

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7671253号
(P7671253)

(45)発行日 令和7年5月1日(2025.5.1)

(24)登録日 令和7年4月22日(2025.4.22)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	7/01 (2006.01)	C 1 2 N	7/01 Z N A
C 1 2 N	15/869 (2006.01)	C 1 2 N	15/869 Z
C 1 2 N	15/38 (2006.01)	C 1 2 N	15/38
C 1 2 N	5/078 (2010.01)	C 1 2 N	5/078
C 1 2 N	5/09 (2010.01)	C 1 2 N	5/09
請求項の数 16 (全100頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-553296(P2021-553296)	(73)特許権者	515289842
(86)(22)出願日	令和2年3月13日(2020.3.13)		リサーチ インスティテュート アット
(65)公表番号	特表2022-524379(P2022-524379 A)		ネーションワイド チルドレンズ ホスピタル
(43)公表日	令和4年5月2日(2022.5.2)		アメリカ合衆国 オハイオ 4 3 2 0 5 ,
(86)国際出願番号	PCT/US2020/022806		コロンバス, チルドレンズ ドライブ
(87)国際公開番号	WO2020/186238		7 0 0 , ルーム ダブリュー 1 7 2
(87)国際公開日	令和2年9月17日(2020.9.17)	(74)代理人	100078282
審査請求日	令和5年3月10日(2023.3.10)		弁理士 山本 秀策
(31)優先権主張番号	62/818,577	(74)代理人	100113413
(32)優先日	平成31年3月14日(2019.3.14)		弁理士 森下 夏樹
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)	(74)代理人	100181674
(31)優先権主張番号	62/932,725		弁理士 飯田 貴敏
(32)優先日	令和1年11月8日(2019.11.8)	(74)代理人	100181641
	最終頁に続く		弁理士 石川 大輔
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 強力ながん治療薬としての合胞体腫瘍溶解性単純ヘルペス変異体

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】
非天然単純ヘルペスウイルス（「HSV」）であって、
前記非天然HSVは、配列番号13によって示されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含み、がん細胞の成長または転移を阻害し、配列番号19によって示されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチドを含むHSVと比較して改善された溶解活性を有する、非天然単純ヘルペスウイルス（「HSV」）。

【請求項2】
前記HSVが、機能不全ICP34.5タンパク質をコードする遺伝子および／または機能不全ICP6タンパク質をコードする遺伝子をさらに含む、請求項1に記載の非天然HSV。

【請求項3】
前記機能不全ICP34.5タンパク質をコードする遺伝子は、
配列番号5、配列番号7、および配列番号5または7と少なくとも95%同一の配列から選択される配列を有し、かつ、配列番号5または7のいずれか1つにおけるヌクレオチドにおいて変異を維持するポリヌクレオチドを含む、請求項2に記載の非天然HSV。

【請求項4】
前記機能不全ICP6タンパク質をコードする前記遺伝子は、
配列番号45、配列番号47、および配列番号45または47と少なくとも95%同一の配列から選択される配列を有し、かつ、配列番号45または47のいずれか1つにお

るヌクレオチドにおいて変異を維持するポリヌクレオチドを含む、請求項 2 に記載の非天然 HSV。

【請求項 5】

前記非天然 HSV が、機能的 ICP 34.5 タンパク質および／または機能的 ICP 6 タンパク質をコードする遺伝子を欠く、請求項 1 または 2 に記載の非天然 HSV。

【請求項 6】

配列番号 12 に示される配列を有するポリヌクレオチドを含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の非天然 HSV。

【請求項 7】

17 TermA HSV 由来の病原性遺伝子の少なくとも 1 つの断片と同一である配列を有するポリヌクレオチドをさらに含む；ならびに／あるいは

rRp450 HSV 由来の病原性遺伝子の少なくとも 1 つの断片と同一である配列を有するポリヌクレオチドをさらに含む；ならびに／あるいは

前記 HSV が、HSV 1 型（「HSV-1」）または HSV 2 型（「HSV-2」）株に由来する；ならびに／あるいは

前記 HSV が HSV-1 KOS 株に由来する；ならびに／あるいは

導入遺伝子をさらに含む、請求項 1～5 のいずれか一項に記載の非天然 HSV。

【請求項 8】

請求項 1～5 のいずれか一項に記載の非天然 HSV と担体とを含む、組成物。

【請求項 9】

請求項 1～7 のいずれか一項に記載の非天然 HSV に感染した非ヒト哺乳動物。

【請求項 10】

請求項 1～7 のいずれか一項に記載の非天然 HSV に感染した細胞。

【請求項 11】

細胞を感染させる方法または細胞溶解を誘導する方法における使用のための、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の非天然 HSV を含む組成物または請求項 8 に記載の組成物であって、前記方法は、前記細胞を、前記組成物と接触させることを含む、組成物。

【請求項 12】

請求項 1～7 のいずれか一項に記載の非天然 HSV 中に導入遺伝子を導入することを含む、非天然 HSV を調製する方法。

【請求項 13】

がん細胞の成長または転移を阻害する方法における使用のための、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の非天然 HSV を含む組成物または請求項 8 に記載の組成物であって、前記方法は、前記細胞を前記組成物と接触させることを含む、

前記がん細胞が、膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺がん、脳がん、神経がん、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんもしくは黒色腫から選択される種類のものである、組成物。

【請求項 14】

対象中のがんを処置する方法における使用のための、請求項 1～7 のいずれか一項に記載の非天然 HSV を含む組成物または請求項 8 に記載の組成物であって、前記方法は、前記組成物を前記対象に投与することを含む、組成物。

【請求項 15】

請求項 1～7 のいずれか一項に記載の HSV を作製する方法であって、

(a) 17 TermA HSV および rRp450 HSV を宿主細胞に導入することと；

(b) 少なくとも 3 継代にわたって前記宿主細胞を成長させることと；

(c) 前記宿主細胞によって産生された HSV 粒子を単離することと；

を含む、方法。

【請求項 16】

請求項 1～7 のいずれか一項に記載の HSV を作製する方法であって、

(a) 前記 HSV のウイルスゲノムをコードするポリヌクレオチドを宿主細胞に導入す

10

20

30

40

50

ることと；

(b) 前記宿主細胞を成長させることと；

(c) 前記宿主細胞によって産生されたHSV粒子を単離することと；

含む、方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本願は、米国特許法第119条(e)の下、それぞれ2019年3月14日および2019年11月8日に出願された米国仮出願第62/818,577号明細書および第62/932,725号明細書に対する優先権を主張し、その各々の内容は参照により本開示に組み込まれる。

【0002】

政府支援の記載

本発明は、国立衛生研究所および国立がん研究所(NIH/NCI)によって授与された助成金番号CA223104の下で政府の支援を受けてなされた。政府は、本発明に一定の権利を有する。

【0003】

配列表

本願は、ASCIIフォーマットで電子的に提出された配列表を含有し、その全体が参照により本明細書に組み込まれる。2020年3月13日に作成された前記ASCIIコピーの名称は106887-7660_ST25.txtであり、サイズは245,014バイトである。

【背景技術】

【0004】

背景

最近FDAが黒色腫を処置するために承認したImlygic(商標)などの腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルス(oHSV)の抗腫瘍効果は、極めて有望である。これらのベクターは、(1)細胞の直接感染および溶解によって決定される溶解期、ならびに(2)抗腫瘍免疫の刺激によって駆動される免疫期、という2つの主要な作用機序を有する。しかしながら、一部のがんではウイルスの拡散が本質的に遅いため、全てのがんが同様に応答するわけではない。培養において、ウイルスに対する細胞の成長許容性のレベルは異なる。動物では、腫瘍の間質および免疫細胞組成の変動が、ウイルス拡散および免疫反応の能力の変動をもたらす。したがって、最適な治療上の有用性に到達するために溶解期の効力を改善するための戦略が依然として必要とされている。本開示は、これらのニーズを満たし、関連する利点も提供する。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0005】

概要

本開示は、非天然単純ヘルペスウイルス(「HSV」)であって、前記ウイルスが、(a)糖タンパク質E(「gE」)をコードする遺伝子、(b)感染細胞タンパク質O(「ICP0」)をコードする遺伝子、(c)DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1をコードする遺伝子、(d)ICP8をコードする遺伝子または(e)ICP34.5をコードする遺伝子の1またはそれより多くにおける変異を含む、または変異から本質的になる、または変異からなる非天然単純ヘルペスウイルス(「HSV」)を提供する。

【0006】

別の態様において、本開示は、本開示の非天然HSVを含む、または本開示の非天然HSVから本質的になる、または本開示の非天然HSVからなる組成物または医薬組成物を提供する。別の態様において、細胞を感染させるための方法であって、細胞を非天然HSV

10

20

30

40

50

Vまたは非天然HSVを含有する組成物もしくは医薬組成物と接触させることを含み、またはあるいは接触させることから本質的になり、またはなおさらに接触させることからなる、方法が本開示において提供される。

【0007】

一態様では、本開示は、本開示の非天然HSVを調製する方法であって、非天然HSVウイルス粒子中の遺伝子を変異させることもしくは非天然HSV中に導入遺伝子を導入することを含む、またはあるいは非天然HSVウイルス粒子中の遺伝子を変異させることもしくは非天然HSV中に導入遺伝子を導入することから本質的になる、またはなおさらに非天然HSVウイルス粒子中の遺伝子を変異させることもしくは非天然HSV中に導入遺伝子を導入することからなる、方法を提供する。別の態様において、非天然HSVベクターを作製する方法は、(a) 17 TermA HSVベクターおよびrRp450 HSVベクターを宿主細胞に導入することと；(b) 少なくとも3継代にわたって宿主細胞を成長させることと；ならびに(c) 宿主細胞によって産生されたHSV粒子を単離することと；を含む、またはあるいは(a)、(b)および(c)から本質的になる、またはなおさらに(a)、(b)および(c)からなる。

【0008】

がん細胞または転移性がん細胞の成長または転移を阻害する方法であって、細胞を、有効量の、非天然HSVベクターまたは本明細書に記載の非天然HSVベクターを含有する組成物もしくは医薬組成物と接触させることを含み、または接触させることから本質的になる、または接触させることからなる方法も提供される。接触させることは、インビトロまたはインビボである。一態様において、接触させることは、非天然HSVまたは組成物もしくは医薬組成物を対象に投与することによるインビボである。インビトロでは、本方法は、非天然HSVを細胞と接触させることによって実施される。インビトロ法は、新しい治療を試験するために、または治療が処置されるべきがんに適しているかどうかを決定するための個別化されたアッセイとして使用することができる。さらなるがん治療は、開示された方法と同時または逐次であり得る治療と組み合わせることができる。

【0009】

処置されるべきがん細胞は、固形腫瘍または血液がん、例えば癌または肉腫であり得、このようなものの非限定的な例としては、膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺癌、脳がん、神経芽細胞腫、神経がん、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんまたは黒色腫が挙げられる。細胞は、任意の種、例えば哺乳動物およびヒトのものであり、インビトロで実施される場合、細胞は、培養された細胞株または初代細胞、例えば組織生検からのものであり得る。細胞は、成体もしくは若年細胞またはがん幹細胞（すなわち、正常な幹細胞と関連する特徴、特に、特定のがん試料中に見出される全ての細胞型を生じさせる能力を有するがん細胞）または正常な幹細胞と関連するこのような特徴のないがん細胞であり得る。一実施形態において、細胞は、N-myc癌原遺伝子タンパク質(MYCIN)を発現し、および／または非がん細胞よりも高いレベルでMYCINを発現する。

【0010】

別の態様において、がんもしくは転移性がんを処置することまたはがん細胞の成長もしくは転移を阻害することを必要とする対象においてがんもしくは転移性がんを処置し、またはがん細胞の成長もしくは転移を阻害する方法であって、有効量の、本開示の非天然HSV、組成物もしくは医薬組成物を対象に投与することを含む、またはあるいは投与することから本質的になる、またはなおさらに投与することからなる方法も本開示において、提供される。処置されるべき対象は、任意の種、例えば哺乳動物およびヒト、例えばイヌ、ウマ、ウシ、ネコ、サル、ラットまたはマウスであり得る。投与は、第一選択治療、第二選択治療、第三選択治療、第四選択治療または第五選択治療としてであり得る。さらなるがん治療は、開示された方法と同時または逐次であり得る治療と組み合わせることができる。処置されるべきがんは、固形腫瘍または血液がん、例えば癌または肉腫であり得、このようなものの非限定的な例としては、膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺癌、脳がん、

神経芽細胞腫、神経がん、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんまたは黒色腫が挙げられる。

【0011】

本開示の方法は、疾患の寛解または進行をモニタリングするための適切な診断と組み合わせることができる。このようなモニタリングのためのいくつかの方法が当技術分野で公知である。

【0012】

一態様において、本開示は、細胞溶解を誘導する方法であって、細胞を、有効量の、本開示の非天然HSV、組成物および／もしくは医薬組成物と接触させることを含む、またはあるいは接触させることから本質的になる、またはなおさらに接触させることからなる方法を提供する。接触させることは、インビトロまたはインビボである。一態様において、接触させることは、非天然HSVまたは組成物もしくは医薬組成物を対象に投与することによるインビボである。インビトロでは、本方法は、非天然HSVを細胞と接触させることによって実施される。インビトロ法は、新しい治療を試験するために、または治療が処置されるべき対象に適しているかどうかを決定するための個別化されたアッセイとして使用することができる。さらなる細胞溶解治療は、開示された方法と同時または逐次であり得る治療と組み合わせることができる。

【0013】

処置されるべき細胞は、固形腫瘍または血液がん、例えば癌または肉腫であり得、このようなものの非限定的な例としては、膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺癌、脳がん、神経芽細胞腫、神経がん、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんまたは黒色腫が挙げられる。細胞は、任意の種、例えば哺乳動物およびヒトのものであり、インビトロで実施される場合、細胞は、培養された細胞株または初代細胞、例えば組織生検からのものであり得る。細胞は、成体もしくは若年細胞、またはがん幹細胞、または正常な幹細胞と関連する特徴を有しないがん細胞であり得る。治療は、治療の有効性、例えばがんの寛解または進行について試験するための適切なアッセイと組み合わせることができる。

【0014】

別の態様において、本開示は、本開示の非天然HSV、組成物および／もしくは医薬組成物を含む、またはあるいは本開示の非天然HSV、組成物および／もしくは医薬組成物から本質的になる、またはなおさらに本開示の非天然HSV、組成物および／もしくは医薬組成物からなるキットも提供する。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目1)

非天然単純ヘルペスウイルス(「HSV」)であって、前記ウイルスが、

(a) 糖タンパク質E(「gE」)をコードする遺伝子、

(b) 感染細胞タンパク質0(「ICP0」)をコードする遺伝子、

(c) DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1をコードする遺伝子、

(d) ICP8をコードする遺伝子または

(e) ICP34.5をコードする遺伝子

の群からのものである病原性遺伝子中に1またはそれを超える変異を含む、非天然単純ヘルペスウイルス(「HSV」)。

(項目2)

前記HSVが、機能不全ICP34.5タンパク質をコードする遺伝子および／または機能不全ICP6タンパク質をコードする遺伝子をさらに含む、項目1に記載の非天然HSV。

(項目3)

前記機能不全ICP34.5タンパク質をコードする前記遺伝子が、配列番号5、配列番号7、および配列番号5または7と少なくとも95%同一の配列から選択される配列を有し、配列番号5または7のいずれか1つにおけるヌクレオチドにおいて前記変異を維持

10

20

30

40

50

するポリヌクレオチドを含む、項目 2 に記載の非天然 H S V。

(項目 4)

前記機能不全 I C P 6 タンパク質をコードする前記遺伝子が、配列番号 4 5、配列番号 4 7、および配列番号 4 5 または 4 7 と少なくとも 9 5 % 同一の配列から選択される配列を有し、配列番号 4 5 または 4 7 のいずれか 1 つにおけるヌクレオチドにおいて前記変異を維持するポリヌクレオチドを含む、項目 2 に記載の非天然 H S V。

(項目 5)

前記病原性遺伝子中の前記変異が、挿入、欠失、切断、フレームシフト、置換または点変異を含む、項目 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の非天然 H S V。

(項目 6)

前記 H S V が、機能的 I C P 3 4 . 5 タンパク質および／または機能的 I C P 6 タンパク質をコードする遺伝子を欠く、項目 1 ~ 5 のいずれか一項に記載の非天然 H S V。

(項目 7)

前記変異が前記病原性遺伝子中の非同義変異である、項目 1 ~ 6 のいずれか一項に記載の非天然 H S V。

(項目 8)

前記変異または同等物が、

(a) 前記 g E タンパク質の 1 5 1 位のアラニンからトレオニンへの変異、

(b) 前記 I C P 0 タンパク質の 2 5 8 位におけるアルギニンからヒスチジンへの変異、

(c) 前記 D N A パッケージングターミナーゼサブユニット 1 タンパク質の 3 7 6 位におけるアラニンからトレオニンへの変異、

(d) 前記 I C P 8 タンパク質の 1 1 5 5 位におけるトレオニンからメチオニンへの変異、または

(e) 前記 I C P 3 4 . 5 タンパク質の 1 1 9 位におけるプロリンからヒスチジンへの変異、

をコードする、項目 1 ~ 7 のいずれか一項に記載の非天然 H S V またはその同等物。

(項目 9)

以下のもの：

(a) 配列番号 2、6、8、10 および 5 2 から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号 1、5、7、9 および 5 1 から選択される配列を有するポリヌクレオチド；

(b) 配列番号 2、6、8、10 および 5 2 から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

(c) 配列番号 1 3、1 5、1 7 および 1 9 から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号 1 2、1 4、1 6 および 1 8 から選択される配列を有するポリヌクレオチド；

(d) 配列番号 1 3、1 5、1 7 および 1 9 から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

(e) 配列番号 2 1、2 3 および 2 6 から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号 2 0、2 2、2 4、2 5 および 5 3 から選択される配列を有するポリヌクレオチド、または 1 つもしくは 2 つもしくはそれを超えるイントロンを含まないこれらの配列；

(f) 配列番号 2 1、2 3 および 2 6 から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

(g) 配列番号 2 8、3 0、3 2 および 3 4 から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号 2 7、2 9、3 1 および 3 3 から選択される配列を有するポリヌクレオチド；

(h) 配列番号 2 8、3 0、3 2 および 3 4 から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

(i) 配列番号 3 6、3 8、4 0 および 4 2 から選択されるアミノ酸配列をコードする

10

20

30

40

50

ポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号 35、37、39 および 41 から選択される配列を有するポリヌクレオチド；

(j) 配列番号 36、38、40 および 42 から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

(k) 配列番号 44、46、48 および 50 から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号 43、45、47 および 49 から選択される配列を有するポリヌクレオチド；

(l) 配列番号 44、46、48 および 50 から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；

の 1 またはそれより多くを含む、項目 1～8 のいずれか一項に記載の非天然 HSV。

10

(項目 10)

17TermA HSV 由来の病原性遺伝子の少なくとも 1 つの断片と同一である配列を有するポリヌクレオチドをさらに含む、項目 1～9 のいずれか一項に記載の非天然 HSV。

(項目 11)

rRp450 HSV 由来の病原性遺伝子の少なくとも 1 つの断片と同一である配列を有するポリヌクレオチドをさらに含む、項目 1～10 のいずれか一項に記載の非天然 HSV。

(項目 12)

前記 HSV が、HSV1 型（「HSV-1」）または HSV2 型（「HSV-2」）株に由来する、項目 1～11 のいずれか一項に記載の非天然 HSV。

(項目 13)

前記 HSV が HSV-1 KOS 株に由来する、項目 1～11 のいずれか一項に記載の非天然 HSV。

20

(項目 14)

導入遺伝子をさらに含む、項目 1～13 のいずれか一項に記載の非天然 HSV。

(項目 15)

項目 1～14 のいずれか一項に記載の非天然 HSV と担体とを含む組成物。

(項目 16)

前記担体が薬学的に利用可能な担体である、項目 14 に記載の組成物。

(項目 17)

有意な病原性を失うことなく前記非天然 HSV の凍結および解凍を促進する凍結保存剤をさらに含む、項目 15 または 16 に記載の組成物。

30

(項目 18)

項目 1～14 のいずれか一項に記載の非天然 HSV に感染した非ヒト哺乳動物。

(項目 19)

項目 1～14 のいずれか一項に記載の非天然 HSV に感染した細胞、必要に応じてリンパ球。

(項目 20)

細胞を感染させる方法であって、前記細胞を項目 1～14 のいずれか一項に記載の非天然 HSV または項目 15～17 のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む方法。

40

(項目 21)

前記細胞がリンパ球である、項目 20 に記載の方法。

(項目 22)

前記細胞が、エプスタイン・バー・ウイルス（「EBV」）に感染している、項目 20 または 21 に記載の方法。

(項目 23)

項目 1～13 のいずれか一項に記載の非天然 HSV 中に導入遺伝子を導入することを含む、ウイルスベクターを調製するための方法。

(項目 24)

がん細胞の成長または転移を阻害する方法であって、前記細胞を、有効量の、項目 1～

50

14のいずれか一項に記載の非天然HSVベクターまたは項目15～17のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む方法。

(項目25)

前記接触させることがインビトロまたはインビボである、項目24に記載の方法。

(項目26)

前記接触させることが、対象への前記非天然物の投与によるインビボである、項目24に記載の方法。

(項目27)

対象中のがんを処置する方法であって、有効量の、項目1～14のいずれか一項に記載の非天然HSVベクターまたは項目15～17のいずれか一項に記載の組成物を前記対象に投与することを含む、方法。

(項目28)

前記がんが以下の種類のがんであり、または前記がん細胞が、以下の種類：膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺癌、脳がん、神経がん、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんもしくは黒色腫の細胞から選択される、項目24～27のいずれか一項に記載の方法。

(項目29)

前記HSVベクターまたは前記医薬組成物が、注射、注入、点滴注入および／または吸入によって投与される、項目27または28に記載の方法。

(項目30)

前記投与が、第一選択治療、第二選択治療、第三選択治療、第四選択治療または第五選択治療の群の治療を含む、項目27～28のいずれか一項に記載の方法。

(項目31)

有効量の抗がん治療を前記対象に投与することをさらに含む、項目27に記載の方法。

(項目32)

前記対象が哺乳動物である、項目27～31のいずれか一項に記載の方法。

(項目33)

前記哺乳動物が、ヒト、マウス、ラット、モルモット、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、ヤギまたはヒツジの群からのものである、項目32に記載の方法。

(項目34)

前記対象がヒトである、項目32に記載の方法。

(項目35)

項目1～13のいずれか一項に記載のHSVベクターを作製する方法であって、

(a) 17TermA HSVベクターおよびrRp450 HSVベクターを宿主細胞に導入することと；

(b) 少なくとも3継代にわたって前記宿主細胞を成長させることと；

(c) 前記宿主細胞によって産生されたHSV粒子を単離することと；

を含む、方法。

(項目36)

前記HSVが、形質移入、感染、形質転換、電気穿孔、注射、微量注入またはこれらの組み合わせによって前記宿主細胞に導入される、項目35に記載の方法。

(項目37)

前記宿主細胞を、少なくとも3継代、10継代、20継代、30継代、40継代または50継代成長させる、項目35または36に記載の方法。

(項目38)

前記宿主細胞が、前記導入されたHSVベクターの複製を支援するための相補遺伝子産物を含む、項目35～37のいずれか一項に記載の方法。

(項目39)

前記相補遺伝子が、ICP6タンパク質および／またはICP34.5タンパク質をコードする、項目38に記載の方法。

10

20

30

40

50

(項目 4 0)

導入遺伝子を前記 H S V ベクター中に導入することをさらに含む、項目 3 5 ～ 3 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 4 1)

項目 3 5 ～ 4 0 のいずれか一項に記載の方法によって作製された H S V 粒子。

(項目 4 2)

細胞溶解を誘導するための方法であって、前記細胞を項目 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の非天然 H S V または項目 1 5 ～ 1 7 のいずれか一項に記載の組成物と接触させることを含む、方法。

(項目 4 3)

前記細胞ががん細胞である、項目 4 2 に記載の方法。

(項目 4 4)

項目 1 ～ 1 4 のいずれか一項に記載の H S V ベクターまたは項目 1 5 ～ 1 7 のいずれか一項に記載の組成物と、使用のための指示とを含むキット。

(項目 4 5)

項目 1 ～ 1 3 のいずれか一項に記載の H S V ベクターを作製する方法であって、

(a) 前記 H S V ベクターのウイルスゲノムをコードするポリヌクレオチドを宿主細胞に導入することと；

(b) 前記宿主細胞を成長させることと；

(c) 前記宿主細胞によって産生された H S V 粒子を単離することと；

含む、方法。

(項目 4 6)

前記ポリヌクレオチドが、形質移入、感染、形質転換、電気穿孔、注射、微量注入またはこれらの組み合わせによって前記宿主細胞に導入される、項目 4 5 に記載の方法。

(項目 4 7)

前記ウイルスゲノムをコードする前記核酸配列が、ベクターで前記宿主細胞に導入される、項目 4 5 または 4 6 に記載の方法。

(項目 4 8)

前記ベクターが H S V またはプラスミドである、項目 4 7 に記載の方法。

(項目 4 9)

前記宿主細胞が、前記導入された H S V ベクターの複製を支援するための相補遺伝子産物を含む、項目 4 5 ～ 4 8 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 0)

前記単離された H S V が、宿主細胞、細胞片、培養培地または前記宿主細胞を培養する際に使用される任意の他の因子を実質的に含まない、項目 4 5 ～ 4 9 のいずれか一項に記載の方法。

(項目 5 1)

前記単離が、遠心分離、濾過、クロマトグラフィーまたはこれらの任意の組み合わせによるものである、項目 4 5 ～ 5 0 のいずれか一項に記載の方法。

【図面の簡単な説明】【0 0 1 5】

【図 1 A - 1 B】 図 1 A ～ 図 1 B は、M u t - 3 および M u t - 3 Δ 3 4 . 5 (図 1 A) ならびに M u t - 3 S N P (図 1 B) の生成の概略図を示す。非許容性系 (non-permissive line) 中の 1 7 T e r m A と r R p 4 5 0 を混合する連続継代から H S V M u t - 3 を単離し (「指向性進化」、遺伝子編集 (「C R I S P R / C a s 9」ステップとして表記されている) を通じて、弱毒化された変異体 M u t - 3 Δ 3 4 . 5 を構築した (図 1 A) 。 図 1 B は、M u t - 3 とその親ウイルスとの配列比較を示す。M u t - 3 においていずれかの親と異なる非同義変異には、U L 1 5、U L 2 9、U S 8、R L 1 および R L 2 を含めて、右下方向への斜線が付されている。1 7 T e r m A と同一のゲノム配列は下のパネル中で空欄として示されており、r R p 4 5 0 と同一のゲノム配列には左下方向

10

20

30

40

50

への斜線が付されている。

【0016】

【図2A～2C】図2A～2Cは、Mut-3、Mut-3Δ34.5、rRp450および17TermAのプラークサイズおよび受容体使用を示す。出願人は、4つのウイルスのプラークアッセイを同時に行い、3日後に、Keyence HS All-in-one Fluorescence Microscope BZ-II Analyzerを介してプラーク画像をスキャンおよび分析した。(図2A) 4つのウイルスの生の画像(上)およびマスクした画像(下、番号が付されたプラーク)。(図2B) 4つのウイルスの平均プラークサイズ(左)およびプラークの数(右)を計算した。Mut-3およびMut-3Δ34.5のプラークサイズは、親ウイルスrRp450および17TermAのいずれよりも有意に大きい。(図2C) CHO細胞セットのインビトロ細胞傷害性/MTSアッセイ。出願人は、CHO-K1(印のとおり)、CHO-ネクチン-1(印のとおり)、CHO-ネクチン-2(印のとおり)およびCHO-HVEM(印のとおり)に、異なる感染多重度(MOI)で4つのウイルスを感染させた。出願人は、ウイルス感染の3日後(pvi)に、非処理対照と比較して、細胞生存比色細胞増殖/MTSアッセイを測定した。CHO-ネクチン-1およびCHO-HVEMのみが4つのウイルスの処理に対して感受性であったが、CHO-K1またはCHO-ネクチン-2(主にHSV-2侵入用)は感受性でなく、Mut-3およびMut-3Δ34.5は受容体バリアを迂回せず、細胞に感染するために標準的なHSV侵入受容体になお依拠(rely on)し得ることを示唆している。

10

20

【図2C】図2A～2Cは、Mut-3、Mut-3Δ34.5、rRp450および17TermAのプラークサイズおよび受容体使用を示す。出願人は、4つのウイルスのプラークアッセイを同時に行い、3日後に、Keyence HS All-in-one Fluorescence Microscope BZ-II Analyzerを介してプラーク画像をスキャンおよび分析した。(図2A) 4つのウイルスの生の画像(上)およびマスクした画像(下、番号が付されたプラーク)。(図2B) 4つのウイルスの平均プラークサイズ(左)およびプラークの数(右)を計算した。Mut-3およびMut-3Δ34.5のプラークサイズは、親ウイルスrRp450および17TermAのいずれよりも有意に大きい。(図2C) CHO細胞セットのインビトロ細胞傷害性/MTSアッセイ。出願人は、CHO-K1(印のとおり)、CHO-ネクチン-1(印のとおり)、CHO-ネクチン-2(印のとおり)およびCHO-HVEM(印のとおり)に、異なる感染多重度(MOI)で4つのウイルスを感染させた。出願人は、ウイルス感染の3日後(pvi)に、非処理対照と比較して、細胞生存比色細胞増殖/MTSアッセイを測定した。CHO-ネクチン-1およびCHO-HVEMのみが4つのウイルスの処理に対して感受性であったが、CHO-K1またはCHO-ネクチン-2(主にHSV-2侵入用)は感受性でなく、Mut-3およびMut-3Δ34.5は受容体バリアを迂回せず、細胞に感染するために標準的なHSV侵入受容体になお依拠(rely on)し得ることを示唆している。

30

【0017】

【図3A】図3A～図3C: Mut-3Δ34.5は、ヒトおよびマウスの神経芽細胞腫細胞を死滅させるのに17TermA(γ134.5-ヌル)より強力であり、これはインビトロでの感染性ウイルス粒子の収量の増加によるものではない。(図3A) 神経芽細胞腫細胞株のインビトロ細胞傷害性/MTSアッセイ。出願人は、ヒト(SK-N-AS)およびマウス(975A2)の両神経芽細胞腫細胞を、Mut-3(印のとおり)、Mut-3Δ34.5(印のとおり)または17TermA(印のとおり)を用いて異なる(MOI)で感染させた。出願人は、非処理対照と比較して、ウイルス感染の4日後に、MTSアッセイによって細胞生存を測定した。N=6、エラーバーは平均値の標準誤差を表す。***p<0.0001、2元配置分散分析。(図3B) インビトロウイルス複製アッセイ。出願人は、MOI=0.1(上パネル、ヒト系SK-N-AS)またはMOI=0.5(下パネル、マウス系975A2)で、17TermA(印のとおり)またはM

40

50

u t - 3 Δ 3 4 . 5 (印のとおり) を神経芽細胞腫細胞株に感染させ、ウイルス感染の 2 時間後に細胞を P B S で洗浄した。出願人は、ウイルス感染の 2、24、48 および 72 時間後に細胞溶解物を採集し、ブランクアッセイによってウイルス収量を決定した。N = 3。エラーバーは標準偏差を表す。* $p < 0.05$ 、** $p < 0.001$ 、*** $p < 0.0001$ 、2 元配置分散分析。(図 3 C) M u t - 3 Δ 3 4 . 5 に感染した神経芽細胞腫培養物と 17 T e r m A に感染した神経芽細胞腫培養物中での相対的な遊離して放出されたビリオンの比較。出願人は、図 3 B において全培養物として測定したことに代えて、上清およびペレットを採取して 2 つの分離した部分で経時的にブランクアッセイを行うことによって、(図 3 B) に記載されているのと同様のアッセイを行った。出願人は、全培養物(上清+ペレット)に対する上清中の感染性粒子の割合として相対的遊離ビリオンを計算した。M u t - 3 Δ 3 4 . 5 は、48 時間で、17 T e r m A より有意に多くの相対的な放出されたビリオンを示す。N = 3。エラーバーは標準偏差を表す。* $p < 0.05$ 。

【図 3 B】図 3 A ~ 図 3 C : M u t - 3 Δ 3 4 . 5 は、ヒトおよびマウスの神経芽細胞腫細胞を死滅させるのに 17 T e r m A (γ 1 3 4 . 5 - ヌル) より強力であり、これはインビトロでの感染性ウイルス粒子の収量の増加によるものではない。(図 3 A) 神経芽細胞腫細胞株のインビトロ細胞傷害性 / M T S アッセイ。出願人は、ヒト (S K - N - A S) およびマウス (9 7 5 A 2) の両神経芽細胞腫細胞を、M u t - 3 (印のとおり)、M u t - 3 Δ 3 4 . 5 (印のとおり) または 17 T e r m A (印のとおり) を用いて異なる (M O I) で感染させた。出願人は、非処理対照と比較して、ウイルス感染の 4 日後に、M T S アッセイによって細胞生存を測定した。N = 6、エラーバーは平均値の標準誤差を表す。*** $p < 0.0001$ 、2 元配置分散分析。(図 3 B) インビトロウイルス複製アッセイ。出願人は、M O I = 0.1 (上パネル、ヒト系 S K - N - A S) または M O I = 0.5 (下パネル、マウス系 9 7 5 A 2) で、17 T e r m A (印のとおり) または M u t - 3 Δ 3 4 . 5 (印のとおり) を神経芽細胞腫細胞株に感染させ、ウイルス感染の 2 時間後に細胞を P B S で洗浄した。出願人は、ウイルス感染の 2、24、48 および 72 時間後に細胞溶解物を採集し、ブランクアッセイによってウイルス収量を決定した。N = 3。エラーバーは標準偏差を表す。* $p < 0.05$ 、** $p < 0.001$ 、*** $p < 0.0001$ 、2 元配置分散分析。(図 3 C) M u t - 3 Δ 3 4 . 5 に感染した神経芽細胞腫培養物と 17 T e r m A に感染した神経芽細胞腫培養物中での相対的な遊離して放出されたビリオンの比較。出願人は、図 3 B において全培養物として測定したことに代えて、上清およびペレットを採取して 2 つの分離した部分で経時的にブランクアッセイを行うことによって、(図 3 B) に記載されているのと同様のアッセイを行った。出願人は、全培養物(上清+ペレット)に対する上清中の感染性粒子の割合として相対的遊離ビリオンを計算した。M u t - 3 Δ 3 4 . 5 は、48 時間で、17 T e r m A より有意に多くの相対的な放出されたビリオンを示す。N = 3。エラーバーは標準偏差を表す。* $p < 0.05$ 。

【図 3 C】図 3 A ~ 図 3 C : M u t - 3 Δ 3 4 . 5 は、ヒトおよびマウスの神経芽細胞腫細胞を死滅させるのに 17 T e r m A (γ 1 3 4 . 5 - ヌル) より強力であり、これはインビトロでの感染性ウイルス粒子の収量の増加によるものではない。(図 3 A) 神経芽細胞腫細胞株のインビトロ細胞傷害性 / M T S アッセイ。出願人は、ヒト (S K - N - A S) およびマウス (9 7 5 A 2) の両神経芽細胞腫細胞を、M u t - 3 (印のとおり)、M u t - 3 Δ 3 4 . 5 (印のとおり) または 17 T e r m A (印のとおり) を用いて異なる (M O I) で感染させた。出願人は、非処理対照と比較して、ウイルス感染の 4 日後に、M T S アッセイによって細胞生存を測定した。N = 6、エラーバーは平均値の標準誤差を表す。*** $p < 0.0001$ 、2 元配置分散分析。(図 3 B) インビトロウイルス複製アッセイ。出願人は、M O I = 0.1 (上パネル、ヒト系 S K - N - A S) または M O I = 0.5 (下パネル、マウス系 9 7 5 A 2) で、17 T e r m A (印のとおり) または M u t - 3 Δ 3 4 . 5 (印のとおり) を神経芽細胞腫細胞株に感染させ、ウイルス感染の 2 時間後に細胞を P B S で洗浄した。出願人は、ウイルス感染の 2、24、48 および 72 時間後に細胞溶解物を採集し、ブランクアッセイによってウイルス収量を決定した。N = 3。エラーバーは標準偏差を表す。* $p < 0.05$ 、** $p < 0.001$ 、*** $p < 0$

・ 0001、2元配置分散分析。(図3C) Mut-3Δ34.5に感染した神経芽細胞腫培養物と17TermAに感染した神経芽細胞腫培養物中での相対的な遊離して放出されたビリオンの比較。出願人は、図3Bにおいて全培養物として測定したことに代えて、上清およびペレットを採取して2つの分離した部分で経時的にブランクアッセイを行うことによって、(図3B)に記載されていると同様のアッセイを行った。出願人は、全培養物(上清+ペレット)に対する上清中の感染性粒子の割合として相対的遊離ビリオンを計算した。Mut-3Δ34.5は、48時間で、17TermAより有意に多くの相対的な放出されたビリオンを示す。N=3。エラーバーは標準偏差を表す。*p<0.05。

【0018】

【図4A-4H】図4A~4H：神経芽細胞腫細胞におけるMut3Δ34.5および17TermA取り込みのTEM分析。神経芽細胞腫細胞SK-N-ASおよび975A2に、50のMOIで、37℃で20分間、Mut-3Δ34.5または17TermAを感染させた。(図4A、4B、4Eおよび4F)挿入図は、Mut-3Δ34.5ビリオンが主に細胞内小胞中(図4Bの右側の矢印を除く矢印)に見られ、原形質膜と融合したもの(図4Bの右側の矢印)はほとんど見られなかったことを示す。(図4C、4D、4Gおよび4H)挿入図は、17TermAビリオンが主に細胞内小胞中(図4Gの下側の矢印を除く矢印)に見られ、原形質膜と融合しているもの(図4Gの下側の矢印)はほとんど見られなかったことを示す。TEM分析は、Hitachi H-7650 TEMを介して行った。N：核。スケールバー：500nm。

【0019】

【図5A】図5A~5C：弱毒化された17Δ34.5ビリオンは、神経芽細胞腫細胞において17TermAと同程度の効力を示した。出願人は、野生型株17⁺のg134.5遺伝子をEGFP発現カセットで置き換えるためにCRISPR-Cas9遺伝子編集技術を介して17Δ34.5を作製した。(図5A)ベロ細胞上の17Δ34.5クローンのブランク画像。B4およびG1クローンはいずれも、3回のブランク精製後に100%のGFP陽性(左パネル)の非合胞体(右パネル、位相差)ブランクを産生する。ウイルス感染の2日後。画像は、EVOS(登録商標)FL Imaging Systemを介して撮影した。スケールバー：400μm(図5B)神経芽細胞腫細胞株のインビトロ細胞傷害性/MTSアッセイ。出願人は、神経芽細胞腫細胞株SK-N-ASおよび975A2に、異なるMOIで、野生型株17⁺(印のとおり)、17TermA(印のとおり)、17Δ34.5クローンB4(印のとおり)または17Δ34.5クローンG1(印のとおり)を感染させた。出願人は、非処理対照と比較して、ウイルス感染の3日後に、MTSアッセイによって細胞生存を測定した。いずれの17Δ34.5クローンの効力も、それらの野生型対応物である株17⁺より有意に低かったが、17TermAと同程度であった。EGFPカセットおよびEGFP DNA配列を図5Cに示す(配列番号11)。

【図5B】図5A~5C：弱毒化された17Δ34.5ビリオンは、神経芽細胞腫細胞において17TermAと同程度の効力を示した。出願人は、野生型株17⁺のg134.5遺伝子をEGFP発現カセットで置き換えるためにCRISPR-Cas9遺伝子編集技術を介して17Δ34.5を作製した。(図5A)ベロ細胞上の17Δ34.5クローンのブランク画像。B4およびG1クローンはいずれも、3回のブランク精製後に100%のGFP陽性(左パネル)の非合胞体(右パネル、位相差)ブランクを産生する。ウイルス感染の2日後。画像は、EVOS(登録商標)FL Imaging Systemを介して撮影した。スケールバー：400μm(図5B)神経芽細胞腫細胞株のインビトロ細胞傷害性/MTSアッセイ。出願人は、神経芽細胞腫細胞株SK-N-ASおよび975A2に、異なるMOIで、野生型株17⁺(印のとおり)、17TermA(印のとおり)、17Δ34.5クローンB4(印のとおり)または17Δ34.5クローンG1(印のとおり)を感染させた。出願人は、非処理対照と比較して、ウイルス感染の3日後に、MTSアッセイによって細胞生存を測定した。いずれの17Δ34.5クローンの効力も、それらの野生型対応物である株17⁺より有意に低かったが、17TermAと同程

度であった。EGFPカセットおよびEGFP DNA配列を図5Cに示す（配列番号11）。

【図5C-1】図5A～5C：弱毒化された17Δ34.5ビリオンは、神経芽細胞腫細胞において17TermAと同程度の効力を示した。出願人は、野生型株17⁺のg134.5遺伝子をEGFP発現カセットで置き換えるためにCRISPR-Cas9遺伝子編集技術を介して17Δ34.5を作製した。（図5A）ベロ細胞上の17Δ34.5クローンのプラーク画像。B4およびG1クローンはいずれも、3回のプラーク精製後に100%のGFP陽性（左パネル）の非合胞体（右パネル、位相差）プラークを産生する。ウイルス感染の2日後。画像は、EVOS（登録商標）FL Imaging Systemを介して撮影した。スケールバー：400μm（図5B）神経芽細胞腫細胞株のインビトロ細胞傷害性／MTSアッセイ。出願人は、神経芽細胞腫細胞株SK-N-ASおよび975A2に、異なるMOIで、野生型株17⁺（印のとおり）、17TermA（印のとおり）、17Δ34.5クローンB4（印のとおり）または17Δ34.5クローンG1（印のとおり）を感染させた。出願人は、非処理対照と比較して、ウイルス感染の3日後に、MTSアッセイによって細胞生存を測定した。いずれの17Δ34.5クローンの効力も、それらの野生型対応物である株17⁺より有意に低かったが、17TermAと同程度であった。EGFPカセットおよびEGFP DNA配列を図5Cに示す（配列番号11）。

10

【図5C-2】図5A～5C：弱毒化された17Δ34.5ビリオンは、神経芽細胞腫細胞において17TermAと同程度の効力を示した。出願人は、野生型株17⁺のg134.5遺伝子をEGFP発現カセットで置き換えるためにCRISPR-Cas9遺伝子編集技術を介して17Δ34.5を作製した。（図5A）ベロ細胞上の17Δ34.5クローンのプラーク画像。B4およびG1クローンはいずれも、3回のプラーク精製後に100%のGFP陽性（左パネル）の非合胞体（右パネル、位相差）プラークを産生する。ウイルス感染の2日後。画像は、EVOS（登録商標）FL Imaging Systemを介して撮影した。スケールバー：400μm（図5B）神経芽細胞腫細胞株のインビトロ細胞傷害性／MTSアッセイ。出願人は、神経芽細胞腫細胞株SK-N-ASおよび975A2に、異なるMOIで、野生型株17⁺（印のとおり）、17TermA（印のとおり）、17Δ34.5クローンB4（印のとおり）または17Δ34.5クローンG1（印のとおり）を感染させた。出願人は、非処理対照と比較して、ウイルス感染の3日後に、MTSアッセイによって細胞生存を測定した。いずれの17Δ34.5クローンの効力も、それらの野生型対応物である株17⁺より有意に低かったが、17TermAと同程度であった。EGFPカセットおよびEGFP DNA配列を図5Cに示す（配列番号11）。

20

30

【図5C-3】図5A～5C：弱毒化された17Δ34.5ビリオンは、神経芽細胞腫細胞において17TermAと同程度の効力を示した。出願人は、野生型株17⁺のg134.5遺伝子をEGFP発現カセットで置き換えるためにCRISPR-Cas9遺伝子編集技術を介して17Δ34.5を作製した。（図5A）ベロ細胞上の17Δ34.5クローンのプラーク画像。B4およびG1クローンはいずれも、3回のプラーク精製後に100%のGFP陽性（左パネル）の非合胞体（右パネル、位相差）プラークを産生する。ウイルス感染の2日後。画像は、EVOS（登録商標）FL Imaging Systemを介して撮影した。スケールバー：400μm（図5B）神経芽細胞腫細胞株のインビトロ細胞傷害性／MTSアッセイ。出願人は、神経芽細胞腫細胞株SK-N-ASおよび975A2に、異なるMOIで、野生型株17⁺（印のとおり）、17TermA（印のとおり）、17Δ34.5クローンB4（印のとおり）または17Δ34.5クローンG1（印のとおり）を感染させた。出願人は、非処理対照と比較して、ウイルス感染の3日後に、MTSアッセイによって細胞生存を測定した。いずれの17Δ34.5クローンの効力も、それらの野生型対応物である株17⁺より有意に低かったが、17TermAと同程度であった。EGFPカセットおよびEGFP DNA配列を図5Cに示す（配列番号11）。

40

50

【0020】

【図6A～6C】図6A～6C：Mut-3Δ34.5は、17Δ34.5と比較して、はるかに速いウイルス遺伝子導入および細胞殺滅を示す。本出願人は、異なるMOIで、（図6A）Vero（図6B）SK-N-AS（図6C）975A2細胞を、モックCTL、Mut-3Δ34.5または17Δ34.5のいずれかで処理し、Incucyte ZOOM生細胞を使用して、GFP陽性領域（上のパネル）および細胞密集度（下のパネル）を経時的にモニタリングした。条件ごとにN=6ウェル、各時点についてウェルごとにn=2測定。ウイルス感染後（pvi）。マン・ホイットニーのU検定を使用して、（図6A）について、ウイルス間で最大GFP面積までの時間を比較する。エラーバーは標準偏差を表す。

10

【0021】

【図7】図7：Mut-3Δ34.5は、インビボでのヒト神経芽細胞腫成長を制御するために17TermAより有効である。sub-q SK-N-AS腫瘍を有する無胸腺ヌードマウスに、リン酸緩衝食塩水（PBS）対照（印のとおり、n=8）、3用量の1e7 pfuの17TermA（印のとおり、n=8）またはMut-3Δ34.5（印のとおり、n=9）のいずれかを腫瘍内注射した。カプランマイヤー生存曲線をプロットした。ログランク検定を使用して、17TermAとMut-3Δ34.5の間の統計学的有意性をスコア化した。*p<0.05。

【0022】

【図8A～8C】図8A～8C：Mut-3の弱毒化されたバージョンであるMut-3ΔICP6は、腫瘍溶解性ヘルペスウイルスrRp450と比較して、ヒト神経芽細胞腫細胞株CHP-134において優れた細胞傷害性を誘導する。（図8A）ICP-6をコードするUL39遺伝子がCMVによって駆動されるGFPレポーターカセットで置き換えられた、CRISPR-Cas9遺伝子編集戦略によって構築されたMut-3ΔICP6のマップ。ヒト神経芽細胞腫細胞株におけるMut-3、rRp450およびMut-3-ΔICP6/D7-1の細胞傷害性プロファイルを比較するMTS細胞生存率アッセイ。96ウェルディッシュ中に4000細胞/ウェルで細胞を播種し、37℃で一晩インキュベートし、次いで、細胞あたり0.001、0.01、0.1および1感染性ウイルス粒子の感染多重度（MOI）で、列挙された各ウイルスを感染させた。アッセイは、Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay/MTS（Promega、Madison、WI）を使用して、製造者の指示に従って感染後3日目または4日目に行った。各サンプル群を四連で実行し、結果は非感染対照と比較したパーセント細胞生存として示された。エラーバーは標準偏差を表す。統計学的有意性は、t検定を用いて評価した。*p≤0.05、**p≤0.01、***p≤0.001。図8B SK-N-ASおよび図8C CHP-134は、結果をグラフで示す。

20

30

【0023】

【図9A～9B】図9A～9B：Mut-3ΔICP6は、rRp450と比較して、マウス神経芽細胞腫細胞株Neuro-2aおよび975A2において優れた細胞傷害性を誘導する。図9A～9Bは、マウス神経芽細胞腫細胞株におけるMut-3、rRp450およびMut-3-ΔICP6/D7-1の細胞傷害性プロファイルを比較するMTS細胞生存率アッセイの結果を示す。96ウェルディッシュ中に4000細胞/ウェルで細胞を播種し、37℃で一晩インキュベートし、次いで、細胞あたり0.001、0.01、0.1および1感染性ウイルス粒子の感染多重度（MOI）で、列挙された各ウイルスを感染させた。アッセイは、Cell Titer 96 Aqueous Non-Radioactive Cell Proliferation Assay/MTS（Promega、Madison、WI）を使用して、製造者の指示に従って感染後3日目または4日目に行った。各サンプル群を四連で実行し、結果は非感染対照と比較したパーセント細胞生存として示された。エラーバーは標準偏差を表す。統計学的有意性は、t検定を用いて評価した。**p≤0.01、***p≤0.001。図9A：Neuro-2aお

40

50

よび図9B：975A2。

【0024】

【図10A-10B】図10A～図10B：Mut-3ΔICP6は、48時間および72時間の感染期間にわたって、マウス神経芽細胞腫細胞株975A2においてrRp450より有意に高いウイルス収量をもたらす。マウス975A2（図10A）およびヒトSK-N-AS（図10B）神経芽細胞腫細胞を12ウェルディッシュ中に 2×10^5 細胞／ウェルで播種し、37℃で一晩インキュベートし、SK-N-AS細胞（図10B）についてはMOI 0.01で、または975A2細胞（図10A）についてはMOI 0.5で、20分ごとに穏やかに振盪しながら、200μLの無血清培地中で各ウイルスを2時間感染させた。細胞をPBSで1回洗浄し、1mLの完全培地で覆った。次いで、感染の2、24、48および72時間後に細胞および上清を収集し、3回凍結解凍し、段階希釈し、標準的なプラークアッセイによって感染性ウイルス収量を決定するためにベロ細胞に対して滴定した。各試料は、3連でアッセイした。エラーバーは標準偏差を表す。統計学的有意性は、t検定を用いて評価した。 $*p \leq 0.05$ 、 $**p \leq 0.01$ 。

【0025】

【図11A-11B】図11A～11B：Mut-3Δ34.5およびMut-3ΔICP6は、分化したヒトケラチン細胞に対してMut-3ウイルスより有意に効力が低い。製造者の指示に従って、ヒトケラチン細胞成長補助剤が補充されたEpilife Media（Cascade Biologics）中で、ヒトケラチン細胞（HFK）細胞を成長させた。96ウェルプレート中に2000細胞／ウェルの密度で、未分化HFK（図11A）を播種し、一晩培養した。次いで、0.0004、0.004、0.04、0.4および4のMOIで、培養物にMut-3、Mut-3Δ34.5／C8G5またはMut-3ΔICP6 D7-1を感染させた。ウイルス感染の3日後に、MTSアッセイによって細胞生存を決定した。播種の24時間後に、10% FBSおよび1mmol／L CaCl₂をHFKの培養培地に添加し、感染の前にさらに48時間HFKをインキュベートさせることによって、分化したHFKを産生した。ウイルス感染の4日後に、MTSアッセイによって、分化した細胞の生存（図11B）を決定した。各試料は、4連でアッセイした。エラーバーは標準偏差を表す。統計学的有意性は、t検定を用いて評価した。 $*p \leq 0.05$ 、 $**p \leq 0.01$ 。

【0026】

【図12】 1×10^6 pfuの野生型KOS株ウイルスの静脈内注射は、ナイーブBalb／cマウスにとって致死性である。Mut-3Δ34.5およびMut-3ΔICP6の安全性試験の説明。出願人は、尾静脈を介してナイーブ非腫瘍担持Balb／cマウス（雄20匹、雌20匹）に各ウイルスの 1×10^8 プラーク形成単位（pfu）を注射することによって、ウイルス生体内分布研究を開始した。次いで、出願人は、1、14、28、56および85日目にこれらの動物を殺し（ $n = 4$ ／時点）、分析のためにそれらの末梢血、精巣（雄）、卵巣（雌）、脾臓、肺、腎臓、心臓、肺および脳を収集した。出願人は、ウイルス投与後最初の2週間は毎日、その後殺予定日まで毎週2回、各マウスを観察した。ウイルスを付与する前の各マウスの体重を記録し、その後毎週記録した。並行して、陽性（非安全）対照として、マウスの群に野生型KOSウイルスを投与した〔投与量範囲： $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ pfu／マウス（ $n = 3$ ）〕。出願人は、採取した器官の病理学的分析も行い、変異型ウイルスを与えられたマウスから得られた試料を野生型KOSウイルスを与えられた試料と比較した。出願人は、これらのウイルスの複製能を検出するためにプラークアッセイも利用した。結果は、 1×10^5 、 1×10^6 または 1×10^7 pfuの野生型KOSウイルスの単回投与を受けたマウスの生存曲線を示す。

