7 K	14/40	C 0 7 K	16/14	4 C 0 8 5
	16/14	C 1 2 N	1/19	4 H 0 4 5
C 1 2 N	1/19		1/21	
	1/21	C 1 2 P	21/02	C
C 1 2 P	21/02	G 0 1 N	33/15	Z
G 0 1 N	33/15		33/50	Z
	33/50		33/53	D
	33/53		33/569	A
	33/569	C 1 2 R	1:865	
//(C 1 2 N	1/19		1:19	
C 1 2 R	1:865)	C 1 2 N	15/00	Z N A A
(C 1 2 N	1/21			
C 1 2 R	1:19)			
(C 1 2 P	21/02			
C 1 2 R	1:19)			
(C 1 2 P	21/02			
C 1 2 R	1:865)			
Fターム(参考)	2G045 AA34 AA35 CB21 DA13 DA36			
	FB02 FB03			
	4B024 AA01 AA13 BA80 CA04 DA06			
	DA12 EA04 GA11 HA12			
	4B064 AG01 AG27 AG31 CA02 CA06			
	CA19 CC24 DA01 DA15			
	4B065 AA26X AA73Y AA80X AB01			
	AC14 BA02 CA24 CA44 CA46			
	4C084 AA17 MA01 NA14 ZB352			
	4C085 AA13 AA14 CC32 DD62 EE01			
	GG01			
	4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10			
	CA15 DA76 DA86 EA29 EA52			
	FA74			

专利名称(译)	新型白色念珠菌基因和由这些基因编码的蛋白质		
公开(公告)号	JP2003501084A	公开(公告)日	2003-01-14
申请号	JP2001502570	申请日	2000-06-08
[标]申请(专利权)人(译)	安万特药物公司		
申请(专利权)人(译)	安万特制药兴业ANONYME		
[标]发明人	ジャンルイ ララン コルニエ ロシエ		
发明人	ジャンルイ ララン コルニエ ロシエ		
IPC分类号	G01N33/50 A61K39/00 A61K39/395 A61K45/00 A61P31/10 C07K14/40 C07K16/14 C12N1/19 C12N1/21 C12N15/09 C12N15/31 C12P21/02 C12R1/19 C12R1/865 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/569		
CPC分类号	C07K14/40 A61K39/00		
FI分类号	A61K39/395.D A61K39/395.N A61K45/00 A61P31/10 C07K14/40 C07K16/14 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/569.A C12R1/865 C12R1/19 C12N15/00.ZNA.A		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/CB21 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA13 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/DA06 4B024/DA12 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA12 4B064/AG01 4B064/AG27 4B064/AG31 4B064/CA02 4B064/CA06 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA15 4B065/AA26X 4B065/AA73Y 4B065/AA80X 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA02 4B065/CA24 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA17 4C084/MA01 4C084/NA14 4C084/ZB352 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/CC32 4C085/DD62 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA15 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA29 4H045/EA52 4H045/FA74		
优先权	1999007250 1999-06-09 FR		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明是白色念珠菌基因的蛋白质（以下称为PcaDR472，PcaDR489，1PCaDR527、1PCaDR527，PCaFL024，PCaNL260，PCaDR361）及其类似物，以及编码该蛋白质或该蛋白质的多肽类似物的多核苷酸。（RNA，DNA），生产多肽和多核苷酸的方法，其在生产可用作抗真菌剂的蛋白质的抑制剂中的用途以及包含该抑制剂的药物组合物。。