

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2011-518333

(P2011-518333A)

(43) 公表日 平成23年6月23日(2011.6.23)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	M 4 B 0 2 4
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68	Z N A A 4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/569 (2006.01)	G 0 1 N 33/569	L
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A
C 1 2 Q 1/42 (2006.01)	C 1 2 Q 1/42	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 79 頁)

(21) 出願番号	特願2011-505244 (P2011-505244)
(86) (22) 出願日	平成21年4月17日 (2009.4.17)
(85) 翻訳文提出日	平成22年11月26日 (2010.11.26)
(86) 國際出願番号	PCT/US2009/041033
(87) 國際公開番号	W02009/129505
(87) 國際公開日	平成21年10月22日 (2009.10.22)
(31) 優先権主張番号	61/045, 952
(32) 優先日	平成20年4月17日 (2008.4.17)
(33) 優先権主張国	米国(US)
(31) 優先権主張番号	61/113, 841
(32) 優先日	平成20年11月12日 (2008.11.12)
(33) 優先権主張国	米国(US)
(31) 優先権主張番号	61/147, 862
(32) 優先日	平成21年1月28日 (2009.1.28)
(33) 優先権主張国	米国(US)

(71) 出願人	510069559 キアジェン ゲイサーズバーグ インコーポレイテッド アメリカ合衆国 メリーランド州 ゲイサーズバーグ クロッパー ロード 120 1
(71) 出願人	311003570 ナザレンコ イリナ アメリカ合衆国 メリーランド州 ゲイサーズバーグ クロッパー ロード 120 1

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 標的核酸の存在を判別するための合成プローブを用いた組成物、方法、およびキット

(57) 【要約】

試料中の標的核酸の存在を合成プローブを用いて判別するための組成物、方法、およびキットが提供される。

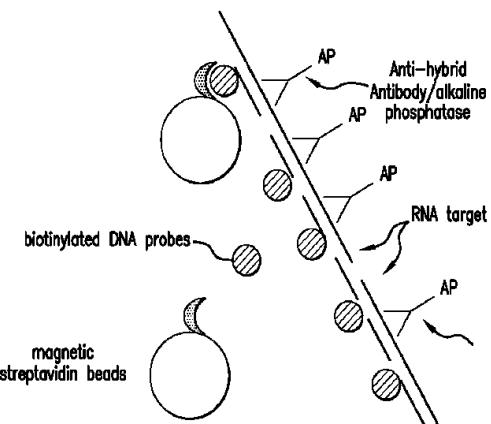
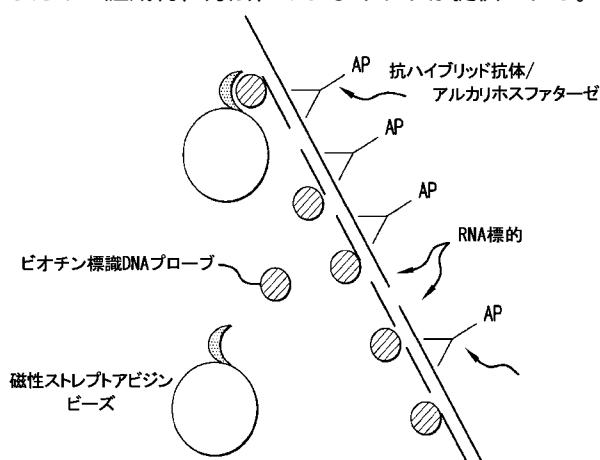


FIG.15

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

以下の段階を含む、試料中の標的核酸の存在を判別するための方法：

- (a) 該標的核酸の変種にはハイブリダイズしない1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが該試料中の該標的核酸とハイブリダイズして二本鎖核酸ハイブリッドを形成するのに十分なハイブリダイゼーション条件下で、該1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブを試料と接触させる段階；および
(b) 二本鎖核酸ハイブリッドに免疫特異的である第1の抗ハイブリッド抗体と該二本鎖核酸ハイブリッドを接触させることを含む、該二本鎖核酸ハイブリッドを検出する段階であって、該二本鎖核酸ハイブリッドの検出によって該試料中の該標的核酸を判別する、段階。

10

【請求項 2】

前記検出する段階が、二本鎖核酸ハイブリッドに免疫特異的である第2の抗ハイブリッド抗体を提供することをさらに含み、該第2の抗ハイブリッド抗体が、検出可能となるよう標識されている、請求項1記載の方法。

【請求項 3】

少なくとも1つの前記プローブおよび前記抗ハイブリッド抗体が同じ段階で添加される、請求項1記載の方法。

【請求項 4】

前記標的核酸がHPV核酸である、請求項1記載の方法。

20

【請求項 5】

前記HPV核酸がハイリスクHPV型のHPV DNAである、請求項4記載の方法。

【請求項 6】

前記HPV型がHPV 16であり、前記変種が、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV 5、HPV 6、HPV 8、HPV 11、HPV 13、HPV 18、HPV 26、HPV 30、HPV 31、HPV 33、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 66、HPV 67、HPV 68、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 82、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である、請求項5記載の方法。

30

【請求項 7】

前記HPV型がHPV 18であり、前記変種が、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV 5、HPV 6、HPV 8、HPV 11、HPV 13、HPV 16、HPV 26、HPV 30、HPV 31、HPV 33、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 66、HPV 67、HPV 68、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 82、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である、請求項5記載の方法。

【請求項 8】

前記HPV型がHPV 45であり、前記変種が、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV 5、HPV 6、HPV 8、HPV 11、HPV 13、HPV 16、HPV 18、HPV 26、HPV 30、HPV 31、HPV 33、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 66、HPV 67、HPV 68、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 82、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である、請求項5記載の方法。

40

【請求項 9】

前記HPV型がhrHPV型であり、前記変種がローリスクHPV型の核酸である、請求項5記載の方法。

【請求項 10】

前記1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが、SEQ ID NO:1～2026からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、請求項5記載の方法。

【請求項 11】

50

以下の段階を含む、試料中のHPV 18 DNAの存在を判別するための方法：

- (a) 1つまたは複数のポリヌクレオチドを該試料中の対応する相補的核酸配列にアニールさせて二本鎖核酸ハイブリッドを形成させるのに十分なハイブリダイゼーション条件下で、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブまたはその相補体を該試料と接触させる段階であって、該1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが、SEQ ID NO:163～309からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブのセットである、段階；および
- (b) 二本鎖核酸ハイブリッドを検出する段階であって、該二本鎖核酸ハイブリッドの検出によって該試料中のHPV 18 DNAの存在が示される、段階。

【請求項 1 2】

10

以下の段階を含む、試料中のHPV 16 DNAの存在を判別するための方法：

- (a) 1つまたはポリヌクレオチドを該試料中の対応する相補的核酸配列にアニールさせて二本鎖核酸ハイブリッドを形成させるのに十分なハイブリダイゼーション条件下で、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブまたはその相補体を該試料と接触させる段階であって、該1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが、SEQ ID NO:1～162からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブのセットである、段階；および
- (b) 二本鎖核酸ハイブリッドを検出する段階であって、該二本鎖核酸ハイブリッドの検出によって該試料中のHPV 16 DNAの存在が示される、段階。

【請求項 1 3】

20

以下の段階を含む、試料中のHPV 45 DNAの存在を判別するための方法：

- (a) 1つまたは複数のポリヌクレオチドを該試料中の対応する相補的核酸配列にアニールさせて二本鎖核酸ハイブリッドを形成させるのに十分なハイブリダイゼーション条件下で、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブまたはその相補体を該試料と接触させる段階であって、該1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが、SEQ ID NO:842～974からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブのセットである、段階；および
- (b) 二本鎖核酸ハイブリッドを検出する段階であって、該二本鎖核酸ハイブリッドの検出によって前記試料中のHPV 45 DNAの存在が示される、段階。

【請求項 1 4】

30

SEQ ID NO:1～162 (HPV 16); 163～309(HPV 18); 842～974(HPV 45); 310～454(HPV 31); 455～579(HPV 33); 580～722(HPV 35); 723～841(HPV 39); 975～1120(HPV 51); 1121～1252(HPV 52); 1253～1367(HPV 56); 1368～1497(HPV 58); 1498～1646(HPV 59); 1647～1767(HPV 66); 1768～1875(HPV 68); および1876～2026(HPV 82)からなる群より選択される、プローブセット。

【請求項 1 5】

前記1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが、SEQ ID NO:1～2026に示すプローブを含むプローブセットの混合物である、請求項1記載の方法。

【請求項 1 6】

40

前記ハイブリダイゼーションが約45～約55 で実施される、請求項1記載の方法。

【請求項 1 7】

請求項14記載のプローブセットを含む、キット。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0 0 0 1】

関連出願

本出願は、すべてその全体が参照により組み入れられる米国特許仮出願第61/045,952号(2008年4月17日に出願)；同第61/113,841号(2008年11月12日に出願)；および同第61/147,862号(2009年1月28日に出願)に対して優先権を主張する。

【0 0 0 2】

50

発明の分野

本発明は、生物試料中の標的核酸の存在を判別するための合成プローブを用いた組成物、方法、およびキットに関する。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

特定の核酸配列および配列変更の検出および特徴付けは、感染症を示すウイルス核酸配列または細菌核酸配列の存在、疾患および癌に関連した哺乳動物遺伝子の変種または対立遺伝子の存在、ならびに法医学試料中に存在する核酸の供給源の正体(identification)を検出するため、ならびに父子鑑定において利用されてきた。

【0004】

例えば、多くの微生物およびウイルスのRNAまたはDNAが単離され、配列決定されている。多数の感染症に関して核酸プローブが調査されている。試験試料中の相補的なRNA配列またはDNA配列にハイブリダイズする検出可能な核酸配列が、かねてより利用されている。プローブの検出により、そのプローブが特異的である試験試料中の特定の核酸配列の存在が示される。科学的研究の助けとなるほかに、DNAプローブまたはRNAプローブは、患者試料におけるウイルスならびに微生物、例えば、細菌、酵母、および原生動物の存在、ならびに特定の障害に関係している遺伝子変異を検出するのにも使用され得る。核酸ハイブリダイゼーションプローブには他の検出方法よりも感受性および特異性が高いという利点があり、生存能力がある生物を必要としない。ハイブリダイゼーションプローブは、例えば、容易に検出できる放射性物質で標識することができる。