【0027】

【図13A-13B】図13A～13B：ナイーブBalb／cマウスは、最大 1×10^8 pfuのMut-3Δ34.5（C8G5）またはMut-3ΔICP6（D7-1）の静脈内注射に耐えることができる。出願人は安全性および体内分布研究を完了し、最大 1×10^8 pfuのMut-3Δ34.5（C8G5）またはMut-3ΔICP6（D7-

1) を与えられたマウスが、指定の 殺日まで（最長 85 日目）健康な状態を保つことを身体検査によって見出した。雌マウスでは、ブランクアッセイにより、感染後 24 時間の時点でのみ、心臓、腎臓、肝臓、卵巣および脾臓における感染性ウイルスの存在が明らかになった。図 13 A および図 13 B は、それぞれ雌マウスおよび雄マウスから得られた結果をグラフで示す。

【0028】

【図 14】 1e6 pfu またはそれを超える野生型 KOS ウイルスを与えられたマウスの脳、腎臓および卵巣中で、複製している HSV を検出することができる。図 14 は、1e6 または 1e7 pfu の野生型 KOS ウイルスを注射されたマウスの組織からのブランクアッセイの結果を要約する表である。マウスは、病的状態の外面的徴候（脊柱後弯、嗜眠後肢麻痺など）を示し始めた後、ウイルス注射後（pvi）5～6 日に 殺した。「+」は検出可能なブランク（複数可）を示し、「-」は検出可能なブランク（複数可）が存在しないことを示す。灰色の影が付された枠は、これらのデータが入手できないことを示す。

10

【0029】

【図 15】 図 15 は、ウイルス感染の 24 時間後に、1e8 pfu の C8G5 または D7-1 を与えられたマウスの肺を除くほとんど全ての採取された組織中で、複製している HSV が検出され得ることを示す。表は、ウイルス感染の 24 時間後の、MutΔ34.5 または Mut3ΔICP6 を注射されたマウスの組織からのブランクアッセイの結果を要約する。「+」は検出可能なブランク（複数可）を示し、「-」は検出可能なブランク（複数可）が存在しないことを示す。灰色の影が付された枠は、これらのデータが入手できないことを示す。

20

【0030】

【図 16】 図 16 は、1e8 pfu の C8G5 または D7-1 を与えられたマウスの採取された組織のいずれにおいても、ウイルス感染の 14 日後に、複製している HSV を検出することができないことを示す。表は、ウイルス感染の 14 後の、MutΔ34.5 または Mut3ΔICP6 を注射されたマウスの組織からのブランクアッセイの結果を要約する。「-」は、検出可能なブランク（複数可）が存在しないことを示す。

【0031】

【図 17】 図 17 は、1e8 pfu の C8G5 または D7-1 を与えられたマウスの採取された組織のいずれにおいても、ウイルス感染の 28 日後に、複製している HSV を検出することができないことを示す。表は、ウイルス感染の 28 後の、MutΔ34.5 または Mut3ΔICP6 を注射されたマウスの組織からのブランクアッセイの結果を要約する。「-」は、検出可能なブランク（複数可）が存在しないことを示す。灰色の影が付された枠は、これらのデータが入手できないことを示す。

30

【0032】

【図 18】 図 18 は、1e8 pfu の C8G5 または D7-1 を与えられたマウスの採取された組織のいずれにおいても、ウイルス感染の 56 日後に、複製している HSV を検出することができないことを要約する表である。表は、ウイルス感染の 56 後の、MutΔ34.5 または Mut3ΔICP6 を注射されたマウスの組織からのブランクアッセイの結果を要約する。「-」は、検出可能なブランク（複数可）が存在しないことを示す。

40

【0033】

【図 19】 図 19 は、1e8 pfu の C8G5 または D7-1 を与えられたマウスの採取された組織のいずれにおいても、ウイルス感染の 85 日後に、複製している HSV を検出することができないことを示す。表は、ウイルス感染の 85 後の、MutΔ34.5 または Mut3ΔICP6 を注射されたマウスの組織からの qPCR およびブランクアッセイの結果を要約する。「-」は、検出可能なブランク（複数可）が存在しないことを示す。

【0034】

【図 20 A-20 D】 図 20 A～図 20 D は、Mut-3ΔgE のブランクサイズが Mut-3 または Mut-3D34.5（C8G5）と比較してはるかに小さいことを示す研

50

究の結果を示す。図20A：糖タンパク質gEをコードするUs8遺伝子がCMVによって駆動されるGFPLレポーターカセットで置き換えられるCRISPR-Cas9遺伝子編集戦略によって、Mut-3ΔgEを構築した。図20B：Mut-3ΔgEクローン28D5-B4および28D5-H1-ベロ細胞の非合胞体GFP陽性プラーク表現型に、連続希釈した28D5-B4または28D5-H1を2時間感染させ、重層培地で覆った。プラークの写真は、ウイルス感染の3日後に撮影した。図20C：Mut-3ΔgEクローン28D5-B4および28D5-H1のqPCR分析は、Us8/gEの喪失を明らかにする。ベビーハムスター腎臓（BHK）細胞にMut-3ΔgEクローン28D5-B4または28D5-H1を感染させ、50%以上の細胞変性効果が観察された時点で、それらの溶解物を採取した。ウイルス感染したBHK細胞溶解物から単離された50～100ngのゲノムDNAをqPCR反応において使用した。Us8a対照HSV遺伝子に対するgE/Us8またはGFP倍数として、結果が示されている。図20D：ベロ細胞において行われた標準的なプラークアッセイから得られた、Mut-3ΔgEクローン28D5-B4および28D5-H1とMut-3またはMut-3Δ34.5/C8G5とのプラークサイズの比較。Mut-3、Mut-3Δ34.5、Mut-3ΔgEクローン28D5-B4およびクローン28D5-H1のプラーク写真は、ウイルス感染の3日後に撮影した。

【0035】

【図21A-21D】図21A～図21Dは、17ΔgEのプラークサイズが17syn+または17Δ34.5と比較してはるかに小さいことを示す研究の結果を提供する。図21A：糖タンパク質gEをコードするUs8遺伝子がCMVによって駆動されるGFPLレポーターカセットで置き換えられるCRISPR-Cas9遺伝子編集戦略によって、17ΔgEを構築した。図21B：17ΔgEクローン12G5の非合胞体および小型GFP陽性プラーク表現型-ベロ細胞に連続希釈された17ΔgE 12G5を2時間感染させ、重層培地で覆った。プラークの写真は、ウイルス感染の3日後に撮影した。図21C：17ΔgEクローン12G5のqPCR分析は、Us8/gEの喪失を明らかにする。ベビーハムスター腎臓（BHK）細胞に17ΔgEクローン12G5を感染させ、50%以上の細胞変性効果が観察された時点で、溶解物を採取した。ウイルス感染したBHK細胞溶解物から単離された50～100ngのゲノムDNAをqPCR反応において使用した。ICP6対照HSV遺伝子に対するgE/Us8またはGFP倍数として、結果が示されている。図21D：ベロ細胞において行われた標準的なプラークアッセイから得た、17ΔgEクローン12G5 17syn+と17Δ34.5クローンB4とのプラークサイズの比較。プラークの写真は、ウイルス感染の3日後に撮影した。

【発明を実施するための形態】

【0036】

詳細な説明

本開示による実施形態は、以下でより完全に説明される。しかしながら、本開示の態様は、異なる形態で具体化することができ、本明細書に記載の実施形態に限定されると解釈されるべきではない。むしろ、これらの実施形態は、本開示が綿密かつ完全であり、本発明の範囲を当業者に完全に伝えるように提供されている。本明細書中の記述において使用される用語は、特定の実施形態を記述することを目的とするものに過ぎず、限定することは意図されていない。

【0037】

別段の定義がなければ、本明細書において使用される全ての用語（技術用語および科学用語を含む）は、当業者によって一般的に理解されているものと同じ意味を有する。一般的に使用される辞書で定義されているような用語は、本出願および関連技術の文脈におけるそれらの意味と一致する意味を有すると解釈されるべきであり、本明細書において明示的にそのように定義されていなければ、理想化されたまたは過度に形式張った意味で解釈されるべきではないことがさらに理解される。以下で明示的に定義されてはいないが、このような用語はそれらの一般的な意味に従って解釈されるべきである。

【0038】

本明細書の記載において使用される用語は、特定の実施形態を記述することを目的とするものに過ぎず、本発明を限定することは意図されていない。本明細書において言及されるすべての刊行物、特許出願、特許およびその他の参考文献は、それらの全体が参照により組み込まれる。

【0039】

別段の記述がなければ、本技術の実施は、本分野の技術に属する、組織培養、免疫学、分子生物学、微生物学、細胞生物学および組換えDNAの慣用技術を使用する。

【0040】

文脈が別段の指示をしない限り、本明細書に記載されている本発明の様々な特徴は任意の組み合わせで使用できることが特に意図されている。さらに、本開示は、いくつかの実施形態において、本明細書に記載の任意の特徴または特徴の組み合わせを除外または省略することも企図している。例示するために、複合体が成分A、BおよびCを含むと明細書が述べている場合、A、BもしくはCのいずれかまたはこれらの組み合わせを省略することができ、単独でまたは任意の組み合わせで権利範囲から除外され得ることが特に意図されている。

【0041】

特に明記しない限り、すべての特定された実施形態、特徴および用語は、列挙された実施形態、特徴または用語とそれらの生物学的同等物の両方を含むことを意図している。

【0042】

範囲を含む全ての数的表記、例えば、pH、温度、時間、濃度および分子量は、適宜、1.0または0.1の増分によって、または+/-15%、または+/-10%、または+/-5%、または+/-2%の変動によって、(+)または(-)に変動される近似値である。常に明示的に述べられているわけではないが、全ての数的表記には、「約」という用語が前置されていることが理解されるべきである。常に明示的に述べられているわけではないが、本明細書に記載されている試薬は単に例示であること、およびこのようなものと同等な試薬が本分野において知られていることも理解されるべきである。

【0043】

本明細書で使用される場合、「同程度の」という用語は、参照のレベルと同じレベルを有すること、または参照レベルと比較して+/-50%、またはあるいは45%、またはあるいは40%、またはあるいは35%、またはあるいは30%、またはあるいは25%、またはあるいは20%、またはあるいは15%、またはあるいは10%、またはあるいは5%、またはあるいは2%の変動内にあることを指す。

【0044】

本開示を通じて、様々な刊行物、特許および公開された特許明細書が、識別引用によってまたはアラビア数字によって参照されている。アラビア数字によって識別される刊行物の完全な引用は、特許請求の範囲の直前に記載されている。これらの刊行物、特許および公開された特許明細書の開示は、本発明が関係する分野の技術水準をより完全に説明するために、参照によりその全体が本開示に組み込まれる。

【0045】

定義

別段の記述がなければ、本技術の実施は、本分野の技術範囲に属する、有機化学、薬理学、免疫学、分子生物学、微生物学、細胞生物学および組換えDNAの従来技術を使用する。たとえば、Sambrook, Fritsch and Maniatis, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition (1989); Current Protocols In Molecular Biology (F. M. Ausubelら、eds., (1987)); the series Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.): PCR 2: A Practical Approach (M. J. MacPherson, B. D. Hames and G. R. Taylor eds. (19

10

20

30

40

50

95)) , Harlow and Lane, eds. (1988) Antibodies , a Laboratory Manual, and Animal Cell Culture (R. I. Freshney, ed. (1987)) を参照されたい。

【0046】

本発明の説明および添付の特許請求の範囲で使用されるように、単数形「a」、「an」および「the」は、文脈が明確に別段の指示をしない限り、複数形も含むことを意図している。

【0047】

本明細書において使用される場合、「含む」という用語は、組成物および方法が表記された要素を含むが、他の要素を除外しないことを意味することが意図される。本明細書で使用される場合、から本質的になるという移行句（および文法的変形）は、列挙された材料またはステップ、ならびに列挙された実施形態の基本的なおよび新規の特性に実質的に影響を及ぼさない材料またはステップを包含すると解釈されるべきである。これらの特徴は、方法の実施形態において列挙される。したがって、本明細書で使用される「から本質的になる」という用語は、「含む」と同等であると解釈されるべきではない。「からなる」とは、微量を超えるその他の成分および本明細書に開示されている組成物を投与するための実質的な方法ステップを除外することを意味するものとする。これらの移行語の各々によって定義される態様は、本開示の範囲に属する。

【0048】

量または濃度などの測定可能な値を指すときに本明細書で使用される「約」という用語は、指定された量の20%、10%、5%、1%、0.5%、またはさらには0.1%の変動を包含することが意図される。

【0049】

本明細書に開示される任意の成分、範囲、剤形などの選択を説明するために使用される場合の「許容され得る」、「有効な」、または「十分な」という用語は、前記成分、範囲、剤形などが開示された目的に対して適切であることを意図する。

【0050】

本明細書において使用される場合、「および／または」は、関連する列記された項目の1つまたはそれより多くのあらゆるすべての可能な組み合わせのみならず、選択的に（「or」）解釈される場合には、組み合わせの欠如も表し、これらを包含する。

【0051】

本明細書で使用される「細胞」という用語は、原核細胞または真核細胞のいずれかを指し得、必要に応じて、対象または市販の入手源から取得される。

【0052】

「真核細胞」 モネラ界を除く全ての生物界。真核細胞は、膜に結合された核を通じて容易に識別することができる。動物、植物、真菌および原生生物は、真核生物、すなわち、内部の膜および細胞骨格によって、その細胞が複雑な構造へと組織されている生物である。最も特徴的な膜に結合された構造は核である。具体的に記載されていなければ、「宿主」という用語には、例えば、酵母、高等植物、昆虫および哺乳動物の細胞を含む、真核生物宿主が含まれる。真核細胞または真核生物宿主の非限定的な例には、サル、ウシ、ブタ、マウス、ラット、トリ、爬虫類およびヒト、例えば、HEK293細胞および293T細胞が含まれる。

【0053】

通常、核またはいずれかの他の膜結合型細胞小器官を欠く「原核細胞」は、細菌と古細菌という2つのドメインに分けられる。これらの細胞は、染色体DNAに加えて、エピソードと呼ばれる環状ループ中に遺伝情報を含むこともできる。細菌細胞は非常に小さく、およそ動物のミトコンドリアのサイズである（直径約1~2 μm、長さ10 μm）。原核細胞は、棒形状、球形およびらせん状という3つの主要な形状を特徴としている。真核生物のような精巧な複製過程を経る代わりに、細菌細胞は二分裂によって分裂する。例としては、Bacillus細菌、大腸菌およびSalmonella細菌などがあるが

10

20

30

40

50

、これらに限定されない。

【0054】

核酸配列に対して適用される場合の「コードする」という用語は、その原型の状態または当業者に周知の方法によって操作された場合に、転写および／または翻訳されてポリペプチドおよび／またはその断片に対するmRNAを産生することができれば、ポリペプチドを「コードする」と称されるポリヌクレオチドを表す。アンチセンス鎖は、このような核酸の相補物であり、コード配列はアンチセンス鎖から推定することができる。

【0055】

「同等物」または「生物学的同等物」という用語は、特定の分子、生物学的または細胞材料を指すときに互換的に使用され、所望の構造または機能をなお維持しながら最小限の相同性を有するものを意図する。同等のポリペプチドの非限定的な例には、少なくとも60%、もしくは少なくとも65%、もしくは少なくとも70%、もしくは少なくとも75%、もしくは80%、もしくは少なくとも85%、もしくは少なくとも90%、もしくは少なくとも95%の同一性を有するポリペプチドもしくはポリペプチド配列、または高ストリンジエンシーの条件下でこのようなポリペプチド配列をコードするポリヌクレオチドとハイブリッド形成するポリヌクレオチドもしくはその相補物によってコードされるポリペプチドが含まれる。高ストリンジエンシーの条件は、本明細書に記載されており、参照により本明細書に組み込まれる。あるいは、その同等物とは、参照ポリヌクレオチド、例えば野生型ポリヌクレオチドに対して、少なくとも70%、または少なくとも75%、または80%、または少なくとも85%、または少なくとも90%、または少なくとも95%の同一性、または少なくとも97%の配列同一性を有するポリヌクレオチドまたはその相補物によってコードされるポリペプチドである。一態様において、同等のポリペプチドまたはポリヌクレオチドは、それぞれ参照ポリペプチドまたはポリヌクレオチドと同一のまたは実質的に同様の生物学的機能、例えば、本明細書に記載の適切な細胞アッセイまたは動物モデルによって決定される細胞溶解機能、抗腫瘍機能、抗転移機能または抗がん機能を有する。

【0056】

同等のポリペプチドの非限定的な例には、参照ポリヌクレオチドに対して、少なくとも60%、または少なくとも65%、または少なくとも70%、または少なくとも75%、または80%、または少なくとも85%、または少なくとも90%、または少なくとも95%、または少なくとも97%の同一性を有するポリヌクレオチドが含まれる。同等物は、高ストリンジエンシーの条件下で参照ポリヌクレオチドとハイブリッド形成するポリヌクレオチドまたはその相補物も意図する。

【0057】

別の配列に対してあるパーセンテージ（例えば、80%、85%、90%または95%）の「配列同一性」を有するポリヌクレオチドまたはポリヌクレオチド領域（またはポリペプチドもしくはポリペプチド領域）は、整列されたときに、2つの配列を比較すると、そのパーセンテージの塩基（またはアミノ酸）が同一であることを意味する。アラインメントおよびパーセント相同性または配列同一性は、本分野において公知のソフトウェアプログラム、例えば、Current Protocols in Molecular Biology (Ausubelら、eds. 1987) Supplement 30, section 7.7.18, Table 7.7.1に記載されているものを用いて決定することができる。特定の実施形態では、初期設定パラメータがアラインメントのために使用される。非限定的な例示的なアラインメントプログラムは、初期設定パラメータを使用するBLASTである。特に、例示的なプログラムには、以下の初期設定パラメータを使用するBLASTNおよびBLASTPが含まれる。遺伝暗号＝標準；フィルター＝なし；鎖＝両方；カットオフ＝60；期待値＝10；行列＝BLOSUM62；ディスクリプション＝50配列；ソート＝高スコア；データベース＝非冗長、GenBank+EMBL+DDBJ+PDB+GenBank CDS翻訳+SwissProtein+SwissProt+PIR。これらのプログラムの詳細は、以下のインターネットアドレス

: ncbi.nlm.nih.gov/cgi-bin/BLASTに見出すことができる。配列同一性およびパーセント同一性は、それらを [clustalw](http://genome.jp/tools/clustalw/) (Webアドレス: genome.jp/tools/clustalw/) で入手可能、最終アクセス日は2017年1月13日) 中に組み込むことで決定することができる。

【0058】

「相同性」または「同一性」または「類似性」は、2つのペプチド間または2つの核酸分子間の配列類似性を指す。相同性は、比較のために整理され得る各配列中の位置を比較することによって決定することができる。比較された配列中の位置が同一の塩基またはアミノ酸によって占められるときに、その分子はその位置において相同である。配列間の相同性の程度は、これらの配列によって共有される合致または相同な位置の数の関数である。 「無関係の」または「非相同な」配列は、本開示の配列の1つと40%未満の同一性、または25%未満の同一性を共有する。

10

【0059】

「相同性」または「同一性」または「類似性」はまた、ストリンジェントな条件下でハイブリッド形成する2つの核酸分子を指すこともある。

【0060】

「ハイブリダイゼーション」は、1またはそれを超えるポリヌクレオチドが反応してヌクレオチド残基の塩基間の水素結合を介して安定化された複合体を形成する反応を表す。水素結合は、ワトソン・クリック塩基対形成、フーグスティーン結合によって、または任意の他の配列特異的様式で起こり得る。複合体は、二本鎖構造を形成する2つの鎖、多重鎖複合体を形成する3もしくはそれを超える鎖、単一の自己ハイブリッド形成鎖もしくはこれらの任意の組み合わせを含み得る、またあるいは二本鎖構造を形成する2つの鎖、多重鎖複合体を形成する3もしくはそれを超える鎖、単一の自己ハイブリッド形成鎖もしくはこれらの任意の組み合わせから本質的になり得る、またはなおさらに二本鎖構造を形成する2つの鎖、多重鎖複合体を形成する3もしくはそれを超える鎖、単一の自己ハイブリッド形成鎖もしくはこれらの任意の組み合わせからなり得る。ハイブリダイゼーション反応は、PCR反応の開始またはリボザイムによるポリヌクレオチドの酵素的切断などの、より大規模な過程中のステップを構成し得る。

20

【0061】

ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の例としては、約25℃～約37℃のインキュベーション温度；約6×SSC～約10×SSCのハイブリダイゼーション緩衝液濃度；約0%～約25%のホルムアミド濃度；および約4×SSC～約8×SSCの洗浄溶液が挙げられる。穏やかなハイブリダイゼーション条件の例としては、約40℃～約50℃のインキュベーション温度；約9×SSC～約2×SSCの緩衝液濃度；約30%～約50%のホルムアミド濃度；および約5×SSC～約2×SSCの洗浄溶液が挙げられる。高いストリンジェンシーの条件の例としては、約55℃～約68℃のインキュベーション温度；約1×SSC～約0.1×SSCの緩衝液濃度；約55%～約75%のホルムアミド濃度；および約1×SSC、0.1×SSCの洗浄溶液または脱イオン水が挙げられる。一般に、ハイブリダイゼーションのインキュベーション時間は、5分～24時間であり、1、2またはそれを超える洗浄工程を有し、洗浄のインキュベーション時間は、約1、2または15分である。SSCは、0.15M NaClおよび15mMシトレート緩衝液である。他の緩衝液系を使用するSSCの同等物を使用することが理解される。

30

【0062】

本明細書において使用される場合、「発現」は、ポリヌクレオチドがmRNAに転写される過程および／または転写されたmRNAが、続いて、ペプチド、ポリペプチドもしくはタンパク質に翻訳される過程を表す。ポリヌクレオチドがゲノムDNAに由来する場合、発現は真核細胞中でのmRNAのスプライシングを含み得る。

40

【0063】

「遺伝子」は、転写および翻訳された後に特定のポリペプチドまたはタンパク質をコードすることができる少なくとも1つのオープンリーディングフレーム(ORF)を含有す

50

るポリヌクレオチドを指す。「遺伝子産物」または「遺伝子発現産物」は、遺伝子が転写および翻訳されるときに生成されるアミノ酸（例えば、ペプチドまたはポリペプチド）を指す。

【0064】

「転写制御下」は、当技術分野で十分に理解されている用語であり、ポリヌクレオチド配列、通常はDNA配列の転写が、転写の開始に寄与する、または転写を促進する要素に機能的に連結されていることに依存することを示す。「機能的に連結された」は、ポリヌクレオチドが細胞内で機能できるように、ポリヌクレオチドが配置されていることを意図する。一態様において、本発明は、下流配列、例えば、HSV病原性遺伝子またはその変異体に機能的に連結されたプロモーターを提供する。

10

【0065】

ポリヌクレオチドに対して適用される場合の「コードする」という用語は、その原型の状態または当業者に周知の方法によって操作された場合に、転写および／または翻訳されてポリペプチドおよび／またはその断片に対するmRNAを産生することができれば、ポリペプチドを「コードする」と称されるポリヌクレオチドを表す。アンチセンス鎖は、このような核酸の相補物であり、コード配列はアンチセンス鎖から推定することができる。

【0066】

本明細書において使用される場合、「単離された」という用語は、実質的に他の材料が存在しない分子または生物製剤または細胞性材料を表す。

【0067】

本明細書で使用される場合、「機能的」という用語は、特定の指定された効果を達成することを意図するために、任意の分子、生物製剤または細胞材料を修飾するために使用され得る。

20

【0068】

本明細書において使用される場合、「核酸配列」および「ポリヌクレオチド」という用語は、リボヌクレオチドまたはデオキシリボヌクレオチドのいずれかである、任意の長さのヌクレオチドのポリマー性形態を表すために互換的に使用される。このため、本用語には、一本鎖、二本鎖もしくは多重鎖DNAもしくはRNA、ゲノムDNA、cDNA、DNA-RNAハイブリッドまたはプリンおよびピリミジン塩基もしくは他の天然の、化学的にもしくは生化学的に修飾された、非天然のもしくは誘導体化されたヌクレオチド塩基を含む、またはあるいはそれから本質的になる、またはなおさらにそれからなるポリマーが含まれるが、これらに限定されない。

30

【0069】

「野生型」という用語は、天然に存在する供給源から単離された場合にその遺伝子または遺伝子産物の特徴を有する遺伝子または遺伝子産物を指す。いくつかの実施形態において、野生型遺伝子または遺伝子産物は、1つのウイルス株に対してさえ、わずかに異なる配列を含む。

【0070】

「変異体」という用語は、野生型遺伝子もしくは遺伝子産物または他の変異体株（複数可）由来の遺伝子もしくは遺伝子産物と比較した場合に、配列および／または機能的特性の修飾（すなわち、変更された特徴）を示す遺伝子または遺伝子産物を指す。一実施形態において、他の変異体株は、17TermA株またはrR450株を含む。

40

【0071】

「変異」という用語は、野生型または他の変異体株（複数可）からのDNA配列の変動を指す。変異は、生物において機能特性を生成するか、または生成しない。挿入、欠失、切断、フレームシフト、置換または点変異を含むがこれらに限定されないが、複数の種類の変異が存在する。

【0072】

「点変異」という用語は、遺伝物質であるDNAまたはRNAの単一ヌクレオチド塩基の変化、挿入または欠失を伴う変異を指す。

50

【0073】

「欠失」は、染色体の一部またはDNAの配列が欠損している変異を指す。

【0074】

「フレームシフト」は、3で割り切れないDNA配列中のいくつかのヌクレオチドのインデル（挿入または欠失）によって引き起こされる変異を指す。

【0075】

「置換」は、遺伝子の1個または数個のヌクレオチドの置換を伴う変異を指す。

【0076】

「切断」は、タンパク質分解もしくは構造遺伝子の操作によるタンパク質のN末端もしくはC末端部分の除去、またはナンセンス変異の結果としてのその構造遺伝子内の終止コードの存在に起因するタンパク質伸長の早期終結を伴う変異を指す。

【0077】

いくつかの実施形態において、変異は非同義変異である。「非同義変異」という用語は、タンパク質のアミノ酸配列を変化させる変異を指し、アミノ酸配列を変化させない同義変異と対比される。

【0078】

本明細書において使用される場合、「プロモーター」という用語は、遺伝子などのコード配列の発現を制御する任意の配列を表す。プロモーターは、例えば、恒常的、誘導性、抑制可能または組織特異的であり得る。「プロモーター」は、そこにおいて転写の開始および速度が調節されるポリヌクレオチド配列の領域である調節配列である。プロモーターは、RNAポリメラーゼおよび他の転写因子などの調節タンパク質および分子がそこに結合し得る遺伝要素を含有し得る。非限定的な例示的なプロモーターには、ラウス肉腫ウイルス(RSV)LTRプロモーター（必要に応じて、RSVエンハンサーを伴う）、サイトメガロウイルス(CMV)プロモーター、SV40プロモーター、ジヒドロ葉酸還元酵素プロモーター、β-アクチンプロモーター、ホスホグリセロールキナーゼ(PGK)プロモーター、U6プロモーターまたはEF1プロモーターが含まれる。いくつかの実施形態において、プロモーターは、ニワトリβ-アクチン(「CBA」)プロモーターである。

【0079】

特定の標的特異性を有するさらなる非限定的な例示的なプロモーターが本明細書の以下に記載されており、CMV、EF1a、SV40、PGK1（ヒトまたはマウス）、P5、Ubc、ヒトβアクチン、CAG、TRE、UAS、Ac5、ポリヘドリン、CaMKIIa、Gal1、TEF1、GDS、ADH1、CaMV35S、Ubi、H1、U6およびα-1-アンチトリプシンが含まれるが、これらに限定されない。合成由来のプロモーターは、遍在的または組織特異的な発現のために使用され得る。さらに、そのいくつかの上に記されているウイルス由来のプロモーター、例えば、CMV、HIV、アデノウイルスおよびAAVプロモーターは、本明細書に開示される方法において有用であり得る。いくつかの実施形態において、プロモーターは、転写効率を増大させるためにエンハンサーに結合される。

【0080】

エンハンサーは、標的配列の発現を増加させる調節エレメントである。「プロモーター／エンハンサー」は、プロモーターおよびエンハンサー機能の両方を提供することができる配列を含有するポリヌクレオチドである。たとえば、レトロウイルスの末端反復配列は、プロモーター機能とエンハンサー機能の両方を含む。エンハンサー／プロモーターは、「内因性」または「外因性」または「異種性」であり得る。「内因性」エンハンサー／プロモーターは、自然の状態で、ゲノム中の特定の遺伝子と連結されているものである。「外因性」または「異種性」エンハンサー／プロモーターは、その遺伝子の転写が連結されたエンハンサー／プロモーターによって誘導されるように、遺伝子操作（すなわち、分子生物学的技術）を用いて遺伝子に並置されているエンハンサー／プロモーターである。

【0081】

本明細書で使用する「腫瘍特異的なプロモーターまたは組織特異的なプロモーター」とい

10

20

30

40

50

用語は、所望の腫瘍細胞または組織中で特異的に、そのプロモーターの制御下にある遺伝子の発現を可能にするプロモーターを意味する。本発明において使用され得る組織特異的プロモーターの非限定的な例としては、前立腺特異抗原（PSA）プロモーター、前立腺特異的膜抗原（PSMA）プロモーター、カゼインプロモーター、IgGプロモーター、絨毛性胚性抗原プロモーター、エラスターゼプロモーター、ボルフォビリノーゲンデアミナーゼプロモーター、インスリンプロモーター、成長ホルモン因子プロモーター、アセチルコリン受容体プロモーター、アルコールデヒドロゲナーゼプロモーターおよび α または β グロビンプロモーターが挙げられる。

【0082】

本発明で使用されるべき腫瘍特異的プロモーターの非限定的な例としては、テロメラゼ逆転写酵素プロモーター、グリア線維酸性タンパク質プロモーター、E2Fプロモーター、サバインプロモーター、COX-2プロモーター、EGD-2プロモーター；ELF-1プロモーター；低酸素特異的プロモーター；癌胎児性抗原プロモーターおよびストロメリン3プロモーターが挙げられる。

【0083】

「凍結保存剤」という用語は、1またはそれを超える、組織、ウイルスまたはその他の生物学的因子を、損傷されることまたは損なわれることから保護することができる化合物または材料を指す。凍結保存剤の例としては、コンドロイチン硫酸、グリコサミノグリカン ジメチルスルホキシド、細胞透過性有機溶質、多糖類、グリセロール、ダルベッコ最小必須培地（DMEM）、グルタミン、D-グルコース、ピルビン酸ナトリウム、ウシ胎児血清、パパベリン、DMSO、グリセロール、トレハロース、KH₂PO₄、K₂HPO₄、KCl、マンニトール、NaHCO₃、アスコルビン酸ナトリウム、1,2-プロパンジオール、ホルムアミド、2,3-ブタンジオール、プロブコール、クルクミンおよびこれらの混合物が挙げられるが、これらに限定されない。

【0084】

「タンパク質」、「ペプチド」および「ポリペプチド」という用語は互換的に使用され、これらの最も広い意味において、アミノ酸、アミノ酸類縁体またはペプチド模倣物の2またはそれを超えるサブユニットの化合物を表す。サブユニットは、ペプチド結合によって連結され得る。別の態様において、サブユニットは、他の結合、例えば、エステル、エーテルなどによって連結され得る。タンパク質またはペプチドは、少なくとも2つのアミノ酸を含有しなければならず、タンパク質の配列またはペプチドの配列を構成し得る、もしくははあるいはそれから本質的になり得る、もしくははなおさらにそれからなり得る、それを構成し得る、もしくははあるいはそれから本質的になり得る、もしくははなおさらにそれからなり得る、アミノ酸の最大数に制限はない。本明細書において使用される場合、「アミノ酸」という用語は、グリシンならびにDおよびL型光学異性体の両方、アミノ酸類縁体およびペプチド模倣物を含む、天然および／または非天然もしくはは合成アミノ酸のいずれかを表す。

【0085】

本明細書で使用される場合、「ベクター」という用語は、例えば形質転換の過程によって細胞内に配置されたときにベクターが複製され得るような無傷のレプリコンを含む、もしくははあるいはそれから本質的になる、もしくははなおさらにそれからなる、非染色体核酸を指す。ベクターは、ウイルス性または非ウイルス性であり得る。ウイルスベクターには、レトロウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス（「HSV」）、バキュロウイルス、改変されたバキュロウイルス、パポウイルスまたはその他に改変された天然に存在するウイルスが含まれる。核酸を送達するための例示的な非ウイルス性ベクターには、裸のDNA；単独でまたは陽イオン性ポリマーと組み合わせて、陽イオン性脂質と複合体を形成したDNA；陰イオン性および陽イオン性リポソーム；DNA-タンパク質複合体および異種ポリリジン、規定された長さのオリゴペプチドおよびポリエチレンイミンなどの、場合によってリポソーム中に含有された陽イオン性ポリマーと縮合したDNAを含む、もしくははあるいはそれから本質的になる、もしくははなおさらにそれからなる、粒子；な

10

20

30

40

50

らびにウイルスとポリリジン-DNAを含む、もしくはあるいはそれから本質的になる、もしくはなおさらにそれからなる、三元複合体の使用が含まれる。

【0086】

「ウイルスベクター」は、インビボ、エキスビボまたはインビトロのいずれかで、宿主細胞中に送達されるべきポリヌクレオチドを含む、もしくはあるいはそれから本質的になる、もしくはなおさらにそれからなる、組換え的に産生されたウイルスまたはウイルス粒子として定義される。ウイルスベクターの例には、レトロウイルスベクター、HSVベクター、AAVベクター、レンチウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アルファウイルスベクターなどが含まれる。セムリキ森林ウイルススペースのベクターおよびシンドビスウイルススペースのベクターなどのアルファウイルスベクターも、遺伝子治療および免疫治療において使用するために開発されてきた。Schlesinger and Dubensky (1999) Curr. Opin. Biotechnol. 5: 434-439 および Ying et al. (1999) Nat. Med. 5 (7): 823-827 を参照のこと。

【0087】

別の実施形態では、HSV病原性タンパク質（例えば、野生型または変異体）の発現は、誘導性プロモーターであるプロモーターによって制御される。特定の関連する実施形態において、プロモーターは、誘導性テトラサイクリンプロモーターである。Tet-Off および Tet-On 遺伝子発現系により、研究者は、Tet-Off および Tet-On として記述された制御された高レベルの遺伝子発現系を直ちに利用できる。Tet-Off 系では、テトラサイクリン (Tc) またはドキシサイクリン (Dox; Tc 誘導体) が培地から除去されると、遺伝子発現がオンになる。対照的に、Tet-On 系では、Dox を追加することによって、発現がオンになる。いずれの系でも、Tc または Dox の濃度の変化に応じて遺伝子発現を厳密に制御できる。Tet 系での最大発現レベルは非常に高く、CMV などの強力な恒常的哺乳動物プロモーターから得られる最大レベルと比べて遜色がない。他の誘導性哺乳動物発現系とは異なり、Tet 系における遺伝子調節は高度に特異的であるため、多面発現効果または非特異的誘導によって、結果の解釈が複雑化することがない。大腸菌では、Tet リプレッサータンパク質 (TetR) が Tn10 トランスポゾン上のテトラサイクリン耐性オペロンの遺伝子を負に調節する。TetR は、Tc の不存在下で tet オペレーター配列 (tetO) に結合することにより、これらの遺伝子の転写を遮断する。TetR および tetO は、哺乳類の実験系において使用するための調節および誘導の基礎を提供する。Tet-on 系では、調節タンパク質は、TetR 中の4つのアミノ酸変化によって作出された「リバース」Tet リプレッサー (rtTetR) に基づく (Hillen および Berens, Mechanisms underlying expression of Tn10 encoded tetracycline resistance. Annu Rev Microbiol. 1994; 48: 345-69; Gossen ら, Transcriptional activation by tetracyclines in mammalian cells. Science. 1995 Jun 23; 268 (5218): 1766-9)。得られたタンパク質 rtTA (リバース tTA はテトラサイクリン活性化タンパク質とも呼ばれる) は、pTet-On 調節プラスミドによってコードされている。

【0088】

関連する実施形態において、ベクターは、さらに、テトラサイクリン活性化タンパク質をコードする核酸およびテトラサイクリン活性化タンパク質の発現を調節するプロモーターを含み、またはこれらから本質的になり、またはこれらからなる。

【0089】

本明細書に記載されたベクター、単離された細胞、ウイルスパッケージング系および方法において有用なその他の誘導性の系には、エクジソン、エストロゲン、プロゲステロン、二量体化の化学的誘導物質およびイソプロピル-β-D1-チオガラクトピラノシド (IPTG) による調節が含まれる。

【0090】

本明細書で使用される場合、「組換え発現系」または「組換えベクター」という用語は、組換えによって形成された特定の遺伝物質の発現のための1つまたは複数の遺伝的構築物を指す。

【0091】

「遺伝子送達ビヒクル」は、挿入されたポリヌクレオチドを宿主細胞中に運ぶことができる任意の分子として定義される。遺伝子送達ビヒクルの例は、リポソーム、ミセル、天然ポリマーおよび合成ポリマーを含む生体適合性ポリマー；リボタンパク質；ポリペプチド；多糖類；リポ多糖；人工ウイルスエンベロープ；金属粒子；および細菌、またはバキュロウイルス、アデノウイルスおよびレトロウイルスなどのウイルス、バクテリオファージ、コスミド、プラスミド、真菌ベクターならびに様々な真核生物および原核生物宿主中での発現について記載されており、単純なタンパク質発現のための他、遺伝子治療のために使用され得る当技術分野で典型的に使用されるその他の組換えビヒクルである。

【0092】

本明細書に開示されるポリヌクレオチドは、遺伝子送達ビヒクルを使用して細胞または組織に送達することができる。本明細書で使用される「遺伝子送達」、「遺伝子導入」、「形質導入」などは、導入のために使用される方法とは関係なく、宿主細胞中への外因性ポリヌクレオチド（「導入遺伝子」と呼ばれることもある）の導入を指す用語である。このような方法には、ベクター媒介性遺伝子導入（例えば、ウイルス感染／形質移入、または他の様々なタンパク質ベースまたは脂質ベースの遺伝子送達複合体による）などの様々な周知の技術、ならびに「裸の」ポリヌクレオチドの送達を促進する技術（電気穿孔、「遺伝子銃」送達およびポリヌクレオチドの導入のために使用される他のさまざまな技術など）が含まれる。導入されたポリヌクレオチドは、宿主細胞において安定的にまたは一過性に維持され得る。安定した維持には、導入されたポリヌクレオチドが、宿主細胞と適合性を有する複製起点を含有すること、または染色体外レプリコン（例えば、プラスミド）などの宿主細胞のレプリコン中にもしくは核もしくはミトコンドリアの染色体中に組み込まれることが通例必要とされる。当技術分野において公知であり、本明細書に記載されているように、多くのベクターが、哺乳動物細胞への遺伝子の導入を媒介することができることが知られている。

【0093】

「プラスミド」は、染色体DNAとは独立して複製することができる、染色体DNAとは別個の染色体外DNA分子である。多くの場合、プラスミドは環状であり、二本鎖である。プラスミドは、微生物の集団内での水平的な遺伝子導入のための機序を提供し、通例、所定の環境状態下での選択における利点を提供する。プラスミドは、競争的な生態的地位において、天然に存在する抗生物質に対する耐性を付与する遺伝子を運搬し得、または産生されるタンパク質が同様の状況下で毒素として作用し得る。

【0094】

遺伝子工学において使用される「プラスミド」は、「プラスミドベクター」と呼ばれる。多くのプラスミドがこのような用途のために市販されている。複製されるべき遺伝子は、特定の抗生物質に対して細胞を耐性にする遺伝子とDNA断片をこの位置に挿入することを容易にする一般的に使用される数個の制限部位を含有する短い領域である多重クローニング部位（MCS、またはポリリンカー）とを含有するプラスミドのコピー中に挿入される。プラスミドのもう1つの主な用途は、大量のタンパク質を作ることである。この場合、研究者は関心対象の遺伝子を有するプラスミドを含有する細菌を増殖させる。細菌が抗生物質耐性を与えるタンパク質を産生するのと同じように、挿入された遺伝子から大量のタンパク質を産生するように細菌を誘導することもできる。

【0095】

本明細書で使用される「単純ヘルペスウイルス」または「HSV」という用語は、本発明の効果を生じる単純ヘルペスウイルスを意味し、野生型または変異体単純ヘルペスウイルスが含まれる。一実施形態において、変異体非天然HSVは、野生型HSVの遺伝子の

10

20

30

40

50

いずれかを変異もしくは修飾することによって、または外因性遺伝子のいずれかを挿入することによって得られる。HSVの血清型は、1型HSV（またはHSV-1）もしくは2型HSV（またはHSV-2）を含む、あるいは1型HSV（またはHSV-1）もしくは2型HSV（またはHSV-2）から本質的になる、またはなおさらに1型HSV（またはHSV-1）もしくは2型HSV（またはHSV-2）からなる。HSV-1は、エンベロープに包まれた二本鎖DNAウイルスである。一実施形態において、HSV-1はヒト細胞に感染することができる。別の実施形態において、配列、1つの遺伝子または複数の遺伝子をHSV-1に組み込むことができる。組み込まれる配列のサイズは、およそ1塩基、5塩基、10塩基、100塩基、1kb、10kb、100kbまたは150kbであり得る。HSV-1は、比較的低い感染多重度（MOI）で細胞溶解を誘導することができ、その増殖は抗ウイルス薬によって阻害することができる。一実施形態において、HSVウイルスDNAは、宿主細胞のゲノム中に組み込まれることなく染色体の外側に留まる。HSV-1は、様々な株（例えば、KOSおよびMcKrae）を包含することができる。Wangら、（2013）Virus Res. 173（2）：436-440を参照されたい。一実施形態において、HSV-1はHSV-1 KOS株である。別の実施形態において、HSV-1はHSV-1 McKrae株である。

【0096】

いくつかのHSV変異体、例えば、17TermA HSVおよびrRp450 HSVが存在する。「17TermA HSV」という用語は、ICP34.5遺伝子全体を含むが、100bpのコード領域の前に終止コドンが挿入されており、タンパク質発現の早期終結および30アミノ酸の切断されたタンパク質の発現をもたらす変異体HSV-1ウイルスを指す。17TermA HSV変異体は、切断されたICP34.5タンパク質のために、成長欠陥を示す。Orvedahlら、（2007）Cell Host & Microbe, 1：1, 23-25を参照されたい。「rRp450」という用語は、ウイルスにコードされたリボヌクレオチド還元酵素またはICP6が欠損した弱毒化された単純ヘルペス1ベクターを指す。Aghi Mら、（1999）Cancer Res., 59（16）：3861-5を参照されたい。

【0097】

HSVゲノムは、糖タンパク質E（「gE」）、感染細胞タンパク質0（「ICP0」）、感染細胞タンパク質6（「ICP6」）、DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1、感染細胞タンパク質8（「ICP8」）および感染細胞タンパク質34.5（「ICP34.5」）を含むがこれらに限定されない複数の病原性タンパク質をコードする。例示的なHSV1ゲノムは、NCBI参照配列：NC_001806.2、2020年3月13日に最終アクセス、において見出すことができる。

【0098】

「gEをコードする遺伝子」という用語は、gEタンパク質をコードする遺伝子またはそのDNA断片を指す。例示的なgEをコードする遺伝子は、NCBI参照配列：NC_001806.2において、HSV-1ゲノム配列の33～2555位に同定することができる。「ICP6タンパク質」という用語は、HSVゲノムによってコードされる感染細胞タンパク質6を指す。ICP6は、リボヌクレオチド還元酵素（「RR」）のサブユニットであり、非分裂細胞におけるヌクレオチド代謝およびウイルスDNA合成のための重要な酵素である。

【0099】

「機能不全」タンパク質は、元のタンパク質の損なわれた機能を有するまたは元のタンパク質の機能を有しないタンパク質を表す。一実施形態において、機能不全タンパク質は、コード配列中の欠失または置換によって引き起こされる。例えば、機能不全ICP6遺伝子が欠失または不活化であるため、HSVは正常な非分裂細胞中で複製することができない。しかしながら、増加したRR活性を有する活発に分裂している細胞においては、ウイルスの欠損した酵素活性が補われ、ウイルスは複製することが可能になる。ICP34.5のDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号1、2、および5～10に提供されている

10

20

30

40

50

。g EのDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号12～19に提供されている。ICP0のDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号20～26に提供されている。DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1のDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号35～42に提供されている。ICP8のDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号27～34に提供されている。ICP6のDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号43～50に提供されている。

【0100】

「ICP0をコードする遺伝子」という用語は、ICP0タンパク質をコードする遺伝子またはそのDNA断片を指す。ICP0の例示的なDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号20～26に提供されている。「DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1をコードする遺伝子」という用語は、DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1タンパク質またはペプチドをコードする遺伝子またはそのDNA断片を指す。DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1の例示的なDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号35～42に提供されている。「ICP8をコードする遺伝子」という用語は、ICP8タンパク質をコードする遺伝子またはそのDNA断片を指す。ICP8の例示的なDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号27～34に提供されている。「ICP34.5をコードする遺伝子」という用語は、ICP34.5タンパク質をコードする遺伝子またはそのDNA断片を指す。ICP34.5の例示的なDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号1、2および5～10に提供されている。「糖タンパク質E（「gE」）をコードする遺伝子」という用語は、gEタンパク質をコードする遺伝子またはそのDNA断片を指す。gEの例示的なDNAおよびアミノ酸配列は、配列番号12～19に提供されている。

【0101】

「遺伝子の欠失または不活化」という用語は、遺伝子の全部もしくは一部の欠失、または一部の塩基の置換、修飾、不要な配列の挿入などによる遺伝子の発現の抑制を意味する。HSV遺伝子（例えば、gE、ICP0およびICP8）の欠失または不活化は、当業者によって、公知の方法またはそれに基づく方法において実施することができる。例えば、相同組換えを用いる方法を使用することができる。例えば、HSV遺伝子の一部とHSV遺伝子とは無関係の配列とを含有するDNA断片を適切なプラスミドベクター中にクローニングした後、これをHSV中に導入してHSV遺伝子の一部の領域中で相同組換えを起こすことにより、HSV遺伝子を分割し、不活化することができる。あるいは、HSV遺伝子の変異または欠失は、ウイルスの継代における自然変異によって引き起こされ得る。

【0102】

遺伝子導入が単純ヘルペスウイルスなどのDNAウイルスベクターによって媒介される態様において、ベクター構築物は、ウイルスのゲノムもしくはその一部と導入遺伝子を含む、またはあるいはウイルスのゲノムもしくはその一部と導入遺伝子から本質的になる、またはなおさらにウイルスのゲノムもしくはその一部と導入遺伝子からなるポリヌクレオチドを指す。したがって、一態様において、非天然HSVは、治療用ポリヌクレオチドまたはタンパク質をコードする導入遺伝子をさらに含む。

【0103】

プロモーターと、ポリヌクレオチドをその中に機能的に連結することができるクローニング部位とを両方を含有するベクターは、本分野において周知である。このようなベクターは、RNAをインビトロまたはインビボで転写することが可能であり、Agilent Technologies (Santa Clara, Calif.) および Promega Biotech (Madison, Wis.) などの入手先から商業的に入手可能である。発現および／またはインビトロでの転写を最適化するために、クローンの5' および／または3' 非翻訳部分を除去、追加または変更して、転写または翻訳のいずれかのレベルで発現を妨害または低下させ得る余分の潜在的な不適切な別の翻訳開始コドンまたはその他の配列を除去することが必要であり得る。あるいは、発現を増強するために、コンセンサスリボソーム結合部位を開始コドンのすぐ5' に挿入することができる。

【0104】

遺伝子送達ビヒクルには、DNA／リボソーム複合体、ミセ、および標的化されたウイルスタンパク質－DNA複合体も含まれる。標的化抗体またはその断片も含む、もしくはあるいはそれから本質的になる、もしくはなおさらにそれからなる、それを含む、もしくはあるいはそれから本質的になる、もしくはなおさらにそれからなる、リボソームは、本明細書に開示される方法において使用することができる。細胞または細胞集団へのポリヌクレオチドの送達に加えて、タンパク質形質移入の非限定的な技術によって、細胞または細胞集団への本明細書に記載されたタンパク質の直接的な導入を行うことが可能であり、あるいは本明細書に開示されたタンパク質の発現を増強しおよび／またはその活性を増大させることができる培養条件は他の非限定的な技術である。

【0105】

本明細書において使用される場合、「シグナルペプチド」または「シグナルポリペプチド」という用語は、新たに合成された分泌性または膜ポリペプチドまたはタンパク質のN末端終端に通常存在するアミノ酸配列を意図する。「シグナルペプチド」または「シグナルポリペプチド」は、ポリペプチドを特定の細胞位置に、例えば、細胞膜を横切って、細胞膜中にまたは核内に誘導するように作用する。いくつかの実施形態において、シグナルペプチドは、局在化の後に除去される。シグナルペプチドの例は、当技術分野において周知である。非限定的な例は、米国特許第8,853,381号、同第5,958,736号および同第8,795,965号に記載されているものである。

【0106】

一態様において、HSVは検出可能に標識される。本明細書で使用される場合、「標識」という用語は、「標識された」組成物を生成するために、検出されるべき組成物、例えば、ポリヌクレオチドまたは抗体などのタンパク質に直接的または間接的に接合される直接的または間接的に検出可能な化合物または組成物を意味する。本用語は、緑色蛍光タンパク質（GFP）などの、挿入された配列の発現時にシグナルを提供する、ポリヌクレオチドに接合された配列も含む。標識は、単独で検出可能であり得（例えば、放射性同位体標識または蛍光標識）、または酵素標識の場合には、検出可能である基質化合物または組成物の化学的变化を触媒し得る。標識は、小規模の検出に適することができ、または高処理スクリーニングにより適することができる。したがって、適切な標識には、放射性同位体、蛍光色素、化学発光化合物、色素、および酵素を含むタンパク質が含まれるが、これらに限定されない。標識は単に検出してもよく、または定量化してもよい。単に検出される応答は、一般に、その存在が単に確認されるだけの応答を含む、もしくはあるいはそれから本質的になる、もしくはなおさらにそれからなるのに対して、定量化される応答は、一般に、強度、極性化および／またはその他の特性などの定量化可能な（例えば、数値で報告可能な）値を有する応答を含む、もしくはあるいはそれから本質的になる、もしくはなおさらにそれからなる。発光または蛍光アッセイでは、検出可能な応答は、結合に実際に関与するアッセイ成分と会合した発光団もしくは蛍光団を使用して直接的に、または別の（例えば、レポーターまたは指示薬）成分と会合した発光団または蛍光団を使用して間接的に生成され得る。

【0107】

シグナルを生成する発光標識の例には、生物発光および化学発光が含まれるが、これらに限定されない。検出可能な発光応答は、一般に、発光信号の変化または発生を含む、もしくはあるいはそれから本質的になる、もしくはなおさらにそれからなる。アッセイ成分を発光標識するための適切な方法および発光団は当技術分野において公知であり、例えば、Haugland, Richard P. (1996) Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals (6th ed.)に記載されている。発光プローブの例には、エクオリンおよびルシフェラーゼが含まれるが、これらに限定されない。

【0108】

適切な蛍光標識の例には、フルオレセイン、ローダミン、テトラメチルローダミン、エオシン、エリスロシン、クマリン、メチルクマリン、ピレン、マラカイト（Malac i

10

20

30

40

50

te) グリーン、スチルベン、Lucifer Yellow、Cascade Blue (商標) および Texas Red が含まれるが、これらに限定されない。他の適切な光学色素は、Haugland, Richard P. (1996) Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals (6th ed.) に記載されている。

