

(19)日本国特許庁(JP)

(12)公表特許公報(A)

(11)公表番号

特表2023-540052

(P2023-540052A)

(43)公表日 令和5年9月21日(2023.9.21)

(51)国際特許分類	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/11 (2006.01)	C 1 2 N 15/11	Z Z N A 4 B 0 6 3
C 1 2 N 15/113 (2010.01)	C 1 2 N 15/113	Z 4 C 0 8 4
C 0 7 K 14/005 (2006.01)	C 0 7 K 14/005	4 C 0 8 5
C 0 7 K 14/435 (2006.01)	C 0 7 K 14/435	4 C 0 8 6
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00	4 H 0 4 5
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全97頁) 最終頁に続く		

(21)出願番号 特願2023-513671(P2023-513671)
 (86)(22)出願日 令和3年8月25日(2021.8.25)
 (85)翻訳文提出日 令和5年4月21日(2023.4.21)
 (86)国際出願番号 PCT/PT2021/050028
 (87)国際公開番号 WO2022/045912
 (87)国際公開日 令和4年3月3日(2022.3.3)
 (31)優先権主張番号 2013466.4
 (32)優先日 令和2年8月27日(2020.8.27)
 (33)優先権主張国・地域又は機関 英国(GB)
 (81)指定国・地域 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA, RW,SD,SL,ST,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR, GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC, 最終頁に続く

(71)出願人 511115734
 インスティテュート デ メディシナ モ
 レキュラー ジョアオ ロボ アントゥネス
 Instituto de Medici
 na Molecular Joao L
 obo Antunes
 ポルトガル共和国1649-028リス
 ボン、アベニーダ・プロフェッソール・エ
 ガス・モニス、ユニベルシダードゥ・
 デ・リスボア、ファクルダードゥ・デ・
 メディシナ
 Faculdade de Medici
 na, Universidade de
 Lisboa, Avenida pro
 fessor Egas Moniz, 1 最終頁に続く

(54)【発明の名称】 遺伝子構築物

(57)【要約】

本発明は、少なくとも1つのマイクロRNA標的部
 位を含む遺伝子構築物、およびそのような構築物を含むベ
 クターに関する。遺伝子構築物およびベクターは、がん
 、例えばT細胞急性リンパ性白血病(T-ALL)を含
 む、様々な障害の診断および治療に使用され得る。

【選択図】図2

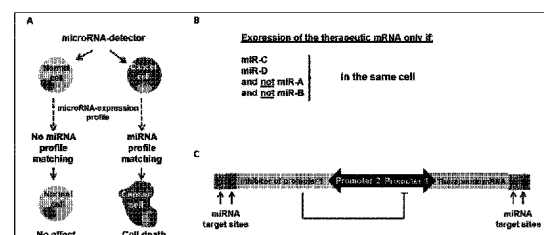


Figure 2

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

(i) 治療上活性な分子またはレポーター分子をコードする第 1 の核酸配列に作動可能に連結された第 1 のプロモーターであって、第 1 の核酸配列は少なくとも 1 つのマイクロ RNA (miRNA) 標的部位を含む、第 1 のプロモーター、ならびに

(ii) 第 1 のプロモーターの阻害剤および／または治療上活性な分子もしくはレポーター分子をコードする第 2 の核酸配列に作動可能に連結された第 2 のプロモーターであって、第 2 の核酸配列は少なくとも 1 つの miRNA 標的部位を含み、第 1 および第 2 の核酸配列の少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は異なる、第 2 のプロモーター、を含む遺伝子構築物。

10

【請求項 2】

第 2 の核酸配列の少なくとも 1 つの miRNA 標的部位が、第 1 の核酸配列の少なくとも 1 つの miRNA 標的部位を標的とすることができる miRNA と異なる miRNA の標的部位である、請求項 1 に記載の遺伝子構築物。

【請求項 3】

第 1 の核酸配列が、少なくとも 1 つの miRNA 標的部位もしくは miRNA 標的部位の種、少なくとも 2 つの miRNA 標的部位もしくは miRNA 標的部位の種、少なくとも 3 つの miRNA 標的部位もしくは miRNA 標的部位の種、少なくとも 4 つの miRNA 標的部位もしくは miRNA 標的部位の種、または少なくとも 5 つの miRNA 標的部位もしくは miRNA 標的部位の種を含み、

20

場合により、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 1 つのコピー、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 2 つのコピー、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 3 つのコピー、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 4 つのコピー、またはそれぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 5 つのコピー、または miRNA 標的部位の種が存在する、

請求項 1 または請求項 2 のいずれかに記載の遺伝子構築物。

【請求項 4】

第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位が、疾患細胞で発現されない miRNA の標的部位である、請求項 1 から 3 のいずれかに記載の遺伝子構築物。

【請求項 5】

疾患細胞ががん細胞であり、場合により疾患細胞が T 細胞急性リンパ性白血病 (T-ALL) 細胞である、請求項 4 に記載の遺伝子構築物。

30

【請求項 6】

第 2 の核酸配列が、少なくとも 1 つの miRNA 標的部位もしくは miRNA 標的部位の種、少なくとも 2 つの miRNA 標的部位もしくは miRNA 標的部位の種、少なくとも 3 つの miRNA 標的部位もしくは miRNA 標的部位の種、少なくとも 4 つの miRNA 標的部位もしくは miRNA 標的部位の種、または少なくとも 5 つの miRNA 標的部位もしくは miRNA 標的部位の種を含み、

場合により、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 1 つのコピー、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 2 つのコピー、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 3 つのコピー、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 4 つのコピー、またはそれぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 5 つのコピー、または miRNA 標的部位の種が存在する、

40

請求項 1 から 5 のいずれかに記載の遺伝子構築物。

【請求項 7】

第 2 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位が、疾患細胞で発現される miRNA の標的部位である、請求項 1 から 6 のいずれかに記載の遺伝子構築物。

【請求項 8】

レポーター分子が、光学レポーター、核医学レポーター、または MRI レポーターである、請求項 1 から 7 のいずれかに記載の遺伝子構築物。

50

【請求項 9】

治療上活性な分子が治療用タンパク質および／または核酸である、請求項 1 から 8 のいずれかに記載の遺伝子構築物。

【請求項 10】

核酸が DNA、RNA またはキメラ DNA／RNA 分子である、請求項 9 に記載の遺伝子構築物。

【請求項 11】

治療用タンパク質が、エンドヌクレアーゼ、キメラ抗原受容体、ウイルスタンパク質およびアポトーシス駆動タンパク質からなる群から選択される、請求項 1 から 9 のいずれか一項に記載の遺伝子構築物。

10

【請求項 12】

治療用タンパク質が、Bax、Apoptin、E4orf4 および Bim からなる群から選択されるアポトーシス駆動タンパク質である、請求項 11 に記載の遺伝子構築物。

【請求項 13】

治療用タンパク質が Bax であり、配列番号 16 に実質的に記載されているようなアミノ酸配列、またはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片、を含むまたはそれらからなる、請求項 12 に記載の遺伝子構築物。

【請求項 14】

治療用タンパク質が Apoptin であり、配列番号 18 に実質的に記載されているようなアミノ酸配列、またはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる、請求項 12 に記載の遺伝子構築物。

20

【請求項 15】

治療用タンパク質が E4orf4 であり、配列番号 20 に実質的に記載されているような配列、またはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる、請求項 12 に記載の遺伝子構築物。

【請求項 16】

治療用タンパク質が Bim であり、配列番号 25 に実質的に記載されているような配列、またはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる、請求項 12 に記載の遺伝子構築物。

【請求項 17】

第 2 のプロモーターが、第 1 のプロモーターに対して構築物中で反対方向に配置される、請求項 1 から 16 のいずれかに記載の遺伝子構築物。

30

【請求項 18】

第 2 の核酸配列によってコードされる阻害剤が第 1 のプロモーターの阻害剤であり、第 1 のプロモーターの阻害剤が Lac オペロンであり、第 2 の核酸配列が Lac リプレッサーを含み、および第 1 のプロモーターが Lac オペレーター制御因子部位を含む、請求項 1 から 17 のいずれかに記載の遺伝子構築物。

【請求項 19】

遺伝子構築物が、配列番号 5、22 から 24、27、もしくは 78 から 82 のいずれか 1 つに実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む、請求項 1 から 18 のいずれかに記載の遺伝子構築物。

40

【請求項 20】

請求項 1 から 19 のいずれかに記載の遺伝子構築物を含む、組換えベクター。

【請求項 21】

治療に使用するための、請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の遺伝子構築物、または請求項 20 に記載のベクター。

【請求項 22】

がんの処置、予防または改善に使用するための、請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の遺伝子構築物、または請求項 20 に記載のベクター。

【請求項 23】

50

請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の遺伝子構築物、または請求項 20 に記載のベクター、および場合により薬学的に許容されるビヒクル、を含む医薬組成物。

【請求項 24】

診断に使用するための、請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の遺伝子構築物、または請求項 20 に記載のベクター。

【請求項 25】

がんの診断に使用するための、請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の遺伝子構築物、または請求項 20 に記載のベクター。

【請求項 26】

診断または予知の方法であって、対象から得られた試料において、請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の遺伝子構築物のレポーター分子、または請求項 20 に記載のベクターを検出するステップを含む方法。

10

【請求項 27】

対象のがんを診断または予知する方法であって、対象から得られた試料において、請求項 1 から 19 のいずれか一項に記載の遺伝子構築物のレポーター分子、または請求項 20 に記載のベクターを検出するステップを含む方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、遺伝子構築物およびベクターに関する。本発明は、遺伝子構築物およびベクターを含む医薬組成物、ならびに診断および治療において遺伝子構築物およびベクターを使用する方法にも及ぶ。本発明は、特に、排他的ではないが、T細胞急性リンパ性白血病（T-ALL）の診断および治療に関する。

20

【背景技術】

【0002】

ここ数十年の間に、様々な障害の分子生物学的な知識と理解が著しく深まった。このため、がんなどの状態の治療や診断において、遺伝子に基づくアプローチの利用が増加し、より正確な状態の処置が可能になるとともに、診断の特異度が高まり、通常では発見されないような疾患のサブセットの同定が可能になった。

【0003】

がん研究の熱心な取り組みにより、がん発症のメカニズムがより深く理解されるようになった。その結果、がん治療に対する考え方が変わり、標的特異的な薬剤の探索と開発が行われるようになった（1）。しかしながら、このような変化にもかかわらず、がん患者は依然として非特異的な細胞傷害性薬剤によって処置されることが主流である。がんドライバーの多くが知られているにもかかわらず、これらの遺伝子を標的とすることは非常に困難であった。これらの遺伝子の多くが正常な組織において重要な機能を有していることを考えると、正常な細胞に大きな毒性を与えることなく、これらの遺伝子を標的とすることは困難である。そのため、代替治療法の開発が急務となっている。

30

【0004】

T-ALLは、中枢神経系への浸潤など予後不良因子を伴うことが多い攻撃的な血液系悪性腫瘍である。T-ALLは、小児および成人の急性リンパ性白血病のそれぞれ15%および25%を占め（2）、T-ALL患者の転帰は近年改善されているものの、耐性または再発した疾患を有する患者の予後は依然として非常に不良である（3、4）。現在、既存の治療法では奏効率が低く、毒性も高いことから、より特異的で効果的な治療戦略を開発する必要性が強調されている（3）。

40

【0005】

マイクロRNA（miR）は、22ヌクレオチド程度の小さな非コードRNAであり、通常は標的mRNAの3'UTRにある相補的な配列に結合することにより（6）、遺伝子発現を転写後に調節する（5）（図1参照）。マイクロRNAは、いくつかの生物学的プロセスだけでなく、がんを含むヒトの疾患も制御している（5）。さらに機能研究は、

50

マイクロRNAが腫瘍抑制因子またはがん遺伝子として作用し、腫瘍形成に関与することを示している（7）。

【0006】

重要なことに、プロファイリング研究は、いくつかのマイクロRNAが組織／細胞特異的に発現されることを示している（8、9）。このような組織／細胞型に特異的なマイクロRNAの発現を利用して、導入遺伝子発現をネガティブに制御することが行われている。特定のマイクロRNAによって認識される人工的な配列を導入遺伝子に付加することで、その転写後サイレンシングを誘導する。この概念はBrownらによって初めて開発された（10）。造血細胞特異的なマイクロRNAの標的配列を組み込んだ導入遺伝子発現レンチウイルスベクターを構築することで、非造血細胞での導入遺伝子の発現を可能にし、造血系での発現を抑制するシステムを構築した。最近、この戦略は、治療用遺伝子導入のためのさまざまな疾患状況で検討されている（11～13）。

10

【0007】

がんにおいても、マイクロRNAの発現プロファイルは、腫瘍と正常細胞を区別し、異なる発生起源と分化状態を有する腫瘍を識別することが示されている（8、9、14、15）。そのため、本発明者らは、T-ALL特異的マイクロRNA発現プロファイルを利用することに着手し、いわゆるマイクロRNA「検出器システム」として動作する組換え遺伝子構築物を開発した。この遺伝子構築物は、第一に、マイクロRNAプロファイルを用いて、患者におけるがん性または腫瘍性のT-ALL細胞を同定し、白血病細胞を患者の正常な健康細胞と区別することができ、第二に、健康細胞ではなくT-ALL細胞のみにおける治療用遺伝子（例えば、腫瘍細胞死を引き起こすタンパク質をコードするアポトーシス誘導遺伝子）またはマーカー遺伝子（例えば、タンパク質マーカーをコードするレポーター遺伝子）の発現を調節することができる。

20

【発明の概要】

【0008】

したがって、本発明の第1の態様では、

（i）治療上活性な分子またはレポーター分子をコードする第1の核酸配列に作動可能に連結された第1のプロモーターであって、第1の核酸配列は少なくとも1つのマイクロRNA（miRNA）標的部位を含む、第1のプロモーター、ならびに

（ii）第1のプロモーターの阻害剤および／または治療上活性な分子もしくはレポーター分子をコードする第2の核酸配列に作動可能に連結された第2のプロモーターであって、第2の核酸配列は少なくとも1つのmiRNA標的部位を含み、第1および第2の核酸配列の少なくとも1つのmiRNA標的部位は異なる、第2のプロモーター、を含む遺伝子構築物が提供される。

30

【0009】

有利なことに、本発明の構築物は、腫瘍の状況において、患者の不健康な細胞を標的として殺すために、特異的な所定のマイクロRNAプロファイルを利用する。患者の細胞内で発現させた場合、構築物はその細胞が不健康な細胞であるかどうかを決定し、この場合細胞死を誘導する、またはその細胞が健康な細胞であるかどうかを決定し、この場合細胞死を誘導しない。したがって、不健康な細胞内での特定のマイクロRNAの発現と構築物との間の正の一致は、治療用遺伝子を標的細胞に送達し、その死を誘導する結果となる（図2Aに示す）。患者の体内で不健康な細胞と健康な細胞を区別する構築物の内因性の能力は、高精度腫瘍学の有用なツールである本技術の特徴であり、患者に最良の有効性と安全性の結果を提供するため、先行技術に対する大きな利点である。実際、本発明の構築物は、標準的な遺伝子治療技術に付随した特異性の欠如を効果的に回避する可能性を有する。

40

【0010】

さらに、本発明の構築物を用いれば、たった1つのベクターを用いて、治療上活性な分子を高い特異性と効率で送達することができる。加えて、1つの構築物（すなわち、本発明の構築物）のみが標的細胞に送達され、それにより、（i）治療上活性な分子またはレ

50

ポーター分子、および (i i) 第 1 のプロモーターの阻害剤および／または治療上活性な分子またはレポーター分子、の共局在化が確実になる。これは、複数の構築物を使用し、同じ細胞への共送達を確実にする場合と比較して、著しく低い用量の構築物が投与に必要なことを意味する。加えて、この単一の構築物は、治療用分子の発現を駆動するための外部因子または合図による誘導を必要としない。このように、本発明の構築物は、より単純でより効果的なシステムとなるため、先行技術に対して著しく有利である。

【0011】

好ましくは、第 2 の核酸配列の少なくとも 1 つの miRNA 標的部位が、第 1 の核酸配列の少なくとも 1 つの miRNA 標的部位を標的とすることができる miRNA と異なる miRNA の標的部位である。

10

【0012】

したがって、本発明の構築物は、第 1 のプロモーターおよび第 1 の核酸配列を含む第 1 の発現カセット、ならびに第 2 のプロモーターおよび第 2 の核酸配列を含む第 2 の発現カセットを含むことが理解されるであろう。

【0013】

第 1 の核酸配列は、2 つ以上の miRNA 標的配列の種またはタイプを含んでいてもよいことが理解されるであろう。

好ましくは、第 1 の核酸配列は、少なくとも 1 つの miRNA 標的部位（または少なくとも 1 つの miRNA 標的部位の種）を含む。好ましくは、第 1 の核酸配列は、少なくとも 2 つの miRNA 標的部位（または少なくとも 2 つの miRNA 標的部位の種）を含む。好ましくは、第 1 の核酸配列は、少なくとも 3 つの miRNA 標的部位（または少なくとも 3 つの miRNA 標的部位の種）を含む。好ましくは、第 1 の核酸配列は、少なくとも 4 つの miRNA 標的部位（または少なくとも 4 つの miRNA 標的部位の種）を含む。好ましくは、第 1 の核酸配列は、少なくとも 5 つの miRNA 標的部位（または少なくとも 5 つの miRNA 標的部位の種）を含む。好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する miRNA 標的部位は、異なる miRNA の種の標的部位である。第 1 の核酸配列に存在する miRNA 標的部位が多ければ多いほど、遺伝子発現はより堅固に制御されることになる。しかしながら、構築物が適切に機能するためには、第 1 および第 2 の核酸配列が異なる miRNA の標的部位であることを条件として、第 1 および第 2 の核酸配列のそれぞれに最低 1 つのみの miRNA 標的部位が必要であることが理解されるであろう。

20

30

【0014】

それぞれの miRNA 標的部位の 2 つ以上のコピーが存在してもよく、すなわちそれぞれの miRNA 標的部位種が標的部位の少なくとも 1 つの重複を含んでいてもよいことが理解されるであろう。したがって、好ましくは、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 1 つのコピー、すなわちそれぞれの種が存在する。好ましくは、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 2 つのコピー、すなわちそれぞれの種が存在する。好ましくは、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 3 つのコピー、すなわちそれぞれの種が存在する。好ましくは、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 4 つのコピー、すなわちそれぞれの種が存在する。好ましくは、それぞれの miRNA 標的部位の少なくとも 5 つのコピー、すなわちそれぞれの種が存在する。

40

【0015】

好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、健康な細胞と比較した場合、疾患細胞において発現が欠如または減少または下方調節されている miRNA の標的部位である。

【0016】

健康な細胞と比較した場合、がん細胞において特異的に欠如または減少する miRNA の同定は、以下の基準を前提として、がん細胞と健康な細胞との間の示差発現 miRNA を解析することにより得ることができる。

【0017】

1) 高発現グループの 5、10、15、20、25、30 または 35 パーセントイルが

50

、低発現グループの60、65、70、75、80、85、90または95パーセントイルより高く、好ましくは高発現グループの25パーセントイルが低発現グループの75パーセントイルより高く、および

2) miRNAは、分析したすべての健康な試料の少なくとも60%、65%、75%、80%、85%、90%または95%に対して発現値を有する。好ましくは、miRNAは、分析したすべての健康な試料の少なくとも75%について発現値を有する。

【0018】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、疾患細胞では発現しないか、または非常に低いもしくは検出できないレベルのmiRNAの標的部位である。好ましくは、第1の核酸に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、健康な細胞で特異的に発現されるmiRNAの標的部位である。好ましくは、第1の核酸に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、健康な細胞でのみ実質的に発現されるmiRNAの標的部位である。好ましくは、第1の核酸に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、健康な細胞で広範に発現されるmiRNAの標的部位である。

10

【0019】

疾患細胞における下方調節されたまたは減少したmiRNA発現は、健康な細胞で生じるよりも少なくとも5%、10%、15%または20%少ないと考えられる場合がある。好ましくは、疾患細胞における下方調節されたまたは減少したmiRNA発現は、健康な細胞で生じるよりも少なくとも25%、30%、35%または40%少ないと考えられる場合がある。好ましくは、疾患細胞における下方調節されたまたは減少したmiRNA発現は、健康な細胞で生じるよりも少なくとも50%、55%、60%または65%少ないと考えられる場合がある。好ましくは、疾患細胞における下方調節されたまたは減少したmiRNA発現は、健康な細胞で生じるよりも少なくとも70%、75%、80%または85%少ないと考えられる場合がある。好ましくは、疾患細胞における下方調節されたまたは減少したmiRNA発現は、健康な細胞で生じるよりも少なくとも90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%少ないと考えられる場合がある。

20

【0020】

好ましくは、疾患細胞は、がん細胞である。より好ましくは、疾患細胞は、T細胞急性リンパ性白血病(T-ALL)細胞である。例示にすぎないが、miRNA153、miRNA128a、miR-3687、miR-92a-2-5p、miR-20b-3p、miR-6087、miR-106a-3p、miR-7704、miR-5701、miR-766-5p、miR-3609、miR-3615、および／またはmiR-4746-5pはT-ALL細胞において上方調節され(すなわち、健康な細胞よりも高い発現レベル)、一方、miRNA29a、miRNA149、miR-539-5p、miR-487a-3p、miR-655-3p、miR-411-3p、miR-377-5p、miR-337-5p、miR-31-3p、miR-214-5p、miR-1185-5p、miR-483-5p、miR-365a-3p、miR-127-3p、miR-574-3p、および／またはmiR-125b-5pはT-ALL細胞において下方調節されている(すなわち、健康な細胞よりも低い発現レベル)。

30

40

【0021】

好ましくは、したがって、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miRNA29a、miRNA149、miR-539-5p、miR-487a-3p、miR-655-3p、miR-411-3p、miR-377-5p、miR-337-5p、miR-31-3p、miR-214-5p、miR-1185-5p、miR-483-5p、miR-365a-3p、miR-127-3p、miR-574-3p、および／またはmiR-125b-5p標的部位を含む。好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miRNA29a、miRNA149、miR-539-5p、miR-487a-3p、miR-655-3p、miR-411-3p、miR-377-5p、miR-337-5p、miR-31-3p、miR-214-5p、miR-1185-5p、miR-483-5p、miR-365a-3p、miR-127-3p、miR-574-3p、および／またはmiR-125b-5p標的部位を含む。

50

1-3 p、miR-214-5 p、miR-1185-5 p、miR-483-5 p、miR-365a-3 p、miR-127-3 p、miR-574-3 p、およびmiR-125b-5 p 標的部位のそれぞれの少なくとも1、2、3、4または5コピーを含む。より好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miRNA29a、miRNA149、miR-539-5 p、miR-487a-3 p、miR-655-3 p、miR-411-3 p、miR-377-5 p、miR-337-5 p、miR-31-3 p、miR-214-5 p、miR-1185-5 p、miR-483-5 p、miR-365a-3 p、miR-127-3 p、miR-574-3 p、およびmiR-125b-5 p 標的部位のそれぞれの4コピーを含む。

【0022】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miRNA29a 標的部位を含み、以下のように、配列番号1として本明細書に提供される。

TAACCGATTTCAGATGGTGCTA

【配列番号1】

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号1に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiRNA29a 標的部位を含む。

【0023】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR149 標的部位を含み、以下のように、配列番号2として本明細書に提供される。

GGGAGTGAAGACACGGAGCCAGA

【配列番号2】

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号2に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR149 標的部位を含む。

【0024】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-539-5 p 標的部位を含み、以下のように、配列番号28として本明細書に提供される。

ACACACCAAGGATAATTTCTCC

【配列番号28】

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号28に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-539-5 p 標的部位を含む。

【0025】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-487a-3 p 標的部位を含み、以下のように、配列番号29として本明細書に提供される。

AACTGGATGTCCTGTATGATT

【配列番号29】

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号29に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-487a-3 p 標的部位を含む。

【0026】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-655-3 p 標的部位を含み、以下のように、配列番号30として本明細書に提供される。

AAAGAGGTTAACCATGTATTAT

【配列番号30】

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的

10

20

30

40

50

部位は、配列番号 30 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる miR-655-3p 標的部位を含む。

【0027】

好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、miR-411-3p 標的部位を含み、以下のように、配列番号 31 として本明細書に提供される。

GGTTAGTGGACCGTGTTACATA

[配列番号 31]

したがって、好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、配列番号 31 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる miR-411-3p 標的部位を含む。

10

【0028】

好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、miR-377-5p 標的部位を含み、以下のように、配列番号 32 として本明細書に提供される。

GAATTCACCAAGGGCAACCTCT

[配列番号 32]

したがって、好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、配列番号 32 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる miR-377-5p 標的部位を含む。

20

【0029】

好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、miR-337-5p 標的部位を含み、以下のように、配列番号 33 として本明細書に提供される。

AACTCCTGTATGAAGCCGTTTC

[配列番号 33]

したがって、好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、配列番号 33 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる miR-337-5p 標的部位を含む。

30

【0030】

好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、miR-31-3p 標的部位を含み、以下のように、配列番号 34 として本明細書に提供される。

ATGGCAATATGTTGGCATAGCA

[配列番号 34]

したがって、好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、配列番号 34 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる miR-31-3p 標的部位を含む。

【0031】

好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、miR-214-5p 標的部位を含み、以下のように、配列番号 35 として本明細書に提供される。

40

GCACAGCAAGTGTAGACAGGCA

[配列番号 35]

したがって、好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、配列番号 35 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる miR-214-5p 標的部位を含む。

【0032】

好ましくは、第 1 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの miRNA 標的部位は、miR-1185-5p 標的部位を含み、以下のように、配列番号 36 として本明細書に提供

50

される。

AACATACAAAGGGTATCCTCT

[配列番号 36]

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号36に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-1185-5p標的部位を含む。

【0033】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-483-5p標的部位を含み、以下のように、配列番号37として本明細書に提供される。

CTCCCTTCTTTCTCCCGTCTT

[配列番号 37]

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号37に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-483-5p標的部位を含む。

【0034】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-365a-3p標的部位を含み、以下のように、配列番号38として本明細書に提供される。

CACATCTGCCCCCAAAGTCCCT

[配列番号 38]

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号38に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-365a-3p標的部位を含む。

【0035】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-127-3p標的部位を含み、以下のように、配列番号39として本明細書に提供される。

AGCCAAGCTCAGACGGATCCGA

[配列番号 39]

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号39に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-127-3p標的部位を含む。

【0036】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-574-3p標的部位を含み、以下のように、配列番号40として本明細書に提供される。

TGTGGGTGTGTGCATGAGCGTG

[配列番号 40]

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号40に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-574-3p標的部位を含む。

【0037】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-125b-5p標的部位を含み、以下のように、配列番号41として本明細書に提供される。

TCACAAGTTAGGGTCTCAGGGA

[配列番号 41]

したがって、好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号41に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-125b-5p標的部位を含む。

10

20

30

40

50

くは断片を含む、またはそれらからなるmiR-125b-5p標的部位を含む。

【0038】

好ましくは、第1の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号1、2、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、および／または41、またはそのバリエーションもしくは断片を含む。一部の実施形態では、第1の核酸配列は、追加のmiRNA標的部位および／またはそれぞれのmiRNA標的部位の2つ以上のコピーを含んでいてもよい。

【0039】

一実施形態では、miRNA29aは、miR ID番号MIMAT0000086によって表される。miRNA29aの配列は、本明細書において、以下のように配列番号6として提供される場合がある。

UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA

〔配列番号6〕

したがって、好ましくは、miRNA29aは、配列番号6に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0040】

一実施形態では、miRNA149は、miR ID番号MIMAT0000450によって表される。miRNA149の配列は、本明細書において、以下のように配列番号7として提供される場合がある。

UCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCC

〔配列番号7〕

したがって、好ましくは、miRNA149は、配列番号7に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0041】

一実施形態では、miR-539-5pは、miR ID番号MIMAT0003163によって表される。miR-539-5pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号42として提供される場合がある。

GGAGAAAUUAUCCUUGGUGUGU

〔配列番号42〕

したがって、好ましくは、miR-539-5pは、配列番号42に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0042】

一実施形態では、miR-487a-3pは、miR ID番号MIMAT0002178によって表される。miR-487a-3pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号43として提供される場合がある。

AAUCAUACAGGGACAUCAGUU

〔配列番号43〕

したがって、好ましくは、miR-487a-3pは、配列番号43に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0043】

一実施形態では、miR-655-3pは、miR ID番号MIMAT0003331によって表される。miR-655-3pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号44として提供される場合がある。

AUAAUACAUGGUUAACCUUUU

〔配列番号44〕

したがって、好ましくは、miR-655-3pは、配列番号44に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0044】

一実施形態では、miR-411-3pは、miR ID番号MIMAT000481

10

20

30

40

50

3によって表される。miR-411-3pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号45として提供される場合がある。

UAUGUAACACGGUCCACUAACC

[配列番号45]

したがって、好ましくは、miR-411-3pは、配列番号45に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0045】

一実施形態では、miR-377-5pは、miR ID番号MIMAT0004689によって表される。miR-377-5pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号46として提供される場合がある。

AGAGGUUGCCCUUGGUGAAUUC

[配列番号46]

したがって、好ましくは、miR-377-5pは、配列番号46に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0046】

一実施形態では、miR-337-5pは、miR ID番号MIMAT0004695によって表される。miR-337-5pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号47として提供される場合がある。

GAACGGCUUCAUACAGGAGUU

[配列番号47]

したがって、好ましくは、miR-337-5pは、配列番号47に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0047】

一実施形態では、miR-31-3pは、miR ID番号MIMAT0004504によって表される。miR-31-3pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号48として提供される場合がある。

UGCUAUGCCAACAUAUUGCCAU

[配列番号48]

したがって、好ましくは、miR-31-3pは、配列番号48に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0048】

一実施形態では、miR-214-5pは、miR ID番号MIMAT0004564によって表される。miR-214-5pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号49として提供される場合がある。

UGCCUGUCUACACUUGCUGUGC

[配列番号49]

したがって、好ましくは、miR-214-5pは、配列番号49に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0049】

一実施形態では、miR-1185-5pは、miR ID番号MIMAT0005798によって表される。miR-1185-5pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号50として提供される場合がある。

AGAGGAUACCCUUUGUAUGUU

[配列番号50]

したがって、好ましくは、miR-1185-5pは、配列番号50に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0050】

一実施形態では、miR-483-5pは、miR ID番号MIMAT0004761によって表される。miR-483-5pの配列は、本明細書において、以下のように

10

20

30

40

50

配列番号 5 1 として提供される場合がある。

AAGACGGGAGGAAAGAAGGGAG

[配列番号 5 1]

したがって、好ましくは、miR-483-5p は、配列番号 5 1 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0051】

一実施形態では、miR-365a-3p は、miR ID 番号 MIMAT0009199 によって表される。miR-365a-3p の配列は、本明細書において、以下のように配列番号 5 2 として提供される場合がある。

AGGGACUUUUGGGGGCAGAUGUG

[配列番号 5 2]

したがって、好ましくは、miR-365a-3p は、配列番号 5 2 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0052】

一実施形態では、miR-127-3p は、miR ID 番号 MIMAT0000446 によって表される。miR-127-3p の配列は、本明細書において、以下のように配列番号 5 3 として提供される場合がある。

UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU

[配列番号 5 3]

したがって、好ましくは、miR-127-3p は、配列番号 5 3 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0053】

一実施形態では、miR-574-3p は、miR ID 番号 MIMAT0003239 によって表される。miR-574-3p の配列は、本明細書において、以下のように配列番号 5 4 として提供される場合がある。

CACGCUCAUGCACACACCCACA

[配列番号 5 4]

したがって、好ましくは、miR-574-3p は、配列番号 5 4 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0054】

一実施形態では、miR-125b-5p は、miR ID 番号 MIMAT0000423 によって表される。miR-125b-5p の配列は、本明細書において、以下のように配列番号 5 5 として提供される場合がある。

UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA

[配列番号 5 5]

したがって、好ましくは、miR-125b-5p は、配列番号 5 5 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0055】

好ましくは、配列番号 6、7、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54 および／または 55、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる miRNA は、第 1 の核酸配列の少なくとも 1 つの miRNA 標的部位、好ましくは第 1 の核酸配列の 2 種類の miRNA 標的部位を標的とする。

【0056】

第 1 の核酸配列は、2 つ以上の種の miRNA 標的配列を含んでいてもよいことが理解されるであろう。

好ましくは、第 2 の核酸配列は、少なくとも 1 つの miRNA 標的部位（または少なくとも 1 つの miRNA 標的部位の種）を含む。好ましくは、第 2 の核酸配列は、少なくとも 2 つの miRNA 標的部位（または少なくとも 2 つの miRNA 標的部位の種）を含む

10

20

30

40

50

。好ましくは、第2の核酸配列は、少なくとも3つのmiRNA標的部位（または少なくとも3つのmiRNA標的部位の種）を含む。好ましくは、第2の核酸配列は、少なくとも4つのmiRNA標的部位（または少なくとも4つのmiRNA標的部位の種）を含む。好ましくは、第2の核酸配列は、少なくとも5つのmiRNA標的部位（または少なくとも5つのmiRNA標的部位の種）を含む。好ましくは、第2の核酸配列に存在するmiRNA標的部位は、異なるmiRNAの標的部位である。第2の核酸配列に存在するmiRNA標的部位が多ければ多いほど、遺伝子発現はより堅固に制御されることになる。しかしながら、構築物が適切に機能するためには、第1および第2の核酸配列が異なるmiRNAの標的部位であることを条件として、第1および第2の核酸配列のそれぞれに最低1つのみのmiRNA標的部位が必要であることが理解されよう。

10

【0057】

それぞれのmiRNA標的部位の2つ以上のコピーが存在してもよく、すなわちそれぞれのmiRNA標的部位の種が標的部位の少なくとも1つの重複を含んでいてもよいことが理解されるであろう。したがって、好ましくは、それぞれのmiRNA標的部位の少なくとも1つのコピー、すなわちそれぞれの種が存在する。好ましくは、それぞれのmiRNA標的部位の少なくとも2つのコピー、すなわちそれぞれの種が存在する。好ましくは、それぞれのmiRNA標的部位の少なくとも3つのコピー、すなわちそれぞれの種が存在する。好ましくは、それぞれのmiRNA標的部位の少なくとも4つのコピー、すなわちそれぞれの種が存在する。好ましくは、それぞれのmiRNA標的部位の少なくとも5つのコピー、すなわちそれぞれの種が存在する。

20

【0058】

好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、疾患細胞で発現されるmiRNAの標的部位である。好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、疾患細胞で特異的に発現されるmiRNAの標的部位である。好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、健康な細胞では発現しないか、または非常に低いもしくは検出できないレベルのmiRNAの標的部位である。好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、疾患細胞で広範に発現されるmiRNAの標的部位である。

【0059】

疾患細胞における上方調節されたまたは増加したmiRNA発現は、健康な細胞で生じるよりも少なくとも5%、10%、15%または20%多いと考えられる場合がある。好ましくは、疾患細胞における上方調節されたまたは増加したmiRNA発現は、健康な細胞で生じるよりも少なくとも25%、30%、35%または40%多いと考えられる場合がある。好ましくは、疾患細胞における上方調節されたまたは増加したmiRNA発現は、健康な細胞で生じるよりも少なくとも50%、55%、60%または65%多いと考えられる場合がある。好ましくは、疾患細胞における上方調節されたまたは増加したmiRNA発現は、健康な細胞で生じるよりも少なくとも70%、75%、80%または85%多いと考えられる場合がある。好ましくは、疾患細胞における上方調節されたまたは増加したmiRNA発現は、健康な細胞で生じるよりも少なくとも90%、95%、96%、97%、98%、99%または100%多いと考えられる場合がある。

30

40

【0060】

好ましくは、疾患細胞は、がん細胞である。より好ましくは、疾患細胞は、T細胞急性リンパ性白血病（T-ALL）細胞である。

好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miRNA 153、miR 128a、miR-3687、miR-92a-2-5p、miR-20b-3p、miR-6087、miR-106a-3p、miR-7704、miR-5701、miR-766-5p、miR-3609、miR-3615、および／またはmiR-4746-5p標的部位を含む。

【0061】

好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miRNA

50

A 1 5 3 標的部位を含み、以下のように、配列番号 3 として本明細書に提供される。

AGCTGCAACATCACAAAATGA

[配列番号 3]

したがって、好ましくは、第 2 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、配列番号 3 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる m i R N A 1 5 3 標的部位を含む。

【0062】

好ましくは、第 2 の核酸に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、m i R 1 2 8 a 標的部位を含み、以下のように、配列番号 4 として本明細書に提供される。

AAAGAGACCGGTTCACTGTGA

[配列番号 4]

したがって、好ましくは、第 2 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、配列番号 4 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる m i R 1 2 8 a 標的部位を含む。

【0063】

好ましくは、第 2 の核酸に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、m i R - 3 6 8 7 標的部位を含み、以下のように、配列番号 5 6 として本明細書に提供される。

ACGTCGCACGAACGCCTGTCCGGG

[配列番号 5 6]

したがって、好ましくは、第 2 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、配列番号 5 6 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる m i R - 3 6 8 7 標的部位を含む。

【0064】

好ましくは、第 2 の核酸に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、m i R - 9 2 a - 2 - 5 p 標的部位を含み、以下のように、配列番号 5 7 として本明細書に提供される。

GTAATGCAACAAATCCCCACCC

[配列番号 5 7]

したがって、好ましくは、第 2 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、配列番号 5 7 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる m i R - 9 2 a - 2 - 5 p 標的部位を含む。

【0065】

好ましくは、第 2 の核酸に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、m i R - 2 0 b - 3 p 標的部位を含み、以下のように、配列番号 5 8 として本明細書に提供される。

CTGGAAGTGCCCATACTACAGT

[配列番号 5 8]

したがって、好ましくは、第 2 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、配列番号 5 8 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる m i R - 2 0 b - 3 p 標的部位を含む。

【0066】

好ましくは、第 2 の核酸に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、m i R - 6 0 8 7 標的部位を含み、以下のように、配列番号 5 9 として本明細書に提供される。

GCTCGCCCCCGCCTCA

[配列番号 5 9]

したがって、好ましくは、第 2 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、配列番号 5 9 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる m i R - 6 0 8 7 標的部位を含む。

【0067】

好ましくは、第 2 の核酸に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、m i R -

10

20

30

40

50

106a-3p 標的部位を含み、以下のように、配列番号60として本明細書に提供される。

GTAAGAAGTGCTTACATTGCAG

[配列番号60]

したがって、好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号60に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-106a-3p 標的部位を含む。

[0068]

好ましくは、第2の核酸に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-7704 標的部位を含み、以下のように、配列番号61として本明細書に提供される。

CACGTCGCCGCCGACCCCG

[配列番号61]

したがって、好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号61に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-7704 標的部位を含む。

[0069]

好ましくは、第2の核酸に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-5701 標的部位を含み、以下のように、配列番号62として本明細書に提供される。

AATCAGAACGTGACAATAA

[配列番号62]

したがって、好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号62に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-5701 標的部位を含む。

[0070]

好ましくは、第2の核酸に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-766-5p 標的部位を含み、以下のように、配列番号63として本明細書に提供される。

AAGACCAGCACCAATTCCTCCT

[配列番号63]

したがって、好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号63に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-766-5p 標的部位を含む。

[0071]

好ましくは、第2の核酸に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-3609 標的部位を含み、以下のように、配列番号64として本明細書に提供される。

CAGCCAGTATTACTCATCACTTTG

[配列番号64]

したがって、好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号64に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-3609 標的部位を含む。

[0072]

好ましくは、第2の核酸に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-3615 標的部位を含み、以下のように、配列番号65として本明細書に提供される。

GAGCCGCGAGGAGCCGAGAGA

[配列番号65]

したがって、好ましくは、第2の核酸配列に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、配列番号65に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなるmiR-3615 標的部位を含む。

[0073]

好ましくは、第2の核酸に存在する少なくとも1つのmiRNA標的部位は、miR-

10

20

30

40

50

4 7 4 6 - 5 p 標的部位を含み、以下のように、配列番号 6 6 として本明細書に提供される。

TCTGCAGGTTCTCCTGGGACCGG

[配列番号 6 6]

したがって、好ましくは、第 2 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、配列番号 6 6 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる m i R - 4 7 4 6 - 5 p 標的部位を含む。

【0 0 7 4】

好ましくは、第 2 の核酸配列に存在する少なくとも 1 つの m i R N A 標的部位は、配列番号 3、4、5 6、5 7、5 8、5 9、6 0、6 1、6 2、6 3、6 4、6 5、および／または 6 6、またはそのバリエーションもしくは断片を含む。一部の実施形態では、第 2 の核酸配列は、追加の m i R N A 標的部位を含んでいてもよい。

10

【0 0 7 5】

一実施形態では、m i R N A 1 5 3 は、m i R I D 番号 M I M A T 0 0 2 6 4 8 0 によって表される。m i R N A 1 5 3 の配列は、本明細書において、以下のように配列番号 8 として提供される場合がある。

UCAUUUUUGUGAUGUUGCAGCU

[配列番号 8]

したがって、好ましくは、m i R N A 1 5 3 は、配列番号 8 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

20

【0 0 7 6】

一実施形態では、m i R N A 1 2 8 a は、m i R I D 番号 M I M A T 0 0 0 0 4 2 4 によって表される。m i R N A 1 2 8 a の配列は、本明細書において、以下のように配列番号 9 として提供される場合がある。

UCACAGUGAACCGGUCUCUUU

[配列番号 9]

したがって、好ましくは、m i R N A 1 2 8 a は、配列番号 9 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0 0 7 7】

一実施形態では、m i R - 3 6 8 7 は、m i R I D 番号 M I M A T 0 0 1 8 1 1 5 によって表される。m i R - 3 6 8 7 の配列は、本明細書において、以下のように配列番号 6 7 として提供される場合がある。

30

CCCGGACAGGCGUUCGUGCGACGU

[配列番号 6 7]

したがって、好ましくは、m i R - 3 6 8 7 は、配列番号 6 7 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0 0 7 8】

一実施形態では、m i R - 9 2 a - 2 - 5 p は、m i R I D 番号 M I M A T 0 0 0 4 5 0 8 によって表される。m i R - 9 2 a - 2 - 5 p の配列は、本明細書において、以下のように配列番号 6 8 として提供される場合がある。

40

GGGUGGGGAUUUGUUGCAUAC

[配列番号 6 8]

したがって、好ましくは、m i R - 9 2 a - 2 - 5 p は、配列番号 6 8 に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0 0 7 9】

一実施形態では、m i R - 2 0 b - 3 p は、m i R I D 番号 M I M A T 0 0 0 4 7 5 2 によって表される。m i R - 2 0 b - 3 p の配列は、本明細書において、以下のように配列番号 6 9 として提供される場合がある。

ACUGUAGUAUGGGGCACUCCAG

50

[配列番号 69]