【0005】

ヒトおよび病原生物に由来する遺伝子の核酸配列データが蓄積するにつれ、迅速で費用対効果が大きく、使いやすい試験の需要が増している。試料中の標的核酸を判別するための新規かつ有効な方法、組成物、およびキットを提供することが望ましいと思われる。

【発明の概要】

【0006】

発明の概要

1つの局面において、本発明は、試料中の標的核酸の存在を判別するための方法を提供する。この方法は以下の段階を含む：

(a) 標的核酸の変種にはハイブリダイズしない1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが試料中の標的核酸とハイブリダイズして二本鎖核酸ハイブリッドを形成するのに十分なハイブリダイゼーション条件下で、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブを試料と接触させる段階；および

(b) 二本鎖核酸ハイブリッドを検出する段階であって、二本鎖核酸ハイブリッドを二本鎖核酸ハイブリッドに免疫特異的である第1の抗ハイブリッド抗体と接触させる段階を含み、二本鎖核酸ハイブリッドの検出によって試料中の標的核酸を判別する、段階。

【0007】

本発明の別の局面において、核酸のハイブリダイゼーションおよび二本鎖核酸ハイブリッドの検出は、同時に実施される。

【0008】

本発明のさらなる局面において、二本鎖核酸ハイブリッドが二本鎖核酸ハイブリッドに免疫特異的である第1の抗ハイブリッド抗体と接触させられた後に、第2の抗ハイブリッド抗体が二本鎖核酸ハイブリッドを検出するために添加され、これらの第2の抗ハイブリッド抗体による二本鎖核酸ハイブリッドの検出によって試料中の標的核酸の存在が判別される。

【0009】

本発明の別の局面において、複数のHPV型に対応する合成RNAプローブが、HPV感染の存在を検出するために使用される。

【0010】

一定の態様において、検出する段階は、二本鎖核酸ハイブリッドに免疫特異的であり、

10

20

30

40

50

検出可能となるように標識されている第2の抗ハイブリッド抗体を提供する段階をさらに含む。

【0011】

一定の態様において、少なくとも1つのプローブおよび抗ハイブリッド抗体は同じ段階で添加される。

【0012】

標的核酸はHPV核酸でよく、一定の態様において、これはハイリスクHPV型であり、その変種はローリスクHPV型または別のハイリスクHPV型の核酸である。一定の態様において、hrHPV型は、16、18、および/または45である。

【0013】

一定の態様において、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:1～20 26からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる。

【0014】

本発明は、試料中のHPV標的核酸の存在を判別する方法を提供し、その際、標的核酸がHPV 16である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:1～162からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0015】

標的核酸がHPV 18である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:163～309からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0016】

標的核酸がHPV 45である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:842～974からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0017】

標的核酸がHPV 31である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:310～454からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0018】

標的核酸がHPV 33である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:455～579からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0019】

標的核酸がHPV 35である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:580～722からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0020】

標的核酸がHPV 39である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:723～841からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0021】

標的核酸がHPV 51である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:975～1120からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0022】

標的核酸がHPV 52である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:1121～1252からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0023】

標的核酸がHPV 56である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID

10

20

30

40

50

NO:1253～1367からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0024】

標的核酸がHPV 58である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:1368～1497からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0025】

標的核酸がHPV 59である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:1498～1646からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

10

【0026】

標的核酸がHPV 66である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:1647～1767からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0027】

標的核酸がHPV 68である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:1768～1875からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

20

【0028】

標的核酸がHPV 82である場合、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:1876～2026からなる群より選択される少なくとも1つの核酸配列を含む核酸プローブセットである。

【0029】

一定の態様において、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、本明細書において提供されるようなHPV型に対するプローブセット全体を含む。一定の態様において、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、本明細書において提供されるようなHPV型に対するプローブセット全体から本質的になるか、またはそれからなる。

【0030】

本発明はさらに、SEQ ID NO:1～162(HPV 16); 163～309(HPV 18); 842～974(HPV 45); 310～454(HPV 31); 455～579(HPV 33); 580～722(HPV 35); 723～841(HPV 39); 975～1120(HPV 51); 1121～1252(HPV 52); 1253～1367(HPV 56); 1368～1497(HPV 58); 1498～1646(HPV 59); 1647～1767(HPV 66); 1768～1875(HPV 68); および1876～2026(HPV 82)のプローブセットも提供する。

30

【0031】

本発明はさらに、SEQ ID NO:1～161(HPV 16); 163～299(HPV 18); および842～968(HPV 45)のプローブセットも提供する。一定の態様において、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:1～2026に示すプローブを含む、プローブセットの混合物である。

【0032】

一定の態様において、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、SEQ ID NO:1～19、21～23、25～53、55～65、67～71、73～92、94～116、118～130、132～241、244～274、276、277、279、280、282～849、851～893、895～917、919～929、931、933～936、938～2026に示すプローブを含む、プローブセットの混合物である。

40

【0033】

一定の態様において、ハイブリダイゼーションは、約45～約55℃で実施される。

【0034】

本発明はまた、本明細書において開示するSEQ ID NO:1～2026のプローブのいずれか一つを含むキットも提供する。一定の態様において、キットは、SEQ ID NO:1～162(HPV 16); 163～309(HPV 18); 842～974(HPV 45); 310～454(HPV 31); 455～579(HPV 33); 580～722(HPV 35); 723～841(HPV 39); 975～1120(HPV 51); 1121～1252(HPV 52); 1253～1367(H

50

PV 56); 1368 ~ 1497(HPV 58); 1498 ~ 1646(HPV 59); 1647 ~ 1767(HPV 66); 1768 ~ 1875(HPV 68); および1876 ~ 2026(HPV 82)からなる群に示されるプローブを含む。別の態様において、キットは、SEQ ID NO:1 ~ 161(HPV 16); 163 ~ 299(HPV 18); および842 ~ 968(HPV 45)に示すプローブを含む。別の態様において、キットは、SEQ ID NO:1 ~ 2026に示すプローブを含む。さらに別の態様において、キットは、SEQ ID NO:1 ~ 19、21 ~ 23、25 ~ 53、55 ~ 65、67 ~ 71、73 ~ 92、94 ~ 116、118 ~ 130、132 ~ 241、244 ~ 274、276、277、279、280、282 ~ 849、851 ~ 893、895 ~ 917、919 ~ 929、931、933 ~ 936、938 ~ 2026に示す2,007種のプローブを含む。本発明の利点および恩恵は、本明細書を読むことによって当業者に明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

10

【0035】

【図1a】20種のHPVゲノムにおける配列保存を示す。

【図1b】HPV18ゲノムに沿ったRNAプローブの位置を示す。

【図2】HPV 16、HPV 18、HPV 31、またはHPV 45に特異的なRNAプローブのパフォーマンスを示す。

【図3】synRNAカバー率3.7Kbの場合のHPV 18プラスミド5,000コピーの検出を示す。synRNA=((カバー率1.5kb; 30mer)または(カバー率3.7kb; 25mer))、1.34nM

【図4】synRNAの濃度を上昇させることにより、検出感度が上昇したことを示す。

【図5】50mer synRNAの方が25mer synRNAよりも高いシグナルを生じたことを示す;synRNA=0.5kbのカバー率;25merまたは50mer(上記に挙げた濃度);約50 で約40分間のハイブリダイゼーション。

【図6】検出感度に対する連続的synRNAカバー率の影響を示す;50 で40分間のハイブリダイゼーション;synRNA=1.5kbのカバー率;30mer、2.24nM。

【図7】synRNAを用いたHPV 16検出およびHPV 18検出が同程度であることを示す;55 ハイブリダイゼーション;synRNA=3.7kb(HPV 18に対するカバー率)または3.175kb(HPV 16に対するカバー率;25mer、1.34nM。

【図8】異なる化学反応によって調製したsynRNAの比較を示す。

【図9】異なる温度でのsynRNAのハイブリダイゼーションを示す;synRNA=3.7kbのカバー率;25mer、1.34nM。

【図10】外因性RNaseAの存在または不在の検出を示す。

30

【図11】検出感度を示す。

【図12】增幅の経時変化を示す。

【図13】標的增幅を増加させることによる感度増強を示す。

【図14】特異性を示す。

【図15】本発明による方法の別の態様を表す。

【図16】PreservCyt(登録商標)中に採取した試料を適切な採取用培地(「DCM」 - Digene Collection Medium)で希釈するとシグナルが増強されることを示す。

【図17】synRNAプローブが完全長プローブと同じシグナルおよびダイナミックレンジを有することを示す。

【図18】synRNAプローブがすべての特異的標的(15種のhrHPV標的核酸)を検出し、S/Nは大きく(robust)ばらつきは低かったことを示す。

【図19】陽性対照のコピー 10^8 個と混合したローリスクHPVのコピー 10^8 個を用いた場合でさえ、2,007種のhrHPVプローブの混合物は十分に特異的であり、ローリスクHPV型に対して陽性シグナルを提供せず、依然として陽性対照に対して強いシグナルを提供することができたことを示す。

【図20A】標的核酸を含む生物試料をPreverveCyt(登録商標)中に採取した場合、ハイブリダイゼーション温度を低下させると検出シグナルが増大することを示す。

【図20B】標的核酸を含む生物試料をPreverveCyt(登録商標)中に採取した場合、ハイブリダイゼーション温度を低下させると検出シグナルが増大することを示す。

【発明を実施するための形態】

50

【0036】

詳細な説明

本発明者らは、生物試料中の標的核酸の存在を判別するための合成プローブを用いた新規な方法、組成物、およびキットを発見した。本発明はまた、試料中の標的核酸を検出するために有用な合成プローブも提供する。本発明は、様々な使用の中でも特に、病原生物の検出および同定を非限定的に含む臨床診断目的のための新規な検出方法、組成物、およびキットの使用を含む。