【0109】

別の態様では、蛍光標識は、細胞表面マーカーなどの、細胞または組織の表面中または表面上に存在する細胞成分への共有結合を促進するように官能基が付与されている。適切な官能基には、イソチオシアナート基、アミノ基、ハロアセチル基、マレイミド、スクシンイミジルエステルおよびハロゲン化スルホニルが含まれるが、これらに限定されず、これらのすべては、蛍光標識を第2の分子に付着させるために使用され得る。蛍光標識の官能基の選択は、リンカー、薬剤、マーカーまたは第2の標識剤のいずれかへの付着部位に依存する。

【0110】

蛍光標識の付着は、細胞成分もしくは化合物に直接的に、またはリンカーを介して行うことができる。蛍光標識を中間体に間接的に連結する際に使用するのに適した結合対には、抗原／抗体、例えば、ローダミン／抗ローダミン、ビオチン／アビジンおよびビオチン／ストレプトアビジンが含まれるが、これらに限定されない。

【0111】

「固体支持体」という語は、「培養プレート」、「遺伝子チップ」または「マイクロアレイ」などの非水性表面を指す。このような遺伝子チップまたはマイクロアレイは、当業者に公知の多くの技術によって診断および治療の目的のために使用することができる。1つの技術において、オリゴヌクレオチドは、米国特許第6,025,136号および同第6,018,041号に概説されているものなど、ハイブリダイゼーションアプローチによってDNA配列を決定するために遺伝子チップ上に付着および配列される。本発明のポリヌクレオチドは、プローブに改変することができ、プローブは、次いで、遺伝子配列の検出に使用することができる。このような技術は、例えば、米国特許第5,968,740号および同第5,858,659号に記載されている。Kayemら、米国特許第5,952,172号およびKelleyら、(1999) Nucleic Acids Res. 27: 4830-4837によって記載されているように、プローブは、核酸配列の電気化学的検出のために、電極表面に付着させまたは貼り付けることもできる。

【0112】

「組成物」は、活性ポリペプチド、ポリヌクレオチドまたは抗体と、不活性（例えば、検出可能な標識）または活性（例えば、遺伝子送達ビヒクル）な別の化合物または組成物との組み合わせを意味することを意図している。

【0113】

「医薬組成物」は、活性ポリヌクレオチド、ポリヌクレオチドまたは抗体と、固体支持体などの不活性または活性な担体との組み合わせを含み、組成物をインビトロ、インビボまたはエキスピボでの診断または治療用途に適したものにすることが意図される。

【0114】

本明細書で使用される場合、「薬学的に許容され得る担体」という用語は、リン酸緩衝食塩水溶液、水、および油／水または水／油エマルジョンなどのエマルジョン、ならびに様々なタイプの湿潤剤などの標準的な薬学的担体のいずれをも包含する。組成物は、安定剤および防腐剤を含むこともできる。担体、安定剤および佐剤の例については、Martin (1975) Remington's Pharm. Sci., 15th Ed. (Mack Publ. Co., Easton) を参照されたい。

【0115】

診断または処置の「対象」は、細胞または哺乳動物などの動物またはヒトである。対象は特定の種に限定されず、診断または処置の対象となる非ヒト動物を含み、感染の対象となるものまたは動物モデル、例えば、サル、ラット、マウス、チンチラなどのネズミ科の

10

20

30

40

50

動物、イヌなどのイヌ科の動物、ウサギなどのウサギ科の動物、家畜、スポーツ用動物およびペットである。ヒトの患者もこの用語に含まれる。

【0116】

「組織」という用語は、本明細書では、生きているもしくは死んだ生物の組織、または生きているもしくは死んだ生物に由来し、もしくはこれを模倣するように設計された任意の組織を指すために使用される。組織は、健康であり得、病気であり得、および／または遺伝的変異を有し得る。生物学的組織は、任意の単一の組織（例えば、相互に接続され得る細胞の集合）、または生物の身体の器官または部分または領域を構成する組織の群を含み得る。組織は、均質な細胞物質を含み得る、もしくはあるいは均質な細胞物質から本質的になり得る、もしくはなおさらに均質な細胞物質からなり得る、均質な細胞物質を含み得る、もしくはあるいは均質な細胞物質から本質的になり得る、もしくはなおさらに均質な細胞物質からなり得るか、または、組織は、例えば肺組織、骨格組織および／または筋肉組織を含み得る胸部を含む身体の領域中に見出されるものなどの複合構造であり得る。例示的な組織には、肝臓、肺、甲状腺、皮膚、脾臓、血管、膀胱、腎臓、脳、胆管、十二指腸、腹部大動脈、腸骨静脈、心臓および腸（これらの任意の組み合わせを含む）に由来する組織が含まれるが、これらに限定されない。

10

【0117】

本明細書において使用される場合、対象中の疾患を「処置する」または対象中の疾患の「処置」は、（１）疾患の症候に対する素因があるもしくは疾患の症候をいまだ示していない対象において症候または疾患が起こることを予防すること、（２）疾患を阻止もしくはその発達を停止すること、または（３）疾患もしくは疾患の症候を軽減もしくは疾患もしくは疾患の症候の後退を引き起こすことを表す。本分野において理解されたとおり、「処置」は、臨床的結果を含む有益なまたは所望の結果を得るためのアプローチである。本技術において、有益なまたは所望の結果としては、１またはそれを超える症候の緩和または軽減、症状（疾患を含む）の程度の縮小、症状（疾患を含む）の安定化された（すなわち、悪化しない）状態、症状（疾患を含む）の遅延または減速、症状（疾患を含む）の進行、軽減または寛解、状態および緩解（部分的であるか、完全であるかを問わない）の１つまたはそれより多くを含むことができるが、これらに限定されず、検出可能かまたは検出不能かを問わない。

20

【0118】

本明細書で使用される場合、「有効量」という用語は、所望の効果を達成するのに十分な量を意味することを意図している。治療的または予防的適用の文脈において、有効量は、問題となっている症状の種類および重症度、ならびに一般的な健康、年齢、性別、体重および医薬組成物に対する耐性などの個々の対象の特徴に依存するであろう。遺伝子治療の文脈において、いくつかの実施形態では、有効量は、対象において欠損している遺伝子の部分的なまたは完全な機能の回復をもたらすのに十分な量である。一態様において、有効量は、細胞あたり０．００１～１の感染多重度（MOI）の感染性ウイルス粒子を、この間の範囲で与える量である。非限定的な例としては、１細胞あたり少なくとも０．００１、または少なくとも０．０１、または少なくとも０．１、または少なくとも１、または０．０１～１、または０．１～１、または約０．０１～０．１、または１未満、または０．１未満、または０．０１未満の感染性ウイルス粒子の感染多重度（MOI）が挙げられる。他の実施形態において、HSVウイルス粒子の有効量は、対象において細胞溶解をもたらすのに十分な量である。いくつかの実施形態において、有効量は、ガラクトース代謝の増加を必要とする対象においてガラクトース代謝を増加させるのに必要とされる量である。当業者は、これらのおよびその他の要因に応じて適切な量を決定することができるであろう。

30

40

【0119】

いくつかの実施形態において、有効量は、問題の適用の大きさおよび性質に依存するであろう。有効量は、目的の対象の性質および感受性ならびに使用されている方法にも依存する。当業者は、これらのおよびその他の考慮事項に基づいて有効量を決定することがで

50

きるであろう。有効量は、実施形態に応じて、組成物の1もしくはそれを超える投与を含み得る、またはあるいは組成物の1もしくはそれを超える投与から本質的になり得る、またはなおさらに組成物の1もしくはそれを超える投与からなり得る。

【0120】

本明細書で使用される場合、「投与する」または「投与」という用語は、動物またはヒトなどの対象への物質の送達を意味することを意図している。投与は、処置の過程を通じて継続的にまたは断続的に、例えば、腫瘍内にまたは静脈内に、1つの用量で影響されることができる。投与の最も有効な手段および投薬量を決定する方法は、当業者に公知であり、治療のために使用される組成物、治療の目的および処置されている対象の年齢、健康または性別によって変動する。単回または複数回の投与を実施することができ、用量レベルおよびパターンは、処置を行う医師によってまたはペットおよび動物の場合には処置を行う獣医師によって選択される。適切な投薬用製剤および薬剤を投与する方法は本分野において公知である。投与経路も決定することができ、最も効果的な投与経路を決定する方法は当業者に公知であり、処置のために使用される組成物、処置の目的、処置されている対象の健康状態または疾患段階および標的細胞または組織によって異なる。投与経路の非限定的な例には、直接および全身的、例えば、静脈内、動脈内、筋肉内、心臓内、髄腔内、脳室下、硬膜外、脳内、腫瘍内、頭蓋内、脳室内、網膜下、硝子体内、関節内、眼内、腹腔内、子宮内、皮内、皮下、経皮、経粘膜および吸入が含まれる。

【0121】

腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルス (oHSV)

腫瘍に対するoHSVの有効性は、直接的な細胞殺滅(溶解期)および抗がん免疫の増強(免疫期)に由来する。これらのウイルスは、がん細胞を選択的に標的とするために様々な方法で構築されてきた。がん選択性を達成するために、最も一般的な変異は、神経病原性遺伝子 $\gamma_{134.5}/RL1$ の欠失である。 $\gamma_{134.5}/RL1$ によってコードされるICP34.5の発現は、ウイルス感染に応答して通常はeIF2 α をリン酸化し、タンパク質翻訳を停止させる宿主細胞の抗ウイルス性プロテインキナーゼRNA活性化(PKR)経路に、HSV-1が対抗するために不可欠である。ICP34.5は、eIF2 α を脱リン酸化するように細胞のタンパク質ホスファターゼ-1(PP1)に再指示して、生産的なウイルス複製を可能にする。多くのがん細胞は、PKR応答が欠損しており、したがって、 $\gamma_{134.5}$ ヌル変異体を含むHSVベクターの複製を支える。いくつかのベクターは、リボヌクレオチド還元酵素(RR、その大サブユニットはICP6/UL39遺伝子によってコードされる)などの重要な代謝ウイルス遺伝子を変異させることによって構築される。多くの悪性細胞はRRの発現および活性が増加しているので、ICP6ヌル変異体は、存在する巨大なリボヌクレオチドプールの故に、高度に増殖しているがん細胞中で選択的に複製する。

【0122】

HSV侵入、細胞-細胞拡散および合胞体形成

HSV-1の侵入は、ウイルスの糖タンパク質が細胞の表面分子と相互作用する連続的ステップを含む。まず、糖タンパク質BおよびC(gBおよびgC)が細胞ヘパラン硫酸プロテオグリカンに付着し、続いてgDがウイルス侵入受容体(すなわち、ネクチン-1、ヘルペスウイルス侵入メディエーター(HVEM)または3-O-硫酸化ヘパラン硫酸(3-OS-HS))に結合する。この過程は、さらに、gH/gLがgBと相互作用し、ウイルスエンベロープの標的細胞膜への融合を誘発し、ビリオンキャプシドおよびテグメントタンパク質の細胞内への放出をもたらすことを可能にする。いくつかの報告は、膜融合が隣接細胞間でのウイルスのその後の側方拡散にも重要であることを示唆している。ウイルスの細胞-細胞の拡散は、ウイルスが細胞接触の領域を介して感染細胞から隣接する非感染細胞へと拡散するときに関与し、これはウイルス中和抗体の存在下でさえ起こり得る。gE/gIの存在は細胞-細胞拡散を促進するが、gE低形質変異体は細胞-細胞融合およびプラークサイズを減少させる。合胞体は、複数の隣接細胞が多核巨細胞へと融合した結果である。合胞体を引き起こす変異が、少なくとも4つのHSVウイルス遺伝子

(すなわち、g B、g K、U L 2 0 および U L 2 4) 中に発見されている。

【0123】

本開示は、臨床的に適切なウイルスベクターの開発のために「指向性進化」とC R I S P R / C a s 9 技術を組み合わせる戦略を提供する。この有効な組み合わせは、従来技術のアプローチからの実質的な脱却に相当する。理論に束縛されるものではないが、予想外の機構が腫瘍を死滅させるためのウイルスの効力の増加をもたらす得ることが予想される。高膜融合性表現型および効力の増加を生じさせるこれまで未知の変異（複数可）、ならびに次世代o H S Vを開発するための足がかりが、これによって明らかになると予想される。このようにして作製されたo H S Vは、向上した溶解期、より長い持続性、および最大化された治療結果を有し、これは、国立がん研究所の臨床的および橋渡しの探索／開発研究（C l i n i c a l a n d T r a n s l a t i o n a l E x p l o r a t o r y / D e v e l o p m e n t a l S t u d i e s）の目的と一致する。

10

【0124】

ウイルス療法の「溶解期」に焦点が当てられているが、より長い持続的なウイルス応答はインビボで炎症応答を増強し、ウイルス療法の後続の「免疫期」に利益をもたらして最適な抗腫瘍効果に到達する。小児がんモデルにおける有効性研究は、小児がんに対処する上での非天然H S Vの使用に対処することができる。得られた改善されたウイルスは、様々な成人のがんにわたっても活性を有すると予想される。

【0125】

本開示を実施するための様式

20

H S Vは広範囲の細胞を標的としてまたは広範囲の細胞に感染して溶解を誘導することができるにもかかわらず、ウイルス感染自体は細胞傷害性およびその他の障害、例えば脳炎、食道炎および間質性肺炎を引き起こしている。多数のH S V遺伝子が病原性に影響を及ぼす。例えば、 $\gamma 34.5$ (R L 1) は神経病原性を引き起こすことができる。I C P 6 (U L 3 9)、リボヌクレオチド還元酵素、チミジンキナーゼ (U L 2 3)、ウラシルDNAグリコシラーゼ (U L 2)、d U T Pアーゼ (U L 5 0)、およびDNAポリメラーゼ (U L 3 0) は、H S Vのヌクレオチド代謝および病原性に関与している。したがって、その副作用を最小限に抑えながらその腫瘍阻害の機能を実行するために、弱毒化されているが複製能を有するH S V粒子を作製する必要がある。

【0126】

30

巨大合胞体ブランク表現型を示すM u t - 3と呼ばれる新しいウイルスが本明細書で提供される。出願人は、非許容性系中の17 T e r m Aとr R p 4 5 0を混合する連続継代からM u t - 3を単離し（「指向性進化」、遺伝子編集（「C R I S P R / C a s 9」ステップ）を通じて、弱毒化された変異体M u t - 3 $\Delta 34.5$ を構築した（図1A）。全ゲノム配列分析により、M u t - 3が $\gamma 134.5$ / R L 1およびU L 3 9 (I C P 6をコードする)の両方の完全なコピーを獲得し、このため、その遺伝子型は野生型 (W T) ウイルスの遺伝子型と類似していることが明らかになった。理論に束縛されるものではないが、出願人は、M u t - 3の溶解活性が多くのW Tウイルスよりはるかに大きいことを見出し、（その完全なウイルスゲノムに加えて）他のゲノム変化がその効力の増加に関与している可能性を示唆した。g Eをコードする遺伝子中の151位のアラニンからスレオニンへの変異 (A 151 T) を含む、いずれかの親ウイルスとは異なる、M u t - 3中の5つの非同義変異が見出された。M u t - 3 $\Delta 34.5$ と命名された、C R I S P R / C a s 9 遺伝子編集を介して $\gamma 134.5$ / R L 1を緑色蛍光タンパク質 (G F P) で置き換える（図1A、下、「C R I S P R / C a s 9」ステップと表記）M u t - 3ウイルスの弱毒化されたバージョンが提供される。M u t - 3とその親ウイルスとの配列比較の結果概要を示す図1Bを参照のこと。M u t - 3においていずれかの親と異なる非同義変異には、U L 15、U L 29、U S 8、R L 1およびR L 2を含めて、右下方向への斜線が付されている。17 T e r m Aと同一のゲノム配列は空欄として示されており、r R p 4 5 0と同一のゲノム配列には左下方向への斜線が付されている。

40

【0127】

50

したがって、本開示は、非天然単純ヘルペスウイルス（「HSV」）であって、前記ウイルスが、（a）糖タンパク質E（「gE」）をコードする遺伝子、（b）感染細胞タンパク質0（「ICP0」）をコードする遺伝子、（c）DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1をコードする遺伝子、（d）ICP8をコードする遺伝子または（e）ICP34.5をコードする遺伝子の群からの1またはそれより多くである病原性遺伝子中に変異を含む、あるいは変異から本質的になる、またはなおさらに変異からなる非天然単純ヘルペスウイルス（「HSV」）を提供する。一実施形態において、HSVは、機能不全ICP34.5タンパク質をコードする遺伝子および／もしくは機能不全ICP6タンパク質をコードする遺伝子をさらに含む、あるいは機能不全ICP34.5タンパク質をコードする遺伝子および／もしくは機能不全ICP6タンパク質をコードする遺伝子から本質的になる、またはなおさらに機能不全ICP34.5タンパク質をコードする遺伝子および／もしくは機能不全ICP6タンパク質をコードする遺伝子からなる。別の実施形態において、機能不全ICP34.5タンパク質をコードする遺伝子は、配列番号1、5、7、9もしくは51と少なくとも95%同一の配列を有するポリヌクレオチドおよびその同等物を含む、あるいは該ポリヌクレオチドおよびその同等物から本質的になる、またはなおさらに該ポリヌクレオチドおよびその同等物からなるが、ただし、同等物の変異したまたは変化したアミノ酸またはヌクレオチドを維持する。別の実施形態において、機能不全ICP6タンパク質をコードする遺伝子は、配列番号43、45、47もしくは49と少なくとも95%同一の配列を有するポリヌクレオチドおよびその同等物を含む、あるいは該ポリヌクレオチドおよびその同等物から本質的になる、またはなおさらに該ポリヌクレオチドおよびその同等物からなるが、ただし、同等物は野生型配列と比較して変異したまたは変化したアミノ酸またはヌクレオチドを維持する。

【0128】

ある特定の実施形態において、非天然単純ヘルペスウイルスのgEをコードする遺伝子は、配列番号12、14、16、18から選択される配列、配列番号12、14、16および18のいずれか1つと少なくとも80%、85%、90%、95%、97%または99%同一の配列を有するポリヌクレオチドならびにその同等物を含む、あるいは該ポリヌクレオチドおよびその同等物から本質的になる、またはなおさらに該ポリヌクレオチドおよびその同等物からなるが、ただし、同等物は野生型配列と比較して変異したまたは変化したアミノ酸またはヌクレオチドを維持する。さらなる実施形態において、このような同等物を含むHSVは、配列番号13のアミノ酸配列を有する変異されたgEを含む非天然HSVと同程度のレベルで細胞に入り、および／または細胞間に広がり、および／またはDNAを複製する。HSVが細胞に侵入し、細胞間に広がり、DNAを複製することを評価する非限定的な例は、実施例に見出すことができる。なおさらなる実施形態において、gEをコードする遺伝子のポリヌクレオチドは、配列番号13、15、17および19から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。

【0129】

ある特定の実施形態において、非天然単純ヘルペスウイルスのICP0をコードする遺伝子は、配列番号20、22、24、25および53から選択される配列、イントロンの一方または両方を含まない配列番号20、22、24、25および53のいずれか1つの配列、配列番号20、22、24、25および53と少なくとも80%、85%、90%、95%、97%または99%同一の配列を有するポリヌクレオチドならびにその同等物を含む、あるいは該ポリヌクレオチドおよびその同等物から本質的になる、またはなおさらに該ポリヌクレオチドおよびその同等物からなるが、ただし、同等物は野生型配列と比較して変異したまたは変化したアミノ酸またはヌクレオチドを維持する。一実施形態において、イントロンは、配列表および以下に記載されている：配列番号20のヌクレオチド（nt）58～nt 861、配列番号20のnt 1529～nt 1663、配列番号22のnt 58～nt 822、配列番号22のnt 1490～nt 1625、配列番号24の58～nt 862、配列番号24のnt 1530～nt 1668、配列番号25のnt 58～nt 861、配列番号25のnt 1529～nt 1663、配

列番号53のnt 58～nt 822、および配列番号53のnt 1490～nt 1625。さらなる実施形態において、同等物は、野生型ICP0または配列番号21のアミノ酸配列を有する変異されたICP0と同程度のレベルで（例えば、ウイルス遺伝子からの転写を促進し、核ドットまたは前骨髄球性白血病（PML）核内構造体として知られる核内の構造を破壊し、神経細胞特異的タンパク質と組み合わせて宿主およびウイルス遺伝子の発現を変化させるという）機能を有するICP0のポリペプチドをコードする。このような機能を評価する例は、Lee HR、Kim DJ、Lee JMら（June 2004）に見出すことができる。"Ability of the human cytomegalovirus IE1 protein to modulate sumoylation of PML correlates with its functional activities in transcriptional regulation and infectivity in cultured fibroblast cells" J. Virol. 78 (12) : 6527-42; Gu H、Liang Y、Mandel G、Roizman B (May 2005)。"Components of the REST/CoREST/histone deacetylase repressor complex are disrupted, modified, and translocated in HSV-1-infected cells" Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 102 (21) : 7571-6; および Pinnoji RC、Bedadala GR、George B、Holland TC、Hill JM、Hsia SC (2007)。"Repressor element-1 silencing transcription factor/neuronal restrictive silencer factor (REST/NRSF) can regulate HSV-1 immediate-early transcription via histone modification" Virol. J. 4 : 56。それに加えてまたはそれに代えて、このような同等物を含むHSVは、配列番号21のアミノ酸配列を有する変異されたICP0を含む非天然HSVと同程度のレベルで細胞に入り、および／または細胞間に広がり、および／またはDNAを複製する。HSVが細胞に侵入し、細胞間に広がり、DNAを複製することを評価する非限定的な例は、実施例に見出すことができる。なおさらなる実施形態において、ICP0をコードする遺伝子のポリヌクレオチドは、配列番号21、23および26から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。

【0130】

ある特定の実施形態において、非天然単純ヘルペスウイルスのICP8をコードする遺伝子は、配列番号27、29、31、33から選択される配列、配列番号27、29、31および33のいずれか1つと少なくとも80%、85%、90%、95%、97%または99%同一の配列を有するポリヌクレオチドならびにその同等物を含む、あるいは該ポリヌクレオチドおよびその同等物から本質的になる、またはなおさらに該ポリヌクレオチドおよびその同等物からなるが、ただし、同等物は野生型配列と比較して変異したまたは変化したアミノ酸またはヌクレオチドを維持する。さらなる実施形態において、同等物は、野生型ICP8または配列番号28のアミノ酸配列を有する変異されたICP8と同程度のレベルで（例えば、一本鎖DNA（ssDNA）にアニーリングする、二本鎖DNAの小さな断片の融解する、または複製開始の間に二本鎖DNAを不安定化するという）機能を有するICP8のポリペプチドをコードする。このような機能は、当技術分野で利用可能な方法、例えば、Boehmer, PE; Lehman, IR (1993)。"Herpes simplex virus type 1 ICP8: Helix-destabilizing properties". Journal of Virology. 67 (2) : 711-5を介して評価することができる。それに加えてまたはそれに代えて、このような同等物を含むHSVは、配列番号28のアミノ酸配列を有する変異されたICP8を含む非天然HSVと同程度のレベルで細胞に入り、および／または細胞間に広がり、および／またはDNAを複製する。HSVが細胞に侵入し、細胞間に広がり、DN

Aを複製することを評価する非限定的な例は、実施例に見出すことができる。なおさらなる実施形態において、ICP8をコードする遺伝子のポリヌクレオチドは、配列番号28、30、32および34から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。
【0131】

ある特定の実施形態において、非天然単純ヘルペスウイルスのDNAパッケージングターミナーゼサブユニット1をコードする遺伝子は、配列番号35、37、39、41から選択される配列、配列番号35、37、39および41のいずれか1つと少なくとも80%、85%、90%、95%、97%または99%同一の配列を有するポリヌクレオチドならびにその同等物を含む、あるいは該ポリヌクレオチドおよびその同等物から本質的になる、またはなおさらに該ポリヌクレオチドおよびその同等物からなるが、ただし、同等物は野生型配列と比較して変異したまたは変化したアミノ酸またはヌクレオチドを維持する。さらなる実施形態において、このような同等物を含むHSVは、配列番号36のアミノ酸配列を有する変異されたDNAパッケージングターミナーゼサブユニット1を含む非天然HSVと同程度のレベルで細胞に入り、および／または細胞間に広がり、および／またはDNAを複製する。HSVが細胞に侵入し、細胞間に広がり、DNAを複製することを評価する非限定的な例は、実施例に見出すことができる。さらなる実施形態において、DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1をコードする遺伝子のポリヌクレオチドは、配列番号36、38、40および42から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードする。

【0132】

ある特定の実施形態において、HSVは、配列番号12、20、27および35から選択される配列を有するポリヌクレオチドの1もしくはそれより多くを含む、あるいは配列番号12、20、27および35から選択される配列を有するポリヌクレオチドの1もしくはそれより多くから本質的になる、またはなおさらに配列番号12、20、27および35から選択される配列を有するポリヌクレオチドの1もしくはそれより多くからなる。さらなる実施形態において、HSVは機能性ICP34.5を有さない（すなわち、機能不全ICP34.5をコードするか、またはICP34.5をコードしない）。これに加えてまたはこれに代えて、HSVは機能的ICP6を有さない（すなわち、機能不全ICP6をコードするか、またはICP6をコードしない）。別の実施形態において、病原性遺伝子中の変異は、例えばICP34.5遺伝子および／もしくはICP6遺伝子の挿入、欠失、切断、フレームシフト、置換もしくは点変異を含む、または例えばICP34.5遺伝子および／もしくはICP6遺伝子の挿入、欠失、切断、フレームシフト、置換もしくは点変異から本質的になる、またはなおさらに例えばICP34.5遺伝子および／もしくはICP6遺伝子の挿入、欠失、切断、フレームシフト、置換もしくは点変異からなる。別の実施形態において、HSVは、機能的ICP34.5タンパク質および／または機能的ICP6タンパク質をコードする遺伝子を欠く。別の実施形態において、変異は、病原性遺伝子中の非同義変異である。

【0133】

一実施形態において、本開示の非天然HSV上の変異は、（a）gEタンパク質の151位のアラニンからトレオニンへの変異、（b）ICP0タンパク質の258位におけるアルギニンからヒスチジンへの変異、（c）DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1タンパク質の376位におけるアラニンからトレオニンへの変異、（d）ICP8タンパク質の1155位におけるトレオニンからメチオニンへの変異、または（e）ICP34.5タンパク質の119位におけるプロリンからヒスチジンへの変異の1またはそれより多くをコードする。別の実施形態において、非天然HSVは、配列番号2、配列番号13、配列番号21、配列番号28もしくは配列番号36およびこれらの等価物の1もしくはそれより多くを含む、またはあるいは配列番号2、配列番号13、配列番号21、配列番号28もしくは配列番号36およびこれらの同等物の1もしくはそれより多くから本質的になる、またはなおさらに配列番号2、配列番号13、配列番号21、配列番号28もしくは配列番号36およびこれらの等価物の1もしくはそれより多くからなるが、た

だし、同等物は変異したまたは変化したアミノ酸またはヌクレオチドを維持する。

【0134】

ある特定の実施形態において、非天然単純ヘルペスウイルス（「HSV」）であって、ウイルスが、（a）gE、（b）ICP0、（c）DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1、（d）ICP8もしくは（e）ICP34.5の1もしくはそれより多くにおける変異を含む、あるいは（a）gE、（b）ICP0、（c）DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1、（d）ICP8もしくは（e）ICP34.5の1もしくはそれより多くにおける変異から本質的になる、またはなおさらに（a）gE、（b）ICP0、（c）DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1、（d）ICP8もしくは（e）ICP34.5の1もしくはそれより多くにおける変異からなる非天然単純ヘルペスウイルス（「HSV」）が提供される。ある特定の実施形態において、HSVは、機能的ICP34.5タンパク質（例えば、17TermA株またはrRp450株のICP34.5）を含まない。さらなる実施形態において、HSVはICP34.5タンパク質を含まない。これに加えてまたはこれに代えて、HSVは、機能的ICP6タンパク質（例えば、17TermA株またはrRp450株のICP6）を含まない。まだその上さらなる実施形態において、HSVはICP6タンパク質を含まない。

10

【0135】

一実施形態において、本開示の非天然HSV上の1つまたは複数の変異は、（a）gEタンパク質の151位のアラニンからトレオニンへの変異、（b）ICP0タンパク質の258位におけるアルギニンからヒスチジンへの変異、（c）DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1タンパク質の376位におけるアラニンからトレオニンへの変異、（d）ICP8タンパク質の1155位におけるトレオニンからメチオニンへの変異、または（e）ICP34.5タンパク質の119位におけるプロリンからヒスチジンへの変異の1またはそれより多くである。

20

【0136】

ある特定の実施形態において、非天然HSVのgEは、配列番号13、15、17および19から選択されるアミノ酸配列を含む、あるいは配列番号13、15、17および19から選択されるアミノ酸配列から本質的になる、またはなおさらに配列番号13、15、17および19から選択されるアミノ酸配列からなる。さらなる実施形態において、非天然HSVは、gEのアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、例えば、配列番号12、14、16、18から選択される配列を有するポリヌクレオチドおよびその同等物をさらに含む。ある特定の実施形態において、非天然HSVのICP0は、配列番号21、23および26から選択されるアミノ酸配列を含む、あるいは配列番号21、23および26から選択されるアミノ酸配列から本質的になる、またはなおさらに配列番号21、23および26から選択されるアミノ酸配列からなる。さらなる実施形態において、非天然HSVは、ICP0のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、例えば、配列番号20、22、24、25、53から選択される配列を有するポリヌクレオチドおよびその同等物をさらに含む。ある特定の実施形態において、非天然HSVのICP8は、配列番号28、30、32および34から選択されるアミノ酸配列を含む、あるいは配列番号28、30、32および34から選択されるアミノ酸配列から本質的になる、またはなおさらに配列番号28、30、32および34から選択されるアミノ酸配列からなる。さらなる実施形態において、非天然HSVは、ICP8のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、例えば、配列番号27、29、31、33から選択される配列を有するポリヌクレオチドおよびその同等物をさらに含む。ある特定の実施形態において、非天然HSVのDNAパッケージングターミナーゼサブユニット1は、配列番号36、38、40および42から選択されるアミノ酸配列を含む、あるいは配列番号36、38、40および42から選択されるアミノ酸配列から本質的になる、またはなおさらに配列番号36、38、40および42から選択されるアミノ酸配列からなる。さらなる実施形態において、非天然HSVは、DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1のアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、例えば、配列番号35、37、39、41から選択される配列を有

30

40

50

するポリヌクレオチドまたはその同等物をさらに含む。

【0137】

ある特定の実施形態において、非天然HSVは、配列番号13、21、28および36から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドの1もしくはそれより多くを含む、またはあるいは配列番号13、21、28および36から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドの1もしくはそれより多くから本質的になる、またはなおさらに配列番号13、21、28および36から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドの1もしくはそれより多くからなる。さらなる実施形態において、非天然HSVは、配列番号13、21、28および36から選択されるアミノ酸配列の1もしくはそれより多くをコードするポリペプチドの1もしくはそれより多くを含む、またはあるいは配列番号13、21、28および36から選択されるアミノ酸配列の1もしくはそれより多くをコードするポリヌクレオチドの1もしくはそれより多くから本質的になる、またはなおさらに配列番号13、21、28および36から選択されるアミノ酸配列の1もしくはそれより多くをコードするポリヌクレオチドの1もしくはそれより多くからなる。

【0138】

ある特定の実施形態において、非天然HSVは、以下のもの：(a) 配列番号2、6、8、10および52から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号1、5、7、9および51から選択される配列を有するポリヌクレオチド；(b) 配列番号2、6、8、10および52から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；(c) 配列番号13、15、17および19から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号12、14、16および18から選択される配列を有するポリヌクレオチド；

(d) 配列番号13、15、17および19から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；(e) 配列番号21、23および26から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号20、22、24、25および53から選択される配列を有するポリヌクレオチド、または1つもしくは2つもしくはそれを超えるイントロンを含まないこれらの配列；(f) 配列番号21、23および26から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；(g) 配列番号28、30、32および34から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号27、29、31および33から選択される配列を有するポリヌクレオチド；(h) 配列番号28、30、32および34から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；(i) 配列番号36、38、40および42から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号35、37、39および41から選択される配列を有するポリヌクレオチド；(j) 配列番号36、38、40および42から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；(k) 配列番号44、46、48および50から選択されるアミノ酸配列をコードするポリヌクレオチド、ならびに／または配列番号43、45、47および49から選択される配列を有するポリヌクレオチド；(l) 配列番号44、46、48および50から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチド；の1もしくはそれより多くを含む、またはあるいは1もしくはそれより多くから本質的になる、またはなおさらに1もしくはそれより多くからなる。

【0139】

別の実施形態において、非天然HSVは、さらに、17TermA HSVからの病原性遺伝子の少なくとも1つの断片と同一である配列を有するポリヌクレオチドおよびその同等物を含む、またはあるいは17TermA HSVからの病原性遺伝子の少なくとも1つの断片と同一である配列を有するポリヌクレオチドおよびその同等物から本質的になる、またはなおさらに17TermA HSVからの病原性遺伝子の少なくとも1つの断片と同一である配列を有するポリヌクレオチドおよびその同等物からなる。別の実施形態において、非天然HSVは、さらに、rRp450 HSVからの病原性遺伝子の少なくとも1つの断片と同一である配列を有するポリヌクレオチドを含む、またはあるいはrRp450 HSVからの病原性遺伝子の少なくとも1つの断片と同一である配列を有する

ポリヌクレオチドから本質的になる、またはなおさらに r R p 4 5 0 H S V からの病原性遺伝子の少なくとも1つの断片と同一である配列を有するポリヌクレオチドからなる。非天然 H S V は、いくつかの実施形態において、H S V 1 型（「H S V - 1」）または H S V 2 型（「H S V - 2」）株に由来する。一実施形態において、非天然 H S V は、H S V - 1 K O S 株に由来する。別の実施形態において、非天然 H S V は、さらに、導入遺伝子を含む、またはあるいは導入遺伝子から本質的になる、またはなおさらに導入遺伝子からなる。

【0140】

本明細書に開示される H S V はその溶解機能を保持しているので、別の態様において、本開示は、がんを処置することまたはがん細胞の成長もしくは転移を阻害することを必要とする対象において、がんを処置することまたはがん細胞の成長もしくは転移を阻害する方法であって、有効量の非天然 H S V を、または非天然 H S V を含むまたはあるいは非天然 H S V から本質的になるまたはなおさらに非天然 H S V からなる有効量の組成物を、対象に投与することを含む、または投与することから本質的になる、またはなおさらに投与することからなる、方法を提供する。一態様において、がんは、膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺癌、脳がん、神経がん、神経芽細胞腫、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんまたは黒色腫を含む。処置される対象は、成体または小児患者、例えば哺乳動物またはヒト患者であり得る。別の実施形態において、非天然 H S V ベクターまたは組成物もしくは医薬組成物は、注射、注入、点滴注入および／または吸入によって局所的または全身的に投与される。別の実施形態において、対象は哺乳動物である。いくつかの実施形態において、哺乳動物は、マウス、ラット、モルモット、非ヒト霊長類、イヌ、ネコ、ウマ、ウシ、ブタ、ヤギまたはヒツジである。別の実施形態において、対象はヒトである。

【0141】

別の態様において、本開示は、細胞溶解を誘導する方法であって、細胞を、本開示の非天然 H S V と、または非天然 H S V を含む、またはあるいは非天然 H S V から本質的になる、またはなおさらに非天然 H S V からなる組成物と、接触させることを含む、または接触させることから本質的になる、またはなおさらに接触させることからなる方法を提供する。一実施形態において、細胞はがん細胞である。さらなる態様において、細胞は、（前臨床モデルまたは前臨床アッセイとして使用するための）培養細胞または対象から単離された細胞である。細胞は、培養することができ、または単離された組織内に存在することができる。このような細胞の非限定的な例には、膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺癌、脳がん、神経芽細胞腫、神経がん、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんまたは黒色腫由来の細胞が含まれる。細胞は哺乳動物から単離することができ、例えば、ヒトは成人または若年者（小児）であり得る。

【0142】

別の態様において、本開示は、細胞を感染させるための方法であって、細胞を非天然 H S V と接触させることを含む、またはあるいは接触させることから本質的になる、またはなおさらに接触させることからなる、方法を提供する。一実施形態において、細胞は真核細胞である。別の実施形態において、細胞はリンパ球である。一実施形態において、細胞は、がん細胞、例えば血液がんまたは固形腫瘍細胞、例えば癌または肉腫である。さらなる態様において、細胞は、（前臨床モデルまたは前臨床アッセイとして使用するための）培養細胞または対象から単離された細胞である。細胞は、培養することができ、または単離された組織内に存在することができる。このような細胞の非限定的な例には、膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺癌、脳がん、神経芽細胞腫、神経がん、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんまたは黒色腫由来の細胞が含まれる。細胞は哺乳動物から単離することができ、例えば、ヒトは成人または若年者（小児）であり得る。

【0143】

出願人らは、エプスタイン・バー・ウイルス（「EBV」）に感染したリンパ球の従来の群が従来の腫瘍溶解性HSV（「oHSV」）に対して耐性であることを発見した。理論に拘束されるものではないが、耐性は、少なくとも部分的には、EBVに感染したリンパ球上のHSV侵入受容体の発現のレベルが低いことに起因する。驚くべきことに、特許請求の範囲に記載された発明のHSVは、野生型株17、KOSおよびMcKrae HSVウイルスに対して耐性であるEBV感染リンパ球において溶解を誘導することができた。したがって、一実施形態において、細胞は、EBVによって感染された細胞もしくはEBVに耐性の細胞を含む、またはあるいはEBVによって感染された細胞もしくはEBVに耐性の細胞から本質的になる、またはなおさらにEBVによって感染された細胞もしくはEBVに耐性の細胞からなる。別の実施形態において、細胞は、エプスタイン・バーウイルス（「EBV」）の病原性要素を含む、またはあるいはエプスタイン・バーウイルス（「EBV」）の病原性要素から本質的になる、またはなおさらにエプスタイン・バーウイルス（「EBV」）の病原性要素からなる。別の実施形態において、細胞は、EBVによって感染されたリンパ球を含む、またはあるいはEBVによって感染されたリンパ球から本質的になる、またはなおさらにEBVによって感染されたリンパ球からなる。別の実施形態において、特許請求の範囲に記載された発明のHSVは、対照と比較してEBVに感染した細胞に対する感染率がより高い。一実施形態において、対照は、従来のoHSVを含む、またはあるいは従来のoHSVから本質的になる、またはなおさらに従来のoHSVからなる。別の実施形態において、従来のoHSVは、野生型株17 HSV、KOS HSVまたはMcKrae HSVを含む。

【0144】

HSV変異体または誘導体の作製

HSV変異体または誘導体の作製は、親HSV株によってコードされる遺伝子または遺伝子の組み合わせの変化または変異を含む。例えば、誘導体は、ヌクレオチド置換、例えば1、2または3～10、25、50または100個の置換によって修飾されたHSV-1またはHSV-2ゲノムの配列を有し得る。HSV-1またはHSV-2ゲノムは、これに代えてまたはこれに加えて、1もしくはそれを超える挿入および／もしくは欠失によって、ならびに／またはいずれかもしくは両方の末端での伸長によって修飾され得る。遺伝子修飾方法、例えば、CRISPR、組換え構築または点変異は、当技術分野で公知である。当業者は、必要に基づいてHSV変異体を作製する方法を知っている。

【0145】

標的遺伝子修飾法に加えて、HSV変異体は自発的に産生され得る。例えば、HSVなどのウイルスの培養は、連続継代として知られる技術を含む。ウイルスを成長および維持するために、適切な細胞にウイルスを感染させ、ウイルスが細胞内で複製し、次いでウイルスが採取され、次いで、新鮮な細胞に再感染させ、この過程が連続継代の1サイクルを構成する。このような各サイクルは、例えば、HSVの場合、数日を要し得る。上述のように、このような連続継代は、HSVの臨床適用に好ましい特性に関して選択が起こるという点で、ウイルス株の特性または遺伝子配列の変化をもたらし得る。例えば、増強された特性は、迅速な複製、またはヒト細胞に感染するために軸索に沿って移動する能力を含むことができる。さらに、自然変異は、細胞に1つのHSVまたは1を超えるHSVを感染させることによって生じさせることができる。

【0146】

したがって、本開示は、HSV中の遺伝子を変異させることによってHSVまたはその変異体もしくは誘導体を調製するための方法を提供する。別の実施形態において、本方法は、導入遺伝子を非天然HSVに誘導することを含む、またはあるいは導入遺伝子を非天然HSVに誘導することから本質的になる、またはなおさらに導入遺伝子を非天然HSVに誘導することからなる。

【0147】

別の態様において、HSVウイルス粒子を作製する方法であって、（a）宿主細胞に17TermA HSVベクターおよびrRp450 HSVベクターを導入することと；（

b) 少なくとも3継代にわたって宿主細胞を成長させることと；(c) 宿主細胞によって產生されたHSV粒子を単離することと；を含む、またはあるいは(a)、(b)および(c)から本質的になる、またはなおさらに(a)、(b)および(c)からなる方法が本明細書で提供される。一実施形態において、HSVは、形質移入、感染、形質転換、電気穿孔、注射、微量注入またはこれらの組み合わせによって細胞に導入される。別の実施形態において、宿主細胞を、少なくとも3継代、10継代、20継代、30継代、40継代または50継代成長させる。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、導入されたHSVベクターの複製を支援するための相補遺伝子産物を含む、またはあるいは導入されたHSVベクターの複製を支援するための相補遺伝子産物から本質的になる、またはなおさらに導入されたHSVベクターの複製を支援するための相補遺伝子産物からなる。別の実施形態において、相補遺伝子は、ICP6タンパク質および／またはICP34.5タンパク質をコードする。別の実施形態において、このように作製されたHSV粒子は、本開示中のHSVベクターを含む、またはあるいは本開示中のHSVベクターから本質的になる、またはなおさらに本開示中のHSVベクターからなる。

【0148】

ある特定の実施形態において、本開示の非天然HSVウイルス粒子を作製する方法が本明細書で提供される。この方法は、(a) 宿主細胞に非天然HSVベクターを導入することと；(b) 宿主細胞を成長させることと；(c) 宿主細胞によって產生されたHSV粒子を単離することと；を含む、またはあるいは(a)、(b)および(c)から本質的になる、またはなおさらに(a)、(b)および(c)からなる。

【0149】

ある特定の実施形態において、本開示の非天然HSVウイルス粒子を作製する方法であって、(a) 非天然HSVベクターのウイルスゲノムをコードするポリヌクレオチドを宿主細胞に導入することと；(b) 宿主細胞を成長させることと；(c) 宿主細胞によって產生されたHSV粒子を収集および単離することと；を含む、またはあるいは(a)、(b)および(c)から本質的になる、またはなおさらに(a)、(b)および(c)からなる方法が本明細書において提供される。一実施形態において、ウイルスゲノムをコードする核酸配列は、形質移入、感染、形質転換、電気穿孔、注射、微量注入またはこれらの組み合わせによって宿主細胞に導入される。一実施形態において、ウイルスゲノムをコードする核酸配列は、ベクターで宿主細胞に導入される。さらなる実施形態において、ベクターはウイルスベクター(HSVなど)または非ウイルスベクター(プラスミドまたはナノ粒子など)である。さらなる実施形態において、ベクターはHSVである。いくつかの実施形態において、宿主細胞は、導入されたHSVベクターの複製を支援するための相補遺伝子産物を含む、またはあるいは導入されたHSVベクターの複製を支援するための相補遺伝子産物から本質的になる、またはなおさらに導入されたHSVベクターの複製を支援するための相補遺伝子産物からなる。一実施形態において、このような相補遺伝子産物は、ヘルパーウイルスを介して宿主細胞中に与えられる。別の実施形態において、相補遺伝子は、ICP6タンパク質および／またはICP34.5タンパク質をコードする。別の実施形態において、このように作製されたHSV粒子は、本開示中のHSVベクターを含む、またはあるいは本開示中のHSVベクターから本質的になる、またはなおさらに本開示中のHSVベクターからなる。

【0150】

一実施形態において、単離するステップは、例えば遠心分離、濾過、クロマトグラフィーまたはこれらの任意の組み合わせによって、他の材料、例えば、宿主細胞、細胞片、培養培地または宿主細胞の培養において使用される任意の他の作用物質からHSVを実質的に分離する過程を指す。非限定的な例は、Siaら、Optimal purification method for Herpes-based viral vectors that confers minimal cytotoxicity for systemic route of vector administration. J Virol Methods. 2007 Feb;139(2):166-74に見出すことが

できる。

【0151】

組成物

別の態様において、本開示は、本明細書に記載の非天然HSVを含む、または本明細書に記載の非天然HSVから本質的になる、またはなおさらに本明細書に記載の非天然HSVからなる組成物を提供する。本明細書に記載されている作用物質もしくはウイルス粒子を含む、またはあるいは本明細書に記載されている作用物質もしくはウイルス粒子から本質的になる、またはなおさらに本明細書に記載されている作用物質もしくはウイルス粒子からなる医薬組成物などの組成物は、従来の混合、溶解、造粒、湿式粉碎（levigating）、乳化、カプセル化、封入または凍結乾燥過程によって製造することができる。組成物は、本明細書で提供されるウイルス粒子の薬学的に使用することができる調製物への加工を容易にする1またはそれを超える生理学的に許容され得る、担体、希釈剤、賦形剤または助剤を使用して従来の様式で製剤化することができる。

10

【0152】

本技術の作用物質およびウイルス粒子は、非経口（例えば、筋肉内、腹腔内、静脈内、脳室内（「ICV」）、大槽内注射もしくは注入、皮下注射、またはインプラント）、経口、吸入スプレー経鼻、膣、直腸、舌下、尿道（例えば、尿道坐剤）または局所投与経路（例えば、ゲル、軟膏、クリーム、エアロゾルなど）によって投与することができ、各投与経路に適した従来の非毒性の薬学的に許容され得る、担体、アジュバント、賦形剤およびビヒクルを含有する適切な投与単位製剤で、単独でまたは一緒に製剤化することができる。

20

【0153】

一実施形態において、本開示は、本明細書に記載されている非天然HSVウイルス粒子および担体を含む、または本明細書に記載されている非天然HSVウイルス粒子および担体から本質的になる、またはなおさらに本明細書に記載されている非天然HSVウイルス粒子および担体からなる組成物に関する。

【0154】

別の実施形態において、本開示は、本明細書に記載されている非天然ウイルス粒子および薬学的に許容され得る担体を含む、またはあるいは本明細書に記載されている非天然ウイルス粒子および薬学的に許容され得る担体から本質的になる、またはなおさらに本明細書に記載されている非天然ウイルス粒子および薬学的に許容され得る担体からなる医薬組成物に関する。別の実施形態において、組成物は、有意な病原性を失うことなく非天然HSVの凍結および解凍を容易にする凍結保存剤を含む、またはあるいは有意な病原性を失うことなく非天然HSVの凍結および解凍を容易にする凍結保存剤から本質的になる、またはなおさらに有意な病原性を失うことなく非天然HSVの凍結および解凍を容易にする凍結保存剤からなる。

30

【0155】

別の実施形態において、本開示は、治療有効量の本明細書に記載されている非天然HSVウイルス粒子および薬学的に許容され得る担体を含む、またはあるいは本明細書に記載されている非天然HSVウイルス粒子および薬学的に許容され得る担体から本質的になる、またはなおさらに本明細書に記載されている非天然HSVウイルス粒子および薬学的に許容され得る担体からなる医薬組成物に関する。

40

【0156】

HSVウイルス粒子を投与するための医薬組成物は、投薬単位形態で都合よく提供することができ、薬学の分野で周知の方法のいずれによっても調製することができる。医薬組成物は、例えば、本明細書で提供されるHSVウイルス粒子を液体担体、微粉化された固体担体またはその両方と均一かつ緊密に混ぜ合わせ、次いで、必要であれば、生成物を所望の製剤へと成形することによって調製することができる。医薬組成物において、本明細書で提供される化合物は、所望の治療効果を生じるのに十分な量で含まれる。例えば、本開示の医薬組成物は、例えば、局所、眼、経口、頬側、全身、鼻、注射、注入、経皮、直

50

腸および腔を含む実質的に任意の投与様式に適した形態、または吸入もしくは送気による投与に適した形態を取り得る。

【0157】

局所投与のために、非天然HSVウイルス粒子は、当技術分野で周知のように、液剤、ゲル剤、軟膏剤、クリーム剤、懸濁剤などとして製剤化することができる。

【0158】

全身製剤には、注射による投与のために設計されたもの（例えば、皮下、静脈内、注入、筋肉内、髄腔内または腹腔内注射）、ならびに経皮、経粘膜、経口または肺投与のために設計されたものが含まれる。

【0159】

有用な注射用調製物には、水性または油性ビヒクル中の本明細書で提供されるHSVウイルス粒子の無菌懸濁剤、液剤または乳剤が含まれる。組成物は、配合剤、例えば懸濁化剤、安定化剤および／または分散剤も含有し得る。注射用製剤は、単位剤形、例えばアンプルまたは複数回投与容器で提供することができ、添加された防腐剤を含有し得る。

【0160】

あるいは、注射用製剤は、使用前に、無菌発熱物質非含有水、緩衝液およびデキストロス溶液を含むがこれらに限定されない適切なビヒクルで再構成するための粉末形態で提供され得る。この目的のために、本明細書で提供されるHSVウイルス粒子は、凍結乾燥などの任意の当技術分野で公知の技術によって乾燥させ、使用前に再構成することができる。

【0161】

経粘膜投与の場合、透過されるべき障壁に適した浸透剤が製剤中で使用される。このような浸透剤は当技術分野で公知である。

【0162】

経口投与の場合、医薬組成物は、例えば、結合剤（例えば、アルファ化トウモロコシデンプン、ポリビニルピロリドンまたはヒドロキシプロピルメチルセルロース）；充填剤（例えば、ラクトース、微結晶セルロースまたはリン酸水素カルシウム）；滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、タルクまたはシリカ）；崩壊剤（例えば、ジャガイモデンプンまたはデンプングリコール酸ナトリウム）；または湿潤剤（例えば、ラウリル硫酸ナトリウム）などの薬学的に許容され得る賦形剤を用いて、従来の手段によって調製されたトローチ剤、錠剤またはカプセル剤の形態を取り得る。錠剤は、当技術分野で周知の方法によって、例えば、糖、フィルムまたは腸溶コーティングでコーティングすることができる。

【0163】

経口使用を意図した組成物は、医薬組成物の製造のための分野で公知の任意の方法に従って調製することができ、このような組成物は、薬学的に洗練された口当たりのよい調製物を提供するために、甘味剤、香味剤、着色剤および保存剤からなる群から選択される1またはそれを超える剤を含有し得る。錠剤は、本明細書で提供されるHSVウイルス粒子を、錠剤の製造に適した非毒性の薬学的に許容され得る賦形剤と混合して含有する。これらの賦形剤は、例えば、炭酸カルシウム、炭酸ナトリウム、ラクトース、リン酸カルシウムまたはリン酸ナトリウムなどの不活性希釈剤；造粒剤および崩壊剤（例えば、コーンスターチまたはアルギン酸）；結合剤（例えば、デンプン、ゼラチンまたはアラビアゴム）；および滑沢剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸またはタルク）であり得る。錠剤はコーティングされていないままにすることができ、または胃腸管での崩壊および吸収を遅延させ、それによってより長期間にわたって持続的な作用を提供するために、錠剤は公知の技術によってコーティングすることができる。例えば、モノステアリン酸グリセリルまたはジステアリン酸グリセリルなどの時間遅延材料を使用することができる。錠剤はまた、当業者に周知の技術によってコーティングされ得る。本技術の医薬組成物は、水中油型エマルジョンの形態であり得る。