したがって、好ましくは、miR-20b-3pは、配列番号69に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0080】

一実施形態では、miR-6087は、miR ID番号MIMAT0023712によって表される。miR-6087の配列は、本明細書において、以下のように配列番号70として提供される場合がある。

UGAGGCGGGGGGCGAGC

[配列番号 70]

したがって、好ましくは、miR-6087は、配列番号70に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0081】

一実施形態では、miR-106a-3pは、miR ID番号MIMAT0004517によって表される。miR-106a-3pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号71として提供される場合がある。

CUGCAAUGUAAGCACUUCUAC

[配列番号 71]

したがって、好ましくは、miR-106a-3pは、配列番号71に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0082】

一実施形態では、miR-7704は、miR ID番号MIMAT0030019によって表される。miR-7704の配列は、本明細書において、以下のように配列番号72として提供される場合がある。

CGGGGUCGGCGGCGACGUG

[配列番号 72]

したがって、好ましくは、miR-7704は、配列番号72に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0083】

一実施形態では、miR-5701は、miR ID番号MIMAT0022494によって表される。miR-5701の配列は、本明細書において、以下のように配列番号73として提供される場合がある。

UUAUUGUCACGUUCUGAUU

[配列番号 73]

したがって、好ましくは、miR-5701は、配列番号73に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0084】

一実施形態では、miR-766-5pは、miR ID番号MIMAT0022714によって表される。miR-766-5pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号74として提供される場合がある。

AGGAGGAAUUGGUGCUGGUCU

[配列番号 74]

したがって、好ましくは、miR-766-5pは、配列番号74に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0085】

一実施形態では、miR-3609は、miR ID番号MIMAT0017986によって表される。miR-3609の配列は、本明細書において、以下のように配列番号75として提供される場合がある。

CAAAGUGAUGAGUAAUACUGGCUG

[配列番号 75]

したがって、好ましくは、miR-3609は、配列番号75に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0086】

一実施形態では、miR-3615は、miR ID番号MIMAT0017994によって表される。miR-3615の配列は、本明細書において、以下のように配列番号76として提供される場合がある。

UCUCUCGGCUCUCCUCGCGGCUC

[配列番号76]

したがって、好ましくは、miR-3615は、配列番号76に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

10

【0087】

一実施形態では、miR-4746-5pは、miR ID番号MIMAT0019880によって表される。miR-4746-5pの配列は、本明細書において、以下のように配列番号77として提供される場合がある。

CCGGUCCCAGGAGAACCUGCAGA

[配列番号77]

したがって、好ましくは、miR-4746-5pは、配列番号77に実質的に記載されているような配列、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

20

【0088】

好ましくは、配列番号8、9、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76および／または77、またはそのバリエーションもしくは断片を含む、もしくはそれらからなるmiRNAは、第2の核酸配列の少なくとも1つのmiRNA標的部位、および好ましくは第2の核酸配列の2種類のmiRNA標的部位を標的とする。

【0089】

したがって、有利なことに、治療用分子またはレポーター分子の送達は、患者のTALL細胞においてのみ存在する（または高発現する）マイクロRNA（例えばmiRNA153、miRNA128a、miR-3687、miR-92a-2-5p、miR-20b-3p、miR-6087、miR-106a-3p、miR-7704、miR-5701、miR-766-5p、miR-3609、miR-3615、および／またはmiR-4746-5p）とこれらの細胞において特異的に欠如（または著しく低発現）するmiRNA（例えば、miRNA29a、miRNA149、miR-539-5p、miR-487a-3p、miR-655-3p、miR-411-3p、miR-377-5p、miR-337-5p、miR-31-3p、miR-214-5p、miR-1185-5p、miR-483-5p、miR-365a-3p、miR-127-3p、miR-574-3p、および／またはmiR-125b-5p）の両者によって制御される。本発明の構築物は、治療用分子またはレポーター分子の発現を正に制御するために、特定のマイクロRNAの同時存在および非存在を使用する。好ましくは、そして有利には、この二重の調節は、双方向性発現ベクターの使用によって達成される。遺伝子発現による負のフィードバックループは、さらなる制御を提供することが理解されるであろう。

30

40

【0090】

第1のプロモーターは、構成的プロモーター、活性化可能プロモーター、誘導性プロモーター、または組織特異的プロモーターを含む、任意の適切なプロモーターであり得る。第1のプロモーターは、広範に発現されるプロモーターであってもよいし、がん細胞特異的プロモーターであってもよい。好ましくは、第1のプロモーターは、広範に発現されるプロモーターである。

【0091】

第1のプロモーターは、伸長因子1 α （EF1 α ）プロモーター、EF1 α ショート（EFS）プロモーター、ホスホグリセリン酸キナーゼ（PGK）プロモーター、サイトメ

50

ガロウイルス（CMV）最初期プロモーター、脾限局巣形成ウイルス（SFFV）プロモーター、CASIプロモーター、骨髄増殖性肉腫ウイルス（MPSV）長い末端反復、マウス幹細胞ウイルス（MSCV）長い末端反復（LTR）、および複合性CAGプロモーター（CMV最初期エンハンサーとニワトリβ-アクチンプロモーターからなる）、からなる群から選択されてもよい。

【0092】

好ましくは、第1のプロモーターは、5'から3'方向に伸長する。

第1の核酸コード配列は、レポーター分子または治療用分子をコードすることができる。

【0093】

10

レポーター分子は、光学レポーター、核医学レポーター、またはMRIレポーターであってもよい。

光学レポーターは、蛍光タンパク質またはルシフェラーゼであってもよい。核医学レポーターは、単純ヘルペスウイルス1型[HSV1]チミジンキナーゼ（TK）、ヒトミトコンドリアTK2型、ドーパミン作動性受容体、ドーパミン2受容体、ヨウ化ナトリウム共輸送体、ノルエピネフリントランスポーター、ソマトスタチン受容体またはエストロゲン受容体であってもよい。MRIレポーターは、トランスフェリン受容体、β-ガラクトシダーゼ、チロシナーゼ、フェリチンまたはリジンリッチプロテイン（LRP）であってもよい。

【0094】

20

治療上活性な分子は、治療用タンパク質および／または核酸であってもよい。

核酸は、DNA、RNAまたはキメラDNA/RNA分子であってもよい。核酸は、遺伝子サイレンシング分子であってもよく、例としては、siNA、siRNA、shRNA、miRNA、リボザイムおよびアンチセンス分子を含むRNAi分子が挙げられる。核酸は、ガイドRNAであってもよい。

【0095】

当業者であれば、ガイドRNAという用語は、相補的な標的DNA配列に結合するCRISPR/Casシステムの非コードRNA構成要素を指すと理解するであろう。ガイドRNAはまずCas酵素に結合し、gRNA配列はペアリングを介して複合体をDNA上の特定の場所に誘導し、そこでCasは標的DNA鎖を切断することによってエンドヌクレアーゼ活性を実行する。

30

【0096】

遺伝子サイレンシング分子は、アンチセンス分子（アンチセンスDNAもしくはアンチセンスRNA）またはリボザイム分子であってもよい。リボザイムおよびアンチセンス分子は、疾患細胞における必須遺伝子の転写を阻害するために使用され得る。アンチセンス分子は、DNAまたはRNAなどの核酸に配列特異的な方法で結合するオリゴヌクレオチドである。アンチセンスRNAは、相補的な配列を持つmRNAに結合すると、mRNAの翻訳を阻害する。三重鎖分子とは、アンチセンスDNAの一本鎖が二重鎖DNAと結合し、共直線性三重鎖分子を形成することを指し、それによって転写を阻害する。

【0097】

40

治療上活性な分子は、治療用タンパク質であってもよく、第1の核酸は、治療用タンパク質をコードするmRNA分子をコードする。

治療用タンパク質は、治療用途を有する組換えタンパク質であってもよい。

【0098】

治療用タンパク質は、エンドヌクレアーゼであってもよい。例えば、治療用タンパク質は、CRISPR関連タンパク質（Cas）のようなCRISPRエンドヌクレアーゼであってもよい。好ましくは、Casタンパク質は、Cas9および／またはCpf1であってもよい。

【0099】

治療用分子は、Casタンパク質とガイドRNAを含むCRISPR/Casシステム

50

の両方の構成要素を含んでいてもよい。この実施形態では、構築物は、C a s タンパク質の発現を駆動するための追加のプロモーターを含んでいてもよい。

【0100】

治療用タンパク質は、C A R（キメラ抗原受容体）であってもよい。例えば、治療用タンパク質は、i n v i v o T細胞免疫療法のためのC A R-T細胞の仕組みを可能にするC A Rタンパク質であってもよい。

【0101】

治療用タンパク質は、エフェクタータンパク質であってもよい。好ましくは、治療用タンパク質は、腫瘍細胞内のアポトーシスカスケードを誘発することが可能であってもよい。したがって、好ましくは、治療用タンパク質は、アポトーシス駆動タンパク質であつてもよい。好ましくは、アポトーシス駆動タンパク質は、B a x、A p o p t i n、E 4 o r f 4 および／またはB i mであってもよい。

【0102】

好ましくは、アポトーシス駆動タンパク質はB a xであってもよく、以下のように配列番号16として本明細書に提供される遺伝子番号581によって表され得る。

MDGSGEQPRGGGPTSSEQIMKTGALLLQGFIQDRAGRMGGEAPELALDVPVQDAST
KKLSECLKRIGDELDSNMELQRMIAAVDTDSPREVFFRVAADMFS DGNFNWGRVVA
LFYFASKLV LKALCTKVPELIRTIMGWTLDFLRERLLGWIQDQGGWGLPLAESLKRL
MSLSPPGRPPLLLWDAHVADRDHLCGSAHRLTHHLEEDGLRPPAALDCVFPP

[配列番号16]

したがって、好ましくは、B a xは、配列番号16に実質的に記載されているようなアミノ酸配列、またはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【0103】

一実施形態では、B a xは、以下のように配列番号17として本明細書に提供されるヌクレオチド配列によってコードされ得る。

gcgctgcggc cgcccgcgcg gacccggcga gaggcggcgg cgggagcggc ggtgatggacg
ggtccggggagcagcccag aggcggggggg cccaccagct ctgagcagat catgaagacatgct
tcaggg tttcatccag gatcgagcag ggcgaatggg gggggagggcaccagagctgg ccctgga
ccc ggtgcctcag gatgcgtcca ccaagaagct gagcgagtgtctcaagcgca tcggggacga
actggacagt aacatggagc tgcagaggat gattgccgccgtggacacag actccccccg aga
ggtcttt ttccgagtgg cagctgacat gttttctgacggcaacttca actggggccg ggttgtcg
cc ttttctact ttgccagcaa actggtgctcaaggccctgt gcaccaaggt gccggaactg at
cagaacca tcatgggctg gacattggacttctccggg agcggctgtt gggctggatc caagac
cagg gtggttgggg gctgcccctggccgagtcac tgaagcgact gatgtccctg tctccaggac
ggcctcctct cctactttgggacgcccacg tggcagaccg tgaccatctt tgtggcggga gtgct
caccg cctcactcaccatctggaag aagatgggct gagggcccca gctgccttgg actgtgtttt
tcttccataaattatggcat ttttctggga ggggtgggga ttgggggacg tgggcatttt tcttac
ttttgtaattattg ggggggtgtgg ggaagagtgg tcttgagggg gtaataaacc tccttcgggac
aca

[配列番号17]

したがって、好ましくは、B a xポリペプチドまたはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片は、配列番号17に実質的に記載されているようなヌクレオチド配列、またはそのバリエーションもしくは断片によってコードされ得る。

【0104】

好ましくは、アポトーシス駆動タンパク質はA p o p t i nであってもよく、以下のように、配列番号18として本明細書に提供される遺伝子番号1494446によって表され得る。

MNALQEDTPPGPSTVFRPPTSSRPLETPHCREIRIGIAGITITLSLCGCANARAPTLRS
ATADNSESTGFKNVPDLRTDQPKPPSKKRSCDPSEYRVSELKESLITTTTPSRPRTARR

R I R L

[配列番号 1 8]

したがって、好ましくは、A p o p t i n は配列番号 1 8 に実質的に記載されているようなアミノ酸配列、またはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【 0 1 0 5 】

一実施形態では、A p o p t i n は、以下のように配列番号 1 9 として本明細書に提供されるヌクレオチド配列によってコードされ得る。

```
atgaacgctc tccaagaaga tactccaccc ggaccatcaa cgggtgttcag gccaccaacaagtt  
cacggc cggttgaaac ccctcactgc agagagatcc ggattggtat cgctggaattacaatcac  
tc tatcgtgtg tggctgcgcg aatgctgcgcg ctcccacgct aagatctgcaactgcggaca at  
tcagaaag cactggtttc aagaatgtgc cggacttgag gaccgatcaacccaagcctc cctcga  
agaa gcgatcctgc gacccctccg agtacagggt aagcgagctaaaagaaagct tgattaccac  
tactcccagc cgaccccga cgcgaagaag gcgtataagactgtaa
```

10

[配列番号 1 9]

したがって、好ましくは、A p o p t i n ポリペプチドまたはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片は、配列番号 1 9 に実質的に記載されているようなヌクレオチド配列、またはそのバリエーションもしくは断片によってコードされ得る。

【 0 1 0 6 】

好ましくは、アポトーシス駆動タンパク質は、以下のように、配列番号 2 0 として本明細書に提供される遺伝子番号 A C _ 0 0 0 0 0 7 . 1 によって表され得る、E 4 o r f 4 であってもよい。

20

```
MVLPALPAPPVCD SQNECVGLGVAYS AVVDVIRAAAHEGVYIEPEAR GRLDALRE  
WIYYNYYTERAKRRDRRRRSVCHARTWFCFRKYDYVRRSIWHD TTTNTISVSAHS  
VQ
```

[配列番号 2 0]

したがって、好ましくは、E 4 o r f 4 は配列番号 2 0 に実質的に記載されているようなアミノ酸配列、またはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

【 0 1 0 7 】

30

一実施形態では、E 4 o r f 4 は、以下のように、配列番号 2 1 として本明細書に提供されるヌクレオチド配列によってコードされ得る。

```
atggttcttccagctcttcccgtcctccgtgtgtgactcgcagaacgaatgtgtaggttggtggt  
gtggcttattctgcgggtggtggatgttatcagggcagcggcgcatgaaggagtttacatagaacccga  
agccagggggcgccgtgatgctttgagagagtggatatactacaactactacacagagcgagctaag  
cgacgagaccggagacgcagatctgtttgtcacgcccgcacctggttttgcttcaggaaatatgacta  
cgtccggcggttccatttgcatgacactacgaccaacacgatctcggttggtctcgcgccactccgtaca  
gtag
```

[配列番号 2 1]

したがって、好ましくは、E 4 o r f 4 ポリペプチドまたはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片は、配列番号 2 1 に実質的に記載されているようなヌクレオチド配列、またはそのバリエーションもしくは断片によってコードされ得る。

40

【 0 1 0 8 】

好ましくは、アポトーシス駆動タンパク質は B i m (B C L 2 L 1 1) であってもよく、以下のように配列番号 2 5 として本明細書に提供される遺伝子番号 1 0 0 1 8 によって表され得る。

```
MAKQPSDVSSECDREGRQLQPAERPPQLRPGAPTS LQTEPQGNPEGNHGGEGDSCP  
HGSPQG PLAPPASPGPFATRSPLFIFMRRSSLLSRSSSGYFSFD TDRSPAPMSCDKST  
QTPSPPCQAFNH YLSAMASMRQAEPADMRPEIWIAQELRRIGDEFNAYYARRVFLN  
NYQAAEDHPRMVILRLRLRYIVRLVWRMH
```

50

〔配列番号 25〕

したがって、好ましくは、B i mは配列番号 25 に実質的に記載されているようなアミノ酸配列、またはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片を含む、またはそれらからなる。

〔0109〕

一実施形態では、B i mは、以下のように配列番号 26 として本明細書に提供されるヌクレオチド配列によってコードされ得る。

```
atggcaaagcaaccttctgatg taagttctga gtgtgaccga gaaggtagac aattgcagcc tg
cggagaggcctccccagc tcagacctgg ggcccctacc tccctacaga cagagccaca aggta
atcctgaaggcaatc acggagggtga aggggacagc tgccccacg gcagccctca gggcccg
tgccccacctg ccagccctgg ccttttctg accagatccc cgcttttcat ctttatgagaagat
cctccc tgctgtctcg atcctccagt gggtatttct cttttgacac agacaggagcccagcacc
tgagttgtga caaatcaaca caaaccccaa gtcctccttg ccaggccttcaaccactatc tcagt
gcaat ggcttccatg aggcaggctg aacctgcaga tatgcgcccagagatatgga tcgccaag
a gttgcggcgt attggagacg agtttaacgc ttactatgcaaggagggtat tttgaataa ttac
caagca gccgaagacc acccacgaat ggttatcttacgactgttac gttacattgt cgcctggt
g tggagaatgc attga
```

〔配列番号 26〕

したがって、好ましくは、B i mポリペプチドまたはその生物学的に活性なバリエーションもしくは断片は、配列番号 26 に実質的に記載されているようなヌクレオチド配列、またはそのバリエーションもしくは断片によってコードされ得る。

〔0110〕

第2のプロモーターは、構成的プロモーター、活性化可能プロモーター、誘導性プロモーター、または組織特異的プロモーターを含む、任意の適切なプロモーターであり得る。好ましくは、第1のプロモーターは、広範に発現されるプロモーターである。好ましくは、第2のプロモーターは、第1のプロモーターと異なるプロモーターである。

〔0111〕

第2のプロモーターは、構築物中で第1のプロモーターと同じ向きに配置されてもよい。第2のプロモーターは、3'から5'方向に伸長していてもよい。しかしながら、好ましくは、第2のプロモーターは、第1のプロモーターに対して構築物中で反対方向に配置される。好ましくは、第2のプロモーターは、3'から5'方向に伸長する。好ましくは、プロモーターは双方向性である。双方向性プロモーターの本発明者の使用は、IRESエレメント、融合タンパク質または自己切断2Aペプチドのような追加の遺伝子エレメントのいずれかを必要とせず、2つの遺伝子の協調発現という追加の利点を提供し、これらは2つの遺伝子の弱い共発現をもたらす、タンパク質の安定性および／または生物学的機能に影響を与える可能性のある追加の導入遺伝子工学を必要とする。さらに、双方向性プロモーターの使用は、例えばレンチベクターを使用する場合に生じ得る一方向性プロモーター干渉の問題を回避する。

〔0112〕

したがって、一実施形態では、第1の発現カセットは、第2の発現カセットと同じ方向に配置される。しかしながら、好ましい実施形態では、第1の発現カセットは、第2の発現カセットと反対方向に配置される。

〔0113〕

第2のプロモーターは、伸長因子1 α (EF1 α) プロモーター、EF1 α ショート (EFS) プロモーター、ホスホグリセリン酸キナーゼ (PGK) プロモーター、サイトメガロウイルス (CMV) 最初期プロモーター、脾臓局巣形成ウイルス (SFFV) プロモーター、CASI プロモーター、骨髄増殖性肉腫ウイルス (MPSV) 長い末端反復、マウス幹細胞ウイルス (MSCV) 長い末端反復 (LTR)、および複合性CAGプロモーター (CMV最初期エンハンサーとニワトリ β -アクチンプロモーターからなる)、からなる群から選択されてもよい。

【0114】

一実施形態において、第2の核酸配列によってコードされる阻害剤は、治療上活性な分子またはレポーター分子の直接的な阻害剤である。

好ましくは、しかしながら、第2の核酸配列によってコードされる阻害剤は、第1のプロモーターの阻害剤である。第1のプロモーターの阻害剤は、テトラサイクリン制御オペレーターシステムまたはクメート (Cumate) 制御オペレーターシステムの一部であってもよく、このようなシステムは当業者によく知られている。

【0115】

第1のプロモーターの阻害剤は、Lacオペロンであってもよく、第2の核酸配列はLacリプレッサーを含み、第1のプロモーターはLacオペレーター制御因子部位を含む。

10

【0116】

一実施形態では、第1のプロモーターおよび第1の核酸配列は、第2のプロモーター配列および第2の核酸配列に対して5'である。一実施形態では、第1のプロモーターおよび第1の核酸配列は、第2のプロモーター配列および第2の核酸配列に対して3'である。

【0117】

一実施形態では、遺伝子構築物は、この指定された順序で5'から3'方向に、第1の核酸配列に作動可能に連結された第1のプロモーター配列、レポーター分子および／または治療用分子をコードする第1の核酸配列、第2の核酸配列に作動可能に連結された第2のプロモーター配列、第1のプロモーターの阻害剤をコードする第2の核酸配列を含んでいてもよい。

20

【0118】

好ましい実施形態では、しかしながら、遺伝子構築物は、この指定された順序で5'から3'方向に、第2の核酸に作動可能に連結された第2のプロモーター配列、第1のプロモーターの阻害剤をコードする第2の核酸配列、第1の核酸配列に作動可能に連結された第1のプロモーター配列ならびにレポーター分子および／または治療用分子をコードする第1の核酸配列を含んでいてもよい。

【0119】

5'および3'の使用は、その特徴が上流または下流のいずれかであることを示し、その特徴が必ずしも末端の特徴であることを示すことを意図していない。

30

遺伝子構築物の一実施形態は図8cに示され、以下のように配列番号5として本明細書で言及される。

```

acgcgtgtagtcttatgcaatactctttagtcttgcaacatggtaacgatgagtttagcaacatgcctta
caaggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattgggtggaagtaaggtggtagcgtgccttattag
gaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatattgta
tttaagtgccttagctcgatacaataaacgggtctctctggtttagaccagatctgagcctgggagctctc
tggctaactagggaaacccactgcttaagcctcaataaagcttgcccttgagtgccttcaagtagtgtgtgc
ccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagc
agtggcgcccgaaacagggacctgaaagcgaaagggaaaccagagctctctcgacgcaggactcggc
ttgctgaagcgcgacggcaagagggcgagggcgggcgactgggtgagtacgccaaaaattttgactag
cggaggctagaaggagagagatgggtgagagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcg
atgggaaaaaattcgggttaaggccagggggaaagaaaaaataaaattaaaacatatagtagggca
agcaggggagctagaacgattcgagtttaattcctggcctgttagaaacatcagaagggtgtagacaaat
actgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtag
caaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaaagacaccaagggaagcttttagacaagatagag
gaagagcaaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccactgatcttcagacctggaggagg
agatatgagggacaattggagaagtgaattatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggag
tagcaccacccaaggcaagagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtgagggaataggagctt
tggttccttggtgtcttgaggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgctgacggtagcag
gccagacaattattgtctggtatagtgtagcagcagcagaacaatttgctgaggggctattgaggcgcaaca

```

40

50

gcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagat
acctaaaggatcaacagctcctggggatttgggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgc
cttggaatgctagttggagtaataaatctctggaaacagattTggaatcacacgacctggatggagtgg
gacagagaaattaacaattacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaaga
aagaatgaacaagaattatttgaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaa
ttggctgtgggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggttaggtttaagaatagttttgct
gtactttctatagtgaatagagtttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaacc
cgagggggacccgacaggcccgaaaggaatagaagaagaagggtggagagagagacagagacagatcc
attcgattagtgaacggatctcgacgggATCGGTtaacttttaaaagaaaaggggggattgggggggt
acagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca
aattacaaaaattcaaaattttatGTCGAGccatagagcccaccgcatccccagcatgcctgctattg
tcttcccaatcctcccccttgctgtcctgccccacccccacccccagaatagaatgacacctactcaga
caatgcatgcaatttcctcattttattaggaaaggacagtgggagtgggcaccttccagggtcaagga
aggcacggggggagggggcaacaacagatggctggcaactagaaggcacagtcgCtcgagAGTAA
AACACTACAACGTCGATAGCAGTAAAACACTACAACGTCGACACTAGTAAACACT
ACAACGTCGATAGCAGTAAAACACTACAACGTCGACACTAGTGTCACCTTGGCCAGA
GAAATAGCAGTGTCACCTTGGCCAGAGAAACACTAGTGTCACCTTGGCCAGAGAAATA
GCAGTGTCACCTTGGCCAGAGAAActcgagTCAAACCTTCTCTTCTTCTTAGGAGGC
CTCAGGCTGCTCTGCCCCTTCCAGTTCGGGAAACCTGTCTGTGCCAGCTGCATTAA
TGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTTCGTATTGGGCGCCAGGGTGTTT
TTCTTTTACCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTACCAGCCTGGCCCTGA
GAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGGCCCAGCAGGCGAAAATCCTGTTT
GATGGTGGTTAACGGCGGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCGTATCCCA
CTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGGCGCGCATTTGCG
CCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATT
CAGCATTGTCATGGTTTGTGAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCCTTCCCGTT
CCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCCAGCCAGCCAGACGC
AGACGCGCCGAGACAGAACTTAATGGGCCCGCTAACAGCGCGATTTGCTGGTGACC
CAATGCGACCAGATGCTCCACGCCAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAA
TACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACGCCGGAAACATTAGTG
CAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCATCCAGCGGATAGTTAATGATCAG
CCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACCGCCGCTTTACAGGCTTCGACGC
CGCTTCGTTCTACCATCGACACCACCGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAGAT
TTAATCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCAGGGGCCAGACTGGAGGTGGCAAC
GCCAATCAGCAACGACTGTTTGGCCGCCAGTTGTTGTGCCACGCGGTTGGGAATGT
AATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCCCGCGTTTTTCGCAGAAACGTGGC
TGGCCTGGTTACCCAGCGGGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTGCG
ACATCGTATAACGTTACTGGTTTCATGGTGGGAGGGTACcTAGGTAAGCTTGGGCT
GCAGGTCGAAAGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCAGACGTGCGCT
TTTGAAGCGTGCAAGATGCCGGGCTCCGGAGGACCTTCGGGCGCCCGCCCCGCCC
CTGAGCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCGGACCCACCCCTTCCCAGCCTCTGAGCCCA
GAAAGCGAAGGAGCAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCAAAGGCCTACCCGCTTCC
ATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGCACGAGACTAGTGAGACGTGCTACTTCCATT
TGTCACGTCCTGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGGGGGGGAACCTTCTGACTAGGGG
AGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGCCACCAAGAACGGAGCCGGTTGGCGCCTAC
CGGTGGATGTGGA
ATGTGTGCGAGGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCGCCAAGTGCCCAGCGGGGCTGCTA
AAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAAAGCGCCTCCCCTACCCGGTAGAAGCTA
GCGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAG
TTGTGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAA

10

20

30

40

50

CTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAAC
CGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCC
AGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTA
TGGCCCTTGCGTGCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCC
CGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCC
CTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGA
ATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAA
AATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCG
GGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTTGGGGCCGCCGGCGGCGACGGGGC
CCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGA
GAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCG
CCGCCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCCGGTCGGCACCAAGTTGC
GTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGA
CGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTT
CCGTCTCAGCCGTGCTTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCA
CCTCGATTAGTTCTCGACCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGT
TTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCT
TGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGTTT
ATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTTCTTCCATTTCAAGGTGTCGTGA
tctagagctagcgAATTCGTAAATATAAAATTTACTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCT
CACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAG
TCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGTGT
ATAATGTGTTAAACTACGGATCCGTCTCCCATTAGGCCTACAATGGTGAGACAAGT
AGCCAACAGGGAAGGGTTGCAAATATCATTTGGGCACACCTATGATAATATTGATG
AAGCAGACAGTATTAGCAAGTAACTGAGAGGTGGGAAGCTCAAAGCCAAAGTCCT
AATGTGCAGTCAGGTGAATTTATTGAAAAATTTGAGGCTCCTGGTGGTGCAAATCA
AAGAACTGCTCCTCAGGGATCCTAATTGTTTGTGTATTTTAGGCGggccgctgagggca
gaggaagtcttctaactatgcggtgacgtggaggagaatccgggccccttccggaATGGAGAGCGAC
GAGAGCGGCCTGCCCCGCCATGGAGATCGAGTGCCGCATCACCGGCACCCTGAACGG
CGTGGAGTTCGAGCTGGTGGGCGGCGGAGAGGGCACCCCCAAGCAGGGCCGCATGA
CCAACAAGATGAAGAGCACCAAGGCGCCCTGACCTTCAGCCCCTACCTGCTGAGC
CACGTGATGGGCTACGGCTTCTACCACTTCGGCACCTACCCAGCGGCTACGAGAA
CCCCTTCTGACGCCATCAACAACGGCGGCTACACCAACACCCGCATCGAGAAGT
ACGAGGACGGCGGCGTGCTGCACGTGAGCTTCAGCTACCGCTACGAGGCCGGCCGC
GTGATCGGCGACTTCAAGGTGGTGGGCACCGGCTTCCCCGAGGACAGCGTGATCTT
CACCGACAAGATCATCCGCAGCAACGCCACCGTGGAGCACCTGCACCCCATGGGCG
ATAACGTGCTGGTGGGCGAGCTTCGCCCCGACCTTCAGCCTGCGCGACGGCGGCTAC
TACAGCTTCGTGGTGGACAGCCACATGCACTTCAAGAGCGCCATCCACCCAGCAT
CCTGCAGAACGGGGGCCCCATGTTTCGCCTTCCGCCGCGTGAGGAGCTGCACAGCA
ACACCGAGCTGGGCATCGTGGAGTACCAGCACGCCTTCAAGACCCCCATCGCCTTC
GCCAGATCCCGCGCTCAGTCGTCCAATTCTGCCGTGGACGGCACCGCCGGACCCGG
CTCCACCGGATCTCGCTAGAGCTGAATCtaagtcgacaatcaacctctggattacaaaatttg
tgaaagattgactggatcttctaactatgttgctccttttacgctatgttgatacgtgtctttaa
tgatcatgctattgcttcccgtatggctttcatcttctccttgtataaatcctggttgctgtctt
tgaggagtgttgcccgtgtgcaggcaacgtggcgtgggtgtgcactgtgttgctgacgcaacccca
ctggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgtttccccctccctattgccac
ggcggaaactcatcgccgcctgccttgcccgtgctggacaggggctcggtgttgggcactgacaatt
ccgtggtgtgttcggggaaatcatcgtcctttccttggtgctcgcctgtgttgccacctggattctgcg
cgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaaccttccctccgcggcctgctgcc
ggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttggggccgctc

10

20

30

40

50

cccgcccgggTAACCGATTTTCAGATGGTGCTACGATTAACCGATTTTCAGATGGTGCTA
TCACTAACCGATTTTCAGATGGTGCTACGATTAACCGATTTTCAGATGGTGCTATCAC
GGGAGTGAAGACACGGAGCCAGACGATGGGAGTGAAGACACGGAGCCAGATCACGG
GAGTGAAGACACGGAGCCAGACGATGGGAGTGAAGACACGGAGCCAGAcccggggtac
ctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccactttttaaaagaaaaggggggactg
gaaggggctaattcactcccaacgaaaataagatctgcttttgcctgtactgggtctctctggttagacc
agatctgagcctgggagctctctggctaactaggggaaccactgcttaagcctcaataaagcttgcctt
gagtgcctcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggttaactagagatccctcagacccttta
gtcagtggtggaaaatct
ctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtatttataacttgcaaagaaatgaatatcagagag
tgagaggaacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaa
taaagcatttttttactgca
ttctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttatcatgtctggctctagctatcccgcccctaac
tccgcccagttccgcccattctccgccccatggctgactaatttttttatttatgcagaggccgaggcc
gcctcggcctctgagctattccagaagtagtgaggaggcctttttggaggccctagacttttgcagagac
ggcccaaattcgtaatcatggtcatagctgtttcctgtgtgaaattgttatccgctcacaaattccacaca
acatacgagccggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgcctaattgagtgcagtaactcacattaatt
gcgttgcgctcactgcccgccttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggcca
acgcgcggggagaggcggtttgcgtattgggcgctcttccgcttccctcgtcactgactcgtcgcgt
cggtcgttcggctgcggcgagcggtatcagctcactcaaaggcggtataacggttatccacagaatca
ggggataacgcaggaaagaacatgtgagcaaaaaggccagcaaaaaggccaggaaccgtaaaaaggc
cgcttgctggcggttttccataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtc
agaggtggcgaaaaccgacaggactataaagataaccaggcggttcccccctggaagctccctcgtgcg
ctctcctgttccgacctgcccgttaccggataacctgtccgcttctcccttcgggaagcggtggcgctt
tctcatagctcacgctgtaggtatctcagttcggtgtaggtcgttcgtccaagctgggctgtgtgcac
gaaccccccggttcagcccagccgctgcgccttatccggtaactatcgtcttgagtccaacccggtaag
acacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcgagggtatgtaggcggt
gctacagagttcttgaagtgggtggcctaactacggctacactagaaggacagtatttggtatctgcgct
ctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaaaaccaccgctgg
tagcggtgggttttttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatccttt
gatcttttctacgggggtctgacgctcagtggaacgaaaactcacgttaagggttttggatcatgagatt
atcaaaaaggatcttcacctagatccttttaaatataaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatat
gagtaaacttggtctgacagttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatttc
gttcatccatagttgcctgactccccgtcgtgtagataactacgatacgggagggccttaccatctggcc
ccagtgctgcaatgataaccgcgagaccacgctcaccggctccagatttatcagcaataaaccagcca
gccggaagggccgagcgcagaagtggctcctgcaactttatccgcctccatccagtctattaattgttgc
cggaagctagagtaagtagttcgccagttatagtttgcgcaacggttggttccattgctacaggcatc
gtggtgtcacgctcgtctgtttggtatggcttcattcagctccggttcccaacgatcaaggcgagttaca
tgatcccccatgttgtgcaaaaaagcggttagctccttcggctcctccgatcgttgtcagaagtaagttg
gccgcagtggttatcactcatggttatggcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagat
gcttttctgtgactgggtgagtactcaaccaagtcattctgagaatagtgatgtatgcggcgaccgagttgct
cttgcggcggtcaatacgggataataaccgcgccacatagcagaactttaaaagtgtcatcattgga
aaacggttcttcggggcgaaaaactctcaaggatcttaccgctgttgagatccagttcgtatgtaaccact
cgtgcacccaactgatcttcagcatcttttactttaccagcggttctgggtgagcaaaaacaggaagg
caaaatgccgcaaaaaagggaataaggcgacacggaaatgttgaaatactcatactcttctttttca
atattattgaagcatttatcagggttattgtctcatgagcggatacatatttgaaatgtatttagaaaaat
aaacaaataggggttccgcgcacatttccccgaaaagtgccacctgacgtctaagaaaccattattat
catgacattaacctataaaaaataggcgtatcacgaggccctttcgtctcgcgcgtttcgggtgatgacgg
tgaaaacctctgacacatgcagctcccgagacgggtcacagcttgtctgtaagcggtatgccgggagc
agacaagcccgtcaggggcgctcagcgggtgttggcggggtgtcggggctggcttaactatgcggcat

10

20

30

40

50

cagagcagattgtactgagagtgcaccatatgcggtgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaa
ataccgcatcaggcgccattcgccattcaggctgcgcaactgttggaaggcgatcggtgcgggcc
tcttcgctattacgccagctggcgaaagggggatgtgctgcaaggcgattaagttgggtaacgccagg
gttttcccagtcacgacgttgtaaaacgacggccagtgccaagctg

[配列番号 5]

好ましくは、遺伝子構築物は、配列番号 5 に実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む。

【0120】

遺伝子構築物の別の実施形態は図 8 H に示され、以下のように配列番号 78 として本明細書で言及される。

acgcgtgtagtcttatgcaatactctttagtcttgcaacatggtaacgatgagtttagcaacatgcctta
caaggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattgggtggaagtaagggtggtagcgtgccttattag
gaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatattgta
tttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctgggttagaccagatctgagcctgggagctctc
tggttaactagggaaacccactgcttaagcctcaataaagcttgcccttgagtgttcaagtagtgtgtgc
ccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagc
agtggcgcccgaaacaggggacctgaaagcgaaaggggaaaccagagctctctcgacgcaggactcggc
ttgctgaagcgcgacggcaagaggcgagggcgggcgactgggtgagtacgccaaaaattttgactag
cggaggctagaaggagagagatgggtgagagagcgtcagtattaagcggggggagaattagatcgcg
atgggaaaaaattcgggttaaggccaggggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtagggca
agcaggggagctagaacgattcgagttatcctggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaat
actgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtag
caaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaaagacaccaagggaagccttagacaagatagag
gaagagcaaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccactgatcttcagacctggaggagg
agatatgagggacaattggagaagtgaattatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggag
tagcaccaccaaaggcaaaagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaataggagctt
tgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgctgacggtagcag
gccagacaattattgtctgttatagtgcagcagcagaacaatttgctgaggggctattgaggcgcaaca
gcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagat
acctaaaggatcaacagctcctggggatttgggggtgtctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgc
cttgggaatgctagttagtgagtaataaatctctggaaacagattTgggaatcacacgacctggatggagtgg
gacagagaaaattaacaattacacaagccttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaaga
aagaatgaacaagaattattggaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaa
ttggctgttggtatataaaaattattcataatgatagtaggaggcttggttaggtttaagaatagttttgct
gtactttctatagtgaaatagagtttaggcagggatattcaccattatcgtttcagaccacctcccaacc
cgagggggacccgacaggcccgaagggaatagaagaagaagggtggagagagagacagagacagatcc
attcgattagtgaacggatctcgacgggATCGGTtaacttttaaaagaaaaggggggattgggggggt
acagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca
aattacaaaaattcaaaattttatGTCGAGccatagagcccaccgcatccccagcatgcctgctattg
tcttcccaatcctcccccttgcgtgcctgccccacccccacccccagaatagaatgacacctactcaga
caatgcgatgcaatttcctcattttattaggaaaggacagtgggagtgggcaccttccagggtcaagga
aggcacggggggaggggcaaacacagatggctggcaactagaaggcacagtcgCtcgagGGGCC
TGTCGCAAGCACGCTGCATAGCGGGCCTGTCCGCAAGCACGCTGCACACTGGGCC
TGTCGCAAGCACGCTGCATAGCGGGCCTGTCCGCAAGCACGCTGCACACTCCAC
CCCTAAACAACGTAATGTAGCCCCACCCCTAAACAACGTAATGCACTCCCACCCCT
AAACAACGTAATGTAGCCCCACCCCTAAACAACGTAATGCACTTGACATCATACCC
GTGAAGGTCTAGCTGACATCATACCCGTGAAGGTCCACTTGACATCATACCCGTGA
AGGTCTAGCTGACATCATACCCGTGAAGGTCCACTACTCCGCCCCCCCCGCTCGTAG
CACTCCGCCCCCCCCGCTCGCACTACTCCGCCCCCCCCGCTCGTAGCACTCCGCCCCC
CGCTCGCACTGACGTTACATTTCGTGAAGAATGTAGCGACGTTACATTTCGTGAAGAA

10

20

30

40

50

TGCACTGACGTTACATTTCGTGAAGAATGTAGCGACGTTACATTTCGTGAAGAATGCA
CTGCCCCAGCCGCGCTGCACTAGCGCCCCAGCCGCGCTGCACCACTGCCCCAGC
CGCCGCTGCACTAGCGCCCCAGCCGCGCTGCACcctcgagTCAAACCTTCCTCTTCTT
CTTAGGAGGCCTCAGGCTGCTCTGCCCCGCTTTCAGTCGGGAAACCTGTCTGTGCCA
GCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGGCGTATTGGGGCGCC
AGGGTGGTTTTTCTTTTACCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTCACCGC
CTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGGCCCAGCAGGCGAA
AATCCTGTTTGATGGTGGTTAACGGCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCG
TCGTATCCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCCGGACTCGGTAA
TGGCGCGCATTGCGCCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGA
ACGATGCCCTCATTTCAGCATTTGCATGGTTTGTGAAAACCGGACATGGCACTCCA
GTCGCCTTCCCGTTCCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCC
AGCCAGCCAGACGCGAGACGCGCCGAGACAGAACTTAATGGGCCCCGCTAACAGCGCG
ATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCACGCCAGTCGCGTACCGTCTTC
ATGGGAGAAAATAATACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACG
CCGGAACATTAGTGACAGGACGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCATCCAGCGGA
TAGTTAATGATCAGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACCGCCGCTTT
ACAGGCTTCGACGCCGCTTCGTTCTACCATCGACACCACCGCTGGCACCCAGTT
GATCGGCGCGAGATTTAATCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCAGGGCCAGA
CTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGGCCGCCAGTTGTTGTGCCAC
GCGGTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCCCGCGTTTT
CGCAGAAACGTGGCTGGCCTGGTTTACCACGCGGGAAACGGTCTGATAAGAGACAC
CGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTTCATGGTGGGAGGGTACcTA
GGTAAGCTTGGGCTGCAGGTCGAAAGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGGAGAACAGCGC
GGCAGACGTGCGCTTTTGAAGCGTGAGAATGCCGGGCCCTCCGGAGGACCTTCGGG
CGCCCCGCCCCGCCCCCTGAGCCCCGCCCCCTGAGCCCCGCCCCCGGACCCACCCCTTCCC
AGCCTCTGAGCCCAGAAAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCAAAG
GCCTACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGCACGAGACTAGTGAGAC
GTGCTACTTCCATTTGTACGTCCTGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGGGGGGGGAAC
TTCCTGACTAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGGCCACCAAAGAACGGAGC
CGGTTGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTGTGCGAGGGCCAGAGGGCCACTTGTGT
AGCGCCAAGTGCCCAGCGGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAA
AGCGCCTCCCTACCCGGTAGAAGCTAGCGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAG
CGCACATCGCCCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACCGG
TGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCC
GCCTTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGACGTAGTCGCCGTGAAC
GTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGGCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTC
CCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCAC
CTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGA
GTTTCGAGGCCTTGCCTTAAGGAGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGG
CCTGGGCGCTGGGGCCGCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGC
TGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTT
TTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCTGG
TTTTTGGGGCCGCGGGCGGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCTGGCG
AGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGG
CCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCGCGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGG
CAAGGCTGGCCCGGTGGCACCAAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGC
CCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGA
GTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCGCTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACT
CCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGACCTTTTGGAGT

10

20

30

40

50

ACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGA
GTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAAT
TTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAA
GTTTTTTTCTTCCATTTTCAAGGTGTCGTGAtctagagctagcgAATTCGTAAATATAAAA
TTTACTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGT
GGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCG
CTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGTGTATAATGTGTTAAACTACGGATCCGTCTC
CCATTAGGCCTACAATGGTGAGACAAGTAGCCAACAGGGAAGGGTTGCAAATATCA
TTTGGGCACACCTATGATAATATTGATGAAGCAGACAGTATTAGCAAGTAACTGA
GAGGTGGGAAGCTCAAAGCCAAAGTCCTAATGTGCAGTCAGGTGAATTTATTGAAA
AATTTGAGGCTCCTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGGGATCCTAATTG
TTTGTGTATTTTAGGCGggccgctgagggcagaggaagtcttctaacaatgcggtgacgtggagga
gaatcccggcccttcggaATGGAGAGCGACGAGAGCGGCCTGCCCGCCATGGAGATCG
AGTGCCGCATCACCGGCACCCTGAACGGCGTGGAGTTCGAGCTGGTGGGCGGCGGA
GAGGGCACCCCCAAGCAGGGCCGCATGACCAACAAGATGAAGAGCACCAAAGGCGC
CCTGACCTTCAGCCCCTACCTGCTGAGCCACGTGATGGGCTACGGCTTCTACCACT
TCGGCACCTACCCAGCGGCTACGAGAACCCTTCTCTGCACGCCATCAACAACGGC
GGCTACACCAACAC
CCGCATCGAGAAGTACGAGGACGGCGGCGTGCTGCACGTGAGCTTCAGCTACCGCT
ACGAGGCCGGCCGCGTGATCGGCGACTTCAAGGTGGTGGGCACCGGCTTCCCCGAG
GACAGCGTGATCTTCACCGACAAGATCATCCGCAGCAACGCCACCGTGGAGCACCT
GCACCCCATGGGCGATAACGTGCTGGTGGGCAGCTTCGCCCGCACCTTCAGCCTGC
GCGACGGCGGCTACTACAGCTTCGTGGTGGACAGCCACATGCACTTCAAGAGCGCC
ATCCACCCCAGCATCCTGCAGAACGGGGGCCCCATGTTTCGCCTTCGCGCGCGTGGA
GGAGCTGCACAGCAACACCGAGCTGGGCATCGTGGAGTACCAGCACGCCTTCAAGA
CCCCCATCGCCTTCGCCAGATCCCGCGCTCAGTCGTCCAATTCTGCCGTGGACGGC
ACCGCCGGACCCGGCTCCACCGGATCTCGCTAGAGCTGAATCtaagtcgacaatcaacc
tctggattacaaaatttgtgaaagattgactgggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggat
acgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggcctttcattttctcctccttgataaat
cctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccggtgtcaggcaacgtggcggtgtgactgtgtt
tgctgacgcaacccccactgggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgcttt
ccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgaccttgcccgctgctggacaggggctcggc
tgttgggcactgacaattccgtgggtgtgtcggggaaatcatcgctcctttccttggtgctcgcctgtgt
tgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaaccttc
ttcccgcgccctgctgccggctctgcggcccttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggat
ctccctttgggcccgcctccccgcccgggACACACCAAGGATAATTTCTCCCGATACACACC
AAGGATAATTTCTCCTCACACACACCAAGGATAATTTCTCCCGATACACACCAAGG
ATAATTTCTCCTCACAACTGGATGTCCCTGTATGATTTCGATAACTGGATGTCCCTGT
ATGATTTCACAACTGGATGTCCCTGTATGATTTCGATAACTGGATGTCCCTGTATGA
TTTCACAAAGAGGTTAACCATGTATTATCGATAAAGAGGTTAACCATGTATTATTACGG
ACAAAGAGGTTAACCATGTATTATCGATAAAGAGGTTAACCATGTATTATTACGG
TAGTGGACCGTGTTACATACGATGGTTAGTGGACCGTGTTACATATCACGGTTAG
TGGACCGTGTTACATACGATGGTTAGTGGACCGTGTTACATATCACGAATTCACCA
AGGGCAACCTCTCGATGAATTCACCAAGGGCAACCTCTTCACGAATTCACCAAGGG
CAACCTCTCGATGAATTCACCAAGGGCAACCTCTTCACAACTCCTGTATGAAGCCG
TTCCGATAACTCCTGTATGAAGCCGTTCTCACAACTCCTGTATGAAGCCGTTCCGA
TAACTCCTGTATGAAGCCGTTCTCACATGGCAATATGTTGGCATAGCACGATATGG
CAATATGTTGGCATAGCATCACATGGCAATATGTTGGCATAGCACGATATGGCAAT
ATGTTGGCATAGCATCACGCACAGCAAGTGTAGACAGGCACGATGCACAGCAAGTG
TAGACAGGCATCACGCACAGCAAGTGTAGACAGGCACGATGCACAGCAAGTGTAGA

10

20

30

40

50

CAGGCATCACAAACATACAAAGGGTATCCTCTCGATAACATACAAAGGGTATCCTCT
TCACAACATACAAAGGGTATCCTCTCGATAACATACAAAGGGTATCCTCTTACCT
CCCTTCTTTCTCCCGTCTTCGATCTCCCTTCTTTCTCCCGTCTTTACCTCCCTT
CTTTCTCCCGTCTTCGATCTCCCTTCTTTCTCCCGTCTTccgggtacctttaagacc
aatgacttacaaaggcagctgtagatcttagccactttttaaaagaaaaggggggactggaagggttaa
ttcactcccaacgaaaataagatctgcttttgccttgtagtggtctctctggttagaccagatctgagc
ctgggagctctctggctaactagggaaaccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgcctca
agtagtggtgcccgtctgttggtgtagctctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtgg
aaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtagttataaacttgcaaagaaatgaatatc
agagagttagagaggaacttggtttattgcagcttataatgggttaaaataaagcaatagcatcacaaattt
cacaataaagcatttttttctactgcattctagttgtgggttggtccaaactcatcaatgtatcttatcatg
tctggctctagctatcccggcccctaactccggcccagttccggcccattctccggcccatggctgactaatt
ttttttatttatgcagaggccgaggccgcctcggcctctgagctattccagaagtagtgaggaggcttt
tttgagggcctagacttttgcagagacggcccaaattcgtaatcatgggtcatagctgtttcctgtgtga
aattgttatccgctcacaaattccacacacatacagagccggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgc
ctaagttagtgagctaactcacattaattgcgttgcgctcactgcccgcctttccagt
cgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtat
tgggcgctcttccgcttctcgtcactgactcgtcgcctcggctcgttcggctgcggcgagcggtatc
agctcactcaaaggcggttaatacgggttatccacagaatcaggggataaacgcaggaaagaacatgtga
gcaaaaggccagcaaaaggccaggaaaccgtaaaaaggccgcgttgctggcggtttttccataggctcc
gccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaaccgacaggactata
aagataccaggcggtttccccctggaagctccctcgtgcgtctcctgttccgaccctgccgcttacgg
atacctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctcatagctcacgctgtaggtatctcagt
tcgggtgtaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaacccccggttcagcccgcaccgctgcgc
cttatccggtaactatcgtcttgagtccaaccggtaagacacgacttatcgccactggcagcagcca
ctggtaacaggattagcagagcgaggtatgtaggcgggtgctacagagttcttgaagtgggtggcctaac
tacggctacactagaaggacagtagtttggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaag
agttggtagctcttgatccggcaaaacaaccaccgctggtagcggtgggttttttgtttgcaagcagca
gattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacgggggtctgacgctcagtg
gaacgaaaaactcacgttaagggtttttgggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacctagatcctttt
aaattaaaaatgaagttttaaatcaatctaagtatatatgagtaaaacttggtctgacagttaccaatgc
ttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatttcgttcattccatagttgcctgactccccgtcg
ttagataactacgatacgggagggcttaccatctggccccagtgctgcaatgataccgcgagaccca
cgctcacccggctccagatttatcagcaataaaccagccagccggaaggggccgagcgcagaagtggctc
ctgcaactttatccgcctccatccagttctattaattgttgccgggaagctagagtaagtagttcgccagt
taatagtttgcgcaacggttggttgccattgctacaggcatcgtgggtgtcacgctcgtcgtttgggtatggct
tcattcagctccgggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatcccccattgttgcaaaaaagcgggt
agctccttcgggtcctccgatcgttgctcagaagtaagttggccgcagtggttatcactcatggttatggca
gcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactgggtgagtactcaacca
agtcattctgagaatagtgtagtcgggcgaccgagttgctcttgccggcgctcaatacgggataatacc
gcgccacatagcagaactttaaaagtgtctcatcattggaaaacggttcttcggggcgaaaaactctcaag
gatcttacccgctgttgagatccagttcgtatgtaaccactcgtgcacccaactgatcttcagcatctttt
actttcaccagcggtttctgggtgagcaaaaaacaggaaggcaaaaatgccgcaaaaaagggaataaggg
cgacacggaaatgttgaaatactcatactcttctttttcaatattattgaagcatttatcagggttattgt
ctcatgagcggatacatatttgatgtatttagaaaaataaaacaaatagggggttccgcgcacatttccc
cgaaaagtgccacctgacgtctaagaaaccattattatcatgacattaacctataaaaaataggcgatc
acgaggccctttcgtctcgcgcgtttcgggtgatgacgggtgaaaacctctgacacatgcagctcccgga
gacgggtcacagcttgctgtgaagcggtatgccgggagcagacaagcccgctcagggcgcgctcagcggtg
gttggcgggtgtcggggctggcttaactatgcggcatcagagcagattgtactgagagtgacacatat
gcgggtgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaaaataccgcacagggcgccattcgcattcagg

10

20

30

40

50

ctgcgcaactgttgggaagggcgatcgggtgcgggcctcttcgctattacgccagctggcgaaagggg
gatgtgctgcaaggcgattaagttgggtaacgccagggttttcccagtcacgacgttgtaaaacgacg
gccagtgccaagctg

[配列番号 78]

好ましくは、遺伝子構築物は、配列番号 78 に実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む。

【0121】

遺伝子構築物の別の実施形態は図 8D に示され、Bax コード配列を含んでいてもよく、以下のように配列番号 22 によって表されることができる。

acgcgtgtagtcttatgcaatactctttagtgccttgcaacatggtaacgatgagttagcaacatgcctta
caaggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattgggtggaagtaagggtggtagcgtgccttattag
gaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgcatgacagagatatgtga
tttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctgggttagaccagatctgagcctgggagctctc
tggttaactagggaaaccactgcttaagcctcaataaagcttgcccttgagtgccttaagtagtgtgtgc
ccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtggtgaaaatctctagc
agtggcgcccgaaacaggggacctgaaagcgaaagggaaccagagctctctcgacgcaggactcggc
ttgctgaagcgcgacggcaagaggcgaggggcgaggcactgggtgagtagcgcacaaaattttgactag
cggagggttagaaggagagagatgggtgagagagcgtcagtagtaagcgggggagaattagatcgcg
atgggaaaaaattcgggttaaggccagggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtagggca
agcaggggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaat
actgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtag
caaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaagggaagcttttagacaagatagag
gaagagcaaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccactgatcttcagacctggaggagg
agatatgaggggacaattggagaagtgaattatataaataaagtagtaaaaattgaaccattaggag
tagcaccaccaaaggcaagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtggggaataggagctt
tggtccttgggttcttgggagcagcagggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgctgacggtagcag
gccagacaattattgtctgtgtagtgagcagcagaacaatttgctgaggggctattgagggcgcaaca
gcatctgttgcaactcacagctctggggcatcaagcagctccagggaagaatcctggctgtggaaagat
acctaaaggatcaacagctcctgggggatttgggggtgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgc
cttggaatgctagttggagtaataaatctctggaaacagattTggaatcacacgacctggatggagtgg
gacagagaaattaacaattacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaaga
aaagaatgaacaagaattattggaaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataaaaa
ttggctgtggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagttttgct
gtactttctatagtagaataagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaacc
cgaggggacccgacaggccgaagggaatagaagaagaagggtggagagagagacagagacagatcc
attcgattagtgaacggatctcgacgggATCGGTtaacttttaaaagaaaaaggggggattgggggggt
acagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca
aattacaaaaattcaaaattttatGTCGAGccatagagcccaccgcatcccagcatgcctgctattg
tcttcccaatcctcccccttgcgtgcctgccccacccccccccagaaatagaatgacacctactcaga
caatgcgatgcaatttcctcattttattaggaaaggacagtgaggagtgccaccttcagggtcaaggga
aggcacggggggaggggcaacaacagatggctggcaactagaaggcacagtcgCtcgagAGTAA
AACACTACAACGTCGATAGCAGTAAACACTACAACGTCGACACTAGTAAACACT
ACAACGTCGATAGCAGTAAACACTACAACGTCGACACTAGTGTCACCTTGCCAGA
GAAATAGCAGTGTCACCTTGCCAGAGAAACACTAGTGTCACCTTGCCAGAGAAATA
GCAGTGTCACCTTGCCAGAGAAActcagTCAAACCTTCCTCTTCTTCTTAGGAGGC
CTCAGGCTGCTCTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAA
TGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCCTATTGGGCGCCAGGGTGGTTT
TTCTTTTACACAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTACCGCCTGGCCCTGA
GAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGGCCCAGCAGGCGAAAATCCTGTTT
GATGGTGGTTAACGGCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCGTATCCCA

10

20

30

40

50

CTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGGCGCGCATTGCG
CCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATT
CAGCATTGTCATGGTTTGTGAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCCTTCCCGTT
CCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCCAGCCAGCCAGACGC
AGACGCGCCGAGACAGAACTTAATGGGCCCCGCTAACAGCGCGGATTTGCTGGTGACC
CAATGCGACCAGATGCTCCACGCCAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAA
TACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACGCCGGAACATTAGTG
CAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCATCCAGCGGATAGTTAATGATCAG
CCCAGTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACCGCCGCTTTACAGGCTTCGACGC
CGCTTCGTTCTACCATCGACACCACCGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAGAT
TTAATCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCAGGGCCAGACTGG
AGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGGCCCGCCAGTTGTTGTGCCACGCGG
TTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCCCGCGTTTTTCGCA
GAAACGTGGCTGGCCTGGTTCAACCAGCGGGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGC
ATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTCATGGTGGGAGGGTACCTAGGTA
AGCTTGGGCTGCAGGTCGAAAGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCA
GACGTGCGCTTTTGAAGCGTGCAGAATGCCGGGCCCTCCGGAGGACCTTCGGGCGCC
CGCCCCGCCCCCTGAGCCCCGCCCTGAGCCCCGCCCGGACCCACCCCTTCCCAGCC
TCTGAGCCCAGAAAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCAAAGGCCT
ACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGCACGAGACTAGTGAGACGTGC
TACTTCCATTTGTCACGTCCTGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGGGGGGGAACCTCC
TGACTAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGCCACCAAAGAACGGAGCCGGT
TGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTGTGCGAGGGCCAGAGGGCACTTGTGTAGCG
CCAAGTGCCAGCGGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAAAGCG
CCTCCCCTACCCGGTAGAAGCTAGCGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCA
CATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACCGGTGCC
TAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCT
TTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGACGTAGTCGCCGTGAACGTTT
TTTTTCGCAACGGGTTTGGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGC
GGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCTTGAATTACTTCCACCTGG
CTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTC
GAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTG
GGCGCTGGGGCCGCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCT
TTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTT
TGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTT
TGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTGGGCGAGGC
GGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGG
CCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCGTGATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAG
GCTGGCCCGGTGCGCACCAAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTG
CTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCA
CCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCAC
GGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGACCTTTTGGAGTACGT
CGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGG
GTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAAATTTGC
CCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTT
TTTTCTTCCATTTAGGTGTGCTGAtctagagctagcgaATTCGTAAATATAAAATTTA
CTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAA
TTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCA
CAATTCCACAGTCGACCCTAGTGTATAATGTGTTAAACTACGGATCCGTCTCCCAT
TAGGCCTACAATGGTGAGACAAGTAGCCAACAGGGAAGGGTTGCAAATATCATTTG

10

20

30

40

50

GGCACACCTATGATAATATTGATGAAGCAGACAGTATTTCAGCAAGTAACTGAGAGG
TGGGAAGCTCAAAGCCAAAGTCCTAATGTGCAGTCAGGTGAATTTATTGAAAAATT
TGAGGCTCCTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGGGATCCTAATTGTTTG
TGTATTTTAGGCGggccgcCGCGATCGCCATGGACGGGTCCGGGGAGCAGCCCAGAGG
CGGGGGGGCCACCAGCTCTGAGCAGATCATGAAGACAGGGGGCCCTTTTGCTTCAGG
GTTTCATCCAGGATCGAGCAGGGCGAATGGGGGGGGAGGCACCCGAGCTGGCCCTG
GACCCGGTGCCTCAGGATGCGTCCACCAAGAAGCTGAGCGAGTGTCTCAAGCGCAT
CGGGGACGAACTGGACAGTAACATGGAGCTGCAGAGGATGATTGCCGCCGTGGACA
CAGACTCCCCCGAGAGGTCTTTTTCCGAGTGGCAGCTGACATGTTTTCTGACGGC
AACTTCAACTGGGGCCGGGTGTCGCCCTTTTCTACTTTGCCAGCAAACCTGGTGCT
CAAGGCCCTGTGCACCAAGGTGCCGGAACCTGATCAGAACCATCATGGGCTGGACAT
TGGACTTCCTCCGGGAGCGGCTGTTGGGCTGGATCCAAGACCAGGGTGGTTGGGGG
CTGCCCCCTGGCCGAGTCACTGAAGCGACTGATGTCCCTGTCTCCAGGACGGCCTCC
TCTCCTACTTTGGGACGCCCACGTGGCAGACCGTGACCATCTTTGTGGCGGGAGTG
CTCACCGCCTCACTACCATCTGGAAGAAGATGGGCTGAGGCCCCAGCTGCCTTG
GACTGTGTTGCGGCCGctgagggcagaggaagtcttctaactgacgtgaggagaaatc
ccggcccttccggaATGGAGAGCGACGAGAGCGGCCTGCCCGCCATGGAGATCGAGTG
CCGCATCACCGGCACCTGAACGGCGTGGAGTTCGAGCTGGTGGGCGGCGGAGAGG
GCACCCCCAAGCAGGGCCGCATGACCAACAAGATGAAGAGCACCAAAGGCGCCCTG
ACCTTCAGCCCCTA
CCTGCTGAGCCACGTGATGGGCTACGGCTTCTACCACTTCGGCACCTACCCCAGCG
GCTACGAGAACCCCTTCCTGCACGCCATCAACAACGGCGGCTACACCAACACCCGC
ATCGAGAAGTACGAGGACGGCGGCGTGCTGCACGTGAGCTTCAGCTACCGCTACGA
GGCCGGCCGCGTGATCGGCGACTTCAAGGTGGTGGGCACCGGCTTCCCCGAGGACA
GCGTGATCTTCACCGACAAGATCATCCGCAGCAACGCCACCGTGAGCACCTGCAC
CCCATGGGCGATAACGTGCTGGTGGGCAGCTTCGCCCGCACCTTCAGCCTGCGCGA
CGGCGGCTACTACAGCTTCGTGGTGGACAGCCACATGCACTTCAAGAGCGCCATCC
ACCCCAGCATCCTGCAGAACGGGGGGCCCCATGTTTCGCCTTCGCGCGGTGGAGGAG
CTGCACAGCAACACCGAGCTGGGCATCGTGGAGTACCAGCACGCCTTCAAGACCCC
CATCGCCTTCGCCAGATCCCGCGCTCAGTCGTCCAATTCTGCCGTGGACGGCACCG
CCGGACCCGGCTCCACCGGATCTCGCTAGAGCTGAATCtaagtcgacaatcaacctctgg
attacaaaatttgtaaagattgactggattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatacgt
gctttaatgcctttgtatcatgctattgcttccgctatggctttcattttctcctctgtataaatcctgg
ttgctgtctctttatgaggagttgtggcccggtgtcaggcaacgtggcggtgtgcaactgtgttgctg
acgcaacccccactgggtggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgtttcccc
tccctattgccacggcggaactcatcgccgctgccttgcccgctgctggacaggggctcggctgttg
ggcactgacaattccgtgggtgtgtcggggaaatcatcgctcctttccttggtgtcgcctgtgttgcca
cctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccctccc
gcggcctgtgcggctctgcggcctcttccgctcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccc
tttgggcccctccccgggTAACCGATTTCAGATGGTGCTACGATTAACCGATTTC
AGATGGTGCTATCACTAACCGATTTCAGATGGTGCTACGATTAACCGATTTCAGAT
GGTGCTATCACGGGAGTGAAGACACGGAGCCAGACGATGGGAGTGAAGACACGGAG
CCAGATCACGGGAGTGAAGACACGGAGCCAGACGATGGGAGTGAAGACACGGAGCC
AGAcccgggtaccttaagaccaatgacttacaaaggcagctgtagatcttagccacttttaaaagaa
aaggggggactggaagggttaattcactcccaacgaaaataagatctgctttttgcttgactgggtct
ctctgggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaaactagggaacccactgcttaagcctca
ataaagcttgcccttgagtgttcaagtagtgtgtgccgctgtgtgtgactctggtaactagagatcc
ctcagacccttttagtcagtggtgaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagtat
ataacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagaggaactgtttattgcagcttataatggttacaa
ataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttactgcattctagttgtggtttgtcca

10

20

30

40

50

aactcatcaatgtatcttatcatgtctggctctagctatcccgccccctaactccgcccagttccgccc
tctccgcccccatggctgactaattttttttatattatgcagaggccgaggccgcctcggcctctgagctat
tccagaagtagtgaggaggcttttttgaggccctagacttttgagagacggcccaaattcgtaatcat
ggtcatagctgtttcctgtgtgaaattgttatccgctcacaaattccacacacatacagagccggaagca
taaagtgtaaagcctgggggtgcctaattgagtgagctaactcacattaattgcggttcgctcactgccc
ctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcgggccaacgcgcggggagaggcg
tttgcgtaattggcgctcttccgcttcctcgtcactgactcgtcgcgtcggctcgttcggctgcggcg
agcgggtatcagctcactcaaaggcggttaatacgggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaag
aacatgtgagcaaaaaggccagcaaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcgttgctggcggtttttcc
ataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaacccgac
aggactataaagataaccaggcggtttccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgttccgacctgccc
gcttaccggatacctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctcatagctcacgctgtag
gtatctcagttcgggtgtaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaacccccgttcagccga
ccgctgcgccttatccggtaactatcgtcttgagtccaacccggtaagacacgacttatcgccactggc
agcagccactggtaacaggattagcagagcgagggtatgtaggcgggtgctacagagttcttgaagtgg
tgccctaactacggctacactagaaggacagtatttggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttc
ggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaaacaaaccaccgctggtagcggtgggtttttttgtttgc
aagcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacggggcttga
cgctcagtggaacgaaaactcacgttaagggttttggtcatgagattatcaaaaaggatcttcaccta
gatccttttaaatataaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttggtctgacagt
taccaatgcttaatca
gtgaggcacctatctcagcgatctgtctatttcgttcattccatagttgcctgactccccgtcgtgtagat
aactacgatacgggagggccttaccatctggccccagtgctgcaatgataaccgcgagaccacgctca
ccggctccagatttatcagcaataaaccagccagccgggaaggcgagcgcagaaagtggctcctgcaa
ctttatccgcctccatccagctctattaattgttgccgggaagctagagtaagtagttcgccagttatag
tttgcgcaacgttgttgccattgctacaggcatcgtgggtgtcacgctcgtcgtttggtatggcttcattc
agctccgggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatccccatgtttgtgcaaaaaagcggttagctc
cttcgggtcctccgatcgttgctcagaagtaagttggcgcagtggttatcactcatggttatggcagcact
gcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactgggtgagtactcaaccaagtca
ttctgagaatagtgtagtcggcgaccgagttgctcttgccggcgctcaatacgggataataccgcgcc
acatagcagaactttaaaagtgtcatcattggaaaaacgttcttcggggcgaaaactctcaaggatctt
accgctgttgagatccagttcgatgtaaccactcgtgcacccaactgatcttcagcatcttttactttc
accagcggtttctgggtgagcaaaaacaggaaggcaaaaatgccgcaaaaaagggaataaggcgacac
cggaatgttgaaactcatactcttcttttcaatattattgaagcatttatcagggttattgtctcat
gagcggatacatatttgaaatgtatttagaaaaataaacaataagggggttcgcgcacatttccccgaa
aagtgccacctgacgtctaagaaaccattattatcatgacattaacctataaaaaataggcgtagcacga
ggccctttcgtctcgcggtttcggtgatgacggtgaaaacctctgacacatgcagctcccgagacg
gtcacagcttgctgtgaagcggtatgccgggagcagacaagcccgtcagggcgctcagcgggtgttg
gcgggtgtcggggctggcttaactatgcggcatcagagcagattgtactgagagtgaccatatgcgg
tgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaaaataaccgatcaggcgccatttcgccattcaggctgc
gcaactgttggaaggcgatcgggtgcgggcctcttcgctattacgccagctggcgaaagggggatg
tgctgcaaggcgattaagttgggtaacgccagggttttccagtcacgacgttgtaaaacgacggcca
gtgccaagctg

[配列番号 2 2]

好ましくは、遺伝子構築物は、配列番号 2 2 に実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む。

【0 1 2 2】

B a x コード配列を含む遺伝子構築物の別の実施形態は図 8 I に示され、以下のように配列番号 7 9 によって表される。

acgcgtgtagtcttatgcaatactcttgtagtcttgcaacatggtaacgatgagttagcaacatgcctta

10

20

30

40

50

caaggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattgggtggaagtaaggtggtagcatcgtgccttattag
gaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatattgta
tttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctc
tggttaactagggaaaccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgccttaagtagtgtgtgc
ccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagc
agtggcgcccgaaacagggacctgaaagcgaagggaaccagagctctctcgacgcaggactcggc
ttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgagggggcggcgaactgggtgagtagcggcaaaaattttgactag
cggaggctagaaggagagagatgggtgagagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcg
atgggaaaaaattcgggttaaggccaggggggaaagaaaaaataaaattaaaacatatagtagggca
agcaggggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaaacatcagaaggctgtagacaaat
actgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtag
caaccctctatttgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaagggaagctttagacaagatagag
gaagagcaaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccactgatcttcagacctggaggagg
agatatgagggacaattggagaagtgaattatataaataaaagtagtaaaaattgaaccattaggag
tagcaccaccaaaggcaagagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaataggagctt
tgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgtgacggtagcag
gccagacaattattgtctgtgtatagtcagcagcagaacaatttgcctgaggggctattgaggcgcaaca
gcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagat
acctaaaggatcaacagctcctggggatttgggggttgcctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgc
cttggaatgctagttggagtaataaatctctgggaacagattTggaatcacacgacctggatggagtgg
gacagagaaattaacaattacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaaga
aaagaatgaacaagaattatttggaaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataaaaa
ttggctgtggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagtttttgc
gtactttctatagtgaaatagagtttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaacc
cgaggggacccgacaggcccgaaaggaatagaagaagaagggtggagagagagacagagacagatcc
attcgattagtgaacggatctcgacgggATCGGTtaacttttaaaagaaaaggggggattgggggggt
acagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca
aattacaaaaattcaaaattttatGTCGAGccatagagcccaccgcatcccagcatgcctgctattg
tcttcccaatcctcccccttgcctgcctgccccacccccacccccagaaatagaatgacacctactcaga
caatgcgatgcaatttctcattttattaggaaaggacagtgggagtggcaccttccagggtcaagga
aggcacggggggaggggcaaacacagatggctggcaactagaaggcacagtcgCtcgagGGGCC
TGTCGCAAGCACGCTGCATAGCGGGCCTGTCCGCAAGCACGCTGCACACTGGGCC
TGTCGCAAGCACGCTGCATAGCGGGCCTGTCCGCAAGCACGCTGCACACTCCAC
CCCTAAACAACGTAATGTAGCCCCACCCCTAAACAACGTAATGCACTCCCACCCCT
AAACAACGTAATGTAGCCCCACCCCTAAACAACGTAATGCACTTGACATCATAACC
GTGAAGGTCTAGCTGACATCATAACCGTGAAGGTCCACTTGACATCATAACCGTGA
AGGTCTAGCTGACATCATAACCGTGAAGGTCCACTACTCCGCCCCCCCCGCTCGTAG
CACTCCGCCCCCCCCGCTCGCACTACTCCGCCCCCCCCGCTCGTAGCACTCCGCCCCC
CGCTCGCACTGACGTTACATTTCGTGAAGAATGTAGCGACGTTACATTTCGTGAAGAATGCA
TGCACTGACGTTACATTTCGTGAAGAATGTAGCGACGTTACATTTCGTGAAGAATGCA
CTGCCCCAGCCGCCGCTGCACTAGCGCCCCAGCCGCCGCTGCACCACTGCCCCAGC
CGCCGCTGCACTAGCGCCCCAGCCGCCGCTGCACctcgagTCAAACCTTCTCTTCTT
CTTAGGAGGCCTCAGGCTGCTCTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCTGTGCCA
GCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGGCGGTTTTCGTATTGGGCGCC
AGGGTGGTTTTTTCTTTTACCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTACCAGC
CTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGGCCCAGCAGGCGAA
AATCCTGTTTGTATGGTGGTTAACGGCGGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCG
TCGTATCCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCGGACTCGGTAA
TGGCGCGCATTGCGCCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGA
ACGATGCCCTCATTACGCAATTTGCATGGTTTGTGAAAACCGGACATGGCACTCCA

10

20

30

40

50

GTCGCCTTCCCGTTCCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCC
AGCCAGCCAGACGCAGACGCGCCGAGACAGAACTTAATGGGCCCCTAACAGCGCG
ATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCACGCCCAGTCGCGTACCGTCTTC
ATGGGAGAAAATAATACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACG
CCGGAACATTAGTGACAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCATCCAGCGGA
TAGTTAATGATCAGCCCCTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACCGCCGCTTT
ACAGGCTTCGACGCCGCTTCGTTCTACCATCGACACCACACGCTGGCACCCAGTT
GATCGGCGCGAGATTTAATCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCAGGGCCAGA
CTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTTGTTGTGCCAC
GCGGTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTTCCCGCGTTTTT
CGCAGAAACGTGGCTGGCCTGGTTTACCACGCGGGAAACGGTCTGATAAGAGACAC
CGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTCATGGTGGGAGGGTACcTA
GGTAAGCTTGGGCTGCAGGTCGAAAGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGC
GGCAGACGTGCGCTTTTGAAGCGTGCGAATGCCGGGCCCTCCGGAGGACCTTCGGG
CGCCCGCCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCGGACCCACCCCTTCCC
AGCCTCTGAGCCCAGAAAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCAAAG
GCCTACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGCACGAGACTAGTGAGAC
GTGCTACTTCCATTTGTACGTCCTGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGGGGGGGAAAC
TTCCTGACTAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGGCCACCAAAGAACGGAGC
CGGTTGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTGTGCGAGGGCCAGAGGGCCACTTGTGT
AGCGCCAAGTGCCAGCGGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAA
AGCGCCTCCCCTACCCGGTAGAAGCTAGCGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAG
CGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACCGG
TGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCC
GCCTTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGACGTAGTCGCCGTGAAC
GTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTC
CCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCAC
CTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGA
GTTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGG
CCTGGGCGCTGGGGCCGCGCGGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGC
TGCTTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTT
TTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTCCG
TTTTTGGGGCCGCGGGCGGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCCGGCG
AGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGG
CCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCGGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGG
CAAGGCTGGCCCGGTGCGCACCAAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGC
CCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGA
GTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACT
CCACGGAGTACCGGGCGCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGACCTTTTGGAGT
ACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGA
GTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAAAT
TTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTTATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAA
GTTTTTTTTCTTCCATTTTCAAGGTGTGCTGAtctagagctagcgAATTTCGTAAATATAAAA
TTTACTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGT
GGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCG
CTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGTGTATAATGTGTTAACTACGGATCCGTCTC
CCATTAGGCCTACAATGGTGAGACAAGTAGCCAACAGGGGAAGGGTTGCAAATATCA
TTTGGGCACACCTATGATAATATTGATGAAGCAGACAGTATTCAAGCAAGTAACTGA
GAGGTGGGAAGCTCAAAGCCAAAGTCCTAATGTGCAGTCAGGTGAATTTATTGAAA
AATTTGAGGCTCCTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGGGATCCTAATTG

10

20

30

40

50

TTTGTGTATTTTAGGCggccgctgaatggacgggtccggggagcagcccagaggcggggggcc
caccagctctgagcagatcatgaagacaggggcccttttgcttcagggtttcatccaggatcgagcag
ggcgaatggggggggaggcaccgagctggccctggaccgggtgcctcaggatgcgtccaccaaga
agctgagcagtgctctcaagcgcacatcggggacgaactggacagtaacatggagctgcagaggatgat
tgccgccgtggacacagactccccccgagaggtctttttccgagtgggcagctgacatgttttctgacgg
caacttcaactggggccgggttgctgcc
cttttctactttgcccagcaactgggtgctcaaggccctgtgcaccaagggtgccggaactgatcagaacc
atcatgggctggacattggacttccctccgggagcggctgttgggctggatccaagaccagggtgggtg
ggggctgccccctggccgagtcactgaagcgactgatgtccctgtctccaggacggcctcctctcctac
tttgggacgcccacgtggcagaccgtgaccatctttgtggcgggagtgctcaccgcctcactcaccat
ctggaagaagatgggctgaggccccagctgccttggactgtgtttttcctccagcggccgctgaggg
cagaggaagtcttctaacatgcggtgacgtggaggagaatcccggcccttccggaATGGAGAGCG
ACGAGAGCGGCCTGCCCGCCATGGAGATCGAGTGCCGCATCACCGGCACCCTGAAC
GGCGTGGAGTTCGAGCTGGTGGGCGGCGGAGAGGGCACCCCCAAGCAGGGCCGCAT
GACCAACAAGATGAAGAGCACCAAAGGCGCCCTGACCTTCAGCCCCTACCTGCTGA
GCCACGTGATGGGCTACGGCTTCTACCACTTCGGCACCTACCCAGCGGCTACGAG
AACCCCTTCCTGCACGCCATCAACAACGGCGGCTACACCAACACCCGCATCGAGAA
GTACGAGGACGGCGGCGGTGCTGCACGTGAGCTTCAGCTACCGCTACGAGGCCGGCC
GCGTGATCGGCGACTTCAAGGTGGTGGGACACCGGCTTCCCCGAGGACAGCGTGATC
TTCACCGACAAGATCATCCGCAGCAACGCCACCGTGAGCACCTGCACCCCATGGG
CGATAACGTGCTGGTGGGCGAGCTTCGCCCGCACCTTCAGCCTGCGCGACGGCGGCT
ACTACAGCTTCGTGGTGGACAGCCACATGCACTTCAAGAGCGCCATCCACCCAGC
ATCCTGCAGAACGGGGGCCCCATGTTTCGCCTTCCGCCGCGTGAGGAGCTGCACAG
CAACACCGAGCTGGGCATCGTGGAGTACCAGCACGCCTTCAAGACCCCATCGCCT
TCGCCAGATCCCGCGCTCAGTCGTCCAATTCTGCCGTGGACGGCACCGCCGGACCC
GGCTCCACCGGATCTCGCTAGAGCTGAATCtaagtcgacaatcaacctctggattacaaaat
ttgtgaaagattgactggattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatacgtgctttaatgc
ctttgtatcatgctattgcttcccgatggctttcattttctcctccttgataaatcctgggtgctgtctt
ttatgaggagttgtggcccggtgtcaggcaacgtggcgtgggtgtgcaactgtgtttgctgacgcaacccc
cactgggtggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttccccctccctattgcc
acggcggaactcatcgccgcctgccttgcccgcctgctggacaggggctcggctgttgggcactgaca
attccgtgggtgttgctggggaaatcatcgctcctttccttggctgctcgcctgtgttgccacctggattct
gcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcctgct
gccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccttcagacgagtcggatctcctttggggccgc
ctccccgcccgggACACACCAAGGATAATTTCTCCCGATACACACCAAGGATAATTTCTCCT
TCCTCACACACACCAAGGATAATTTCTCCCGATACACACCAAGGATAATTTCTCCT
CACAACCTGGATGTCCCTGTATGATTTCGATAACTGGATGTCCCTGTATGATTTACAAAGA
ACTGGATGTCCCTGTATGATTTCGATAACTGGATGTCCCTGTATGATTTACAAAGA
GGTTAACCATGTATTATCGATAAAGAGGTTAACCATGTATTATTACAAAGAGGTT
AACCATGTATTATCGATAAAGAGGTTAACCATGTATTATTACAGGTTAGTGGACCG
TGTTACATACGATGGTTAGTGGACCGTGTTACATATCACGGTTAGTGGACCGTGTT
ACATACGATGGTTAGTGGACCGTGTTACATATCACGAATTCACCAAGGGCAACCTC
TCGATGAATTCACCAAGGGCAACCTCTTCACGAATTCACCAAGGGCAACCTCTCGA
TGAATTCACCAAGGGCAACCTCTTCACAACTCCTGTATGAAGCCGTTCCGATAACT
CCTGTATGAAGCCGTTCTCACAACCTCCTGTATGAAGCCGTTCCGATAACTCCTGTA
TGAAGCCGTTCTCACATGGCAATATGTTGGCATAGCACGATATGGCAATATGTTGG
CATAGCATCACATGGCAATATGTTGGCATAGCACGATATGGCAATATGTTGGCATA
GCATCACGCACAGCAAGTGTAGACAGGCACGATGCACAGCAAGTGTAGACAGGCAT
CACGCACAGCAAGTGTAGACAGGCACGATGCACAGCAAGTGTAGACAGGCATCACA
ACATACAAAGGGTATCCTCTCGATAACATACAAAGGGTATCCTCTTCACAACATAC

10

20

30

40

50

AAAGGGTATCCTCTCGATAACATACAAAGGGTATCCTCTTCACCTCCCTTCTTTCTTCT
CCCGTCTTCGATCTCCCTTCTTTCTCCCGTCTTTCACCTCCCTTCTTTCTTCTCCCGT
CTTCGATCTCCCTTCTTTCTTCTCCCGTCTTcccgggtacctttaagaccaatgacttacaaggc
agctgtagatcttagccactttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcactcccaacgaa
aataagatctgcttttctgttactggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctgg
ctaactaggggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgccctgagtgcttcaagtagtggtgccc
tctg
ttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtagta
gttcatgtcatcttattattcagtatttataaacttgcaaagaaatgaatatcagagagttagaggaactt
gtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcattttt
tactgcatcttagttgtgtgttctcctcactcatcaatgtatcttatcatgtctggcttagctatcccg
cccctaactccgcccagttccgcccattctccgccccatggctgactaatttttttatttatgcagagg
ccgaggccgctcggcctctgagctattccagaagtagtgaggaggccttttttgagggcctagacttt
gcagagacggcccaaattcgtaatcatggctcatagctgtttcctgtgtgaaattgtttatccgctcaca
ttccacacaacatacagagccggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgcctaatagtgtgagctaact
acattaattgcttgcgctcactgcccgtttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatga
atcgcccaacgcgcggggagaggcggttgcgtattggcgctcttccgcttccctcgtcactgactc
gctgcgctcggctgctcggctgaggcggtatcagctcactcaaaggcggttaatacgggttatcca
cagaatcaggggataacgcaggaaagaacatgtgagcaaaaaggccagcaaaaaggccaggaaccgta
aaaaggccgcttgcgtggttcttccataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgc
tcaagtcagaggtggcgaaacccgacaggactataaagataaccaggcgtttccccctggaagctccct
cgtgcgctctcctgttccgaccctgccgcttacccggataacctgtccgctttctcccttcgggaagcgt
ggcgctttctcatagctcacgctgtaggtatctcagttcgggtgtaggtcgttcgtccaagctgggctg
tgtgcacgaaccccccgctcagcccagcgtgcgccttatccggtaactatcgtcttgagttccaaccc
ggtaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcgaggtatgta
ggcggtgctacagagttcttgaagtgggtggcctaactacggctacactagaaggacagtatttggtat
ctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaacaaacca
ccgctggttagcggtggttttttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaa
gatcctttgatcttttctacgggggtctgacgctcagtggaacgaaaaactcacgttaagggattttggtc
atgagattatcaaaaaggatcttcacctagatccttttaattaaaaatgaagttttaaatcaatctaaa
gtatataatgagtaaaacttggctctgacagttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatct
gtctatttcgttcatccatagttgctgactccccgtcgtgtagataactacgatacgggagggccttacc
atctggccccagtgctgcaatgataccgcgagacccacgctcacccggctccagatttatcagcaataa
accagccagccggaaggccgagcgcagaagtggctcctgcaactttatccgctccatccagttctatt
aattgttgccgggaagctagagtaagtagttcgccagttaatagtttgcgcaacgttgttgccattgct
acaggcatcgtgggtgtcacgctcgtcgtttgggtatggcttcattcagctccggttcccaacgatcaagg
cgagttacatgatccccatgttggtgcaaaaaagcggtagctccttcgggtcctccgatcgttgtcaga
agtaagttggccgagtggttatcactcatgggttatggcagcactgcataattctcttactgtcatgccat
ccgtaagatgcttttctgtgactgggtgagtaactcaaccaagtcattctgagaatagtgtagcgggcgac
cgagttgctcttgccggcgctcaatacgggataataccgcgccacatagcagaactttaaaagtgctc
atcattggaaaaacgttcttcggggcgaaaaactctcaaggatcttaccgctgttgagatccagttcgatg
taaccactcgtgcacccaactgatcttcagcatcttttactttaccagcgtttctgggtgagcaaaaa
caggaaggcaaaatgccgcaaaaaagggaataaggggcgacacggaaatgttgaaatactcatactctt
cctttttcaatattattgaagcatttatcagggttattgtctcatgagcggatacatatttgaaatgtattta
gaaaaataaacaataagggggttcgcgcacatttccccgaaaagtgccacctgacgtctaagaaacc
attattatcatgacattaacctataaaaaataggcgatcacgaggccctttcgtctcgcgcgtttcgggtg
atgacgggtgaaaaacctctgacacatgcagctcccgagacgggtcacagcttgtctgtaagcggtatgcc
gggagcagacaagcccgtcagggcgcgctcagcgggtgttgggcggtgtcggggctggcttaactatg
cggcatcagagcagattgtactgagagtgaccataatgcgggtgtgaaataccgcacagatgcgtaag
gagaaaaataccgcatcaggcgccattcgccattcaggctgcgcaactgttggaaggcgatcggtg

10

20

30

40

50

cgggcctcttcgctattacgccagctggcgaaagggggatgtgctgcaaggcgattaagttgggtaac
gccagggttttcccagtcacgacgttgtaaacgacggccagtgccaagctg

[配列番号 79]