【0037】

1つの局面において、本発明は、以下の段階を含む、試料中の標的核酸の存在を判別するための方法を提供する：

- (a) 標的核酸の変種にはハイブリダイズしない1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが試料中の標的核酸とハイブリダイズして二本鎖核酸ハイブリッドを形成するのに十分なハイブリダイゼーション条件下で、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブを試料と接触させる段階；および
- (b) 二本鎖核酸ハイブリッドを検出する段階であって、二本鎖核酸ハイブリッドを二本鎖核酸ハイブリッドに免疫特異的である第1の抗ハイブリッド抗体と接触させる段階を含み、二本鎖核酸ハイブリッドの検出によって試料中の標的核酸を判別する、段階。

【0038】

試料には、生物試料および環境試料を含む標本または培養物(例えば、微生物学的培養物およびウイルス培養物)が非限定的に含まれる。生物試料は、ヒトを含む動物由来の体液、固体物(例えば大便)、または組織、ならびに液状食物および固体食物ならびに食事製品および食事成分(酪農品目、野菜、肉、および肉副産物など)、ならびに廃棄物に由来してよい。環境試料には、地表物質(surface matter)、土壤、水、および産業的試料などの環境材料、ならびに食物および酪農物を加工する機器、装置、設備、用具、使い捨ての品目、および使い捨てではない品目から得られる試料が含まれる。子宮頸部試料(例えば、子宮頸部スワブから得られる試料)、血液、唾液、脳脊髄液、胸膜液、乳、リンパ、痰、および精液を非限定的に含む生物試料が特に好ましい。試料は、一本鎖または二本鎖の核酸分子を含んでよく、これは標的核酸を含み、当技術分野において公知の様々な方法によって、例えば、プロテイナーゼK/SDSまたはカオトロピック塩などを用いることによって、ハイブリダイゼーション解析用に調製することができる。これらの例は、本発明に適用可能な試料タイプを限定するものとして解釈されるべきではない。

【0039】

例えば、血液または剥離させた子宮頸部細胞標本などの試料を採取し、アルカリ性pHに供して、標的核酸を変性させ、かつ、必要な場合には、試料中に存在する可能性がある核酸にニックを形成させることができる。次いで、処理するかまたは加水分解させた核酸を、中和緩衝液中で希釈したプローブまたはプローブ群とのハイブリダイゼーションに供することができる。

【0040】

一定の態様において、試料は、剥離させた子宮頸部細胞試料のような剥離細胞試料である。試料は、限定されるわけではないが、dacronが先端に付いたスワブ、綿棒、子宮頸部ブラシなどの化学的に不活性な採取器具を用いて採取することができる。試料および採取器具は、解析前の核酸の分解を防ぐために、核酸を保存しヌクレアーゼを阻害する搬送培地、例えば、カオトロピック塩溶液、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)、好ましくは0.5% SDSのような界面活性剤溶液、またはエチレンジアミン四酢酸(EDTA)(好ましくは100mM)のようなキレート剤溶液を含む搬送培地中で保存することができる。一定の態様において、試料は、子宮頸部細胞試料であり、この状況では、細胞試料と採取器具の両方が、digene Hybrid Capture(登録商標)2 High-Risk HPV DNA Test(登録商標)キット(Qiagen Gaithersburg, Inc., Gaithersburg, MD)のSample Transport Medium(商標)として提供されているカオトロピック塩溶液中で保存される。あるいは、試料を採取し、例えば塩基加水分解溶液中に保存することもできる。

10

20

30

40

50

【0041】

試料を採取し、限定されるわけではないがPreservCyt(登録商標)およびSurepath(商標)などの液体ベースの細胞学採取用培地中に保存してもよい。このような採取用培地(メタノールベース)が使用される場合、より強い検出シグナルを得るためにには、標的核酸の検出に関する本発明の方法を実施する前に試料を希釈することが好ましい。適切な溶液は、メタノール濃度を薄くするが、反応の残り部分を引き続き進行させる(すなわち、標的核酸へのプローブのハイブリダイゼーションを起こさせる、DNA:RNAへのハイブリッド捕捉抗体の結合を起こさせる等)ものである。有用な溶液は、NP-40、デオキシコール酸ナトリウム、Tris-HCl、EDTA、NaCl、およびアジ化ナトリウムを含む採取用培地である。一定の態様において、培地は、1% NP-40、0.25% デオキシコール酸ナトリウム、50mM Tris-HCl、25mM EDTA、150mM NaCl、および0.09% アジ化ナトリウムを含むか、またはそれらから本質的になる。この培地は本明細書および図面において、しばしばDigene Collection MediumまたはDCMと呼ばれる。図16は、PreserveCyt(登録商標)(または図面において「PC」として示す)のようなメタノールベースの採取用培地をDCMのような適切な溶液で希釈すると、より強いシグナルが生じ、したがって、標的核酸が比較的体積の大きな溶液(すなわち 1ml)中に採取された場合でさえ、シグナル、ゆえに標的核酸の検出を得ることができることを示す。好ましくは、メタノールベースの採取用培地またはPreserveCyt(登録商標)は、下記のPC対DCM比率で希釈される。

PreserveCyt(登録商標) (PC)の量(ml)	Digene Collection Medium (DCM)の量(μl)
1	約100～約1500
1	約200～約1300
1	約300～約1200
1	約400～約1100
1	約500～約1000
1	約600～約1000
1	約600～約900
1	約600～約800

【0042】

他の態様において、1mlのPCは、少なくとも200 μlのDCMで希釈され、他の態様において、1mlのPCは少なくとも300 μlのDCMで希釈され、および他の態様において、1mlのPCは、少なくとも500 μlのDCMで希釈される。一定の態様において、1mlのPCは、少なくとも500 DCMであるが、1000 μl以下のDCMで希釈される。生物試料を含むPCを希釈することによって、本発明の方法は、比較的大きな試料体積(すなわち、1ml以上の体積中に採取された生物試料)から結果を提供し、標的核酸を検出することができる。

【0043】

判別対象である核酸が血液中に存在する場合、例えば注射器を用いて血液試料を採取し、従来の方法によって血清を分離することができる。好ましくは、塩基処理する前にプロテイナーゼKのようなプロテアーゼと共に約65 °Cで約20分間、血清をインキュベートする。

【0044】

いくつかの態様において、試料を塩基で処理するか、または加水分解して、標的核酸をハイブリダイゼーションしやすい状態にする。試料および採取器具(ある場合)を約20～約100 °Cで5～120分間、0.1～2.0Mの塩基中でインキュベートすることによって、核酸を変性させ、かつ必要なら、ニックを形成させることができる。好ましくは、処理は、60～70 °Cで30～60分間、0.2～0.8MのNaOH、またはKOHのような類似塩基を用いて実行する。最も好ましくは、試料およびスワップを65 °Cで45分間、0.415M NaOH中でインキュベートする。約1体積量の試料を、本明細書においては加水分解試薬とも呼ぶ、約2分の1体積量の塩基を用いて処理することができる。pHは典型的には約13である。この塩基性pHは、標本中の核酸

10

20

30

40

50

の大多数にニック形成と変性の両方を起こさせる。さらに、塩基処理により、ペプチドと核酸の相互作用を妨害して、標的核酸の接近容易性を改善しタンパク質を分解することができる。塩基処理により、標本が効果的に均質化されて、所与の試料に関する解析結果の再現性が保証される。また、塩基処理により、試料の粘度を低下させて動態を向上させ、試料を均質化し、かつ、試料中に存在する任意のDNA-RNAハイブリッドまたはRNA-RNAハイブリッドを破壊することによってバックグラウンドを減少させることもできる。塩基処理はまた、試料中に存在し得るRNaseのような酵素を不活性化するのにも寄与し得る。

【0045】

標的核酸の変種には、標的の遺伝的変種が含まれる。変種には、標的核酸の多型、変異体、派生体、修飾型、または改変型などが含まれる。ヒトパピローマウイルス(HPV)に関する例として、変種には様々な型が含まれる。したがって、例えば、標的核酸がHPV 18型核酸に対応する場合、変種は、18型以外の型のHPVの対応する核酸配列でよい。

10

【0046】

1つの態様において、標的核酸はHPV核酸である。別の態様において、HPV核酸はHPV型のHPV DNAである。いくつかの態様において、HPV型はHPV 18であり、変種は、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV 5、HPV 6、HPV 8、HPV 11、HPV 13、HPV 18、HPV 26、HPV 30、HPV 31、HPV 33、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 66、HPV 67、HPV 68、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 82、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である。

20

【0047】

他の態様において、HPV型はHPV 16であり、変種は、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV 5、HPV 6、HPV 8、HPV 11、HPV 13、HPV 18、HPV 26、HPV 30、HPV 31、HPV 33、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 66、HPV 67、HPV 68、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 82、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である。

【0048】

他の態様において、HPV型はHPV 45であり、変種は、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV 5、HPV 6、HPV 8、HPV 11、HPV 13、HPV 16、HPV 18、HPV 26、HPV 30、HPV 31、HPV 33、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 66、HPV 67、HPV 68、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 82、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である。

30

【0049】

他の態様において、HPV型はHPV 31であり、変種は、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV 5、HPV 6、HPV 8、HPV 11、HPV 13、HPV 16、HPV 18、HPV 26、HPV 30、HPV 33、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 66、HPV 67、HPV 68、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 82、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である。

40

【0050】

他の態様において、HPV型はHPV 33であり、変種は、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV 5、HPV 6、HPV 8、HPV 11、HPV 13、HPV 16、HPV 18、HPV 26、HPV 30、HPV 31、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 66、HPV 67、HPV 68、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 82、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である。

【0051】

他の態様において、HPV型はHPV 35であり、変種は、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV

50

、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 67、HPV 68、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 82、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である。

【0059】

他の態様において、HPV型はHPV 68であり、変種は、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV 5、HPV 6、HPV 8、HPV 11、HPV 13、HPV 16、HPV 18、HPV 26、HPV 30、HPV 31、HPV 33、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 66、HPV 67、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 82、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である。 10

【0060】

他の態様において、HPV型はHPV 82であり、変種は、HPV 1、HPV 2、HPV 3、HPV 4、HPV 5、HPV 6、HPV 8、HPV 11、HPV 13、HPV 16、HPV 18、HPV 26、HPV 30、HPV 31、HPV 33、HPV 34、HPV 35、HPV 39、HPV 40、HPV 42、HPV 43、HPV 44、HPV 45、HPV 51、HPV 52、HPV 53、HPV 54、HPV 56、HPV 58、HPV 59、HPV 61、HPV 62、HPV 66、HPV 67、HPV 68、HPV 69、HPV 70、HPV 71、HPV 72、HPV 73、HPV 74、HPV 81、HPV 83、HPV 84、およびHPV 89からなる群より選択される型の核酸である。