【0164】

経口投与用の液体調製物は、例えば、エリキシル剤、液剤、シロップ剤もしくは懸濁剤の形態をとることができ、または使用前に水または他の適切なビヒクルで構成するための乾燥製品として提供することができる。このような液体調製物は、懸濁化剤（例えば、ソルビトールシロップ、セルロース誘導体、または硬化食用脂肪）；乳化剤（例えば、レシチンまたはアラビアゴム）；非水性ビヒクル（例えば、アーモンド油、油性エステル、エチルアルコール、クレモフォール（商標）、または分別植物油）；および防腐剤（例えば、p-ヒドロキシ安息香酸メチルもしくはプロピルまたはソルビン酸）などの薬学的に許容され得る添加剤を用いて従来手段によって調製することができる。調製物は、適宜、緩衝塩、防腐剤、香味剤、着色剤および甘味剤も含有し得る。

【0165】

一実施形態において、本開示は、本開示の非天然HSVを調製する方法であって、非天然HSVウイルス粒子中の遺伝子を変異させることもしくは非天然HSV中に導入遺伝子を導入することを含む、またはあるいは非天然HSVウイルス粒子中の遺伝子を変異させることもしくは非天然HSV中に導入遺伝子を導入することから本質的になる、またはなおさらに非天然HSVウイルス粒子中の遺伝子を変異させることもしくは非天然HSV中に導入遺伝子を導入することからなる、方法が提供される。別の態様において、非天然HSVベクターを作製する方法は、(a) 17TermA HSVベクターおよびrRp450 HSVベクターを宿主細胞に導入することと；(b) 少なくとも3継代にわたって宿主細胞を成長させることと；ならびに(c) 宿主細胞によって産生されたHSV粒子を単離することと；を含む、またはあるいは(a)、(b)および(c)から本質的になる、またはなおさらに(a)、(b)および(c)からなる。

【0166】

がん細胞または転移性がん細胞の成長または転移を阻害する方法であって、細胞を、有効量の、非天然HSVベクターまたは本明細書に記載の非天然HSVベクターを含有する組成物もしくは医薬組成物と接触させることを含む、または接触させることから本質的になる、またはなおさらに接触させることからなる方法も提供される。接触させることは、インビトロまたはインビボである。一態様において、接触させることは、非天然HSVまたは組成物もしくは医薬組成物を対象に投与することによるインビボである。インビトロでは、本方法は、非天然HSVを細胞と接触させることによって実施される。インビトロ法は、新しい治療を試験するために、または治療が処置されるべきがんに適しているかどうかを決定するための個別化されたアッセイとして使用することができる。さらなるがん治療は、開示された方法と同時または逐次であり得る治療と組み合わせることができる。

【0167】

処置されるべきがん細胞は、固形腫瘍または血液がん、例えば癌または肉腫であり得、このようなものの非限定的な例としては、膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺癌、脳がん、神経芽細胞腫、神経がん、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんまたは黒色腫が挙げられる。細胞は、任意の種、例えば哺乳動物およびヒトのものであり、インビトロで実施される場合、細胞は、培養された細胞株または初代細胞、例えば組織生検からのものであり得る。細胞は、組織生検からの、成体もしくは若年細胞またはがん幹細胞であり得る。細胞は、成体もしくは若年細胞またはがん幹細胞（すなわち、正常な幹細胞と関連する特徴、特に、特定のがん試料中に見出される全ての細胞型を生じさせる能力を有するがん細胞）または正常な幹細胞と関連するこのような特徴のないがん細胞であり得る。一実施形態において、細胞は、N-myc癌原遺伝子タンパク質(MYCIN)を発現し、および／または非がん細胞よりも高いレベルでMYCINを発現する。

【0168】

さらに、がんを処置することまたはがん細胞の成長もしくは転移を阻害することを必要とする対象においてがんを処置し、またはがん細胞の成長もしくは転移を阻害する方法であって、有効量の、本開示の非天然HSV、組成物もしくは医薬組成物を対象に投与することを含む、またはあるいは投与することから本質的になる、またはなおさらに投与する

ことからなる方法も本開示において提供される。処置されるべき対象は、任意の種、例えば哺乳動物およびヒト、例えばイヌ、ウマ、ウシ、ネコ、サル、ラットまたはマウスであり得る。投与は、第一選択治療、第二選択治療、第三選択治療、第四選択治療または第五選択治療としてであり得る。さらなるがん治療は、開示された方法と同時または逐次であり得る治療と組み合わせることができる。処置されるべきがんは、固形腫瘍または血液がん、例えば癌または肉腫であり得、このようなものの非限定的な例としては、膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺癌、脳がん、神経芽細胞腫、神経がん、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんまたは黒色腫が挙げられる。

【0169】

本開示の方法は、疾患の寛解または進行をモニタリングするための適切な診断と組み合わせることができる。このようなモニタリングのためのいくつかの方法が当技術分野で公知である。

【0170】

細胞溶解を誘導する方法であって、細胞を、有効量の、本開示の非天然HSV、組成物および／もしくは医薬組成物と接触させることを含む、またはあるいは接触させることから本質的になる、またはなおさらに接触させることからなる方法がさらに提供される。接触させることは、インビトロまたはインビボである。一態様において、接触させることは、非天然HSVまたは組成物もしくは医薬組成物を対象に投与することによるインビボである。インビトロでは、本方法は、非天然HSVを細胞と接触させることによって実施される。インビトロ法は、新しい治療を試験するために、または治療が処置されるべき対象に適しているかどうかを決定するための個別化されたアッセイとして使用することができる。さらなる細胞溶解治療は、開示された方法と同時または逐次であり得る治療と組み合わせることができる。

【0171】

処置されるべき細胞は、固形腫瘍または血液がん、例えば癌または肉腫であり得、このようなものの非限定的な例としては、膵臓がん、腎臓がん、小細胞肺癌、脳がん、神経芽細胞腫、神経がん、骨がん、リンパ腫、骨髄腫、結腸がん、子宮がん、乳がん、白血病、肝臓がん、前立腺がん、皮膚がんまたは黒色腫が挙げられる。細胞は、任意の種、例えば哺乳動物およびヒトのものであり、インビトロで実施される場合、細胞は、培養された細胞株または初代細胞、例えば組織生検からのものであり得る。細胞は、正常な幹細胞に関連する特徴を有しない、成体もしくは若年細胞またはがん幹細胞またはがん細胞であり得る。治療は、治療の有効性、例えばがんの寛解または進行について試験するための適切なアッセイと組み合わせることができる。

【0172】

医薬を調製するためのHSVウイルス粒子の使用

本発明のHSVおよび組成物は、本明細書に記載の様々な病状を処置するための医薬の調製においても有用である。組成物の医薬を調製するための方法および技術は、当技術分野において公知である。例示のみを目的として、医薬品製剤および送達経路が本明細書に詳述されている。

【0173】

したがって、当業者は、多くの特定の実施形態を含む上記組成物のいずれか1つまたはそれより多くが、本明細書に記載されている多くの障害を処置するための医薬を調製するための標準的な医薬品製造手順を適用することによって使用され得ることを容易に理解するであろう。このような医薬は、薬学技術で公知の送達方法を使用することによって対象に送達され得る。

【0174】

さらなる治療剤の投与

本明細書に開示される方法は、開示されている方法の治療の有効性を増大または増強するために、さらに、有効量の追加の治療剤の投与を含む、またはあるいは有効量の追加の

10

20

30

40

50

治療剤の投与から本質的になる、またはまだその上有効量の追加の治療剤の投与からなることができる。一実施形態では、追加の治療剤は、腫瘍の外科的切除、抗腫瘍剤、例えば小分子もしくは免疫療法もしくは細胞溶解療法を含む、またはあるいは腫瘍の外科的切除、抗腫瘍剤、例えば小分子もしくは免疫療法もしくは細胞溶解療法から本質的になる、またはなお上さらに腫瘍の外科的切除、抗腫瘍剤、例えば小分子もしくは免疫療法もしくは細胞溶解療法からなる。

【0175】

本開示の治療剤または治療物質の患者への投与は、処置の毒性（存在する場合）を考慮して、その特定の一次療法または二次療法の投与のための一般的なプロトコルに従う。処置サイクルは必要に応じて繰り返されることが予想される。様々な標準的な治療および外科的介入が、記載された治療と組み合わせて適用され得ることも企図される。

10

【0176】

当業者に明らかなように、併用療法は、同時投与または逐次投与のための併用療法の形態をとることができる。

【0177】

キット

本明細書に記載されている作用物質または非天然HSVは、いくつかの実施形態において、治療、診断または研究用途におけるそれらの使用を容易にするために、薬学的または診断用または研究用キットに組み立てられ得る。キットは、本発明の構成成分を収容する1またはそれを超える容器および使用のための指示を含み得る。具体的には、このようなキットは、意図された用途およびこれらの作用物質の適切な使用を説明する指示とともに、本明細書に記載されている1またはそれを超える作用物質を含み得る。特定の実施形態において、キット中の薬剤は、特定の用途および薬剤の投与方法に適した薬学的製剤および投薬量であり得る。研究目的のキットは、さまざまな実験を実行するための適切な濃度または量で成分を含有し得る。

20

【0178】

キットは、本明細書に記載された方法の使用を容易にするように設計され得、多くの形態をとることができる。キットの各組成物は、該当する場合、液体形態（例えば、溶液で）または固体形態（例えば、乾燥粉末）で提供され得る。特定の場合において、組成物のいくつかは、例えば、キットとともに提供されてもよくまたは提供されなくてもよい適切な溶媒またはその他の種（例えば、水または細胞培養培地）の添加によって、（例えば、活性形態へと）構成可能またはその他処理可能であり得る。いくつかの実施形態において、組成物は、保存溶液（例えば、凍結保存溶液）で提供され得る。保存溶液の非限定的な例には、DMSO、パラホルムアルデヒドおよびCryoStor（登録商標）（Stem Cell Technologies, Vancouver, Canada）が含まれる。いくつかの実施形態において、保存溶液は、ある量のメタロプロテアーゼ阻害剤を含有する。

30

【0179】

本明細書で使用される場合、「指示」は、指示および／または奨励の要素を規定することができる、典型的には、本発明のパッケージ上のまたはパッケージングに付随する書面での指示を含む。指示には、当該指示がキットと関連付けられるべきことを使用者が明確に認識できるような任意の様式で提供される任意の口頭でのまたは電子的な指示、たとえば、視聴覚的（例えば、ビデオテープ、DVDなど）、インターネットおよび／またはウェブベースの通信手段なども含まれ得る。書面での指示は、医薬品または生物学的製品の製造、使用または販売を規制する政府機関によって規定された形式であり得、その指示は、動物投与のための製造、使用または販売の機関による承認も反映することができる。

40

【0180】

キットは、本明細書に記載されている構成成分の任意の1つまたはそれより多くを1またはそれを超える容器中に含有し得る。一例として、一実施形態において、キットは、キットの1もしくはそれを超える構成成分を混合するための、ならびに／または試料を単離

50

および混合し、対象に適用するための指示を含み得る。キットは、本明細書に記載されている作用物質を収容する容器を含み得る。HSVは、液体、ゲルまたは固体（粉末）の形態であり得る。HSVは無菌的に調製され、注射器中に梱包され、冷蔵されて出荷され得る。あるいは、それはバイアルまたは貯蔵用のその他の容器中に収容され得る。第2の容器は、無菌的に調製された他の薬剤を有し得る。あるいは、キットは、注射器、バイアル、チューブまたはその他の容器中にあらかじめ混合されて出荷された活性剤を含み得る。キットは、注射器、局所塗布装置またはIV針チューブおよび袋など、対象に薬剤を投与するために必要とされる構成要素の1もしくはそれより多くまたはすべてを有し得る。

【0181】

スクリーニングアッセイ

本開示は、公知のおよび新規の化合物および組み合わせの潜在的な治療剤を同定するためのスクリーニングアッセイも提供する。例えば、当業者は、HSVを処置されるべき試料細胞または組織と接触させることによって、HSVがインビトロで治療的利益を提供するかどうかを決定することもできる。細胞または組織は、任意の種、例えばサル、イヌ、ウシ、ヒツジ、ラット、マウスまたはヒトに由来し得る。

【0182】

接触させることは、適切な動物モデルまたはヒト患者においてインビボで行うこともできる。インビトロで実施される場合、HSVは細胞培養培地に直接添加することができる。インビトロで実施される場合、本方法は、動物またはヒト患者への投与前に、新規な併用療法、製剤または処置レジメンについてスクリーニングするために使用することができる。

【0183】

別の態様では、アッセイは、適切な細胞または組織を含む第1の試料（「対照試料」）を有効量の本明細書に開示されているHSVと接触させることと、適切な細胞または組織の第2の試料（「試験試料」）をアッセイされるべきHSV、作用物質または組み合わせと接触させることを必要とする。がんの場合の一態様では、第1および第2の細胞試料の成長の阻害が決定される。第2の試料の成長の阻害が第1の試料と実質的に同じであるまたは第1の試料より大きい場合、その作用物質は治療のための潜在的な薬物である。一態様において、細胞の成長の実質的に同じまたはそれより大きな阻害は、約1%未満、またはあるいは約5%未満、またはあるいは約10%未満、またはあるいは約10%超、またはあるいは約20%超、またはあるいは約50%超、またはあるいは約90%超の差である。接触させることは、インビトロまたはインビボであり得る。細胞の成長の阻害を決定するための手段は、当技術分野で周知である。

【0184】

さらなる態様において、試験剤は、対照および試験試料に対する正常なカウンターパートの細胞または組織を含む細胞または組織の第3の試料と接触させ、細胞または組織の第2の試料を処理するが第3の試料に悪影響を及ぼさない作用物質を選択する。本明細書に記載されているアッセイのために、本明細書に記載されているがんまたはその他の疾患などの適切な細胞または組織が本明細書に記載されている。そのようなものの例としては、生検によってまたは血液から得られたがん細胞または組織が挙げられるが、これらに限定されない。

【0185】

試験組成物の有効性は、細胞生存率アッセイを含むがこれに限定されない当技術分野において公知の方法を使用して決定される。

【0186】

さらなる態様において、アッセイは少なくとも2つの細胞型を必要とし、最初の細胞型は適切な対照細胞である。

【0187】

アッセイは、処理されるべき細胞を含有する試料にHSVを送達し、病態によって変化する処置のために、または新しい薬物および組み合わせについてのスクリーニングのため

10

20

30

40

50

にアッセイすることによって、対象が本開示によって適切に処置されるかどうかを予測するためにも有用である。一態様において、細胞または組織は、生検によって対象または患者から得られる。本開示は、本開示の少なくとも1つの組成物および使用のための指示を提供することによって、病的細胞または患者がこの治療によって適切に処置されるかどうかを決定するためのキットも提供する。

【0188】

試験細胞は、小さなマルチウェルプレートで成長させることができ、試験化合物の生物学的活性を検出するために使用される。本開示において、成功したHSVまたは他の作用物質は、成長を阻止しまたはがん細胞を死滅させるが、対照細胞型は無傷のままに保つ。

【0189】

以下の実施例は、本開示を例示するために提供され、本開示を限定するものではない。

【実施例】

【0190】

HSV変異体の作製

非許容性細胞株に17TermAおよびrRp450を感染させ（「指向性進化」）、連続継代後に培養して、WT様遺伝子型を含むHSV Mut-3変異体を単離した。次いで、HSV Mut-3変異体を使用して、遺伝子編集（「CRISPR/Cas9」と表記される）を介して弱毒化された変異体Mut-3Δ34.5を構築した（図1A）。Mut-3とその親ウイルスとの配列比較を図1Bに示す。Mut-3においていずれかの親と異なる非同義変異には、UL15、UL29、US8、RL1およびRL2を含めて、右下方向への斜線が付されている。17TermAと同一のゲノム配列は空欄として示されており、rRp450と同一のゲノム配列には斜線が付されている。

【0191】

WT様遺伝子型を含有する強力なHSV変異体Mut-3を単離した。Mut-3および弱毒化されたバージョンMut-3Δ34.5の両方は、標準的なHSV侵入タンパク質であるネクチン-1またはヘルペスウイルス侵入メディエーター（HVEM）に依存して、首尾よく感染を達成する（図示せず）。検出可能なGFP陽性領域の発現によって測定されるMut-3Δ34.5ウイルス遺伝子導入の動態は、同じCRISPR/Cas9遺伝子編集戦略を介して野生型株17に由来するγ134.5ヌルウイルスである17Δ34.5と比較すると、はるかに早い。さらに、Mut-3Δ34.5感染は、より小さなその細胞密集領域によって測定されるように、より多くの細胞殺滅をもたらす。しかしながら、Mut-3Δ34.5は、17Δ34.5と比較しても、またはMut-3Δ34.5ヌル親ウイルス17TermAと比較しても、複製がより少ないようである。これらの結果は、弱毒化されたMut-3Δ34.5バージョンにおいてさえ、独特のゲノムの変化（複数可）が合胞体表現型（図示せず）をもたらし、増強された効力が残存していることを示している。上皮成長因子受容体（EGFR）再標的化HSVの研究では、合胞体変異を導入することは侵入および拡散の特異性を損なわないことが報告された。理論に束縛されるものではないが、本出願人は、Mut-3Δ34.5における合胞体表現型の根本原因が、侵入および／またはウイルス媒介性の細胞と細胞の融合に影響を及ぼし得る変化した動態を細胞膜へのウイルス融合時にもたらし得、これがより速い細胞殺滅と減少したウイルス粒子産生とを引き起こすと考えている。

【0192】

HSV-1侵入に関与する標準的な糖タンパク質であるgB、gD、gHおよびgL中に変異は見られなかった。しかしながら、5つの遺伝子は、いずれの親とも異なるMut-3中の非同義（NS）変異：RL1、RL2、UL15、UL29およびUS8/gEを含有する。Mut-3およびその弱毒化されたバージョンMut-3Δ34.5はいずれも膜融合性表現型を示し、この現象がRL1関連ではないことを示唆している。Mut-3のアミノ酸配列は、gK/UL53およびUL20においてはrRp450および参照株17ゲノム（合胞体ウイルスではない）のいずれかと同一であり、またはgB/UL27およびUL24においては17TermA（合胞体ウイルスではない）と同一である

10

20

30

40

50

ので、全ゲノム解析はこの表現型が以前に報告された変異に関連していないことも示唆する。g E / U s 8 の A 1 5 1 T 変異は、その親ウイルスと比較して N S 変化を有する M u t - 3 中の唯一の糖タンパク質（ビリオン表面タンパク質）である。g E はウイルス付着または侵入のいずれにも関連していないが、g E の変異はより小さなプラークサイズに関連しているので、g E / g I 二量体化はウイルスの細胞間拡散を媒介する。* * 出願人は、M u t - 3 Δ 3 4 . 5 中の g E の A 1 5 1 T が、その合胞体のおよび増大した効力の表現型の根本的な原因であり得ると仮定する。出願人の研究の順（上から下）に基づいて、表 1 において、出願人は、M u t - 3 中の 5 つの遺伝子に見られる 5 つの N S 変異全て、ならびに各遺伝子の対応する機能、M u t - 3 の増大した効力の表現型と関連する可能性のある役割、および出願人が提案した研究を列挙する。他の 3 つの変異（R L 1 を除く）も、g E A 1 5 1 T に対して行われたように決定され得る。

【表 1】

表 1 HSVタンパク質の変異およびその機能 nt:ヌクレオチド;a. a:アミノ酸。

遺 伝 子	タンパク質機能	NS変異	実験
Us8	糖タンパク質E	nt 451 gから a. a A151T	例えば、「機能喪失研究のための Mut-3 Δ34. 5におけるUs8/g E復帰変異体」および「機能獲得のためのMut-3親17TermAにおけるUs8/gE A151T変異」と題された節において、後に詳述されているとおり
RL2	ICP0、前初期遺伝子(IE)遺伝子、ユビキチンE3リガーゼ。初期遺伝子発現を調節する	nt 1712 gから a. a R258H	機能喪失および機能獲得試験: i) 例えば、「HSV変異体の比較」と題された節において後に詳述されているとおりに観察されたより速い侵入または拡散を検証するため ii) HSV初期遺伝子(例えば、ICP8およびTK)発現の変化を評価する
UL1 5	DNAパッケージングターミナーゼサブユニット1。UL29/ICP8とともに局在化したUL28、UL33	nt 1126 gから a. a A376T	機能喪失および機能獲得試験: iii) 例えば、「HSV変異体の比較」と題された節において後に詳述されているとおりに観察されたより速い侵入または拡散を検証するため iv) HSV DNA複製の変化を評価する
UL2 9	ICP8、初期(E)遺伝子、一本鎖DNA結合タンパク質	nt 3464 cから a. a T1155M	機能喪失および機能獲得試験: i) 例えば、「HSV変異体の比較」と題された節において後に詳述されているとおりに観察されたより速い侵入または拡散を検証するため ii) HSV DNA複製の変化を評価する。
RL1	ICP34. 5、神経毒性タンパク質	nt 356 cから aに、P119H、H119Iは17+と同じである	Mut-3 Δ34. 5は合胞体のままであるので除外する

H S V 変異体の比較

図 1 A に示されている 4 つのウイルスに対して同時にブランクアッセイを行い、3 日後に、Keyence HS All-in-one Fluorescence Microscope BZ-II Analyzer を介してブランク画像をスキャンおよび分析した。図 1 A および 1 B に示されているように、Mut-3 および Mut-3 Δ 3 4 . 5 のブランクサイズは、親ウイルス rRp 4 5 0 および 1 7 TermA のいずれよりも有意に大きかった。CHO 細胞の組のインビトロ細胞傷害性 / MTS アッセイでは、CHO-K1、CHO-ネクチン-1、CHO-ネクチン-2 および CHO-HVEM に、異なる感染多重度 (MOI) で 4 つのウイルスを感染させた。ウイルス感染の 3 日後 (pvi) に、非処理対照と比較して、細胞生存比色細胞増殖および MTS アッセイを測定した。CHO-ネクチン-1 および CHO-HVEM のみが 4 つのウイルスの処理に対して感受性であったが、CHO-K1 または CHO-ネクチン-2 (主に、HSV-2 侵入用) は感受性ではなかった (図 2 C)。理論に拘束されるものではないが、結果は、Mut-3 および Mut-3 Δ 3 4 . 5 が受容体バリアを迂回せず、標準的な HSV 侵入受容体になお依拠して (relay on) 細胞を感染させることを示唆した。

【0194】

1 7 TermA と比較したヒトおよびマウス神経芽細胞腫細胞の殺滅における Mut-3 Δ 3 4 . 5 の効力の増加は、感染性ウイルスの収量の増加によるものではなかった (図 3)。透過型電子顕微鏡法 (「TEM」) による分析でも、神経芽細胞腫細胞に感染した後、Mut-3 Δ 3 4 . 5 ビリオンは主に細胞内小胞中に見られるのに対して、1 7 TermA ビリオンは主に細胞内小胞に見られることが明らかになった (図 4)。

【0195】

野生型株 1 7 + の g 1 3 4 . 5 遺伝子を EGFP 発現カセットで置き換えるために、CRISPR-Cas9 遺伝子編集技術によって、弱毒化された 1 7 Δ 3 4 . 5 変異体を作製した。1 7 Δ 3 4 . 5 変異体は、その野生型株 1 7 + より低い効力を有したが、1 7 TermA と同程度であった (図 5)。Mut-3 Δ 3 4 . 5 が 1 7 Δ 3 4 . 5 と比較してはるかに速いウイルス遺伝子導入および細胞殺滅を示す場合には、1 7 Δ 3 4 . 5 の弱毒化がさらに確認された (図 6)。さらに、Mut-3 Δ 3 4 . 5 は、インビボでのヒト神経芽細胞腫成長を制御するために 1 7 TermA より有効であった (図 7)。

【0196】

機能喪失研究のための Mut-3 Δ 3 4 . 5 における Us8 / gE 復帰変異体

ウイルス複製中に複数コピーのゲノムが存在するためにおよびこの遺伝子編集には選択マーカーが伴うことができないために、CRISPR / Cas9 技術のみを介して HSV ゲノム中に単一ヌクレオチド変化を導入することは困難である。1 つの構築物は、gE コード領域全体をレポーター遺伝子 (mCherry または赤色蛍光タンパク質 (RFP) など) で置き換えて、gE-ヌル Mut-3 Δ 3 4 . 5 を構築すること、次いで、2) レポーター遺伝子を WT gE コード領域で置換し、gE-WT Mut-3 Δ 3 4 . 5 復帰変異体を得ること、という CRISPR / Cas9 技術と組み合わせた 2 段階過程の結果であり得る。gE-ヌル中間体およびこの gE 復帰変異体 Mut-3 Δ 3 4 . 5 の両方が表現型を失う程度の検査は、上記のように観察することができる。本開示は、この構築物も提供する。

【0197】

機能獲得のための Mut-3 親 1 7 TermA における Us8 / gE A151T 変異

上記のように、gE 変異体 1 7 TermA は、1) gE コード領域を完全にノックアウトし、それをレポーター遺伝子 (例えば、GFP) で置き換えること、次いで、2) A151T 変異を含有する gE コード領域をノックインすることによってレポーター遺伝子を置換すること、という以下の 2 つのステップで構築することができる。Mut-3 Δ 3 4 . 5 の表現型が決定される。本開示は、この構築物も提供する。

【0198】

gE A151T が観察された表現型の一部にのみ関与するもしくは全く関与しない場

合には、または関与する場合でさえ、Mut-3中の他の変異が本開示によって提供される。変異体は、本明細書に記載されるように、および表1に示されるように、単独または組み合わせて、同様の機能獲得および機能喪失アプローチを体系的に試みることによって構築される。弱毒化されたMut-3Δ34.5の安全性プロファイルおよび有効性は、マウスモデルにおいて試験することができる。したがって、本開示は、変異体を試験するために使用される動物モデルおよびそのための方法を提供する。

【0199】

強力かつWT様のHSV変異体であるMut-3株を、17TermAとrRp450の組換えから構築した。臨床使用のための安全性を確保するために、ウイルスの病原性タンパク質である $\gamma_134.5/RL1$ の欠失を通じて弱毒化されたバージョンであるMut-3Δ34.5を作製した。本出願人の予備的毒物学研究では、最大 $1e8$ プラーク形成単位(pfu)の静脈内投与後85日を超えて、Balb/cマウス中に有害な臨床徴候や体重の有意な変化は観察されなかった(データは示さず)。さらに、Mut-3Δ34.5は、17TermAと比較して、インビトロ(図3A)およびインビボ(図7)の両方で、極めて悪性度が高い神経芽細胞腫モデルにおいても抗腫瘍効果を示す。

【0200】

ナイーブ非腫瘍担持マウスにおけるMut-3Δ34.5の体内分布プロファイル
出願人自身の研究は、ナイーブBalb/cマウスが、疾病の身体的徴候なしに85日を超えて、最大 $1e8$ pfuの静脈内(iv)送達されたMut-3Δ34.5ウイルスに耐えることができることを示している。両性のナイーブ非腫瘍担持Balb/cマウス(1つの性あたり30匹のマウス)に、以前に試験された最高の用量(マウスあたり $1e8$ pfuのMut-3Δ34.5ウイルス)を静脈内投与することから開始して、体内分布研究を行った。末梢血を採取し、次いでマウスを殺す。ウイルス感染の24時間、14日、28日、56日および85日後に、精巣、卵巣、脾臓、肺、腎臓、心臓、肺および脳を採取する(各点につきn=6)。病理分析用に保存するために臓器の半分をホルマリンに包埋し、各臓器中のウイルス量を入力するために、残りの半分をHSVゲノムのqPCR分析およびプラークアッセイのためにホモジナイズする。ウイルス投与後の最初の2週間、マウスを毎日観察し、次いで、予定された殺日まで毎週2回観察する。ウイルス投与前およびその後毎週、各マウスの体重を測定する。有害な臨床徴候の存在もしくは非存在を示すために、または20%を超える体重減少を伴う場合にマウスを殺し、上記のように臓器中のウイルス活性について分析する。並行して、野生型KOSウイルス[投与量範囲： $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^7$ pfu/マウス(n=3)]を陽性(非安全)対照としてマウスの群に投与する。出願人は、FVBNマウスにおいて 1×10^6 pfuのKOSウイルスの用量が2~3日以内に一律に致死であることを以前に見出した。HSVゲノムコピーを分析するためにqPCRを行い、疾病の徴候を示す陽性対照マウスの臓器中でのウイルス活性および病理分析を評価するためにプラークアッセイを行う。これらの結果は、Mut-3Δ34.5処置されたマウスから収集されたデータを評価するための陽性指標/閾値として役立ち得る。陽性対照と同程度のウイルス量を示すために、Mut-3Δ34.5処置群における組織/臓器の病理学的変化をさらに評価する。各性別について1群あたり6匹のマウスを使用して、異なる期間にわたって体内分布および安全性および耐性を評価する。記述統計を用いて、異なる時間にわたる異なる臓器中でのゲノムDNAのナノグラムあたりのHSVゲノムのコピー数によって、Mut-3Δ34.5の体内分布を測定し、単変量解析(適用可能な場合)と比較する。

【0201】

インビトロでの様々な小児がん細胞株におけるMut-3Δ34.5と他の $\gamma_134.5$ -ヌルウイルス(17TermAおよびT-VEC)の細胞傷害性
ヒトおよびマウスの神経芽細胞腫細胞において、Mut-3Δ34.5による優れた殺滅が、17TermAと比較して観察された(図3A)。図3Aに示されている同じMTSインビトロアッセイを使用して、増大した効力表現型が異なる腫瘍型にわたって適用可能であるかどうかを判定するために、肉腫、悪性末梢神経鞘腫瘍(MPNST)および脳

10

20

30

40

50

腫瘍などの他の小児がん細胞に対して同じ分析を適用する（本出願人は多数のモデルを利用できる）。各細胞型からの最も有効な株が、インビボ有効性研究を行うために使用される。

他の o H S V 治療薬である 1 7 T e r m A および T - V E C と比較して、ヒト小児腫瘍モデルにおける M u t - 3 Δ 3 4 . 5 の有効性を調べる。

【 0 2 0 2 】

5 ～ 6 週齢の雌の無胸腺ヌードマウスを用いた異種移植片において有効性研究を行うために、各腫瘍型（合計 3 つ）の高度に応答性のモデルの 1 つを選択する。腫瘍が 1 5 0 ～ 3 0 0 m m ³ に達したら、マウスをプールし、i) リン酸緩衝食塩水（P B S）対照、i i) M u t - 3 Δ 3 4 . 5 ウイルス、または i i i) 1 7 T e r m A もしくは T - V E C ウイルスという 3 つの群へ無作為に割り当てる（それぞれ n = 1 1）。ウイルス間の有効性については、最小 8 0 % の検出力で生存および腫瘍成長の大きな差（2 0 日目 に 2 0 % 対 8 0 %）を検出するために、群あたり最小 1 1 匹のマウスを使用する。本出願人の以前の研究に基づき、合計 3 回の注射を行う処置レジメンを用いて、1 0 0 μ l の P B S 中の 1 × 1 0 ⁷ p f u のウイルスまたは P B S のみ（対照）のいずれかで 1 日おきに各マウスを腫瘍内処置する。ウイルス注射後 8 0 日間、腫瘍体積（毎週 2 回）および体重（毎週）について、マウスをモニターする。評価項目基準には、2 5 0 0 m m ³ を超える腫瘍体積、2 c m に達する腫瘍直径または 2 0 % を超える体重減少が含まれる。動物の生存は Kaplan - M e y e r 曲線を使用して表示することができ、生存はログランク検定によって群間で比較することができる。

【 0 2 0 3 】

他の o H S V 治療薬（1 7 T e r m A および T - V E C）と比較した、マウス小児腫瘍モデルにおける M u t - 3 Δ 3 4 . 5 の有効性

（5 ～ 6）週齢の性別を一致させた C 5 7 B L 6 マウスにおいて出願人の有効性試験を実施するために、各腫瘍型（合計 2 つ）の高度に応答性のマウス腫瘍モデルの 1 つを選択する。同様に、マウスをプールし、i) P B S、i i) M u t - 3 Δ 3 4、i i i) 1 7 T e r m A または T - V E C という 3 つの群へ、それぞれ n = 1 1 となるように無作為に割り当てる。本出願人の以前の研究のとおり、合計 3 回の注射を行って、1 0 0 μ l の P B S 中の 1 e 8 p f u のウイルスまたは P B S のみのいずれかで 1 日おきに各マウスを腫瘍内処置する。評価項目基準には、2 5 0 0 m m ³ を超える腫瘍体積、2 c m に達する腫瘍直径または 2 0 % を超える体重減少が含まれる。動物の生存は Kaplan - M e y e r 曲線を使用して表示し、生存はログランク検定によって群間で比較する。

【 0 2 0 4 】

病理分析の要約

4 匹の野生型の K O S を注射されたマウス（1 e 6 および 1 e 7 p f u、2 匹のマウス／用量）からの組織を、O S U C o m p a r a t i v e P a t h o l o g y & M o u s e P h e n o t y p i n g S h a r e d R e s o u r c e による病理分析に供した。M u t - 3 Δ 3 4 . 5 / C 8 G 5 および M u t - 3 Δ I C P 6 / D 7 - 1 を注射されたマウス（ウイルス感染後 2 4 時間および 1 4 日の時点、2 匹のマウス／時点）からの組織を続いて病理分析に供した。

【 0 2 0 5 】

病理報告（雌）：K O S を注射されたマウス

脳幹のリンパ形質細胞性脳炎は、H S V - 1 を注射された B a l b / c マウスにおける C N S 病理の公表された報告と一致している。この投稿において調べられた全てのマウスはこの病変を有していたが、1 つの提出された脳は脳幹の小さなセグメントのみを含み、したがって病変は他の 3 匹のマウスより軽度に見えた。これらのマウスのうちの 2 匹から、腎臓切片とともに副腎の切片が存在した。これらのマウスはいずれも、副腎皮質および髄質の両方の顕著な壊死を有していた。

【 0 2 0 6 】

病理報告（雌）：M u t - 3 Δ 3 4 . 5 / C 8 G 5 および M u t - 3 Δ I C P 6 / D 7

ー 1 を注射された両マウスについて 24 時間および 14 日間

H S V 感染の 24 時間後に 殺されたマウスから得た試料は全て、中程度から顕著な重症度で以下の病変を有していた：個々の肝細胞および局所的に広範囲の肝索の壊死を含む門脈周囲から中間帯の肝壊死；予想より小さな小胞を伴った、顕著な脾臓の赤髄壊死および中程度の白髄壊死。数匹の 24 時間マウスは、小胞中の細胞および卵巣組織中の黄体のアポトーシス／壊死が増加していた。数ヶ月前に評価された対照マウスにおいては、これは予想された量を超えては認められず、ここで注目したマウスでは予想された量を超えていた。

【0207】

14 日目のマウスでは、卵形細胞過形成は、損傷を受けている肝臓の一般的な慢性反応であり、おそらく感染に対する応答である。肺のいくつかの試料は、24 時間の動物では認められなかった壊死性および炎症性病変を有していた。全体として、14 日目のマウスは、24 時間の動物よりずっと少なく、ずっと軽度の病変を有していた。

【0208】

実験室で開発された変異型ウイルスは、特に 24 時間で、肝細胞、赤髄および白髄中の脾細胞ならびに卵巣中の細胞を含む様々な細胞型の壊死に寄与している可能性がある。

【0209】

均等物

別段の定義がなければ、本明細書において使用される全ての技術用語および科学用語は、当業者によって一般的に理解されているものと同じ意味を有する。

【0210】

本明細書中に例示的に記載されている本発明は、本明細書に具体的に開示されていない、いずれかの 1 つまたは複数の要素、1 つまたは複数の限定の非存在下で適切に実施され得る。したがって、例えば、「含む (comprising)」、「含む (including)」、「含有する (containing)」などの用語は、拡張的に、限定なしに読まれるべきである。さらに、本明細書で用いられる用語および表現は、限定の用語でなく、記述の用語として使用されており、このような用語および表現の使用において、示されたおよび記載された特徴またはその一部のいずれの均等物をも除外する意図は存在せず、特許請求された発明の範囲内で様々な修飾が可能であることが認められる。

【0211】

したがって、本発明は好ましい実施形態および必要に応じて存在し得る特徴によって具体的に開示されているが、その中で具体化された本明細書中に開示されている発明の修正、改善および変形が当業者によって用いられ得ること、ならびにそのような修正、改善および変形は本開示の範囲内にあると見なされることを理解すべきである。本明細書で提供されている材料、方法および例は、好ましい実施形態を代表するものであり、例示的なものであって、本開示の範囲に対する限定として意図されるものではない。

【0212】

本発明は、本明細書において広く一般的に記載されている。一般的な開示の中に属するより狭い種および包括より下位の群の各々も本開示の一部を形成する。これには、削除された材料が本明細書中に具体的に挙げられているかどうかを問わず、属から何らかの主題を除去する但し書きまたは負の限定による本開示の包括的記載が含まれる。

【0213】

本明細書中に挙げられている全ての刊行物、特許出願、特許およびその他の参考文献は、全ての式および図面を含み、それぞれが個別に参照により組み込まれているのと同じ程度まで、それらの全体が参照により明示的に組み込まれる。抵触が生じる場合、定義を含む本明細書が優先される。

【0214】

その他の実施形態は、以下の特許請求の範囲内に記載されている。

10

20

30

40

50

【化 1】

配列番号1: Mut3およびMut-3 ΔICP6ウイルス株におけるICP34. 5のDNA配列。
c356a変異は、以下の配列中において太字かつ斜字体で示されている。

```
ATGGCCCCGCGCGCGCGCCATCGCGGCCCCCGCGCCCCCGCGCGCGG
GCCCCACGGGCGCGGTCCCAACCGCACAGTCCCAGGTAACCTCCACGCCCCA
ACTCGGAACCCGTGGTCAGGAGCGCGCCCGCGGCGCCCCGCGCGCGCGG
CCCGCCAGTGGGCCCCCGCCTTCTTGTTCGCTGCTGCTGCGCCAGTGGCT
CCACGTTCCCGAGTCCGCGTCCGACGACGACGACGACGACTGGCCGGACA
GCCCCCGCGCGAGCGGCGCCAGAGGCGCGCCACCGCGCGCGCGCCCC
CGCCCCCGGTCCCCACCGCGCGCGGGCGGGGGCGGGGCTAAACC
CTCCCACCCCCCTCACGCCCCCTTCCGCCTTCCGCCGCGCCTCGCCCTCC
GCCTGCGCGTCACCGCAGAGCACCTGGCGCGCCTGCGCCTGCGACGCGCG
GGCGGGGAGGGGCGCCGAAGCCCCCGCGACCCCCGCGACCCCCGCGAC
CCCCACGCGGGTGCGCTTCTCGCCCCACGTCCGGGTGCGCCACCTGGTGG
TCTGGGCCTCGGCCGCCCGCCTGGCGCGCCGCGGCTCGTGGGCCCCGCGAG
CGGGCCGACCGGGCTCGGTTCCGGCGCCGGGTGGCGGAGGCCGAGGCGGT
CATCGGGCGGTGCTTGGGGCCCCGAGGCCCGTGCCCGGGCCCTGGCCCGCG
GAGCCGGCCCGCGCAACTCGGTCTAA
```

10

配列番号2 Mut3およびMut-3 ΔICP6におけるICP34. 5のアミノ酸配列。
P119H変異は、以下の配列中において太字かつ斜字体で示されている。

20

```
MARRRRHRGPRRRPRPPGPTGAVPTAQSQVTSTPNSEPVVRSAFAAAPPPP
PASGPPPSCLLLRQWLHVPESASDDDDDDWPDSPPEPEAPEARPTAAAP
RPRSPPPGAGPGGGANPSHPPSRPFRLPPRLALRLRVTAEHLARLRLRRA
GGEGAPKPPATPATPATPTRVRFSPHVRVRHLVWASAARLARRGWARE
RADRARFRRRVAEAEAVIGPCLGPEARARALARGAGPANSV
```

配列番号3: EGFPのDNAコード配列。Mut3 ΔIC34. 5において、ICP34. 5コード
領域はEGFP発現カセット(図5C、配列番号11)で置き換えられた。

```
ATGGTGAGCAAGGGCGAGGAGCTGTTCACCGGGGTGGTGCCCATCCTGGT
CGAGCTGGACGGCGACGTAAACGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCGGCGAGG
GCGAGGGCGATGCCACCTACGGCAAGCTGACCCTGAAGTTCATCTGCACC
ACCGGCAAGCTGCCCCGTGCCCTGGCCACCCTCGTGACCACCCTGACCTA
CGGCGTGCAGTGCTTCAGCCGCTACCCCGACCACATGAAGCAGCACGACT
TCTTCAAGTCCGCCATGCCCGAAGGCTACGTCCAGGAGCGCACCATCTTC
TTCAAGGACGACGGCAACTACAAGACCCGCGCCGAGGTGAAGTTCGAGGG
```

30

40

50

【化 2】

CGACACCCCTGGTGAACCGCATCGAGCTGAAGGGCATCGACTTCAAGGAGG
ACGGCAACATCCTGGGGCACAAGCTGGAGTACAACAGCCACAAC
GTCTATATCATGGCCGACAAGCAGAAGAACGGCATCAAGGTGAACTTCAA
GATCCGCCACAACATCGAGGACGGCAGCGTGCAGCTCGCCGACCACTACC
AGCAGAACACCCCCATCGGCGACGGCCCCGTGCTGCTGCCCCACAACCAC
TACCTGAGCACCCAGTCCGCCCTGAGCAAAGACCCCAACGAGAAGCGCGA
TCACATGGTCCTGCTGGAGTTCGTGACCGCCGCCGGGATCACTCTCGGCA
TGGACGAGCTGTACAAGAAGCTTAGCCATGGCTTCCCGCCGGAGGTGGAG
GAGCAGGATGATGGCACGCTGCCCATGTCTTGTGCCCAGGAGAGCGGGAT
GGACCGTCACCCTGCAGCCTGTGCTTCTGCTAGGATCAATGTGTAG

10

配列番号4:EGFPのアミノ酸コード配列。

MVSKGEELFTGVVPIILVELDGDVNGHKFSVS GEGEGDATYGLTLKFICT
TGKLPVPWPTLVTTLTLYGVQCFSRYPDHMKQHDFFKSAMPEGYVQERTIF
FKDDGNYKTRAEVKFEGDTLVNRIELKGIDFKEDGNILGHKLEYNNSHN
VYIMADKQKNGIKVNFKIRHNIEDGSVQLADHYQONTPIGDGPVLLPDNH
YLSTQSALS KDPNEKRDHMLLEFVTAAGITLGMDELYKKLSHGFPPEVE
EQDDGTLPMSCAQESGMDRHPAACASARINV

配列番号5:17TermA株におけるICP34. 5のDNA配列。

20

ATGGCCCGCCGCCGCCCATCGCGGCCCGCCGCCCGCCGCCCGCCGCCCGG
GCCCACGGGCGCGCTCCCAACCGCACAGTCCCAGGTAACCTAGACTAGTC
TAGCGTAACCTCCACGCCCAACTCGGAACCCGCGGTGAGGAGCGCGCCCG
CGGCCCGCCCGCCGCCCGCCCGCCCGCGGTGGGCCCCCGCCTTCTTGTTCTG
CTGCTGCTGCGCCAGTGGCTCCACGTTCCCGAGTCCGCGTCCGACAACGA
CGATGACGACGACTGGCCGGACAGCCCCCGCCCGAGCCGGCGCCAGAGG
CCCGGCCACCGCCGCCCGCCCGCCCGGCCCGGCCCGCCCGCCCGCGGTG
GGCCCGGGGGCGGGGCTGACCCCTCCACCCCCCTCGCGCCCTTCCG
CCTTCCGCGCGCCTCGCCCTCCGCCTGCGCGTCACCGCGGAGCACCTGG
CGCGCCTGCGCCTGCGACGCGCGGGCGGGGAGGGGGCGCCGAGCCCCCG
GCGACCCCCGCGACCCCCGCGACCCCCGCGACCCCCGCGACCCCCGCGCG
GGTGCCTTCTCGCCCCACGTCCGGGTGCGCCACCTGGTGGTCTGGGCCT
CGGCCCGCCGCTGGCGCGCCGCGGCTCGTGGGCCCGCGAGCGGGCCGAC
CGGGCTCGGTTCCGGCGCCGGGTGGCGGAGGCCGAGGCGGTTCATCGGGCC
GTGCCTGGGGCCCGAGGCCCGTGCCCGGGCCCTGGCCCGCGGAGCCGGCC
CGGCGAACTCGGTCTAA

30

配列番号6:17TermA株におけるICP34. 5のアミノ酸配列。

MARRRRHRGPRRRPRPPGPTGAVPTAQSQVT*

(* 終止コドン * の後の配列は発現されないと予測される)

40

【化 3】

配列番号7:rRp450株におけるICP34. 5のDNA配列。

ATGGCCCCGCGCCGCCATCGCGGCCCCCGCGCCCCCGGCGCCCCGGGCC
CACGGGCGCGGTCCCAACCGCACAGTCCCAGGTAACCTCCACGCCCAACT
CGGAACCCGTGGTCAGGAGCGCGCCCCGCGGCCGCCCGCGCGCCCCCCC
GCCAGTGGGCCCCCGCCTTCTTGTTGCTGCTGCTGCGCCAGTGGCTCCA
CGTTCCCAGTCCGCGTCCGACGACGACGACGACGACTGGCCGGACAGCC
CCCCGCCCAGCGCGGCCAGAGGCCCGGCCACCGCCGCGCCCCCCCCGC
CCCCGGTCCCCACCGCCCCGCGCGGGCCCGGGGGCGGGGCTAACCCCTC
CCCCCCCCCTCACGCCCCCTCCGCGCTTCGCGCGCGCTCGCCCTCCGCC
TGCGCGTCACCGCAGAGCACCTGGCGCGCCTGCGCCTGCGACGCGCGGGC
GGGGAGGGGGCGCCGAAGCCCCCGCGACCCCCGCGACCCCCGCGACCCC
CACGCGGGTGCCTTCTCGCCCCACGTCCGGGTGCGCCACCTGGTGGTCT
GGGCCTCGGCGCCCCGCTGGCGCGCCGCGGCTCGTGGGCCCCGCGAGCGG
GCCGACCGGGCTCGGTTCCGGCGCCGGGTGGCGGAGGCCGAGGCGGTGAT
CGGGCCGTGCCTGGGGCCCCGAGGCCCGTGCCCGGGCCCTGGCCCGCGGAG
CCGCCCCGCGCAACTCGGTCTAA

10

配列番号8:rRp450株におけるICP34. 5のアミノ酸配列。

MARRRHRGPRRPRPPGPTGAVPTAQSQVTSTPNSEPVVRSAAPAAAPPPPP
ASGPPPSCSLLLRQWLHVPESASDDDDDDWPDSPPEPAPEARPTAAAPR
PRSPPPGAGPGGGANPSPPPSRPFRLPPRLALRLRVTAEHLARLRLRRAG
GEGAPKPPATPATPATPTRVRFSPHVRVRHLVVWASAARLARRGSWARER
ADRARFRRRVAEAEAVIGPCLGPEARARALARGAGPANSV

20

配列番号9:野生型17株におけるICP34. 5のDNA配列。

ATGGCCCCGCGCCGCCATCGCGGCCCCCGCGCCCCCGGCGCCCCGG
GCCCACGGGCGCGGTCCCAACCGCACAGTCCCAGGTAACCTCCACGCCCA
ACTCGGAACCCGTGGTCAGGAGCGCGCCCCGCGGCCGCCCGCGCGCCCC
CCCGCCAGTGGGCCCCCGCCTTCTTGTTGCTGCTGCTGCGCCAGTGGCT
CCACGTTCCCGAGTCCGCGTCCGACGACGACGACGACGACTGGCCGGACA
GCCCCCGCCCCGAGCCGGCGCCAGAGGCCCGGCCACCGCCGCGCCCCCCC
CGCCCCCGGTCCCCACCGCCCCGCGCGGGCCCCGGGGGGCGGGGCTAACCC
CTCCACCCCCCTCACGCCCCCTCCGCGCTTCGCGCGCGCTCGCCCTCC
GCCTGCGCGTCACCGCAGAGCACCTGGCGCGCCTGCGCCTGCGACGCGCG
GGCGGGGAGGGGGCGCCGAAGCCCCCGCGACCCCCGCGACCCCCGCGAC
CCCCACGCGGGTGCCTTCTCGCCCCACGTCCGGGTGCGCCACCTGGTGG
TCTGGGCCTCGGCCGCCCGCCTGGCGCGCCGCGGCTCGTGGGCCCCGCGAG
CGGGCCGACCGGGCTCGGTTCCGGCGCCGGGTGGCGGAGGCCGAGGCGGT
CATCGGGCCGTGCCTGGGGCCCCGAGGCCCGTGCCCGGGCCCTGGCCCCCG
GAGCCGGCCCCGCGCAACTCGGTCTAA

30

配列番号51:野生型17株におけるICP34. 5のDNA配列。

ATGGCCCCGCGCCGCCATCGCGGCCCCCGCGCCCCCGGCGCCCCGGGCC
CGTCCCAACCGCACAGTCCCAGGTAACCTCCACGCCCAACTCGGAACCCGCGGTCAGGAGCG

40

【化 4】

CGCCCGCGGCCGCCCCGCCGCCGCCCCCGCCGGTGGGCCCCCGCCTTCTTGTTTCGCTGCTG
CTGCGCCAGTGGCTCCACGTTCCCGAGTCCGCGTCCGACGACGACGATGACGACGACTGGCC
GGACAGCCCCCGCCCGAGCCGGCGCCAGAGGCCCGGCCACCGCCGCGCCCCCGGCC
GGCCCCACCGCCCCGGCGTGGGCCCGGGGGCGGGGCTGACCCCTCCACCCCCCTCGCGC
CCCTTCCGCTTCCGCCGCGCCTCGCCCTCCGCTGCGCGTCACCGCGGAGCACCTGGCGCG
CCTGCGCCTGCGACGCGCGGGCGGGGAGGGGGCGCCGGAGCCCCCGCGACCCCCGCGACCC
CCGCGACCCCCGCGACCCCCGCGACCCCCGCGCGGGTTCGCTTCTCGCCCCACGTCCGGGTG
CGCCACCTGGTGGTCTGGGCCTCGGCCGCCCGCTGGCGCGCCGCGGCTCGTGGGCCCCGGA
GCGGGCCGACCGGGCTCGGTTCCGGCGCCGGGTGGCGGAGGCCGAGGCGGTTCATCGGGCCGT
GCCTGGGGCCCGAGGCCCGTGCCCGGGCCCTGGCCCGCGGAGCCGGCCCGGCGAACTCGGTC
TAA

10

配列番号10:野生型17株におけるICP34. 5のアミノ酸配列。

MARRRRHRGPRRPRPPGPTGAVPTAQSQVTSTPNSEPVVRSAPAAAPPPP
PASGPPFSCSLLLRQWLHVPESASDDDDDDWPDSPPEPEAPEARPTAAAP
RPRSPPPGAGPGGGANPSHPPSRPFRLPPRLALRLRVTAEHLARLRLRA
GGEGAPKPPATPATPATPTRVRFSPHVRVRHLVVWASAARLARRGWARE
RADRARFRRRVAAEA EAVIGPCLGPEARARALARGAGPANSV

配列番号52:野生型17株におけるICP34. 5のアミノ酸配列。

20

MARRRRHRGPRRPRPPGPTGAVPTAQSQVTSTPNSEPAVRSAPA
AAPPPPPAGGPPFSCSLLLRQWLHVPESASDDDDDDWPDSPPEPEAPEARPTAAAPR
PRPPPPGVGPGGADPSHPPSRPFRLPPRLALRLRVTAEHLARLRLRRAGGEGAPEPP
ATPATPATPATPATPARVRFSPHVRVRHLVVWASAARLARRGWARERADRARFRRRV
AEAEAVIGPCLGPEARARALARGAGPANSV