好ましくは、遺伝子構築物は、配列番号 79 に実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む。

【0123】

遺伝子構築物の別の実施形態は図 8 E に示され、A p o p t i n コード配列を含んでもよく、以下のように配列番号 23 によって表されることができる。

acgcgtgtagtcttatgcaatactcttgtagtcttgcaacatggtaacgatgagttagcaacatgcctta
caaggagagaaaaagcacccgtgcatgccgattgggtggaagtaagggtggtagcgtgcttattag
gaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatattgta
tttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctgggttagaccagatctgagcctgggagctctc
tggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgcccttgagtgcctcaagtagtgtgtgc
ccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaaatctctagc
agtggcgcccgaaacagggaacctgaaagcgaaagggaaccagagctctctcgacgcaggactcggc
ttgctgaagcgcgacggcaagaggcgaggggcggcgactgggtgagtagcggcaaaaattttgactag
cggaggctagaaggagagagatgggtgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcg
atgggaaaaaattcgggttaaggccagggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtagggca
agcaggggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaat
actgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtag
caaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaaagacaccaagggaagctttagacaagatagag
gaagagcaaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccactgatcttcagacctggaggagg
agatatgagggacaattggagaagtgaattatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggag
tagcaccacccaaggcaaaagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaataggagctt
tgctccttggttcttgaggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgtgacggtagcag
gccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgaggggctattgaggcgcaaca
gcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccagggaagaatcctggctgtggaaagat
acctaaaggatcaacagctcctggggatttggtggtgctctggaaaactcatttgaccactgctgtgc
cttggaatgctagttggagtaataaatctctggaaacagattTggaatcacacgacctggatggagtgg
gacagagaaaattaacaattacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaaga
aaagaatgaacaagaattattggaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaa
ttggctgtggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggttaggtttaagaatagttttgct
gtactttctatagtgaaatagagtttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaacc
cgagggggacccgacaggcccgaaggaaatagaagaagaagggtggagagagagacagagacagatcc
attcgattagtgaaacggatctcgacgggATCGGTtaacttttaaaagaaaaggggggattgggggggt
acagtgcagggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca
aattacaaaaattcaaaattttatGTCGAGccatagagcccaccgcatcccagcatgcctgctattg
tcttcccaatcctcccccttgctgtcctgccccacccccacccccagaatagaatgacacctactcaga
caatgcgatgcaatttcctcattttattaggaaaggacagtgggagtggcaccttcagggtcaagga
aggcacgggggagggggcaaacacagatggctggcaactagaaggcacagtcgCtcgagAGTAA
AACACTACAACGTCGATAGCAGTAAACACTACAACGTCGACACTAGTAAACACT
ACAACGTCGATAGCAGTAAACACTACAACGTCGACACTAGTGTCACTTGGCCAGA
GAAATAGCAGTGTCACTTGGCCAGAGAAACACTAGTGTCACTTGGCCAGAGAAATA
GCAGTGTCACTTGGCCAGAGAAActcgagTCAAACCTTCCTCTTCTTCTTAGGAGGC
CTCAGGCTGCTCTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCTGTGCCAGCTGCATTAA
TGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTTCGTATTGGGCGCCAGGGTGTTTT
TTCTTTTTCACCAAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTCACCGCCTGGCCCTGA
GAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGGCCCAGCAGGCGAAAATCCTGTTT
GATGGTGGTTAACGGCGGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCGTATCCCA
CTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGGCGCGCATTTGCG

10

20

30

40

50

CCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATT
CAGCATTGTCATGGTTTGTGAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCCTTCCCGTT
CCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCCAGCCAGCCAGACGC
AGACGCGCCGAGACAGAACTTAATGGGCCCCGCTAACAGCGCGATTGCTGGTGACC
CAATGCGACCAGATGCTCCACGCCCAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAA
TACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACGCCGGAACATTAGTG
CAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCATCCAGCGGATAGTTAATGATCAG
CCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACCGCCGCTTTACAGGCTTCGACGC
CGCTTCGTTCTACCATCGACACCACCACGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAGAT
TTAATCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCAGGGGCCAGACTGG
AGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTTGTTGTGCCACGCGG
TTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCCCGCGTTTTTCGCA
GAAACGTGGCTGGCCTGGTTCACCACGCGGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGC
ATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTCATGGTGGGAGGGTACcTAGGTA
AGCTTGGGCTGCAGGTCGAAAGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCA
GACGTGCGCTTTTGAAGCGTGCAGAATGCCGGGCTCCGGAGGACCTTCGGGCGCC
CGCCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCGGACCCACCCCTTCCCAGCC
TCTGAGCCCAGAAAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCAAAGGCCT
ACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGCACGAGACTAGTGAGACGTGC
TACTTCCATTTGTCACGTCCTGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGGGGGGGAACCTCC
TGACTAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGCCACCAAAGAACGGAGCCGGT
TGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTGTGCGAGGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCG
CCAAGTGCCAGCGGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAAAGCG
CCTCCCCCTACCCGGTAGAAGCTAGCGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCA
CATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACCGGTGCC
TAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCT
TTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTT
TTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGC
GGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCCTTGAATTACTTCCACCTGG
CTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTC
GAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTG
GGCGCTGGGGCCGCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCT
TTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTT
TGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTT
TGGGGCCGCGGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTGGGCGAGGC
GGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGG
CCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCGTGATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAG
GCTGGCCCGGTGCGCACCAAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTG
CTGCAGGGAGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCA
CCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCAC
GGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGACCTTTTGGAGTACGT
CGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGG
GTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAAATTTGC
CCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTT
TTTTCTTCCATTTAGGTTGTCGTGAtctagagctagcgAATTGTAATATAAAATTTA
CTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAA
TTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCA
CAATTCCACAGTCGACCCTAGTGTATAATGTGTTAAACTACGGATCCGTCTCCCAT
TAGGCCTACAATGGTGAGACAAGTAGCCAACAGGGAAGGGTTGCAAATATCATTTG
GGCACACCTATGATAATATTGATGAAGCAGACAGTATTAGCAAGTAACTGAGAGG

10

20

30

40

50

TGGGAAGCTCAAAGCCAAAGTCCTAATGTGCAGTCAGGTGAATTTATTGAAAAATT
TGAGGCTCCTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGGGATCCTAATTGTTTG
TGTATTTTAGGCggccgcatgaacgctctccaagaagatactccacccggaccatcaacggtgtt
caggccaccaacaagttcacggccgttggaaacccctcactgcagagagatccggattggtatcgctg
gaattacaatcactctatcgctgtgtggctgcgcgaaatgctcgcgctccacgctaagatctgcaactg
cggacaattcagaaagcactggtttcaagaatgtgccggacttgaggaccgatcaacccaagcctcc
tcgaagaagcgatcctgcgacccctccgagtacagggttaagcgagctaaaagaaagcttgattacca
ctactcccagccgaccccgaaaccgcaagaaggcgtataagactgtaaGCGGCCGCTgagggcgaga
ggaagtcttctaacaatgcggtgacgtggaggagaatcccgcccttcggaATGGAGAGCGACG
AGAGCGGCCTGCCCGCCATGGAGATCGAGTGCCGCATCACCGGCACCTGAACGGC
GTGGAGTTTCGAGCTGGTGGGCGGCGGAGAGGGCACCCCCAAGCAGGGCCGCATGAC
CAACAAGATGAAGAGCACCAAAGGCGCCCTGACCTTCAGCCCCTACCTGCTGAGCC
ACGTGATGGGCTACGGCTTCTACCACTTCGGCACCTACCCCAGCGGCTACGAGAAC
CCCTTCCTGCACGCCATCAACAACGGCGGCTACACCAACACCCGCATCGAGAAGTA
CGAGGACGGCGGCGTGCTGCACGTGAGCTTCAGCTACCGCTACGAGGCCGGCCGCG
TGATCGGCGACTTCAAGGTGGTGGGCACCGGCTTCCCCGAGGACAGCGTGATCTTC
ACCGACAAGATCATCCGCAGCAACGCCACCGTGGAGCACCTGCACCCCATGGGCGA
TAACGTG
CTGGTGGGCAGCTTCGCCCGCACCTTCAGCCTGCGCGACGGCGGCTACTACAGCTT
CGTGGTGGACAGCCACATGCACTTCAAGAGCGCCATCCACCCCAGCATCCTGCAGA
ACGGGGGCCCCATGTTTCGCCTTCCGCCGCGTGGAGGAGCTGCACAGCAACACCGAG
CTGGGCATCGTGGAGTACCAGCACGCCTTCAAGACCCCCATCGCCTTCGCCAGATC
CCGCGCTCAGTCGTCCAATTCTGCCGTGGACGGCACCGCCGGACCCGGCTCCACCG
GATCTCGCTAGAGCTGAATCtaagtcgacaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattg
actggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatacgtgctttaatgcctttgtatcatgct
attgcttcccgtatggctttcattttctcctccttgataaatcctggttgctgtctctttatgaggagtgtg
tggcccgttgtcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgtttgtgacgcaacccccactggttgggg
cattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgctttccccctccctattgccacggcggaactc
atcgccgcctgccttgcccgtgctggacaggggctcggctgttgggcaactgacaattccgtggtgtt
gtcgggggaaatcatcgtcctttccttggtgctcgcctgtgttgccacctgattctgcgcgggacgtc
cttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcgccctgctgccggctctgcg
gcctcttccgcgtcttccgcttcgcccctcagacgagtcggatctcccttggggccgctccccgcccgg
gTAACCGATTTTCAGATGGTGCTACGATTAACCGATTTTCAGATGGTGCTATCACTAA
CCGATTTTCAGATGGTGCTACGATTAACCGATTTTCAGATGGTGCTATCACGGGAGTG
AAGACACGGAGCCAGACGATGGGAGTGAAGACACGGAGCCAGATCACGGGAGTGAA
GACACGGAGCCAGACGATGGGAGTGAAGACACGGAGCCAGAcccgggtacctttaagac
caatgacttacaaggcagctgtagatcttagccactttttaaaagaaaaggggggactggaagggcta
attcactcccaacgaaaataagatctgctttttgcttgtagtgggtctctctggttagaccagatctgag
cctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgcttgagtgttc
aagtagtgtgtgcccgtctgttggtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtg
gaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagatatttataacttgcaaagaaatgaatat
cagagagtgagaggaaacttgtttattgcagcttataatggttacaataaagcaatagcatcacaat
tcacaaataaagcatttttttactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttcat
gtctggctctagctatcccggccctaaactccggccagttccggccattctccggcccatggctgactaa
ttttttttatttatgcagaggccgaggccgcctcggcctctgagctattccagaagtagtgaggaggct
tttttgagggcctagacttttgcagagacggcccaaattcgtaatcatggtcatagctgtttcctgtgtg
aaattgttatccgctcacaattccacacaacatacagagccggaagcataaagtgtaaagcctgggggtg
cctaattgagttagctaaactcacattaattgcgttgcgctcactgcccgctttccagtcgggaaacctgt
cgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcgcggggagaggcggtttgcgtattgggcgctcttcc
gcttctcgtcactgactcgtcgcgtcggctcgttcggctgcggcgagcggtatcagctcactcaaa

10

20

30

40

50

ggcggtaatacggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaagaacatgtgagcaaaaaggcca
gcaaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcttgctggcgtttttccataggctccgccccctgacg
agcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaacccgacaggactataaagataccaggc
gtttccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgtttccgaccctgccgcttaccggatacctgtccgc
ctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctcatagctcacgctgtaggtatctcagttcgggtgtaggtc
gttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaacccccgttcagcccgaccgctgcgccttatccggtaa
ctatcgtcttgagtccaacccggtaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacagga
ttagcagagcagaggtatgtagggcggtgctacagagttcttgaaagtgggtggcctaactacggctacact
agaaggacagtatattgggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagctct
tgatccggcaaaacaaaccaccgctggtagcgggtgggttttttgtttgcaagcagcagattacgcgcag
aaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacggggcttgacgctcagtggaacgaaaactc
acgttaagggtattttgggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacctagatccttttaaatataaaatga
agttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttggtctgacagttaccaatgcttaatcagtgagg
cacctatctcagcgtatctgtctatttcgttcattccatagttgacctgactccc
cgtcgtgtagataactacgatacgggagggccttaccatctggccccagtgctgcaatgataccgcgag
accacgctcaccggctccagatttatcagcaataaaccagccagccggaaggccgagcgcagaag
tggtcctgcaactttatccgcctccatccagctctattaattgttgccgggaagctagagtaagtagttcg
ccagttaatagtttgcgcaacggttggttgccattgctacaggcatcgtgggtgtcacgctcgtcgtttggta
tggtttcattcagctccggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatcccccattgttggtgcaaaaaag
cggttagctccttcgggtcctccgatcgttggtcagaagtaagttggccgcagtggtatcactcatggttat
ggcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactgggtgagtactca
accaagtcattctgagaatagtgtatgcggcgaccgagttgctcttgccggcgctcaatacgggataa
taccgcgccacatagcagaactttaaaagtgtctcatcattggaaaacgttcttcggggcgaaaaactctc
aaggatcttaccgctgttgagatccagttcgtatgtaaccactcgtgcacccaactgatcttcagcatc
ttttactttcaccagcgtttctgggtgagcaaaaacaggaaggcaaaatgccgcaaaaaagggaataa
gggcgacacggaaatgttgaaactcatactcttctttttcaatattattgaagcatttatcagggttat
tgtctcatgagcggatacatatttgaaatgtatttagaaaaataaacaataagggttccgcgcacattt
ccccgaaaagtgccacctgacgtctaagaaaccattattatcatgacattaacctataaaaaataggcgt
atcacgaggccctttcgtctcgcgcgtttcgggtgatgacgggtgaaaacctctgacacatgcagctccc
ggagacgggtcacagcttgctgtgaagcggatgccgggagcagacaagccgctcaggggcgcgctcagc
gggtgttgccgggtgtcggggctggcttaactatgcggcatcagagcagattgtactgagagtgacc
atatgcgggtgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaaataccgcacagggcgccattcgccattc
aggctgcgcaactgttggaaggcgatcgggtgcgggcctcttcgctattacgccagctggcgaaag
ggggatgtgctgcaaggcgattaagttgggtaacgccagggttttccagtcacgacgttgtaaaacg
acggccagtgccaagctg

[配列番号 23]

好ましくは、遺伝子構築物は、配列番号 23 に実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む。

【0124】

A p o p t i n コード配列を含む遺伝子構築物の別の実施形態は図 8 J に示され、以下のように配列番号 80 によって表される。

acgcgtgtagtcttatgcaatactcttgtagtcttgcaacatggtaacgatgagtttagcaacatgcctta
caaggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattgggtggaagtaagggtggtagcgtgccttattag
gaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatattgta
tttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctgggttagaccagatctgagcctgggagctctc
tggttaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgcccttgagtgccttcaagtagtgtgtgc
ccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaaatctctagc
agtggcgcccgaaacagggaacctgaaagcgaaagggaaccagagctctctcgacgcaggactcggc
ttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgagggggcgcgactgggtgagtacgccaaaaattttgactag
cggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcggggggagaattagatcgcg

atgggaaaaaattcgggtaaggccagggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtatgggca
agcagggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaat
actgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtag
caacctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaaagacaccaagggaagcctttagacaagatagag
gaagagcaaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccactgatcttcagacctggaggagg
agatatgagggacaattggagaagtgaattatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggag
tagcaccaccaaaggcaagagagaagagtgggtgcagagagaaaaagagcagtgggaataggagcctt
tgttccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgctgacggtaacag
gccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggcctattgagggcgcaaca
gcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagat
acctaaaggatcaacagctcctggggatttgggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgc
cttggaatgctagttggagtaataaatctctggaacagattTggaatcacacgacctggatggagtgg
gacagagaaaattaacaattacacaagccttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaaga
aaagaatgaacaagaattattggaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaa
ttggctgtggtatataaaaattattcataatgatatagtaggaggccttggttaggtttaagaatagttttgct
gtactttctatagtgaatagagtttaggcagggatattcaccattatcgtttcagaccacctcccaacc
cgagggggacccgacaggcccgaaggaaatagaagaagaagggtggagagagagacagagacagatcc
attcgattagtgaacggatctcgacgggATCGGTtaacttttaaaagaaaaggggggattgggggggt
acagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca
aattacaaaaattcaaaattttatGTCGAGccatagagcccaccgcatccccagcatgcctgctattg
tcttcccaatcctcccccttgctgtcctgccccacccccacccccagaatagaatgacacctaactcaga
caatgcgatgcaatttcctcattttattaggaaaggacagtgggagtgggcaccttccagggtcaagga
aggcacggggggagggggcaacaacagatggctggcaactagaaggcacagtcgCtcgagGGGCC
TGTCGCAAGCACGCTGCATAGCGGGCCTGTCCGCAAGCACGCTGCACACTGGGCC
TGTCGCAAGCACGCTGCATAGCGGGCCTGTCCGCAAGCACGCTGCACACTCCAC
CCCTAAACAACGTAATGTAGCCCCACCCCTAAACAACGTAATGCACTCCCACCCCT
AAACAACGTAATGTAGCCCCACCCCTAAACAACGTAATGCACTTGACATCATACCC
GTGAAGGTCTAGCTGACATCATACCCGTGAAGGTCCACTTGACATCATACCCGTGA
AGGTCTAGCTGACATCATACCCGTGAAGGTCCACTACTCCGCCCCCCCCGCTCGTAG
CACTCCGCCCCCCCCGCTCGCACTACTCCGCCCCCCCCGCTCGTAGCACTCCGCCCCCC
CGCTCGCACTGACGTTACATTTCGTGAAGAATGTAGCGACGTTACATTTCGTGAAGAA
TGCACTGACGTTACATTTCGTGAAGAATGTAGCGACGTTACATTTCGTGAAGAATGCA
CTGCCCCAGCCGCGCTGCACTAGCGCCCCAGCCGCGCTGCACCACTGCCCCAGC
CGCCGCTGCACTAGCGCCCCAGCCGCGCTGCACctcgagTCAAACCTTCTCTTCTT
CTTAGGAGGCCTCAGGCTGCTCTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCTGTGCCA
GCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTTGCGTATTGGGCGCC
AGGGTGGTTTTTCTTTTACCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTACCGC
CTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTTGCCCCAGCAGGCGAA
AATCCTGTTTGATGGTGGTTAACGGCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCG
TCGTATCCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCGGACTCGGTAATGGC
GCGCATTGCGCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGA
TGCCCTCATTACAGCATTTCATGGTTTGTGAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCG
CCTTCCCGTTCCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATA
TTTATGCCAGCCAGCCAGACGCGAGACGCGCCGAGACAGAACTTAATGGGCCCCGCTA
ACAGCGCGATTTGCTGGTGACCAATGCGACCAGATGCTCCACGCCCAGTCGCGTA
CCGTCTTCATGGGAGAAAATAATACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAG
AAATAACGCCGGAACATTAGTGCAAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCAT
CCAGCGGATAGTTAATGATCAGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACC
GCCGCTTTACAGGCTTCGACGCGCTTCGTTCTACCATCGACACCACCACGCTGGC
ACCCAGTTGATCGGCGCGAGATTTAATCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCA

10

20

30

40

50

GGGCCAGACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTTGT
TGTGCCACGCGGTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCC
CGCGTTTTTCGCAGAAACGTGGCTGGCCTGGTTCACCACGCGGGAAACGGTCTGATA
AGAGACACCGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTTCATGGTGGGAG
GGTACcTAGGTAAGCTTGGGCTGCAGGTGCAAAGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGGAG
AACAGCGCGGCAGACGTGCGCTTTTGAAGCGTGCAAGATGCCGGGCTCCGGAGGA
CCTTCGGGCGCCCGCCCCGCCCTGAGCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCGGACCCAC
CCCTTCCCAGCCTCTGAGCCCAGAAAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTG
CCCCAAAGGCCTACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGCACGAGACT
AGTGAGACGTGCTACTTCCATTTGTACGTCCTGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGG
GGGGGAACTTCTGACTAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGGCCACCAAAG
AACGGAGCCGGTTGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTGTGCGAGGCCAGAGGCC
ACTTGTGTAGCGCCAAGTGCCAGCGGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCC
TTGGGAAAAGCGCCTCCCCCTACCCGGTAGAAGCTAGCGGCTCCGGTGCCCGTCAGT
GGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTGCGCAAT
TGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTGCTGTA
CTGGCTCCGCCTTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCG
CCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTG
TGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCTTGAATT
ACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGG
GTGGGAGAGTTCGAGGCCTTGCGCTTAAGGAGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTG
AGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCC
TGTCTCGCTGCTTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCG
ACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGG
TATTTTCGGTTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCAGCGCACAT
GTTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCT
CAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCGGTGTATCGCCCCGCC
CTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTGCGCACCAAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGC
TTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGG
GCGGGTGAGTCACCCACACAAAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCTCAGCCGTGCTTC
ATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGACCT
TTTGAGTACGTCGTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCC
CACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTC
CTTGGAATTTGCCCTTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTTCACTTCTCAAGCCTCAGACAGT
GGTTCAAAGTTTTTTTTCTTCCATTTAGGTGTCGTGAtctagagctagcgAATTCGTAA
ATATAAAATTTACTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCC
TAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAAT
TGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGTGTATAATGTGTTAACTACGGA
TCCGTCTCCCATTAGGCCTACAATGGTGAGACAAGTAGCCAACAGGGAAGGGTTGC
AAATATCATTTGGGCACACCTATGATAATATTGATGAAGCAGACAGTATTCAGCAA
GTAAGTGAAGAGGTGGGAAGCTCAAAGCCAAAGTCCTAATGTGCAGTCAGGTGAATT
TATTGAAAAATTTGAGGCTCCTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGGGAT
CCTAATTGTTTGTGTATTTTAGGCgggccgcatgaacgctctccaagaagatactccaccggg
ccatcaacgggtgttcaggccaccaacaagttcacggcgttggaacccctcactgcagagagatccg
gattgggtatcgctggaattacaatcactctatcgctgtgtggctgcgcggaatgctcgcgctccacgct
aagatctgcaactgcggacaattcagaaagcactggtttcaagaatgtgccggacttgaggaccgatc
aaccgaagcctccctcgaagaagcgatcctgcgacccctccgagtacagggtgaagcgagctaaaaga
aagcttgattaccactactcccagccgaccccgaaaccgcaagaaggcgtataagactgtaagcggcc
gctgagggcagaggaagtcttctaacatgcggtgacgtggaggagaatcccggcccttccggaATG
GAGAGCGACGAGAGCGGCCTGCCCGCCATGGAGATCGAGTGCCGCATCACCGGCAC

10

20

30

40

50

CCTGA

ACGGCGTGGAGTTTCGAGCTGGTGGGCGGCGGAGAGGGCACCCCCAAGCAGGGCCGC
ATGACCAACAAGATGAAGAGCACCAAAGGCGCCCTGACCTTCAGCCCCTACCTGCT
GAGCCACGTGATGGGCTACGGCTTCTACCACTTCGGCACCTACCCCAGCGGCTACG
AGAACCCCTTCTGACGCCATCAACAACGGCGGCTACACCAACACCCGCATCGAG
AAGTACGAGGACGGCGGCGTGCTGCACGTGAGCTTCAGCTACCGCTACGAGGCCGG
CCGCGTGATCGGCGACTTCAAGGTGGTGGGCACCGGCTTCCCCGAGGACAGCGTGA
TCTTCACCGACAAGATCATCCGCAGCAACGCCACCGTGGAGCACCTGCACCCCATG
GGCGATAACGTGCTGGTGGGCAGCTTCGCCCCGCACCTTCAGCCTGCGCGACGGCGG
CTACTACAGCTTCGTGGTGGACAGCCACATGCACTTCAAGAGCGCCATCCACCCCA
GCATCCTGCAGAACGGGGGGCCCCATGTTGCGCTTCCGCCGCGTGAGGAGCTGCAC
AGCAACACCGAGCTGGGCATCGTGAGTACCAGCACGCCTTCAAGACCCCCATCGC
CTTCGCCAGATCCCGCGCTCAGTCGTCCAATTCTGCCGTGGACGGCACCGCCGGAC
CCGGCTCCACCGGATCTCGCTAGAGCTGAATCtaagtcgacaatcaacctctggattacaa
atttgtgaaagattgactggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggatacgctgctttaat
gcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcattttctccttgtataaatcctggttgctgtc
tctttatgaggagtgttggtggcccgtgtgcaggcaacgtggcgtggtgtgcactgtgtttgctgacgcaac
ccccactggttgggcattgccaccacctgtcagctcctttcgggactttcgctttccccctccctatt
gccacggcggaactcatcgccgcctgccttgcccgtgctggacaggggctcggtgtttgggactg
acaattccgtggtgtgtgcgggaaatcatcgctcctttccttggtgctcgcctgtgttgccacctggat
tctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttccttcccgcggcct
gctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggatctccctttgggc
cgctccccgcccgggACACACCAAGGATAATTTCTCCCGATACACACCAAGGATAATTTCTC
TCTCCTCACACACACCAAGGATAATTTCTCCCGATACACACCAAGGATAATTTCTC
CTCACAACTGGATGTCCCTGTATGATTGATAACTGGATGTCCCTGTATGATTTCA
CAACTGGATGTCCCTGTATGATTGATAACTGGATGTCCCTGTATGATTTACAAA
GAGGTAAACCATGTATTATCGATAAAGAGGTAAACCATGTATTATTCACAAAGAGG
TTAACCATGTATTATCGATAAAGAGGTAAACCATGTATTATTCACGGTTAGTGGAC
CGTGTTACATACGATGGTTAGTGGACCGTGTTACATATCACGGTTAGTGGACCGTG
TTACATACGATGGTTAGTGGACCGTGTTACATATCACGAATTCACCAAGGGCAACC
TCTCGATGAATTCACCAAGGGCAACCTCTTCACGAATTCACCAAGGGCAACCTCTC
GATGAATTCACCAAGGGCAACCTCTTCACAACTCCTGTATGAAGCCGTTCCGATAA
CTCCTGTATGAAGCCGTTCTCACAACTCCTGTATGAAGCCGTTCCGATAACTCCTGT
ATGAAGCCGTTCTCACATGGCAATATGTTGGCATAGCACGATATGGCAATATGTTG
GCATAGCATCACATGGCAATATGTTGGCATAGCACGATATGGCAATATGTTGGCAT
AGCATCACGCACAGCAAGTGTAGACAGGCACGATGCACAGCAAGTGTAGACAGGCA
TCACGCACAGCAAGTGTAGACAGGCACGATGCACAGCAAGTGTAGACAGGCATCAC
AACATACAAAGGGTATCCTCTCGATAACATACAAAGGGTATCCTCTTCACACATA
CAAAGGGTATCCTCTCGATAACATACAAAGGGTATCCTCTTCACCTCCCTTCTTTCC
TCCCGTCTTCGATCTCCCTTCTTTCTCCTCCCGTCTTTCACCTCCCTTCTTTCTCCG
TCTTCGATCTCCCTTCTTTCTCCTCCCGTCTTcccgggtacctttaagaccaatgacttacaagg
cagctgtagatcttagccactttttaaaagaaaaggggggactggaagggctaattcactcccaacga
aaataagatctgctttttgcttgtagctgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctg
gctaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgcttgagtgttcaagtagtgtgtgcc
gtctgttgtgtgactctggttaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcag
tagtagttcatgtcatcttattattcagtatattataacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgaagg
aacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaagcaatagcatcacaatttcacaaataaagcat
ttttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttatcatgtctggctctagctat
cccgccccctaactccgcccagttccgcccattctccgccccatggctgactaattttttttttatgtga
gaggccgaggccgcctcggcctctgagctattccagaagtagtgaggaggctttttttggaggcctaga

10

20

30

40

50

cttttgcagagacggcccaaattcgtaatcatgggtcatagctgtttcctgtgtgaaattgttatccgctc
 acaattccacacaacatacagagccggaagcataaagtgtaaagcctggggtgcctaattgagttagct
 aactcacattaattgcgttgctcactgcccgtttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcat
 taatgaatcggccaacgcgcggggagagggcgtttgctattgggctccttccgcttccctcgtcac
 tgactcgtcgtcgtcgttcgttcggctgcggcgagcgggtatcagctcactcaaaggcggtaatacgg
 tatccacagaatcaggggataacgcaggaaagaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccagga
 accgtaaaaaggccgcgttgctggcgtttttccataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaat
 cgacgtcaagtgcagagggtggcgaaacccgacaggactataaagataccaggcgtttccccctggaa
 gctccctcgtgcgctctcctgttccgacctgcccgttacccggatacctgtccgcctttctcccttcggg
 aagcgtggcgttttctcatagctcacgctgtaggatatctcagttcgggtgtaggctcgttcgtccaagct
 gggctgtgtgcacgaacccccgttcagcccgaccgtgcgccttatccggtaactatcgtcttgagtc
 caaccggtaagacacgacttatcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcgagg
 tatgtaggcgggtgctacagagttcctgaagtgggtggcctaactacggctacactagaaggacagtatt
 ggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaaaca
 aaccaccgctggtagcgggtggttttttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctc
 aagaagatcctttgatcttttctacggggctgacgctcagtggaacgaaaactcacgttaagggtatt
 tgggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacctagatccttttaaatataaaatgaagttttaaatcaat
 ctaaagtataatagagtaaaacttggctgacagttaccaatgcttaatcagttaggcacctatctcagc
 gatctgtctatttctgttcattccatagttgcctgactccccgtcgtgtagataactacgatacgggaggg
 cttaccatctggccccagtgctgcaatgataccgcgagaccacgctcaccggctccagatttatcag
 caataaaccagccagccggaaggggccgagcgcagaagtgggtcctgcaactttatccgcctccatcca
 gtctattaattgttgccgggaagctagagtaagtagttcggcagttataagtttgcgcaacgttggtgcc
 attgctacaggcatcgtgggtgtcacgctcgtcgtttgggtatggcttcattcagctccggttcccaacgat
 caaggcgagttacatgatccccatgttggtgcaaaaaagcgggttagctccttcgggtcctccgatcgttg
 tcagaagtaagttggccgcagtggttatcactcatgggttatggcagcactgcataattctcttactgtcat
 gccatccgtaagatgcttttctgtgactgggtgagtactcaaccaagtcattctgagaatagtgtatgcg
 gcgaccgagttgctcttgccggcggtcaatacgggataataccgcgccacatagcagaactttaaaag
 tgctcatcattggaaaaacgttcttcggggcgaaaaactctcaaggatcttaccgctgttgagatccagtt
 cgatgtaaccactcgtgcacccaactgatcttcagcatcttttactttcaccagcgtttctgggtgagc
 aaaaaacaggaaggcaaaatgccgcaaaaaagggaataaggcgacacggaaatgttgaaatactcat
 actcttctttttcaatattattgaagcatttatcagggttattgtctcatgagcggatacatatttgaat
 gtatttagaaaaataaacaataagggttccgcgcacatttccccgaaaagtgccacctgacgtctaa
 gaaaccattattatcatgacattaacctataaaaaataggcgtatcacgaggccctttcgtctcgcgcgt
 ttcgggtgatgacgggtgaaaaacctctgacacatgcagctcccgagacgggtcacagcttgctgtgaagc
 ggatgccgggagcagacaagcccgtcaggcgcgctcagcgggtgttgggcggtgtcggggctggct
 taactatgcggcatcagagcagattgtactgagagtgaccatatgcgggtgtgaaataccgcacagat
 gcgtaaggagaaaaataccgcacatcaggcgccattcgccattcaggctgcgcaactgttggggaaggcg
 atcgggtgcgggcctcttcgctattacgccagctggcgaaagggggatgtgctgcaaggcgattaagtt
 gggtaacgccagggttttccagtcacgacgttgtaaaacgacggccagtgcgaagctg

[配列番号 80]

好ましくは、遺伝子構築物は、配列番号 80 に実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む。

【0125】

遺伝子構築物の別の実施形態は図 8 F に示され、E 4 o r f 4 コード配列を含んでいてもよく、以下のように配列番号 24 によって表されることができる。

acgcgtgtagtcttatgcaatactctttagtcttgcaacatggtaacgatgagtttagcaacatgcctta
 caaggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattgggtggaagtaagggtggtagcgtgccttattag
 gaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatatgtga
 ttttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctc
 tggctaactagggaaccactgcttaagcctcaataaagcttgcccttgagtgcctcaagtagtgtgtgc

ccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtggtgaaaatctctagc
agtggcgcccgaaacagggacctgaaagcgaaagggaaaccagagctctctcgacgcaggactcggc
ttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgagggcggcgactggtgagtagcgcaaaaattttgactag
cggaggctagaaggagagagatgggtgagagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcg
atgggaaaaaattcggtaaggccagggggaaagaaaaaatataaattaaaacatatagtatgggca
agcaggggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaat
actgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtag
caaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaagggaagccttagacaagatagag
gaagagcaaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccactgatcttcagacctggaggagg
agatatgaggggacaattggagaagtgaattatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggag
tagcaccaccaaaggcaagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtggggaataggagctt
tggtccttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgctgacggtagag
gccagacaattattgtctggtatagtgagcagcagaacaatttgctgaggggctattgaggcgcaaca
gcatctgttgcaactcacagctctggggcatcaagcagctccagggaagaatcctggctgtggaaagat
acctaaggatcaacagctcctggggatttgggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgc
cttggaatgctagttggagtaataaatccttggaacagattTggaatcacacgacctggatggagtgg
gacagagaaaattaacaattacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaaga
aagaatgaacaagaattattggaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaa
ttggctgtggtatataaaaattattcataatgatagtaggaggcttggtaggtttaagaatagttttgct
gtactttctatagtgaaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagaccacctcccaacc
cgaggggacccgacaggcccgaaaggaatagaagaagaaggtggagagagagacagagacagatcc
attcgattagtgaaacggatctcgacgggATCGGTtaacttttaaaagaaaaggggggattggggggg
acagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca
aattacaaaaattcaaaattttatGTCGAGccatagagcccaccgcatccccagcatgcctgctattg
tcttcccaatcctcccccttgctgtcctgccccacccccacccccagaatagaatgacacctactcaga
caatgcgatgcaatttcctcattttattaggaaaggacagtgaggagtggcaccttccagggtcaagga
aggcacggggggaggggcaacaacagatggctggcaactagaaggcacagtcgCtcgagAGTAA
AACACTACAACGTCGATAGCAGTAAAACACTACAACGTCGACACTAGTAAACACT
ACAACGTCGATAGCAGTAAAACACTACAACGTCGACACTAGTGCTACTTTGGCCAGA
GAAATAGCAGTGCTCACTTTGGCCAGAGAAACACTAGTGCTCACTTTGGCCAGAGAAATA
GCAGTGCTCACTTTGGCCAGAGAAActcagTCAAACCTTCCTCTTCTTCTTAGGAGGC
CTCAGGCTGCTCTGCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCGTGCCAGCTGCATTAA
TGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGGGTATTGGGCGCCAGGGTGGTTT
TTCTTTTACCCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTACCGCCTGGCCCTGA
GAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGGCCCAGCAGGCGAAAATCCTGTTT
GATGGTGGTTAACGGCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCGTATCCCA
CTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGGCGCGCATTGCG
CCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATT
CAGCATTTGCATGGTTTGTGAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCCTTCCCGTT
CCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCCAGCCAGCCAGACGC
AGACGCGCCGAGACAGAACTTAATGGGCCCCGCTAACAGCGCGATTTGCTGGTGACC
CAATGCGACCAGATGCTCCACGCCAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAA
TACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACGCCGGGAACATTAGTG
CAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCATCCAGCGGATAGTTAATGATC
AGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACCGCCGCTTTACAGGCTTCGAC
GCCGCTTCGTTCTACCATCGACACCACACGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAG
ATTTAATCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCAGGGCCAGACTGGAGGTGGCA
ACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTTGTTGTGCCACGCGGTTGGGAAT
GTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTCCCGCGTTTTTCGCAGAAACGTG
GCTGGCCTGGTTACCCACGCGGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTG

10

20

30

40

50

CGACATCGTATAACGTTACTGGTTTCATGGTGGGAGGGTACcTAGGTAAGCTTGGG
CTGCAGGTGCGAAAGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCAGACGTGCG
CTTTTGAAGCGTGCAGAATGCCGGGCCTCCGGAGGACCTTCGGGCGCCCCGCCCCGC
CCCTGAGCCCCGCCCTGAGCCCCGCCCCCGGACCCACCCCTTCCCAGCCTCTGAGCC
CAGAAAGCGAAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCAAAGGCCTACCCGCTT
CCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGCACGAGACTAGTGAGACGTGCTACTTCCA
TTTGTACGTCCTGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGGGGGGGAACCTTCCTGACTAGG
GGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGGCCACCAAAGAACGGAGCCGGTTGGCGCCT
ACCGGTGGATGTGGAATGTGTGCGAGGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCGCCAAGTGC
CCAGCGGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAAAGCGCCTCCCT
ACCCGGTAGAAGCTAGCGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCC
ACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAG
GTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTCCCG
AGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTCGC
AACGGGTTTGC CGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGG
CCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTA
CGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTCGAGGCCTT
GCGCTTAAGGAGCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGG
GGCCGCGCGCTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAA
GTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGA
TAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTTGGGGCCG
CGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCAGCGCACATGTTTCGGCGAGGCGGGGCCTG
CGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCT
GGTGCTTGGCCTCGCGCCGCGCTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCC
GGTCGGCACCAAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGG
AGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACA
AAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACC
GGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGACCTTTTGGAGTACGTGCTCTTTA
GGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGAC
TGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGA
GTTTGGATCTTGGTTCAATTCTCAAGCCTCAGACAGTGTTTCAAAGTTTTTTTCTTCC
ATTTCAGGTGTGCTGAtctagagctagcgAATTCGTAAATATAAAATTTACTAGGTTGT
GGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCG
CTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCAC
AGTCGACCCTAGTGTATAATGTGTTAAACTACGGATCCGTCTCCCATTAGGCCTAC
AATGGTGAGACAAGTAGCCAACAGGGAAGGGTTGCAAATATCATTTGGGCACACCT
ATGATAATATTGATGAAGCAGACAGTATTCAGCAAGTAACTGAGAGGTGGGAAGCT
CAAAGCCAAAGTCCTAATGTGCAGTCAGGTGAATTTATTGAAAAATTTGAGGCTCC
TGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGGGATCCTAATTGTTTGTGTATTTTA
GGCggccgcatggttcttcagctcttcccgtctctcccgtgtgtgactcgcagaacgaatgtgtagg
ttggctgggtgtggcttattctgcggtgggtggatgttatcagggcagcggcgcatgaaggagttacat
agaaccgaagccagggggcgccctggatgctttgagagagtggatatactacaactactacacagag
cgagctaagcgacgagaccggagacgcagatctgtttgtcacgcccgcacctggttttgcttcaggaa
atatgactacgtccggcggttccatttgcatgacactacgaccaacacgatctcggttgctcggcgca
ctccgtacagtagGCGGCCGCTgagggcagagggaagtcttctaacatgcggtgacgtggaggaga
atcccggcccttcggaATGGAGAGCGACGAGAGCGGCCTGCCCGCCATGGAGATCGAG
TGCCGCATCACCGGCACCCTGAACGGCGTGAGTTTCGAGCTGGTGGGCGGCGGAGA
GGGCACCCCAAGCAGGGCCGCATGACCAACAAGATGAAGAGCACCAAAGGCGCCC
TGACCTTCAGCCCCTACCTGCTGAGCCACGTGATGGGCTACGGCTTCTACCACTTC
GGCACCTACCCAGCGGCTACGAGAACCCTTCCTGCACGCCATCAACAACGGCGG

10

20

30

40

50

CTACACCAACACCCGCATCGAGAAGTACGAGGACGGCGGCGTGCTGCACGTGAGCT
TCAGCTA
CCGCTACGAGGCCGGCCGCGTGATCGGCGACTTCAAGGTGGTGGGCACCGGCTTCC
CCGAGGACAGCGTGATCTTACCGACAAGATCATCCGCAGCAACGCCACCGTGAG
CACCTGCACCCCATGGGCGATAACGTGCTGGTGGGCAGCTTCGCCCGCACCTTCAG
CCTGCGCGACGGCGGCTACTACAGCTTCGTGGTGGACAGCCACATGCACTTCAAGA
GCGCCATCCACCCAGCATCCTGCAGAACGGGGGCCCATGTTCGCCTTCCGCCGC
GTGGAGGAGCTGCACAGCAACACCGAGCTGGGCATCGTGGAGTACCAGCACGCCTT
CAAGACCCCATCGCCTTCGCCAGATCCCGCGCTCAGTCGTCCAATTCTGCCGTGG
ACGGCACCGCCGGACCCGGCTCCACCGGATCTCGCTAGAGCTGAATCtaagtcgacaa
tcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactggattcttaactatgttgctccttttacgctat
gtggatacgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgatggctttcattttctcctccttgt
ataaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggccggttgtcaggcaacgtggcgtgggtgtgca
ctgtgtttgtgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactt
tcgctttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgctgccttgcccgctgctggacagggg
ctcggctgttggggactgacaattccgtgggtgttgcggggaatcatcgtcctttccttggtgctcgc
ctgtgttggccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggg
ccttccttcccgcgccctgctgcggcctctgcggcctcttcgcgtcttcgccttcgccttcagacgag
tcggatctccctttggggccgctcccgccgggTAACCGATTTACAGATGGTGCTACGATTA
ACCGATTTACAGATGGTGCTATCACTAACCGATTTACAGATGGTGCTACGATTAACCG
ATTTACAGATGGTGCTATCAGGGAGTGAAGACACGGAGCCAGACGATGGGAGTGAA
GACACGGAGCCAGATCACGGGAGTGAAGACACGGAGCCAGACGATGGGAGTGAAGA
CACGGAGCCAGAccgggtacctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccact
ttttaaaagaaaaggggggactggaagggttaattcactcccaacgaaaataagatctgctttttgctt
gtactgggtctctctgtggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactg
cttaagcctcaataaagcttgccttgagtgccttaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggt
actagagatccctcagacccttttagtgcgtgtggaatactcttagcagtagtagttcatgtcatcttat
tattcagtatttataacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagaggaacttgtttattgcagcttat
aatgggttacaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttactgcattctagtt
gtggtttgtccaaactcatcaatgtatcttatcatgtctggctctagctatcccgccccctaactccgccc
agttccgcccattctccgccccatggctgactaattttttttatattatgcagaggccgaggccgcctcgg
cctctgagctattccagaagtagtgaggaggccttttttgaggccctagacttttgagagacggcccaa
attcgtaatcatgggtcatagctgtttcctgtgtgaaattgttatccgctcacaattccacacaacatacg
agccggaagcataaagtgttaaagcctgggggtgcctaatagtgtgagctaactcacattaattgcgttgc
gctcactgcccgctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcgggccaacgcgcg
gggagaggcggtttgcgtattgggcgctcttcgcttctcgtcactgactcgtgcgctcggctcgtt
cggctgcggcgagcggtatcagctcactcaaaggcggttaatacggttatccacagaatcagggggata
acgcaggaaagaacatgtgagcaaaaaggccagcaaaaaggccagggaaccgtaaaaaggccgcgttgc
tggcgtttttccataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtgg
cgaaacccgacaggactataaagataccaggcggtttccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgt
tccgacctgcccgttaccggataacctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctcatag
ctcacgctgtaggtatctcagttcgggtgtaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaaccccc
cgttcagcccagccgtgcgccttatccggtaactatcgtcttgagtccaacccggtaagacacgactt
atcgccactggcagcagccactggtaacaggattagcagagcgagggtatgtaggcggtgctacagag
ttcttgaagtgggtggcctaactacggctacactagaaggacagtagtttggtatctgcgctctgctgaag
ccagttaccttcggaaaaagagttggtagctcttgatccggcaaaacaaaccaccgctggtagcggtgg
ttttttgtttgcaagcagcagattacgcgcagaaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttct
acgggggtctgacgctcagtggaacgaaaactcacgttaagggttttggtcatgagattatcaaaaag
gatcttcacctagatccttttaattaaaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacct
ggtctgacagttaccaatgcttaatc