【0061】

他の態様において、HPV型はHPV 16、HPV 18、およびHPV 45であり、変種は、ローリスクHPV型の核酸である。 20

【0062】

他の態様において、HPV型はハイリスクHPV型(hrHPV)であり、変種は、ローリスクHPV型の核酸である。

【0063】

他の態様において、HPV型は16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68、および82であり、変種は、ローリスクHPV型(1、2、3、4、5、6、8、11、13、26、30、34、53、54、61、62、67、69、70、71、72、73、74、81、83、84、および89など)の核酸である。 30

【0064】

したがって、本発明は、試料中の標的核酸を判別するための方法、組成物、およびキットを提供する。試料は、化学的に不活性な器具を用いて採取し、任意で塩基または他の変性溶液で処理してよい。標的核酸に特異的であるが、集団の他のどのメンバーにも特異的ではない(すなわち、変種に結合しない)1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブと共に試料をインキュベートする。例えば、判別対象である標的核酸は、発癌性もしくは非発癌性のHPV DNA配列、HBV DNA配列、淋病(Gonorrhea)DNA、クラミジア(Chlamydia)DNA、または他の病原体DNAもしくはRNAでよい。標的核酸は、癌を検出するための細胞に由来してよい。

【0065】

1つの態様において、標的核酸はHPV核酸であり、標的核酸および変種核酸はハイリスクHPV型またはローリスクHPV型に対応する。ローリスクおよびハイリスクとして分類されるHPV型は、当業者に公知である。現在、HPV型16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68、および82がhrHPVとみなされ、HPV型1、2、3、4、5、6、8、11、13、26、30、34、53、54、61、62、67、69、70、71、72、73、74、81、83、84、および89がローリスクHPVとみなされている。 40

【0066】

したがって、例えば、判別対象である標的核酸は、例えば、疾患を引き起こす病原体、好ましくはウイルスまたは細菌、好ましくはHPVなどの微生物の核酸でよいが、本発明はそれらに限定されず、以下の説明は、試料中のHPV DNAの判別を参照することにより、例示されるにすぎない。 50

【0067】

ポリヌクレオチドプローブ(「シンプローブ(synprobe)」)

本発明によれば、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが試料中の標的核酸とハイブリダイズして二本鎖核酸ハイブリッドを形成するのに十分な条件下で、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブを試料と接触させる。一定の態様において、標的核酸はDNAであり、プローブはRNAである。一定の態様において、RNAプローブは、完全長の転写されたRNAプローブとは対照的に短いプローブである。これらの短いプローブは、本明細書においてしばしば合成RNAプローブまたは「synRNA」と呼ばれる。

【0068】

一定の態様において、ポリヌクレオチドプローブセットが使用される(すなわち、複数のプローブ)。例えば、検出対象である標的核酸がHPV 16である場合、他のHPV型に結合せずにHPV 16に特異的に(すなわち、それだけに)結合するように設計されたプローブセットが使用される。一定の態様において、プローブセットは、標的核酸の約3~4kbのカバー率を確実にするために使用され、これにより強く読み取り可能なシグナルが保証される。一定の態様において、本発明の方法を用いたHPV 16の検出では、本明細書において開示するHPV 16プローブのすべてを含むプローブセットを使用してよい(表1を参照されたい)。他の態様において、別のHPV型に特異的に結合するように設計されたプローブセットが使用される。例えば、HPV 18の場合、プローブセットは、表2に開示するプローブを含み、HPV 45の場合、プローブセットは表3に開示するプローブを含み;HPV 31の場合、プローブセットは、表4に開示するプローブを含み;HPV 33の場合、プローブセットは、表5に開示するプローブを含み;HPV 35の場合、プローブセットは、表6に開示するプローブを含み;HPV 39の場合、プローブセットは、表7に開示するプローブを含み;HPV 51の場合、プローブセットは、表8に開示するプローブを含み;HPV 52の場合、プローブセットは、表9に開示するプローブを含み;HPV 56の場合、プローブセットは、表10に開示するプローブを含み;HPV 58の場合、プローブセットは、表11に開示するプローブを含み;HPV 59の場合、プローブセットは、表12に開示するプローブを含み;HPV 66の場合、プローブセットは、表13に開示するプローブを含み;HPV 68の場合、プローブセットは、表14に開示するプローブを含み;HPV 15の場合、プローブセットは、表15に開示するプローブを含む。

【0069】

一定の態様において、複数のプローブセットを含むプローブ混合物は、所望の標的核酸の混合物のいずれか一つを同時にスクリーニングするために使用される。例えば、任意のhrHPV型の存在について生物試料をスクリーニングすることが望ましい場合がある。このような状況において、表1~15において提供するプローブの一部、および場合によっては全部を含むプローブ混合物が使用される。例えば、プローブ混合物は、全てのハイリスクHPV(hrHPV)に対するプローブを提供するように設計することができ、その結果、1回の試験を実行して、その試料が任意のhrHPV標的核酸を有していたかどうかを特定することができる。例えば、15種のhrHPV型を検出するための2,007個の型特異的プローブのプローブ混合物を使用し、アッセイ1回当たり5,000コピーの各標的ゲノムを検出することができた(図17および18を参照されたい)。図17は、合成プローブが従来の完全長プローブと同じシグナルおよびダイナミックレンジを有することを示す。図19は、解析的特異性試験の結果を提供し、 10^8 個のコピーを有する陽性対照に対して良好なシグナルを示すのに対し、ローリスクHPV型は、 10^8 個のコピーが存在した場合でさえカットオフ値を下回るシグナルを有した。したがって、図17~19から、本発明の合成RNAプローブ(「synRNA」)を使用する本発明の方法が、解析的特異性を提供し、検出限界およびダイナミックレンジは完全長の転写されたプローブと等しく、臨床試料を用いた場合に感度が低下することは全くないことが示される。本発明のプローブは、標的ゲノムのセットの高感度検出を可能にしつつ、また、極めて類似した関連種に対してさえ優れた特異性を実現する。例えば、シンプローブを用いた本発明の方法は、HPV 67をHPV 52およびHPV 58と区別することができる(HPV 67のHPV 52およびHPV 56に対する同一性は72%を超える)。図19を参照されたい。

【0070】

10

20

30

40

50

上記の例で陽性シグナルが得られる場合、次いでその試料をさらに試験して、存在する実際のhrHPV型標的核酸を特定することが望ましい場合がある。このような状況では、試料は、そのHPV型に特異的な1つのプローブまたは特定のHPV型に対するプローブセットを用いてさらに試験される。例えば、試料がHPV 16標的核酸を含むかどうかを判別するために試料を試験しようとする場合、表1の少なくとも1つのプローブ(HPV 16プローブ)が使用されるか、あるいは表1のプローブ全体のセットがシグナル強度を増すために使用されるであろう。あるいは、HPV 16、HPV 18、およびHPV 45など特定のhrHPV型について試験し、必ずしも個々の各hrHPV型について試験しないことが望ましい場合もある。この状況では、プローブ混合物は、HPV 16、HPV 18、およびHPV 45のプローブセットに由来する少なくとも1つのプローブを使用する(あるいは、HPV 16、HPV 18、およびHPV 45のプローブセットに由来するプローブ全部が使用される)。

10

【0071】

1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、使用されるハイブリダイゼーション条件下で標的核酸の変種にそれらがハイブリダイズしないように設計される。1セット当たりの使用される異なるポリヌクレオチドプローブの数は、所望の感度に応じて変わり得る。対応するポリヌクレオチドプローブによる核酸標的のカバー率が高いほど、強いシグナルが提供され得る(抗体が結合するDNA-RNAハイブリッドの数が多くなるため)。

【0072】

1つの態様において、方法は、1つまたは複数のプローブを判別する段階をさらに含み、判別する段階は、標的核酸の連続的ヌクレオチド配列であって変種中には存在しない連続的ヌクレオチド配列を同定する段階を含む。例えば、十分な配列特異性を有する比較的短い領域(例えば約25mer)のHPVゲノムを決定して、HPV型に特異的なハイブリダイゼーションのための1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブを提供することができる。

20

【0073】

したがって、関心対象の標的核酸および対応する変種に応じて、標的特異的ハイブリダイゼーションを提供するのに十分な長さを有するように1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブを調製することができる。いくつかの態様において、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブはそれぞれ、少なくとも約15ヌクレオチド、例として、約15～約1000ヌクレオチド、約20～約800ヌクレオチド、約30～約400ヌクレオチド、約40～約200ヌクレオチド、約50～約100ヌクレオチド、約20～約60ヌクレオチド、約20～約40ヌクレオチド、約20～約20ヌクレオチド、および約25～約30ヌクレオチドの長さを有する。1つの態様において、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブはそれぞれ、約25～約50ヌクレオチドの長さを有する。一定の態様において、プローブは、25ヌクレオチドの長さを有する。一定の態様において、あるセット中の全プローブは、同じ長さ、例えば25ヌクレオチドを有し、同じハイブリダイゼーション条件下でそのセット中の全プローブのハイブリダイゼーションを可能にする極めて類似した融解温度を有する。

30

【0074】

バイオインフォマティクスツールを用いて、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブを決定することができる。例えば、特異的オリゴヌクレオチドを設計するソフトウェアプログラムであるOligoarray 2.0を使用することができる。Oligoarray 2.0は、参照により本明細書に組み入れられるRouillard et al., Nucleic Acids Research, 31: 3057-3062 (2003)において説明されている。Oligoarray 2.0は、BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) とMfold (Genetics Computer Group, Madison, WI)の機能性を組み合わせたプログラムである。BLASTとは、Karlin およびAltschulによる統計学的マッチング理論(Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264 (1990); Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873 (1993))を実行するものであり、所与のクエリ配列に一致するヌクレオチド配列を迅速に検出するために広く使用されているプログラムである。当業者は、例えば、ハイリスクHPV型およびローリスクHPV型、すなわち1、2、3、4、5、6、8、11、13、16、26、30、31、33、34、35、39、40、42、43、44、45、51、52、53、54、56、58、59、61、62、66、67、68、69、70、71、72、73、74、81、82、83、84、および89に対して検査され得る配列データベ