配列番号11:EGFPカセットのDNA配列。

AACACATTAATTAACAAAACCTCCACACCTCCCCCTGAACCTGAAACATA
AAATGAATGCAATTGTTGTTGTTAACTTGTTTATTGCAGCTTATAATGGT
TACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAAGCATTTTTTTC
ACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAACTCATCAATGTATCTTATCATG
TCTGCTCGAAGCGGCCGCGCCCGACTCTAGACTACACATTGATCCTA
GCAGAAGCACAGGCTGCAGGGTGACGGTCCATCCCGCTCTCCTGGGCACA
AGACATGGGCAGCGTGCCATCATCTGCTCCTCCACCTCCGGCGGGAAGC
CATGGCTAAGCTTCTTGACAGCTCGTCCATGCCGAGAGTGATCCCGGCG
GCGGTACGAATCCAGCAGGACCATGTGATCGCGCTTCTCGTTGGGGTC
TTTGCTCAGGGCGGACTGGGTGCTCAGGTAGTGGTTGTCGGGCAGCAGCA
CGGGGCCGTCGCCGATGGGGGTGTTCTGCTGGTAGTGGTCGGCGAGCTGC
ACGCTGCCGTCCTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTTCACCTTGATGCC
GTTCTTCTGCTTGTCGGCCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGTTGT
ACTCCAGCTTGTGCCCCAGGATGTTGCCGTCCTCCTTGAAGTCGATGCCC
TTCAGCTCGATGCGGTTACCAGGGTGTCGCCCTCGAACTTCACCTCGGC
GCGGGTCTTGTAGTTGCCGTCGTCTTGAAGAAGATGGTGCGCTCCTGGA
CGTAGCCTTCGGGCATGGCGGACTTGAAGAAGTCGTGCTGCTTCATGTGG

30

40

【化 5】

TCGGGGTAGCGGCTGAAGCACTGCACGCCGTAGGTCAGGGTGGTCACGAG
 GGTGGGCCAGGGCAGGGCAGCTTGCCGGTGGTGCAGATGAAC TTCAGGG
 TCAGCTTGCCGTAGGTGGCATCGCCCTCGCCCTCGCCGGACACGCTGAAC
 TTGTGGCCGTTTACGTCGCCGTCCAGCTCGACCAGGATGGGCACCACCCC
 GGTGAACAGCTCCTCGCCCTTGCTCACCATCCGGGAATTGCGGCCGCGGG
 TACAATTCCGCAGCTTTTAGAGCAGAAGTAACACTTCCGTACAGGCCTAG
 AAGTAAAGGCAACATCCACTGAGGAGCAGTTCTTTGATTTGCACCACCAC
 CGGATCCGGGACCTGAAATAAAAGACAAAAGACTAAACTTACCAGTTAA
 CTTTCTGGTTTTTTCAGTTCCTCGAGTACCGGATCCTCTAGAGTCCGGAGG
 CTGGATCGGTCCCGGTGCTTCTATGGAGGTCAAACAGCGTGGATGGCG
 TCTCCAGGCGATCTGACGGTTCACTAAACGAGCTCTGCTTATATAGACCT
 CCCACCGTACACGCCTACCGCCCATTTGCGTCAATGGGGCGGAGTTGTTA
 CGACATTTTGGAAAGTCCCGTTGATTTTGGTGCCAAAACAAACTCCCAT
 GACGTCAATGGGGTGGAGACTTGGAAATCCCCGTGAGTCAAACCGCTATC
 CACGCCCATTGATGTACTGCCAAAACCGCATCACCATGGTAATAGCGATG
 ACTAATACGTAGATGTACTGCCAAGTAGGAAAGTCCCATAAGGTCATGTA
 CTGGGCATAATGCCAGGCGGGCCATTTACCGTCATTGACGTCAATAGGGG
 GCGTACTTGGCATATGATACACTTGATGTACTGCCAAGTGGGCAGTTTAC
 CGTAAATACTCCACCCATTGACGTCAATGGAAAGTCCCTATTGGCGTTAC
 TATGGGAACATACGTCATTATTGACGTCAATGGGCGGGGGTCGTTGGGCG
 GTCAGCCAGGCGGGCCATTTACCGTAAGTTATGTAACGACCTGCAGGCAT
 GCAAGCTCGAATTGCAACACGCAGATGCAGTCGGGGCGGCAGATCTTAAT
 TAATGGCTGGTTGTTTGTGTG

10

20

配列番号12: Mut-3、Mut-3Δ34、5またはMut-3ΔICP6ウイルス株におけるgE(糖タンパク質E)のDNA配列。g451a変異は、以下の配列中において太字かつ斜字体で示されている。

ATGGATCGCGGGGCGGTGGTGGGGTTTCTTCTCGGTGTTTGTGTTGTATC
 GTGCTTGGCGGGAACGCCCAAACGTCCTGGAGACGGGTGAGTGTGCGCG
 AGGACGTTTTCGTTGCTTCCAGCTCCGGGGCCTACGGGGCGCGGCCCGACC
 CAGAACTACTATGGGCCGTGGAACCCCTGGATGGGTGCGGCCCCTTACA
 CCCGTCTGTGGGTCTCGCTGATGCCCCCAAGCAGGTGCCCGAGACGGTCG
 TGGATGCGGCGTGCATGCGCGCTCCGGTCCCGCTGGCGATGGCGTACGCC
 CCCCCGGCCCCATCTGCGACCGGGGGTCTACGAACGGACTTCGTGTGGCA
 GGAGCGCGCGGCCGTGGTTAACCGGAGTCTGGTTATTACGGGGTCCGAG
 AGACGGACAGCGGCCTGTATACCCTGTCCGTGGGCGACATAAAGGACCCG
ACTCGCCAAGTGGCCTCGGTGGTCCTGGTGGTGCAACCGGCCCCAGTTCC
 GACCCCAACCCCGACCCAGCCGATTACGACGAGGATGACAATGACGAGG
 GCGAGGACGAAAGTCTCGCCGGCACTCCCGCCAGCGGGACCCCCGGCTC
 CCGCCTCCCCCGCCCCCGAGGTCTTGGCCCAGCGCCCCGAAGTCTC
 ACATGTGCGTGGGGTGACCGTGCGTATGGAGACTCCGGAAGCTATCCTGT
 TTTCCCCCGGGGAGACGTTTCAGCACGAACGTCTCCATCCATGCCATCGCC
 CACGACGACCAGACCTACTCCATGGACGTCGTCTGGTTGAGGTTTCGACGT
 GCCGACCTCGTGTGCCGAGATGCGAATATACGAATCGTGTCTGTATCACC
 CGCAGCTCCCAGAATGTCTGTCCCCGGCCGACGCGCCGTGCGCCGCGAGT

30

40

【化 6】

ACGTGGACGTCTCGCCTGGCCGTCCGCAGCTACGCGGGGTGTTCCAGAAC
AAACCCCCACCGCGCTGTTCCGGCCGAGGCTCACATGGAGCCCGTCCCGG
GGCTGGCGTGGCAGGCGGCCCTCCGTCAATCTGGAGTTCGGGGACGCGTCC
CCACAACACTCCGGCCTGTATCTGTGTGTGGTGTACGTCAACGACCATAT
TCACGCCTGGGGCCACATTACCATCAGCACCGCGGCGCAGTACCGGAACG
CGGTGGTGGAACAGCCCCCTCCACAGCGCGGCGCGGATTTGGCCGAGCCC
ACCCACCCGCACGTGCGGGCCCCCTCCCCACGCGCCCCCAACCCACGGCGC
CCTGCGGTTAGGGGCGGTGATGGGGGCCGCCCTGCTGCTGTCTGCGCTGG
GGTTGTGCGGTGTGGGCGTGTATGACCTGTTGGCGCAGGCGTGCCTGGCGG
GCGGTTAAAGCAGGGCCTCGGGTAAGGGGCCACGTACATTGCGCTGGC
CGACAGCGAGCTGTACGCGGACTGGAGCTCGGACAGCGAGGGAGAACCGG
ACCAGGTCCCGTGGCTGGCCCCCGGAGAGACCCGACTCTCCCTCCACC
AATGGATCCGGCTTTGAGATCTTATCACCAACGGCTCCGTCTGTATACCC
CCGTAGCGACGGGCATCAATCTCGCCGCCAGCTCACAACCTTTGGATCCG
GAAGGCCGATCGCCGTTACTCCCAGGCCTCCGATTCTGTCGCTCTTCTGG
TAA

10

配列番号13: Mut-3、Mut-3Δ34、5またはMut-3ΔICP6ウイルス株に
おけるgE(糖タンパク質E)のアミノ酸配列。A151T変異は、以下の配列中
において太字かつ斜字体で示されている。

MDRGAVVGFLLGVCVVSCLAGTPKTSWRRVSVGEDVSLLPAPGPTGRGPT
QKLLWAVEPLDGGCPLHPSWVSLMPPKQVPETVVDAACMRAPVPLAMAYA
PPAPSATGGLRDTDFVWQERAAVVNRSLVIHGVRETDGLYTLISVGDIDP
TRQVASVVLVVPAPVPTPPPTPADYDEDDNDEGEDESLAGTPASGTPRL
PPPPAPPRSWPSAPEVSHVRGVTVRMETPEAILFSPGETFSTNVSIIHAIA
HDDQTYSMDDVWLRFDVPTSCAEMRIYESCLYHPQLPECLSPADAPCAAS
TWT SRLAVRSYAGCSRTNPPPRCSAEAHMEPVPG LAWQAASVNLEFRDAS
PQHSGLYLCVVYVNDHIIHAWGHITISTAAQYRNAVVEQPLPQRGADLAEP
THPHVGAPPHPPTHGALRLGAVMGAALLLSALGLSVWACMTCWRRRAWR
AVKSRASGKGPTYIRVADSELYADWSSDSEGERDQVPWLAPPERPDSPST
NGSGFEILSPTAPSVYPRSDGHQSRRLTTFGSGRPDRRYSQASDSSVFW

20

30

配列番号14: 17TermA株におけるgEのDNA配列。

ATGGATCGCGGGGCGGTGGTGGGGTTTCTTCTCGGTGTTTGTGTTGTATC
GTGCTTGGCGGGAACGCCCAAACGTCTGGAGACGGGTGAGTGTCGGCG
AGGACGTTTCGTTGCTTCCAGCTCCGGGGCCTACGGGGCGCGGCCCGACC
CAGAACTACTATGGGCCGTGGAACCCCTGGATGGGTGCGGCCCTTACA
CCCGTCGTGGGTCTCGCTGATGCCCCCAAGCAGGTGCCCGAGACGGTCG
TGGATGCGGCGTGCATGCGCGCTCCGGTCCCGCTGGCGATGGCGTACGCC
CCCCCGCCCCATCTGCGACCGGGGTCTACGAACGGACTTCGTGTGGCA
GGAGCGCGCGGCCGTGGTTAACCGGAGTCTGGTTATTACGGGGTCCGAG
AGACGGACAGCGGCCTGTATACCCTGTCCGTGGGCGACATAAAGGACCCG

40

【化 7】

GCTCGCCAAGTGGCCTCGGTGGTCCTGGTGGTGCAACCGGCCCCAGTTCC
 GACCCACCCCCGACCCAGCCGATTACGACGAGGATGACAATGACGAGG
 GCGAGGACGAAAGTCTCGCCGGCACTCCCGCCAGCGGGACCCCCCGGCTC
 CCGCCTCCCCCGCCCCCCCCGAGGTCTTGGCCAGCGCCCCCGAAGTCTC
 ACATGTGCGTGGGGTGACCGTGCCTATGGAGACTCCGGAAGCTATCCTGT
 TTTCCCCCGGGGAGACGTTTACGACGAACGTCTCCATCCATGCCATCGCC
 CACGACGACCAGACCTACTCCATGGACGTCTGCTGGTTGAGGTTTCGACGT
 GCCGACCTCGTGTGCCGAGATGCGAATATACGAATCGTGTCTGTATCACC
 CGCAGCTCCCAGAATGTCTGTCCCCGGCCGACGCGCCGTGCGCCGCGAGT
 ACGTGGACGTCTCGCCTGGCCGTCCGCGAGCTACGCGGGGTGTTCCAGAAC
 AAACCCCCACCGCGCTGTTTCGGCCGAGGCTCACATGGAGCCCGTCCCGG
 GGCTGGCGTGGCAGGCGGCCCTCCGTCAATCTGGAGTTCCGGGACGCGTCC
 CCACAACACTCCGGCCTGTATCTGTGTGTGGTGTACGTCAACGACCATAT
 TCACGCTGGGGCCACATTACCATCAGCACCGCGGCGCAGTACCGGAACG
 CGGTGGTGGAACAGCCCCCTCCACAGCGCGGCGCGGATTTGGCCGAGCCC
 ACCCACC CGCACGTCCGGGGCCCCCTCCCCACGCGCCCCCAACCCACGGCGC
 CCTGCGGTTAGGGGCGGTGATGGGGGCGGCCCTGCTGCTGTCTGCACTGG
 GGTGTGCGGTGTGGGCGGTGATGACCTGTTGGCGCAGGCGTGCCTGGCGG
 GCGGTTAAAAGCAGGGCCTCGGGTAAGGGGCGCCACGTACATTTCGCGTGGC
 CGACAGCGAGCTGTACGCGGACTGGAGCTCGGACAGCGAGGGAGAACGCG
 ACCAGGTCCCGTGGCTGGCCCCCGGAGAGACCCGACTCTCCCTCCACC
 AATGGATCCGGCTTTGAGATCTTATCACCAACGGCTCCGTCTGTATACCC
 CCGTAGCGATGGGCATCAATCTCGCCGCCAGCTCACAACTTTGGATCCG
 GAAGGCCCGATCGCCGTTACTCCCAGGCCTCCGATTCGTCCGTCTTCTGG
 TAA

10

20

配列番号 15: 17TermA株におけるgEのアミノ酸配列。

MDRGAVVGFLLGVCVVSCLAGTPKTSWRRVSVGEDVSLLPAPGPTGRGPT
 QKLLWAVEPLDGCGLHPSWVSLMPPKQVPETVVDAACMRAPVPLAMAYA
 PPAPSATGGLRDTDFVWQERAAVVNRSLVIHGVRETDGLYTLVSGDIKDP
 ARQVASVVLVVQPAPVPTPPPTPADYDEDDNDEGEDES LAGTPASGTPRL
 PPPPAPPSWPSAPEVSHVRGVTVRMETPEAILFSPGETFSTNVS IHAIA
 HDDQTYSDVWVLRFDVPTSCAEMRIYESCLYHPQLPECLSPADAPCAAS
 TWTSRLAVRSYAGCSRTNPPPRCSAEAHMEFPVPLAWQAASVNLEFRDAS
 PQHSGLYLCVVYVNDHIHAWGHITISTAAQYRNAVVEQPLPQRGADLAEP
 THPHVGAPPHAPPTHGALRLGAVMGAALLLSALGLSVWACMTCWRRRAWR
 AVKSRASGKGPTYIRVADSELYADWSSDSEGERDQVPWLAPPERPDSPST
 NGS GFELLSPTAPSVYPRSDGHQSRRLTTFGSGRPDRRYSQASDSSVFW

30

配列番号 16: rRp450株におけるgEのDNA配列。

ATGGATCGCGGGCGGTGGTGGGGTTTCTTCTCGGTGTTTGTGTTGTATC
 GTGCTTGGCGGGAACGCCAAAACGTCTTGAGACGGGTGAGTGTGCGCG
 AGGACGTTTCGTTGCTTCCAGCTCCGGGGCCTACGGGGCGCGGCCCGACC
 CAGAACTACTATGGGCCGTGGAACCCCTGGATGGGTGCGGCCCTTACA

40

【化 8】

CCCGTCGTGGGTCTCGCTGATGCCCCCAAGCAGGTGCCCAGACGGTCTG
TGGATGCGGCGTGCATGCGCGCTCCGGTCCCGCTGGCGATGGCGTACGCC
CCCCCGGCCCATCTGCGACCGGGGTCTACGAACGGACTTCGTGTGGCA
GGAGCGCGCGGCCGTGGTTAACCGGAGTCTGGTTATTACGGGGTCCGAG
AGACGGACAGCGGCCTGTATACCCTGTCCGTGGGCGACATAAAGGACCCG
GCTCGCCAAGTGGCCTCGGTGGTCTGGTGGTGCAACCGGCCCCAGTTCC
GACCCACCCCCGACCCAGCCGATTACGACGAGGATGACAATGACGAGG
GCGAGGACGAAAGTCTCGCCGGCACTCCCGCCAGCGGGACCCCCCGGCTC
CCGCCTCCCCCGCCCCCGAGGTCTTGGCCCAGCGCCCCGAAGTCTC
ACATGTGCGTGGGGTGACCGTGCGTATGGAGACTCCGGAAGCTATCCTGT
TTTCCCCCGGGGAGACGTTACGACGAACGTCTCCATCCATGCCATCGCC
CACGACGACCAGACCTACTCCATGGACGTCGTCTGGTTGAGGTTTCGACGT
GCCGACCTCGTGTGCCGAGATGCGAATATACGAATCGTGTCTGTATCACC
CGCAGCTCCCAGAATGTCTGTCCCCGGCCGACGCGCCGTGCGCCGCGAGT
ACGTGGACGTCTCGCCTGGCCGTCCGCAGCTACGCGGGGTGTTCCAGAAC
AAACCCCCCACC GCGCTGTTCCGGCCGAGGCTCACATGGAGCCCGTCCCGG
GGCTGGCGTGGCAGGCGGCCTCCGTCAATCTGGAGTTCGCGGACGCGTCC
CCACAACACTCCGGCCTGTATCTGTGTGTGGTGTACGTCAACGACCATAT
TCACGCCTGGGGCCACATTACCATCAGCACCGCGGCGCAGTACCGGAACG
CGGTGGTGGAACAGCCCCTCCACAGCGCGGCGCGGATTTGGCCGAGCCC
ACCCACCCGCACGTGCGGGCCCCCTCCCCACGCGCCCCCAACCCACGGCGC
CCTGCGGTTAGGGGCGGTGATGGGGGCGGCCCTGCTGCTGTCTGCGCTGG
GGTTGTGCGGTGTGGGCGTGTATGACCTGTTGGCGCAGGCGTGCTGGCGG
GCGGTTAAAGCAGGGCCTCGGGTAAGGGGCCCACGTACATTGCGGTGGC
CGACAGCGAGCTGTACGCGGACTGGAGCTCGGACAGCGAGGGAGAACGCG
ACCAGGTCCCGTGGCTGGCCCCCGGAGAGACCCGACTCTCCCTCCACC
AATGGATCCGGCTTTGAGATCTTATCACCACGGCTCCGTCTGTATACCC
CCGTAGCGACGGGCATCAATCTCGCCGCCAGCTCACAACCTTTGGATCCG
GAAGGCCCCGATCGCCGTTACTCCAGGCCTCCGATTCTGTCCGTCTTCTGG
TAA

10

20

配列番号17:rRp450株におけるgEのアミノ酸配列。

30

MDRGAVVGFLGVCVVSCLACTPKTSWRRVSVGEDVSLLPAPGPTGRGPT
QKLLWAVEPLDGCGLHPSWVSLMPPKQVPETVVDAACMRAPVPLAMAYA
PPAPSATGGLRTDFVWQERAAVVNRSVLVHGVRETDSGLYTLISVGDIKDP
ARQVASVVLVQPAFPVPTPPPTPADYDEDDNDEGEDES LAGTPASGTPRL
PPPPAPPRSWPSAPEVSHVRGVTVRMETPEAILFSPGETFSTNVSIHAIA
HDDQTYSM DVVWLRFDVPTSCAEMRIYESCLYHPQLPECLSPADAPCAAS
TWTSLAVRSYAGCSRTNPPPRCSAEAHMEPVPGLAWQAASVNLEFRDAS
PQHSGLYLCVVYVNDHIHAWGHITISTAAQYRNAVVEQPLPQRGADLAEP
THPHVGAPPHAPPTHGALRLGAVMGAALLLSALGLSVWACMTCWRRRAWR
AVKSRASGKPTYIRVADSELYADWSSDSEGERDQVPWLAPPERPDSPST
NGSGFEILSPTAPSVYPRSDGHQSRRLTTFGSGRPDRRYSQASDSSVFW

40

50

【化 9】

配列番号18:野生型17株におけるgEのDNA配列。

ATGGATCGCGGGGCGGTGGTGGGGTTTCTTCTCGGTGTTTGTGTTGTATC
 GTGCTTGGCGGGAACGCCCAAAACGTCTTGAGACGGGTGAGTGTGCGCG
 AGGACGTTTCGTTGCTTCCAGCTCCGGGGCCTACGGGGCGCGGGCCGACC
 CAGAACTACTATGGGCCGTGGAACCCCTGGATGGGTGCGGCCCCCTTACA
 CCCGTCGTGGGTCTCGCTGATGCCCCCAAGCAGGTGCCCGAGACGGTCG
 TGGATGCGGCGTGCATGCGCGCTCCGGTCCCGCTGGCGATGGCGTACGCC
 CCCCCGCGCCCATCTGCGACCGGGGGTCTACGAACGGACTTCGTGTGGCA
 GGAGCGCGCGGCCGTGGTTAACCAGGAGTCTGGTTATTACGGGGTCCGAG
 AGACGGACAGCGGCCTGTATACCCTGTCCGTGGGCGACATAAAGGACCCG
 GCTCGCCAAGTGGCCTCGGTGGTCTTGGTGGTGCAACCGGCCCCAGTTCC
 GACCCACCCCCGACCCCCAGCCGATTACGACGAGGATGACAATGACGAGG
 GCGAGGACGAAAGTCTCGCCGGCACTCCCGCCAGCGGGACCCCCGGCTC
 CCGCTCCCCCGCCCCCGAGGTCTTGGCCAGCGCCCCGAAGTCTC
 ACATGTGCGTGGGGTGACCGTGCCTATGGAGACTCCGGAAGCTATCCTGT
 TTTCCCCCGGGGAGACGTTACGACGAACGTCTCCATCCATGCCATCGCC
 CACGACGACCAGACCTACTCCATGGACGTGCTGTTGAGGTTGACGCT
 GCGGACCTCGTGTGCCGAGATGCGAATATACGAATCGTGTCTGTATCACC
 CGCAGCTCCAGAATGTCTGTCCCCGGCCGACGCGCCGTGCGCCGCGAGT
 ACGTGGACGTCTCGCTGGCCGTCCGACGTACGCGGGGTGTTCCAGAAC
 AAACCCCCACCGCGCTGTTGCGCCGAGGCTCACATGGAGCCCGTCCCGG
 GGCTGGCGTGGCAGGCGGCTCCGTCAATCTGGAGTTCGGGACGCGTCC
 CCACAACACTCCGGCCTGTATCTGTGTGTGGTGTACGTCAACGACCATAT
 TCACGCCTGGGGCCACATTACCATCAGCACCGCGGCGCAGTACCGGAACG
 CGGTGGTGGAAACAGCCCCCTCCACAGCGCGGCGCGGATTGGCCGAGCCC
 ACCACCCGACGTCGGGGCCCCCTCCCCACGCGCCCCCAACCCACGGCGC
 CCTGCGGTTAGGGGCGGTGATGGGGGCCGCCCTGCTGCTGTCTGCGCTGG
 GGTGTGTCGTGTGGGCGTGTATGACCTGTGGCGCAGGCGTGCCTGGCGG
 GCGGTTAAAAGCAGGGCCTCGGGTAAGGGGCCACGTACATTGCGGTGGC
 CGACAGCGAGCTGTACGCGGACTGGAGCTCGGACAGCGAGGAGAACGCG
 ACCGATCCCGTGGCTGGCCCCCGGAGAGACCCGACTCTCCCTCCACC
 AATGGATCCGGCTTTGAGATCTTATCACCAACGGCTCCGTCTGTATACCC
 CCGTAGCGACGGGCATCAATCTCGCCGCCAGCTCACAACTTTGGATCCG
 GAAGGCCCGATCGCCGTTACTCCCAGGCCTCCGATTCTGTCGTCTTCTGG
 TAA

10

20

配列番号19:野生型17株におけるgEのアミノ酸配列。

MDRGAVVGFLLGVCVVSCLAGTPKTSWRRVSVGEDVSLLPAPGPTGRGPT
 QKLLWAVEPLDGGCPLHPSWVSLMPPKQVPETVVDACMRAPVPLAMAYA
 PPAPSATGGLRTDFVWQERAAVVNRSLVIHGVRETDSGLYTLISVGDIKDP
 ARQVASVVLVVQAPVPPTPPPTPADYDEDDNDEGEDES LAGTPASGTPRL
 PPPPAPPRSWPSAPEVSHVRGVTVRMETPEAILFSPGETFSTNVSIIAIA
 HDDQTYSDMVVWLRFDPVPTSCAEMRIYESCLYHPQLPECLSPADAPCAAS
 TWTSLAVRSYAGCSRTNPPPRCSAEAHMEFPVPLAWQAASVNLEFRDAS
 PQHSGLYLVCVVYVNDHIHAWGHITISTAAQYRNAVVEQPLPQRGADLAEP
 THPHVGAPPHPPTHGALRLGAVMGAALLLSALGLSVWACMTCWRRRAWR
 AVKSRASGKGPTYIRVADSELYADWSSDSEGERDQVPWLAPPERPDSPST
 NGS GFELLSPTAPSVYPRSDGHQSRRLTTFGSGRPDRRYSQASDSSVFW

30

40

50

【化 10】

配列番号20: Mut3、Mut-3 Δ 34、5およびMut-3 Δ ICP6ウイルス株におけるICP0のDNA配列。a848c(イントロン内)およびg1712a(R258Hについて)変異は、以下の配列中において太字かつ斜字体で示されている。2つのイントロンが含まれている(すなわち、以下の配列のヌクレオチド(nt)58~nt 861およびnt 1529~nt 1663、括弧内の配列も参照)。

ATGGAGCCCCGCCCCGGAGCGAGTACCCGCGGCGCTGAGGGCCGCCCCCA
 GCGCGAG (GTGAGGGGCGGGCGCCATGCTGCGGGCGCCATGCTGCGGGCG
 CCATGCTGCGGGCGCCATGCTGCGGGCGCCATGTTGGGGGCGCCATGTT
 GGGGGGCGCCATGTTGGGGGACCCCCGACCCCTTACACTGGAACCGGCCGC
 CATGTTGGGGGACCCCCACTCATAACGGGAGCCGGGCGCCATGTTGGGG
 CGCCATGTTAGGGGCGTGGAAACCCGTGACACTATATATACAGGACCG
 GGGGCGCCATGTTAGGGGCGCGGAACCCCTGACCCCTATATATACAGGG
 ACCGGGGTCGCCCTGTTAGGGGTCGCCATGTGACCCCTGACTTTATATA
 TACAGACCCCCAACACCTACACATGGCCCCCTTGTACTCAGACGCGAGGGCC
 CGGGGTCGCCGTGGGACCCCCCTGACTCATAACAGAGACAGCCCCAC
 AACAAACACACAGGGACCGGGTCGCCGTGTTAGGGGCGTGGTCCCCAC
 TGACTCATAACGAGGGCCCCCTTACTCACACGCATCTAGGGGGGTGGGA
 GGAGCCGCGCCATATTTGGGGGACGCCGTGGGACCCCCGACTCCGGTG
 CGTCTGGAGGGCGGGAGAAGAGGGAGAAGAGGGGTGCGGATCCAAAGGA
 CGGACCCAGACCACCTTTGGTTGCGAGACCCCTTCTCCCCCTCTTCCGA
 GGCCAGCAGGGGGGACGAGCTTTGTGAGGCGGGGGGGAGGGGGAACTCG
 TGGGCGCTGATTGACGCGGGAATCCCCCCTTCTTACCCGCCCCCTT
 TTTCCCTCAG) CCGCCCCGATGCTGCGGTGTTTCCCTGCGACCGAGAC
 CTGCGCGACACGAGCGACTCGGAGGCGGAGACCGAAGTGGGGGGCGGGG
 GGACGCGGACCAACATGACGACGACTCCGCCCTCCGAGGCGGACAGCACGG
 ACACGGAACGTTTCGAGACGGGGCTGCTGGGCGCGCAGGGCGTGGATGGG
 GGGGCGGTCTCGGGGGGAGCCCCCGCGAGGAAGACCCCGGAGTTG
 CGGGGGCGCCCCCTCGAGAGGACGGGGGGAGCGACGAGGGCGACGTGT
 GCGCGCTGTGACCGGATGAGATCGCGCCCCACCTGCGCTGCGACACCTTC
 CCGTGCAATGCACCGCTTCTGCAATCCCGTGCAATGAAACCTGGATGCAATT
 GCGCAACACCTGCCCGCTGTGCAACGCCAAGCTGGTGTACCTGATAGTGG
 GCGTGACCGCCAGCGGGTCGTTACGACCATCCCGATCGTGAACGACCCC
 CAGACCCGATGAGAGCGGAGGAGCCGTGAGGGCGGGCAGGGCCGTGGA
 CTTTATCTGGACGGGAATCAGCGGTTCCGCCCGCGGTACCTGACCCCTGG
 GGGGGCACACGCTGAGGGCCCTGTGCGCCACCCACCGGAACCCACACG
 GACAGGATGACGACGACCTGGACGACG (GTGAGGCGGGGGCGGCAAGGA
 CCCTGGGGGAGGAGGAGGAGGAGGGGGGGAGGAGGAATAGGCGGGCGG
 GCGAGGAAGGGCGGGCGGGGAGGGGGCGTAACCTGATCGCGCCCCCG
 TTGTCTCTTGACG) CAGACTACGTACCGCCCCCCCCCGCGGACGCCCCG
 CGCCCCCCCCACAGAGGCGCGCGCGCCCCCGCTGACGGGCGGGGCGT
 CTCACGACGCCCCCAGCGGCGCGGCTCGGACAGCGCCCCCTCGGCG
 CCCATCGGGCCACACGGCAGCAGTAACACCAACACCAACCAACAGCAG
 CGGCGGCGGGCGCTCCCGCCAGTCGCGAGCCGCGCGCGGGGGGCGT
 CTGCCCCCTCCGGGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTTGTTGAAGCGGAG
 GCGGGGCGGCGGAGGGGCGGACGGGCCCCCTTGTCAACAGACCCGCCCC
 CCTTGCAACACAGAGACCCCATAGTGATCAGCGACTCCCCCGGCGCT
 CTCCCCACAGGCCCCCGCGGCGCCATGCCAGGCTCCGCCCCCGCCCC
 GGGCCCCCGCGTCCGCGGCGCGCTCGGGACCCGCGCGCCCCCGCGCGGC
 CGTGGCCCCGTGCGTGCGAGCGCGCCTCCGGGGCCCGCCCCCGCGCCC
 CGGCCCCCGGGGCGGAGCCGCGCGCCCCCGCGGACGCGCGCGCTGTG
 CCCAGTCGCACTCGTCCCTGGCTCAGGCGCGGAACCAAGAACAGAGTCT
 GTGCGGGGCGGTGCGACGCTGGCGCGCGGCTCGGGGGGGCGGGCGTGG
 AGGGTGGGACGGGCCCCCGCGCGCGCGCCCCCTCCGGCGCGCCCCCG
 CTCCCCCTCCGCGCCTCTGTGAGCAGGAGGCGGGCGGTGCGTCCGAGGA

10

20

30

40

50

【化 1 1】

GAGGCGCGGGTCGGGCCAGGAAAACCCCTCCCCCAGTCCACGCGTCCCC
 CCCTCGCGCCCGGAGGGGCCAAGAGGGCGGGCAGCGACCCCCCTCCGAC
 TCAGGCGCGGGGGGCGCGCCAGGGTGGGCCCCGGGACCCCCCTGACGTC
 CTCGGCGGCTCCGCTCTTCCTCTCTGCTCTTCTCTCTCGGCCCCGA
 CCCCCGCGGGGGCGGCTCTTCGCGCGCGGGGCGCGCTCTCTCTCGGT
 TCCGCTCTCTCGGCGGGGCGGTGCGTGGCTGGGAGGGAGACAAGAGGA
 AACCTCCCTCGGCCCCCGCGCTGCTTCTGGGCGCGGGGGCGGAGGAAGT
 GTGCCCGGAAGACGCGCCACGCGGAGACTTCCGGGGCGGTCCCCGCGGGC
 GGCTCAGCGCTACCTGCCCATCTCGGGGTCTTAGCGTGGTGGCTCT
 GTCGCTTACGTGAACAAGACGATCAGGGGGACTGCTGCCCATCCTGG
 ACATGGAGACGGGGAACATCGGGGCTACGTGGTCTGGTGGACGAGACG
 GGAAACATGGCGACCCGGCTGCGGGCGCGGTCCCCGGCTGGAGCCGCGG
 CACCCTGCTCCCCGAGACCGCGGTAACACGTGATCCCCCGAGTACC
 CGAGGCCCCCGGTGCGAGTGGACAGCCTCTGGATGACCCCCGTGGGG
 AACATGCTGTTCCAGCAGGGCACCTAGTGGGCGGCTGGACTTCCGAG
 CCTGCGGTCTCGGCACCCGTGGTCCGGGGAGCAGGGGGCGTCGACCCGGG
 ACGAGGAAAACATAA

10

配列番号21: Mut3、Mut-3 Δ34、5およびMut-3 ΔICP6におけるICP0のアミノ酸配列。R258H変異は、以下の配列中において斜字体かつ太字で示されている。

MEPRPGASTR RPEGRPQREP APDVWVFPCD RDLPDSSDSE AETEVGGRGD ADHHDDDSAS
 EADSTDTELF ETGLLGEPQGV DGGAVSGGSP PREEDPGSCG GAPPREDGGS DEGDVCAVCT
 DEIAPHLRCD TFPCMHRECI PCMKTWMQLR NTCPLCNAKL VYLIVGVTPS GSFSTIPIVN
 DPQTRMEAE AVRAGTAVDF IWTGNQRFAP RYLTLLGGHTV RALSPTHPEP TTDEDDDDLD
 DADYVPPAPR RTPRAPP**H**RG AAAPPVTGGA SHAAPQAAA RTAPPSAPIG PHGSSNTNTT
 TNSSGGGGSR QSRAAAPRGA SGPSGGVGVG VGVVEAEAGR PRGRTGPLVN RPAPLANNRD
 PIVISDSPPA SPHRPPAAPM PGSAPRPGPP ASAAASGPAP PRAAVAPCVR APPPGPGPRA
 PAPGAEPAPR PADARRVPQS HSSLAQAANQ EQSLCRARAT VARGSGGPGV EGGHGSPRGA
 APSGAAPLPS AASVEQEA AV RPRKRRGSGQ ENPSFQSTRP PLAPAGAKRA ATHPPSDSGP
 GGRQGGPGT PLTSSAASAS SSSASSSSAP TPAGAASSAA GAASSSASAS SGGAVGALGG
 RQETSLGPR AASGPRGPRK CARKTRHAET SGAVPAGGLT RYLPISGVSS VVALSPYVVK
 TITGDCLPIL DMETGNIGAY VVLVDQTGNM ATRLRAAVPG WSRRTLLPET AGNHVMPPEY
 PTAPASEWNS LWMTVGNML FDQGTLVGAL DFRSLRSRHP WSGEQGASTR DEKGQ

20

配列番号22: 17TermA株におけるICP0のDNA配列。2つのイントロンが含まれている(すなわち、以下の配列のヌクレオチド(nt)58~nt 822およびnt 1490~nt 1625、括弧内の配列も参照)

30

ATGGAGCCCCGCGCGGAGCGAGTACCCGCGGCGCTGAGGGCGCCCCCA
 GCGCGAG (GTGAGGGGCGCGGCGCCATGTCTGGGGCGCCATATTGGGGGGC
 GCCATATTGGGGGGCGCCATGTTGGGGGACCCCCGACCTTACACTGGAA
 CCGGCGCCATGTGGGGGACCCCCACTCATACACGGGAGCCGGGCGCA
 TGTGGGGCGCCATGTTAGGGGGCGTGAACCCCGTGACACTATATATAC
 AGGGACCGGGGGCGCCATGTTAGGGGGTGCAGAACCCCTGACCTATAT
 ATACAGGGACCGGGTGCCTGTTGGGGGTGCGCATGTGACCCCTGAC
 TTTATATATACAGACCCCCAACACATACATGGCCCTTTGACTCAGAC
 GCAGGGCGGGGTGCGCGTGGGACCCCTGACTCATACACAGAGACACG
 CCCCACAACAACACACAGGGACCGGGGTGCGCGTGTGGGGGCGTGGT
 CCCCCTGACTCATACGACGAGCCCCCTTACTCACACGCATCTAGGGGG
 TGGGGAGGAGCCCGCCATATTGGGGGACCGGTGGGACCCCGACT
 CCGGTGCGTCTGGAGGGCGGAGAAGAGGGAAGAAGAGGGGTGCGGATCC
 AAAGGACGGACCCAGACCACCTTTGGTTGCAGACCCCTTTCTCCCCCTC

40

50

【化 1 2】

TTCCGAGGCCAGCAGGGGGCAGGACTTTGTGAGGCGGGGGGGGAGAGG
GGGAACTCGTGGGTGCTGATTGACGCGGGAATCCCCCCCATTCTTACC
CGCCCCCTTTTTTCCCTTAG) CCGCCCCGGATGCTGGGTGTTTCCCT
GCGACCGAGACCTGCCGGACAGCAGCGACTCTGAGGCGGAGACCGAAGTG
GGGGGGCGGGGGGACGCCACCACCATGACGACGACTCCGCCTCCGAGGC
GGACAGCACGGACACGGAAGTTCGAGACGGGGCTGCTGGGGCCGCAGG
GCGTGGATGGGGGGGCGGTCTCGGGGGGAGCCCCCCCCGCGAGGAAGAC
CCCGGCAGTTGCGGGGGCGCCCCCTCGAGAGGACGGGGGGAGCGACGA
GGGTGACGTGTGCGCGGTGTGCACGGATGAGATCGCGCCCCACCTGCGCT
GCGACACCTTCCCGTGCATGCACCGCTTCTGCATCCCGTGCATGAAAACC
TGGATGCAATTGCGCAACACCTGCCCGCTGTGCAACGCCAAGCTGGTGTA
CCTGATAGTGGGCGTGACGCCCAGCGGGTCGTTGAGCACCATCCCGATCG
TGAACGACCCCCAGACCCGCATGGAGGCCGAGGAGGCGGTGAGGGCGGGC
ACGGCCGTGGACTTTATCTGGACGGGCAATCAGCGGTTGCCCCCGCGGTA
CCTGACCCTGGGGGGGCACACGGTGAGGGGCCCTGTGCCCCACCCACCCGG
AACCACACCGAGGAGGATGACGACGACCTGGACGACG (GTGAGGCGGGG
GGCGGCAAGGACCTTGGGGGAGGAGGAGGAGGAGGGGGGGGAGGAGGA
ATAGCGGGGCGGGCGAGGAAAGGGCGGGCCGGGGAGGGGGCGTAACCTGA
TCGCGCCCCCGTTGTCTCTTGAG) CAGACTACGTACCGCCCCCCCCCG
CCGACGCCCCCGCGCCCCCACGACAGGGCGCGCGCGCCCCCGTGA
CGGGCGGGGCGTCTCACGACGCCCCCAGCGGGCGCGGCTCGGACAGCG
CCCCCTCGGCGCCCATCGGGCCACACGGCAGCAGTAACACCAACACCAC
CACCACAGCGCGCGGGCGGGCGGTCCCGCCAGTCGCGAGCCGCGGCGC
CGCGGGGGCGTCTGCCCCCTCGGGGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTT
GTTGAAGCGGAGGCGGGGCGGCCGAGGGGCGGACGGGCCCCCTTGTCAA
CAGACCCGCCCCCTTGCACCAACAGAGACCCATAGTGATCAGCGACT
CCCCCGCGGCTCTCCCCACAGGCCCCCGCGGGCGCCATGCCAGGCTCC
GCCCCCGCCCCGGGCCCCCGCGTCCGCGGGCGCGTCCGGACCCGCGCG
CCCCCGCGGGCGGTGGCCCCGTGCGTGCGAGCGCGCCTCCGGGGCCCG
GCCCCCGCGCCCCCGCCCCCGGGGCGGAGCCGGCCCGCCCCCGCGGAC
GCGCGCGTGTGCCCCAGTCGCACTCGTCCCTGGCTCAGGCGCGGAACCA
AGAACAGAGTCTGTGCCGGGCGCGTGCGACGGTGGCGCGCGGCTCGGGGG
GGCGGGGCGTGAGGGTGGGCACGGGCCCTCCCGCGCGCGCGCCCCCTCC
GGCGCGCCCCCGTCCCCCTCCGCCGCTCTGTGAGCAGGAGGCGGCGGT
GCGTCCGAGGAAGAGGCGCGGTTCGGGCCAGGAAAACCCCTCCCCCAGT
CCACGCGTCCCCCCTCGCGCCGGCAGGGGCCAAGAGGGCGGCGACGAC
CCCCCTCCGACTCAGGGCCGGGGGGCGCGGCCAGGTTGGGCCGGGAC
CCCCCTGACGTCTCGGCGGCTCCGCTCTTCTCTCTGCTCTTCTCT
CCTCGGCCCCGACCCCGGGGGGCGCCTCTTCCGCGCGGGGGCGCG
TCCTCTCCGCTTCCGCTCTCTCGGCGGGGGCGTCCGTGCCCTGGGAGG
GAGACAAGAGGAAACCTCCCTCGGCCCCCGCGTGTCTGGGCGCGGG
GGCCGAGGAAGTGTGCCCGGAAGACGCGCCACGCGGAGACTTCCGGGGCC
GTCCCCGCGGGCGGCTCACGCGCTACCTGCCATCTCGGGGGTCTCTAG
CGTGGTGCCTCTGCGCTTACGTGAACAAGACTATCACGGGGGACTGCC
TGCCCATCTGGACATGGAGACGGGGAACATCGGGGCGTACGTGGTCTTG
GTGGACCAGACGGGAAACATGGCGACCCGGTGGGGCGCGGTCCCCGG
CTGGAGCCGCGCACCCCTGCTCCCCGAGACCGGGGTAACCACGTGATGC
CCCCCGAGTACCCGACGGCCCCCGCGTCCGAGTGGAACAGCCTCTGGATG
ACCCCGTGGGGAACATGCTGTTGACACGGGCACCCTAGTGGGCGCCCT
GGACTTCCGACGCTGCGGTCTCGGCACCCGTGGTCCGGGGAGCAGGGGG
CGTCGACCCGGGACGAGGGAAAACAATAA

10

20

30

40

50

【化 13】

配列番号23: 17TermA株におけるICP0のアミノ酸配列。

```
MEPRPQASTR RPEGRPQREP APDVWVFPCD RDLPDSSDSE AETEVGGRGD ADHHDDDSAS
EADSTDTELF ETGLLGPGQGV DGGAVSGGSP FREEDPGSCG GAPPREDGGS DEGDVCAVCT
DEIAPHLRCD TFPCMHRFCI PCMKTWMQLR NTCPLCNAKL VYLIVGVTPS GSFSTIPIVN
DPQTRMEAAE AVRAGTAVDF IWTGNQRFAP RYLTLGGHTV RALSPTHPEP TTDEDDDDLD
DADYVPPAPR RTPRAPPRRG AAAPVVTGGA SHAAPQPAAR RTAPPSAPIG PHGSSNTNTT
TNSSGGGGSR QSRAAAPRGA SGPSGGVGVG VGVVEAEAGR PRGRTGPLVN RPAPLANNRD
PIVISDSPPA SPHRPPAAPM PGSAPRPGPP ASAAASGPAP PRAAVAPCVR APPPGPGPRA
PAPGAEPAAAR PADARRVPQS HSSLAQAANQ EQSLCRARAT VARGSGGPGV EGGHGPRSGA
APSGAAPLPS AASVEQEAAR RPRKRRGSGQ ENPSPQSTRP PLAPAGAKRA ATHPPSDSGP
GGRGQGGPGT PLTSSAASAS SSSASSSSAP TPAGAASSAA GAASSSASAS SGGAVGALGG
RQETSLGPR AASGPRGPRK CARKTRHAET SGAVPAGGLT RYLPISGVSS VVALSPYVNK
TITGDCLPIL DMETGNIGAY VVLVDQTGNM ATRLRAAVPG WSRRTLLPET AGNHVMPPEY
PTAPASEWNS LWMTPVGNML FDQGTLLVGL DFRSLRSHRP WSGEQGASTR DEGKQ
```

10

配列番号24: rRp450株におけるICP0のDNA配列。2つのイントロンが含まれている(すなわち、以下の配列のヌクレオチド(nt)58~nt 862およびnt 1530~nt 1668、括弧内の配列も参照)

```
ATGGAGCCCCCGCCCGGAGCGAGTACCCGCGGCCCTGAGGGCCGCCCCCA
CCGCCAG (GTGAGGGGCGGGCGCCATGTCTGGGGCGCCATGTCTGGGGCG
CCATGTCTGGGGCGCCATGTCTGGGGCGCCATGTTGGGGGGCGCCATGTT
GGGGGGCGCCATGTTGGGGGACCCCGACCCCTTACACTGGAACCGGCCGC
CATGTTGGGGGACCCCGACTCATAACGGGAGCCGGGCGCCATGTTGGGG
CGCCATGTTAGGGGGCGTGGAAACCCCGTGACACTATATATACAGGGACCG
GGGGCGCCATGTTAGGGGGCGCGGAACCCCGTGACCCCTATATATACAGGG
ACCGGGGTCGCCCTGTTAGGGGTCGCCATGTGACCCCGTGACTTTATATA
TACAGACCCCAACACCTACACATGGCCCTTTGACTCAGACGAGGGGCC
CGGGGTCGCCCTGGGACCCCGTGACTCATAACAGAGACACGCCCCAC
AACAACACACAGGGACCGGGGTCGCCCTGTTAGGGGGCGTGGTCCCCAC
TGACTCATAACGACAGGGGCGCCCTTACTCAGACGCGATCTAGGGGGGTGGGA
GGAGCCGCGCCCATATTTGGGGGACGCGGTGGGACCCCGGACTCCGGTG
CGTCTGAGGGGCGGAGAGAAGAGGGAAGAAGAGGGGTGGGATCAAAGGA
CGGACCCAGACCACTTTGGTGTGAGACCCCTTTCTCCCCCTCTTCCGA
GGCCAGCAGGGGGGCGAGGACTTTGTGAGGCGGGGGGGAGGGGGAACTCG
TGGGCGCTGATTGACGCGGGAATCCCCCATTTCTTACCCGCCCCCTTT
TTTTCCCTCAG) CCCGCCCCGATGTCTGGGTGTTCCCTGCGACCGAGA
CCTGCCGACAGCAGCGACTCGGAGGCGGAGACCGAAGTGGGGGGCGGG
GGGACGCGGACCACTGACGACGACTCCGCCTCCGAGGCGGACAGCAG
GACACGGAACCTGTTGAGACGGGGCTGCTGGGGCGGAGGGCGTGGATGG
GGGGGCGGTCTCGGGGGGAGCCCCCGCGAGGAAGACCCGGCAGTT
GCGGGGCGCCCCCTCGAGAGGACGGGGGAGCGACGAGGGCGACGTG
TGCGCCGTGTGACGGATGAGATCGCGCCCACTGCGCTGCGACACCTT
CCCGTGCATGACCGCTTCTGCATCCCGTGCATGAAACCTGGATGCAAT
TGCGCAACACCTGCCCGCTGTGCAACGCCAAGCTGGTGTACCTGATAGTG
GGCTGACGCCCGACCGGTCGTTGAGCACCATCCCGATCGTGAACGACCC
CCAGACCGCATGGAGGCCGAGGAGCCGTGAGGGCGGGCACGGCCGTGG
ACTTTATCTGGACGGGCAATCAGCGGTTGCCCCGCGGTACCTGACCCGTG
GGGGGGCACACGGTGAGGGCCCTGTGCGCCACCCACCTGAGCCACAC
GGACGAGGATGACGACGACCTGGACGACG (GTGAGGCGGGGGGCGGCGAG
GACCTGGGGGAGGAGGAGGGGGGGGGGGGGAGGAATAGGCGGGCG
GGCGGGCAGGAAAGGGCGGGCGGGGAGGGGGCGTAACCTGATCGCGCC
CCCCGTTGTCTCTTGAC) CAGACTACGTACCGCCGCCCCCGCGGACG
CCCCGCGCCCCCACGACAGAGGCGCGCGCGCCCCCGTGACGGGGCG
```

20

30

40

【化 1 4】

GGCGTCTCAGCAGCCCCCAGCCGGCCGCGGCTCGGACAGCGCCCCCT
 CGGCGCCCATCGGGCCACACGGCAGTAGTAACACTAACACCACCACCAAC
 AGCAGCGGCGGCGGCGGCTCCCGCCAGTCGCGAGCCGCGGTGCCGCGGGG
 GCGCTCTGCCCCCTCCGGGGGGTTGGGGTTGTTGAAGCGAGGCGGGG
 GGCCGAGGGGCGGACGGGCCCCCTTGTCAACAGACCGCCCCCTTGCA
 AACACAGAGACCCCATAGTGATCAGCGACTCCCCCGGCGCTCTCCCA
 CAGGCCCCCGCGGCGCCCATGCCAGGCTCCGCCCCCGCCCCGGTCCCC
 CCGCGTCCGCGGCGCGTCCGGCCCCGCGCGCCCCCGCGGCGCGTGCGC
 CCGTGTGTGCGGGCGCGCCTCCGGGGCCCGGCCCCCGCGCCCCGGCCCC
 CGGGGCGGAGCGGCGCCCCCGCCCCGCGGACGCGCGCGTGTGCCCACT
 CGCACTCGTCCCTGGCTCAGGCGCGCAACCAAGAACAGAGTCTGTGCCGG
 GCGCGTGCGACGGTGCGCGCGCGCTCGGGGGGGCGGGCGTGAGGGTG
 ACACGGGCCCCCTCCCGCGGCGCGCCCCCTCCGGCGCGCCCCCTCCGGCG
 CCCCCCGCTCCCCCTCCCGCGCTCTGTGAGCAGGAGGCGGGCGTGCGT
 CCGAGGAAGAGGCGCGGGTCCGGCCAGGAAAACCCCTCCCCCAGTCCAC
 GCGTCCCCCCTCGCGCGCGCAGGGGCCAAGAGGGCGGCGACGACCCCC
 CCTCCGACTCAGGGCCGGGGGGCGCGGCCAGGGAGGGCCCGGACCCCC
 CTGACGTCTCGCGGCGCTCCGCTCTTCTCTCTCCGCTCTTCTCTCTC
 GCGCCCGACTCCCGCGGGGGCCACCTCTTCCGCCACCGGGGCGCGTCTCT
 CCTCCGCTTCCGCTCTCTCGGGCGGGGCGTCCGTGCCCTGGGAGGGAGA
 CAAGAGGAAACCTCCCTCGGCCCGCGCTGCTTCTGGGCGCGGGGGCC
 GAGGAAGTGTGCCCGGAAGACGCGCCACGCGGAGACTTCCGGGGCGGTCC
 CCGCGGGCGGCGCTACGCGCTACCTGCCCATCTCGGGGGTCTCTAGCGTG
 GTCGCCCTGTGCGCTTACGTGAACAAGACGATCAGGGGGACTGCTGCC
 CATCTGGACATGGAGACGGGGAACATCGGGGCGTACGTGGTCTTGGTGG
 ACCAGACGGGAAACATGGCGACCGGCTGCGGGCGCGGTCCCGGCTGG
 AGCGCGCGCACCTGCTCCCCGAGACCGCGGGTAACACGTGACCCCCC
 CGAGTACCCGACGGCCCCCGCTCGGAGTGGAACAGCTCTGGATGACCC
 CCGTGGGGAACATGCTGTTTCGACCAGGGCACCTAGTGGGCGCGCTGGAC
 TTCCGACAGCTGCGCTCTCGGCACCGTGGTCCGGGGAGCAGGGGGCGTC
 GACCCGGGACGAGGGAACAATAA

10

20

配列番号25:野生型17株におけるICP0のDNA配列。2つのイントロン
 が含まれている(すなわち、以下の配列のヌクレオチド(nt)58~nt 861
 およびnt 1529~nt 1663、括弧内の配列も参照)