10

20

30

40

50

agtgaggcacctatctcagcgatctgtctatcttctgttcatccatagttgcctgactccccgtcgtgtaga
taactacgatacgggagggccttaccatctggccccagtgctgcaatgataccgcgagacccacgctca
ccggctccagatcttcatcagcaataaaccagccagccgggaaggggccgagcgcagaaagtggctcctgcaa
ctttatccgcctccatccagttctattaattgttggccgggaagctagagtaagtagttcgccagttaatag
tttgcgcaacgttgttggcattgctacagggcatcgtgggtgtcacgctcgtcgttttggtatggcttcattc
agctccggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatccccatgttgtgcaaaaaagcggttagctc
cttcggctcctccgatcgttgtcagaagtaagttggccgcagtggttatcactcatggttatggcagcact
gcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactgggtgagtactcaaccaagtca
ttctgagaataagtgtatgcggcgaccgagttgctcttggccggcgctcaatacgggataataccgcgcc
acatagcagaactttaaaagtgtctcatcttggaaaaacgttcttcggggcgaaaactctcaaggatctt
accgctgttgagatccagttcgatgtaaccactcgtgcacccaactgatcttcagcatcttttactttc
accagcgtttctgggtgagcaaaaaacaggaaggcaaaatgccgcaaaaaagggaataaggggcgaca
cggaaatgttgaatactcatactcttctcttttcaatattattgaagcatttatcagggttattgtctcat
gagcggatacatatttgaatgtatttagaaaaataaacaataagggttccgcgcacatttccccgaa
aagtgccacctgacgtctaagaaaccattattatcatgacattaacctataaaaaataggcgatcacga
ggccctttcgtctcgcggttctgggtgatgacgggtgaaaacctctgacacatgcagctcccgagacg
gtcacagcttgtctgtaagcggatgccgggagcagacaagcccgtcagggcgcgctcagcgggtgttg
gcgggtgtcggggctggcttaactatgcggcatcagagcagattgtactgagagtgcaccatatgcgg
tgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaaaataccgcatcaggcgccattcggcattcaggctgc
gcaactgttgggaaggggcgatcgggtgcgggcctcttcgctattacgccagctggcgaaaagggggatg
tgctgcaaggcgattaagttgggtaacgccagggttttccagtcacgacgttgtaaaacgacggcca
gtgccaagctg

10

20

[配列番号 24]

好ましくは、遺伝子構築物は、配列番号 24 に実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む。

【0126】

E 4 o r f 4 コード配列を含む遺伝子構築物の別の実施形態は図 8 K に示され、以下のように配列番号 81 によって表される。

acgcgtgtagtcttatgcaatactctttagtcttgcacatggtaacgatgagttagcaacatgcctta
caaggagagaaaaagcacctgcatgccgattgggtggaagtaagggtggtagcatcgtgccttattag
gaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgcatcagagatatgtga
tttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctc
tggttaactagggaaaccactgcttaagcctcaataaagcttgccttgagtgttcaagtagtgtgtgc
ccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaaatctctagc
agtggcgcccgaaacagggaacctgaaagcgaaagggaaccagagctctctcgacgcaggactcggc
ttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgagggggcgacgtggtgagtagcgcacaaaaatttgactag
cggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaaagcgggggagaattagatcgcg
atgggaaaaaattcgggttaaggccaggggggaagaaaaaatataaattaaaacatatagtagggca
agcaggggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaaggctgtagacaaat
actgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtag
caaccctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaagggaagctttagacaagatagag
gaagagcaaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccactgatcttcagacctggaggagg
agatatgaggggacaattggagaagtgaattatataaatataaagtagtaaaaattgaaccattaggag
tagcaccaccaaaggcaagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaataggagctt
tgttcttgggttcttgggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgtgacggtaacg
gccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgcctgaggggctattgaggcgcaaca
gcatctgttgcaactcacagcttggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagat
acctaaaggatcaacagctcctggggatttgggggtgtctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgc
cttggaaatgctagttggagtaataaatctctgggaacagattTggaatcacacgacctggatggagtgg
gacagagaaattaacaattacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaaga

30

40

50

aaagaatgaacaagaattatttgaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaa
ttggctgtggtatataaaaattattcataatgatagtaggaggccttggttaggtttaagaatagttttgct
gtacttttctatagtgaatagagttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaaccc
cgaggggacccgacaggcccgaaggaatagaagaagaagggtggagagagagacagagacagatcc
attcgattagtgaaacggatctcgacgggATCGGTtaacttttaaaagaaaaggggggattgggggggt
acagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca
aattacaaaaattcaaaatttttatGTCGAGccatagagcccaccgcatccccagcatgcctgctattg
tcttcccaatcctcccccttgctgtcctgccccacccccacccccagaatagaatgacacctactcaga
caatgcgatgcaatttcctcattttattaggaaaggacagtgggagtgggcaccttccagggtcaagga
aggcacgggggagggggcaaacaacagatggctggcaactagaaggcacagtgcGtcgagGGGCC
TGTCCGCAAGCACGCTGCATAGCGGGCCTGTCCGCAAGCACGCTGCACACTGGGCC
TGTCCGCAAGCACGCTGCATAGCGGGCCTGTCCGCAAGCACGCTGCACACTCCAC
CCCTAAACAACGTAATGTAGCCCCACCCCTAAACAACGTAATGCACTCCACCCCT
AAACAACGTAATGTAGCCCCACCCCTAAACAACGTAATGCACTTGACATCATACCC
GTGAAGGTCTAGCTGACATCATAACCGTGAAGGTCCACTTGACATCATAACCGTGA
AGGTCTAGCTGACATCATAACCGTGAAGGTG
CACTACTCCGCCCCCCCCGCTCGTAGCACTCCGCCCCCCCCGCTCGCACTACTCCGCCC
CCCCGCTCGTAGCACTCCGCCCCCCCCGCTCGCACTGACGTTACATTCGTGAAGAAT
GTAGCGACGTTACATTCGTGAAGAATGCACTGACGTTACATTCGTGAAGAATGTAG
CGACGTTACATTCGTGAAGAATGCACTGCCCCAGCCGCCGCTGCACTAGCGCCCCA
GCCGCCGCTGCACCACTGCCCCAGCCGCCGCTGCACTAGCGCCCCAGCCGCCGCTG
CACctcgagTCAAACCTTCCTCTTCTTCTTAGGAGGCCTCAGGCTGCTCTGCCCGCTT
TCCAGTCGGGAAACCTGTGCTGCCAGCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGG
AGAGGGCGGTTTGGCTATTGGGCGCCAGGGTGGTTTTTCTTTTACCAGTGAGACGG
GCAACAGCTGATTGCCCTTCACCGCCTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCC
ACGCTGGTTTGGCCCCAGCAGGCGAAATCCTGTTTGATGGTGGTTAACGGCGGGAT
ATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCGTATCCCACTACCGAGATATCCGCACCAA
CGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGGCGCGCATTCGCGCCAGCGCCATCTGATCGTTG
GCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCATTGAGCATTGTCATGGTTTGTG
AAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCCTTCCCGTTCCGCTATCGGCTGAATTTGAT
TGCGAGTGAGATATTTATGCCAGCCAGCCAGACGCGAGACGCGCCGAGACAGAACTT
AATGGGCCCCGCTAACAGCGCGATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCAC
GCCAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAATAATACTGTTGATGGGTGTCTGGT
CAGAGACATCAAGAAATAACGCCGGAACATTAGTGCAAGGCAGCTTCCACAGCAATG
GCATCCTGGTCATCCAGCGGATAGTTAATGATCAGCCCACTGACGCGTTGCGCGAG
AAGATTGTGCACCGCCGCTTTACAGGCTTCGACGCCGCTTCGTTCTACCATCGACA
CCACCACGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAGATTTAATCGCCGCGACAATTTGC
GACGGCGCGTGCAGGGCCAGACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTT
GCCCGCCAGTTGTTGTGCCACGCGGTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCG
CTTCCACTTTTTCCCGCGTTTTTCGCAGAAACGTGGCTGGCCTGGTTACCCACGCGG
GAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGG
TTTCATGGTGGGAGGGTACcTAGGTAAGCTTGGGCTGCAGGTGCAAAGGCCCGGAG
ATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCAGACGTGCGCTTTTGAAGCGTGCAGAATGCC
GGGCCTCCGGAGGACCTTCGGGCGCCCGCCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCTGAGCCC
GCCCCCGGACCCACCCCTTCCCAGCCTCTGAGCCCAGAAAGCGAAGGAGCAAAGCT
GCTATTGGCCGCTGCCCCAAAGGCCTACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCC
ATCTGCACGAGACTAGTGAGACGTGCTACTTCCATTTGTACGTCCTGCACGACGC
GAGCTGCGGGGCGGGGGGGAACCTCCTGACTAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGA
AGGGGCCACCAAAGAACGGAGCCGGTTGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTGTG
CGAGGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCGCCAAGTGCCAGCGGGGCTGCTAAAGCGCA

10

20

30

40

50

TGCTCCAGACTGCCTTGGGAAAAGCGCCTCCCCTACCCGGTAGAAGCTAGCGGCTC
CGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGG
GAGGGGTCGGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAA
AGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATAT
AAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACAC
AGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCT
TGCCTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTT
CGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTTCGAGGCCTTGCCTTAAGGAGCCCCCTTCGCC
TCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCCGCG
TGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCA
TTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTA
ATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGAC
GGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCC
ACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCC
TCGCGCCGCGGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTTCGGCACCA
GTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAAATG
GAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTACCCACACAAAGGAAAAGGG
CCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCC
AGGCACCTCGATTAGTTCTCGACCTTTTGGAGTACGTCTTTAGGTTGGGGGGA
GGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGC
CAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAAATTTGCCCTTTTTTGAGTTTGGATCTT
GGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTTTCTTCCATTTTCAGGTGT
CGTGATctagagctagcgAATTCGTAAATATAAAATTTACTAGGTTGTGGAATTGTGA
GCGCTCACAAATTCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAAATTC
CACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAAATTCACAGTCGACCCT
AGTGTATAATGTGTTAAACTACGGATCCGTCTCCCATTAGGCCTACAATGGTGAGA
CAAGTAGCCAACAGGGAAGGGTTGCAAATATCATTTCGGGCACACCTATGATAATAT
TGATGAAGCAGACAGTATTCAGCAAGTAACTGAGAGGTGGGAAGCTCAAAGCCAAA
GTCCTAATGTGCAGTCAGGTGAATTTATTGAAAAATTTGAGGCTCCTGGTGGTGCA
AATCAAAGAACTGCTCCTCAGGGATCCTAATTGTTTGTGTATTTTAGGCggccgcatg
gttcttccagctcttcccgtcctcccgtgtgtgactcgcagaacgaatgtgtaggttggctgggtgtg
gcttattctgcggtggtggatgttatcagggcagcggcgcatgaaggagtttacatagaaccggaagc
cagggggcgccctggatgctttgagagagtggatatactacaactactacacagagcgagctaaagcga
cgagaccggagacgcagatctgtttgtcacgcccgcacctggttttgcttcaggaaatatgactacgtc
cggcgttccatttggcatgacactacgaccaacacgatctcggttgtctcggcgcactccgtacagtag
gcggccgctgagggcagaggaagtcttctaacatgcggtgacgtggaggagaatcccggcccttccg
gaATGGAGAGCGACGAGAGCGGCCTGCCCGCCATGGAGATCGAGTGCCGCATCACC
GGCACCTGAACGGCGTGGAGTTCGAGCTGGTGGGCGGCGGAGAGGGCACCCCCAA
GCAGGGCCGCATGACCAACAAGATGAAGAGCACCAAGGCGCCCTGACCTTCAGCC
CCTACCTGCTGAGCCACGTGATGGGCTACGGCTTCTACCACTTCGGCACCTACCCC
AGCGGCTACGAGAACCCCTTCTGACGCCATCAACAACGGCGGCTACACCAACAC
CCGCATCGAGAAGTACGAGGACGGCGGCGTGTGACGTGAGCTTCAGCTACCGCT
ACGAGGCCGGCCGCGTGTATCGGCGACTTCAAGGTGGTGGGCACCGGCTTCCCCGAG
GACAGCGTGATCTTCACCGACAAGATCATCCGCAGCAACGCCACCGTGGAGCACCT
GCACCCCATGGGCGATAACGTGCTGGTGGGCGAGCTTCGCCCGCACCTTCAGCCTGC
GCGACGGCGGCTACTACAGCTTCGTGGTGGACAGCCACATGCACTTCAAGAGCGCC
ATCCACCCAGCATCCTGCAGAACGGGGGCCCCATGTTTCGCTTCCGCCGCGTGGGA
GGAGCTGCACAGCAACACCGAGCTGGGCATCGTGGAGTACCAGCACGCCTTCAAGA
CCCCCATCGCCTTCGCCAGATCCCGCGCTCAGTCGTCCAATTCTGCCGTGGACGGC
ACCGCCGGACCCGGCTCCACCGGATCTCGCTAGAGCTGAATCtaagtcgacaatcaacc

10

20

30

40

50

tctggattacaaaatttgtgaaagattgactgggtattcttaactatgttgctccttttacgctatgtggat
acgctgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttcccgtatggctttcattttctcctccttgataaat
cctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgtcaggcaacgtggcgtgggtgtgcaactgtgtt
tgctgacgcaacccccactgggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgcttt
ccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttgcccgtgctggacaggggctcggc
tgttgggcactgacaattccgtgggtgttgcggggaaatcatcgtcctttccttggtgctcgcctgtgt
tgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggaccttcc
ttcccgcgccctgctgcgggctctgcggccctcttcgcgtcttcgccttcgccctcagacgagtcggat
ctccctttgggccgcctccccgcccgggACACACCAAGGATAATTTCTCCCGATACACACC
AAGGATAATTTCTCCTCACACACACCAAGGATAATTTCTCC
CGATACACACCAAGGATAATTTCTCCTCACAACTGGATGTCCCTGTATGATTTCGAT
AACTGGATGTCCCTGTATGATTTACAACTGGATGTCCCTGTATGATTTCGATAACT
GGATGTCCCTGTATGATTTACAAAGAGGTTAACCATGTATTATCGATAAAGAGGT
TAACCATGTATTATTCACAAAGAGGTTAACCATGTATTATCGATAAAGAGGTTAAC
CATGTATTATTCACGGTTAGTGGACCGTGTTACATACGATGGTTAGTGGACCGTGTT
TACATATCACGGTTAGTGGACCGTGTTACATACGATGGTTAGTGGACCGTGTTACA
TATCACGAATTCACCAAGGGCAACCTCTCGATGAATTCACCAAGGGCAACCTCTTC
ACGAATTCACCAAGGGCAACCTCTCGATGAATTCACCAAGGGCAACCTCTTCACAA
CTCCTGTATGAAGCCGTTCCGATAACTCCTGTATGAAGCCGTTCTCACAACTCCTGT
ATGAAGCCGTTCCGATAACTCCTGTATGAAGCCGTTCTCACATGGCAATATGTTGG
CATAGCACGATATGGCAATATGTTGGCATAGCATCACATGGCAATATGTTGGCATA
GCACGATATGGCAATATGTTGGCATAGCATCACGCACAGCAAGTG TAGACAGGCAC
GATGCACAGCAAGTG TAGACAGGCATCACGCACAGCAAGTG TAGACAGGCACGATG
CACAGCAAGTG TAGACAGGCATCACAAACATACAAAGGGTATCCTCTCGATAACATA
CAAAGGGTATCCTCTTCACAAACATACAAAGGGTATCCTCTCGATAACATACAAAGG
GTATCCTCTTCACCTCCCTTCTTTCTCCTCCCGTCTTCGATCTCCCTTCTTTCTCCTCCG
TCTTTACCTCCCTTCTTTCTCCTCCCGTCTTCGATCTCCCTTCTTTCTCCTCCCGTCTTcc
cgggtacctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccactttttaaaagaaaagg
gggactggaagggttaattcactcccaacgaaaataagatctgctttttgcttgactgggtctctctg
gttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaaccactgcttaagcctcaataaa
gcttgccttgagtgttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcag
acccttttagtcagtggtgaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagttttataac
ttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagaggaacttgtttattgcagcttataatggttacaaataaa
gcaatagcatcacaatttcacaaataaagcattttttcactgcattctagttgtggtttgtccaaactc
atcaatgtatcttatcatgtctggctctagctatcccggcccctaactccgcccagttccgcccattctcc
gccccatggctgactaattttttttatattatgcagaggccgaggccgcctcggcctctgagctattccag
aagtagtgaggaggcttttttgaggccctagacttttgagagacggcccaaattcgtaatcatggtca
tagctgtttcctgtgtgaaattgttatccgctcacaaattccacacaacatacagagccggaagcataaag
tgtaaagcctggggtgcctaattgagtgagctaactcacattaattgcgttgcgctcactgcccgtttc
cagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaaacgcgcggggagaggcggtttgc
gtattgggcgctcttccgcttccctcgtcactgactcgtcgcgtcggctcgttcggctgcggcgagcgg
tatcagctcactcaaaggcggttaatacgggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaagaacat
gtgagcaaaaaggccagcaaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcgttgctggcggtttttccatagg
ctccgccccctgacgagcatcacaataatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaaccgacaggac
tataaagataaccaggcggtttccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgttccgacctgcccgtta
ccggataacctgtccgcctttctcccttcgggaagcgtggcgctttctcatagctcacgctgtaggtatct
cagttcgggtgtaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaacccccgttcagcccgaccgct
gcgccttatccggttaactatcgtcttgagtccaacccggtaagacacgacttatcgccactggcagca
gccactggttaacaggattagcagagcgaggtatgtagggcggtgctacagagttcttgaagtgggtggc
ctaactacggctacactagaaggacagtatgttggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcggaa

10

20

30

40

50

aaagagttggtagctcttgatccggcaaaacaaaccaccgctggtagcgggtggttttttgtttgcaagc
agcagattacgcgcagaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacggggcttgacgctc
agtggaaacgaaaactcacgttaagggaattttggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacctagatcc
ttttaaattaaaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttggtctgacagttacca
atgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgaatctgtctatttcgttcatccatagttgcctgactcccc
gtcgtgtagataactacgatacgggagggccttaccatctggccccagtgctgcaatgataccgcgaga
ccacgctcaccggctccagatttatcagcaataaaaccagccagccggaaggggcgcgagcgcagaagt
ggctctgcaactttatccgcctccatccagtcctattaattgttgccgggaagctagagtaagtagttcgc
cagttaatagtttgcgcaacgttggttgccattgctacaggcatcgtgggtgtcacgctcgtcgtttggat
ggcttcattcagctccgggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatcccccatgtttgtgcaaaaaagc
ggtagctccttcgggtcctccgatcgttggtcagaagtaagttggccgcagtggtatcactcatggttatg
gcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactgggtgagtactcaa
ccaagtcatcttgagaatagtgatgcggcgaccgagttgctcttgccggcgctcaatacgggataat
accgcgccacatagcagaactttaaaagtgtcatcattggaaaacgttcttcggggcgaaaaactctc
aaggatcttaccgctgttgagatccagttcgatgtaaccactcgtgcaccaactgatcttcagcatc
tttactttcaccagcgtttctgggtgagcaaaaaacaggaaaggcaaaatgccgcaaaaaagggaataa
gggcgacacggaaatgttgaaactcatactcttcttttcaatattattgaagcatttatcagggttat
tgtctcatgagcggatacatatttgatgtatttagaaaaataaacaataagggttccgcgcacattt
ccccgaaaagtgccacctgacgtctaagaaaccattattatcatgacattaacctataaaaaataggcgt
atcacgaggccctttcgtctcgcgcgtttcgggtgatgacgggtgaaaacctctgacacatgcagctccc
ggagacgggtcacagcttgctgtgaagcggatgccgggagcagacaagcccgtcaggggcgcgctcagc
gggtgttgccgggtgtcggggctggcttaactatgcggcatcagagcagattgtactgagagtgcacc
atatgcgggtgtgaaataaccgcacagatgcgtaaggagaaaaataccgcacagggccattcgccattc
aggctgcgcaactgttggaaggcgatcgggtgcgggcctcttcgctattacgccagctggcgaaag
gggatgtgctgcaaggcgattaagttgggtaacgccagggttttccagtcacgacgttgtaaaacg
acggccagtgccaagctg

[配列番号 8 1]

好ましくは、遺伝子構築物は、配列番号 8 1 に実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む。

【0127】

遺伝子構築物の別の実施形態は図 8 G に示され、Bimコード配列を含んでいてもよく、以下のように配列番号 27 によって表されることができる。

acgcgtgtagtcttatgcaatactcttgtagtcttgcaacatggtaacgatgagttagcaacatgcctta
caaggagagaaaaagcacccgtgcatgccgattggtggaagtaagggtggtacgatcgtgccttattag
gaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgcattgcagagatattgta
tttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctgggttagaccagatctgagcctgggagctctc
tggttaactagggaaccactgcttaagcctcaataaagcttgcttgagtgttcaagtagtgtgtgc
ccgtctgtttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaataatctctagc
agtggcgcccgaaacagggaacctgaaagcgaaagggaaccagagctctctcgacgcaggactcggc
ttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgaggggcgcgactggtgagtacgccaaaaattttgactag
cggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcg
atgggaaaaaattcgggttaaggccagggggaaagaaaaaataataaaacatatagtagtgaggca
agcaggggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaacatcagaagggtgtagacaaat
actgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtag
caacctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaagacaccaagggaagcttttagacaagatagag
gaagagcaaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccactgatcttcagacctggaggagg
agatatgaggggacaattggagaagtgaattatataaataaaagtagtaaaaattgaaccattaggag
tagcaccaccaaaggcaagagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtggggaataggagctt
tggtccttggggttcttgaggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgtgacgggtacag
gccagacaattattgtctggtatagtgacgacgagagaacaatttgctgaggggctattgaggcgcaaca

gcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagat
acctaaaggatcaacagctcctggggatttgggggttgctctggaaaactcatttgcaccactgctgtgc
cttggaatgctagttggagtaataaatctctggaaacagattTggaatcacacgacctggatggagtgg
gacagagaaattaacaattacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaaga
aaagaatgaacaagaattatttgaattagataaatgggcaagtttgtggaattggtttaacataacaaa
ttggctgttggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggttaggtttaagaatagttttgct
gtactttctatagtgaatagagtttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaacc
cgagggggacccgacaggcccgaaaggaatagaagaagaagggtggagagagagacagagacagatcc
attcgattagtgaacggatctcgacgggATCGGTtaacttttaaaagaaaaggggggattgggggggt
acagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca
aattacaaaaattcaaaattttatGTCGAGccatagagcccaccgcatccccagcatgcctgctattg
tcttcccaatcctcccccttgctgtcctgccccacccccacccccagaatagaatgacacctactcaga
caatgcatgcaatttcctcattttattaggaaaggacagtgggagtgggcaccttccagggtcaagga
aggcacggggggagggggcaacaacagatggctggcaactagaaggcacagtgcCtcgagAGTAA
AACACTACAACGTCGATAGCAGTAAAACACTACAACGTCGACACTAGTAAACACT
ACAACGTCGATAGCAGTAAAACACTACAACGTCGACACTAGTGTCACTTGGCCAGA
GAAATAGCAGTGTCACTTGGCCAGAGAAACACTAGTGTCACTTGGCCAGAGAAATA
GCAGTGTCACTTGGCCAGAGAAAActcgagTCAAACCTTCTCTTCTTCTTAGGAGGC
CTCAGGCTGCTCTGCCCCGCTTTCCAGTTCGGGAAACCTGTCTGTGCCAGCTGCATTAA
TGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTTGCGTATTGGGCGCCAGGGTGTTTT
TTCTTTTACCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTACCAGCCTGGCCCT
GAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTTGCCCCAGCAGGCGAAAATCCTGT
TTGATGGTGGTTAACGGCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCGTCGTATCC
CACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCGAGCCCGGACTCGGTAATGGCGCGCATTG
CGCCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGATGCCCTCA
TTCAGCATTTCATGGTTTGTGAAACCGGACATGGCACTCCAGTCGCCTTCCCG
TTCCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATATTTATGCCAGCCAGCCAGAC
GCAGACGCGCCGAGACAGAACTTAATGGGCCCCGCTAACAGCGCGATTTGCTGGTGA
CCCAATGCGACCAGATGCTCCACGCCCAGTCGCGTACCGTCTTCATGGGAGAAAAT
AATACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAGAAATAACGCCGGAACATTAG
TGCAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCATCCAGCGGATAGTTAATGATC
AGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACCGCCGCTTTACAGGCTTCGAC
GCCGCTTCGTTCTACCATCGACACCACACGCTGGCACCCAGTTGATCGGCGCGAG
ATTTAATCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCAGGGCCAGACTGGAGGTGGCA
ACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGCCCGCCAGTTGTTGTGCCACGCGGTTGGGAAT
GTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTTCCCGCGTTTTTCGCAGAAACGTG
GCTGGCCTGGTTACCAACGCGGGAAACGGTCTGATAAGAGACACCGGCATACTCTG
CGACATCGTATAACGTTACTGGTTTCATGGTGGGAGGGTACcTAGGTAAGCTTGGG
CTGCAGGTGCAAAGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAGAACAGCGCGGCAGACGTGCG
CTTTTGAAGCGTGCGAATGCCGGGCCTCCGGAGGACCTTCGGGCGCCCCGCCCGC
CCCTGAGCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCGGACCCACCCCTTCCCAGCCTCTGAGCC
CAGAAAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTGCCCCAAAGGCCTACCCGCTT
CCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGCACGAGACTAGTGAGACGTGCTACTTCCA
TTTGTACGTCCTGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGGGGGGGAACCTTCTGACTAGG
GGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGCCACCAAGAACGGAGCCGGTTGGCGCCT
ACCGGTGGATGTGGAATGTGTGCGAGGCCAGAGGCCACTTGTGTAGCGCCAAGTGC
CCAGCGGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCCTTGGGAAAAGCGCCTCCCT
ACCCGGTAGAAGCTAGCGGCTCCGGTGCCCGTCAGTGGGCAGAGCGCACATCGCCC
ACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTGCGCAATTGAACCGGTGCCTAGAGAAG
GTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCGTGTACTGGCTCCGCCTTTTTTCCCG

10

20

30

40

50

AGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAGTAGTCGCCGTGAACGTTCTTTTTTCGC
AACGGGTTTGGCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTGTGTGGTTCCCGCGGGCCTGG
CCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTGCGTGCCTTGAATTACTTCCACCTGGCTGCAGTA
CGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTTGGAAGTGGGTGGGAGAGTTTCGAGGCCTT
GCGCTTAAGGAGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTGAGGCCTGGCCTGGGCGCTGG
GGCCGCCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCCTGTCTCGCTGCTTTCGATAA
GTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCGACGCTTTTTTTCTGGCAAGA
TAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGGTATTTTCGGTTTTTGGGGCCG
CGGGCGGCGACGGGGCCCCGTGCGTCCCAGCGCACATGTTCCGGCGAGGCGGGGCCTG
CGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCTCAAGCTGGCCGGCCTGCTCT
GGTGCTTGGCCTCGCGCCGCGGTGTATCGCCCCGCCCTGGGCGGCAAGGCTGGCCC
GGTCGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGCTTCCCGGCCCTGCTGCAGGG
AGCTCAAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGGGCGGGTGAGTCACCCACACA
AAGGAAAAGGGCCTTTCCGTCCTCAGCCGTCGCTTCATGTGACTCCACGGAGTACC
GGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGACCTTTTGGAGTACGTCGTCTTTA
GGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCCCACACTGAGTGGGTGGAGAC
TGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTCCTTGGAATTTGCCCTTTTTGA
GTTTGGATCTTGGTTCATTCTCAAGCCTCAGACAGTGGTTCAAAGTTTTTTCTTCC
ATTTCAGGTGTCTGTGAtctagagctagcgAATTCGTAAATATAAAATTTACTAGGTTGT
GGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCG
CTCACAATTCCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAATTCCAC
AGTCGACCCTAGTGTATAATGTGTTAACTACGGATCCGTCTCCCATTAGGCCTAC
AATGGTGAGACAAGTAGCCAACAGGGAAGGGTTGCAAATATCATTGTTGGGCACACCT
ATGATAATATTGATGAAGCAGACAGTATTCAGCAAGTAACTGAGAGGTGGGAAGCT
CAAAGCCAAAGTCCTAATGTGCAGTCAGGTGAATTTATTGAAAAATTTGAGGCTCC
TGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGGGATCCTAATTGTTTGTGTATTTTA
GGCggccgcatggcaaagcaaccttctgatgtaagttctgagtgtgaccgagaaggtagacaattgc
agcctgcgagagggcctccccagctcagacctggggccccctacctccctacagacagagccacaagg
taatcctgaaggcaatcacggagggtgaaggggacagctgccccacggcagccctcag
ggcccgctggccccacctgccagccctggcccttttgctaccagatccccgcttttcatctttatgaga
agatcctccctgctgtctcgtatcctccagtggggtatttctcttttgacacagacaggagcccagcaccc
atgagttgtgacaaatcaacacaaaccccaagtcctccttgccaggccttcaaccactatctcagtgc
atggccttccatgaggcaggctgaacctgcagatatgcgcccagagatatggatcgcccaagagttgc
ggcgtattggagacgagtttaacgcttactatgcaaggagggtatttttgaataattaccaagcagccg
aagaccaccacgaatggttatcttacgactgttacgttacattgtccgcctgggtgtggagaatgcatt
gaGCGGCCGctgagggcagagggaagtcttctaacatgcggtgacgtggaggagaatcccgccctt
ccggaATGGAGAGCGACGAGAGCGGCCTGCCCGCCATGGAGATCGAGTGCCGCATCA
CCGGCACCCCTGAACGGCGTGAGTTTCGAGCTGGTGGGCGGGCGGAGAGGGCACCCCC
AAGCAGGGCCGCATGACCAACAAGATGAAGAGCACCAAAGGCGCCCTGACCTTCAG
CCCCTACCTGCTGAGCCACGTGATGGGCTACGGCTTCTACCACTTCGGCACCTACC
CCAGCGGCTACGAGAACCCTTCCTGCACGCCATCAACAACGGCGGGCTACACCAAC
ACCCGCATCGAGAAGTACGAGGACGGCGGGCGTGCTGCACGTGAGCTTCAGCTACCG
CTACGAGGCCGGCCGCGTGATCGGCGACTTCAAGGTGGTGGGCACCGGCTTCCCCG
AGGACAGCGTGATCTTACCGACAAGATCATCCGCAGCAACGCCACCGTGGAGCAC
CTGCACCCCATGGGCGATAACGTGCTGGTGGGACAGCTTCGCCCGCACCTTCAGCCT
GCGCGACGGCGGCTACTACAGCTTCGTGGTGGACAGCCACATGCACTTCAAGAGCG
CCATCCACCCCAGCATCCTGCAGAACGGGGGGCCCCATGTTTCGCCTTCCGCCGCGTG
GAGGAGCTGCACAGCAACACCGAGCTGGGCATCGTGGAGTACCAGCACGCCTTCAA
GACCCCATCGCCTTCGCCAGATCCCGCGCTCAGTCGTCCAATTCTGCCGTGGACG
GCACCGCCGGACCCGGCTCCACCGGATCTCGCTAGAGCTGAATCtaagtcgacaatcaa

10

20

30

40

50

cctctggattacaaaatttgtgaaagattgactgggtattcctaactatgttgctccttttacgctatgtgg
atacgtgctttaatgcctttgtatcatgctattgcttccgtagtgctttcattttctcctccttgataa
atcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccggtgtcaggcaacgtggcggtggtgtgcaactgt
gtttgctgacgcaacccccactgggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttccgggactttcgc
tttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttggccgctgctggacagggggctcg
gctgttgggcaactgacaattccgtgggtgtgttcggggaaatcatcgtcctttccttggctgctcgctgt
gttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatccagcggacctt
ccttcccgcgccctgctgcgggctctgcggcctcttcgcgtcttcgccttcgcccctcagacgagtcgg
atctccctttggggccgctccccgcccgggTAACCGATTTCAGATGGTGCTACGATTAACCG
ATTTTCAGATGGTGCTATCACTAACCGATTTCAGATGGTGCTACGATTAACCGATTTC
CAGATGGTGCTATCACGGGAGTGAAGACACGGAGCCAGACGATGGGAGTGAAGACA
CGGAGCCAGATCACGGGAGTGAAGACACGGAGCCAGACGATGGGAGTGAAGACACG
GAGCCAGAcccgggtaacctttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccacttttta
aaagaaaaggggggactggaagggttaattcactcccaacgaaaataagatctgctttttgcttgta
tggtgtctctgtgtagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaaacccactgctta
gcctcaataaagcttgcttgagtgttcaagtagtgtgtgcccgtctgttgtgtgactctggtaactag
agatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattc
agtatttataacttgcaagaaatgaatatcagagagtgagaggaaacttgtttattgcagcttataatg
gttacaataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcattttttcactgcattctagtgtgg
tttgtccaaactcatcaatgtatcttatcatgtctggctctagctatcccgcccctaactccgcccagttc
cgccattctccgccccatggctgactaattttttttatattatgcagaggccgaggccgcctcggcctct
gagctattccagaagtagtgaggaggcttttttgaggccctagacttttgcagagacggcccaaatc
gtaatcatggtcatagctgtttcctgtgtgaaattgttatccgctcacaaattccacacaacatacgagcc
ggaagcataaagtgtaaagcctgggggtgcctaatgagtgagctaactcacattaattgcgttgcgctc
actgcccgctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaaacgcgcgggga
gaggcgggt
ttgcgtattgggcgctcttccgcttccctcgtcactgactcgtcgcctcggctcggttcggctgcggcga
gcgggtatcagctcactcaaaggcggttaatacgggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaaga
acatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccaggaaccgtaaaaaggccgcgttgctggcgtttttcca
taggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagagggtggcgaaacccgaca
ggactataaagataccaggcggtttccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgttccgaccctgccg
cttacgggatacctgtccgctttctcccttcgggaaagcgtggcgctttctcatagctcacgctgtaggt
atctcagttcgggtgtaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaacccccgttcagcccga
cgctgcgccttatccggtaactatcgtcttgagtccaacccggtaagacacgacttatcgccactggca
gcagccactggtaacaggattagcagagcgagggtatgtaggcggtgctacagagttcttgaagtgg
ggcctaactacggctacactagaaggacagtatttggtatctgcgctctgctgaagccagttaccttcg
gaaaaagagttggtagctcttgatccgggcaaaacaaacccgctggttagcggtggtttttttgttgca
agcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacgggggtctgac
gctcagtggaacgaaaactcacgttaagggtatttggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacctag
atccttttaaaattaaaaatgaagttttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttgggtctgacagtta
ccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatttcgttcatccatagttgcctgactc
ccgctcgtgtagataactacgatacgggagggcttaccatctggccccagtgctgcaatgataccgcg
agaccacgctcaccggctccagatttatcagcaataaaccagccagccggaaggccgagcgcaga
agtggctcctgcaactttatccgctccatccagcttattaattgttgccgggaagctagagtaagtagtt
cgccagttaatagtttgcgcaacgttgttgcatttgctacaggcatcgtgggtgtcacgctcgtcgtttg
gtatggcttcattcagctccggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatccccatgttgtgcaaaa
aagcggttagctccttcgggtcctccgatcgttgtcagaagtaagttggccgcagtggttatcactcatgg
ttatggcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactgggtgagta
ctcaaccaagtcattctgagaatagtgtatgcggcgaccgagttgctcttgccggcgctcaatacggg
ataataccgcgccacatagcagaactttaaaagtgtcatcattggaaaacgttcttcggggcgaaaa

10

20

30

40

50

ctctcaaggatcttaccgctgttgagatccagttcgatgtaacccactcgtgcacccaactgatcttca
gcatcttttactttcaccagcgtttctgggtgagcaaaaacaggaaggcaaaatgccgcaaaaaagg
aataaggcgacacggaaatgttgatactcatactcttcttttcaatattattgaagcatttatcag
ggttattgtctcatgagcggatacatatttgaaatgtatttagaaaaataaacaataagggggtccgcgc
acatttccccgaaaagtgccacctgacgtctaagaaaccattattatcatgacattaacctataaaaaat
aggcgtatcacgaggccctttcgtctcgcgcgtttcgggtgatgacgggtgaaaacctctgacacatgca
gctcccggagacgggtcacagcctgtctgtaagcggatgccgggagcagacaagcccgtcagggcg
gtcagcgggtgttgccgggtgtcggggctggcttaactatgcggcatcagagcagattgtactgagag
tgcaccatatgcgggtgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaaaataccgcatcaggcgccattc
gccattcaggctgcgcaactgttggaaggcgatcgggtgcgggcctcttcgctattacgccagctgg
cgaagggggatgtgctgcaaggcgattaagttgggtaacgccagggttttccagtcacgacgttgc
aaaacgacggccagtgcgaagctg

10

[配列番号 27]

好ましくは、遺伝子構築物は、配列番号 27 に実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む。

【0128】

Bimコード配列を含む遺伝子構築物の別の実施形態は図 8 L に示され、以下のように配列番号 82 によって表される。

acgcgtgtagtcttatgcaatactctttagtcttgcaacatggtaacgatgagttagcaacatgcctta
caaggagagaaaaagcaccgtgcatgccgattgggtggaagtaagggtggtagcgtgccttattag
gaaggcaacagacgggtctgacatggattggacgaaccactgaattgccgcatcagagatattgta
tttaagtgcctagctcgatacaataaacgggtctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctc
tggttaactagggaacccactgcttaagcctcaataaagcttgcccttgagtgccttaagtagtgtgtgc
ccgtctgttgtgtgactctggtaactagagatccctcagacccttttagtcagtgtggaaaatctctagc
agtggcgcccgaaacagggaacctgaaagcgaagggaaccagagctctctcgacgcaggactcggc
ttgctgaagcgcgcacggcaagaggcgagggcgggcgactgggtgagtagcgcacaaaattttgactag
cggaggctagaaggagagagatgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggagaattagatcgcg
atgggaaaaaattcgggttaaggccagggggaaagaaaaaataataaataacatatagtagtgga
agcaggggagctagaacgattcgcagttaatcctggcctgttagaaaacatcagaaggctgtagacaaat
actgggacagctacaaccatcccttcagacaggatcagaagaacttagatcattatataatacagtag
caacctctattgtgtgcatcaaaggatagagataaaaagacaccaagggaagcttttagacaagatagag
gaagagcaaaaacaaaagtaagaccaccgcacagcaagcggccactgatcttcagacctggaggagg
agatatgagggacaattggagaagtgaattatataaataaagtagtaaaaattgaaccattaggag
tagcaccaccaaaggcaagagagaagagtgggtgcagagagaaaaaagagcagtgggaataggagctt
tgttcttggttcttgaggagcagcaggaagcactatgggcgcagcctcaatgacgtgacggtacag
gccagacaattattgtctggtatagtgcagcagcagaacaatttgctgagggctattgaggcgcaaca
gcatctgttgcaactcacagtctggggcatcaagcagctccaggcaagaatcctggctgtggaaagat
acctaaaggatcaacagctcctggggatttggtggtgctctggaaaactcatttgaccactgctgtgc
cttggaatgctagtgtggagtaataaatctctggaaacagattTggaatcacacgacctggatggagtgg
gacagagaaattaacaattacacaagcttaatacactccttaattgaagaatcgcaaaaccagcaaga
aaagaatgaacaagaattattggaaattagataaatgggcaagtttgtggaattgggttaacataacaaa
ttggctgtggtatataaaattattcataatgatagtaggaggcttggttaggtttaagaatagttttgct
gtactttctatagtgaatagagtttaggcagggatattcaccattatcgtttcagacccacctcccaacc
cgaggggacccgacaggcccgaaaggaatagaagaagaagggtggagagagagacagagacagatcc
attcgattagtgaacggatctcgacgggATCGGTtaacttttaaaagaaaaggggggattgggggggt
acagtgcaggggaaagaatagtagacataatagcaacagacatacaaaactaaagaattacaaaaaca
aattacaaaaattcaaaattttatGTCGAGccatagagcccaccgcatcccagcatgcctgctattg
tcttcccaatcctcccccttgctgtcctgccccacccccacccccagaatagaatgacacctactcaga
caatgcgatgcaatttctcattttattaggaaaggacagtgggagtggcaccttccagggtcaagga
aggcacggggggagggggcaaacacagatggctggcaactagaaggcacagtcgCtcgagGGGCC