40

50

ースを提供することができる。次に、関心対象の標的配列、例えばHPV 18をそのデータベースに対してBLAST検索して、同一性のある任意の領域を検索することができる。次に、指定された長さの1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブについて融解温度(T_m)および%GCを算出し、パラメーターと比較することができる。その後、二次構造もまた検査することができる。関心対象のパラメーターがすべて満たされたら、BLASTによって決定した類似性を用いて、Mfoldパッケージによってクロスハイブリダイゼーションをチェックすることができる。所望の特異性要件を満たす1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブを決定するために、様々なプログラムを適合させることができる。例えば、長さ25nt、 T_m 範囲55～95、GC範囲35～65%、および55またはそれ以下では二次構造もクロスハイブリダイゼーションも無いポリヌクレオチドを調製するために、プログラムのパラメーターを設定することができる。
10

【0075】

したがって、他の局面において、本発明は、試料中の標的を判別するためのポリヌクレオチドプローブを設計および/または調製するために十分な配列情報を提供するためにバイオインフォマティクスを使用する。

【0076】

本発明の方法においてシンプローブを使用することに加えて、本発明の1つの局面は、本明細書において開示するプローブを含む。

【0077】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:1～162からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 16への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表1を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 16への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:1～162からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、本発明は、HPV 16への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:1～161からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:1～162を含む、HPV 16への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:1～19、21～23、25～53、55～65、67～71、73～92、94～116、118～130、132～162を含む、HPV 16への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。
20
30

【0078】

(表1) HPV 16核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
1	HPV16_25_HR&LR_7866	GGGUUACACAUUUACAAGCAACUUA
2	HPV16_25_HR&LR_7841	ACAUGGGUGUGUGCAAACCGAUUUU
3	HPV16_25_HR&LR_7799	CUGUGUAAGGUUAGCUAUACAUUG
4	HPV16_25_HR&LR_7774	AAUGUCACCCUAGUCAUACAUAGAA
5	HPV16_25_HR&LR_7749	AGGUUAAAACUUCUAAGGCCAACUA
6	HPV16_25_HR&LR_7712	GCGUUGUUUUAACUAACCUCUAAUGC
7	HPV16_25_HR&LR_7676	CAACGCCUUACAUACCGCUGUUAGG
8	HPV16_25_HR&LR_7629	CUGAAUCACUAUGUACAUUGUGUCA
9	HPV16_25_HR&LR_7577	GCACUGCUUGCCAACCAACUCCAUUG
10	HPV16_25_HR&LR_7552	UGCCAAAUCCCUGUUUUCUGACCU
11	HPV16_25_HR&LR_7527	UUGUACGUUUCUGCUUGCCAUGCG
12	HPV16_25_HR&LR_7502	CUAUGUCAGCAACUAUGGUUUAAC
13	HPV16_25_HR&LR_7433	CCCAUUUUGUAGCUUCAACCGAAUU
14	HPV16_25_HR&LR_7408	AUAUACUAUAUUUUGUAGCGGCCAGG
15	HPV16_25_HR&LR_7371	UAUAAAACUUAUAAAUGCUACAUCCUG
16	HPV16_25_HR&LR_7340	CCUACUAAUUGUGUUGUGGUUAUUC
17	HPV16_25_HR&LR_7293	GUGUAACUAUJUGUGUCAUGCAACAU
18	HPV16_25_HR&LR_7250	UGUAUGGUUAUAAAACACGUGUGU
19	HPV16_25_HR&LR_7225	AUAUUAAGUUGUAUGUGUJJUGUA
20	HPV16_25_HR&LR_7201	GU AUGUGCUUGUAUGUGCUUGUAAA
21	HPV16_25_HR&LR_7175	UAGUGUUGUUUGUUGUGUUAUGUU
22	HPV16_25_HR&LR_7150	UGUAAGUAUUGUAUGUAUGUUGAAU
23	HPV16_25_HR&LR_7112	AUCUACCUCUACACUGCUAACACGC
24	HPV16_25_HR&LR_7087	AACGAAAAGCUACACCCACCCACUC
25	HPV16_25_HR&LR_7061	GGCAAACCAAAAUUACAUUAGGA
26	HPV16_25_HR&LR_6935	AGCACCUAAAGAAGAUGAUCCCCUU
27	HPV16_25_HR&LR_6894	UUUGUAACCCAGGCAAUUGCUGUC
28	HPV16_25_HR&LR_6869	AGGCACACUAGAAGAUACUUUAUAGG
29	HPV16_25_HR&LR_6790	CAGACGUUAUGACAUACAUACAUUC
30	HPV16_25_HR&LR_6675	GCCAUACUACUUCAGAAACUACAU
31	HPV16_25_HR&LR_6541	CUGAUGCCAAUUAUCAAAUACC
32	HPV16_25_HR&LR_6496	CCAGUCAAAUUAUAAAUCUACACC
33	HPV16_25_HR&LR_6471	GGCUCUGGGGCUACUGCAAUUUAG
34	HPV16_25_HR&LR_6438	GGUGAAAAGUACCAAGACGAUUUAU
35	HPV16_25_HR&LR_6350	GUCAGAACCAUAUGGCGACAGCUUA
36	HPV16_25_HR&LR_6294	GUUCCACUGGAUAAAUGUACAUCA
37	HPV16_25_HR&LR_6192	CCACCAUAGAGUAAAACACAG
38	HPV16_25_HR&LR_6165	AAUGUUGCAGUAAAUCAGGUGAUU
39	HPV16_25_HR&LR_6052	CAGGUGUGGAUAAAAGAGAAUGUAU
40	HPV16_25_HR&LR_6022	CAGAAAUGCUAGUGCUUAUGCAGC
41	HPV16_25_HR&LR_5851	UAUUUAGAAUACAUUACUGACCC
42	HPV16_25_HR&LR_5825	UAAAGUAUCAGGAUUACAAUACAGG
43	HPV16_25_HR&LR_5800	CUAACAAUAACAAAAAUUAGUUCC
44	HPV16_25_HR&LR_5745	GCAGGAACAUCCAGACAUUCUGCAG
45	HPV16_25_HR&LR_5586	GUUAUUACAUGUUACGAAACGACG
46	HPV16_25_HR&LR_5546	ACAAUUAUUGCUGAUGCAGGUGACU
47	HPV16_25_HR&LR_5521	UAUAGUUCCAGGGUCUCCACAAUAU
48	HPV16_25_HR&LR_5496	CUGACCAAGCUCCUUCAUUAUUC
49	HPV16_25_HR&LR_5469	CAGGUCCUGAUUAACCCAUUAUAU

10

20

30

40

50	HPV16_25_HR&LR_5442	GUGGUGCAUACAAUAUCCUUUAGU
51	HPV16_25_HR&LR_5406	CAGGUUAUAAUUCUGCAAAUACAAC
52	HPV16_25_HR&LR_5381	CCAUCUGUACCCCUUACAUCUUUAU
53	HPV16_25_HR&LR_5356	UACAGAUACUUCUACAACCCGGUA
54	HPV16_25_HR&LR_5336	AUAAAUGCAGAUGACUUUAUACAG
55	HPV16_25_HR&LR_5301	CCUCACCUACUUCUAAUAAAUGG
56	HPV16_25_HR&LR_5276	ACAUUAUACUACCACUUCACAUUGCAG
57	HPV16_25_HR&LR_5228	ACUAUUGAUCCUGCAGAAGAAAAG
58	HPV16_25_HR&LR_5182	UGGAAAUCUAAUAGGUGCUAAGGU
59	HPV16_25_HR&LR_5153	GGUAAAACAAACACUACGUACUC
60	HPV16_25_HR&LR_5122	UAGGCGUACUGGCCAUUAGGUACAGU
61	HPV16_25_HR&LR_5051	AAUAGUAAUAAUAAUAGCUCCAGAUC
62	HPV16_25_HR&LR_5000	GCAUAUGAAGGUUAAGAUGUGGUAU
63	HPV16_25_HR&LR_4965	CCACUCCCACUAAACUUUAUACAUUA
64	HPV16_25_HR&LR_4910	GGAUUAUAUAGUCGCACAACACAAC
65	HPV16_25_HR&LR_4854	CUAACACAGUAACUAGUAGCACACC
66	HPV16_25_HR&LR_4829	GAUACAUUUAUUGGUUAGCACAACC
67	HPV16_25_HR&LR_4771	GCAUUUACACUUCAUCAUCCACU
68	HPV16_25_HR&LR_4706	CAUAAAUAUCCCACUUUCACUGACC
69	HPV16_25_HR&LR_4681	UAAAACUGUUACUACUGUUACUACA
70	HPV16_25_HR&LR_4640	ACUACUUCAACUGAUACCACACCUG
71	HPV16_25_HR&LR_4588	UGCACCAACAUCUGUACCUUCCAUU
72	HPV16_25_HR&LR_4562	GAAGAAACUAGUUUUAUUGAUGCUG
73	HPV16_25_HR&LR_4480	UACAGAUACACUUGCUCCUGUAAGA
74	HPV16_25_HR&LR_4435	CGGACGACUGGGUAUAUUCCAUUG
75	HPV16_25_HR&LR_4369	AUUACAAUAUGGAAGUAUGGGUGUA
76	HPV16_25_HR&LR_4275	CGGCUACCCAACUUUAUAAAACAUG
77	HPV16_25_HR&LR_4232	ACAAUGCACACAAACGUUCUGCAA
78	HPV16_25_HR&LR_4131	AAUUGUUGUAUACCAUACUUACUA
79	HPV16_25_HR&LR_4103	AUAUGUACAUAAUGUAAUUGUUACA
80	HPV16_25_HR&LR_4009	CUCUGCGUUUAGGUGUUUUUUGUA
81	HPV16_25_HR&LR_3984	UAUUACUAUUGUGGAUACAGCAGC
82	HPV16_25_HR&LR_3942	UGCUUUUGUCUGUGCUACAUACAC
83	HPV16_25_HR&LR_3866	UGCAUCCACAACAUUACUGGCGUGC
84	HPV16_25_HR&LR_3824	CAGUGUCUACUGGAUUUAGUCUAU
85	HPV16_25_HR&LR_3765	UGAUAGUGAAUGGCAACGUGACCAA
86	HPV16_25_HR&LR_3712	CAUUGGACAGGACAUAAUGUAAAAC
87	HPV16_25_HR&LR_3686	UGUUAUCUGCAGUGUCGUACAUAG
88	HPV16_25_HR&LR_3638	CUAAUACUUAAAAGUUUAAGAU
89	HPV16_25_HR&LR_3602	GUAACACUACACCCAUAGUACAUUU
90	HPV16_25_HR&LR_3577	CACAAAGGACGGAAUACUGUAAUA
91	HPV16_25_HR&LR_3552	AAUCCUCACUGCAUUUAACAGCUCA
92	HPV16_25_HR&LR_3520	UUGUUGCACAGAGACUCAGUGGACA
93	HPV16_25_HR&LR_3495	CGGAAACCCUGCCACACCACUAAG
94	HPV16_25_HR&LR_3460	ACGACUAUCCAGCGACCAAGAUCAG
95	HPV16_25_HR&LR_3417	GACCCAUACCAAGCCGUCGCCUUG
96	HPV16_25_HR&LR_3378	UGAAAUAUUAAGGCAGCACUUGGCC
97	HPV16_25_HR&LR_3323	GUCAGGUAAUAAAUGGUUACAU
98	HPV16_25_HR&LR_3241	GGAAUACGAACAUUUUGUGGCAGU
99	HPV16_25_HR&LR_3201	GGGUCAAGUUGACUAAAUGGUUUA
100	HPV16_25_HR&LR_3176	AAGAAGCAUCAGUAACUGUGGUAGA