ATGGAGCCCCCGCCCGGAGCGAGTACCGCCGCGCTGAGGGCGCCCCCA
 GCGCGAG (GTAGGGGCGGGCGCCATGTCTGGGGCGCCATGTCTGGGGCG
 CCATGTCTGGGGCGCCATGTCTGGGGCGCCATGTTGGGGGCGCCATGTT
 GGGGGGCGCCATGTTGGGGGACCCCGACCTTACACTGGAACCGGCGC
 CATGTTGGGGGACCCCACTCATACAGGGAGCCGGGGCGCCATGTTGGGG
 CGCCATGTTAGGGGCGGTGGAACCCCGTGACACTATATATACAGGGACCG
 GGGGCGCCATGTTAGGGGGCGCGGAACCCCTGACCTATATATACAGGG
 ACCGGGGTCGCCCTGTTAGGGGTCGCCATGTGACCCCTGACTTTATATA
 TACAGACCCCCAACACCTACACATGGCCCTTTGACTCAGACGAGGGCC
 CGGGGTGCGCGTGGGACCCCTGACTCATACAGAGACAGCCCCAC
 AACAAACACACAGGACCGGGTCGCCGTGTTAGGGGGCGTGGTCCCCAC
 TGACTCATACGAGGGCCCCCTTACTCACACGCATCTAGGGGGGTGGGGA
 GGAGCCGCGCCCATATTTGGGGGACGCGTGGGACCCCGACTCCGGTG
 CGTCTGAGGGGCGGAGAAGAGGGAAGAAGAGGGGTGGGATCCAAAGGA
 CGGACCCAGACACCTTTGGTTGCAGACCCCTTTCTCCCCCTCTCCGA
 GGCCAGCAGGGGGGACGACTTTGTGAGGCGGGGGGGAGGGGGAACCTG
 TGGGCGTGATTGACGCGGGAATCCCCCATTTCTTACCGCCCCCTTT
 TTTCCCTCAG) CCGCCCCCGGATGTCTGGGTGTTTCCCTGCGACCGAGAC
 CTGCCGACAGCAGCGACTCGGAGGCGGAGACCGAAGTGGGGGGCGGGG

30

40

50

【化 15】

GGACGCCGACCACCATGACGACGACTCCGCCTCCGAGGCGGACAGCACGG
 ACACGGAACGTTCGAGACGGGGCTGCTGGGGCCGAGGGCGTGGATGGG
 GGGCGGCTCTCGGGGGGAGCCCCCCCCGAGGAAGACCCCGGAGTTG
 CGGGGGCGCCCCCTCGAGAGGACGGGGGAGCGACGAGGGCGACGTGT
 GCGCGGTGTGACGGATGAGATCGCGCCCCACCTGCGGTGCGACACCTTC
 CCGTGATGACCGCTTCTGATCCCGTGATGAAAACCTGGATGCAATT
 GCGCAACACCTGCCCCGTGTGCAACGCCAAGCTGGTGTACCTGATAGTGG
 GCGTGACGCCAGCGGGTCTGTCAGCACCATCCCGATCGTGAACGACCCC
 CAGACCCGCATGGAGGCGGAGGAGGCCGTGAGGGCGGGCACGGCCGTGGA
 CTTTATCTGGACGGGCAATCAGCGGTTTCGCCCCGCGTACCTGACCCTGG
 GGGGGCACCGGTGAGGGCCCTGTGCGCCACCCACCCGGAACCCACACG
 GACGAGGATGACGACGACCTGGACGACG (GTGAGGCGGGGGGCGCAAGGA
 CCGTGGGGGAGGAGGAGGAGGGGGGGGAGGGAGGAATAGGCGGGCGG
 CGGAGGAAAGGGCGGGCGGGGAGGGGGCGTAACCTGATCGCGCCCCCG
 TTGTCTCTTGCGAG) CAGACTACGTACCGCCCGCCCCCGCGGAGCGCCCG
 CGCCCCCACGAGAGGCGCGCGCGCCCCCGTGACGGGCGGGGCGT
 CTCACGACGCCCCCAGCCGGCCGCGGCTCGGACAGCGCCCCCTCGGCG
 CCCATCGGGCCACACGGCAGCAGTAACACCAACACCACCAACAGCAG
 CGGCGCGCGGCGCTCCCGCCAGTCGCGAGCCGCGGCGCGCGGGGGCGT
 CTGGCCCCCTCCGGGGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTTGTTGAAGCGGAG
 GCGGGCGCGCGAGGGGCGGACGGGCCCCCTGTCAACAGACCCGCCCC
 CCTTGCAAACAACAGAGACCCCATAGTGATCAGCGACTCCCCCGGGCCT
 CTCACACAGGCCCCCGCGCGCGCCATGCCAGGCTCCGCCCCCGCCCC
 GGGCCCCCGCGTCCGCGGCGCGCTCGGGACCCGCGCGCCCCCGCGCGGC
 CGTGCCCCCGTGGCTGCGAGCGCGCCCTCGGGGGCGCGCCCCCGCGGCC
 CGGCCCCCGGGCGGAGCGCGCGCCCCCGCGCGGACGCGCGCGTGTG
 CCCCAGTCGCACTCGTCCCTGGCTCAGGCGCGGAACCAAGAACAGAGTCT
 GTGCGGGCGCGTGGCAGCGGTGGCGCGCGGCTCGGGGGGGCGGGCGTGG
 AGGGTGGGCACGGGCCCCCGCGGGCGCGCCCCCTCGGGCGCGCCCCG
 CTCCTCCGCGCGCCTCTGTGAGCAGGAGGCGGCGGTGCGTCCGAGGAA
 GAGGCGCGGTCGGGCGAGGAAACCCCTCCCCCAGTCCACGCGTCCCC
 CCCTCGCGCGCGCAGGGGCCAAGAGGGCGGCGACGACCCCCCTCCGAC
 TCAGGGCGGGGGGGCGCGCCAGGGTGGGCCCCGGACCCCCCTGACGTC
 CTCGGCGGCGCTCCGCTCTTCTCTCTGCTCTTCTCTCTCGGCCCCGA
 CCCCCGCGGGGGCGCGCTCTTCCGCGCGGGGGCGCGTCTCTCTCGCT
 TCCGCTCTCGGGCGGGGCGTGGTGGCTGGGAGGAGACAAGAGGA
 AACCTCCCTCGGCCCCCGCGCTGCTTCTGGGCGCGGGGGCGGAGGAGT
 GTGCCCCGAAGACGCGCCACGCGGAGACTTCGGGGCGGCTCCCGCGGGC
 GGCTCACGCGCTACCTGCCCATCTCGGGGGTCTCTAGCGTGGTGGCCCT
 GTCGCTTACGTGAACAAGACGATCACGGGGGACTGCCTGCCCATCCTGG
 ACATGGAGACGGGGAACATCGGGGCGTACGTGGTCTGGTGGACGACG
 GGAAACATGGGACCCCGGCTGCGGGCGCGGTCCCCGGCTGGAGCGGCG
 CACCCTGCTCCCCGAGACGCGGGTAACACGTGATGCCCCCGAGTACC
 CGACGGCCCCCGCTCGGAGTGAACAGCCTCTGGATGACCCCCGTGGGG
 AACATGCTGTTGACCAAGGGCACCTAGTGGGCGCCTGGACTTCGCGAG
 CCTGCGGTCTCGGACCCGCTGGTCCGGGGAGCAGGGGCGTCCGACCGG
 ACGAGGGAAAACAATAA

10

20

30

配列番号53:野生型17株におけるICPOのDNA配列。2つのイントロン
 が含まれている(すなわち、以下の配列のヌクレオチド(nt)58~nt 822
 およびnt 1490~nt 1625、括弧内の配列も参照)

ATGGAGCCCCGCCCCGAGCGAGTACCCGCCGGCTGAGGGCCGCCCCA
 GCGCGAG (GTGAGGGGCGGGCGCCATGTCTGGGGCGCCATATTGGGGGGC
 GCCATATTGGGGGCGCCATGTTGGGGGACCCCCGACCTTACACTGGAA

40

50

【化 1 6】

CCGGCCGCCATGTTGGGGGACCCCACTCATACACGGGAGCCGGGCGCCA
TGTTGGGGCGCCATGTTAGGGGGCGTGAACCCCGTGACACTATATATAC
AGGGACCGGGGGCGCCATGTTAGGGGGTGCGGAACCCCGTGACCTATAT
ATACAGGGACCGGGGTGCGCCTGTTGGGGGTGCGCATGTGACCCCGTGAC
TTTATATATACAGACCCCAACACATACACATGGCCCCCTTTGACTCAGAC
GCAGGGCCCGGGGTGCGCGTGCGGACCCCGTGACTCATACACAGAGACAG
CCCCACAACAACACACAGGGACCGGGGTGCGCGTGTGGGGCGTGGT
CCCCACTGACTCATACGACGCGCCCGCTTACTCACACGCATCTAGGGGG
TGGGGAGGAGCCCGCCGCATATTTGGGGGACGCGGTGGGACCCCGACT
CCGCTGCGTCTGGAGGGCGGAGAGAAGAGGGAAGAAGAGGGGTGCGGATCC
AAAGGACGGACCCAGACCACCTTTGGTTGACAGACCCCTTTCTCCCCCTC
TTCCGAGGCCAGCAGGGGGGCAGGACTTTGTGAGGCGGGGGGGGAGAGG
GGGAACCTCGTGGGTGCTGATTGACGCGGGAAATCCCCCCCCATTCTTACC
CGCCCCCTTTTTTCCCCCTTAG) CCGCCCCGGATGTCTGGGTGTTTCCCT
GCGACGAGACCTGCCGGACAGCAGGACTCTGAGGCGGAGACCGAAGTG
GGGGGGCGGGGGGACGCCGACCATGACGACGACTCCGCTCCGAGGC
GGACAGCAGGACACGGAACCTGTTGAGACGGGGTGTGGGGCGCAGG
GCGTGATGGGGGGCGGTCTCGGGGGGAGCCCCCCCCGCGAGGAAGAC
CCCGGCAGTTGCGGGGGCGCCCCCTCGAGAGGACGGGGGGAGCGACGA
GGGCGACGTGTGCGCGCTGTGCACGGATGAGATCGCGCCCCACCTGCGCT
GCGACACCTTCCCGTGCATGCACCGCTTCTGCATCCCGTGCATGAAAACC
TGGATGCAATTGCGCAACACCTGCCGCTGTGCAACGCCAAGCTGGTGTA
CCTGATAGTGGGCGTGACGCCAGCGGGTCTGTCAGCACCATCCCGATCG
TGAACGACCCCCAGACCCGCATGGAGGCCGAGGAGGCGGTGAGGGCGGGC
ACGGCCGTGGACTTTATCTGGACGGGCAATCAGCGGTTGCGCCCCGCGGTA
CCTGACCCTGGGGGGGCACACGGTGAGGGCCCTGTGCCCCACCCACCCGG
AGCCCCACCGGACGAGGATGACGACGACCTGGACGACG (GTGAGGCGGGG
GGCGGCAAGACCTGGGGGAGGAGGAGGAGGAGGGGGGGGAGGGAGGA
ATAGGCGGGCGGGCGAGGAAAGGGCGGGCGGGGAGGGGGCGTAACCTGA
TCGCGCCCCCGTTGTCTCTTGACG) CAGACTACGTACCGCCCCCCCCCG
CCGGACGCCCGCGCCCCCCCCACGACAGGGCGCGCGCGCCCCCGTGA
CGGGCGGGCGTCTACGACGCCCCCAGCCGCGCGCGCTCGGACAGCG
CCCCCTCGGCGCCCATCGGGCCACACGGCAGCAGTAACACCAACACCAC
CACCAACAGCAGCGGCGGGCGGGCGGGTCCCGCCAGTCCGAGACCGGGCGC
CGCGGGGGCGTCTGGCCCTCCGGGGGGTTGGGGTTGGGGTTGGGGTT
GTTGAAGCGGAGGCGGGGCGCGGAGGGGCGGACGGGCCCCCTTGTCAA
CAGACCGCCCCCTTGCAAAACAACAGACCCCATAGTGATCAGCGACT
CCCCCGGGCCTCTCCCCACAGGCCCCCGGGCGCCCATGCCAGGCTCC
GCCCCCGCCCCGGGCCCCCGCGTCCGCGGGCGCGTGGGACCGCGCG
CCCCCGCGCGCGTGGCCCCGTGCGTGCGAGCGCGCCTCCGGGGCCG
GCCCCCGCGCCCCGGCCCCGGGGCGGAGCGGGCGCGCGCCCCGCGGAC
GCGCGCGTGTGCCCCAGTCGCACTCGTCCCTGGCTCAGGCGCGGAACCA
AGAACAGAGTCTGTGCCGGCGCGTGCAGCGGTGGCGCGCGGTGCGGGG
GGCGGGCGTGGAGGTTGGGACGGGCCCTCCGCGGGCGCGCCCCCTCC
GGCGCGCCCCGCTCCCTCCGCGCGCTCTGTGAGCAGGAGGCGGCGGT
GCGTCCGAGGAAGAGCGCGGCTCGGGCCAGGAAAACCCCTCCCCCAGT
CCACGCTCCCCCTCGCGCGGCAAGGGGCAAGAGGCGGGCAGCGAC
CCCCCTCCGACTCAGGGCCGGGGGGCGGGCCAGGGTGGGCCCCGGAC
CCCCCTGACGTCTCGGCGGCTCCGCTCTTCTCTCTGCTCTTCTCT
CCTCGGCCCCGACCCCCGCGGGGGCGGCTCTTCCGCGCGGGGCGCG
TCCTCTCCGCTTCCGCTCTCTCGGGCGGGGCGGTGCGTGCCCTGGGAGG
GAGACAAGAGGAAACCTCCCTCGGCCCCCGCGTGTCTTGGGCGCGGG
GGCGGAGGAAGTGTCCCGGAAGACGCGCCACGCGGAGACTTCCGGGGC
GTCCCCGCGGGCGGCTCACGCGCTACCTGCCCATCTCGGGGTCTCTAG
CGTGGTCCGCTGTGCGCTTACGTGAACAAGACTATCACGGGGGACTGCC
TGCCCATCTGGACATGGAGACGGGGAACATCGGGGCGTACGTGGTCTG
GTGGACAGACGGGAACATGGCGACCCGGCTGCGGGCGCGGTCCCCGG

10

20

30

40

50

【化 17】

CTGGAGCCGCCGACCCCTGCTCCCCGAGACCGCGGGTAACCACGTGATGC
 CCCCCGAGTACCCGACGCCCCCGCGTCGGAGTGGAAACAGCCTCTGGATG
 ACCCCCGTGGGGAACATGCTGTTTCGACCAGGGCACCCCTAGTGGGCGCCCT
 GGACTTCCGACGCTGCGGTCTCGGCACCCGTGGTCCGGGGAGCAGGGGG
 CGTCGACCCGGGACGAGGGAACAATAA

配列番号26:野生型17株におけるICP0のアミノ酸配列。

MEPRPGASTR RPEGRPQREP APDVWVFPCD RDLPSDDSE AETEVGGRGD ADHHDDDSAS
 EADSTDTELF ETGLLGPGQV DGGAVSGGSP PREEDPGSCG GAPREDGGS DEGDVCAVCT
 DEIAPHLRCD TFPCMHRFCI PCMKTMQLR NTCPLCNAKL VYLIVGVTPS GSFTSTPIVN
 DPQTRMEAE AVRAGTAVDF IWTGNQRFAP RYLTLGGHTV RALSPHPEP TTDEDDDDLD
 DADYVFPAPR RTRAPPRRG AAAPFVTGGA SHAAPQAAA RTAPPSAPIG PHGSSNTNTT
 TNSGGGGSR QSRAPPRGA SGPSGGVGVG VGVVEAEAGR PRGRTGPLVN RPAPLANNRD
 PIVISDSPPA SPHRPPAPM PGSAPRPGPP ASAAASGPAP PRAAVAPCVR APPPGGPRA
 PAPGAEPAPR PADARRVPQS HSSLAQAANQ EQSLCRARAT VARGSGGPGV EGGHGPSRGA
 APSGAAPLPS AASVEQEAAV RPRKRRSGQ ENPSPQSTRP PLAPAGAKRA ATHPPSDSGP
 GGRQGGPGT PLTSSAASAS SSSASSSSAP TPAGAASSAA GAASSSASAS SGGAVGALGG
 RQEETSLGPR AASGPRGPRK CARKTRHAET SGAVPAGGLT RYLPISGVSS VVALSPYVNK
 TITGDCLPIL DMETGNIGAY VVLVDQTGNM ATRLRAAVPG WSRRTLLPET AGNHVMPPEY
 PTAPASEWNS LWMTVPVGNML FDQGTLVGAL DFRSLRSRHP WSGEQGASTR DEGKQ

10

配列番号27: Mut-3、Mut-3 Δ 34、5およびMut-3 Δ ICP6ウイルス株由来のICP8
 のDNA配列。c3464t変異は、以下の配列中において太字かつ斜字体で示されている。

ATGGAGACAAAGCCCAAGACGGCAACCACCATCAAGGTCCCCCGGGCC
 CCTGGGATACGTGTACGCTCGCGCGTGTCCGTCCGAAGGCATCGAGCTTC
 TGGCGTACTGTCTGGCAGCAGCGGGGATTCCGACGTCGCCGTGGCGCCC
 CTGGTCGTGGGCGCTGACCGTGGAGAGCGGCTTTGAGGCCAACGTGGCCGT
 GGTCGTGGGTTCTCGCACGACGCGGGCTCGGGGTACCGCGGTGTCCCTGA
 AACTGACGCCCTCGCACTACAGCTCGTCCGTGTACGTCTTTCACGGCGGC
 CGGCACCTGGACCCAGCACCCAGGCCCGAACCTGACGCGACTTTGCGA
 GCGGGCAGCGCCGCAATTTGGCTTTTCGGACTACACCCCCGCGCCGCG
 ACCTCAAACACGAGACGACGGGGGAGGCGCTGTGTGAGCGCCTCGGCCTG
 GACCCGGACCGCGCCCTCCTGTATCTGGTCTGTTACCGAGGGCTTCAAGGA
 GGCCGTGTGCATCAACAACACCTTTCTGCACCTGGGAGGCTCGGACAAGG
 TAACCATAGCGGGGCGGAGGTGCACCGCATACCCGTGTACCCGTGCGAG
 CTGTTTCATGCCGATTTTAGCCGTGTCTCGCAGAGCCGTTCAACGCCAA
 CCACCGATCGATCGGGGAGAATTTTACCTACCCGCTTCCGTTTTTAACC
 GCCCCCTCAACCGCTCCTGTTTCGAGGCGGTCTGGGACCCGCGCCGCTG
 GCACTGCGATGCCGAAACGTGGACGCGCTGGCCCGCGCGGCCGCCACCT
 GCGCTTTGACGAAAACACGAGGGCGCGCCCTCCCCGCGGACATTACGT
 TCACGGCCTTCGAAGCCAGCCAGGGTAAGACCCCGGGGGCGGCGCGAC
 GCGCGCGCAAGGGCCCGCGGGCGGGTTCGAACAGCGCCTGGCCTCCGT
 CATGGCCGGAGACGCGCCCTGGCCCTCGATTCTATCGTGTGATGGCCG
 TCTTTGACGAGCGCCACCGACATCTCCGCGTGGCCGCTGTTTCGAGGGC
 CAGGACACGCGCGCGGCCCGGCCAACGCCGTGGGGCGTACCTGGCGCG
 CGCCGCGGACTCGTGGGGCCATGGTATTTAGCACCAACTCGGCCCTCC
 ATCTCACCGAGGTGGACGACCGCGCCCGCGGACCCAAAGGACCACAGC
 AAACCTCCTTTTACCGCTTCTTCTCGTGGCCGGACCCACGTGGCGGC
 CAACCCACAGGTGGACCGGAGGGACACGTGGTGGCCGGGTTTCGAGGGT
 GGCCACCGCGCCCTCGTGGCGGAACCCAGGAATTTGCCGGCGAGCAC
 CTGGCCATGCTGTGTGGGTTTTCCCGGGCGTGTGGCCAAGATGCTGTT
 TTACCTGGAGCGCTGCGACGCGCGGTGATCGTGGGCGCCAGGAGATGG

20

30

40

50

【化 18】

ACGTGTTCGATACGTGCGGGACTCCAACCAGACCGACGTGCCCTGTAAC
 CTATGCACCTTCGACACGCGCCACGCCCTGCGTACACACGACGTCATGCG
 CCTCCGGGCGCGCCATCCAAAGTTCGCCAGCGCGCCCGCGGGAGCCATCG
 GCGTCTTCGGGACCATGAACAGCATGTACAGCGACTGCGACGTGCTGGGA
 AACTACGCGCCTTCTCGGCCCTGAAGCGCGCGGACGGATCCGAGACCGC
 CCGGACCATCATGCAGGAGACGTACCGCGCGGCGACCGAGCGCGTCATGG
 CCGAACTCGAGACCTGCAGTACGTGGACCAGGCGGTCCCCACGGCCATG
 GGGCGGCTGGAGACCATCATACCAACCGCGAGGCGCTGCATACGGTGGT
 GAACAACGTGAGGAGGTGCTGGACCGCGAGGTGGAGCAGCTGATGCGCA
 ACCTGGTGGAGGGGAGGAACCTCAAGTTTCGCGACGGTCTGGGCGAGGCC
 AACCACGCCATGTCCCTGACGCTGGACCCGTACGCGTGGGGCCGTGCCC
 CCTGCTTCAGCTTCTCGGGCGCGATCCAACCTCGCCGTGTACAGGACC
 TGGCCCTGAGTCAGTGCCACGGGGTGTTCGCGGGGCGAGTGGTTCGAGGGG
 CGCAACTTTCGAATCAATTCCAACCGGTGCTGCGGCGCGCGTGTATGGA
 CATGTTTAACAACGGGTTTCTGTCGGCCAAAACGCTGACGGTCCGCGCTCT
 CGGAGGGGGCGGCTATCTGCGCCCCCAGCCTAACGGCCGGCCAGACGGCC
 CCGCGCGAGAGCAGCTTCGAGGGCGACGTTGCCCGCGTGACCTGGGGTT
 TCCCAAGGAGCTGCGCGTCAAGAGCCGCGTGTGTTCGCGGGCGCGAGCG
 CCAACGCGTCCGAGGCGGCCAAGGCGCGGGTCCGCGAGCTCCAGAGCGCC
 TACCAGAAGCCCGACAAGCGCGTGGACATCCTCCTCGGACCGCTGGGGTT
 TCTGCTGAAGCAGTTCCACGCGGCCATCTTCCCCAACGGCAAGCCCCGG
 GGTCCAACCGACCGAACC CGCAGTGGTCTGGACGGCCCTCCAACGCAAC
 CAGCTTCCCGCCCCGCTCCTGTCGCGCGAGGACATCGAGACCATCGCGTT
 CATTAAAAAGTTTTCCCTGGACTACGGCGCGATAAACTTTATTAACCTGG
 CCCCCAACACCGTGAAGCGAGCTGGCGATGTACTACATGGCAAACAGATT
 CTGCGGTACTGCGATCACTCGACATACTTCATCAACACCCCTTACGGCCAT
 CATCGCGGGGTCCCGCCGTCCCCCAGCGTGCAGGCTGCGGCGCGTGGT
 CCGCGCAGGGCGGGCGGGCCCTGGAGGCGGGGGCCCGCGCGTGTATGGAC
 GCGGTGGACGCGCATCCGGGCGCGTGGACGTCCATGTTTCGCGAGCTGCAA
 CCTGCTGCGGCGCGTTCATGGCGCGCGCCCATGGTCTGTGTTGGGGTTGA
 GCATACGCAAGTACTACGGCATGGCCGGCAACGACCGTGTGTTTCAGGCC
 GGGAACTGGGCCAGCCTGATGGGCGGCAAAAACGCGTGGCCGCTCCTTAT
 TTTTGACCGCACCGCAAGTTCGTCTCTGGCCTGTCCCCGGGCGGGGTTG
 TGTGCGCGGCTCAAGCCTCGGCGCGGAGCGCACGAAAGCTCGCTGTGC
 GAGCAGCTCCGGGGCATTATCTCCGAGGGCGGGCGGCCGTGCGCAGTAG
 CGTGTTCGTGGCGACCGTGAAAAGCCTGGGGCCCCGCACCCAGCAGCTGC
 AGATCGAGGACTGGCTGGCGCTCCTGGAGGACGAGTACCTAAGCGAGGAG
 ATGATGGAGCTGACCGCGCGTGCCTGGAGCGCGGCAACGGCGAGTGGTC
 GACGGACGCGGCCCTGGAGGTGGCGCACGAGGCCGAGGCCCTAGTCAGCC
 AACTCGGCAACGCCGGGGAGGTGTTTAACTTTGGGGATTTTGGCTGCGAG
 GACGACAACGCGATGCGGTTTCGGCGGCCCGGGGGCCCCGGGACCGGCAT
 TGCCGGCGGCAACGGGCGTTCCACGGGGATGACCCGTTTGGGGAGGGGC
 CCCCCGACAAAAGGGAGACCTGACGTTGGATATGCTGTGA

10

20

30

配列番号28: Mut-3、Mut-3 Δ 34、5およびMut-3 Δ ICP6ウイルス株におけるICP8
 のアミノ酸配列。T1155M変異は、以下の配列中において太字かつ斜字体で示されている。

METKPKTATTIKVPPGPLGYVYARACPSEGIELLALLSARSGSDVAVAP
 LVVGLTVESGFEANVAVVVGSRITGLGGTAVSLKLTTPSHYSSSVYVFHGG
 RHLDPSTQAPNLRLCERARRHFGFSDYTFRPGDLKHETTGEALCERLGL
 DPDRALLYLVVTEGFKEAVCINNTFLHLGGSDKVTIGGAEVHRI PVYPLQ
 LFMPDFSRVIAEPFNANHRSIGENFTYPLFFNRLNRLLF EAVVGPAAV
 ALRCRNVD AVARAAHLAFDENHEGAALPADITFTAFEASQGKTPRGGRD
 GGGKGPAGGF EQRLASVMAGDAALALDSIVSMAVFDEPPTDISAWPLFEG
 QDTAAARANAVGAYLARAAGLVGAMVFSTNSALHLTEVDDAGPADPKDHS
 KPSFYRFELVPGTHVAANPQVDREGHVVPGFEGRP TAPLVGGTQEFAGEH

40

50

【化 19】

LAMLCGFSPALLAKMLFYLERCDGGVIVGRQEMDVFRYVADSNQTDVPCN
 LCTFDTRHACVHTTLMRLRARHPKFASAARGAIGVFGTMNSMYSDCDVLG
 NYAAFSALKRADGSETARTIMQETYRAATERVMAELETQYVDQAVPTAM
 GRLETIITNREALHTVNNVRQVVDREVEQLMRNLVEGRNFKFRDGLGEA
 NHAMSLTLDPYACGCPPLLQLLGRRSNLAVYQDLALSQCHGVFAGQSVEG
 RNFRNQFQPVLRVRMDMENNGFLSAKTLTVALSEGAAICAPSLTAGQTA
 PAESSFEGDVARVTLGFPKELRVKSRVLFAGASANASEAAKARVASLQSA
 YQKPKDKRVDILLGPLGFLKQFHAAIFPNGKPPGSNQPNPQWFWTALQRN
 QLPARLLSREDIETIAFIKKFSLDYGAINFINLAPNNVSELAMYYMANQI
 LRYCDHSTYFINTLTALIAGSRRPPSVQAAAAWSAQGGAGLEAGARALMD
 AVDAHPGAWTSMFASCNLLRPVMAARPMVVLGLSISKYYGMAGNDRVFQA
 GNWASLMGGKNACPLLIIFDRTRKFVLACPRAGFVCAASSLGGGAHESSLC
 EQLRGIISEGGAAVASSVFVATVKSGLGPRTOQLQIEDWLALLEDEYLSEE
 MMELTARALERNGEWSDDAALEVAHEAEALVSQLGNAEVEFNFGDFGCE
 DDNAMFEGGPGAPGPAFACRKRAFHGDDPFEGGPPDKKGDLTLDML

10

配列番号29: 17TermA株におけるICP8のDNA配列。

ATGGAGACAAAGCCCCAAGACGGCAACCACCATCAAGGTCCCCCCCCGGGCC
 CCTGGGATACGTGTACGCTCGCGCGTGTCCGTCCGAAGGCATCGAGCTTC
 TGGCGTTACTGTCTGGCACGCAGCGGCGATTCCGACGTCGCCGTGGCGCCC
 CTGGTCGTGGGCCTGACCGTGGAGAGCGGCTTTGAGGCCAACGTGGCCGT
 GGTCGTGGGTTCTCGCACGACGCGGGCTCGGGGGTACCGCGGTGTCCCTGA
 AACTGACGCCCCTCGCACTACAGCTCGTCCGTGTACGTCTTTCACGGCGGC
 CGGCACCTGGACCCCAGCACCCAGGCCCCGAACCTGACGCGACTTTGCGA
 GCGGGCACGCCGCCATTTTGGCTTTTTCGGAATACACCCCCGGCCCGGCG
 ACCTCAAACACGAGACGACGCGGGGAGGCGCTGTGTGAGCGCCTCGGCCTG
 GACCCGACCGCGCCCTCCTGTATCTGGTCGTACCGAGGGCTTCAAGGA
 GGCCGTGTGCATCAACAACACCTTTCTGCACCTGGGAGGCTCGGACAAGG
 TAACCATAGGCGGGGCGGAGGTGCACCGCATACCCGTGTACCCGTTGCAG
 CTGTTTCATGCCGATTTTAGCCGTGTTCATCGCAGAGCCGTTCAACGCCAA
 CCACCGATCGATCGGGGAGAATTTTACCTACCCGCTTCGTTTTTTAACC
 GCCCCCTCAACCGCCTCCTGTTTCGAGGCGGTGCTGGGACCCGCGCCGTG
 GCACTGCGATGCCGAAACACGAGGGCGCCGCCCCGCGCGGCCGCCACCT
 GGCGTTTGACGAAAACACGAGGGCGCCGCCCTCCCCGCGGACATTACGT
 TCACGGCCTTCGAAGCCAGCCAGGGTAAGACCCCGCGGGCGGGCGCGAC
 GGCGGCGGCAAGGGCCCGCGGGCGGGTTCGAACAGCGCCTGGCCTCCGT
 CATGGCCGGAGACGCCGCCCTGGCCCTCGATTCTATCGTGTGATGGCCG
 TCTTTGACGAGCCGCCACCGACATCTCCGCGTGGCCGCTGTTTCGAGGGC
 CAGGACACGGCCGCGGCCCGCGCCAACGCCGTGGGGCGGTACCTGGCGCG
 CGCCGCGGGACTCGTGGGGGCCATGGTATTTAGCACCAACTCGGCCCTCC
 ATCTCACCGAGGTGGACGACGCCGGCCCGCGGACCCAAAGGACCACAGC
 AAACCTCCTTTTACCCTTCTTCCCTCGTGCCCGGGACCCACGTGGCGGC
 CAACCCACAGGTGGACCGCGAGGGACACGTGGTGCCCGGGTTCGAGGGTC
 GGCCACCGCGCCCCCTCGTCGGCGGAACCCAGGAATTTGCCGGCGAGCAC
 CTGGCCATGCTGTGTGGGTTTTCCCCGGCGCTGCTGGCCAAGATGCTGTT
 TTACCTGGAGCGCTGCGACGGCGGCGTGATCGTCGGGCGCCAGGAGATGG
 ACGTGTTCGATACGTGCGGACTCCAACCAGACCGACGTGCCCTGTAAC
 CTATGCACCTTCGACACGCGCCACGCCTGCGTACACACGACGCTCATGCG
 CCTCCGGGCGCGCCATCCAAGTTCGCCAGCGCCGCCCGCGGAGCCATCG

20

30

40

【化 2 0】

GCGTCTTCGGGACCATGAACAGCATGTACAGCGACTGCGACGTGCTGGGA
 AACTACGCCGCTTCTCGGCCCTGAAGCGCGCGGACGGATCCGAGACCGC
 CCGGACCATCATGCAGGAGACGTACCGCGCGGCGACCGAGCGCGTCATGG
 CCGAATTCGAGACCCTGCAGTACGTGGACCAGGCGGTCCCCACGGCCATG
 GGGCGGCTGGAGACCATCATCACCACCGCGAGGCCCTGCATACGGTGGT
 GAACAACGTCAAGCAGGTGCTGGACCAGGCGAGGTGGAGCAGCTGATGCGCA
 ACCTGGTGGAGGGGAGGAACCTCAAGTTTCGCGACGGTCTGGGCGAGGCC
 AACCACGCCATGTCCCTGACGCTGGACCCGTACGCGTGCGGGCCGTGCCC
 CCTGCTTCAGCTTCTCGGGCGGCGATCCAACCTCGCCGTGTACCAGGACC
 TGGCCCTGAGTCAGTGCCACGGGGTGTTCGCCGGGCAGTCGGTTCGAGGGG
 CGCAACTTTCGCAATCAATTCCAACCGGTGCTGCGGCGGCGCGTGATGGA
 CATGTTTAAACAACGGGTTTCTGTGCGCCAAAACGCTGACGGTCGCGCTCT
 CGGAGGGGGCGGCTATCTGCGCCCCCAGCCTAACGGCCGGCCAGACGGCC
 CCCGCCGAGAGCAGCTTCGAGGGCGACGTTGCCCGCGTGACCTGGGGTT
 TCCCAAGGAGCTGCGCGTCAAGAGCCGCGTGTGTTTCGCGGGCGCGAGCG
 CCAACGCGTCCGAGGCCGCCAAGGCGCGGGTCGCCAGCCTCCAGAGCGCC
 TACCAGAAGCCCCGACAAGCGCGTGACATCCTCCTCGGACCGCTGGGCTT
 TCTGCTGAAGCAGTTCCACGCGGCCATCTTCCCCAACGGCAAGCCCCGG
 GGTCCAACAGCCGAACCCGAGTGGTTCTGGACGGCCCTCCAACGCAAC
 CAGCTTCCCGCCCGGCTCCTGTGCGCGGAGGACATCGAGACCATCGCGTT
 CATTAAAAAGTTTTCCTGGACTACGGCGCGATAAACTTTATTAACCTGG
 CCCCCAACACGTGAGCGAGCTGGCGATGTACTACATGGCAAACAGATT
 CTGCGGTACTGCGATCACTCGACATACTTCATCAACACCCTTACGGCCAT
 CATCGCGGGGTCCCGCCGTCCCCCAGCGTGCAGGCTGCGGCCGCGTGGT
 CCGCGCAGGGCGGGGCGGGCCCTGGAGGCCGGGGCCCCGCGCGCTGATGGAC
 GCGCTGGACGCGCATCCGGGCGCGTGACGTCATGTTGCCAGCTGCAA
 CCTGCTGCGGCCCGTCAATGGCGGCGCGCCCATGGTCTGTGTTGGGGTTGA
 GCATCAGCAAGTACTACGGCATGGCCGGCAACGACCGTGTGTTTCAGGCC
 GGGAACTGGGGCAGCCTGATGGGCGGCAAAAACGCGTGCCCGCTCCTTAT
 TTTTGACCGCACCCGCAAGTTTCGTCTTGGCCTGTCCCCGGGCGGGTTTG
 TGTGCGCGGCCTCAAGCCTCGGCGGCGGAGCGCACGAAAGCTCGCTGTGC
 GAGCAGCTCCGGGGCATTATCTCCGAGGGCGGGGCGGCCGTGCCAGTAG
 CGTGTTCTGTGGCGACCGTGAAAAGCCTGGGGCCCCGCACCCAGCAGCTGC
 AGATCGAGGACTGGCTGGCGCTCCTGGAGGACGAGTACCTAAGCGAGGAG
 ATGATGGAGCTGACCGCGCGTGCCCTGGAGCGCGGCAACGGCGAGTGGTC
 GACGGACGCGGCCCTGGAGGTGGCGCACGAGGCCGAGGCCCTAGTCAGCC
 AACTCGGCAACGCCGGGGAGGTGTTTAACTTTGGGGATTTTGGCTGCGAG
 GACGACAACGCGACGCCGTTCGGCGGCCCCGGGGCCCCGGGACCGGCATT
 TGCCGGCCGCAAACGGGCGTTCCACGGGGATGACCCGTTTGGGGAGGGGC
 CCCCCGACAAAAGGGAGACCTGACGTTGGATATGCTGTGA

10

20

30

配列番号30: 17TermA株におけるICP8のアミノ酸配列。

METKPKTATTIKVPPGPLGYVYARACPSEGIELLALLSARSGDSDVAVAP
 LVVGLTVESGFANVAVVVGSRRTTGLGGTAVSLKLTPSHYSSSVYVFHGG
 RHLDPSTQAPNLRLCERARRHFGFSDYTTPRPGDLKHETTGEALCERLGL
 DPDRALLYLVVTEGFKEAVCINNTFLHLGGSDKVTIGGAEVHRIPVYPLQ

40

【化 2 1】

LFMPDFSRVIAEPFNANHRSIGENFTYPLPFFNRPLNRLLFEAVVGPAAV
 ALRCRNVDAVARAAHLAFDENHEGAALPADITFTAFEASQGKTPRGGRD
 GGGKGPAGGFQRLASVMAGDAALALDSIVSMAVFDEPPTDISAWPLFEG
 QDTAAARANAVGAYLARAAGLVGAMVFSTNSALHLTEVDDAGPADPKDHS
 KPSFYRFFLVPGTHVAANQVDREGHVVPGFEGRPTAPLVGGTQEFAGEH
 LAMLCGFSPALLAKMLFYLERCDGGVIVGRQEMDVFRYVADSNQTDVPCN
 LCTFDTRHACVHTTLMRLRARHPKFASAARGAIGVFGTMNSMYSDCDVLG
 NYAAFSALKRADGSETARTIMQETYRAATERVMAELETQYVDQAVPTAM
 GRLETTITNREALHTVNNVRQVVDREVEQLMRNLVEGRNFKFRDGLGEA
 NHAMSLTLDPYACGPCPLLQLLGRRSNLAVYQDLALSQCHGVFAGQSVEG
 RNFRNQFQPVLRVRVMDMFNNGFLSAKTLTVALSEGAAICAPSLTAGQTA
 PAESSFEGDVARVTLGFPKELRVKSRVLFAGASANASEAAKARVASLQSA
 YQKPKDKVDILLGPLGFLKQFHAAIFPNGKPPGSNQPNPQFWTALQRN
 QLPARLLSREDIETIAFIKKFSLDYGAINFINLAPNNVSELAMYYMANQI
 LRYCDHSTYFINTLTAI IAGSRPPSVQAAAAWSAQGGAGLEAGARALMD
 AVDAHFGAWTSMFASCNLLRPVMAARPMVVLGLSISKYYGMAGNDRVFQA
 GNWASIMGGKNACPLLI FDRTRKFVLACPRAGFVCAASSLGGGAHESSLC
 EQLRGI ISEGGA AVASSVFVATVKSLGPRTQQLQIEDWLALLEDEYLSEE
 MMELTARALERGNGEWSTDAALEVAHEAEALVSQLGNAGEVFNFGDFGCE
 DDNATPFGGPGAPGPAFAGRKRAFHGDDPFGEPPDKKGDLTLDML

10

配列番号31 : rRp450株におけるICP8のDNA配列。

20

ATGGAGACAAAGCCCAAGACGGCAACCACCATCAAGGTCCCCCCCCGGGCC
 CCTGGGATACGTGTACGCTCGCGCGTGTCCGTCCGAAGGCATCGAGCTTC
 TGGCGTTACTGTGCGCGCGCAGCGGGCATGCCGACGTGCGCGTGGCGCCC
 CTGGTCGTGGGCCTGACCGTGGAGAGCGGCTTTGAGGCCAACGTAGCCGT
 GGTCGTGGGTTCTCGCACGACGCGGCTCGGGGGTACCGCGGTGTCCCTGA
 AACTGACGCCATCGCACTACAGCTCGTCCGTGTACGTCTTTCACGGCGGC
 CGGCACCTGGACCCAGCACCCAGGCCCCAAACCTGACGCGACTCTGCGA
 GCGGGCACGCCGCCATTTTGGCTTTTCGGACTACACCCCCCGGCCCGCG
 ACCTCAAACACGAGACGACGGGGGAGGCGCTGTGTGAGCGCCTCGGCCTG
 GACCCGGACCGCGCCCTCCTGTATCTGGTCGTTACCGAGGGCTTCAAGGA
 GGCCGTGTGCATCAACAACACCTTTCTGCACCTGGGAGGCTCGGACAAGG
 TAACCATAGGCGGGCGGAGGTGCACCGCATACCCGTGTATCCGTTGCAG
 CTGTTTCATGCCGATTTTAGCCGGGTCATCGCCGAGCCGTTCAACGCCAA
 CCACCGATCGATCGGGGAGAATTTTACCTACCCGCTTCCGTTTTTTAACC
 GCCCCCTCAACCGCCTCCTGTTTCGAGGCGGTCGTGGGACCCGCGCCGTG
 GCACTGCGATGCCGAAACGTGGACGCCGTGGCCCGCGCGGCCGCCACCT
 GGCGTTTGACGAAAACACGAGGGCGCCGCCCTCCCCGCGACATTACGT
 TCACGGCCTTCGAAGCCAGCCAGGGTAAGACCCCGCGGGGTGGGCGCGAC
 GGCGGCGGCAAGGGCCCGCGGGCGGGTTTGAACAGCGCCTGGCCTCCGT
 CATGGCCGGAGACGCCGCCCTGGCCCTCGAGTCTATCGTGTGATGGCCG
 TCTTCGACGAGCCGCCACCGACATCTCCGCGTGGCCGCTGTGCGAGGGC
 CAGGACACGGCCGCGGCCCGGACAACGCCGTGGGGCGTACCTGGCGCG
 CGCCGCGGGACTCGTGGGGGCCATGGTATTTAGCACCAACTCGGCCCTCC
 ATCTCACCGAGGTGGACGACGCCGTCCGGCGGACCCAAAGGACCACAGC

30

40

50

【化 2 2】

AAACCCTCCTTTTACCGCTTCTTCCTCGTGCCCGGGACCCACGTGGCGGC
CAACCCACAGGTGGACCGCGAGGGACACGTGGTGCCCGGGTTCGAGGGTC
GGCCACCGCGCCCCCTCGTCGGCGGAACCCAGGAATTTGCCGGCGAGCAC
CTGGCCATGCTGTGTGGGTTTTCCCGGCGCTGCTGGCCAAGATGCTGTT
TTACCTGGAGCGCTGCGACGGCGGCGTGATCGTCGGGCGCCAGGAGATGG
ACGTGTTTTCGATACGTGCGGGACTCCAACCAGACCGACGTGCCCTGCAAC
CTGTGCACCTTCGACACGCGCCACGCCTGCGTACACACGACGCTCATGCG
CCTCCGGGCGCGCCATCCCAAGTTCGCCAGCGCCGCCCGCGGAGCCATCG
GCGTCTTCGGGACCATGAACAGCATGTACAGCGACTGCGACGTGCTGGGA
AACTACGCCGCCCTTCTCGGCCCTGAAGCGCGCGGACGGATCCGAGACCGC
CCGGACCATCATGCAGGAGACGTACCGCGCGGCGACCGAGCGCGTCATGG
CCGAACCTCGAGACCCCTGCAGTACGTGGACCAGGCGGTCCCCACGGCCATG
GGGCGGCTGGAGACCATCATCACCACCGCGAGGCCCTGCATACGGTGGT
GAACAACGTCAAGCAGGTCTGTGGACCGCGAGGTGGAGCAGCTGATGCGCA
ACCTGGTGGAGGGGAGGAACCTTCAAGTTTTCGCGACGGTCTGGGCGAGGCC
AACCACGCCATGTCCCTGACGCTGGACCCGTACGCGTGCGGGCCATGCC
CCTGCTTCAGCTTCTCGGGCGGCGATCCAACCTCGCCGTGTATCAGGACC
TGGCCCTGAGCCAGTGCCACGGGGTGTTGCGCGGCGAGTCGGTCGAGGGG
CGCAACTTTCGCAATCAATTCCAACCGGTGCTGCGGCGGCGCGTGATGGA
CATGTTTAAACAACGGGTTTTCTGTGCGCCAAAACGCTGACGGTCGCGCTCT
CGGAGGGGGCGGCTATCTGCGCCCCAGCCTAACGGCCGGCCAGACGGCC
CCCCCGGAGAGCAGCTTCGAGGGCGACGTTGCCCCGCTGACCTGGGGTT
TCCCAAGGAGCTGCGCGTCAAGAGCCGCGTGTTGTTGCGGGGCGGAGCG
CCAACGCGTCCGAGGCCGCCAAGGCGCGGGTCGCCAGCCTCCAGAGCGCC
TACCAGAAGCCCGACAAGCGCGTGACATCCTCCTCGGACCGCTGGGCTT
TCTGCTGAAGCAGTTCCACGCGGCCATCTTCCCCAACGGCAAGCCCCCGG
GGTCCAACCAGCCGAACCCGCGAGTGTTTCTGGACGGCCCTCCAACGCAAC
CAGCTTCCCGCCCGGCTCCTGTGCGCGGAGGACATCGAGACCATCGCGTT
CATTAAAAAGTTTTCCCTGGACTACGGCGCGATAAACTTTATTAACCTGG
CCCCCAACAACGTGAGCGAGCTGGCGATGTACTACATGGCAAACAGATT
CTGCGGTACTGCGATCACTCGACATACTTCATCAACACCCCTCACGGCCAT
CATCGCGGGGTCCCGCCGTCCCCCAGCGTGACGGCGGCGGCGCGTGTT
CCGCGCAGGGCGGGCGGGCCTGGAGGCCGGGGCCCGCGCGCTGATGGAC
GCCGTGGACGCGCATCCGGGCGCGTGACGTCCATGTTGCCAGCTGCAA
CCTGCTGCGGCCCGTCATGGCGGCGCGCCCCATGGTCGTGTTGGGGTTGA
GCATCAGCAAATACTACGGCATGGCCGGCAACGACCGTGTGTTTCAGGCC
GGGAACGGGCGAGCCTGATGGGCGGCAAAAACGCGTGCCCGCTCCTTAT
TTTTGACCGCACCCGCAAGTTCGTCTTGGCCTGTCCCCGGGCGGGTTTG
TGTGCGCGGCTCGAACCTCGGCGGCGGAGCGCACGAAAGCTCGCTGTGC
GAGCAGCTCCGGGGCATTATCTCCGAGGGCGGGCGGCGTCGCCAGTAG
CGTGTTCTGTGGCGACCGTGAAAAGCCTGGGGCCCCGCACCCAGCAGCTGC
AGATCGAGGACTGGCTGGCGCTCCTGGAGGACGAGTACCTAAGCGAGGAG
ATGATGGAGCTGACCGCGCGTGCCCTGGAGCGCGGCAACGGCGAGTGGTC
GACGGACGCGGCCCTGGAGGTGGCGCACGAGCCGAGGCCCTAGTCAGCC
AACTCGGCAACGCCGGGAGGTGTTTAACTTTGGGGATTTTGGCTGCGAG
GACGACAACGCGACGCCGTTTCGGCGGCCCCGGGGCCCCGGGACCGGCATT
TGCCGGCCGCAAACGGGCGTTCCACGGGGATGACCCGTTTGGGGAGGGGC

10

20

30

40

50

【化 2 3】

CCCCGACAAAAAGGGAGACCTGACGTTGGATATGCTGTGA

配列番号32: rRp450株におけるICP8のアミノ酸配列。

METKPKTATTIKVPPGPLGYVYARACPSEGIELLALLSARSGDADVAVAP
 LVVGLTVESGFANVAVVVGSRRTGLGGTAVSLKLTPSHYSSSVYVFHGG
 RHLDPSTQAPNLRLCERARRHFGFSDYTPRPGDLKHETTGEALCERLGL
 DPDRALLYLVVTEGFKEAVCINNTFLHLGGSDKVTIGGAEVHRIIPVYPLQ
 LFMPDFSRVIAEPFNANHRSIGENFTYPLPFFNRPLNRLLEAVVGPAAV
 ALRCRNVDVARAAAHLAFDENHEGAALPADITFTAFEASQGKTPRGGRD
 GGGKGPAGGFQRLASVMAGDAALALESI VSMVAFDEPPTDISAWPLCEG
 QDTAAARDNAVAYLARAAGLVGAMVFS TNSALHLTEVDDAGPADPKDHS
 KPSFYRFFLVPGTHVAANPQVDREGHVVPGFEGRPAPLVGGTQEFAGEH
 LAMLCGFSPALLAKMLFYLERCDGGVIVGRQEMDVFRYVADSNQTDVPCN
 LCTFDTRHACVHTTLMRLRARHPKFASAARGAIGVFGTMNSMYSDCDVLG
 NYAAFSALKRADGSETARTIMQETYRAATERVMAELETLOYYVDQAVPTAM
 GRLETIITNREALHTVVNNVRQVVDREVEQLMRNLVEGRNFKFRDGLGEA
 NHAMSLTLDPYACGPCPLLQLLGRSNLAVYQDLALSQCHGVFAGQSVEG
 RNRFRNQFPVLRRRVMDMFNNGFLSAKTLTVALSEGAAICAPSLTAGQTA
 PAESSFEGDVARVTLGFPKELRVKSRVLFAGASANASEAAKARVASLQSA
 YQKPKDRVDILLGLGLKQFHAAIFPNGKPPGSNQPNPQFWFTALQRN
 QLPARLLSREDIETIAFIKKFSLDYGAINFINLAPNNVSELAMYMANQI
 LRYCDHSTYFINTLTAI IAGSRPPPSVQAAAAWSAQGGAGLEAGARALMD
 AVDAHPGAWTSMFASCNLLRPVMAARPMVVLGLSISKYYGMAGNDRVFQA
 GNWASLMGGKNACPLLI FDRTRKFVLACPRAGFVCAASNLGGAHESSLC
 EQLRGI ISEGGA AVASSVFVATVKSLGPRTQQLQIEDWLALLEDEYLSEE
 MMELTARALERNGGEWSTDAALEVAHEAEALVSQLGNAGEVFNFGDFGCE
 DDNATPFGGPGAPGPAFAGRKRAFHGDDPFGEPPDKKGDLTLDML

10

20

配列番号33: 野生型17株におけるICP8のDNA配列。

ATGGAGACAAAGCCCAAGACGGCAACCACCATCAAGGTCCCCCCCCGGGCC
 CCTGGGATACGTGTACGCTCGCGCGTGTCCGTCCGAAGGCATCGAGCTTC
 TGGCGTTACTGTGCGCACGCAGCGCGATTCCGACGTCGCCGTGGCGCCC
 CTGGTCTGTTGGCCTGACCGTGGAGAGCGGCTTTGAGGCCAACGTGGCCGT
 GGTCTGTTGGTTCTCGCACGACGGGGCTCGGGGGTACCGCGGTGTCCCTGA
 AACTGACGCCCTCGCACTACAGCTCGTCCGTGTACGTCTTTACGGCGGC
 CGGCACCTGGACCCAGCACCCAGGCCCGAACCTGACGCGACTTTGCGA
 GCGGGCACGCCGCCATTTTGGCTTTTTCGGACTACACCCCCGGCCCCGGC
 ACCTCAAACACGAGACGACGGGGGAGGCGCTGTGTGAGCGCCTCGGCCTG
 GACCCGGACCGCGCCCTCCTGTATCTGGTCGTTACCGAGGGCTTCAAGGA
 GGCCGTGTGCATCAACAACACCTTTCTGCACCTGGGAGGCTCGGACAAGG
 TAACCATAGGCGGGGCGGAGGTGCACCGCATACCCGTGTACCCGTTGCAG
 CTGTTTCATGCCGATTTTAGCCGTGTCATCGCAGAGCCGTTCAACGCCAA
 CCACCGATCGATCGGGGAGAATTTTACCTACCCGCTTCCGTTTTTTAACC
 GCCCCCTCAACCGCCTCCTGTTGAGGCGGTCTGGGACCCGCCCGCGTG
 GCACTGCGATGCCGAAACGTGGACGCGGTGGCCCGCGCGGCCGCCACCT
 GGCGTTTGACGAAAACACGAGGGCGCCGCCCTCCCCGCCGACATTACGT