20

30

40

50

TGTCCGCAAGCACGCTGCATAGCGGGCCTGTCCGCAAGCACGCTGCACACTGGGCC
TGTCCGCAAGCACGCTGCATAGCGGGCCTGTCCGCAAGCACGCTGCACACTCCCAC
CCCTAAACAACGTAATGTAGCCCCACCCCTAAACAACGTAATGCACTCCCACCCCT
AAACAACGTAATGTAGCCCCACCCCTAAACAACGTAATGCACTTGACATCATACCC
GTGAAGGTCTAGCTGACATCATAACCGTGAAGGTCCACTTGACATCATAACCGTGA
AGGTCTAGCTGACATCATAACCGTGAAGGTCCACTACTCCGCCCCCCCCGCTCGTAG
CACTCCGCCCCCCCCGCTCGCACTACTCCGCCCCCCCCGCTCGTAGCACTCCGCCCCC
CGCTCGCACTGACGTTACATTCTGTGAAGAATGTAGCGACGTTACATTCTGTGAAGAA
TGCACTGACGTTACATTCTGTGAAGAATGTAGCGACGTTACATTCTGTGAAGAATGCA
CTGCCCCAGCCGCGCTGCACTAGCGCCCCAGCCGCGCTGCACCACTGCCCCAGC
CGCCGCTGCACTAGCGCCCCAGCCGCGCTGCACctcgagTCAAACCTTCTCTTCTT
CTTAGGAGGCCTCAGGCTGCTCTGCCCCGCTTTCCAGTCGGGAAACCTGTCTGTGCA
GCTGCATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTTCGTATTGGGCGCC
AGGGTGGTTTTTCTTTTACCAGTGAGACGGGCAACAGCTGATTGCCCTTACCAGC
CTGGCCCTGAGAGAGTTGCAGCAAGCGGTCCACGCTGGTTTGGCCCAGCAGGCGAA
AATCCTGTTTGTATGGTGGTTAACGGCGGGATATAACATGAGCTGTCTTCGGTATCG
TCGTATCCCACTACCGAGATATCCGCACCAACGCGCAGCCCGGACTCGGTAATGGC
GCGCATTGCGCCCAGCGCCATCTGATCGTTGGCAACCAGCATCGCAGTGGGAACGA
TGCCCTCATTACAGCATTGTCATGGTTTGTGAAAACCGGACATGGCACTCCAGTCG
CCTTCCCGTTCCGCTATCGGCTGAATTTGATTGCGAGTGAGATA
TTTATGCCAGCCAGCCAGACGCGAGACGCGCCGAGACAGAACTTAATGGGCCCCGCTA
ACAGCGCGATTTGCTGGTGACCCAATGCGACCAGATGCTCCACGCCAGTCGCGTA
CCGTCTTCATGGGAGAAAATAATACTGTTGATGGGTGTCTGGTCAGAGACATCAAG
AAATAACGCCGGAACATTAGTGCAAGGCAGCTTCCACAGCAATGGCATCCTGGTCAT
CCAGCGGATAGTTAATGATCAGCCCACTGACGCGTTGCGCGAGAAGATTGTGCACC
GCCGCTTTACAGGCTTCGACGCGCGCTTCGTTCTACCATCGACACCACACGCTGGC
ACCCAGTTGATCGGCGCGAGATTTAATCGCCGCGACAATTTGCGACGGCGCGTGCA
GGGCCAGACTGGAGGTGGCAACGCCAATCAGCAACGACTGTTTGGCCGCCAGTTGT
TGTGCCACGCGGTTGGGAATGTAATTCAGCTCCGCCATCGCCGCTTCCACTTTTTTC
CGCGTTTTTCGCAGAAACGTGGCTGGCCTGGTTACCACGCGGGGAAACGGTCTGATA
AGAGACACCGGCATACTCTGCGACATCGTATAACGTTACTGGTTTTCATGGTGGGAG
GGTACctAGGTAAGCTTGGGCTGCAGGTCGAAAGGCCCGGAGATGAGGAAGAGGAG
AACAGCGCGGCAGACGTGCGCTTTTGAAGCGTGCAGAATGCCGGGCCTCCGGAGGA
CCTTCGGGCGCCCCGCCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCTGAGCCCGCCCCCGGACCCAC
CCCTTCCCAGCCTCTGAGCCCAGAAAGCGAAGGAGCAAAGCTGCTATTGGCCGCTG
CCCCAAAGGCCTACCCGCTTCCATTGCTCAGCGGTGCTGTCCATCTGCACGAGACT
AGTGAGACGTGCTACTTCCATTTGTACGTCCTGCACGACGCGAGCTGCGGGGCGG
GGGGGAACTTCTGACTAGGGGAGGAGTAGAAGGTGGCGCGAAGGGGGCCACCAAAG
AACGGAGCCGTTGGCGCCTACCGGTGGATGTGGAATGTGTGCGAGGCCAGAGGCC
ACTTGTGTAGCGCCAAGTGCCCAGCGGGGCTGCTAAAGCGCATGCTCCAGACTGCC
TTGGGAAAAGCGCCTCCCCTACCCGGTAGAAGCTAGCGGCTCCGGTGCCCGTCAGT
GGGCAGAGCGCACATCGCCACAGTCCCCGAGAAGTTGTGGGGAGGGGTGCGCAAT
TGAACCGGTGCCTAGAGAAGGTGGCGCGGGGTAAACTGGGAAAGTGATGTCTGTGA
CTGGCTCCGCTTTTTTCCCGAGGGTGGGGGAGAACCGTATATAAGTGCAAGTAGTCG
CCGTGAACGTTCTTTTTTCGCAACGGGTTTGCCGCCAGAACACAGGTAAGTGCCGTG
TGTGGTTCCCGCGGGCCTGGCCTCTTTACGGGTTATGGCCCTTTCGTGCCTTGAATT
ACTTCCACCTGGCTGCAGTACGTGATTCTTGATCCCGAGCTTCGGGTGGAAGTGG
GTGGGAGAGTTTCGAGGCCTTGCCTTAAGGAGCCCCCTTCGCCTCGTGCTTGAGTTG
AGGCCTGGCCTGGGCGCTGGGGCCGCGCGTGCGAATCTGGTGGCACCTTCGCGCC
TGTCTCGCTGCTTTCGATAAGTCTCTAGCCATTTAAAATTTTTGATGACCTGCTGCG

10

20

30

40

50

ACGCTTTTTTCTGGCAAGATAGTCTTGTAATGCGGGCCAAGATCTGCACACTGG
TATTTTCGGTTTTTGGGGCCGCGGGCGGCGACGGGGCCCGTGCGTCCCAGCGCACAT
GTTTCGGCGAGGCGGGGCCTGCGAGCGCGGCCACCGAGAATCGGACGGGGGTAGTCT
CAAGCTGGCCGGCCTGCTCTGGTGCCTGGCCTCGCGCCGCGGTGTATCGCCCCGCC
CTGGGCGGCAAGGCTGGCCCGGTCTGGCACCAGTTGCGTGAGCGGAAAGATGGCCGC
TTCCCGGCCCTGCTGCAGGGAGCTCAAATGGAGGACGCGGCGCTCGGGAGAGCGG
GCGGGTGAGTCACCACACAAAGGAAAGGGCCTTTCCGTCTCAGCCGTGCTTC
ATGTGACTCCACGGAGTACCGGGCGCCGTCCAGGCACCTCGATTAGTTCTCGACCT
TTTGGAGTACGTCTCTTTAGGTTGGGGGGAGGGGTTTTATGCGATGGAGTTTCCC
CACACTGAGTGGGTGGAGACTGAAGTTAGGCCAGCTTGGCACTTGATGTAATTCTC
CTTGGAATTTGCCCTTTTTGAGTTTGGATCTTGGTTCAATTCTCAAGCCTCAGACAGT
GGTTCAAAGTTTTTTTTCTTCCATTTAGGTGTCGTGAtctagagctagcgaATTTCGTAA
ATATAAAATTTACTAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAAATTCACAGTCGACCC
TAGGTTGTGGAATTGTGAGCGCTCACAAATTCACAGTCGACCCTAGGTTGTGGAAT
TGTGAGCGCTCACAAATTCACAGTCGACCCTAGTGTATAATGTGTTAACTACGGA
TCCGTCTCCCATTAGGCCTACAATGGTGAGACAAGTAGCCAACAGGGAAGGGTTGC
AAATATCATTTGGGCACACCTATGATAATATTGATGAAGCAGACAGTATTCAGCAAG
TAACTGAGAGGTGGGAAGCTCAAAGCCAAAGTCCTAATGTGCAGTCAGGTGAATTT
ATTGAAAAATTTGAGGCTCCTGGTGGTGCAAATCAAAGAACTGCTCCTCAGGGATC
CTAATTGTTTGTGTATTTTAGGCGggccgcatggcaaagcaaccttctgatgtaagtctgatg
tgaccgagaaggtagacaattgcagcctgcggagaggcctcccagctcagacctggggccctacc
tcctacagacagagccacaaggtaatcctgaaggcaatcacggaggtgaaggggacagctgcccc
acggcagccctcagggcccgtggccccacctgccagccctggcccttttgctaccagatccccgctt
ttcatctttatgagaagatcctccctgctgtctcgatcctccagtggggtatttctcttttgacacagacag
gagcccagcacccatgagttgtgacaaatcaacacaaaccccaagtcctccttgccaggccttcaacc
actatctcagtgcaatggcttccatgaggcaggctgaacctgcagatatgcgcccagagatatggatc
gcccagagttgcggcgtattggagacgagtttaacgcttactatgcaaggagggtattttgaataat
taccaagcagccgaagaccacccacgaatggttatcttacgactgttacgttacattgtccgcctgggtg
tgaggaaatgcattgagcggccgctgagggcgagaggaagtcttctaacaatgcggtgacgtggaggaga
atcccgcccttccggaATGGAGAGCGACGAGAGCGGCCTGCCCGCCATGGAGATCGAG
TGCCGCATCACCGGCACCCTGAACGGCGTGAGTTTCGAGCTGGTGGGCGGCGGAGA
GGGCACCCCCAAGCAGGGCCGCATGACCAACAAGATGAAGAGCACCAAAGGCGCCC
TGACCTTCAGCCCCCTACCTGCTGAGCCACGTGATGGGCTACGGCTTCTACCACTTC
GGCACCTACCCCAGCGGCTACGAGAACCCTTCTCTGCACGCCATCAACAACGGCGG
CTACACCAACACCCGCATCGAGAAGTACGAGGACGGCGGCGTGCTGCACGTGAGCT
TCAGCTACCGCTACGAGGCCGGCCGCGTGATCGGCGACTTCAAGGTGGTGGGCACC
GGCTTCCCCGAGGACAGCGTGATCTTACCGACAAGATCATCCGACGCAACGCCAC
CGTGGAGCACCTGCACCCCATGGGCGATAACGTGCTGGTGGGACAGCTTCGCCCGCA
CCTTCAGCCTGCGCGACGGCGGCTACTACAGCTTCGTGGTGGACAGCCACATGCAC
TTCAAGAGCGCCATCCACCCAGCATCCTGCAGAACGGGGGCCCCATGTTTCGCCTT
CCGCCGCGTGAGGAGCTGCACAGCAACACCGAGCTGGGCATCGTGGAGTACCAGC
ACGCCTTCAAGACCCCCATCGCCTTCGCCAGATCCCGCGCTCAGTCGTCCAATTCT
GCCGTGGACGGCACCGCCGGACCCGGCTCCACCGGATCTCGCTAGAGCTGAATCtaa
gtcgacaatcaacctctggattacaaaatttgtgaaagattgactgggtattcttaactatgttgctcctt
tacgctatgtggatacgtgcttttaatgcctttgtatcatgctattgcttccgctatggctttcattttctc
ctccttgataaaatcctggttgctgtctctttatgaggagttgtggcccgttgctcaggcaacgtggcgtg
gtgtgcactgtgtttgctgacgcaacccccactggttggggcattgccaccacctgtcagctcctttcc
gggactttcgctttccccctccctattgccacggcggaactcatcgccgcctgccttgcccgcctgctgg
acaggggctcggtgttgggcactgacaattccgtgggtgttgcggggaaatcatcgctcctttccttg
ctgctcgcctgtgttgccacctggattctgcgcgggacgtccttctgctacgtcccttcggccctcaatc

10

20

30

40

50

cagcggaccttccttcccgcggcctgctgccggctctgcggcctcttccgcgtcttcgccttcgccctc
agacgagtcggatctccctttgggcccgcctccccgcccgggACACACCAAGGATAATTTCTCC
CGATACACACCAAGGATAATTTCTCCTCACACACACCAAGGATAATTTCTCCCGAT
ACACACCAAGGATAATTTCTCCTCACAACTGGATGTCCCTGTATGATTTCGATAACT
GGATGTCCCTGTATGATTTTCACTGATGTCCCTGTATGATTTCGATAACTGGAT
GTCCCTGTATGATTTTCACTGATGTCCCTGTATGATTTCGATAACTGGAT
CATGTATTATTACAAAGAGGTTAACCATGTATTATCGATAAAGAGGTTAACCATG
TATTATTACGGTTAGTGGACCGTGTTACATACGATGGTTAGTGGACCGTGTTACA
TATCACGGTTAGTGGACCGTGTTACATACGATGGTTAGTGGACCGTGTTACATATC
ACGAATTCACCAAGGGCAACCTCTCGATGAATTCACCAAGGGCAACCT
CTTCACGAATTCACCAAGGGCAACCTCTCGATGAATTCACCAAGGGCAACCTCTTC
ACAACTCCTGTATGAAGCCGTTCCGATAACTCCTGTATGAAGCCGTTCTCACAACT
CCTGTATGAAGCCGTTCCGATAACTCCTGTATGAAGCCGTTCTCACATGGCAATAT
GTTGGCATAGCACGATATGGCAATATGTTGGCATAGCATCACGACAGCAAGTGTAGACA
GGCACGATGCACAGCAAGTGTAGACAGGCATCACGACAGCAAGTGTAGACAGGCA
CGATGCACAGCAAGTGTAGACAGGCATCACAAACATACAAAGGGTATCCTCTCGATA
ACATACAAAGGGTATCCTCTTACAAACATACAAAGGGTATCCTCTCGATAACATAC
AAAGGGTATCCTCTTACCTCCCTTCTTTCCTCCCGTCTTCGATCTCCCTTCTTTCC
TCCCGTCTTTCACCTCCCTTCTTTCCTCCCGTCTTCGATCTCCCTTCTTTCCTCCCG
TCTTcccgggtaccttaagaccaatgacttacaaggcagctgtagatcttagccactttttaaaaga
aaaggggggactggaagggttaattcactcccaacgaaaataagatctgcttttgcttgactgggt
ctctctggttagaccagatctgagcctgggagctctctggctaactagggaacccactgcttaagcctc
aataaagcttgcttgagtgttcaagtagtgtgtgcccgtctgttggtgactctggttaactagagatc
cctcagacccttttagtcagtggtgaaaatctctagcagtagtagttcatgtcatcttattattcagttat
tataacttgcaaagaaatgaatatcagagagtgagagggaacttggttattgcagcttataatggttaca
aataaagcaatagcatcacaaatttcacaaataaagcatttttttactgcattctagttgtggtttgtcc
aaactcatcaatgtatcttatcatgtctggctctagctatcccggcccctaactccggcccagttccggcca
ttctccgccccatggctgactaattttttttatttatgcagaggccgaggccgcctcggcctctgagcta
ttccagaagtagtgaggaggcttttttgaggccctagacttttgagagacggcccaaattcgtaatca
tggtcatagctgtttcctgtgtgaaattgttatccgctcacaaattccacacaacatacagagccggaagc
ataaagtgtaaagcctgggggtgcctaagtagtgagctaactcacattaattgcgttgcgctcactgccc
gctttccagtcgggaaacctgtcgtgccagctgcattaatgaatcggccaacgcgcgggggagaggcg
gtttgctgattgggcgctcttccgcttccctcgtcactgactcgtgcgtcggctcgttcggctgcggc
gagcggtatcagctcactcaaaggcggttaatacggttatccacagaatcaggggataacgcaggaaa
gaacatgtgagcaaaaggccagcaaaaggccagggaaccgtaaaaaggccgcttgctggcggttttc
cataggctccgccccctgacgagcatcacaaaaatcgacgctcaagtcagaggtggcgaaacccga
caggactataaagataccaggcggtttccccctggaagctccctcgtgcgctctcctgttccgaccctgc
cgcttaccggatacctgtccgccttttctcccttcgggaagcgtggcgcttttctcatagctcacgctgta
ggatctcagttcgggtgtaggtcgttcgctccaagctgggctgtgtgcacgaacccccggttcagccc
accgctgcgccttatccggtaactatcgtcttgagtccaaccggtaagacacgacttatcgccactgg
cagcagccactggtaaacaggattagcagagcgagggtatgtagggcggtgctacagagttcttgaaagt
gtggcctaactacggctacactagaaggacagtatgttggtatctgcgctctgctgaagccagttacctt
cggaaaaagagttggttagctcttgatccggcaaaacaaaccgctggtagcggtggttttttgtttg
caagcagcagattacgcgcagaaaaaaaggatctcaagaagatcctttgatcttttctacgggggtctg
acgctcagtggaacgaaaactcacgttaagggttttgggtcatgagattatcaaaaaggatcttcacct
agatccttttaaaattaaaaatgaagtttaaatcaatctaaagtatatatgagtaaacttggtctgacag
ttaccaatgcttaatcagtgaggcacctatctcagcgatctgtctatcttcgttcacatagttgcctga
ctcccgcgtgtgtagataactacgatacgggagggttaccatctggccccagtgctgcaatgatacc
gcgagaccacgcctcaccggctccagatttatcagcaataaaccagccagccggaaggggccgagcgc

10

20

30

40

50

agaagtggctctgcaactttatccgcctccatccagtcctattaattgttgccgggaagctagagtaagt
agttcgccagtttaatagtttgcgcaacgttggtgcccattgctacaggcatcgtgggtgtcacgctcgtcgt
ttggatatggcttcattcagctccgggttcccaacgatcaaggcgagttacatgatcccccatgttgtgca
aaaaagcggtagctccttcgggtcctccgatcgttgtcagaagtaagttggccgcagtggtatcactca
tggttatggcagcactgcataattctcttactgtcatgccatccgtaagatgcttttctgtgactgggtga
gtactcaaccaagtcattctgagaatagtgtatgcggcgaccgagttgctcttgcccggcggtcaatacg
ggataataaccgcgccacatagcagaactttaaaagtgtcatcattggaaaaacgttcttcggggcgaa
aactctcaaggatcttaccgctgttgagatccagttcgtatgtaaccactcgtgcacccaactgatctt
cagcatcttttactttcaccagcgtttctgggtgagcaaaaacaggaaggcaaaatgccgcaaaaaag
ggaataaggggcgacacggaaatgttgaatactcatactcttcttttcaatattattgaagcatttatc
agggttattgtctcatgagcggatacatatttgaaatgtatttagaaaaataaacaataagggggttcgc
gcacatttccccgaaaagtgccacctgacgtctaagaaaccattattatcatgacattaacctataaaa
ataggcgtatcacgaggccctttcgtctcgcgcgttttcgggtgatgacggtgaaaacctctgacacatgc
agctcccgagacgggtcacagcttgtctgtaagcggatgccgggagcagacaagcccgtcaggggcgc
gtcagcgggtgttgccgggtgtcggggctggcttaactatgcggcatcagagcagattgtactgagag
tgcaccatatgcgggtgtgaaataccgcacagatgcgtaaggagaaaataccgcatcaggcgccattc
gccattcagggtgcgcaactgttgggaaggcgatcgggtgcgggcctcttcgctattacgccagctgg
cgaaagggggatgtgctgcaaggcgattaagttgggtaacgccagggttttcccagtcacgacgttgt
aaaacgacggccagtgccaagctg

10

[配列番号 82]

20

好ましくは、遺伝子構築物は、配列番号 82 に実質的に記載されているような核酸配列、またはその断片もしくはバリエーションを含む。

【0129】

また、本発明は、治療薬送達のためのビヒクルとして、遺伝子構築物を含む組換えベクターにも及ぶ。

したがって、第 2 の態様では、第 1 の態様に記載の遺伝子構築物を含む組換えベクターが提供される。

【0130】

第 1 の態様の遺伝子構築物を含むベクターは、例えば、プラスミド、コスミドまたはファージおよび／またはウイルスベクターであってもよい。このような組換えベクターは、ヌクレオチド配列で細胞を形質転換するための本発明の送達システムにおいて非常に有用である。好ましくは、ベクターは、ウイルスベクターである。

30

【0131】

ウイルスベクターは、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルス (AAV) ベクター、レトロウイルスベクター、またはレンチウイルスベクターから選択されてもよい。

ベクターは、組換えアデノ随伴ウイルス (rAAV) ベクターであってもよい。rAAV は、天然に存在するベクターまたはハイブリッド AAV 血清型を有するベクターであってもよい。rAAV は、AAV-1、AAV-2、AAV-3A、AAV-3B、AAV-4、AAV-5、AAV-6、AAV-7、AAV-8、AAV-9、AAV-10、および AAV-11 であってもよい。AAV-2 が最も好ましい。

40

【0132】

用語「組換え AAV (rAAV) ベクター」は、本明細書で使用される場合、少なくとも 1 つの末端反復配列を含む組換え AAV 由来核酸を意味し得る。

好ましくは、しかしながら、ベクターは、組換えレンチウイルスベクターである。レンチウイルスベクターは、組込み型であっても非組込み型であってもよい。好ましくは、レンチウイルスベクターは、非組込み型である。

【0133】

好ましくは、第 2 の態様のベクターは、エピソームベクターである。

好ましくは、第 2 の態様のベクターは、組換え型である。組換えベクターは、他の機能的エレメントを含んでいてもよい。例えば、それらはさらに、様々な他の機能的エレメン

50

トを含んでいてもよい。例えば、ベクターは、宿主細胞の核において自律的に複製することができるか、またはベクターは、好ましくは宿主細胞の核において自律的に複製することが不可能である。この場合、DNA複製を誘導または調節するエレメントが組換えベクターに必要とされる場合がある。あるいは、組換えベクターは、宿主細胞のゲノムに組み込まれるように設計される場合がある。この場合、（例えば、相同組換えによる）標的化された組込みを促進するDNA配列が想定される。好適なプロモーターとしては、SV40プロモーター、CMV、EF1a、PGK、ウイルス性長い末端反復、および誘導性プロモーター、例えばテトラサイクリン誘導性システムなどが例示され得る。カセットまたはベクターはまた、βグロビン、SV40ポリアデニル化配列または合成ポリアデニル化配列のようなターミネーターを含んでいてもよい。組換えベクターはまた、必要に応じて核酸の発現を制御するための制御因子またはエンハンサーを含んでいてもよい。

10

【0134】

ベクターは、クローニングプロセスにおいて選択可能なマーカーとして使用され得る、すなわち、トランスフェクションまたは形質転換された細胞の選択を可能にし、異種DNAを組み込んだベクターを保有する細胞の選択を可能にする遺伝子をコードするDNAを含んでいてもよい。例えば、アンピシリン、ネオマイシン、ピューロマイシンまたはクロラムフェニコール耐性が想定される。あるいは、選択可能なマーカー遺伝子は、遺伝子構築物を含むベクターと同時に使用するために、異なるベクターに存在してもよい。ベクターは、ヌクレオチド配列の発現の制御に關与するDNA、または発現したポリペプチドを宿主細胞の特定の部分に標的化するためのDNAを含んでいてもよい。

20

【0135】

第3の態様では、治療に使用するための、第1の態様に記載の遺伝子構築物、または第2の態様に記載のベクターが提供される。

第4の態様では、がんの処置、予防または改善に使用するための、第1の態様に記載の遺伝子構築物、または第2の態様に記載のベクターが提供される。

【0136】

第5の態様では、対象におけるがんを処置、予防または改善する方法が提供され、この方法は、そのような処置を必要とする患者に、第1の態様に記載の遺伝子構築物、または第2の態様に記載のベクターの治療上有効な量を投与すること、または投与したことを含む。

30

【0137】

好ましくは、がんはTALLである。

本発明に記載の遺伝子構築物またはベクター（本明細書では「薬剤」と総称する）は、治療、好ましくはがんの処置、改善または予防のために、単剤療法（例えば、遺伝子構築物またはベクターの単独使用）で使用されてもよいことが理解されるであろう。あるいは、本発明に記載の薬剤は、治療、好ましくはがんの処置、改善、または予防のために、既知の治療法の補助として、または既知の治療法と組み合わせて使用されてもよい。

【0138】

本発明に記載の薬剤は、特に、組成物が使用される方法に依存して、多数の異なる形態を有する組成物中に組み合わされられてもよい。したがって、例えば、組成物は、粉末、錠剤、カプセル剤、液体、軟膏、クリーム、ゲル、ヒドロゲル、エアロゾル、スプレー、ミセル溶液、経皮パッチ、リポソーム懸濁液、または処置を必要とする人または動物に投与され得る任意の他の適切な形態の形態であってもよい。本発明に記載の医薬のビヒクルは、それが投与される対象によって十分に許容されるものであるべきであることが理解されるであろう。

40

【0139】

本発明の薬剤を含む医薬は、多くの方法で使用され得る。例えば、経口投与が必要な場合があり、その場合、薬剤は、例えば、錠剤、カプセル剤または液体の形態で経口摂取され得る組成物内に含まれ得る。本発明の薬剤および医薬品を含む組成物は、吸入（例えば、経鼻）により投与されてもよい。組成物はまた、局所的な使用のために処方され得る。

50

例えば、クリームまたは軟膏は、皮膚に適用され得る。

【0140】

本発明に記載の薬剤および医薬はまた、徐放性または遅延放出性の装置内に組み込まれてもよい。このような装置は、例えば、皮膚上または皮膚下に挿入されてもよく、医薬は数週間または数カ月わたって放出され得る。装置は、少なくとも処置部位に隣接して配置されてもよい。このような装置は、本発明に従って使用される薬剤による長期処置が必要であり、通常、頻繁な投与（例えば、少なくとも毎日の注射）を必要とする場合に、特に有利である場合がある。

【0141】

好ましい実施形態では、本発明に記載の薬剤および医薬は、血流中への注射または処置を必要とする部位への直接の注射によって対象に投与されてもよい。注射は、静脈内（ボラスもしくはは注入）または皮下（ボラスもしくはは注入）、または皮内（ボラスもしくはは注入）であってもよい。

【0142】

必要な遺伝子構築物またはベクター（すなわち薬剤）の量は、その生物学的活性およびバイオアベイラビリティによって決定され、その次に、投与様式、薬剤の物理化学的特性、および単剤療法または併用療法として使用されているかどうかによって依存することが理解されるであろう。また、投与頻度は、処置対象内の薬剤の半減期にも影響されるであろう。投与すべき最適な用量は当業者によって決定され、使用する特定の薬剤、医薬組成物の強度、投与様式、および処置される疾患、例えばがんの進行度によって変化するであろう。処置される特定の対象に依存する追加の要因は、対象の年齢、体重、性別、食事、および投与時間を含む、投与量を調整する必要性をもたらすであろう。

【0143】

一般に、本発明に記載の薬剤は、 $0.001 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重から $10 \text{ mg}/\text{kg}$ 体重の間の1日量で、どの薬剤であるかにもよるが、治療、特にがんの処置、改善、または予防に使用される場合がある。より好ましくは、薬剤の1日量は、 $0.01 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重から $1 \text{ mg}/\text{kg}$ 体重の間、より好ましくは $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重から $100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の間、最も好ましくは約 $0.1 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重から $10 \mu\text{g}/\text{kg}$ 体重の間である。

【0144】

あるいは、対象に投与される用量は、 0.5×10^7 から 5×10^{12} 形質導入単位（TU）／Kg 体重の間であってもよい。より好ましくは、対象に投与される用量は、 0.5×10^8 から 5×10^{11} TU／Kg 体重の間であってもよい。最も好ましくは、対象に投与される用量は、 0.5×10^9 から 5×10^{10} TU／Kg 体重の間であってもよい。

【0145】

本剤は、がんの発症前、発症中または発症後に投与される場合がある。1日の投与量は、単回投与（例えば、1日1回の注射）として行われる場合がある。あるいは、薬剤は、1日の間に2回またはそれ以上の投与を必要とする場合がある。一例として、薬剤は、 $0.07 \mu\text{g}$ から 700 mg の間（すなわち、 70 kg の体重を想定）の1日の投与量を2回（または処置される疾患、例えばがんの重症度に応じてそれ以上）として投与される場合がある。処置を受ける患者は、起床時に1回目の投与を行い、夕方に2回目の投与を行うか（2回投与レジメンの場合）、その後3時間または4時間間隔で投与する場合がある。あるいは、薬剤は週に1回、月に1回でも投与が必要な場合がある。あるいは、徐放装置を使用して、繰り返し投与する必要なく、本発明に記載の薬剤の最適用量が患者に提供される場合がある。本発明に記載の薬剤の特定の製剤および正確な治療レジメン（薬剤の1日の投与量および投与頻度など）を形成するために、製薬業界で従来採用されているような既知の手順（例えば、*in vivo* 実験、臨床試験など）が使用される場合がある。

【0146】

本発明の第6の態様では、第1の態様に記載の遺伝子構築物、または第2の態様に記載のベクター、および場合により薬学的に許容されるビヒクル、を含む医薬組成物が提供さ

10

20

30

40

50

れる。

【0147】

医薬組成物は、好ましくは抗がん組成物、すなわち対象におけるがんの治療的改善、予防または処置に使用される医薬製剤であり、好ましくは対象におけるT-A-L-Lの治療的改善、予防または処置に使用される医薬製剤である。

【0148】

本発明はまた、第7の態様において、第6の態様に記載の医薬組成物を製造するためのプロセスを提供し、該プロセスは、治療上有効な量の第1の態様に記載の遺伝子構築物、または第2の態様に記載のベクターを、薬学的に許容されるビヒクルと組み合わせることを含む。

10

【0149】

「対象」は、脊椎動物、哺乳動物、または家畜家禽であってもよい。したがって、本発明に記載の医薬は、任意の哺乳動物、例えば家畜（例えばウマ）、ペットを処置するために使用されてもよく、または他の獣医学的用途に使用されてもよい。最も好ましくは、対象はヒトである。

【0150】

遺伝子構築物またはベクターの「治療上有効な量」とは、対象に投与された場合に、処置される疾患、例えばがんを処置するため、または所望の効果をもたらすために必要な薬剤の量である任意の量である。

【0151】

例えば、使用される遺伝子構築物またはベクターの治療上有効な量は、約0.001 ngから約1 mg、好ましくは約0.01 ngから約100 ngであってもよい。遺伝子構築物またはベクターの量は、約0.1 ngから約10 ng、最も好ましくは約0.5 ngから約5 ngの量であることが好ましい。

20

【0152】

本明細書で言及される「薬学的に許容されるビヒクル」とは、医薬組成物の製剤化に有用であることが当業者に知られている任意の公知化合物または公知化合物の組合せである。

【0153】

一実施形態では、薬学的に許容されるビヒクルは固体であってもよく、組成物は粉末または錠剤の形態であってもよい。固体の薬学的に許容されるビヒクルは、香味料、潤滑剤、可溶化剤、懸濁化剤、染料、充填剤、流動促進剤、圧縮補助剤、不活性結合剤、甘味料、保存料、染料、被覆剤、または錠剤崩壊剤として働くこともある1つまたは複数の物質を含んでいてもよい。ビヒクルはまた、カプセル化材料であってもよい。粉末では、ビヒクルは、本発明に記載の微細に分割された活性剤と混和される微細に分割された固体である。錠剤では、活性剤は、必要な圧縮特性を有するビヒクルと適切な割合で混合され、所望の形状およびサイズに圧縮されていてもよい。粉末および錠剤は、好ましくは99%までの活性剤を含む。好適な固体ビヒクルとしては、例えば、リン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム、タルク、糖類、ラクトース、デキストリン、デンプン、ゼラチン、セルロース、ポリビニルピロリジン、低融点ワックスおよびイオン交換樹脂が挙げられる。別の実施形態では、医薬ビヒクルはゲルであってもよく、組成物はクリームなどの形態であってもよい。

30

【0154】

しかしながら、医薬ビヒクルは液体であってもよく、医薬組成物は溶液の形態である。液体ビヒクルは、溶液、懸濁液、エマルジョン、シロップ剤、エリキシル剤および加圧組成物の調製に使用される。本発明に記載の活性剤は、水、有機溶媒、両者の混合物、または薬学的に許容される油または脂肪などの薬学的に許容される液体ビヒクル中に溶解または懸濁される場合がある。液体ビヒクルは、可溶化剤、乳化剤、緩衝剤、保存料、甘味料、香味料、懸濁化剤、増粘剤、着色料、粘度調節剤、安定剤または浸透圧調節剤などの他の適切な医薬添加物を含むことができる。経口および非経口投与のための液体ビヒクルの

40

50

好適な例としては、水（部分的に上記のような添加物を含む、例えばセルロース誘導体、好ましくはカルボキシメチルセルロースナトリウム溶液）、アルコール（一価アルコールおよび多価アルコールを含む、例えばグリコール）およびそれらの誘導体、ならびに油（例えば分画ヤシ油およびラッカセイ油）である。非経口投与の場合、ビヒクルはまた、オレイン酸エチルおよびミリスチン酸イソプロピルのような油性エステルであり得る。非経口投与用の無菌液体形態組成物では、無菌液体ビヒクルが有用である。加圧組成物用の液体ビヒクルは、ハロゲン化炭化水素または他の薬学的に許容される噴霧剤であり得る。

【0155】

無菌の溶液または懸濁液である液体医薬組成物は、例えば、筋肉内、髄腔内、硬膜外、腹腔内、静脈内、特に皮下注射によって利用され得る。薬剤は、滅菌水、生理食塩水、または他の適切な滅菌注射用媒体を用いて、投与時に溶解または懸濁され得る滅菌固体組成物として調製される場合がある。

【0156】

本発明の薬剤および組成物は、他の溶質または懸濁剤（例えば、溶液を等張にするのに十分な生理食塩水またはグルコース）、胆汁酸塩、アカシア、ゼラチン、ソルビタンモノオレート、ポリソルベート80（ソルビトールとその無水物をエチレンオキシドで共重合したオレイン酸エステル）等を含む無菌溶液または懸濁液の形態で経口投与される場合がある。また、本発明に従って使用される薬剤は、液体または固体の組成物の形態で経口投与され得る。経口投与に適した組成物としては、丸剤、カプセル剤、顆粒、錠剤、粉末などの固体形態、溶液、シロップ剤、エリキシル剤、懸濁液などの液体形態が挙げられる。非経口投与に有用な形態としては、滅菌溶液、エマルジョン、懸濁液などが挙げられる。

【0157】

本明細書で議論するように、本発明の遺伝子構築物は、レポーター遺伝子を含んでいてもよく、これは、疾患細胞において特異的に発現される場合がある。したがって、有利には、本発明の遺伝子構築物およびベクターは、頑健な診断ツールとしても使用される場合がある。本発明の構築物は、有利には、患者における腫瘍のmiRNA発現プロファイルを検出し、腫瘍のサブタイプを特定するために使用することができ、これは、患者のための適切な処置を決定するために使用することができる。あるいは、本発明の構築物は、単にがんの存在を検出するために使用され得る。

【0158】

したがって、第8の態様では、診断に使用するための、第1の態様に記載の遺伝子構築物、または第2の態様に記載のベクターが提供される。

第9の態様では、がんの診断に使用するための、第1の態様に記載の遺伝子構築物、または第2の態様に記載のベクターが提供される。

【0159】

第10の態様では、診断または予知の方法であって、対象から得られた試料において、第1の態様に記載の遺伝子構築物のレポーター分子、または第2の態様に記載のベクターを検出するステップを含む方法が提供される。

【0160】

第11の態様では、対象のがんを診断または予知する方法であって、対象から得られた試料において、第1の態様に記載の遺伝子構築物のレポーター分子、または第2の態様に記載のベクターを検出するステップを含む方法が提供される。

【0161】

好ましくは、がんはT-A-L-Lである。

予後は、疾患、好ましくはがんと診断された対象における治療結果を決定することに関連する場合がある。予後は、対象における疾患の進行または改善の割合および／または期間、生存の確率、および／または様々な処置レジメンの有効性を予測することに関連する場合がある。したがって、予後不良は、疾患進行、生存の確率の低さ、および処置レジメンの有効性の低下を示す場合がある。良好な予後は、疾患の消散、生存の確率の高さ、処置レジメンの有効性の高さを示す場合がある。

【0162】

診断方法は、*in vivo*で実施される場合がある。しかしながら、好ましくは、診断方法は、*in vitro*または*ex vivo*で実施される。好ましくは、診断方法は、*in vitro*で実施される。好ましくは、診断方法は、*ex vivo*で実施される。

【0163】

また、本発明は、がん罹患している患者を診断するためのキットを提供する。

第12の態様では、がん罹患している対象、またはその素因を診断するためのキット、あるいは対象の状態の予後を提供するためのキットであって、第1の態様に記載の遺伝子構築物、または第2の態様に記載のベクターを含むキット、が提供される。

10

【0164】

試料は、生物学的試料または画像試料であってもよい。

画像試料は、PETスキャン画像またはMRI画像であってもよい。

好ましくは、試料は、生物学的試料を含む。試料は、対象から取得可能な任意の材料であってもよい。

【0165】

生物学的試料は、組織または生物学的体液であってもよい。さらに、試料は、血液、血漿、血清、髄液、尿、汗、唾液、涙、乳房吸引液、母乳、前立腺液、精液、膿液、便、子宮頸部搔き取り物、サイト(cyt es)、羊水、眼内液、粘液、息中の水分、動物組織、細胞溶解物、腫瘍組織、毛髪、皮膚、頬搔き取り物、リンパ、間質液、爪、骨髓、軟骨、プリオン、骨粉、耳垢、リンパ、肉芽腫、脳脊髄液、がん生検またはそれらの組合せであってもよい。

20

【0166】

試料は、液体の吸引液であってもよい。例えば、試料は、気管支肺胞洗浄(BAL)、腹水、胸膜洗浄、または心膜洗浄であってもよい。

試料は、血液、尿、組織などを含んでもよい。好ましい一実施形態では、生物学的試料は、血液試料を含む。血液は、静脈血または動脈血であってもよい。血液試料は、直ちにアッセイされてもよい。あるいは、血液試料は、方法を実施する前に低温で、例えば冷蔵庫で、あるいは凍結して保存されてもよい。あるいは、血液試料は、方法が実施される前に、室温、例えば18から22℃の間で保存されてもよい。血液試料は、血清を含んでもよい。血液試料は、血漿を含んでもよい。好ましくは、しかしながら、検出は全血で行われ、最も好ましくは、血液試料は末梢血である。

30

【0167】

血液試料は、循環腫瘍細胞を含んでもよく、構築物を使用して循環腫瘍細胞のmiRNA発現プロファイルを検出することができ、したがって、患者のための最良の処置オプションを特定することができるようにする。

【0168】

診断方法を実施する前に、血液はさらに処理されてもよい。例えば、クエン酸塩(クエン酸ナトリウムなど)、ヒルジン、ヘパリン、PPACK、またはフッ化ナトリウムなどの抗凝固剤が添加されてもよい。したがって、試料採取容器は、血液試料が凝固するのを防ぐために、抗凝固剤を含有してもよい。

40

【0169】

一実施形態では、本発明の構築物は、患者から得られた脳脊髄液において、がん細胞を検出するため、またはがんサブタイプを決定するために使用されてもよい。したがって、好ましくは、生物学的試料は、脳脊髄液を含んでもよい。

【0170】

本発明は、いずれかの核酸、ペプチド、またはそのバリエーション、誘導体、もしくはアナログに及び、本明細書で言及されるいずれかの配列のアミノ酸配列または核酸配列、そのバリエーションまたは断片、を実質的に含むことが理解されるであろう。用語「実質的にアミノ酸/ヌクレオチド/ペプチド配列」、「バリエーション」および「断片」は、本明細書で言

50

及されるいずれか1つの配列のアミノ酸／ヌクレオチド／ペプチド配列と少なくとも40%の配列同一性を有する配列、例えば配列番号1から82などとして同定される配列と40%の同一性を有する配列であり得る。

【0171】

参照される配列のいずれかと65%より大きい、より好ましくは70%より大きい、さらに好ましくは75%より大きい、なおより好ましくは80%より大きい配列同一性を有するアミノ酸／ポリヌクレオチド／ポリペプチド配列もまた想定される。好ましくは、アミノ酸／ポリヌクレオチド／ポリペプチド配列は、本明細書で言及される配列のいずれかと少なくとも85%の同一性、より好ましくは少なくとも90%の同一性、さらに好ましくは少なくとも92%の同一性、さらに好ましくは少なくとも95%の同一性、さらに好ましくは少なくとも97%の同一性、さらに好ましくは少なくとも98%の同一性および、最も好ましくは少なくとも99%の同一性を有する。

【0172】

当業者は、2つのアミノ酸／ポリヌクレオチド／ポリペプチド配列間の同一性パーセンテージを計算する方法を理解するであろう。2つのアミノ酸／ポリヌクレオチド／ポリペプチド配列間の同一性パーセンテージを計算するためには、まず2つの配列のアラインメントを作成し、次いで配列同一性値を計算する必要がある。2つの配列の同一性パーセントは、(i) 配列を整列するために使用される方法、例えば、ClustalW、BLAST、FASTA、Smith-Waterman（異なるプログラムで実装）、または3D比較からの構造アラインメント；および(ii) アラインメント方法によって用いられるパラメータ、例えば、ローカル対グローバルアラインメント、用いられるペアスコア行列（例えばBLOSUM62、PAM250、Gonnetなど）およびギャップペナルティ、例えば関数形式および定数、に応じて異なる値になる場合がある。

【0173】

アラインメントを行った後、2つの配列間の同一性のパーセンテージを計算する多くの異なる方法がある。例えば、同一性の数を、(i) 最短配列の長さ、(ii) アラインメントの長さ、(iii) 配列の平均の長さ、(iv) 非ギャップ位置の数、または(v) オーバーハングを除く等価な位置の数、によって割る場合がある。さらに、同一性のパーセンテージも長さに強く依存することが理解されよう。したがって、一対の配列が短ければ短いほど、偶然に発生すると予想される配列同一性が高くなる場合がある。

【0174】

したがって、タンパク質配列またはDNA配列の正確なアラインメントは複雑なプロセスであることが理解されるであろう。一般的なマルチプルアラインメントプログラムであるClustalW（Thompsonら、1994、Nucleic Acids Research、22、4673～4680頁；Thompsonら、1997、Nucleic Acids Research、24、4876～4882頁）は、本発明に従って、タンパク質またはDNAのマルチプルアラインメントを生成するための好ましい方法である。ClustalWの適切なパラメータは、以下の通りである。DNAアラインメントの場合：ギャップ開始ペナルティ=15.0、ギャップ伸長ペナルティ=6.66、および行列=同一性。タンパク質アラインメントの場合：ギャップ開始ペナルティ=10.0、ギャップ伸長ペナルティ=0.2、および行列=Gonnet。DNAおよびタンパク質のアラインメントの場合：ENDGAP=-1、およびGAPDIST=4。当業者であれば、最適な配列アラインメントを行うために、これらのパラメータおよび他のパラメータを変化させることが必要であることを認識するであろう。

【0175】

好ましくは、2つのアミノ酸／ポリヌクレオチド／ポリペプチド配列間の同一性パーセンテージの計算は、次いで、このようなアラインメントから $(N/T) * 100$ として計算される場合があり、ここでNは配列が同一の残基を共有する位置の数、Tはギャップを含み、オーバーハングを含むか含まない比較された位置の総数である。好ましくは、オーバーハングが計算に含まれる。したがって、2つの配列間の同一性パーセンテージを計算

するための最も好ましい方法は、(i) ClustalWプログラムを用いて、例えば上記のような適切なパラメータセットを使用して、配列アラインメントを準備すること；および(ii) NおよびTの値を以下の式：配列の同一性 = $(N/T) * 100$ に挿入すること、を含む。

【0176】

類似の配列を同定するための代替方法は、当業者に公知であろう。例えば、実質的に類似したヌクレオチド配列は、厳密な条件下でDNA配列またはそれらの相補体にハイブリダイズする配列によってコードされるであろう。厳密な条件とは、本発明者らは、ヌクレオチドが、約45℃の3×塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム(SSC)中でフィルター結合したDNAまたはRNAにハイブリダイズし、その後約20から65℃の0.2×SSC/0.1% SDS中で少なくとも1回洗浄することを意味する。あるいは、実質的に類似したポリペプチドは、例えば、配列番号1から82のアミノ酸配列に示される配列から、少なくとも1つ、しかし5、10、20、50または100アミノ酸未満だけ異なっている。