10

20

30

40

101	HPV16_25_HR&LR_3145	UAUACAAACUGGACACAUUAUAUA
102	HPV16_25_HR&LR_3103	GUGGAAGUGCAGUUJUGAUGGAGACA
103	HPV16_25_HR&LR_3043	GUUAGCCUUGAAGUGUAUUUAACUG
104	HPV16_25_HR&LR_3018	UAAUGAAAAGUGGACAUUACAAGAC
105	HPV16_25_HR&LR_2974	GAACUGCAACUAACGUUAGAAACAA
106	HPV16_25_HR&LR_2938	CUGGCUGUAUCAAAGAAUAAAGCAU
107	HPV16_25_HR&LR_2890	GCCAGAGAAAUGGGAUUUAAACAU
108	HPV16_25_HR&LR_2863	CGCCUAGAAUGUGCUALUUUUACA
109	HPV16_25_HR&LR_2828	ACCUACGUGACCAUAUAGACAUUUG
110	HPV16_25_HR&LR_2794	AAAAUACUAACACAUUAUGAAAUG
111	HPV16_25_HR&LR_2630	UAAUGAGUUUCCAUUUGACGAAAAC
112	HPV16_25_HR&LR_2602	AUAAUAGAUUJGGUGGUUUACAUU
113	HPV16_25_HR&LR_2555	UACAUCAACAUUAUGCUGGUACAC
114	HPV16_25_HR&LR_2501	UAUGGAUGUAAAGCAUAGACCAUUG
115	HPV16_25_HR&LR_2444	CUGUUGGAACUACAUAGAUGACAAU
116	HPV16_25_HR&LR_2345	GCAAGGGUCUGUAAAUGUUUUGUA
117	HPV16_25_HR&LR_2324	UAUGAGUUUAUGAAAUUUCUGCAA
118	HPV16_25_HR&LR_2282	AUUACUAUAUGGUGCAGCUAACACA
119	HPV16_25_HR&LR_2171	AGGUGAUUGGAAGCAAAUUGUUUAUG
120	HPV16_25_HR&LR_2139	AUAAAUAUAGAUGUGAUAGGGUAG
121	HPV16_25_HR&LR_1957	ACGAUAAUGACAUAGUAGACGAUAG
122	HPV16_25_HR&LR_1914	AAUGAUUGUACAUUUGAAUUAUCAC
123	HPV16_25_HR&LR_1827	UAUAAAACAGGUUAUCAAAUUAUA
124	HPV16_25_HR&LR_1775	UAUGAUGAUAGAGGCCUCCAAAUAUG
125	HPV16_25_HR&LR_1750	AACAUUAUAGUGUGUCUCCAAUGUG
126	HPV16_25_HR&LR_1676	GGGAAUGGUUGGUUACUAUUAGUA
127	HPV16_25_HR&LR_1584	UUUGGACUUACACCCAGUAUAGCUG
128	HPV16_25_HR&LR_1559	GUGUUGCGAUUGGUGUAUUGCUGCA
129	HPV16_25_HR&LR_1534	GACCAUUAAAAGUAAAACAUCAAC
130	HPV16_25_HR&LR_1492	AAUUUAAGAGUUUACGGGGUGAG
131	HPV16_25_HR&LR_1417	CUAU AUG CAA AC ACCAC UU AC AAA
132	HPV16_25_HR&LR_1364	UUGCAGUCAGUACAGUAGUGGAAGU
133	HPV16_25_HR&LR_1331	AUGUAGUCAGUAUAGUGGUGGAAGU
134	HPV16_25_HR&LR_1306	AAGGGCGCCAUGAGACUGAAACACC
135	HPV16_25_HR&LR_1238	AUUAUUUGAAAGCGAAGACAGCGGG
136	HPV16_25_HR&LR_1185	CCUAGAUAAAAGCUAUAGUAUAG
137	HPV16_25_HR&LR_1150	GUGAUUUAGUGGAUGUGUAGACAA
138	HPV16_25_HR&LR_1101	UAGAGAUGCAGUACAGGUUCUAAAA
139	HPV16_25_HR&LR_1076	UUACUGCACAGGAAGCAAACACA
140	HPV16_25_HR&LR_1029	UAAUGAUUAAAACACAGGCAGAA
141	HPV16_25_HR&LR_1004	AUUUGGUAGUUUUUAUGUAAAUGA
142	HPV16_25_HR&LR_984	UGACAGUGAUACAGGUGAAGAUUUG
143	HPV16_25_HR&LR_848	AGAAACCAUAUCUACCAUGGCUGA
144	HPV16_25_HR&LR_790	CGUACUUUGGAAGACCUGUUUAUGG
145	HPV16_25_HR&LR_732	UUGUUGCAAGUGUGACUCUACGCUU
146	HPV16_25_HR&LR_702	GGACAGAGCCCACAUACAAUUAUGUA
147	HPV16_25_HR&LR_569	GAGAUACACCUACAUUGCAUGAAUA
148	HPV16_25_HR&LR_524	AGAUCAUCAAGAACACGUAGAGAAA
149	HPV16_25_HR&LR_477	UCCAUAUAAGGGUCGGUGGAC
150	HPV16_25_HR&LR_412	UAUUAACUGUAAAAGCCACUGUGU
151	HPV16_25_HR&LR_366	UAGAACAGCAAUACAACAAACCGUU

10

20

30

40

152	HPV16_25_HR&LR_334	ACAUUAUUGUUUAUAGUUUGUAUGGA
153	HPV16_25_HR&LR_306	AGUUUUAUUCUAAAAAUAGUGAGUA
154	HPV16_25_HR&LR_281	UAUGCUGUAUGUGAUAAAUGUUUA
155	HPV16_25_HR&LR_245	CGGGAUUUUAUGCAUAGUUAUAGAG
156	HPV16_25_HR&LR_209	CAGUUACUGCGACGGAGGUUAUG
157	HPV16_25_HR&LR_155	GAGCUGCAAACAAACUUAACAUGUA
158	HPV16_25_HR&LR_130	CAGAAAGUUACCACAGUUUAUGCACA
159	HPV16_25_HR&LR_92	AAGAGAACUGCAAUGUUUCAGGACC
160	HPV16_25_HR&LR_57	CCGGUUAGUAUAAAAGCAGACAUUU
161	HPV16_25_HR&LR_18	AUAAAACUAAGGGCGUAACCGAAAU
162	HPV16_7200	UGUAUGUGCUUGUAUGUGCUUGUAA

10

【0079】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:163～309からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 18への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表2を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 18への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:163～309からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、本発明は、HPV 18への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:163～299からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:163～309を含む、HPV 18への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:163～241、244～274、276、277、279、280、282～309を含む、HPV 18への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

20

【0080】

(表2) HPV 18核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
163	HPV18_25_HR&LR(-45)_7833	UUGGGCAGCACAUACUAUCUUUC
164	HPV18_25_HR&LR(-45)_7796	UAAGCUGUGCAUACAUAGUUUAUGC
165	HPV18_25_HR&LR(-45)_7764	CUGUCUACCCUUACAUGAACUAUA
166	HPV18_25_HR&LR(-45)_7738	GUACAAACUACUUCAUGUCCAACAU
167	HPV18_25_HR&LR(-45)_7658	AUCCACUCCCAGUAAAACUG
168	HPV18_25_HR&LR(-45)_7632	GCUACAAACAUUGCUUGCAUAACUA
169	HPV18_25_HR&LR(-45)_7561	UUGAACAAUUGGCGGCCUCUUUGG
170	HPV18_25_HR&LR(-45)_7536	CUUUUGGGCACUGCUCCUACAUUU
171	HPV18_25_HR&LR(-45)_7501	CAAUACAGUACGCUGGCACUAUUGC
172	HPV18_25_HR&LR(-45)_7476	UGGCUUUAUGUCUGUGGUUUUCUGCA
173	HPV18_25_HR&LR(-45)_7423	CCAUUUUAUCCUACAAUCCUCCAUU