30

40

【化 2 4】

TCACGGCCTTCGAAGCCAGCCAGGGTAAGACCCCGCGGGGCGGGCGCGAC
GGCGGCGGCAAGGGCCCCGCGGGCGGGTTCGAACAGCGCCTGGCCTCCGT
CATGGCCGGAGACGCCGCCCTGGCCCTCGATTCTATCGTGTGCGATGGCCG
TCTTTGACGAGCCGCCACCGACATCTCCGCGTGGCCGCTGTTTCGAGGGC
CAGGACACGGCCGCGGCCCGGCCAACGCCGTCGGGGCGTACCTGGCGCG
CGCCGCGGGACTCGTGGGGGCCATGGTATTTAGCACCAACTCGGCCCTCC
ATCTCACCAGAGGTGGACGACGCCGGCCCCGCGGACCCAAAGGACCACAGC
AAACCTCCTTTTTACCGCTTCTTCTCGTGCCCCGGGACCCACGTGGCGGC
CAACCCACAGGTGGACCGCGAGGGACACGTGGTGCCCCGGGTTCGAGGGTC
GGCCACCGCGCCCCCTCGTTCGGCGGAACCCAGGAATTTGCCGCGAGCAC
CTGGCCATGCTGTGTGGGTTTTCCCCGGCGCTGCTGGCCAAGATGCTGTT
TTACCTGGAGCGCTGCGACGGCGGCGTGATCGTTCGGGCGCCAGGAGATGG
ACGTGTTTTCGATACGTGCGGGACTCCAACCAGACCGACGTGCCCTGTAAC
CTATGCACCTTCGACACGCGCCACGCCTGCGTACACACGACGCTCATGCG
CCTCCGGGCGCGCCATCCAAAGTTCGCCAGCGCCGCCCGCGGAGCCATCG
GCGTCTTCGGGACCATGAACAGCATGTACAGCGACTGCGACGTGCTGGGA
AACTACGCCGCCCTTCTCGGCCCTGAAGCGCGCGGACGGATCCGAGACCGC
CCGGACCATCATGCAGGAGACGTACCGCGCGGCGACCGAGCGCGTCATGG
CCGAACTCGAGACCTTCAGTACGTGGACAGGCGGTCCCCACGGCCATG
GGGCGGCTGGAGACCATCATCAACAACCGCGAGGCCCTGCATACGGTGGT
GAACAACGTCAGGCAGGTGCTGGACCGCGAGGTGGAGCAGCTGATGCGCA
ACCTGGTGGAGGGGAGGAACCTCAAGTTTCGCGACGGTCTGGGCGAGGCC
AACCACCCATGTCCCTGACGCTGGACCCGTACCGGTGCGGGCCGTGCCC
CCTGCTTCAGCTTCTCGGGCGGCGATCCAACCTCGCCGTGTACCAGGACC
TGGCCCTGAGTCAGTGCCACGGGGTGTTTCGCCGGGCAGTCGGTTCGAGGGG
CGCAACTTTCGCAATCAATTCCAACCGGTGCTGCGGCGGCGCGTGATGGA
CATGTTTAACAACGGGTTTTCTGTGCGCCAAAACGCTGACGGTCGCGCTCT
CGGAGGGGGCGGCTATCTGCGCCCCAGCCTAACGGCCGGCCAGACGGCC
CCCGCCGAGAGCAGCTTCGAGGGCGACGTTGCCCGCGTGACCTGGGGTT
TCCCAAGGAGCTGCGCGTCAAGAGCCGCGTGTTGTTTCGCGGGCGCGAGCG
CCAACGCGTCCGAGGCCGCCAAGGCGCGGGTCGCCAGCCTCCAGAGCGCC
TACCAGAAGCCCGACAAGCGCGTGGACATCCTCCTCGGACCGCTGGGCTT
TCTGCTGAAGCAGTTCCACGCGGCCATCTTCCCCAACGGCAAGCCCCCGG
GGTCCAACCAGCCGAACCCGCACTGGTTCTGGACGGCCCTCCAACGCAAC
CAGCTTCCCGCCCCGGCTCCTGTGCGCGAGGACATCGAGACCATCGCGTT
CATTA AAAAGTTTTCCCTGGACTACGGCGCGATAAACTTTATTAACCTGG
CCCCCAACAACGTGAGCGAGCTGGCGATGTACTACATGGCAAACAGATT
CTGCGGTACTGCGATCACTCGACATACTTCATCAACACCCCTTACGGCCAT
CATCGCGGGGTCCCGCCGTCCCCCAGCGTGCAGGCTGCGGCGCGCTGGT
CCGCGCAGGGCGGGGCGGGCCTGGAGGCCGGGGCCCCGCGCGCTGATGGAC
GCCGTGGACGCGCATCCGGGCGCGTGGACGTCCATGTTTCGCCAGCTGCAA
CCTGCTGCGGCCCCGTATGGCGGCGCGCCCCATGGTTCGTGTTGGGGTTGA
GCATCAGCAAGTACTACGGCATGGCCGGCAACGACCGTGTGTTTCAGGCC
GGGAAC TGGGCCAGCCTGATGGGCGGCAAAAACGCGTGCCCGCTCCTTAT
TTTTGACCGCACCCGCAAGTTCGTCTTGGCCTGTCCCCGGGCGGGTTTG
TGTGCGCGGCCTCAAGCCTCGGCGGCGGAGCGCACGAAAGCTCGCTGTGC
GAGCAGCTCCGGGGCATTATCTCCGAGGGCGGGGCGGCCGTGCCAGTAG

10

20

30

40

50

【化 2 5】

CGTGTTCGTGGCGACCGTGAAAAGCCTGGGGCCCCGCACCCAGCAGCTGC
 AGATCGAGGACTGGCTGGCGCTCCTGGAGGACGAGTACCTAAGCGAGGAG
 ATGATGGAGCTGACCGCGCGTGCCCTGGAGCGCGGCAACGGCGAGTGGTC
 GACGGACGCGGCCCTGGAGGTGGCGCACGAGGCCGAGGCCCTAGTCAGCC
 AACTCGGCAACGCCGGGGAGGTGTTTAACTTTGGGGATTTTGGCTGCGAG
 GACGACAACGCGACGCCGTTCCGGCGGCCCGGGGGCCCCGGGACCGGCATT
 TGCCGGCCGCAAACGGGCGTTCCACGGGGATGACCCGTTTGGGGAGGGGC
 CCCCCGACAAAAGGGAGACCTGACGTTGGATATGCTGTGA

配列番号34:野生型17株におけるICP8のアミノ酸配列。

10

METKPKTATTIKVPPGPLGYVYARACPSEGIELLALLSARSGSDVAVAP
 LVVGLTVESGFANVAVVVSRTTGLGGTAVSLKLTPSHYSSSVYVFHGG
 RHLDPSTQAPNLTRLCERARRHFGFSDYTPRPGDLKHETTGEALCERLGL
 DPDFRALLYLVVTEGFKEAVCINNTFLHLGGSDKVTIGGAEVHRIPVYPLQ
 LFMPDFSRVIAEPFNANHRSIGENFTYPLPFFNRPLNRLLFEAVVGPAAV
 ALRCRNVDVARAAAHAFDENHEGAALPADITFTAFAEQKTPRGGRD
 GGGKGPAGGFQRLASVMAGDAALALDSIVSMAVFDEPPTDISAWPLFEG
 QDTAAARANAVGAYLARAAGLVGAMVFSNLSALHLTEVDDAGPADPKDHS
 KPSFYRFFLVPGTHVAANPQVDREGHVVPGFEGRPTAPLVGGTQEFAGEH
 LAMLCGFSPALLAKMLFYLERCDGGVIVGRQEMDVFRYVADSNQTDVPCN
 LCTFDTRHACVHTTLMRLRARHPKFASAARGAIGVFGTMNSMYSDCDVLG
 NYAAFSALKRADGSETARTIMQETYRAATERVMAELETLOQYVDQAVPTAM
 GRLETIITNREALHTVVNNVRQVVDREVEQLMRNLVEGRNFKFRDGLGEA
 NHAMSLTLDPYACGPCPLLQLLGRRSNLAVYQDLALSQCHGVFAGQSVEG
 RNFRNQFQPVLRRRVMDMFNNGFLSAKTLTVALSEGAAICAPSLTAGQTA
 PAESSFEGDVARVTLGFPKELRVKSRVLFAGASANASEAAKARVASLQSA
 YQKPKDRVDILLGLPLGFLKQFHAAIFPNGKPPGSNQPNPQWFWTALQRN
 QLPARLLSREDIETIAFIKKFSLDYGAINFINLAPNNVSELAMYMANQI
 LRYCDHSTYFINTLTAIAGSRPPSVQAAAWSAQGGAGLEAGARALMD
 AVDAHPGAWTSMFASCNLLRPVMAARPMVVLGLSISKYYGMAGNDRVFQA
 GNWASLMGGKNACPLLI FDRTRKFVLACPRAGFVCAASSLGGGAHESSLC
 EQLRGI ISEGGA AVASSVFVATVKS LGPRTQQLQIEDWLALLEDEYLSEE
 MMELTARALERNGEWS TDAALEVAHEAEALVSQ LGNAGEVFNFGDFGCE
 DDNATPFGGPGAPGPAFAGRKRAFHGDDPFGE GPPDKKGDLTLDML

20

30

配列番号35: Mut-3、Mut-3Δ34、5およびMut-3ΔICP6ウイルス株由来のDNA
 パッケージングターミナーゼサブ1のDNA配列。g1126a変異は、以下の配列中において
 太字かつ斜字体で示されている。

ATGTTTGGTCAGCAGCTGGCGTCCGACGTCCAGCAGTACCTGGAGCGCCT
 CGAGAAACAGAGGCAACTTAAGGTGGGCGCGACGAGGCGTCGGCGGGCC
 TCACCATGGGCGCGATGCCCTACGAGTGCCCTTTTGTAGATTTTCGCGACC
 GCGACCCCCAAGCGCCACCAGACCGTGGTCCCTGGCGTCGGGACGCTCCA
 CGACTGCTGCGAGCACTCGCCGCTCTTCTCGGCCGTGGCGCGGCGGCTGC
 TGTTTAAATAGCCTGGTGCCGCGCAACTAAAGGGGCGTGATTTTCGGGGGC
 GACCACACGGCCAAGCTGGAATTCCTGGCCCCGAGTTGGTACGGGCGGT
 GGCGCGACTGCGGTTTAAGGAGTGCGCGCCGGCGGACGTGGTGCCTCAGC

40

【化 2 6】

GTAACGCCCTACTATAGCGTTCTGAATACGTTTCAGGCCCTCCACCGCTCC
 GAAGCCTTTCCGCAGCTGGTGCACTTTGTGCGGGACTTTGCCAGCTGCT
 CAAAACCTCCTTCGGGGCTCCAGCCTCAGGAGACCACGGGCCCCCA
 AAAACGGGCCAAGGTGGACGTGGCCACCCACGGCCGGACGTACGGCAG
 CTGGAGCTGTTCCAAAAATGATCCTTATGCAGCCACCTACTTTCTGGC
 CGCCGTGCTCCTCGGGGACCACGCGGAGCAGGTCAACACGTTCTGCGTC
 TCGTGTGTTGAGATCCCCCTGTTTAGCGACGCGGGCTGCGCCACTTCCGC
 CAGCGCGCCACCGTGTTCCTCGTCCCCCGCGCCACGGCAAGACCTGGTT
 TCTGGTGCCCTCATCGCGCTGTCGCTGGCCTCCTTTCGGGGGATCAAGA
 TCGGCTACACGGCGCACATCCGCAAGGCGACCGAGCCGGTGTTCGAGGAG
 ATCGACGCTGCTGCGGGGCTGGTTCGGTTCGGCCGAGTGGACCACGT
 TAAAGGGAAACCATCTCCTTCTCGTTTCGGACGGGTGCGCGAGTACCA
 TCGTGTTCGCTCCAGCCACAACACAACCGGAATCCGAGGCCAGGACTTT
 AACCTGCTCTTTGTGCGACGAGGCCAACTTTATTCGCCCGGATGCGGTCCA
 GACGATTATGGGCTTTCTCAACCAGACCAACTGCAAGATTATCTTCGTGT
 CGTCCACCAACACGGGAAGGCCAGTACGAGCTTTTGTACAACCTCCGC
 GGGGCCCGACAGAGCTTCTCAACGTGGTGACCTATATATGCGATGATCA
 CATGCCGAGGGTGGTGACGCACACAACGCCACGGCCTGTTCTTGTATA
 TCCTCAACAAGCCCTTTTTCATCAGATGGACGGGGCGGTTCCGGGACC
 GCGGATTGTTTTCTGGCCGATTCTTCATGCAGGAGATCATCGGGGCCA
 GGCCAGGGAGACCGGCGACGACCGGCCGTTCTGACCAAGTCTGCGGGGG
 AGCGGTTTCTGTTGTACCGCCCTCGACCAACCAACAGCGGCCTCATG
 GCGCCGATTGTACGTGTACGTGGATCCCGCGTTCACGGCCAACACCCG
 AGCTCCGGGACCGCGCTCGTGTGTCGCGGGCGTACCGCGACGATTATA
 TCATCTTCGCCCTGGAGCACTTTTCTCCTCGCGCGTACGGGCTCGGCC
 CCGCCGACATCGCCCGCTGCGTCTGTCACAGTCTGACGCAGGTCTGGC
 CCTGCATCCCGGGCGTTTCGCGGCGTCCGGGTGGCGGTGAGGGAAATA
 GCAGCCAGGACTCGGCCGTCGCCATCGCCACGCAGTGCACACAGAGATG
 CACCGCCTACTGGCCTCGGAGGGGGCGACGCGGGCTCGGGCCCCGAGCT
 TCTCTTCTACCACTGCGAGCCTCCCGGGAGCGCGGTGCTGTACCCCTTTT
 TCCTGCTCAACAACAGAAGACGCGCCGCTTTGAACACTTTATTAAAAAG
 TTTAACTCCGGGGCGTCATGGCCTCCCAGGAGATCGTTTCCGCGACGGT
 GCGCCTGCAGACCGACCGGTGAGTATCTGCTCGAGCAGCTAAATAACC
 TCACCGAAACCGTCTCCCCAACACTGACGTCCGTACGTATTCGGAAAA
 CGGAACGCGCCTCGGATGACCTTATGGTCGCGGTATTATGGCATCTA
 CCTCGCGGCCAGGCGGACCTCCGCACACATTGCTCCTATCATACGCG
 TCTCGTGA

10

20

配列番号36: Mut-3、Mut-3Δ34、5およびMut-3ΔICP6ウイルス株由来の
 DNAパッケージングターミナーゼサブ1のアミノ酸配列。A376T変異は、以下の配列中
 において太字かつ斜字体で示されている。

30

MFGQQLASDVQQYLERLEKQRQLKVGADSEASAGLTMGGDALRVPFLDFAT
 ATPKRHQTVVPGVGLHDCCEHSPLFSAVARRLLFNSLVPALKGRDFGG
 DHTAKLEFLAPELVRAVARLRFKECAPADVVPQRNAYYSVLNTFQALHRS
 EAFRQLVHFVRDFAQLLKTSFRASSLTETTGPPKKRAKVDVATHGRITYGT
 LELFQKMLMHATYFLAAVLLGDHAEQVNTFLRLVFEIPLFSDAAVRHFR
 QRATVFLVPRRHGKTWFLVPLIALSLASFRGIKIGYTAHIRKATEPVFEE
 IDACLRGWFGSARVDHVKGETISFSFPDGSRSSTIVFASSHNTNGIRGQDF
 NLLFVDEANFIRPDVQTIMGFLNQTNCKIIIFVSSNTGKASTSFLYNLR
 GAADELLNVVTYICDDHMPRVVTHNATACSCYILNKPVFITMDGAVRRT
 ADLFLADSEFMQEIIGGQARETGDDRPVLTKSAGERFLLYRPSTTTNSGLM
 APDLYVVVDPAFTANTRASGTGVAVVGRYRDDYIIIFALEHFFLRALTGSA
 PADIARCVVHSLTQVIALHPGAFRGVRVAVEGNSSQDSAVAIATHVHTEM
 HRLLASECADAGSGPELLFYHCEPPGSAVLYPFFLLNKQKTPAFEHFIKK
 ENSGGVMASQEIIVSATVRLQTDPEYILLEQLNNLTETVSPNTDVRTYSGK

40

50

【化 2 7】

RNGASDDLMVAVIMAIYLAQAQAPPHTFAPIIRVS

配列番号37: 17TermAウイルス株のDNAパッケージングターミナーゼサブ1
のDNA配列。

ATGTTTGGTCAGCAGCTGGCGTCCGACGTCCAGCAGTACCTGGAGCGCCT
CGAGAAACAGAGGCAACTTAAGGTGGGCGGGACGAGGCGTCGGCGGGCC
TCACCATGGGCGGCGATGCCCTACGAGTGCCCTTTTATAGATTTTCGCGACC
GCGACCCCCAAGCGCCACCAGACCGTGGTCCCTGGCGTCGGGACGCTCCA
CGACTGCTGCGAGCACTCGCCGCTCTTCTCGGCCGTGGCGCGGCGGCTGC
TGTTTAATAGCCTGGTGCCGGCGCAACTAAAGGGGCGTGATTTTCGGGGGC
GACCACACGGCCAAGCTGGAATTCCTGGCCCCGAGTTGGTACGGGCGGT
GGCGCGACTGCGGTTTAAGGAGTGCGCGCCGGCGGACGTGGTGCCTCAGC
GTAACGCCTACTATAGCGTTCTGAATACGTTTCAGGCCCTCCACCGCTCC
GAAGCCTTTTCGCGAGCTGGTGCACTTTGTGCGGGACTTTGCCAGCTGCT
CAAAACCTCCTTCCGGGCCTCCAGCCTCACGGAGACCACGGGCCCCCCCCA
AAAAACGGGCCAAGGTGGACGTGGCCACCCACGGCCGGACGTACGGCACG
CTGGAGCTGTTCCAAAAAATGATCCTTATGCACGCCACCTACTTTCTGGC
CGCCGTGCTCCTCGGGGACCACGCGGAGCAGGTCAACACGTTCTTGCCTC
TCGTGTTTGTAGATCCCCCTGTTTAGCGACGCGGCCGTGCGCCACTTCCGC
CAGCGCGCCACCGTGTTTCTCGTCCCCCGGCGCCACGGCAAGACCTGGTT
TCTGGTGCCCCCTCATCGCGCTGTGCTGGCCTCCTTTCGGGGGATCAAGA
TCGGCTACACGGCGCACATCCGCAAGGCGACCGAGCCGGTGTTTGAGGAG
ATCGACGCCTGCCTGCGGGGCTGGTTTCGGTTCGGCCCGAGTGGACCACGT
TAAAGGGGAAACCATCTCCTTCTCGTTTCCGGACGGGTGCGCGCAGTACCA
TCGTGTTTGCCTCCAGCCACAACACAAACGGAATCCGAGGCCAGGACTTT
AACCTGCTCTTTGTGACGAGGCCAACTTTATTCGCCCCGATGCGGTCCA
GACGATTATGGGCTTTCTCAACCAGGCCAACTGCAAGATTATCTTCGTGT
CGTCCACCAACACCGGGAAGGCCAGTACGAGCTTTTGTACAACCTCCGC
GGGGCCGAGAGGAGCTTCTCAACGTGGTGACCTATATATGCGATGATCA
CATGCCGAGGGTGGTGACGCACACAAACGCCACGGCCTGTTCTTGTATATA
TCTCAACAAGCCCGTTTTTCATCACGATGGACGGGGCGGTTTCGCCGACC
GCCGATTTGTTTCTGGCCGATTCTTCATGCAGGAGATCATCGGGGGCCA
GGCCAGGGAGACCGGCGACGACCGGCCCGTTCTGACCAAGTCTGCGGGGG
AGCGGTTTCTGTTGTACCGCCCCCTCGACCACCACCAACAGCGGCCTCATG
GCCCCCGATTTGTACGTGTACGTGGATCCCGCGTTTCACGGCCAACACCCG
AGCCTCCGGGACCGGCGTCTGCTGTCGTCGGGCGGTACCGCGACGATTATA
TCATCTTCGCCCTGGAGCACTTTTTTCTCCGCGCGCTCACGGGCTCGGCC
CCCGCCGACATCGCCCGCTGCGTCTGTCACAGTCTGACGCAGGTCTTGGC
CCTGCATCCCGGGGCGTTTTCGCGGCGTCCGGGTGGCGGTTCGAGGGAAATA
GCAGCCAGGACTCGGCCGTGCCATCGCCACGCACGTGCACACAGAGATG
CACCGCCTACTGGCCTCGGAGGGGGCCGACGCGGGCTCGGGCCCCGAGCT
TCTCTTCTACCACTGCGAGCCTCCCGGGAGCGCGGTGCTGTACCCCTTTT
TCCTGCTCAACAAACAGAAGACGCCCCGCTTTGAACACTTTATTAAAAG
TTTAACCTCCGGGGGCGTCATGGCCTCCCAGGAGATCGTTTCCGCGACGGT
GCGCCTGCAGACCGACCGGTGAGTATCTGCTCGAGCAGCTAAATAACC
TCACCGAAACCGTCTCCCCAACACTGACGTCCGTACGTATTCCGGAAAA

10

20

30

40

50

【化 2 8】

CGGAACGGCGCCTCGGATGACCTTATGGTCGCCGTCATTATGGCCATCTA
CCTCGCGGGCCAGGCCGGACCTCCGCACACATTCGCTCCTATCATAACGCG
TCTCGTGA

配列番号38: 17TermAウイルス株のDNAパッケージングターミナーゼサブ1
のアミノ酸配列。

MFGQQLASDVQOYLERLEKQROLKVGAEASAGLTMGGDALRVPFLDFAT
ATPKRHQTVVPGVGTLDHCCHEHSPLFSAVARRLLFNSLVPAQLKGRDFGG
DHTAKLEFLAPELVRAVARLRFKCAPADVVPQRNAYYSVLNTFQALHRS
EAFRQLVHFVRDFAQLLKTSFRASSLTETTGPPKKRAKVDVATHGRTYGT
LELFQKMILMHATYFLAAVLLGDHAEQVNTFLRLVFEIPLFSDAAVRHFR
QRATVFLVPRRHGKTWFLVPLIALSLASFRGIKIGYTAHIRKATEPVFEE
IDACLRGWFGSARVDHVKGETISFSFPDGSRSSTIVFASSHNTNGIRGQDF
NLLFVDEANFIRPDAVQTIMGFLNQANCKIIFVSSTNTGKASTSFLYNLR
GADELNNVVTYICDDHMPRVVTHTNATACSCYILNKPVFITMDGAVRRT
ADLFLADSFMQEIIGGQARETGDDRPVLTKSAGERFLLYRPSTTTNSGLM
APDLYVYVDPFAFTANTRASGTGVAVVGRYRDDYIIIFALEHFFLRALTGSA
PADIARCVVHSLTQVLALHPGAFRGVRVAVEGNSSQDSAVAIATHVHTEM
HRLASEGADAGSGPELLFYHCEPPGSAVLYPFFLLNKQKTPAFEHFIKK
FNSGGVMASQEIVSATVRLQTDPEYLLLEQLNNLTETVSPNTDVRTYSGK
RNGASDDLMAVIMAIYLAAGAPPHTFAPIIRVS

10

配列番号39: rRp450ウイルス株のDNAパッケージングターミナーゼサブ1
のDNA配列。

20

ATGTTTGGTCAGCAGCTGGCGTCCGACGTCCAGCAGTACCTGGAGCGCCT
CGAGAAACAGAGGCAACTTAAGGTGGGCGCGGACGAGGCGTCGGCGGGCC
TCACAATGGGCGGCGATGCCCTACGAGTGCCCTTTTAGATTTTCGCGACC
GCGACCCCCAAGCGCCACCAGACCGTGGTCCCGGGCGTCGGGACGCTCCA
CGACTGCTGCGAGCACTCGCCGCTCTTCTCGGCCGTGGCGCGGCGGCTGC
TGTTTAATAGCCTGGTGCCGCGCAACTAAAGGGGCGTGATTTTCGGGGGC
GACCACACGGCCAAGCTGGAATTCCTGGCCCCGAGTTGGTACGGGCGGT
GGCGCGACTGCGGTTTAAAGGAGTGCGCGCCGGCGGACGTGGTGCCTCAGC
GTAACGCCTACTATAGCGTTCTGAACACGTTTCAGGCCCTCCACCGCTCC
GAAGCCTTTTCGCCAGCTGGTGCACTTTGTGCGGGACTTTGCCAGCTGCT
TAAAACCTCCTTCGGGGCCTCCAGCCTCACGGAGACCACGGGCCCCCAA
AAAAACGGGCAAGGTGGACGTGGCCACCCACGGCCGGACGTACGGCACG
CTGGAGCTGTTCCAAAAAATGATCCTTATGCACGCCACCTACTTTCTGGC
CGCCGTGCTCCTCGGGGACCACGCGGAGCAGGTCAACACGTTCTGCGTC
TCGTGTTTGAGATCCCCCTGTTTAGCGACGCGGCCGTGCGCCACTTCCGC
CAGCGCGCCACCGTGTTTCTCGTCCCCCGGCCACGGCAAGACCTGGTT
TCTAGTGCCCCCTCATCGCGCTGTCGCTGGCCTCCTTTCGGGGGATCAAGA
TCGGGTACACGGCGCACATCCGCAAGGCGACCGAGCCGGTGTTTGAGGAG
ATCGACGCCTGCCTGCGGGGCTGGTTCGGTTCGGCCCGAGTGACCACGT
TAAAGGGGAAACCATCTCCTTCTCGTTTCCGGACGGGTGCGCGAGTACCA
TCGTGTTTGCCTCCAGCCACAACACAAACGGAATCCGAGGCCAGGACTTT

30

40

【化 2 9】

AACCTGCTCTTTGTGCGACGAGGCCAACTTTATTCGCCCCGATGCGGTCCA
GACGATTATGGGCTTTCTCAACCAGGCCAACTGCAAGATTATCTTCGTGT
CGTCCACCAACACCGGGAAGGCCAGTACGAGCTTTTTGTACAACCTCCGC
GGGGCCGCCGACGAGCTTCTCAACGTGGTGACCTATATATGCGATGATCA
CATGCCCGGGTGGTGACGCACACAAACGCCACGGCCTGTTCTTGTTATA
TCCTCAACAAGCCCGTTTTTCATCACGATGGACGGGGCGGTTCCGCCGACC
GCCGATTTGTTTCTGGCCGATTCTTCATGCAGGAGATCATCGGGGGCCA
GGCCAGGGAGACCGGCGACGACCGGCCCGTTCTGACCAAGTCTGCGGGGG
AGCGGTTTCTGTTGTACCGCCCCCTCGACCACCACCAACAGCGGCCTCATG
GCCCCCGATTTGTACGTGTACGTGGATCCCGCGTTACAGGCCAACACCCG
AGCCTCCGGGACCGGCGTCGCTGTCGTCGGGCGGTACCGCGACGATTATA
TCATCTTCGCCCTGGAGCACTTTTTTCTCCGCGCGCTCACGGGCTCGGCC
CCCGCCGACATCGCCCGCTGCGTCGTCCACAGTCTGACGCAGGTCTTGGC
CCTGCATCCCGGGGCGTTTCGCGGCGTCCGGGTGGCGGTCGAGGGAAATA
GCAGCCAGGACTCGGCCGTCGCCATCGCCACGCACGTGCACACAGAGATG
CACCGCCTACTGGCCTCGGAGGGGGCCGACGCGGGCTCGGGCCCCGAGCT
TCTCTTCTACCACTGCGAGCCTCCCGGGAGCGCGGTGCTGTACCCCTTTT
TCCTGCTCAACAAACAGAAGACGCCCGCCTTTGAACACTTTATTA AAAAG
TTTAACTCCGGGGGCGTCATGGCCTCCCAGGAGATCGTTTCCGCGACGGT
GCGCCTGCAGACCGACCCGGTTCGAGTATCTGCTCGAGCAGCTGAATAACC
TCACCGAAACCGTCTCCCCAACACGGACGTCCGTACGTATTCCGGAAAA
CGGAACGGCGCCTCGGATGACCTTATGCTCGCCGTCATTATGGCCATCTA
CCTTGCGGCCAGGCCGACCTCCGCACACATTCGCTCCCATCACACGCG
TTTCGTGA

10

20

配列番号40:rRp450ウイルス株のDNAパッケージングターミナーゼサブ1
のアミノ酸配列。

MFGQQLASDVQQYLERLEKQRQLKVGAD EASAGLTMGGDALRVPFLDFAT
ATPKRHQTVVPGVGT LHDCC EHSPLFSAVARRLLFNSLVPAQLKGRDFGG
DHTAKLEFLAPELVRAVARLRFKECAPADVVPQRNAYYSVLNTFQALHRS
EAFRQLVHFVRDFAQLLKTSFRASSLTETTGPPKKRAKVDVATHGR TYGT
LELFQKMI LMHATYFLAAVLLGDHAEQVNTFLRLVFEIPLFSDAAVRHFR
QRATVFLVPRRHGKTWFLVPLIALSLASFRGIKIGYTAHIRKATEPVFEE
IDACLRGWFGSARVDHV KGETISFSFPDGSRSTIVFASSHNTNGIRGQDF
NLLFVDEANFIRPD AVQTIMGFLNQANCKII FVSSTNTGKASTSFLYNLR
GADEL LNVTYICDDHMPRVVTHTNATACSCYILNKPVFITMDGAVRRT
ADLFLADSF MQEII GGGQARETGDRPVLT KSAGERFLLYRPSTTTNSGLM
APDLVYVVDPAFTANTRASGTGVAVVGRYRDDYII FAL EHF FLRALTGSA
PADIARCVVHSLTQVLALHPGAFRGVRVAVEGNSSQDSAVAIATHVHTEM
HRL LASEGADAGSGPELLFYHCEPPGSAVLYPFFLLNKQKTPAFEHF I KK
FNSGGVMASQEIVSATVRLQTD PVEYLLQLNNLTETVSPNTDVRTYSGK
RNGASDDL MVAVIMAIYLA AQAGPPHTFAPITRVS

30

40

50

【化 3 0】

配列番号41:野生型17株のDNAパッケージングターミナーゼサブ1
のDNA配列。

ATGTTTGGTCAGCAGCTGGCGTCCGACGTCCAGCAGTACCTGGAGCGCCT
CGAGAAACAGAGGCAACTTAAGGTGGGCGCGGACGAGGCGTCGGCGGGCC
TCACCATGGGCGGCGATGCCCTACGAGTGCCCTTTTATAGATTTTCGCGACC
GCGACCCCCAAGCGCCACCAGACCGTGGTCCCTGGCGTCGGGACGCTCCA
CGACTGCTGCGAGCACTCGCCGCTCTTCTCGGCCGTGGCGCGGCGGCTGC
TGTTTAATAGCCTGGTGCCGGCGCAACTAAAGGGGCGTGATTTCTGGGGGC
GACCACACGGCCAAGCTGGAATTCCTGGCCCCGAGTTGGTACGGGCGGT
GGCGCGACTGCGGTTTAAGGAGTGCGCGCCGCGGACGTGGTGCCTCAGC
GTAACGCCTACTATAGCGTTCTGAATACGTTTCAGGCCCTCCACCGCTCC
GAAGCCTTTTCGCCAGCTGGTGCACTTTGTGCGGGACTTTGCCAGCTGCT
CAAAACCTCCTTCGGGGCCTCCAGCCTCACGGAGACCACGGGCCCCCCA
AAAAACGGGCCAAGGTGGACGTGGCCACCCACGGCCGGACGTACGGCACG
CTGGAGCTGTTCCAAAAAATGATCCTTATGCACGCCACCTACTTTCTGGC
CGCGTGCTCCTCGGGGACCACGCGGAGCAGGTCAACACGTTCTGCGTC
TCGTGTTTGAGATCCCCCTGTTTAGCGACGCGGCCGTGCGCCACTTCCGC
CAGCGCGCCACCGTGTTTCTCGTCCCCCGGCGCCACGGCAAGACCTGGTT
TCTGGTGCCCCCTCATCGCGCTGTCGCTGGCCTCCTTTCTGGGGGATCAAGA
TCGGCTACACGGCGCACATCCGCAAGGCGACCGAGCCGGTGTTTGAGGAG
ATCGACGCCTGCCTGCGGGGCTGGTTTCGGTTTCGGCCCGAGTGGAACACGT
TAAAGGGGAAACCATCTCCTTCTCGTTTTCCGACGGGTGCGCGAGTACCA
TCGTGTTTGCCTCCAGCCACAACACAAACGGAATCCGAGGCCAGGACTTT
AACCTGCTCTTTGTGCGACGAGGCCAACTTTATTCGCCCCGATGCGGTCCA
GACGATTATGGGCTTTCTCAACCAGGCCAACTGCAAGATTATCTTCGTGT
CGTCCACCAACACCGGGAAGGCCAGTACGAGCTTTTTGTACAACCTCCGC
GGGGCCGCAGACGAGCTTCTCAACGTGGTGACCTATATATGCGATGATCA
CATGCCGAGGGTGGTGACGCACACAAACGCCACGGCCTGTTCTTGTATA
TCCTCAACAAGCCCGTTTTTCATCACGATGGACGGGGCGGTTCCGCCGACC
GCCGATTTGTTTCTGGCCGATTCTTCATGCAGGAGATCATCGGGGGCCA
GGCCAGGGAGACCGGCGACGACCGGCCCGTTCTGACCAAGTCTGCGGGGG
AGCGGTTTTCTGTTGTACCGCCCCCTCGACCACCACCAACAGCGGCCTCATG
GCCCCGATTTGTACGTGTACGTGGATCCCGCGTTTACGGCCAACACCCG
AGCCTCCGGGACCGGCGTCGCTGTCGTCGGGCGGTACCGCGACGATTATA
TCATCTTCGCCCTGGAGCACTTTTTTCTCCGCGCGCTCACGGGCTCGGCC
CCCGCCGACATCGCCCGCTGCGTCGTCCACAGTCTGACGCAGGTCTTGGC
CCTGCATCCCGGGGCGTTTCGCGGCGTCCGGGTGGCGGTGAGGGAAATA
GCAGCCAGGACTCGGCCGTGCGCATCGCCACGCACGTGCACACAGAGATG
CACCGCCTACTGGCCTCGGAGGGGGCCGACGCGGGCTCGGGCCCCGAGCT
TCTCTTCTACCACTGCGAGCCTCCCGGGAGCGCGGTGCTGTACCCCTTTT
TCCTGCTCAACAAACAGAAGACGCCCGCCTTTGAACACTTTATTAATAAG
TTTAACTCCGGGGGCGTCATGGCTCCCGAGGAGATCGTTTCCGCGACGGT
GCGCCTGCAGACCGACCCGTCGAGTATCTGCTCGAGCAGCTAAATAACC
TCACCGAAACCGTCTCCCCCAACACTGACGTCCGTACGTATTCGGGAAAA
CGAACGGCGCCTCGGATGACCTTATGGTCGCCGTCATTATGGCCATCTA

10

20

30

40

50

【化 3 1】

CCTCGCGGCCCCAGGCCGGACCTCCGCACACATTGCTCCTATCATACGCG
TCTCGTGA

配列番号42:野生型17株のDNAパッケージングターミナーゼサブ1のアミノ酸配列。

MFGQQLASDVQYLERLEKQRLKVGAEASAGLTMGGDALRVPFLLDFAT
ATPKRHQTVVPGVGLHDCCEHSPLFSAVARRLLFNSLVPAQLKGRDFGG
DHTAKLEFLAPELVRAVARLRFKECAPADVVPQRNAYYSVLNTFQALHRS
EAFRQLVHFVRDFAQLLKTSFRASSLTETTGPCKKRAKVDVATHGRITYGT
LELFQKMIILMHATYFLAAVLLGDHAEQVNTFLRLVFEIPLFSDAAVRHFR
QRATVFLVPRRHGKTWFLVPLIALSLASFRGIKIGYTAHIRKATEPVFEE
IDACLRGWFGSARVDHVKGGETISFSFPDGSRSSTIVFASSHNTNGIRGQDF
NLLFVDEANFIRPDVQTIMGFLNQANCKII FVSSTNTGKASTSFLYNLR
GADELNINVVTYICDDHMPRVVTHTNATACSCYILNKPVFITMDGAVRRT
ADLFLADSFMQEI IGGQARETGDDRVLTKSAGERFLLYRPSTTTNSGLM
APDLYVYVDPFAFTANTRASGTGVAVVGRYRDDYII FALEHFFLRALTGSA
PADIARCVVHSLTQVLALHPGAFRGVRVAVEGNSSQDSAVAIATHVHTEM
HRLASEGADAGSGPELLFYHCEPPGSAVLYPFLLNKQKTPAFEHFIKK
FNSGGVMASQEI VSATVRLQTDPEYILLEQLNNLTETVSPNTDVRTYSGK
RNGASDDLMAVIMAIYLAAGPPHTFAPIIRVS

10

20

配列番号43: Mut3およびMut-3 Δ 34. 5ウイルス株におけるICP6のDNA配列。
配列は野生型17株における配列と同一である。

ATGGCCAGCCGCCCCAGCCGCATCCTCTCCCGTCGAAGCGCGGGCCCCGGT
TGGGGGACAGGAGGCCGGCCCCAGCGCAGCCACCCAGGGGGAGGCCG
CCGGGGCCCCCTCTCGCCACGGCCACCACGTGTACTGCCAGCGAGTCAAT
GGCGTGATGGTGCTTTCCGACAAGACGCCCGGGTCCGCGTCCTACCGCAT
CAGCGATAGCAACTTTGTCCAATGTGGTTCCAAGTGCACCATGATCATCG
ACGGAGACGTGGTGCGCGGGCGCCCCAGGACCCGGGGGCCGCGGCATCC
CCCGCTCCCTTTCGTTGCGGTGACAAACATCGGAGCCGGCAGCGACGGCGG
GACCGCCGTCGTGGCATTCGGGGGAACCCACGTCGCTCGGCGGGGACGT
CTACCGGTACCCAGACGGCCGACGTCCCCACCGAGGCCCTTGGGGGCCCC
CCTCCTCCTCCCCGCTTACCCTGGGTGGCGGCTGTTGTTCTGTGCGGA
CACACGGCGCCGCTCTGCGGTATTTCGGGGGGGAGGGGGATCCAGTCGGCC
CCGCGGAGTTCTGTCGACGACCGGTGTCGATTCCGACTCGGATGAC
TCGGAGGACACGGACTCGGAGACGCTGTCACACGCCTCCTCGGACGTGTC
CGGCGGGGCCACGTACGACGACGCCCTTGACTCCGATTTCGTCATCGGATG
ACTCCCTGCAGATAGATGGCCCCGTGTGTCGCCCCGTGGAGCAATGACACC
GCGCCCCCTGGATGTTTGCCCCGGGACCCCCGGCCCCGGGCGCCGACGCCGG
TGGTCCCCCAGCGGTAGACCCACACGCGCCGACGCCAGAGGCCGGCGCTG
GTCTTGCGGGCCGATCCCGCCGTGGCCCCGGGACGACGCGGAGGGGCTTTTCG
GACCCCCGGCCACGTCTGGGAACGGGCACGGCCTACCCCGTCCCCCTGGA

30

40

50

【化 3 2】

ACTCACGCCCCGAGAACGCGGAGGCCGTGGCGCGCTTTCTGGGAGATGCCG
TGAACCGCGAACCCGCGCTCATGCTGGAGTACTTTTGCCGGTGCGCCCGC
GAGGAAACCAAGCGTGTCCCCCCCAGGACATTCGGCAGCCCCCCTCGCCT
CACGGAGGACGACTTTGGGCTTCTCAACTACGCGCTCGTGGAGATGCAGC
GCCTGTGTCTGGACGTTCTCCGGTCCCGCCGAACGCATACATGCCCTAT
TATCTCAGGGAGTATGTGACGCGGCTGGTCAACGGGTTCAAGCCGCTGGT
GAGCCGGTCCGCTCGCCTTTACCGCATCCTGGGGGTTCTGGTGCACCTGC
GGATCCGGACCCGGGAGGCCTCCTTTGAGGAGTGGCTGCGATCCAAGGAA
GTGGCCCTGGATTTTGGCCTGACGGAAGGCTTCGCGAGCACGAAGCCCA
GCTGGTGATCCTGGCCCAGGCTCTGGACCATTACGACTGTCTGATCCACA
GCACACCGCACACGCTGGTTCGAGCGGGGGCTGCAATCGGCCCTGAAGTAT
GAGGAGTTTTACCTAAAGCGTTTTTGGCGGGCACTACATGGAGTCCGTCTT
CCAGATGTACACCCGCATCGCCGGCTTTTTTGGCCTGCCGGGCCACGCGCG
GCATGCGCCACATCGCCCTGGGGCGAGAGGGGTCTGGTGGGAAATGTTT
AAGTTCTTTTTCCACCGCCTCTACGACCACCAGATCGTACCGTCGACCCC
CGCCATGCTGAACCTGGGGACCCGCAACTACTACACCTCCAGCTGCTACC
TGGTAAACCCCCAGGCCACCACAAACAAGGCGACCCTGCGGGCCATCACC
AGCAACGTCAGTGCCATCCTCGCCCCGAACGGGGGCATCGGGCTATGCGT
GCAGGCGTTTTAACGACTCCGGCCCCGGGACCGCCAGCGTCATGCCCGCCC
TCAAGGTCCTTGACTCGCTGGTGGCGGCGCACAAACAAGAGAGCGCGCGT
CCGACCGGCGCGTGCGTGTAACCTGGAGCCGTGGCACACCGACGTGCGGGC
CGTGCTCCGGATGAAGGGGGTCTCGCCGGCGAAGAGGGCCAGCGCTGCG
ACAATATCTTCAGCGCCCTCTGGATGCCAGACCTGTTTTTCAAGCGCCTG
ATTCGCCACCTGGACGGCGAGAAGAAGCTCACATGGACCCTGTTTCGACCG
GGACACCAGCATGTGCTCGCCGACTTTCACGGGGAGGAGTTCGAGAAGC
TCTACCAGCACCTCGAGGTATGGGGTTCGGCGAGCAGATACCCATCCAG
GAGCTGGCCTATGTCGATTGTGCGCAGTGCGGCCACGACCGGGAGCCCCCTT
CGTATGTTTCAAAGACGCGGTGAACCGCCACTACATCTACGACACCCAGG
GGGCGGCCATCGCCGGCTCCAACCTCTGCACCGAGATCGTCCATCCGGCC
TCCAAGCGATCCAGTGGGGTCTGCAACCTGGGAAGCGTGAATCTGGCCCG
ATGCGTCTCCAGGCAGACGTTTGACTTTGGGCGGGCTCCGCGACGCCGTGC
AGGCGTGCGTGCTGATGGTGAACATCATGATCGACAGCACGCTACAACCC
ACGCCCCAGTGACCCGCGGCAACGACAACCTGCGGTCCATGGGAATCGG
CATGCAGGGCCTGCACACGGCCTGCCTGAAGCTGGGGCTGGATCTGGAGT
CTGTGGAATTTAGGACCTGAACAAACACATCGCCGAGGTGATGCTGCTG
TCGGCGATGAAGACCAGCAACGCGCTGTGCGTTTCGCGGGGGCCCGTCCCTT
CAACCACTTTAAGCGCAGCATGTATCGCGCCGGCCGCTTTCACTGGGAGC
GCTTTCCGGACGCCCGCGCGGTACGAGGGCGAGTGGGAGATGCTACGC
CAGAGCATGATGAAACACGGCCTGCGCAACAGCCAGTTTGTGCGCTGAT
GCCCACCGCCGCTCGGCGCAGATCTCGGACGTCAGCGAGGGCTTTGCCC
CCCTGTTTACCAACCTGTTTACGAAGGTGACCCGGGACGGCGAGACGCTG
CGCCCCAACACGCTCCTGTCTAAAGGAACTGGAACGCACGTTTAGCGGGAA
GCGCCTCCTGGAGGTGATGGACAGTCTCGACGCCAAGCAGTGGTCCGTGG
CGCAGGCGCTCCCGTGCCTGGAGCCCAACCCACCCCTCCGGCGATTCAAG
ACCGCGTTTGACTACGACCAGAAGTTGCTGATCGACCTGTGTGCGGACCG
CGCCCCCTACGTGACCATAGCCAATCCATGACCCTGTATGTCACGGAGA
AGGCGGACGGGACCCTCCAGCCTCCACCCCTGGTCCGCCTTCTGGTCCAC

10

20

30

40

50

【化 3 3】

GCATATAAGCGCGGACTAAAAACAGGGATGTACTACTGCAAGGTTGCGAA
GGCGACCAACAGCGGGGTCTTTGGCGGCGACGACAACATTGTCTGCACGA
GCTGCGCGCTGTGA

配列番号44: Mut3およびMut-3Δ34. 5ウイルス株におけるICP6のアミノ酸配列。

MASRPAASSPVEARAPVGGQEAGGPSAATQGEAAGAPLAHGHVYCQRVN
GVMVLSDKTPGSASYRISDSNFVQCGSNCTMIIDGDVVRGRPDPGAAAS
PAPFVAVTNIGAGSDGGTAVVAFGGTPRRSAGTSTGTQTADVPTALGGP
PPPPRFTLGGGCCSCRDRRRSAVFGGEDPVGPAEFVSDDRSSDSDD
SEDTSETLSHASSDVSGGATYDDALDSSSSDSLQIDGPVCRPWSNDT
APLDVCPGTPGPGADAGGPSAVDPHAPTPEAGAGLAADPAVARDDAEGLS
DPRPRLGTGTAYPVPLELTPENAEAVARFLGDAVNREPALMLEYFCRCAR
EETKRVPPTFGSPPLRTEDDFGLLNIALVEMQRLCLDVPPVPPNAYMPY
YLREYVTRLVNGFKPLVSRARLYRILGVLVHLRIRTREASFEWLRSKE
VALDFGLTERLREHEAQLVILAQALDHYDCLIHSTPHTLVERGLQSALKY
EEFYLRFGGHYMESVFQMYTRIAGFLACRATRGMRHIALGREGSWWEMF
KFFFHRLYDHQIVPSTPAMNLGTRNYYTSSCYLVNPQATTNKATLRAIT
SNVSAILARNGGIGLCVQAFNDSGPGTASVMPALKVLDLVAHNKESAR
PTGACVYLEPWHTDVRAVLRMKGVLAGEEAQRCDNIFSALWMPDLFFKRL
IRHLDGEKNVTWTLFDRDTSMSLADFHGEEFEKLYQHLEVMGFGEQIPIQ
ELAYGIVRSAATTGSPFVMFKDAVNRHYIYDTQGAAGIAGSNLCTEIVHPA
SKRSSGVCNLGSVNLRCSVRQTFDFGRLRDAVQACVLMVNIMIDSTLQP
TPQCTRGNNDNLRSMGIGMQGLHTACLKLGDLDESVEFQDLNKHIAEVMMLL
SAMKTSNALCVRGARPFNFHFKRSMYRAGRFHWERFPDARPRYEGEWEMLR
QSMKHGLRNSQFVALMPTAASAQISDVSEGFAPLFTNLFSKVTRDGETL
RPNTLLLKELERTFSGKRLLEVMDSLDAKQWSVAQALPCLEPHTPLRRFK
TAFDYDQKLLIDLCAADRAPYVDHSQSMTLYVTEKADGTLPASTLVRLLVH
AYKRGLKTGMYYCKVRKATNSGVFGDDNIVCTSCAL

10

20

配列番号45: 17TermA株におけるICP6のDNA配列。

ATGGCCAGCCGCCCAGCCGCATCCTCTCCCGTCGAAGCGCGGGCCCCGGT
TGGGGGACAGGAGGCCGGCGGCCCCAGCGCAGCCACCCAGGGGGAGGCCG
CCGGGGCCCCCTCTCGCCACGGCCACCACGTGTACTGCCAGCGAGTCAAT
GGCGTGATGGTGCTTTCCGACAAGACGCCCCGGGTCCGCGTCCTACCGCAT
CAGCGATAGCAACTTTGTCCAATGTGGTTCCAAGTGCACCATGATCATCG
ACGGAGACGTGGTGCGCGGGCGCCCCAGGACCCGGGGGCGCGGCATCC
CCCGCTCCCTTCGTTGCGGTGACAAACATCGGAGCCGGCAGCGACGGCGG
GACCGCCGTCGTGGCATTGCGGGGAACCCACGTGCTCGGCGGGGACGT
CTACCGGTACCCAGACGGCCGACGTCCCCACCGAGGCCCTTGGGGGCCCC
CCTCCTCCTCCCCGCTTCACCTGGGTGGCGGCTGTTGTTTCCTGTGCGGA
CACACGGCGCCGCTCTGCGGTATTGCGGGGGGAGGGGGATCCAGTCGGCC
CCGCGGAGTTCGTCTCGGACGACCGGTCTGTCGATTCCGACTCGGATGAC
TCGGAGGACACGGACTCGGAGACGCTGTACACGCCTCCTCGGACGTGTC
CGGCGGGGCCACGTACGACGACGCCCTTGACTCCGATTGTCATCGGATG
ACTCCCTGCAGATAGATGGCCCCGTGTGTCGCCCCGTGGAGCAATGACACC
GCGCCCCCTGGATGTTTGGCCCCGGGACCCCCGGCCCGGGCGCCGACGCCGG

30

40

【化 3 4】

TGGTCCCTCAGCGGTAGACCCACACGCGCCGACGCCAGAGGCCGGCGCTG
GTCTTGCGGCCGATCCCGCCGTGGCCCGGGACGACGCGGAGGGGCTTTCG
GACCCCGGCCACGTCTGGGAACGGGCACGGCTACCCCGTCCCCCTGGA
ACTCACGCCCCGAGAACGCGGAGGCCGTGGCGCGCTTCTGGGAGATGCCG
TGAACCGCGAACCCGCGCTCATGCTGGAGTACTTTTGCCGGTGCGCCCGC
GAGGAAACCAAGCGTGTCCCCCAGGACATTGCGCAGCCCCCTCGCCT
CACGGAGGACGACTTTGGGCTTCTCAACTACGCGCTCGTGGAGATGCAGC
GCCTGTGTCTGGACGTTCTCCGGTCCCGCCGAACGCATACATGCCCTAT
TATCTCAGGGAGTATGTGACGCGGCTGGTCAACGGGTTCAAGCCGCTGGT
GAGCCGGTCCGCTCGCCTTTACCGCATCCTGGGGGTTCTGGTGCACCTGC
GGATCCCGACCCGGGAGGCCTCCTTTGAGGAGTGGCTGCGATCCAAGGAA
GTGGCCCTGGATTTTGGCCTGACGGAAGGCTTCGCGAGCACGAAGCCCA
GCTGGTGATCCTGGCCCAGGCTCTGGACCATTACGACTGTCTGATCCACA
GCACACCGCACACGCTGGTTCGAGCGGGGGCTGCAATCGGCCCTGAAGTAT
GAGGAGTTTTACCTAAAGCGTTTTTGGCGGGCACTACATGGAGTCCGTCTT
CCAGATGTACACCCGCATCGCCGGCTTTTTTGGCCTGCCGGGCCACGCGCG
GCATGCGCCACATCGCCCTGGGGCGAGAGGGGTCGTGGTGGGAAATGTTT
AAGTTCTTTTTCCACCGCCTCTACGACCACCAGATCGTACCGTCGACCCC
CGCCATGCTGAACCTGGGGACCCGCAACTACTACACCTCCAGCTGCTACC
TGGTAAACCCCCAGGCCACCACAAACAAGGCGACCCTGCCGGGCCATCACC
AGCAACGTCAGTGCCATCCTCGCCCGCAACGGGGGCATCGGGCTATGCGT
GCAGGCGTTTAAAGACTCCGGCCCCGGGACCGCCAGCGTCATGCCCGCCC
TCAAGGTCCTTGACTCGCTGGTGGCGGCGCACAACAAAGAGAGCGCGCGT
CCGACCGGCGCGTGCCTGTACCTGGAGCCGTGGCACACCGACGTGCGGGC
CGTGCTCCGGATGAAGGGGGTCTCGCCGGCGAAGAGGCCAGCGCTGCG
ACAATATCTTCAGCGCCCTCTGGATGCCAGACCTGTTTTTCAAGCGCCTG
ATTCGCCACCTGGACGGCGAGAAGAAGTCACATGGACCCTGTTTCGACCG
TGACACAGCACCTCGAGGTGATGGGGTTTCGGCGAGCAGATACCCATCCAG
GAGCTGGCCTATGGCATTGTGCGCAGTGCGGCCACGACCGGGAGCCCCTT
CGTCATGTTCAAAGACGCGGTGAACCGCCACTACATCTACGACACCCAGG
GGGCGGCCATCGCCGGCTCCAACCTCTGCACCGAGATCGTCCATCCGGCC
TCCAAGCGATCCAGTGGGGTCTGCAACCTGGGAAGCGTGAATCTGGCCCG
ATGCGTCTCCAGGCAGACGTTTGACTTTGGGCGGCTCCGCGACGCCGTGC
AGGCGTGCGTGCTGATGGTGAACATCATGATCGACAGCACGCTACAACCC
ACGCCCCAGTGACCCGCGCAACGACAACCTGCGGTCCATGGGAATCGG
CATGCAGGGCCTGCACACGGCCTGCCTGAAGCTGGGGCTGGATCTGGAGT
CTGCCGAATTTAGGACCTGAACAAACACATCGCCGAGGTGATGCTGCTG
TCGGCGATGAAGACCAGCAACGCGCTGTGCGTTCGCGGGGGCCGTCCTT
CAACCACTTTAAGCGCAGCATGTATCGCGCCGGCCGCTTTCACTGGGAGC
GCTTTCCGGACGCCCGCGCGGTACGAGGGCGAGTGGGAGATGCTACGC
CAGAGCATGATGAAACACGGCCTGCGCAACAGCCAGTTTGTGCGCTGAT
GCCCCACCGCCGCTCGGCGCAGATCTCGGACGTCAGCGAGGGCTTTGCC
CCCTGTTACCAACCTGTTTCAGCAAGGTGACCCGGGACGGCGAGACGCTG
CGCCCCAACACGCTCCTGCTAAAGGAACTGGAACGCACGTTTAGCGGGAA
GCGCCTCCTGGAGGTGATGGACAGTCTCGACGCCAAGCAGTGGTCCGTGG
CGCAGGCGCTCCCGTGCTGGAGCCCACCCACCCCTCCGCGATTCAAG