【0177】

遺伝暗号の縮重により、本明細書に記載される任意の核酸配列は、それによってコードされるタンパク質の配列に実質的に影響を与えることなく変化または変更され、その機能的バリエーションを提供し得ることは明白である。好適なヌクレオチドバリエーションは、配列内の同じアミノ酸をコードする異なるコドンの置換によって変化した配列を有するものであり、したがって、サイレント(同義)変化を生じさせる。他の適切なバリエーションは、相同なヌクレオチド配列を有するが、配列のすべて、または一部を含み、それが置換するアミノ酸と同様の生物物理的特性を有する側鎖を有するアミノ酸をコードする異なるコドンの置換により変化し、保存的变化をもたらす。例えば、小さな非極性疎水性アミノ酸としては、グリシン、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、メチオニンが挙げられる。大きな非極性の疎水性アミノ酸としては、フェニルアラニン、トリプトファン、チロシンが挙げられる。極性の中性アミノ酸としては、セリン、トレオニン、システイン、アスパラギンおよびグルタミンが挙げられる。正電荷を有する(塩基性)アミノ酸としては、リジン、アルギニンおよびヒスチジンが挙げられる。負電荷を有する(酸性)アミノ酸としては、アスパラギン酸およびグルタミン酸が挙げられる。したがって、どのアミノ酸を同様の生物物理学的特性を有するアミノ酸で置換してもよいかが理解され、当業者はこれらのアミノ酸をコードするヌクレオチド配列がわかるであろう。

【0178】

本明細書(添付の特許請求の範囲、要約および図面を含む)に記載されたすべての特徴、および／または、このように開示された任意の方法またはプロセスのすべてのステップは、そのような特徴および／またはステップの少なくとも一部が相互に排他的である組合せを除いて、任意の組合せで上記の態様のいずれかと組み合わせてもよい。

【0179】

本発明をより良く理解するために、また、本発明の実施形態がどのように実施され得るかを示すために、次に、例として、添付の図が参照される。

【図面の簡単な説明】

【0180】

【図1】 標的mRNAのmiRNAを介したサイレンシングの概略図である。mRNAおよびmiRNAは、いずれも遺伝子前駆体から転写される。次いで、miRNAはそれらの標的mRNAの相補的領域に結合し分解に至る。

【図2】 T-ALL細胞における治療用遺伝子送達のための、本発明のマイクロRNA検出器システムおよび関連する遺伝子構築物の一実施形態の概略図である。

【図3】 RT-qPCRによって決定され、 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法を使用して計算されたT-ALL細胞と非T-ALL細胞におけるマイクロRNA相対発現を示す図である。 $* p < 0.05$; $*** p < 0.0001$ 。

【図4】 SBIのpCDH-EF1-MCS-T2A-GFP(PGK-Puro)発現

10

20

30

40

50

ベクターの一実施形態の概略図である。

【図5】Lacオペロンを発現させるために改変された双方向性レンチウイルス発現ベクター（「bdLV」）の概略図であり、2ステップのアプローチを示す図である。

【図6】EF1プロモーターの下流にLacオペレーター配列（LacO）をクローニングした結果を示す図である。A）は、bdLVベクターまたはbdLV__LacOベクターでトランスフェクトした293T細胞のGFP発現を示す図である。B.i）は、bdLV__LacOベクターまたはBdLV__LacOベクターおよびLacIベクターでトランスフェクトした293T細胞のGFP発現を示す図である。B.ii）は、bdLV__LacOベクターおよびLacIベクターで共トランスフェクトし、IPTG（イソプロピルβ-D-1-チオガラクトピラノシド）で24時間および48時間処理したか否かの293T細胞のGFP発現を示す図である。Unt.=非トランスフェクト。

10

【図7】PGKプロモーターの下流にLacリプレッサー（LacI）をクローニングした結果を示す図である。bdLV__LacOベクターまたはbdLV__LacI__LacOベクターでトランスフェクトし、IPTGで処理した293T細胞のGFP発現（強度および幾何平均）を示す。Unt.=非トランスフェクト。

【図8】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

【図8C】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

20

【図8D】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

【図8E】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

【図8F】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

30

【図8G】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

【図8H】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

【図8I】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

【図8J】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

40

【図8K】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

【図8L】マイクロRNA検出器システムの2つの実施形態（AおよびB）と、マイクロRNA標的部位の可能な組合せC、D、E、F、G、H、I、J、KおよびL）を有する関連遺伝子構築物の概略図である。

【図9A】miR-29aおよびmiR-149の標的配列を有するマイクロRNA検出器の効率および特異性のin vitroでの検証を示す図である。T-ALL（A）お

50

よび非T-ALL (B) 細胞を、マイクロRNA検出器BdLV__miR29a__4×T、BdLV__miR149__4×T、およびBdLV__miR29a__4×T__miR149__4×Tで形質導入した。GFP発現をフローサイトメトリーで分析し、レポーター遺伝子の発現を抑制する検出器の効率を決定するための読み取りとして使用した。

【図9B】miR-29aおよびmiR-149の標的配列を有するマイクロRNA検出器の効率および特異性のin vitroでの検証を示す図である。T-ALL (A) および非T-ALL (B) 細胞を、マイクロRNA検出器BdLV__miR29a__4×T、BdLV__miR149__4×T、およびBdLV__miR29a__4×T__miR149__4×Tで形質導入した。GFP発現をフローサイトメトリーで分析し、レポーター遺伝子の発現を抑制する検出器の効率を決定するための読み取りとして使用した。

10

【図10A】miR-128aおよびmiR-153の標的配列を有するマイクロRNA検出器の効率および特異性のin vitroでの検証を示す図である。T-ALL細胞を、マイクロRNA検出器BdLV__miR128a__4×T、BdLV__miR153__4×T、およびBdLV__miR128a__4×T__miR153__4×Tで形質導入した。GFP発現をフローサイトメトリーで分析し、マイクロRNA検出器がLacIを介してレポーター遺伝子プロモーターを抑制解除するマイクロRNA検出器の効率を決定するための読み取りとして使用した。

【図10B】miR-128aおよびmiR-153の標的配列を有するマイクロRNA検出器の効率および特異性のin vitroでの検証を示す図である。T-ALL細胞を、マイクロRNA検出器BdLV__miR128a__4×T、BdLV__miR153__4×T、およびBdLV__miR128a__4×T__miR153__4×Tで形質導入した。GFP発現をフローサイトメトリーで分析し、マイクロRNA検出器がLacIを介してレポーター遺伝子プロモーターを抑制解除するマイクロRNA検出器の効率を決定するための読み取りとして使用した。

20

【図11】デュアルmiRNA標的部位を含む構築物のin vitroでの検証を示す図である。

【図12】2つ、3つ、または4つのmiRNA標的部位を含むマイクロRNA検出器の効率および特異性のin vitroでの検証を示す図である。

【図13】非組込み型レンチウイルスベクターで形質導入したT-ALL細胞および非T-ALL細胞の培養におけるマイクロRNA検出器の効率および特異性のin vitroでの検証を示す図である。

30

【発明を実施するための形態】

【0181】

【実施例】

【0182】

実施例1

T-ALLを同定し、選択的に阻害することが可能な新規マイクロRNA検出器の概要ががんにおいて、マイクロRNAの発現プロファイルは、腫瘍細胞と正常細胞を区別し、異なる発生起源とそれらの分化状態を識別することが示されている(8、9、14、15)。したがって、本発明者らは、T-ALL特異的なマイクロRNA発現プロファイルを利用して、マイクロRNAを使用した(1) T-ALL細胞を識別し、次いで(2) 白血病細胞への治療用遺伝子(アポトーシス誘導遺伝子)の発現を制御する、マイクロRNA検出システム(すなわち、本発明の組換え遺伝子構築物)を開発した。宿主細胞内で発現させた場合、T-ALL細胞のみに特異的な所定のマイクロRNAプロファイルに基づき、まず宿主細胞が白血病細胞であるかどうかを構築物が判定し、白血病細胞であれば、構築物は細胞死を誘導する。したがって、T-ALL細胞内の特定のマイクロRNAの発現と構築物との間の正の一致は、治療用遺伝子をそのT-ALL細胞に送達し、その死が誘導されるが正常な健康細胞は死なない結果となる(図2A参照)。患者の体内でT-ALL細胞と非T-ALL細胞とを区別するこのシステムの本質的な能力は、それゆえ、本発明の固有の態様である。このため、高精度腫瘍学に適用される他の遺伝子治療技術と比較

40

50

して大きな優位性があり、患者に最良の有効性と安全性の結果を提供するために意図的に設計されている。

【0183】

治療用遺伝子の送達は、T-A L L細胞のみに存在する（または高発現する）マイクロRNAと、その細胞に特異的に存在しない（または著しく発現量が少ない）マイクロRNAの両方によって制御される。例えば、図2Bを参照すると、白血病細胞は、マイクロRNA AおよびBの非存在、ならびにマイクロRNA CおよびDの存在によって正常細胞から識別され得ると仮定すると、治療用遺伝子は、（1）マイクロRNA AとBが存在しない、（2）マイクロRNA CとDが同じ細胞内で発現している、の場合にのみ送達される（図2B参照）。

10

【0184】

マイクロRNAは、従来、遺伝子発現を負に制御するために探索されてきた。しかしながら、本発明は、治療用遺伝子の発現を正に制御するために、特定のマイクロRNAの同時存在および非存在を使用する。この二重の調節は、双方向性発現ベクターと負のフィードバックループの使用によって達成される。このようなシステムはこれまで適用されておらず、治療用遺伝子を標的細胞のみに送達する技術の特異性を高め、薬物の有効性と安全性、および患者の治療結果を最大化する（図2C参照）。

【0185】

この革新的な技術は、T-A L L治療における特異性の欠如を効果的に回避する可能性を有する。重要なことは、この戦略が、マイクロRNAの発現プロファイルにばらつきのある他のがん種における同様の個別化治療の開発に応用できることを示す概念実証となることである。

20

材料および方法

バイオインフォマティクス解析

T-A L L細胞に特異的なマイクロRNA発現プロファイルを定義するために、本発明者らは、公開されているヒトデータセットからマイクロRNA発現データを収集した。本発明者らは、最初に、T-A L L試料を含む10のヒトデータセットを特定した（1～10）。これらのうち、4つは非腫瘍試料を欠いているため除外され（1～4）、他の2つは生データにアクセスすることが不可能であったため除外された（5、6）。分析したデータセット（7～10）のそれぞれについて、本発明者らは非T-A L L試料（対照群）とT-A L L試料（T-A L L群）を比較した。対照群で分析された試料は研究によって異なり、肺、結腸、膀胱、脳、腎臓、乳房、全骨髄（BM）細胞、全胸腺細胞、造血CD34+BM細胞、CD4+T細胞、CD8+T細胞、CD4+CD8+CD3+T細胞の健康組織を含む。T-A L L群には、T-A L L初代細胞および細胞株が含まれた。

30

【0186】

T-A L L試料において上方調節とみなされるには、その群における特定のmiRNAの最小発現値が、対照群におけるそのmiRNAの最大発現値よりも高くなければならなかった。同様に、対照群におけるあるmiRNAの最小発現値がT-A L L群における最大発現値よりも高い場合、そのmiRNAはT-A L L試料において下方調節されているとみなされた。この分類システムを用いて、本発明者らは、異なるデータセットにおいて下方調節および上方調節された12のmiRNAを特定することができた。

40

【0187】

その後、本発明者らは、ヒトT-A L L細胞および正常細胞および組織から得られた一般に入手可能なマイクロRNAデータのバイオインフォマティクス解析により、さらなるT-A L L特異的なマイクロRNA発現プロファイルを確立した。これらのデータセットは、約140種類のT-A L L細胞株と患者細胞、ならびに脳、肝臓、腎臓、肺、心臓、乳房、膀胱、結腸、子宮、皮膚、卵巣、脾臓、前立腺、胃、精巣、髄膜、甲状腺、胸腺、骨髄、脾臓、リンパ節、末梢血などの約480種類の正常組織試料を包含する。造血器官およびリンパ系器官は、造血幹細胞や前駆細胞など、異なる系統と異なる分化段階をカバーした。

50

【 0 1 8 8 】

この解析により、以下の表 1 に示すように、25 のマイクロRNA が同定された。

【 0 1 8 9 】

【 表 1 - 1 】

表 1

T-ALL における 発現	マイクロ RNA ID	受入番号	配列	標的配列
上方調節	hsa-miR-3687	MIMAT0018115	CCCGGACAGGCGUUCGUGC GACGU (配列番号 67)	ACGTCGCACGAACGCCTGT CCGGG (配列番号 56)
上方調節	hsa-miR-92a-2-5p	MIMAT0004508	GGGUGGGGAUUUGUUGCAU UAC (配列番号 68)	GTAATGCAACAAATCCCCA CCC (配列番号 57)
上方調節	hsa-miR-20b-3p	MIMAT0004752	ACUGUAGUAUGGGCACUUC CAG (配列番号 69)	CTGGAAGTGCCCATACTAC AGT (配列番号 58)
上方調節	hsa-miR-6087	MIMAT0023712	UGAGGCGGGGGGCGAGC (配列番号 70)	GCTCGCCCCCGCCTCA (配列番号 59)
上方調節	hsa-miR-106a-3p	MIMAT0004517	CUGCAAUGUAAGCACUUCU UAC (配列番号 71)	GTAAGAAGTGCTTACATTG CAG (配列番号 60)
上方調節	hsa-miR-7704	MIMAT0030019	CGGGGUCGGCGGCGACGUG (配列番号 72)	CACGTCGCCGCCGACCCCG (配列番号 61)
上方調節	hsa-miR-5701	MIMAT0022494	UUAUUGUCACGUUCUGAUU (配列番号 73)	AATCAGAACGTGACAATAA (配列番号 62)
上方調節	hsa-miR-766-5p	MIMAT0022714	AGGAGGAAUUGGUCUGGU CUU (配列番号 74)	AAGACCAGCACCAATTCCTC CT (配列番号 63)
上方調節	hsa-miR-3609	MIMAT0017986	CAAAGUGAUGAGUAAUACU GGCUG (配列番号 75)	CAGCCAGTATTACTCATCAC TTTG (配列番号 64)
上方調節	hsa-miR-3615	MIMAT0017994	UCUCUCGGCUCCUCGCGGC UC (配列番号 76)	GAGCCGCGAGGAGCCGAGA GA (配列番号 65)
上方調節	hsa-miR-4746-5p	MIMAT0019880	CCGGUCCAGGAGAACCUGC AGA (配列番号 77)	TCTGCAGGTTCTCTGGGA CCGG (配列番号 66)
下方調節	hsa-miR-539-5p	MIMAT0003163	GGAGAAAUAUCCUUGGUG UGU (配列番号 42)	ACACACCAAGGATAATTTCT CC (配列番号 28)
下方調節	hsa-miR-487a-3p	MIMAT0002178	AAUCAUACAGGGACAUCAG UU (配列番号 43)	AACTGGATGTCCCTGTATG ATT (配列番号 29)
下方調節	hsa-miR-655-3p	MIMAT0003331	AUAAUACAUGGUUAACCUC UUU (配列番号 44)	AAAGAGGTTAACCATGTAT TAT (配列番号 30)
下方調節	hsa-miR-411-3p	MIMAT0004813	UAUGUAAACACGGUCCACUA ACC (配列番号 45)	GGTTAGTGGACCGTGTAC ATA (配列番号 31)
下方調節	hsa-miR-377-5p	MIMAT0004689	AGAGGUUGCCUUGGUGAA UUC (配列番号 46)	GAATTCACCAAGGGCAACC TCT (配列番号 32)

【 0 1 9 0 】

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

下方調節	hsa-miR-337-5p	MIMAT0004695	GAACGGCUUCAUACAGGAGUU (配列番号 47)	AACTCCTGTATGAAGCCGTTC (配列番号 33)
下方調節	hsa-miR-31-3p	MIMAT0004504	UGCUAUGCCAACAUAUUGCCA (配列番号 48)	ATGGCAATATGTTGGCATA GCA (配列番号 34)
下方調節	hsa-miR-214-5p	MIMAT0004564	UGCCUGUCUACACUUGCUGUGC (配列番号 49)	GCACAGCAAGTGTAGACAG GCA (配列番号 35)
下方調節	hsa-miR-1185-5p	MIMAT0005798	AGAGGAUACCCUUGUAUGUU (配列番号 50)	AACATACAAAGGGTATCCTCT (配列番号 36)
下方調節	hsa-miR-483-5p	MIMAT0004761	AAGACGGGAGGAAAGAAGGGAG (配列番号 51)	CTCCCTTCTTTCTCCTCCCGTCTT (配列番号 37)
下方調節	hsa-miR-365a-3p	MIMAT0009199	AGGGACUUUUGGGGGCAGAUUGUG (配列番号 52)	CACATCTGCCCCCAAAAGTCCCT (配列番号 38)
下方調節	hsa-miR-127-3p	MIMAT0000446	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU (配列番号 53)	AGCCAAGCTCAGACGGATCCGA (配列番号 39)
下方調節	hsa-miR-574-3p	MIMAT0003239	CACGCUCAUGCACACCCCA (配列番号 54)	TGTGGGTGTGTGCATGAGCGTG (配列番号 40)
下方調節	hsa-miR-125b-5p	MIMAT0000423	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA (配列番号 55)	TCACAAGTTAGGGTCTCAGGGA (配列番号 41)

10

20

【0191】

このリストに基づき、本発明者らは、以下の表 2 に示すように、マイクロ RNA 検出器の構築に使用される可能性が最も高い 16 のマイクロ RNA を掲載した。

【0192】

30

40

50

【表 2】

表 2

T-ALL における発現	マイクロ RNA ID	受入番号	配列	標的配列
上方調節	hsa-miR-3687	MIMAT0018115	CCCGGACAGCGUUCGUGCGACGU (配列番号 67)	ACGTCGCACGAACGCCTGTCCGGG (配列番号 56)
上方調節	hsa-miR-92a-2-5p	MIMAT0004508	GGGUGGGGAUUUGUUGC AUUAC (配列番号 68)	GTAATGCAACAAATCCCCA CCC (配列番号 57)
上方調節	hsa-miR-20b-3p	MIMAT0004752	ACUGUAGUAUGGGCACU UCCAG (配列番号 69)	CTGGAAGTGCCCTACTAC AGT (配列番号 58)
上方調節	hsa-miR-6087	MIMAT0023712	UGAGGCGGGGGGCGAG C (配列番号 70)	GCTCGCCCCCGCCTCA (配列番号 59)
上方調節	hsa-miR-106a-3p	MIMAT0004517	CUGCAAUGUAAGCACUUC UUAC (配列番号 71)	GTAAGAAGTGCTTACATTG CAG (配列番号 60)
上方調節	hsa-miR-7704	MIMAT0030019	CGGGGUCGGCGGCGACGU G (配列番号 72)	CACGTCGCCGCCGACCCCG (配列番号 61)
下方調節	hsa-miR-539-5p	MIMAT0003163	GGAGAAUUAUCCUUGG UGUGU (配列番号 42)	ACACACCAAGGATAATTTTCC (配列番号 28)
下方調節	hsa-miR-487a-3p	MIMAT0002178	AAUCAUACAGGGACAUC AGUU (配列番号 43)	AACTGGATGTCCCTGTATG ATT (配列番号 29)
下方調節	hsa-miR-655-3p	MIMAT0003331	AUAAUACAUGGUUAACCU CUUU (配列番号 44)	AAAGAGGTTAACCATGTAT TAT (配列番号 30)
下方調節	hsa-miR-411-3p	MIMAT0004813	UAUGUAACACGGUCCACU AAC (配列番号 45)	GGTTAGTGGACCGTGTAC ATA (配列番号 31)
下方調節	hsa-miR-377-5p	MIMAT0004689	AGAGGUUGCCCUUGGUG AAUUC (配列番号 46)	GAATTCACCAAGGGCAACC TCT (配列番号 32)
下方調節	hsa-miR-337-5p	MIMAT0004695	GAACGGCUUCAUACAGGA GUU (配列番号 47)	AACTCCTGTATGAAGCCGT TC (配列番号 33)
下方調節	hsa-miR-31-3p	MIMAT0004504	UGCUAUGCCAACAUUUG CCAU (配列番号 48)	ATGGCAATATGTTGGCATA GCA (配列番号 34)
下方調節	hsa-miR-214-5p	MIMAT0004564	UGCCUGUCUACACUUGCU GUGC (配列番号 49)	GCACAGCAAGTGTAGACAG GCA (配列番号 35)
下方調節	hsa-miR-1185-5p	MIMAT0005798	AGAGGAUACCCUUUGUA UGUU (配列番号 50)	AACATACAAAGGTATCCT CT (配列番号 36)
下方調節	hsa-miR-483-5p	MIMAT0004761	AAGACGGGAGGAAAGAAG GGAG (配列番号 51)	CTCCCTTCTTCTCCCGTC TT (配列番号 37)

10

20

30

【0193】

マイクロRNA発現プロファイルの検証

T-ALL 特異的なマイクロRNA発現プロファイルの検証は、TaqMan MicroRNAアッセイ (Applied Biosystems) を用いて、それぞれのマイクロRNA発現のリアルタイムPCR定量化により実施した。異なる分化段階に対応するT-ALL細胞株 (Jurkat、DND4.1、MOLT4、CEM、SUP-T1、HPB-ALL、TALL-1、P12およびLoucy) ならびに293T、A549、MDA231、CaCO2、U2OS、HCT-116、ACHN、A498およびD458のようないくつかの非T-ALL細胞株においてマイクロRNA発現を解析した。

40

【0194】

T-ALL細胞株は、10%のウシ胎仔血清 (FBS) と1%のペニシリン/ストレプトマイシン (Pen/Strep) を補充したレグルタミンを含むRPMI-1640培地で培養した。非T-ALL細胞株は、以下のように、293T、A549、MDA231およびCaCO2は、10%FBSおよび1%Pen/Strepを補充したダルベッコ改変イーグル培地で、U2OS、HCT-116は10%FBSおよび1%Pen/Strepを含むマッコイ5A培地で、ACHNおよびA498は10%FBSおよび1%Pen/Strepを含むイーグル最小必須培地で、D458は10%FBSと1%Pen/Strepを含むイスコベ改変ダルベッコ培地で培養した。すべての細胞株は、37℃、5%CO₂環境で保存した。

50

【0195】

製造業者のプロトコールに従い、TRIzol試薬を用いて、細胞から全RNAを抽出した。次に、Applied BiosystemsのTaqMan MicroRNA Reverse Transcription KitとTaqMan miRNA Assaysを併用して、マイクロRNA発現量の定量を行った。これは、マイクロRNA RT特異的プライマーを用いて、マイクロRNAをcDNAに逆転写することから始まる2段階のプロセスである。この反応に続いて、microRNA特異的なTaqManプローブを用いて、マイクロRNAをリアルタイムPCRで増幅する。PCR反応は、Viia7 Real Time PCRシステムを用いて実施した。マイクロRNAの発現はRNU6bを用いて正規化し、マイクロRNAの相対発現は $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法で計算した。

マイクロRNA検出器の技術設計

10

図4に示すように、pCDH-EF1-MCS-T2A-GFP (PGK-Puro) 発現ベクター (SBI) を骨格として用いて、マイクロRNA検出器 (すなわち本発明の構築物) を構築した。この双方向性プロモーター発現ベクターは、構成的EF1プロモーターでGFPを発現させることができる。負の方向では、PGKプロモーターがピューロマイシンマーカの発現を駆動する。概念実証の目的で、GFPを治療用遺伝子の代替として使用した。

【0196】

本発明者らは、まず、図4に示すベクター骨格である双方向性レンチウイルス発現ベクター (bdLV) にLacオペロンシステムを導入することから始めた。このプロセスは以下を含む。

20

ステップ1。EF1プロモーターの下流にLacオペレーター配列 (LacO) をクローニングする

この目的のために、本発明者らは、pOPI3CAT (AgilentのLac Switch II Inducible Mammalian Expression System) からLac Operator配列を3コピー含むSV40イントロン (SV40 intron / 3 LacO) を増幅してbdLV (bdLV__LacO) にクローニングした。SV40 intron / 3 LacOは、EcoRIとNotIの制限部位を持つプライマーを使用して増幅した (表3)。増幅後、PCR産物とbdLVベクターの両方をEcoRIとNotI制限酵素 (Thermo Scientific) で消化した。消化されたSV40 intron / 3 LacO PCR産物とbdLVベクターを、次いでT4 DNAリガーゼ (Fermentas) を使用してライゲーションした。LacO配列の正しい挿入は、制限酵素診断消化とサンガー配列決定によって確認した。

ステップ2。PGKプロモーターの下流にLacリプレッサー (LacI) をクローニングする。

30

【0197】

このステップは、LacIによるピューロマイシンの置換を含む (逆方向)。LacIを、pCMVLacIベクター (AgilentのLac Switch II Inducible Mammalian Expression System) からPCR増幅し、逆方向で得られるより小さなベクター (pcDNA3.1+) にサブクローニングした。そのために、LacI__NLSを、平滑末端SmaIの制限部位を持つプライマーを使用して増幅した (表3)。精製後、LacI__NLS PCR産物およびpcDNA3.1+ベクターをSmaI (NEB) で消化した。消化されたLacI__NLS断片とpcDNA3.1+ベクターを、次いでT4 DNAリガーゼ (Fermentas) を使用してライゲーションした。LacIが正しい向きで挿入されていることは、制限酵素消化とサンガー配列決定によって確認した。次に、定方向突然変異誘発 (AgilentのQuickChange Lightning Site-Directed Mutagenesisキット) を使用して、bdLV__LacOベクターからピューロマイシンcDNAを切り出し、それをLacIで置換するために必要な制限酵素部位を作成した。

bdLV__LacOのサイズ (約10Kb) のため、bdLV__LacOベクターの変

40

50

異させる領域（ピューロマイシンおよび隣接する配列）を除去し、p c D N A 3 . 1 + ベクターにサブクロニングした。より具体的には、制限酵素 N o t I と E c o R I を用いて、b d L V _ _ L a c O と p c D N A 3 . 1 + の両ベクターを消化した。ピューロマイシン消化産物および消化された p c D N A 3 . 1 + を、T 4 D N A リガーゼ（F e r m e n t a s）を使用してライゲーションした。この中間的な小さいベクター（約 6 . 7 K b）を使用して、1 つの X h o I 制限部位を除去し、A v r I I 制限部位を生成した。一度突然変異させると、ピューロマイシンおよび隣接する領域は、H p a I および S p e I に対する制限酵素部位を有するプライマー（表 3）を使用して増幅され、P C R 産物とこれらの酵素で消化したベクターとのライゲーションにより b d L V ベクターに再びクロニングされた。次いで、X h o I と A v r I I 制限酵素を使用して b d L V _ _ L a c O ベクターからピューロマイシンを除去し、同じ酵素を使用して p c D N A 3 . 1 + ベクター _ _ L a c I から L a c I を切り出した。T 4 D N A リガーゼを用いて b d L V _ _ L a c O ベクターと L a c I をライゲーションし、b d L V _ _ L a c I _ _ L a c O ベクターを作成した。b d L V _ _ L a c O ベクターに L a c I が正しく挿入されていることは、制限酵素診断消化とサンガー配列決定によって確認した。

10

【 0 1 9 8 】

次に、本発明者らは、b d L V _ _ L a c I _ _ L a c O 構築物において、レポーター遺伝子プロモーターの下流に m i R - 2 9 a、m i R - 1 4 9、または m i R - 2 9 a および m i R - 1 4 9（T - A L L 細胞で特異的に非存在または下方調節されるマイクロ RNA）の 4 つの標的部位をクロニングした。そのために、G F P の下流に X m a I の制限酵素部位を作成した。それぞれのマイクロ RNA（または両方）の 4 つの標的部位をタンデムに合成し、X m a I で消化した後、T 4 D N A リガーゼでライゲーションして b d L V - L a c I _ _ L a c O ベクターに導入した。

20

【 0 1 9 9 】

第二段階として、本発明者らは、b d L V _ _ L a c I _ _ L a c O 構築物において、レポーター遺伝子プロモーターのリプレッサーの下流に m i R - 1 2 8 a または m i R - 1 5 3（T - A L L 細胞で特異的に上方調節されるマイクロ RNA）の 4 つの標的部位をクロニングした。このため、それぞれのマイクロ RNA の 4 つの標的部位をタンデムに合成し、制限酵素 X h o I で消化した後、T 4 D N A リガーゼでライゲーションして b d L V - L a c I _ _ L a c O ベクターに導入した。

30

使用した方法の参考文献

- 1) Landgraf, P. et al. (2007) Cell 29;129(7):1401-14
- 2) Rosenfeld, N. et al. (2008) Nat Biotechnol Apr;26(4):462-9
- 3) Fulci, V. et al. (2009) Genes, Chromosomes & Cancer 48:1069-1082
- 4) de Leeuw, D. et al. (2013) Clin Cancer Res; 19(8); 2187-96
- 5) Schotte, D. et al (2009) Leukemia Feb;23(2):313-22.
- 6) Coskum, E. et al. (2013) Leukemia Research 37:647- 656
- 7) Lu, J. et al (2005) Nature. Jun 9;435 (7043):834-8
- 8) Mavrakis, K.J. et al (2011) Nat Genet. Jun 5;43(7):673-8,
- 9) Schotte, D. et al. (2011) Haematologica 2011;96(5):703-711
- 10) Sanghvi, V. R. eta al. (2014) Sci. Signal. Nov 18;7(352):ra111.

40

【 0 2 0 0 】

【表 3】

表 3: 使用したプライマー配列

プライマー名	プライマー配列
EcoR1_LacO	TGA GGC GAA TTC GTA AAT ATA AAA TTT ACT AGG - 配列番号 10
NotI_LacO	TAT AGC GGC CGC CTA AAA TAC ACA AAC A- 配列番号 11
SmaI_LacI F	TAT GCC CGG GGA GGT ACC CTC CCA CCA TG- 配列番号 12
SmaI_LacI R	CCA CCC GGG TCA AAC CTT CCT CTT CTT CTT AGG- 配列番号 13
HpaI_pcDNA3.1	TGA GCG TTA ACT TTT AAA AGA AAA G- 配列 番号 14
SpeI_pcDNA3.1	TAT AAC TAG TCT CGT GCA GAT GGA CAG CAC CG- 配列番号 15

10

20

【0201】

実施例 2

T-A L L 特異的な m i R N A 発現プロファイルの定義および検証

本発明のマイクロRNA検出器構築物の構築を開始するために、本発明者らは、公開されているヒトデータセットを利用して、暫定的な T-A L L 特異的マイクロRNA発現プロファイルを確立した。このアプローチを用いて、本発明者らは、T-A L L 細胞において特異的に下方調節および上方調節される 12 の m i R N A を特定することができた。

【0202】

図 3 に示すように、これら 12 のマイクロRNAをリアルタイムPCRで検証した結果、m i R - 1 2 8 a と m i R - 1 5 3 は T-A L L 細胞で特異的に上方調節され、m i R - 2 9 a と m i R - 1 4 9 は T-A L L 細胞で特異的に下方調節されることが確認された。

30

【0203】

その後、ヒト T-A L L 細胞および正常細胞および組織から得られた、一般に入手可能なマイクロRNAデータのより多くのコホートのバイオインフォマティクス解析により、25 の m i R N A が特定され、健康な細胞と比較して T-A L L 細胞において、特異的に下方調節される (m i R - 5 3 9 - 5 p、m i R - 4 8 7 a - 3 p、m i R - 6 5 5 - 3 p、m i R - 4 1 1 - 3 p、m i R - 3 7 7 - 5 p、m i R - 3 3 7 - 5 p、m i R - 3 1 - 3 p、m i R - 2 1 4 - 5 p、m i R - 1 1 8 5 - 5 p、m i R - 4 8 3 - 5 p、m i R - 3 6 5 a - 3 p、m i R - 1 2 7 - 3 p、m i R - 5 7 4 - 3 p および m i R - 1 2 5 b - 5 p) ならびに上方調節される (m i R - 3 6 8 7、m i R - 9 2 a - 2 - 5 p、m i R - 2 0 b - 3 p、m i R - 6 0 8 7、m i R - 1 0 6 a - 3 p、m i R - 7 7 0 4、m i R - 5 7 0 1、m i R - 7 6 6 - 5 p、m i R - 3 6 0 9、m i R - 3 6 1 5 および m i R - 4 7 4 6 - 5 p) が特定された。これらは、マイクロRNA検出器の構築に使用される可能性が最も高い 16 のマイクロRNAに掲載され、T-A L L 細胞では、10 の (m i R - 5 3 9 - 5 p、m i R - 4 8 7 a - 3 p、m i R - 6 5 5 - 3 p、m i R - 4 1 1 - 3 p、m i R - 3 7 7 - 5 p、m i R - 3 3 7 - 5 p、m i R - 3 1 - 3 p、m i R - 2 1 4 - 5 p、m i R - 1 1 8 5 - 5 p および m i R - 4 8 3 - 5 p) が特異的に下方調節され、6 の (m i R - 3 6 8 7、m i R - 9 2 a - 2 - 5 p、m i R - 2 0 b

40

50

－3 p、miR-6087、miR-106a-3 pおよびmiR-7704) が特異的に上方調節された。

【0204】

実施例3

マイクロRNA検出器／構築物の設計および構築

本発明者らが開発したマイクロRNA検出器構築物は、双方向性レンチウイルス発現ベクターからなり、治療用遺伝子を一方のプロモーターで発現させ、治療用遺伝子プロモーターのリプレッサーを第2プロモーターで発現させる。リプレッサーとしては、Lacオペロンシステムが使用される。両mRNAの発現は、TALL細胞特異的マイクロRNAによって制御される。概念実証のため、アポトーシス誘導遺伝子の代わりにGFPを使用した（すなわち、GFP発現を治療用遺伝子の代替として使用した）。

10

【0205】

図4に示すように、検出器システムの骨格として、本発明者らは、SBIのpCDH-EF1-MCS-T2A-GFP (PGK-Puro) 発現ベクター (BdLVと称する) を使用した。この双方向性プロモーター発現ベクターは、構成的EF1プロモーターでGFPを発現させることができる。負の方向ではPGKプロモーターがピューロマイシンマーカの発現を駆動する。

【0206】

本発明者らは、図5に示すように、骨格ベクターにLacオペロンシステムを導入し、これを抑制システムとして機能させた。そのプロセスは2つのステップに分割された。

20

i) EF1プロモーターの下流にLacオペレーター配列 (LacO) をクローニングする

図6に示すように、Lacリプレッサー (LacI) はプロモーターのLacオペレーター (LacO) 調節部位に結合して転写を停止するため、LacO配列の挿入がEF1プロモーターによるGFP発現に影響しないことが確認された (図6A)。

【0207】

本発明者らは、LacOが機能性であることをさらに確認した。本発明者らは、LacIタンパク質がBdLV__LacOのLacオペレーター配列に結合し、EF1プロモーターによるGFP発現を抑制することが可能であることを確認した。図6Biに示すように、BdLV__LacO発現細胞にLacI発現ベクターをトランスフェクションすると、GFPの発現が低下した。本発明者らは、LacIおよびBdLV__LacOベクターを共トランスフェクトした細胞をイソプロピルβ-D-1-チオガラクトピラノシド (IPTG) で24時間および48時間処理することによって、EF1プロモーターを抑制するLacOの能力をさらに確認した。IPTGはLacIに結合して抑制する。したがって、細胞をIPTGで処理した場合に観察されるGFP発現の増加は、IPTGの非存在下で、LacIがLacオペレーター配列に結合して、EF1プロモーターによるGFP転写を抑制することを示す (図6Bii)。

30

ii) PGKプロモーターの下流にLacリプレッサー (LacI) をクローニングする
このステップは、LacIによるピューロマイシンの置換を含む (逆方向)。LacIを、pCMVLacベクター (AgilentのLacSwitch II Inducible Mammalian Expression System) からPCR増幅し、逆方向で発現されるより小さなベクター (pCDN3.1+) にサブクローニングした。次に、定方向突然変異誘発を使用して、BdLV__LacOベクターからピューロマイシンcDNAを切り出し、それをLacIで置換するために必要な制限酵素部位を作成した。

40

【0208】

図7に示すように、本発明者らは、PGKプロモーターによって発現されたLacIタンパク質が、BdLV__LacI__LacOのLacオペレーター配列に結合し、EF1プロモーターによるGFP発現を抑制する、機能性を有することを確認した。このため、BdLV__LacI__LacOベクターをトランスフェクションした細胞をIPTGで処

50

理した。PGKによって発現されるLacIタンパク質が機能性である場合、IPTGによる処理はGFPの発現を増加させるはずである。本発明者らは、IPTGで処理することにより、約50%のGFP発現が抑制解除されることを確認した。

【0209】

次いで、本発明者らは、図8Aに示すように、bdLV__LacI__LacO構築物において、レポーター遺伝子プロモーターの下流にmiR-29a、miR-149、またはmiR-29aおよびmiR-149（T-ALL細胞で特異的に非存在または下方調節されるマイクロRNA）の4つの標的部位をクローニングした。第二段階として、本発明者らは、図8Bに示すように、bdLV__LacI__LacO構築物において、レポーター遺伝子プロモーターのリプレッサーの下流にmiR-128aまたはmiR-153（T-ALL細胞で特異的に上方調節されるマイクロRNA）の4つの標的部位をクローニングした。

【0210】

実施例4

in vitroにおけるマイクロRNA検出器の効率および特異性の試験

in vitroで白血病細胞を選択的に標的とするための異なるマイクロRNA検出器の実際の効率と特異性を評価するために、本発明者らは、マイクロRNA検出器BdLV__miR29a__4×T、BdLV__miR149__4×T、およびBdLV__miR29a__4×T__miR149__4×Tを形質導入したT-ALL（図9Aおよび9Bの「A」）または非T-ALL（図9Aおよび9Bの「B」）細胞の培養から始めた。

【0211】

GFP発現のフローサイトメトリー分析により、本発明者らは、試験したそれぞれのマイクロRNA検出器の効率および特異性を決定することができた（図9Aおよび9B参照）。その結果、miR29aまたはmiR149を発現する細胞において、マイクロRNA検出器BdLV__miR29a__4×TおよびBdLV__miR149__4×T（それぞれ）は、レポーター遺伝子の発現を効率的に抑制する（BdLV__LacI__LacO形質導入細胞と比較して最大90%のGFP発現抑制）ことがわかった（図9AとBを参照のこと）。これらのマイクロRNAのいずれも発現していない細胞では、それぞれのマイクロRNA検出器を用いた形質導入はGFP発現に影響を与えなかった（図9Aおよび9Bの「A」）。重要なことは、miR29aとmiR149の両方を発現している細胞では、BdLV__miR29a__4×T__miR149__4×T検出器による形質導入は相加効果を持ち、BdLV__miR29a__4×TとBdLV__miR149__4×T検出器を超える、GFP発現に対する抑制効果を誘導する（図9Aおよび9Bの「B」）。

【0212】

ここで図10Aおよび図10Bを参照すると、本発明者らは、次いで、マイクロRNA検出器BdLV__miR128__4×T、BdLV__miR153__4×TおよびBdLV__miR128__4×T__miR153__4×Tで形質導入したT-ALL細胞の培養を行った。GFP発現のフローサイトメトリー分析により、miR128およびmiR153を発現するT-ALL細胞において、マイクロRNA検出器BdLV__miR128__4×T、BdLV__miR153__4×TおよびBdLV__miR128__4×T__miR153__4×Tは、効率的にレポーター遺伝子の発現を抑制解除した（BdLV__LacI__LacO形質導入細胞と比較してGFP発現が最大40倍増加）（図10Aおよび10B参照）。

【0213】

ここで図11を参照すると、本発明者らは、存在するまたは上方調節されたマイクロRNAおよび存在しないまたは下方調節されたマイクロRNAによって調節されたマイクロRNA検出器を形質導入した細胞の培養を行った。マイクロRNA128および153を発現しない293-T非T-ALL細胞において示されるように、マイクロRNA検出器BdLV__miR128__4×T__miR29a__4×T、BdLV__miR128__4×T__miR149__4×T、BdLV__miR128__4×T__miR29a__4×T

__m i R 1 4 9 __ 4 × T および B d L V __ m i R 1 5 3 __ 4 × T __ m i R 2 9 a __ 4 × T __ m i R 1 4 9 __ 4 × T による形質導入は、レポーター遺伝子を効率よく抑制した（m i R 2 9 a および 1 4 9 両方の標的部位を含むマイクロRNA検出器では、B d L V __ L a c I __ L a c O 導入細胞と比較して最大 9 0 % の G F P 発現抑制）。

【0214】

m i R - 1 2 8、m i R - 1 5 3、および m i R - 2 9 a を発現する C E M T - A L L 細胞については、マイクロRNA検出器 B d L V __ m i R 1 2 8 __ 4 × T __ m i R 2 9 a __ 4 × T、B d L V __ m i R 1 2 8 __ 4 × T __ m i R 2 9 a __ 4 × T __ m i R 1 4 9 __ 4 × T および B d L V __ m i R 1 5 3 __ 4 × T __ m i R 2 9 a __ 4 × T __ m i R 1 4 9 __ 4 × T による形質導入は、レポーター遺伝子を効率よく抑制する結果となった。逆に、構

10

築物 B d L V __ m i R 1 2 8 __ 4 × T __ m i R 1 4 9 __ 4 × T を形質導入しても、レポーター遺伝子の発現に与える影響は小さかった。

【0215】

図 1 2 を参照すると、マイクロRNA 1 2 8 および 1 5 3 を発現しない 2 9 3 - T 非 T - A L L 細胞において、マイクロRNA検出器 B d L V __ m i R - 1 5 3 __ 4 × T - m i R - 2 9 a __ 4 × T __ m i R - 1 4 9 __ 4 × T、B d L V __ m i R - 1 2 8 __ 4 × T - m i R - 2 9 a __ 4 × T __ m i R - 1 4 9 __ 4 × T および B d L V m i R - 1 2 8 __ 4 × T __ m i R - 1 5 3 __ 4 × T - m i R - 2 9 a __ 4 × T __ m i R - 1 4 9 __ 4 × T による形質導入は、レポーター遺伝子を効率よく抑制する結果となった。

【0216】

マイクロRNA 1 2 8 および 1 5 3 を発現する D N D 4 . 1 T - A L L 細胞において、マイクロRNA検出器 B d L V __ m i R - 1 5 3 __ 4 × T - m i R - 2 9 a __ 4 × T、B d L V __ m i R - 1 5 3 __ 4 × T - m i R - 1 4 9 __ 4 × T、および B d L V __ m i R - 1 2 8 __ 4 × T __ m i R - 1 5 3 __ 4 × T - m i R - 1 4 9 __ 4 × T による形質導入は、レポーター遺伝子を効率よく抑制解除した。m i R - 1 2 8、m i R - 1 5 3、および m i R - 2 9 a を発現する C E M T - A L L 細胞については、マイクロRNA検出器 B d L V __ m i R - 1 2 8 __ 4 × T - m i R - 1 4 9 __ 4 × T、B d L V __ m i R - 1 5 3 __ 4 × T - m i R - 1 4 9 __ 4 × T および B d L V __ m i R - 1 2 8 __ 4 × T m i R - 1 5 3 __ 4 × T - m i R - 1 4 9 __ 4 × T による形質導入は、レポーター遺伝子を効率よく抑制解除する結果となった。

20

【0217】

ここで図 1 3 を参照すると、本発明者らは次いで、非組込み型レンチウイルスベクターで形質導入した T - A L L 細胞および非 T - A L L 細胞の培養を行った。マイクロRNA 1 2 8 および 1 5 3 を発現しない 2 9 3 - T 非 T - A L L 細胞において図示されるように、すべてのマイクロRNA検出器による形質導入は、レポーター遺伝子を効率よく抑制する結果となった。一方、C E M T - A L L 細胞では、マイクロRNA検出器 m i R - 1 5 3 __ 4 × T - m i R - 2 9 a __ 4 × T および m i R - 1 5 3 __ 4 × T - m i R - 1 4 9 __ 4 × T による形質導入は、レポーター遺伝子を効率よく抑制解除する結果となった。

30

考察および結論

本発明者らは、本発明の第 1 の態様の治療上活性な分子またはレポーター分子をコードする第 1 の核酸配列におけるエフェクター遺伝子の活性の調節の実例として、T - A L L 細胞においてのみ G F P 発現を調節するマイクロRNA検出器の実現可能性および有効性について説得力のある概念実証データを作成した。本発明者らは、このようなシステムは、将来的に、目的のがんまたは疾患に、関連するマイクロRNA標的配列を導入することにより、他のがんタイプ、あるいは他の疾患タイプにも将来にわたって適応させることができ、それによって、細胞が多様な m i R N A プロファイルを示すあらゆる疾患においてこの遺伝子治療技術の使用への道を開くことができると予想している。

40

【0218】

患者の体内で T - A L L 細胞と非 T - A L L 細胞の同一性を区別するこのシステムの本質的な能力は、それゆえ、この技術の特徴であり、高精度腫瘍学において決定的に価値の

50

あるツールである。これまで開発された高精度腫瘍学に適用される競合遺伝子治療技術と比較して大きな優位性があり、患者に最良の有効性と安全性の結果を提供するために意図的に設計されている。この革新的な技術は、T-A-L-L治療における特異性の欠如を効果的に回避する可能性を有する。重要なことは、この戦略が、他の疾患やがん細胞タイプにおける同様の個別化治療の開発に応用できることを示す概念実証となることである。さらに、本技術は、健康な細胞／組織と比較して、疾患細胞や組織のmiRNAプロファイルが異なることを特徴とする特定の状態の診断に効果的に使用され得る。

【0219】

最後に、本発明のシステムを用いれば、治療用分子はたった1つのベクターを用いて高い特異性と効率で送達されることが可能であり、外部要因や合図による誘導を必要としない。さらに、同じ細胞内でコードされた分子の共局在化が、複数の構築物アプローチを使用して可能な場合よりも低い投与量で達成される。このように、従来の技術に比べ、本結果は非常に簡単なシステムであるため、大きな利点がある。

参考文献

- 1) Martini, M., Vecchione, L., Siena, S., Tejpar, S., Bardelli, A. (2011) Targeted therapies: how personal should we go. *Nature Reviews of Clinical Oncology*. Nov 15;9(2):87-97.
- 2) Pui, C.H., Relling, M.V., Downing, J.R. (2004) Acute lymphoblastic leukemia. *New England Journal of Medicine*. Apr 8;350(15):1535-48.
- 3) Fullmer, A., O'Brien, S., Kantarjian, H., Jabbour, E. (2009) Novel therapies for relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Curr Hematol Malig Rep*. Jul;4(3):148-56.
- 4) Smith, M. A. Update on developmental therapeutics for acute lymphoblastic leukemia (2009) *Curr Hematol Malig Rep*. 2009 Jul;4(3):175-82.
- 5) Bartel, D.P. (2004) MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* Jan 23;116(2):281-97.
- 6) Huntzinger, E., Izaurralde, E. (2011) Gene silencing by microRNAs: contributions of translational repression and mRNA decay. *Nat Rev Genet* Feb;12(2):99-110.
- 7) Kasinski, A.L., Slack, F.J. (2011) Epigenetics and genetics. MicroRNAs en route to the clinic: progress in validating and targeting microRNAs for cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer* Nov 24;11(12):849-64.
- 8) Rosenfeld, N., Aharonov, R., Meiri, E., Rosenwald, S., Spector, Y., Zepeniuk, M., Benjamin, H., Shabes, N., Tabak, S., Levy, A., Lebanony, D., Goren, Y., Silberschein, E., Targan, N., Ben-Ari, A., Gilad, S., Sion-Vardy, N., Tobar, A., Feinmesser, M., Kharenko O, Nativ O, Nass D, Perelman M, Yosepovich A, Shalmon B, Polak-Charcon S, Fridman E, Avniel A, Bentwich I, Bentwich Z, Cohen D, Chajut A, Barshack I. (2008) MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nat Biotechnol* Apr;26(4):462-9.
- 9) Landgraf, P., Rusu, M., Sheridan, R., Sewer, A., Iovino, N., Aravin, A., Pfeffer, S., Rice, A., Kamphorst, A.O., Landthaler, M., Lin, C., Socci, N.D., Hermida, L., Fulci, V., Chiaretti, S., Foa, R., Schliwka, J., Fuchs, U., Novosel, A., Muller, R.U., Schermer, B., Bissels, U., Inman, J., Phan, Q., Chien, M., Weir, D.B., Choksi, R. et al. (2007) A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. *Cell* Jun 29;129(7):1401-14.
- 10) Brown, B.D., Venneri, M.A., Zingale, A., Sergi Sergi, L., Naldini, L. (2006) Endogenous microRNA regulation suppresses transgene expression in hematopoietic lineages and enables stable gene transfer. *Nat Med* May;12(5):585-91.