30

40

174	HPV18_25_HR&LR(-45) 7398	UAUAAAACUGCACACCUUACAGCAU
175	HPV18_25_HR&LR(-45) 7370	GGGCUAUUAUJGUCCUGUAUUUCA
176	HPV18_25_HR&LR(-45) 7345	GUUUGUGGUAUUGGGUGUUGCUCUUGU
177	HPV18_25_HR&LR(-45) 7320	CCUAGUGAGUAACAACUGUAUUUGU
178	HPV18_25_HR&LR(-45) 7291	UUGUGGUUCUGUGUUAUGUGGUU
179	HPV18_25_HR&LR(-45) 7249	GUUACUUAUUGUUGGUUAUGUGGC
180	HPV18_25_HR&LR(-45) 7211	CAUUGUAUGGUAUUGUAUGGUUGUUG
181	HPV18_25_HR&LR(-45) 7184	CCUGUGUUUGGUUUUGUUGUAUGAU
182	HPV18_25_HR&LR(-45) 7123	GUGCCAGGAAGUAAAUGUGUGUGU
183	HPV18_25_HR&LR(-45) 7098	AAACCUGCCAAGCGUGUGCGUGUAC
184	HPV18_25_HR&LR(-45) 7073	UGCUCCAUCUGCCACUACGUCUUCU
185	HPV18_25_HR&LR(-45) 6982	CUUUAGACUUAGAUCAAUAUCCCCU
186	HPV18_25_HR&LR(-45) 6911	UGCACCGGCUGAAAAAUAAGGAUCCC
187	HPV18_25_HR&LR(-45) 6876	GUACAAUCUGUUGCUCAUUACCUGUC
188	HPV18_25_HR&LR(-45) 6698	GCAGUAUAGCAGACAUGUUGAGGAA
189	HPV18_25_HR&LR(-45) 6672	GGGCAUAUAGAUGCUACCAAAUUA
190	HPV18_25_HR&LR(-45) 6625	CCAGUACCAUUUAACAAUAUGUGC
191	HPV18_25_HR&LR(-45) 6482	GUAUUCUCCCUCUCCAAGUGGCUCU
192	HPV18_25_HR&LR(-45) 6425	GCCUCAAUCCUUUAUUAUUAAGGC
193	HPV18_25_HR&LR(-45) 6254	AGAUACUAAAUGUGAGGUACAUUG
194	HPV18_25_HR&LR(-45) 6188	CACAGUUUUGGAAGAUGGUGUAUG
195	HPV18_25_HR&LR(-45) 6137	UAAAUCGCGUCCUUUAUCACAGGGC
196	HPV18_25_HR&LR(-45) 6029	UUCUGAGGACGUUAGGGACAAUGUG
197	HPV18_25_HR&LR(-45) 6004	GUUCCCAUGCCGCCACGUCUAUGU
198	HPV18_25_HR&LR(-45) 5766	GUUCCUGCAGGUGGUGGCAUAAGC
199	HPV18_25_HR&LR(-45) 5667	GCAAGAGUUGUAAAACCGAUGAUU
200	HPV18_25_HR&LR(-45) 5642	CGUAUAUCUUCCACCUCCUUCUGUG
201	HPV18_25_HR&LR(-45) 5519	CAGUAUAUUGGUUAACAUUGGUACAC
202	HPV18_25_HR&LR(-45) 5487	CCAUUGUAUCACCCACGGCCCCUGC
203	HPV18_25_HR&LR(-45) 5462	UUACCAUCUACUACCUUCUGUAUGGC
204	HPV18_25_HR&LR(-45) 5437	UGUAUACACGGGUCCUGUAUUACA
205	HPV18_25_HR&LR(-45) 5409	UCCCUUUAACCUCCUCUUGGGGAUGU
206	HPV18_25_HR&LR(-45) 5384	GCCUCUUCCUAUAGUAUGUAACGG
207	HPV18_25_HR&LR(-45) 5329	AUCGCGUUCUACUACCUCCUUUGCA
208	HPV18_25_HR&LR(-45) 5304	ACAUGGACCCUGCAGUGCCUGUACC
209	HPV18_25_HR&LR(-45) 5249	CAGCCUUUAGUAUCUGCCACGGAGG
210	HPV18_25_HR&LR(-45) 5224	ACCUUCCCCAGAAUUAUUGAACUG
211	HPV18_25_HR&LR(-45) 5160	UUACCCGCAGCGGUACACAAAUAGG
212	HPV18_25_HR&LR(-45) 5118	GGACUGUUCGCUUUAGUAGAUUAGG
213	HPV18_25_HR&LR(-45) 5021	GACACUACAUUAACAUUUGAUCCUC
214	HPV18_25_HR&LR(-45) 4971	CACGUCCAUCUCUUUAAAACAUAA
215	HPV18_25_HR&LR(-45) 4946	UCAGUGGCUAACCCUGAGUUUCUA
216	HPV18_25_HR&LR(-45) 4833	UACAAACAUUUGCUUCUUCUGGUAC
217	HPV18_25_HR&LR(-45) 4737	CGUCCAUUAUUGAAGUUCCACAAAC
218	HPV18_25_HR&LR(-45) 4701	CCACAAACCAUUUUACCAAUCCUGC
219	HPV18_25_HR&LR(-45) 4676	CCUUCGUCUACCUUCUGUGUCUAUU
220	HPV18_25_HR&LR(-45) 4634	ACAUCUGCGGGUACAAACUACACCUG
221	HPV18_25_HR&LR(-45) 4591	UGCACCUAGGCCUACGUUUACUGGC
222	HPV18_25_HR&LR(-45) 4566	AGGACUCCAGUGUGGUUACAUACAGG
223	HPV18_25_HR&LR(-45) 4483	AGUGGUGGAUGUUGGUCCUACACGU
224	HPV18_25_HR&LR(-45) 4455	ACAUUCCAUUGGGUGGGCGUUCCAA

10

20

30

40

225	HPV18 25 HR&LR(-45) 4375	AUUGCAAUGGUCAAGCCUUGGUUA
226	HPV18 25 HR&LR(-45) 4276	GCCUUCGGUAACUGACUUUAUAAA
227	HPV18 25 HR&LR(-45) 4234	UAAUAAAAGUAUGGUAUCCCACCGU
228	HPV18 25 HR&LR(-45) 4113	CCCAUGUUACUAUUGCAUUAACAU
229	HPV18 25 HR&LR(-45) 4072	CUGCCACAGCAUUCACAGUUAUGU
230	HPV18 25 HR&LR(-45) 4047	GUGUUAUUGUGGUAAAACGUCCC
231	HPV18 25 HR&LR(-45) 3971	AUGCAUGUAUGUGUGCUGCCAUGUC
232	HPV18 25 HR&LR(-45) 3922	GCUGUAGUACCAUAUAGUUAUCACU
233	HPV18 25 HR&LR(-45) 3888	AUAUUGGUGGGAUACAUGACAAUGU
234	HPV18 25 HR&LR(-45) 3863	UGUUGCAAUUCCAGAUAGUGUACAA
235	HPV18 25 HR&LR(-45) 3823	CAUACCAUAGUGAACACAAAGAAC
236	HPV18 25 HR&LR(-45) 3752	CUAUAGAGAUUAUCAUCCACCUUG
237	HPV18 25 HR&LR(-45) 3727	ACAGAUUGCGAAAACAUAGCGACCA
238	HPV18 25 HR&LR(-45) 3647	AAGACGGAAACUCUGUAGUGGUAC
239	HPV18 25 HR&LR(-45) 3622	CAGCUACACCUACAGGCAACAAACAA
240	HPV18 25 HR&LR(-45) 3597	GGACCUGUCAACCCACUUCUCGGUG
241	HPV18 25 HR&LR(-45) 3572	UGGACUCGGGAGAAGCAGCAUUGU
242	HPV18 25 HR&LR(-45) 3547	CGGCUGCUACACGACCUGGACACUG
243	HPV18 25 HR&LR(-45) 3499	AUUCCAGCACCGUGUCCGUGGGCAC
244	HPV18 25 HR&LR(-45) 3454	CCGCUACUCAGCUUGUUAAACAGCU
245	HPV18 25 HR&LR(-45) 3382	GGGAAGUACAUUUUGGGAAUAAUGU
246	HPV18 25 HR&LR(-45) 3315	GAAGGGUACAACACGUUUUAUUAUG
247	HPV18 25 HR&LR(-45) 3269	CAAAACCGCUACCUGUGUAAGUCAC
248	HPV18 25 HR&LR(-45) 3244	AUAUGACUGAUGCAGGAACAUGGGA
249	HPV18 25 HR&LR(-45) 3219	UAUGUAGCAUGGGACAGUGUGUAUU
250	HPV18 25 HR&LR(-45) 3168	GGCCAACAGUACAAGUAUAAAUG
251	HPV18 25 HR&LR(-45) 3134	GAAUACAGAACCUACUCACUGCUUU
252	HPV18 25 HR&LR(-45) 3080	AAGUCGAUACAAACCGAGGAUUGG
253	HPV18 25 HR&LR(-45) 2972	ACAUGGCAUACAGACAUAAAACCAC
254	HPV18 25 HR&LR(-45) 2938	GUUGGGAAAUGCAAUUUUCUUUGC
255	HPV18 25 HR&LR(-45) 2903	CAUAGACAGCCAAUACAGUAUUGG
256	HPV18 25 HR&LR(-45) 2645	GCAAAGGAUAAUAGAUGGCCAUUU
257	HPV18 25 HR&LR(-45) 2612	CCUCCAAUACUACUAAACCACAAAUA
258	HPV18 25 HR&LR(-45) 2527	CUUUGAUACCUAUUAGAGAAAUGCG
259	HPV18 25 HR&LR(-45) 2475	CAGAUACUAAGGUGGCCAUGUUAGA
260	HPV18 25 HR&LR(-45) 2270	CUGCGAUACCAACAAUAGAGUUUA
261	HPV18 25 HR&LR(-45) 2202	CACAGUGGAUACGAUUUAGAUGUUC
262	HPV18 25 HR&LR(-45) 2065	UGAAUAUGCCUUUUAGCAGACAGC
263	HPV18 25 HR&LR(-45) 2036	GAGCUGACAGAUGAAAGCGAUUUGG
264	HPV18 25 HR&LR(-45) 1944	CUGAGUGGAUACAAAGACUUACUAU
265	HPV18 25 HR&LR(-45) 1918	UAUUAGUGAAGUAAUGGGAGACACA
266	HPV18 25 HR&LR(-45) 1829	CACGUACCUGAACUUGUAUGUUA
267	HPV18 25 HR&LR(-45) 1802	GUUGCUALAGGUUUAAGUACGUUGU
268	HPV18 25 HR&LR(-45) 1777	CAAUAGUGGUAGAGUAGACUAACA
269	HPV18 25 HR&LR(-45) 1751	GUAUUAAUAAUAGCCCCGUUGCGUU
270	HPV18 25 HR&LR(-45) 1726	UCAAUGUCUAGACUGUAAAUGGGGA
271	HPV18 25 HR&LR(-45) 1572	ACACAUAUAGGGCUAUCAUUUACAGA
272	HPV18 25 HR&LR(-45) 1536	ACAAUAAAACAAGGAGCUAUGUUAGC
273	HPV18 25 HR&LR(-45) 1493	CCACAAUGUACCAUAGCACAAUUA
274	HPV18 25 HR&LR(-45) 1455	ACGGUACAAGUGACAAUAGCAAUU
275	HPV18 25 HR&LR(-45) 1429	CACAGAGGGCAACAACAGCAGUGUA