10

20

30

40

50

【化 3 5】

ACCGCGTTTGACTACGACCAGAAGTTGCTGATCGACCTGTGTGCGGACCG
 CGCCCCCTACGTCGACCATAGCCAATCCATGACCCTGTATGTCACGGAGA
 AGGCGGACGGGACCCCTCCCAGCCTCCACCCTGGTCCGCCTTCTGGTCCAC
 GCATATAAGCGCGGACTAAAAACAGGGATGTACTACTGCAAGGTTTCGCA
 GCGCACCAACAGCGGGGTCTTTGGCGGCGACGACAACATTGTCTGCATGA
 GCTGCGCGCTGTGA

配列番号46: 17TermA株におけるICP6のアミノ酸配列。

MASRPAASSPVEARAPVGGQEAGGPSAATQGEAAGAPLAHGHVYCQRVN
 GVMVLSDKTPGSASYRISDSNFVQCGSNCTMIIDGDVVRGRPQDPGAAAS
 PAPFVAVTNIGAGSDGGTAVVAFGGTPRRSAGTSTGTQTADVPTALGGP
 PPPPRFTLGGGCCSCRDRRRSAVFGGEGDPVGPAPFVSDDRSSSDSDSD
 SEDTDSETLSHASSDVSGGATYDDALSDSSSDSLQIDGPVCRPWSNDT
 APLDVCPGTPGPGADAGGPSAVDPHAPTPEAGAGLAADPAVARDDAEGLS
 DPRPRLGTGTAYPVPLELTPENAEAVARFLGDAVNREPALMLEYFCRCAR
 EETKRVPRTFGSPRLTEDDFGLLNIALVEMQRLCLDVPPVPPNAYMPY
 YLREYVTRLVNGFKPLVSR SARLYRILGVLVHLRIRTREASFEEWLSKE
 VALDFGLTERLREHEAQLVILAQALDHYDCLIHSTPHTLVERGLQSALKY
 EEFYLRFRGGHYMESVFQMYTRIAGFLACRATRGMRHIALGREGSWWEMF
 KFFFHRLYDHIQVPSTPAMNLGTRNYYTSSCYLVNPQATTNKATLRAIT
 SNVSAILARNGGIGLCVQAFNDSGPGTASVMPALKVLDLSVAHNKESAR
 PTGACVYLEPWHITDRAVLRMKGVLAGEEAQRCNDIFSALWMPDLFFKRL
 IRHLDGEKNVTWTLFDRDTSMSLADFHGEEFEKLYQHLEVMGFGEQIPIQ
 ELAYGIVRSAATTGSPFVMFKDAVNRHYIYDTQGAAIAGSNLCTEIVHPA
 SKRSSGVCNLSVNLARCVSRQTFDFGRLRDAVQACVLMVNIMIDSTLQP
 TPQCTRGNDNLRSMGIGMQGLHTACLKLGDLLESAEFQDLNKHIAEVMLL
 SAMKTSNALCVRGARPFNFHFKRSMYRAGRFWERFPDARPRYEGEWEMLR
 QSMKHKHLRNSQFVALMPTAASAQISDVSEGFAPLFTNLFSKVTRDGETL
 RPNTLLLKELERTFSGKRLLEVMDSLDAKQWSVAQALPCLEPHPLRRFK
 TAFDYDQKLLIDL CADRAPYVDHSQSMTLYVTEKADGTLPASTLVRLLVH
 AYKRGLKTGMYYCKVRKATNSGVFGDDNIVCMSCAL

10

20

配列番号47: rRp450株におけるラットシクロムP450 2B1のDNA配列。

GAACCCCTTCGCCATGGAGCCCAGTATCTTGCTCCTCCTTGCTCTCCTTG
 TGGGCTTCTTGTTACTCTTAGTCAGGGGACACCCAAAGTCCCGTGGCAAC
 TTCCCACAGGACCTCGTCCCCTTCCCCTCTTGGGGAACCTCCTGCAGTT
 GGACAGAGGGGGCCTCCTCAATTCCTTCATGCAGCTTCGAGAAAAATATG
 GAGATGTGTTACAGTACACCTGGGACCAAGGCCTGTGGTCATGCTATGT
 GGGACAGACACCATAAAGGAGGCTCTGGTGGGCCAAGCTGAGGATTTCTC
 TGGTCGGGGAACAATCGCTGTGATTGAGCCAATCTTCAAGGAATATGGTG
 TGATCTTTGCCAATGGGGAACGCTGGAAGGCCCTTCGGCGATTCTCTCTG
 GCTACCATGAGAGACTTTGGGATGGGAAAGAGGAGTGTGGAAGAACGGAT
 TCAGGAGGAAGCCCAATGTTTGGTGGAGGAAGTGCAGGAAATCCCAGGGAG
 CCCCCTGGATCCCACCTTCTCTTCCAGTGCATCACAGCCAACATCATC
 TGCTCCATTGTGTTTGGAGAGCGCTTTGACTACACAGACCGCCAGTTCTC

30

40

【化 3 6】

GCGCCTGTTGGAGCTGTTCTACCGGACCTTTTCCCTCCTAAGTTCATTCT
CCAGCCAGGTGTTTGAGTTCTTCTCTGGGTTCCTGAAATACTTTCTGGT
GCCCACAGACAAATCTCCAAAAACCTCCAGGAAATCCTCGATTACATTGG
CCATATTGTGGAGAAGCACAGGGCCACCTTAGACCCAAGCGCTCCACGAG
ACTTCATCGACACTTACCTTCTGCGCATGGAGAAGGAGAAGTCAACCAC
CACACAGAGTTCCATCATGAGAACCTCATGATCTCCCTGCTCTCTCTCTT
CTTTGCTGGCACTGAGACCAGCAGCACCACTCCGCTATGGTTTCTCTGC
TGATGCTCAAGTACCCCATGTGCGCAGAGAAAGTCCAAAAGGAGATTGAT
CAGGTGATCGGCTCACACCGGCTACCAACCCTTGATGACCGCAGTAAAAT
GCCATACACTGATGCAGTTATCCATGAGATTGAGAGTTTTTCAGATCTTG
TCCCTATTGGAGTACCACACAGAGTCACCAAAGACACCATGTTCCGAGGG
TACCTGCTTCCCAAGAACACTGAAGTGTACCCCATCCTGAGTTCAGCTCT
CCATGACCCACAGTACTTTGACCACCCAGACAGCTTCAATCCTGAACACT
TCCTGGATGCCAATGGGGCACTGAAAAAGAGTGAAGCTTTCATGCCCTTC
TCCACAGGAAAGCGCATTTGTCTTGCGGAAGGCATTGCCCGAAATGAATT
GTTCTCTTCTTACCACCATCCTCCAGAACTTCTCTGTGTCAAGCCATT
TGGTCCCAAGGACATTGACCTCACGCCCAGGAGAGTGGCATTGGAAAA
ATACCTCCAACGTACCAGATCTGCTTCTCAGCTCGGTGATCCGGCTGAGG
CAGCCATGTGCCCCAGTTCTGTTGGGAATGGAACTTGTTTATTGCAGCTT
ATAATGGTTACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTTACAAATAAAGCA
TTTTTTTCACTGCATTCTAGTTGTGGTTTGTCCAAACTCATCAATGTATC
TTATCATGTCTGGATCCCCGGGCGAGCTCGAATTCCCTCCTTTGAGGAGTG
GCTGCGATCCAAGGAAGTGGCCCTGGACTTTGGCCTGACGGAAGGCTTC
GCGAGCACGAAGCCCAGCTGGTGATCCTGGCCCAGGCTCTGGACCATTAC
GACTGTCTGATCCACAGCACACCGCACACGCTGGTCGAGCGGGGGCTGCA
ATCGGCCCTGAAGTATGAGGAGTTTTACCTAAAGCGCTTTGGCGGGCACT
ACATGGAGTCCGTCTTCCAGATGTACACCCGCATCGCCGGCTTTTTGGCC
TGCCGGGCCACGCGGGCATGCGCCACATCGCCCTGGGGCGAGAGGGGTC
GTGGTGGGAAATGTTCAAGTTCTTTTTCCACCGCCTCTACGACCACCAGA
TCGTACCCTGCTACCCCGCCATGCTGAACCTGGGGACCCGCAACTACTAC
ACCTCCAGTGTCTACCTGGTAAACCCCCAGGCCACCACAAACAAGGCGAC
CCTGCGGGCCATCAGCAACGTCAGCGCCATCCTCGCCCGCAACGGGG
GCATCGGGCTATGCGTGCAGGCGTTTAACGACTCCGGCCCCGGGACCGCT
AGCGTCATACCCGCCCTCAAGGTCTCGACTCGCTGGTGGCGGCGCACAA
CAAAGAGAGCGCGCGTCCAACCGGCGCGTGCGTGACCTGGAGCCGTGGC
ACACCGACGTGCGGGCCGTGCTCCGGATGAAGGGGGTCTCGCCGGCGAA
GAGGCCAGCGCTGCGACAATATCTTCAGCGCCCTCTGGATGCCAGACCT
GTTTTTCAAGCGCCTGATTCGCCACCTGGACGGCGAGAAGAACGTCACAT
GGACCTGTTCGACCGGGACACCAGCATGTCGCTCGCCGACTTTCACGGG
GAGGAGTTCGAGAAGCTCTACCAGCACCTCGAGGTGATGGGGTTCGGCGA
GCAGATACCCATCCAGGAGCTGGCCTATGGCATTGTGCGCAGTGCGGCCA
CGACCGGGAGCCCCCTTCGTGATGTTCAAAGACGCGGTGAACCGCCACTAC
ATCTACGACACCCAGGGGGCGGCCATCGCCGGCTCCAACCTCTGCACCGA
GATCGTCCATCCGGCCTCCAAGCGATCCAGTGGGGTCTGCAATCTGGGAA
GCGTGAATCTGGCCCCGATGCGTCTCCAGGCAGACGTTTGACTTTGGGCGG
CTCCGCGACGCCGTGCAGGCGTGCGTGCTGATGGTGAACATCATGATCGA
CAGCACGCTACAACCCACGCCCCAGTGACCCGCGGCAACGACAACCTGC

10

20

30

40

50

【化 3 7】

GGTCCATGGGAATCGGCATGCAGGGCCTGCACACGGCCTGCCTGAAGCTG
GGGCTGGATCTGGAGTCTGTCTGAATTTTCAGGACCTGAACAAACACATCGC
CGAGGTGATGCTGCTGTCTGGCGATGAAGACCAGCAACGCGCTGTGCGTTC
GCGGGGCCCCGTCCCTTCAACCACTTTAAGCGCAGCATGTATCGCGCCGGC
CGCTTTCACCTGGGAGCGCTTTCCGGACGCCCCGGCCGCGGTACGAGGGCGA
GTGGGAGATGCTACGCCAGAGCATGATGAAACACGGCCTGCGCAACAGCC
AGTTTGTCTGCGCTGATGCCCCACCGCCGCTCGGCGCAGATCTCGGACGTC
AGCGAGGGCTTTGCCCCCTGTTTACCAACCTGTTTACGCAAGGTGACCCG
GGACGGCGAGACGCTGCGCCCCAACACGCTCCTGCTAAAGGAACGGAAC
GCACGTTTAGCGGGAAGCGCCTCCTGGAGGTGATGGACAGTCTCGACGCC
AAGCAGTGGTCCGTGGCGCAGGCGCTCCCGTGCCTGGAGCCCACCCACCC
CCTCCGGCGATTCAAGACCGCGTTTACTACGACCAGAAGTTGCTGATCG
ACCTGTGTGCGGACCGCGCCCCCTACGTCGACCATAGCCAATCCATGACC
CTGTATGTCACGGAGAAGGCGGACGGGACCCCTCCAGCCTCCACCCTGGT
CCGCCTTCTGGTCCACGCATATAAGCGCGGACTAAAAACAGGGATGTACT
ACTGCAAGGTTTCGCAAGGCGACCAACAGCGGGGTCTTTGGCGGCGACGAC
AACATTGTCTGCACGAGCTGCGCGCTGTGA

10

配列番号48: rRp450株におけるラットシクロムP450 2B1のアミノ酸配列。

MEPSILLLLALLVGFLLLLVRGHPKSRGNFPPGPRPLPLLGNLLQL
DRGGLLNSFMQLREKYGDVFTVHLGPRPVVMLCGDTIKEALVGQAEDFS
GRGTIAVIEPIFKEYGVI FANGERWKALRRFSLATMRDFGMGKRSVEERI
QEEAQCLVEELRKSQGAPLDPTFLFQCITANIICSIVFGERFDYTDRQFL
RLLELFYRTFSLSSFSQQVFEEFFSGFLKYFPGAHRQISKNLQEILDYIG
HIVEKHRATLDPSAPRDFIDTYLLRMEKEKSNHHTFHHENLMISLLSLF
FAGTETSSTTLRYGFLMLKYPHVAEKVQKEIDQVIGSHRLPTLDDRSKM
PYTDAVIHEIQRFSDLVPIGVPHRVTKDTMFRGYLLPKNTEVYPILSSAL
HDPQYFDHPDSFNPEHFLDANGALKKSEAFMPFSTGKRICLGEIARNEL
FLFFTILQNFVSSSHLPKDIDLTPKESGIGKIPPTYQICFSAR*

20

* 終止コドン * の後の配列は発現されないと予測される

配列番号49: 野生型17株におけるICP6のDNA配列。

ATGGCCAGCCGCCAGCCGCATCCTCTCCCGTCGAAGCGCGGGCCCCGGT
TGGGGGACAGGAGCGCGCGGCCCCAGCGCAGCCACCCAGGGGGAGGCCG
CCGGGGCCCCCTCTCGCCACGGCCACCACGTGTAAGTCCAGCGAGTCAAT
GGCGTGATGGTGCTTTCCGACAAGACGCCCCGGGTCCGCGTCTACCGCAT
CAGCGATAGCAACTTTGTCCAATGTGGTTCCAACGACCATGATCATCG
ACGGAGACGTGGTGCGCGGGCGCCCCAGGACCCGGGGGCGCGGCATCC
CCCGCTCCCTTCGTTGCGGTGACAAACATCGGAGCCGGCAGCGACGGCGG
GACCGCCGTCGTGGCATTGCGGGGAACCCACGTCGCTCGGCGGGGACGT
CTACCGGTACCCAGACGGCCGACGTCCCCACCGAGGCCCTTGGGGGCCCC
CCTCCTCCTCCCCGCTTACCCTGGGTGGCGGCTGTTGTTCTGTGCGGA
CACACGGCGCCGCTCTGCGGTATTGCGGGGGGAGGGGGATCCAGTCGGCC
CCGCGGAGTTCGTCTCGGACGACCGGTCTGTCGATTCCGACTCGGATGAC
TCGGAGGACACGGACTCGGAGACGCTGTACACGCCTCCTCGGACGTGTC
CGGCGGGGCCACGTACGACGACGCCCTTGACTCCGATTCTGTCATCGGATG
ACTCCCTGCAGATAGATGGCCCCGTGTGTCGCCCCGTGGAGCAATGACACC

30

40

【化 3 8】

GCGCCCCTGGATGTTTTGCCCCGGGACCCCCGGCCCCGGCGCCGACGCCGG
TGGTCCCTCAGCGGTAGACCCACACGCGCCGACGCCAGAGGCCGGCGCTG
GTCTTGCGGCCGATCCCGCCGTGGCCCCGGGACGACGCGGAGGGGCTTTTCG
GACCCCCGGCCACGTCTGGGAACGGGCACGGCCTACCCCGTCCCCCTGGA
ACTCACGCCCCGAGAACGCGGAGGCCGTGGCGCGCTTTCTGGGAGATGCCG
TGAACCGCGAACCCGCGCTCATGCTGGAGTACTTTTGCCGGTGCGCCCCG
GAGGAAACCAAGCGTGTCACCCCCAGGACATTTCGGCAGCCCCCTCGCCT
CACGGAGGACGACTTTGGGCTTCTCAACTACGCGCTCGTGGAGATGCAGC
GCCTGTGTCTGGACGTTCCCTCCGGTCCCGCCGAACGCATACATGCCCTAT
TATCTCAGGGAGTATGTGACGCGGTGGTCAACGGGTTCAAGCCGCTGGT
GAGCCGGTCCGCTCGCCTTTACCGCATCCTGGGGGTTCTGGTGCACCTGC
GGATCCGGACCCGGGAGGCCCTCCTTTGAGGAGTGGCTGCGATCCAAGGAA
GTGGCCCTGGATTTTGGCCTGACGGAAGGCTTCGCGAGCACGAAGCCCA
GCTGGTGATCCTGGCCAGGCTCTGGACCATTACGACTGTCTGATCCACA
GCACACCGCACACGCTGGTCGAGCGGGGGCTGCAATCGGCCCTGAAGTAT
GAGGAGTTTTACCTAAAGCGTTTTTGGCGGGCACTACATGGAGTCCGTCTT
CCAGATGTACACCCGCATCGCCGGCTTTTTGGCCTGCCGGGCCACGCGCG
GCATGCGCCACATCGCCCTGGGGCGAGAGGGGTCGTGGTGGGAAATGTTT
AAGTTCTTTTTCCACCGCCTCTACGACCACCAGATCGTACCGTCGACCCC
CGCCATGCTGAACCTGGGGACCCGCAACTACTACACCTCCAGCTGCTACC
TGGTAAACCCCCAGGCCACCACAAACAAGGCGACCTGCGGGCCATCACC
AGCAACGTCAGTGCCATCCTCGCCCGCAACGGGGGCATCGGGCTATGCGT
GCAGGCGTTTAAAGACTCCGGCCCCGGGACCGCCAGCGTCATGCCCGCCC
TCAAGGTCCTTGACTCGTGGTGGCGGCACAACAAGAGAGCGCGCGT
CCGACCGGCGCGTGCCTGTACCTGGAGCCGTGGCACACCGACGTGCGGGC
CGTGCTCCGGATGAAGGGGGTCTCGCCGGCGAAGAGGCCAGCGCTGCG
ACAATATCTTCAGCGCCCTCTGGATGCCAGACCTGTTTTTCAAGCGCCTG
ATTGCGCACCTGGACGGCGAGAAGAACGTACATGGACCCTGTTTCGACCG
GGACACCAGCATGTGCTCGCCGACTTTTCACGGGGAGGAGTTCGAGAAGC
TCTACCAGCACCTCGAGGTGATGGGGTTTCGGCGAGCAGATACCCATCCAG
GAGCTGGCCTATGGCATTGTGCGCAGTGGCGCCACGACCGGGAGCCCCTT
CGTCATGTTCAAAGACGCGGTGAACCGCCACTACATCTACGACACCCAGG
GGGCGGCCATCGCCGGCTCCAACCTCTGCACCGAGATCGTCCATCCGGCC
TCCAAGCGATCCAGTGGGGTCTGCAACCTGGGAAGCGTGAATCTGGCCCG
ATGCGTCTCCAGGCAGACGTTTGACTTTGGGCGGCTCCGCGACGCGCTGC
AGGCGTGCGTGCTGATGGTGAACATCATGATCGACAGCACGCTACAACCC
ACGCCCCAGTGACCCCGCGGCAACGACAACCTGCGGTCCATGGGAATCGG
CATGCAGGGCCTGCACACGGCCTGCCTGAAGCTGGGGCTGGATCTGGAGT
CTGTGCAATTTAGGACCTGAACAAACACATCGCCGAGGTGATGCTGCTG
TCGGCGATGAAGACCAGCAACGCGCTGTGCGTTTCGCGGGGGCCGTCCTT
CAACCACTTTAAGCGCAGCATGTATCGCGCCGGCCGCTTTCACTGGGAGC
GCTTTCCGGACGCCCGGCCGCGGTACGAGGGCGAGTGGGAGATGCTACGC
CAGAGCATGATGAAACACGGCCTGCGCAACAGCCAGTTTGTGCGCTGAT
GCCCACCGCCGCTCGGCGCAGATCTCGGACGTCAGCGAGGGCTTTGCCC
CCCTGTTACCAACCTGTTAGCAAGGTGACCCGGGACGGCGAGACGCTG
CGCCCCAACACGCTCCTGCTAAAGGAACTGGAACGCACGTTTAGCGGGAA
GCGCCTCCTGGAGGTGATGGACAGTCTCGACCCAAGCAGTGGTCCGTGG

10

20

30

40

50

【化 3 9】

CGCAGGCGCTCCCGTGCCTGGAGCCCACCCACCCCCTCCGGCGATTCAAG
ACCGCGTTTGACTACGACCAGAAGTTGCTGATCGACCTGTGTGCGGACCG
CGCCCCCTACGTGACCATAGCCAATCCATGACCCTGTATGTCACGGAGA
AGGCGGACGGGACCCTCCCAGCCTCCACCCTGGTCCGCCTTCTGGTCCAC
GCATATAAGCGCGGACTAAAAACAGGGATGTACTACTGCAAGGTTGCGAA
GGCGACCAACAGCGGGGTCTTTGGCGGCGACGACAACATTGTCTGCACGA
GCTGCGCGCTGTGA

配列番号50: 野生型17株におけるICP6のアミノ酸配列。

MASRPAASSPVEARAPVGGQEAGGPSAATQGEAAGAPLAHGHVYCQRVN
GVMVLSDKTPGSASYRISDSNFVQCGSNCTMIIDGDVVRGRPDGAAAS
PAPFVAVTNIGAGSDGGTAVVAFGGTPRRSAGTSTGTQTADVPTALGGP
PPPPRFTLGGGCCSCRDTRRRSAVFGGEGDPVGPAEFVSDDRSSDSDD
SEDTDSETLSHASSDVSGGATYDDALDSSSDDSLQIDGPVCRPWSNDT
APLDVCPGTPGPGADAGGPSAVDPHAPTPEAGAGLAADPAVARDDAEGLS
DPRPRLGTGTAYPVPLELTPENAEAVARFLGDAVNREPALMLEYFCRCAR
EETKRVPPTFGSPRLTEDDFGLLNIALVEMQRLCLDVPPVPPNAYMPY
YLREYVTRLVNGFKPLVSR SARLYRILGVLVHLRIRTREASFEWLRSKE
VALDFGLTERLREHEAQLVILAQALDHYDCLIHSTPHTLVERGLQSALKY
EEFYLRFGGHYMESVFQMYTRIAGFLACRATRGMRHIALGREGSWWEMF
KFFFHRLYDHQIVPSTPAMLNLGTRNYYTSSCYLVNPQATTNKATLRAIT
SNVSAILARNGGIGLCVQAFNDSGPGTASVMPALKVLDLVAAHNKESAR
PTGACVYLEPWHTDVRVLRMKGVLAGEEAQRCDNIFSALWMPDLFFKRL
IRHLDGEKNVTWTLFDRDTSMSLADFHGEEFEKLYQHLEVMGFGEQIPIQ
ELAYGIVRSAATTGSPFVMFKDAVNRHYIYDTQGAAIAGSNLC TEIVHPA
SKRSSGVCNLGSVNLARCVSRQTFDFGRLRDAVQACVLMVNIMIDSTLQP
TPQCTRGNNDNLRSMGIGMQLHTACLKLGDLDESVEFQDLNKHIAEVMLL
SAMKTSNALCVRGARPFNFHFKRSMYRAGR FHWERFPDARPRYEGEWEMLR
QSMKHLRLNSQFVALMPTAASAQISDVSEGFAPLFTNLFSKVTRDGETL
RPNTLLLKELERTFSGKRLLEVMDSLDAKQWSVAQALPCLEPTHPLRRFK
TAFDYDQKLLIDL CADRAPYVDHSQSMTLYVTEKADGTLPASTLVRLLVH
AYKRGLKTGMYCKVRKATNSGVFGDDNIVCTSCAL

10

20

30

40

50

【図面】

【図 1 A】

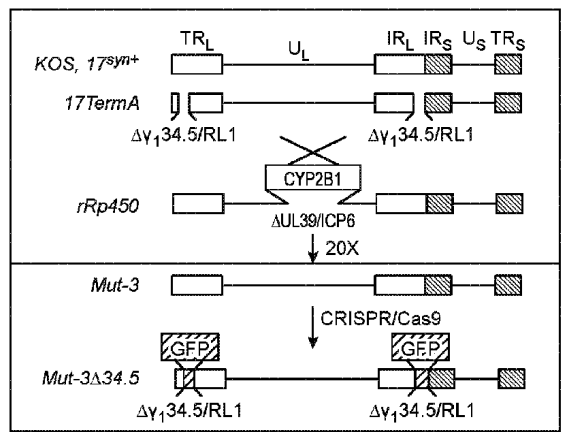


FIG. 1A

【図 1 B】

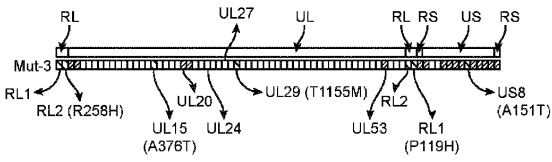


FIG. 1B

【図 2 A - 2 B】

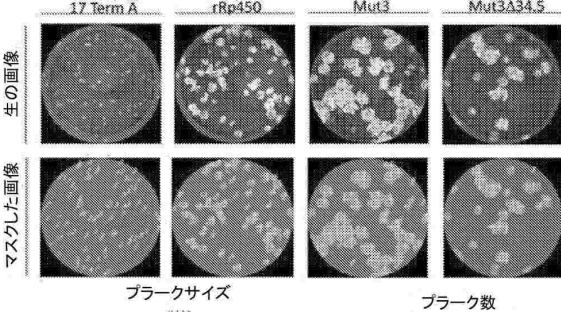


FIG. 2A

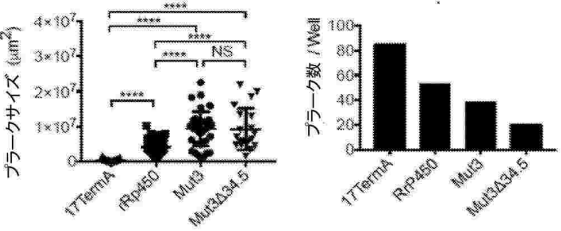


FIG. 2B

【図 2 C】

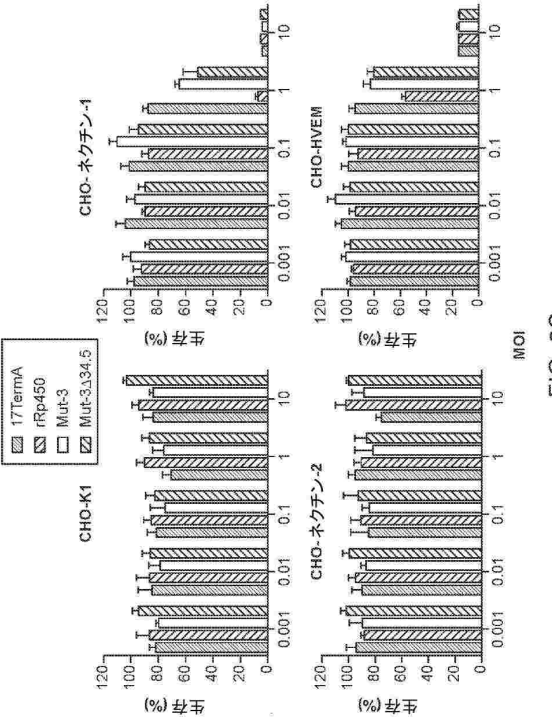


FIG. 2C

10

20

30

40

50

【図 3 A】

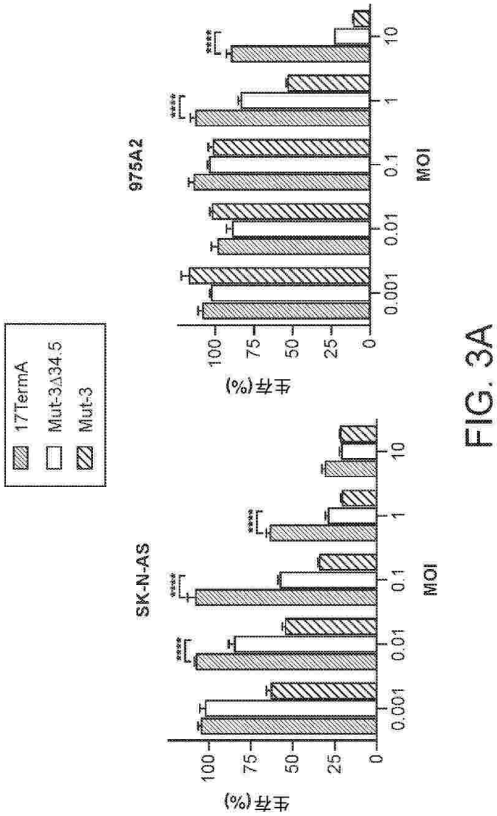


FIG. 3A

【図 3 B】

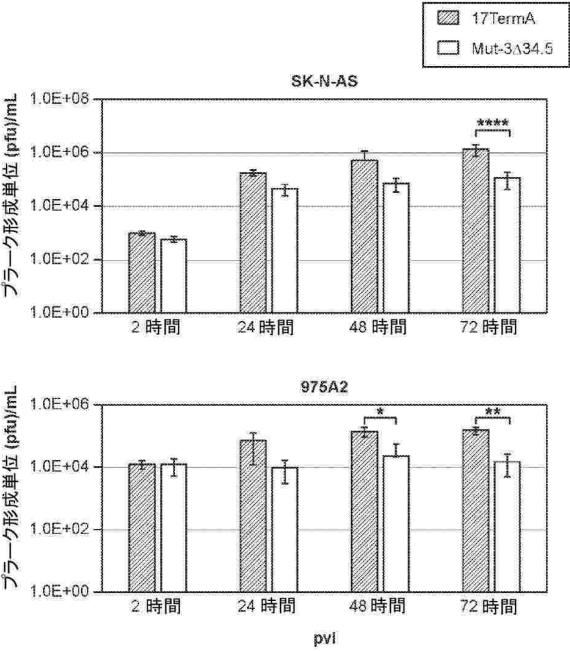


FIG. 3B

【図 3 C】

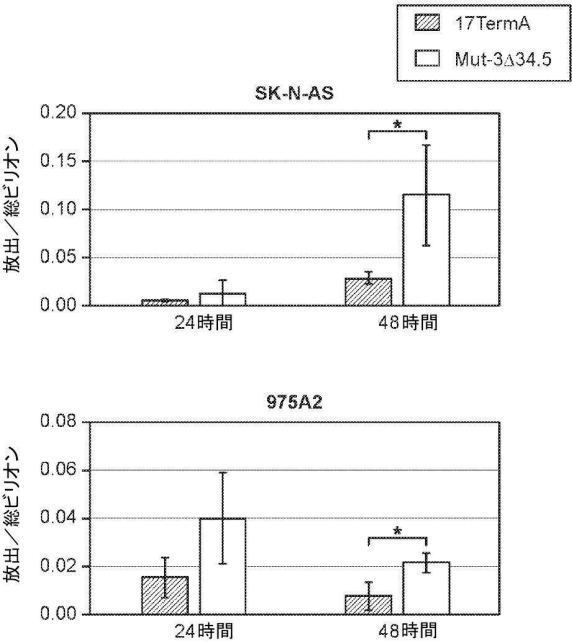
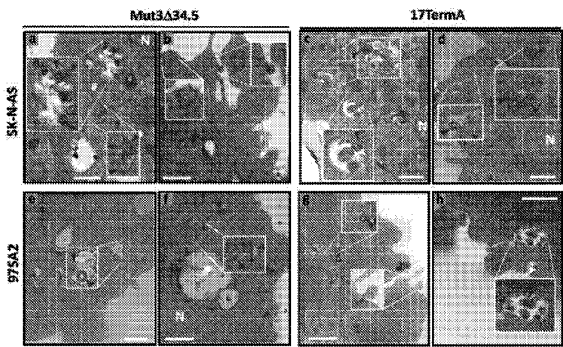


FIG. 3C

【図 4 A - 4 H】



FIGS. 4A - 4H

【図 5 A】

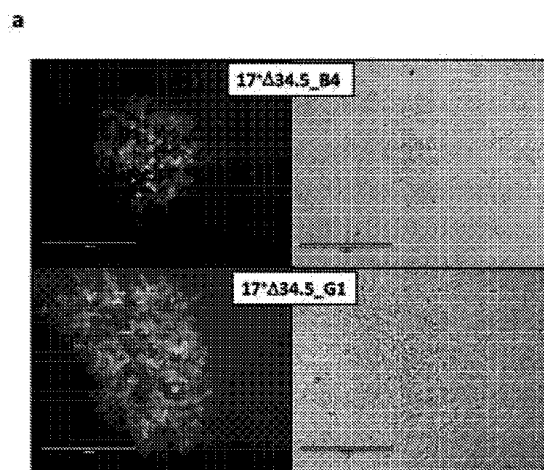


FIG. 5A

【図 5 B】

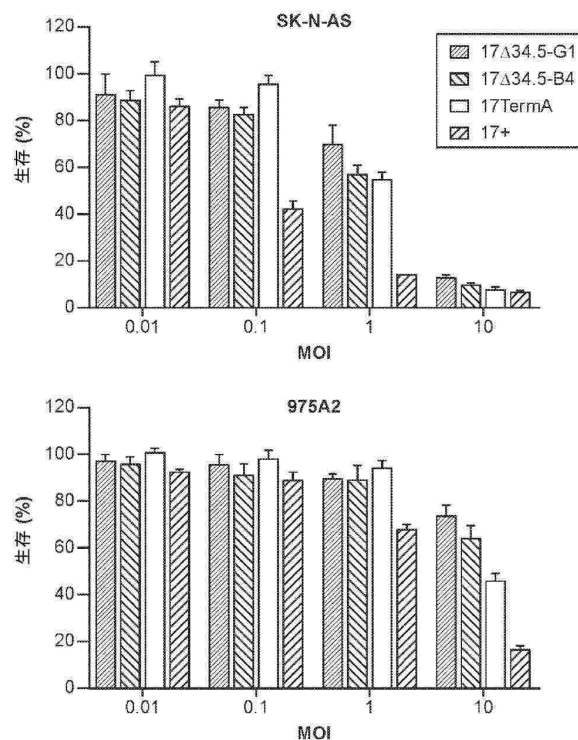


FIG. 5B

【図 5 C - 1】

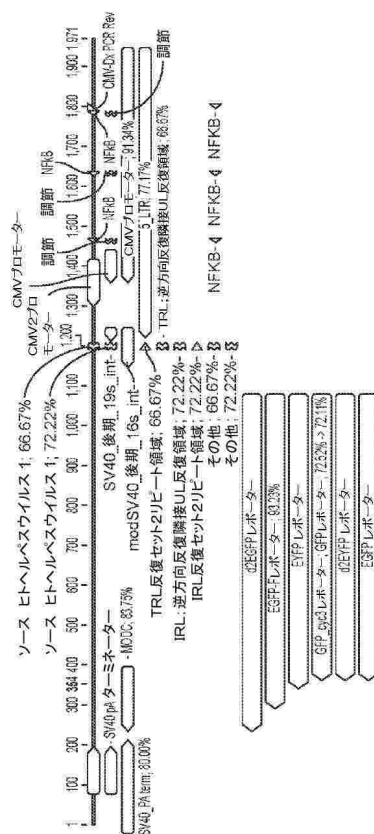


FIG. 5C

【図 5 C - 2】

EGFPカセットの配列

AACACATTAATTAATAAAACCTCCACACGCTCCCCCTGAACCTGAACATA
AAATGAATGCAATTGTTGTTGTTAACTGTTTATTGCAGCTATATAATGGT
TACAAATAAAGCAATAGCATCACAAATTCACAAATAAAGCATTTTTTTC
ACTGCATTCTAGTGTGTTGTTGTTCCAAACTCATCAATGTATCTTATCATG
TCTGCTCGAAGCGCGCCGCGCCGCGACTCTAGACTACACATTGATCCTA
GCAGAAGCACAGGCTGCAGGCGTGACGGTCCATCCCGCTCTCTGGGCACA
AGACATGGCAGCGCTGCCATCATCTGTCTCTCCACCTCCCGCGGGAAGC
CATGGCTAAGCTTCTTTTACAGCTCTGTCCATGCCGAGAGTGATCCCGCGC
GCGGTCAAGAACTCAGCAGGACCAITGTAATCGCGCTTCTCGCTTGGGGTC
TTTGCTCAGGGCGGACTGGTGCTCAGGTAGTGGTGTGCGGGCAGCAGCA
CGGGGCGCTCGCCGATGGGGGTGTTCTGCTGGTAGTGCTGCGCGAGCTGC
ACGCTCGCCGCTTCGATGTTGTGGCGGATCTTGAAGTTCACCTTGATGCC
GTTCTTCTGCTGTGCGGCATGATATAGACGTTGTGGCTGTTGTAGTTGT
ACTCCAGCTTGTGCCCCAGGATGTTGCGCTCTCTCTGAAGTCGATGCCC
TTGAGCTCGATGCGGTTCAACAGGGTGTGCGCCTCGAACTTCACCTGGCG
CGGGCTTTGTAGTTGCGCTGCTCTTGAAGAAGATGGTGCGCTCTCTGGA
CGTAACCTTCGGGCATCGCGGACTTGAAGAAGTCGTGCTGCTTCATGTG
TCGGGGTAGCGGCTAGAACCATGCGACGCGCCCTAGGTCAAGGTGTCACGAG
GGTGGGGCAGGGCACGGGACGCTTGCGCGTGGTGCAGATGAACCTCAGG

FIG. 5C (続き 1)

【図 5 C - 3】

TACAGCTTGGCGGTGGGTGGCATGGCGCTTGGCGCTCGCGCGACACGGTGAAC
TTGTGGCGGTTTAGCTCGCGGTCCAGCTCGACCGAGATGGGCACCGCGCC
GGTGAACAGCTTCCTCGCGCTTCTCTCAGCATTCGGGAATTGCGGCGCGCGG
TACAATTCGCGAGCTTTTAGAGGCAGAAATAACACTTCCGTACAGGCCCTAG
AAGTAAAGGCAACATCCACTGAGGAGCAGTTCTTTGATTTCACCCACGCAC
CGGATTCGGGAGACCTGAAATAAAAGACAAAAAGACTAAACTTACCGATTAA
CTTTCTGGTITTTTCAGTTCTCTCGAGTACCGGATCCTCTAGAGTCCGGAGG
CTGGATCGGTCCCGTGCTCTCTATGGAGETCAAAACAGCGTGGATGGG
TCTCCAGGCGATCTGACGGTTCACTAAACGAGCTCTCGCTATATAGACCT
CCCACCGTACACGGCTACCGCCCATTTGCGTCAATGGGGCGGAGTTGTTA
CGACATTTTGGAAAGTCCCGTTGATTTGGTGCCAAAACAACTCCCAT
GACGTCAATGGGGTGGAGACTTGGAATCCCGGTGAGTCAAAACCGCTATC
CAGCGCCATTGATGTACTGCCAAAACCGCATCACCATGGTAATAGCGATG
ACTAATACGTAGATGTACTGGCCAAGTAGGAAAGTCCCATAAGGTCATGG
CTGGCCTAATGCCACGAGGGGCCATTACCGTCATTGACGTCATAGAGG
CGCTACTTTGGCATGTATGATACACTGTAGTACTGCCAAGTGGGCACTTTAC
GCTAAATACTCCACCCATTGACGCTCAATGGAAGATCCCTATTGGCGTTAC
TATGGGAACATACGTCATTATTGACGTCATATGGGCGGGGGTCGTTGGCG
GTGAGCCAGGCGGGGCCATTTACCGTAAGTTATGTAAACGACCTGCGAGGCAT
GCAAGCTCGAATTGGAACACGCAGATGCACTCGGGGCGGCAGATCTTAAT
TAATGGCTGGTTGTTTGTGTGT

FIG. 5C (続き 2)

【図 7】

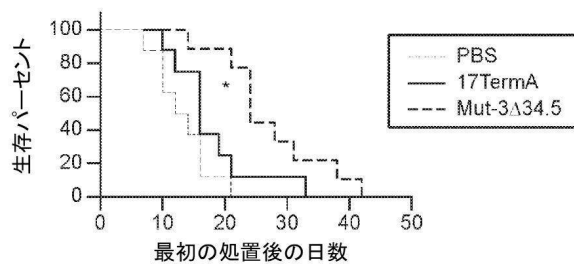
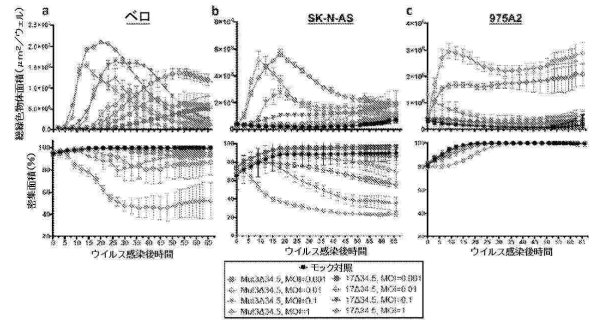


FIG. 7

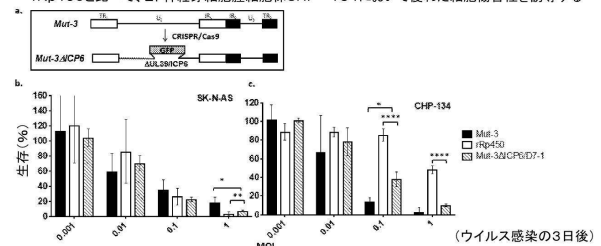
【図 6 A - 6 C】



FIGS. 6A – 6C

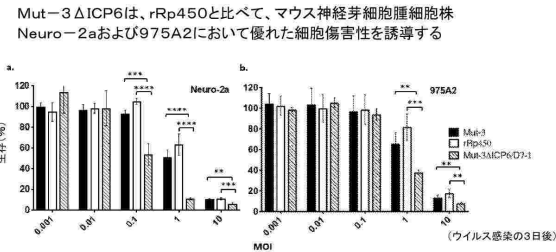
【図 8 A - 8 C】

Mut-3の弱毒化されたバージョンであるMut-3 Δ ICP6は、腫瘍溶解性ヘルペスウイルス rRp450と比べて、ヒト神経芽細胞腫細胞株CHP-134において優れた細胞傷害性を誘導する



FIGS. 8A – 8C

【図 9 A - 9 B】



FIGS. 9A - 9B

【図 10 A - 10 B】

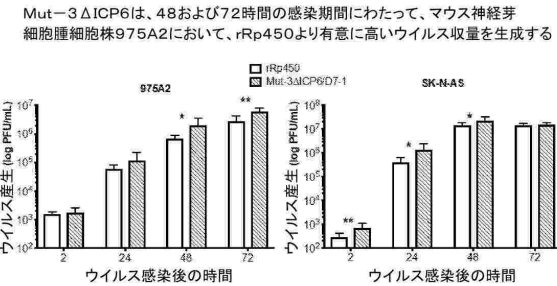


FIG. 10A

FIG. 10B

10

【図 11 A - 11 B】

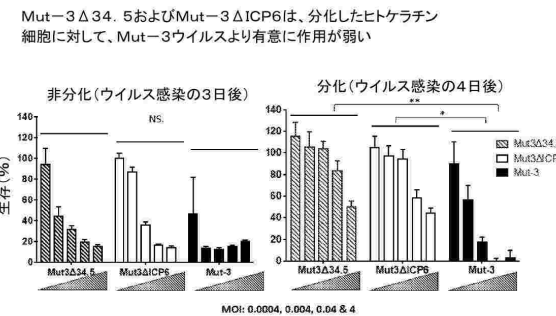


FIG. 11A

FIG. 11B

【図 12】

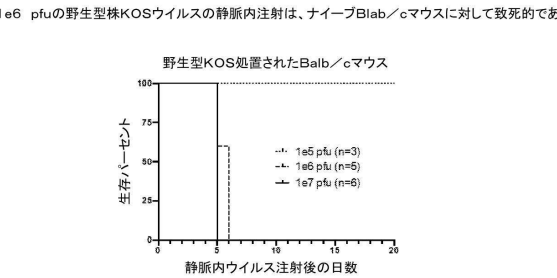
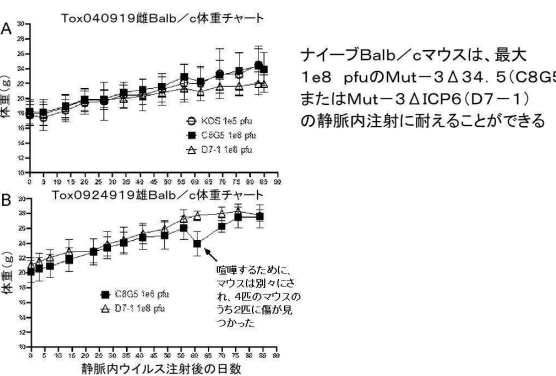


FIG. 12

20

【図 13 A - 13 B】



FIGS. 13A - 13B

【図 14】

野生型KOS	脳	心臓	腎臓	肝臓	肺	卵巣	脾臓
1e7_#1	ブランク	-	-	-	-	-	-
1e7_#2	ブランク	+	-	-	-	+	-
1e7_#3	ブランク	+	-	+	-	+	-
1e7_#4	ブランク	+	-	+	-	+	-
1e6_#1	ブランク	+	+	+	-	+	-
1e6_#2	ブランク	+	+	+	-	+	-
1e6_#3	ブランク	-	-	+	-	+	-

FIG. 14

30

40

50

【図 1 5】

ウイルス注射の24時間後		脳	心臓	腎臓	肝臓	肺	卵巣	脾臓
C8G5 (Mut3-Δ34.5)								
#1	ブラーク	-	-	+	+	-	+	-
#2	ブラーク	-	+	-	-	-	-	-
#3	ブラーク	-	+	+	-	-	-	-
#4	ブラーク	-	-	+	-	-	-	-
D7-1 (Mut3-ΔICP6)								
#1	ブラーク	+	+	+	-		+	-
#2	ブラーク	-	+	+	+	-	+	-
#3	ブラーク	+	+	+	-	-	-	-
#4	ブラーク	-	-	+	+	-	+	-

FIG. 15

【図 1 6】

ウイルス注射の14日後		脳	心臓	腎臓	肝臓	肺	卵巣	脾臓
C8G5 (Mut3-Δ34.5)								
#1	ブラーク	-	-	+	-	+	-	-
#2	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#3	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#4	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
D7-1 (Mut3-ΔICP6)								
#1	ブラーク	-	-	+	+	+	-	-
#2	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#3	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#4	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-

FIG. 16

【図 1 7】

ウイルス注射の28日後		脳	心臓	腎臓	肝臓	肺	卵巣	脾臓
C8G5 (Mut3-Δ34.5)								
#1	ブラーク	-	-					
#2	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#3	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#4	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
D7-1 (Mut3-ΔICP6)								
#1	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#2	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#3	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#4	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-

FIG. 17

【図 1 8】

ウイルス注射の56日後		脳	心臓	腎臓	肝臓	肺	卵巣	脾臓
C8G5 (Mut3-Δ34.5)								
#1	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#2	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#3	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#4	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
D7-1 (Mut3-ΔICP6)								
#1	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#2	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#3	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#4	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-

FIG. 18

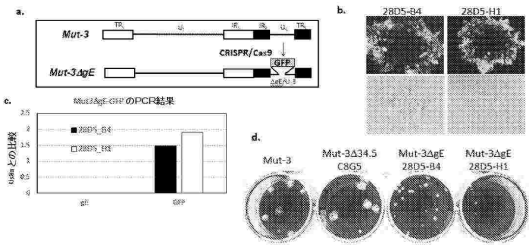
【図 1 9】

ウイルス注射の85日後		脳	心臓	腎臓	肝臓	肺	卵巣	脾臓
C8G5 (Mut3-Δ34.5)								
#1	ブラーク	-	-	-	+	+	+	-
#2	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#3	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#4	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
D7-1 (Mut3-ΔICP6)								
#1	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#2	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#3	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-
#4	ブラーク	-	-	-	-	-	-	-

FIG. 19

【図 2 0 A – 2 0 D】

Mut-3 ΔgEのブラークサイズは、Mut-3またはMut-3 Δ34. 5 (G8G5)と比較して、ずっと小さい



FIGS. 20A – 20D

10

20

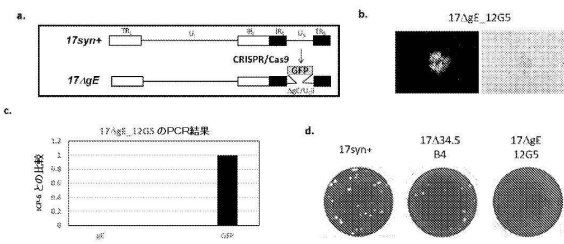
30

40

50

【図 2 1 A – 2 1 D】

17 ΔgEのブランクサイズは、17syn+または17Δ34. 5と比較して、ずっと小さい



FIGS. 21A – 21D

10

【配列表】

0007671253000001.app

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

C 1 2 N	5/10	(2006.01)	C 1 2 N	5/10	
A 6 1 K	35/76	(2015.01)	A 6 1 K	35/76	
A 6 1 P	35/00	(2006.01)	A 6 1 P	35/00	
A 6 1 P	35/02	(2006.01)	A 6 1 P	35/02	
A 6 1 P	35/04	(2006.01)	A 6 1 P	35/04	
A 6 1 P	43/00	(2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 2 1
A 6 1 K	45/00	(2006.01)	A 6 1 K	45/00	1 0 1

(33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

(74)代理人 230113332

弁護士 山本 健策

(72)発明者 クライプ, ティモシー ピー.

アメリカ合衆国 オハイオ 43205, コロンバス, チルドレンズ ドライブ 700, リサーチ インスティテュート アット ネイションワイド チルドレンズ ホスピタル 気付

(72)発明者 キャサディ, ケヴィン エー.

アメリカ合衆国 オハイオ 43205, コロンバス, チルドレンズ ドライブ 700, リサーチ インスティテュート アット ネイションワイド チルドレンズ ホスピタル 気付

(72)発明者 ワン, ピンイー

アメリカ合衆国 オハイオ 43205, コロンバス, チルドレンズ ドライブ 700, リサーチ インスティテュート アット ネイションワイド チルドレンズ ホスピタル 気付

(72)発明者 ハーリー, ジュリア ケー.

アメリカ合衆国 オハイオ 43205, コロンバス, チルドレンズ ドライブ 700, リサーチ インスティテュート アット ネイションワイド チルドレンズ ホスピタル 気付

審査官 坂崎 恵美子

(56)参考文献 国際公開第2005/005637 (WO, A2)

特表2003-505103 (JP, A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

C12N 7/01

C12N 15/869

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)