10

20

30

40

50

- 11) Gentner, B., Visigalli, I., Hiramatsu, H., Lechman, E., Ungari, S., Giustacchini, A., Schira, G., Amendola, M., Quattrini, A., Martino, S., Orlichio, A., Dick, J.E., Biffi, A., Naldini, L. (2010) Identification of hematopoietic stem cell-specific miRNAs enables gene therapy of globoid cell leukodystrophy. *Sci Transl Med.* Nov 17;2(58):58ra84
- 12) Xie, J., Xie, Q., Zhang, H., Ameres, S.L., Hung, J.H., Su, Q., He, R., Mu, X., Seher Ahmed, S., Park, S., Kato, H., Li, C., Mueller, C., Mello, C.C., Weng, Z., Flotte, T.R., Zamore, P.D., Gao, G. (2011) MicroRNA-regulated, systemically delivered rAAV9: a step closer to CNS-restricted transgene expression. *Mol Ther.* Mar;19(3):526-35.
- 13) Skalsky, R.L., Cullen, B.R. (2011) Reduced expression of brain-enriched microRNAs in glioblastomas permits targeted regulation of a cell death gene. *PLoS One* 6(9):e24248.
- 14) Garzon, R., Fabbri, M., Cimmino, A., Calin, G.A., Croce, C.M. (2006) MicroRNA expression and function in cancer. *Trends Mol Med.* Dec;12(12):580-7.
- 15) Lu, J., Getz, G., Miska, E.A., Alvarez-Saavedra, E., Lamb, J., Peck, D., Sweet-Cordero, A., Ebert, B.L., Mak, R.H., Ferrando, A.A., Downing, J.R., Jacks, T., Horvitz, H.R., Golub, T.R. (2005) MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature.* Jun 9;435(7043):834-8.
- 16) Mavrakis, K.J., Van Der Meulen, J., Wolfe, A.L., Liu, X., Mets, E., Taghon, T., Khan, A.A., Setty, M., Rondou, P., Vandenberghe, P., Delabesse, E., Benoit, Y., Socci, N.B., Leslie, C.S., Van Vlierberghe, P., Speleman, F., Wendel, H.G. (2011) A cooperative microRNA tumor suppressor gene network in acute T-cell lymphoblastic leukemia (T-ALL). *Nat Genet.* 2011 Jun 5;43(7):673-8.
- 17) Schotte, D., Chau, J.C., Sylvester, G., Liu, G., Chen, C., van der Velden, V.H., Broekhuis, M.J., Peters, T.C., Pieters, R., den Boer, M.L. (2009) Identification of new microRNA genes and aberrant microRNA profiles in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* Feb;23(2):313-22.
- 18) Silva, A., Laranjeira, A.B., Martins, L.R., Cardoso, B.A., Demengeot, J., Yunes, J.A., Seddon, B., Barata, J.T. (2011) IL-7 contributes to the progression of human T-cell acute lymphoblastic leukemias. *Cancer Res.* Jul 15;71(14):4780-9.

10

20

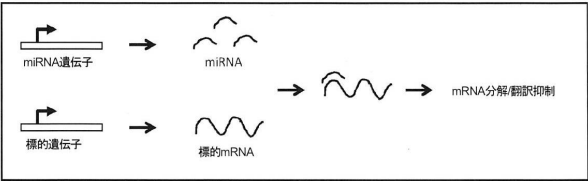
30

40

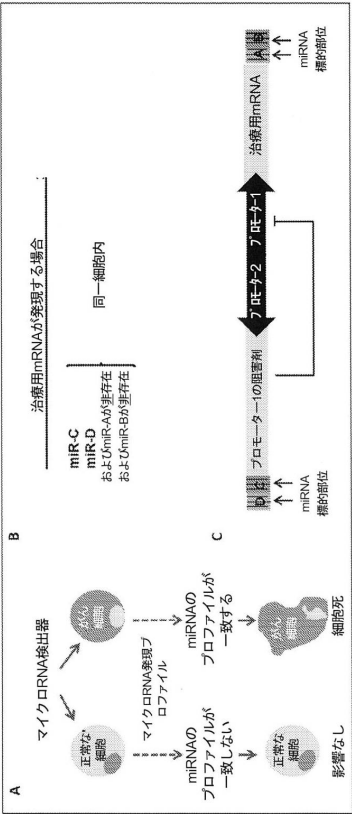
50

【図面】

【図 1】



【図 2】



10

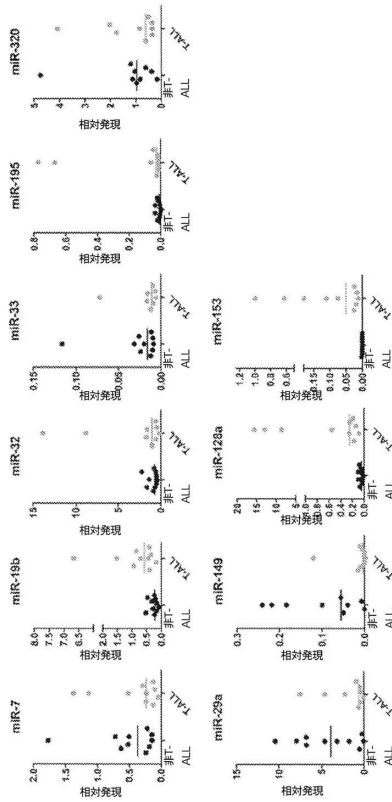
20

30

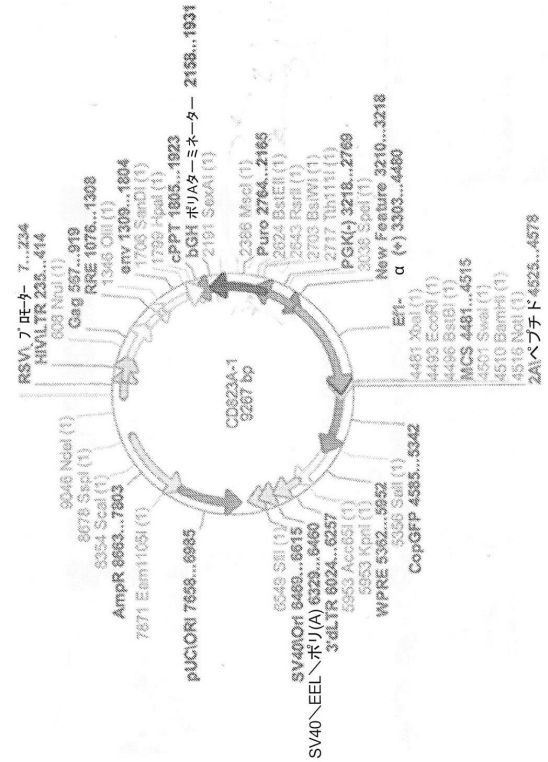
40

50

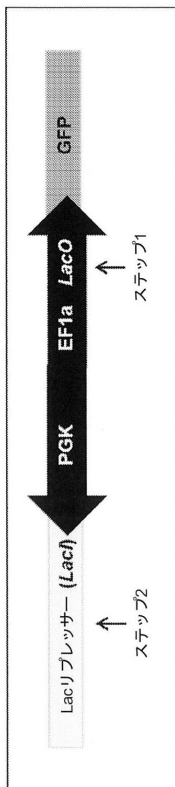
【図 3】



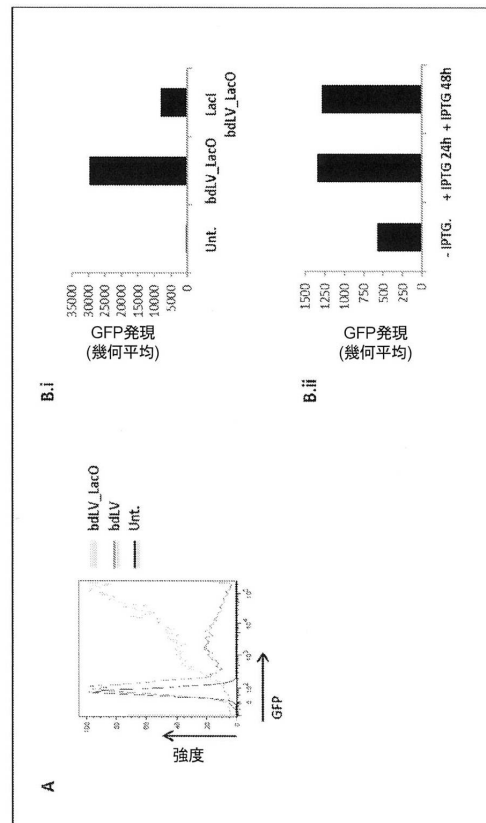
【図 4】



【図 5】



【図 6】



10

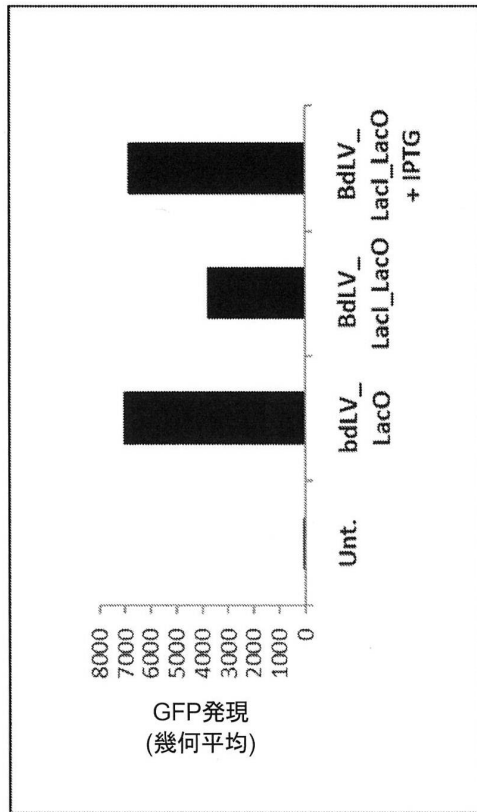
20

30

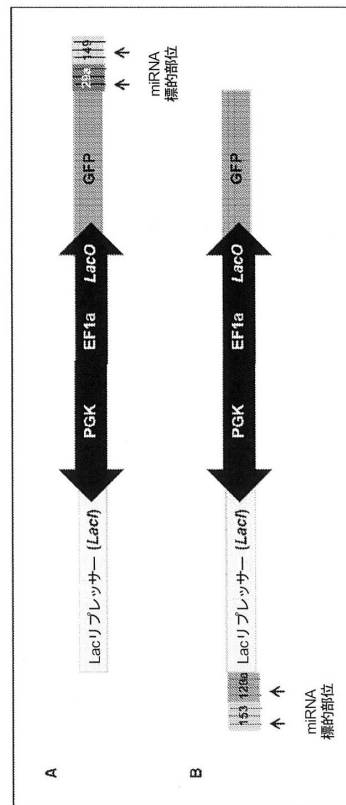
40

50

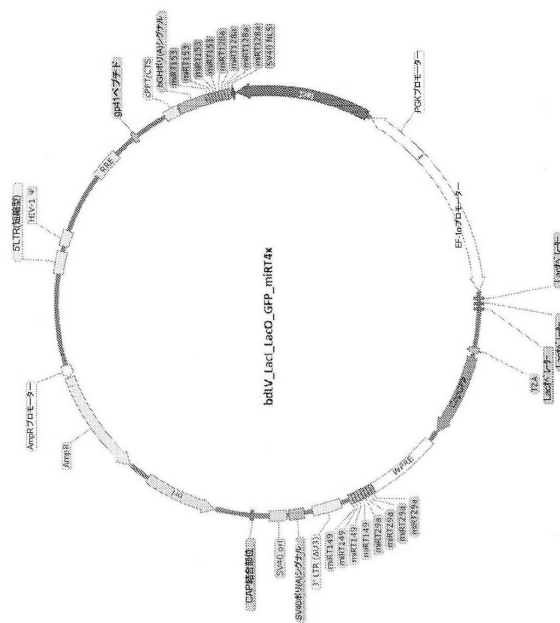
【圖 7】



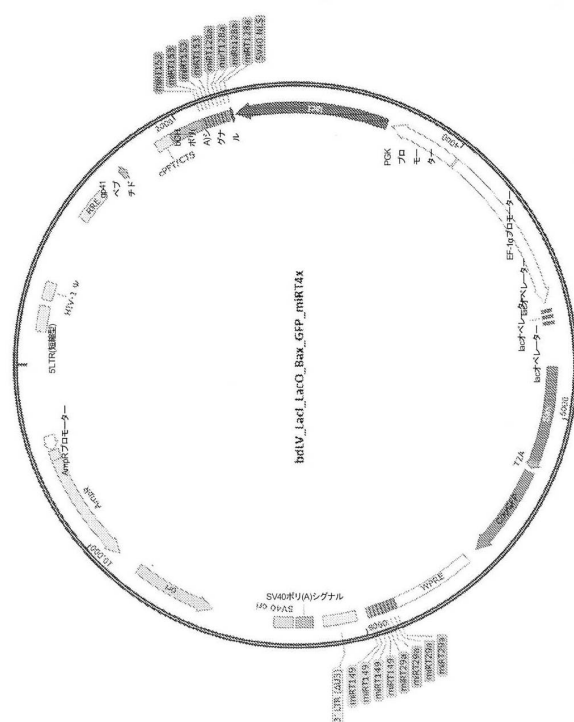
【圖 8】



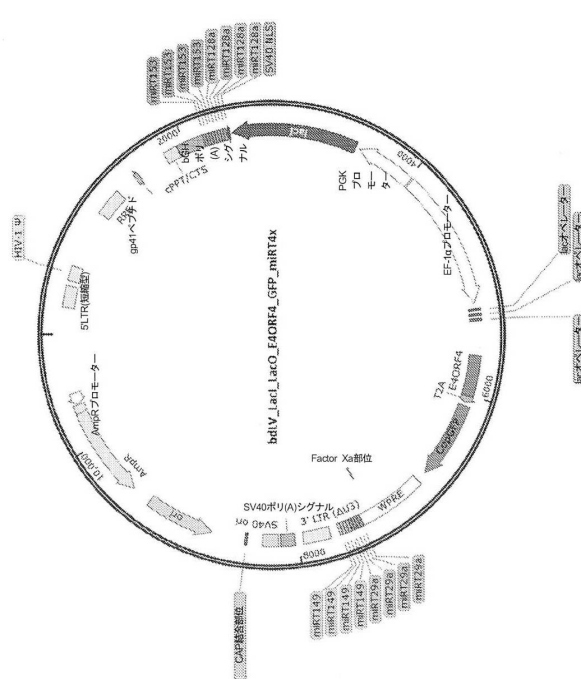
【図 8 C】



【図 8 D】

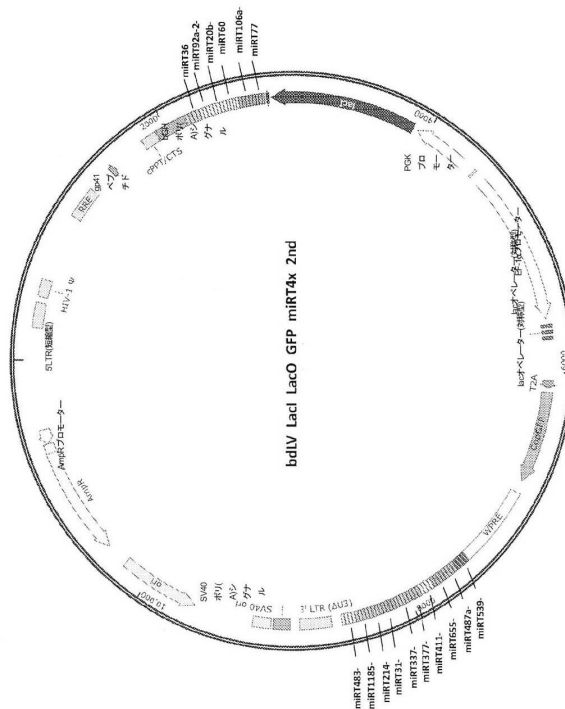


【図 8 F】



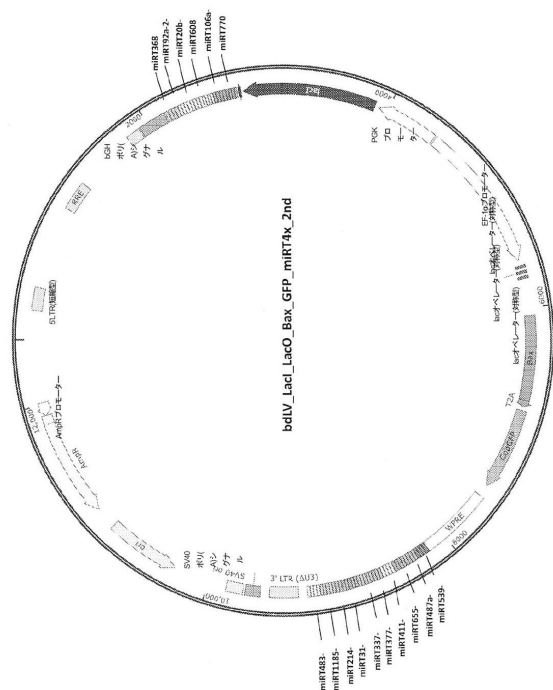
20

【図 8 H】

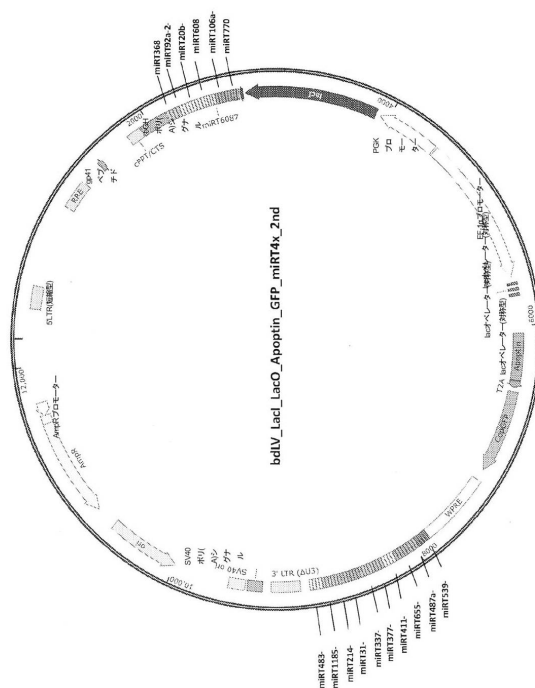


40

【圖 8 I】



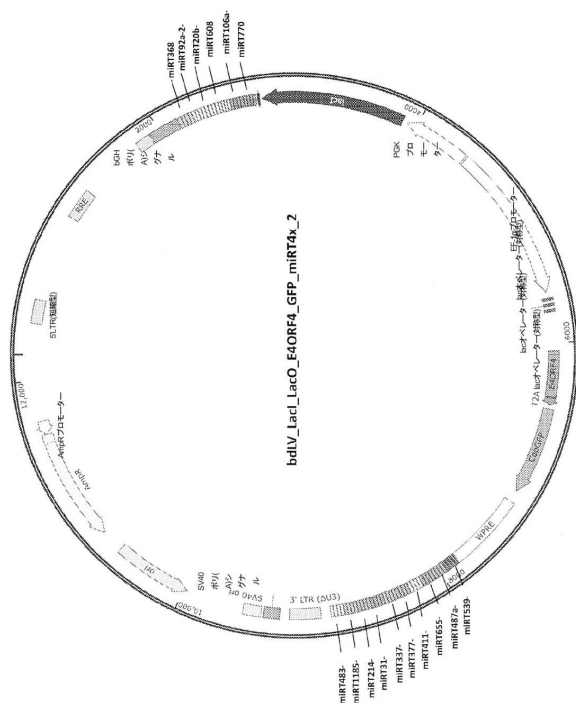
【図 8 J】



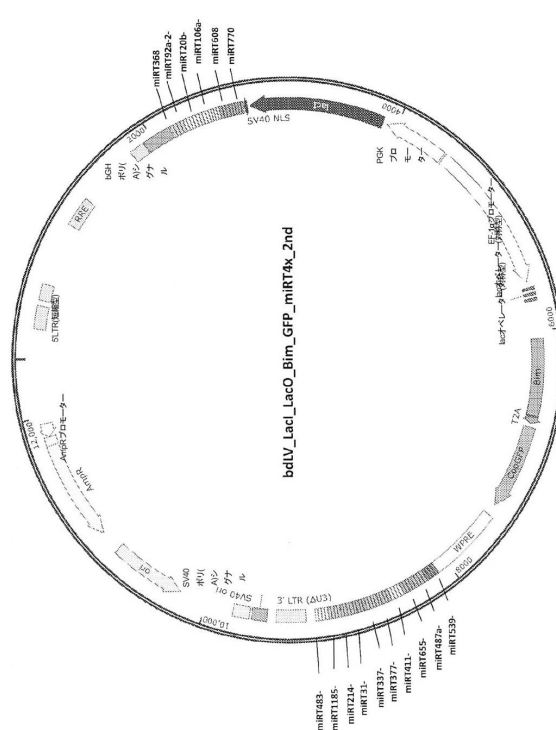
10

20

【図 8 K】



【図 8 L】

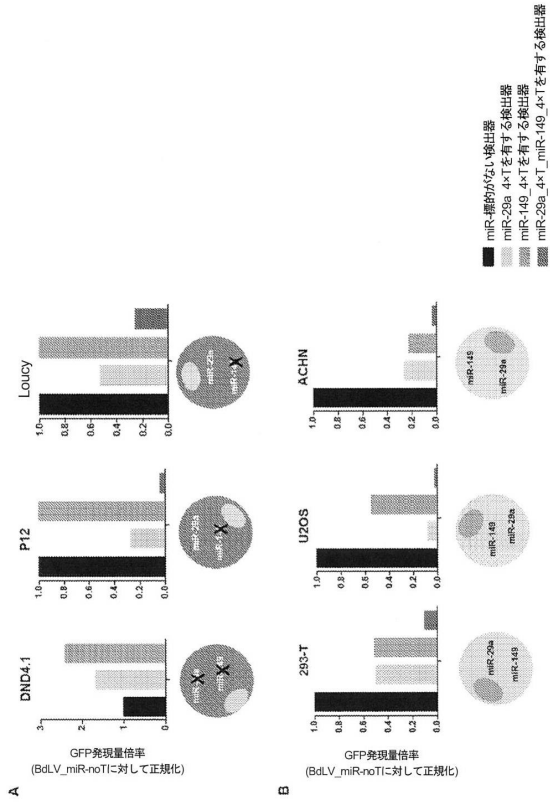


30

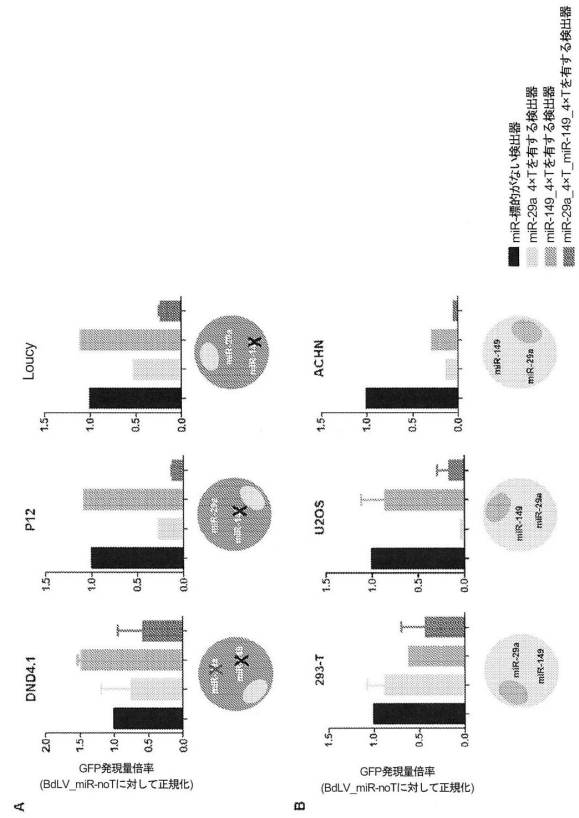
40

50

【図 9 A】



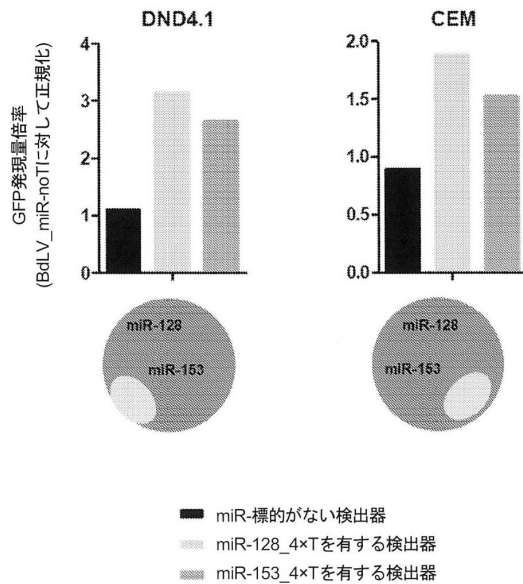
【図 9 B】



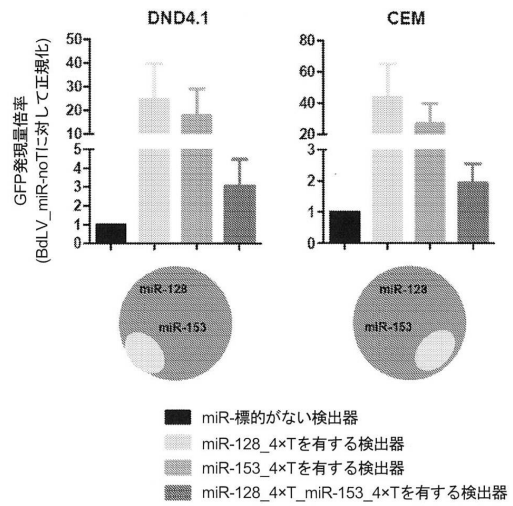
10

20

【図 10 A】



【図 10 B】

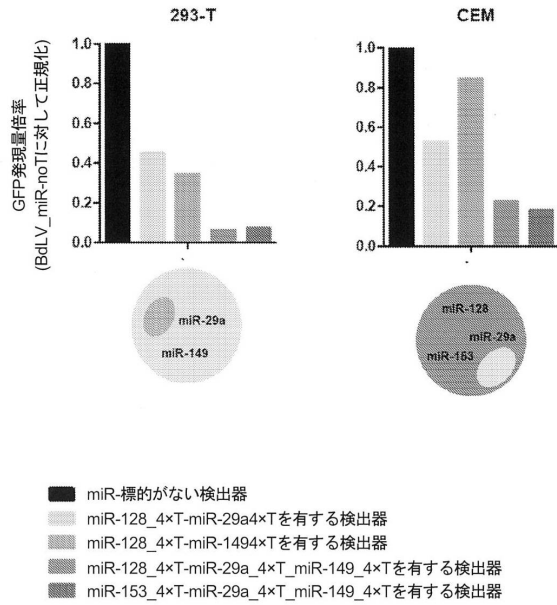


30

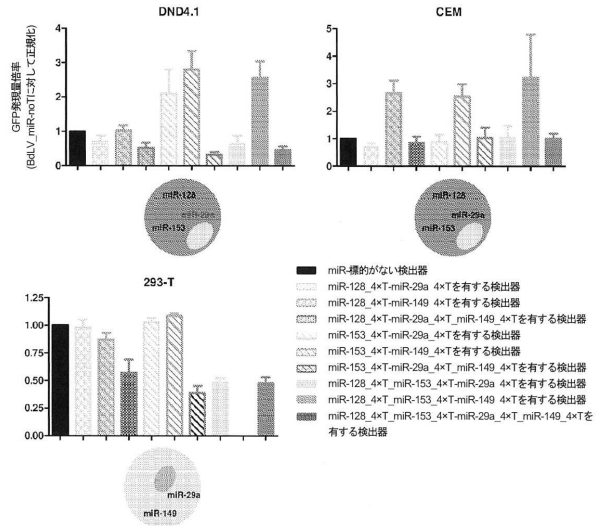
40

50

【図 1 1】



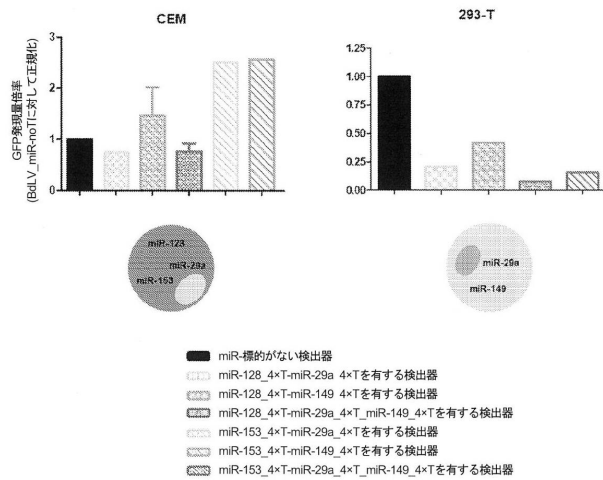
【図 1 2】



10

20

【図 1 3】



30

【配列表】

2023540052000001.app

40

50

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/PT2021/050028

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C12N15/86
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C12N

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MASAKAZU KAMATA ET AL: "Live Cell Monitoring of hiPSC Generation and Differentiation Using Differential Expression of Endogenous microRNAs", PLOS ONE, vol. 5, no. 7, 28 July 2010 (2010-07-28), page e11834, XP055430135, DOI: 10.1371/journal.pone.0011834 abstract figure 1A ----- -/--	1-6, 8, 17, 20

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

24 January 2022

Date of mailing of the international search report

04/02/2022

Name and mailing address of the ISA/
European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mossier, Birgit

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/PT2021/050028

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2020/091958 A1 (ONCONETICS PHARMACEUTICALS INC [US]) 7 May 2020 (2020-05-07) abstract paragraph [0003] - paragraph [0006] paragraph [0042] - paragraph [0044] paragraph [0046] - paragraph [0048] paragraph [0119] - paragraph [0140] -----	1-11, 20-27
X	WO 2012/012739 A2 (HARVARD COLLEGE [US]; MASSACHUSETTS INST TECHNOLOGY [US] ET AL.) 26 January 2012 (2012-01-26) abstract paragraph [0013] paragraph [0015] paragraph [0026] paragraph [0028] - paragraph [0031] paragraph [0125] - paragraph [0127] paragraph [0160] - paragraph [0162] paragraph [0245] - paragraph [0249] paragraph [0255] paragraph [0319] -----	1-16, 18, 20-27
X	US 2020/040338 A1 (WEISS RON [US] ET AL) 6 February 2020 (2020-02-06) abstract paragraph [0016] paragraph [0093] - paragraph [0094] -----	1-10, 20-23
A	YU YINGTING ET AL: "A Tumor-specific MicroRNA Recognition System Facilitates the Accurate Targeting to Tumor Cells by Magnetic Nanoparticles", MOLECULAR THERAPY-NUCLEIC ACIDS, vol. 5, no. e318, 1 January 2016 (2016-01-01), XP055851430, US ISSN: 2162-2531, DOI: 10.1038/mtna.2016.28 abstract; figures 1-6 -----	1-27
A	MARIO AMENDOLA ET AL: "A Double-Switch Vector System Positively Regulates Transgene Expression by Endogenous microRNA Expression (miR-ON Vector)", MOLECULAR THERAPY, vol. 21, no. 5, 1 May 2013 (2013-05-01), pages 934-946, XP055630166, US ISSN: 1525-0016, DOI: 10.1038/mt.2013.12 abstract page 942, column 2, paragraph 2 page 943, column 2, paragraph 4 - page 944, column 2, paragraph 2; figure 7 ----- -/--	1-27

1

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

page 2 of 3

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/PT2021/050028

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	B. GENTNER ET AL: "Exploiting microRNA regulation for genetic engineering : Exploiting microRNA regulation", TISSUE ANTIGENS., vol. 80, no. 5, 28 September 2012 (2012-09-28), pages 393-403, XP055408151, DK ISSN: 0001-2815, DOI: 10.1111/tan.12002 abstract page 396, column 2, paragraph 3 - page 398, column 2, paragraph 1; figure 1; tables 1,2 -----	1-27
A	DROBNA MONIKA ET AL: "T-cell acute lymphoblastic leukemia from mirNA perspective: Basic concepts, experimental approaches, and potential biomarkers", BLOOD REVIEWS, CHURCHILL LIVINGSTONE, AMSTERDAM, NL, vol. 32, no. 6, 12 April 2018 (2018-04-12), pages 457-472, XP085546941, ISSN: 0268-960X, DOI: 10.1016/J.BLRE.2018.04.003 abstract; table 1 -----	1-27
A	CORREIA NÁDIA C ET AL: "MicroRNAs and their involvement in T-ALL: A brief overview", ADVANCES IN BIOLOGICAL REGULATION, ELSEVIER, AMSTERDAM, NL, vol. 74, 5 September 2019 (2019-09-05), XP085911393, ISSN: 2212-4926, DOI: 10.1016/J.JBIOR.2019.100650 [retrieved on 2019-09-05] abstract -----	1-27

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/PT2021/050028

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2020091958 A1	07-05-2020	EP 3874041 A1	08-09-2021
		WO 2020091958 A1	07-05-2020
WO 2012012739 A2	26-01-2012	AU 2011280958 A1	24-01-2013
		CA 2805915 A1	26-01-2012
		EP 2596128 A2	29-05-2013
		NZ 605438 A	27-02-2015
		US 2013202532 A1	08-08-2013
		WO 2012012739 A2	26-01-2012
US 2020040338 A1	06-02-2020	US 2020040338 A1	06-02-2020
		WO 2020028612 A1	06-02-2020

10

20

30

40

50

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/PT2021/050028

Box No. I Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.c of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international search was carried out on the basis of a sequence listing:
- a. ☒ forming part of the international application as filed:
- ☒ in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- ☐ on paper or in the form of an image file.
- b. ☐ furnished together with the international application under PCT Rule 13ter.1(a) for the purposes of international search only in the form of an Annex C/ST.25 text file.
- c. ☐ furnished subsequent to the international filing date for the purposes of international search only:
- ☐ in the form of an Annex C/ST.25 text file (Rule 13ter.1(a)).
- ☐ on paper or in the form of an image file (Rule 13ter.1(b) and Administrative Instructions, Section 713).
2. ☐ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that forming part of the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

テーマコード (参考)

C 1 2 N	15/33	(2006.01)	C 1 2 N	15/33	
C 1 2 N	15/55	(2006.01)	C 1 2 N	15/55	
C 1 2 N	15/62	(2006.01)	C 1 2 N	15/62	Z
C 1 2 N	15/63	(2006.01)	C 1 2 N	15/63	Z
C 1 2 Q	1/6886	(2018.01)	C 1 2 Q	1/6886	Z
A 6 1 K	31/7105	(2006.01)	A 6 1 K	31/7105	
A 6 1 K	48/00	(2006.01)	A 6 1 K	48/00	
A 6 1 K	51/04	(2006.01)	A 6 1 K	51/04	3 2 0
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	

MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,N
E,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,
CZ,DE,DJ,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,IT,JO,JP,K
E,KG,KH,KN,KP,KR,KW,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,N
G,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,
TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,WS,ZA,ZM,ZW

6 4 9 - 0 2 8 L i s b o n , P o r t u g u e s e R e p u b l i c

(74)代理人 100118902

弁理士 山本 修

(74)代理人 100106208

弁理士 宮前 徹

(74)代理人 100196508

弁理士 松尾 淳一

(74)代理人 100187540

弁理士 國枝 由紀子

(72)発明者 フラゴソ, アナ・リタ・フレータス・マルチンス・デ・マトス

ポルトガル国 1 6 4 9 - 0 2 8 リスボン, アベニダ・プロフェソール・エガス・モニス, ケア
・オブ・インスティテュート デ メディシナ モレキュラー ジョアン ロボ アントウネス

(72)発明者 バラータ, ジョアン・ペドロ・タボルダ

ポルトガル国 1 6 4 9 - 0 2 8 リスボン, アベニダ・プロフェソール・エガス・モニス, ケア
・オブ・インスティテュート デ メディシナ モレキュラー ジョアン ロボ アントウネス

F ターム (参考) 4B063 QA01 QA19 QQ03 QQ42 QQ52 QR08 QR55 QR62 QS25 QS34
QX02

4C084 AA13 NA05 NA14 ZB26 ZB27

4C085 HH03 HH07 HH11 KB91 LL18

4C086 AA01 AA02 EA16 MA02 MA04 NA05 NA14 ZB26 ZB27

4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 CA01 CA40 DA89 EA20 FA74