10

20

30

40

276	HPV18_25_HR&LR(-45)_1399	CGGCAGUACGGAGGCUAUAGACAAC
277	HPV18_25_HR&LR(-45)_1360	AACUACAAAUGGCGAACAUGGCGGC
278	HPV18_25_HR&LR(-45)_1216	GCGGCUGGAGGUGGAUCAGAGUUA
279	HPV18_25_HR&LR(-45)_1149	CACAAGUGUUGCAUGUUUUAAAACG
280	HPV18_25_HR&LR(-45)_1072	ACAAGGAACAUUUUGUGAACAGGCA
281	HPV18_25_HR&LR(-45)_959	GGCUGGUUUUAUGUACAAGCUAUUG
282	HPV18_25_HR&LR(-45)_885	CGUGGUGUGCAUCCAGCAGUAAGC
283	HPV18_25_HR&LR(-45)_857	UUUCUGAACACCCUGUCCUUUGUGU
284	HPV18_25_HR&LR(-45)_816	UAGAAAAGCUCAGCAGACGACCUUCG
285	HPV18_25_HR&LR(-45)_791	UGUGAAGCCAGAAUUGAGCUAGUAG
286	HPV18_25_HR&LR(-45)_695	GAAGAAAACGAUGAAAUGAUGGAG
287	HPV18_25_HR&LR(-45)_670	UCACGAGCAAUAAGCGACUCAGAG
288	HPV18_25_HR&LR(-45)_645	AUGAAAAUUCGGUUGACCUUCUAUG
289	HPV18_25_HR&LR(-45)_620	AUUGUAUUGCAUUUAGAGAGCCCCAA
290	HPV18_25_HR&LR(-45)_589	UAUGCAUGGACCACAGGAAACAUUG
291	HPV18_25_HR&LR(-45)_554	CCAACGACGCAGAGAAACACAAGUA
292	HPV18_25_HR&LR(-45)_529	GCAACCGAGCACGACAGGAACGACU
293	HPV18_25_HR&LR(-45)_489	ACACAUAGCUGGGCACUAUAGAGGCC
294	HPV18_25_HR&LR(-45)_344	UUAUUCAGACUCUGUGUAUGGAGAC
295	HPV18_25_HR&LR(-45)_264	GUGGUGUUAAGAGACAGUUAACCCC
296	HPV18_25_HR&LR(-45)_216	GUAUUGGAACUUACAGAGGUUUUG
297	HPV18_25_HR&LR(-45)_179	GCAAGACAUAGAAAACCUGUGUA
298	HPV18_25_HR&LR(-45)_154	UGUGCACGGAACUGAACACUUCACU
299	HPV18_25_HR&LR(-45)_92	ACACCACAAUACUAUGGCGCGCUUU
300	HPV18_7601	CCUGGUUUAGUCAUUUUCUGUCC
301	HPV18_6850	CUAGUUUGGUGGAUACAUACGUUU
302	HPV18_5697	ACUCCCACAAGCAUAUUUUAUCAUG
303	HPV18_5046	GUAGUGAUGUUCUCUGAUUCAGAUUU
304	HPV18_2877	GACCACUAUGAAAAUGACAGUAAAG
305	HPV18_1298	CUGUUUACAAUACAGAUAGUGGCU
306	HPV18_1241	AGUCCACGGUUACAAGAAAUAUCUU
307	HPV18_739	AGCCCGACGAGCCGAACCACAACGU
308	HPV18_405	UUAUUAAAAGGUGCCUGCGGUGCC
309	HPV18_289	AUGCUGCAUGCCAUAAGUAUAGA

10

20

30

【 0 0 8 1 】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:842～974からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 45への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表3を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 45への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:842～974からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。いくつかの態様において、本発明は、HPV 45への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:842～968からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:842～974を含む、HPV 45への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:842～849、851～893、895～917、919～929、931、933～936、938～974を含む、HPV 45への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

40

【 0 0 8 2 】

(表 3) HPV 45核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
842	HPV45_25_HR&LR(-18)_7834	GGCCCUAUAAACACAUACCUUUUCUU
843	HPV45_25_HR&LR(-18)_7754	CCAACAAUCUGUCUACUUGUUACAU
844	HPV45_25_HR&LR(-18)_7726	UAAUUGGCGUGUAGAACCACUUUCU
845	HPV45_25_HR&LR(-18)_7646	GCACAACUGUAUCCACACCCUAUGU
846	HPV45_25_HR&LR(-18)_7552	ACAUAGUUUAACCUACUGGCGCGCC
847	HPV45_25_HR&LR(-18)_7527	CUAACUGGCACAUUACAACCCU
848	HPV45_25_HR&LR(-18)_7495	GUGGCUUUAUAUGUGACCUUUAAAAC
849	HPV45_25_HR&LR(-18)_7440	GCAUCCAUUUUACUUUAUCCUCC
850	HPV45_25_HR&LR(-18)_7385	CUUUGUACCCUUAUUCUUUCUGU
851	HPV45_25_HR&LR(-18)_7322	UAAUAGUGUUGUGUAGGGUUGCACC
852	HPV45_25_HR&LR(-18)_7282	GGUGUUACUGUACAUAAUUGUGGUA
853	HPV45_25_HR&LR(-18)_7250	GUGUAUGUAUGAAUGUGCCUUGUGG
854	HPV45_25_HR&LR(-18)_7225	UACUGUAUUUUGUUUGUUUGCGUGC
855	HPV45_25_HR&LR(-18)_7106	CAUCUAGGCCUGCAAACGUGUACG
856	HPV45_25_HR&LR(-18)_7081	GCUUCCACGUCUACUGCAUCUACUG
857	HPV45_25_HR&LR(-18)_7052	CUACCAUAGGACCUCGUAAGCGUCC
858	HPV45_25_HR&LR(-18)_7027	GUUCAGGCUGGGUUACGUCGUAGGC
859	HPV45_25_HR&LR(-18)_6911	AUACUACACCUCAGAAAAGCAGGA
860	HPV45_25_HR&LR(-18)_6885	AUCAGUUGCUGUUACCUUGUCAAAAG
861	HPV45_25_HR&LR(-18)_6697	UUUAAGCAGUAUAGUAGACAUUGUGG
862	HPV45_25_HR&LR(-18)_6672	GCCAAAGUACAU AUGACCCUACUAAG
863	HPV45_25_HR&LR(-18)_6505	GGCUCUAUUAUACUUCUGAUUCUC
864	HPV45_25_HR&LR(-18)_6479	GUUGUGUGUAUUCCCCUUCUCCAG
865	HPV45_25_HR&LR(-18)_6454	GCUAAUAUGCGUGAAACCCCUGGCA
866	HPV45_25_HR&LR(-18)_6426	UACGGACCUAUUAUUAAGGCACU
867	HPV45_25_HR&LR(-18)_6272	CAUUAGACAUUUGUCAUCCAUUC
868	HPV45_25_HR&LR(-18)_6247	UUGCAGGAUACAAAGUGCGAGGUUC
869	HPV45_25_HR&LR(-18)_6142	GCACAAUUGCAACCUGGUGACUGUC
870	HPV45_25_HR&LR(-18)_6018	AGCUGUUUAUACGCAGGAUGUUAGG
871	HPV45_25_HR&LR(-18)_5833	GUAGCUUUACCCGAUCCUAUAAA
872	HPV45_25_HR&LR(-18)_5791	GCUGUUCCUAAGGUACCGCAUAUC
873	HPV45_25_HR&LR(-18)_5766	ACCUAAUGGUGCAGGUAAUAAACAG
874	HPV45_25_HR&LR(-18)_5741	UAGGCAAUCCAUUUUAGGGUUGU
875	HPV45_25_HR&LR(-18)_5654	CUUCUGGGCCAGAGUUGUCAGCAC
876	HPV45_25_HR&LR(-18)_5534	CACACAAUUAUUAUUAUGGCCAUGG
877	HPV45_25_HR&LR(-18)_5490	UCUCCUACCAUGCUUCCACCA
878	HPV45_25_HR&LR(-18)_5465	CCAUACUCCUAUGUGGCCUAGUACA
879	HPV45_25_HR&LR(-18)_5437	AUACUGGCCGGACAUUAUUAUGCC
880	HPV45_25_HR&LR(-18)_5402	AGUACCAUUAACAUUCUGCAUGGGAU
881	HPV45_25_HR&LR(-18)_5372	UACUGCUGCAUCCUCUUACAGUAAU
882	HPV45_25_HR&LR(-18)_5347	CAAAGUAUCCUUGACCAUGCCUUC
883	HPV45_25_HR&LR(-18)_5314	CACCUAGCACUAUACACAAUCAUU

10

20

30

884	HPV45_25_HR&LR(-18)_5289	GACUUCCCACCUCCUGCGUCCACUA
885	HPV45_25_HR&LR(-18)_5254	CUACAAAUGAUAGUGACCUGUUJUGA
886	HPV45_25_HR&LR(-18)_5209	CCAUUGCUGCUACAGAGGAAAUUGA
887	HPV45_25_HR&LR(-18)_5111	CACUGUUAGAUUUAGUAGAUUGGGU
888	HPV45_25_HR&LR(-18)_5038	CCAGUAAUGUUCCUGAUUCCGAUUU
889	HPV45_25_HR&LR(-18)_5013	GACACCACACUAUCCUUUGAGCCUA
890	HPV45_25_HR&LR(-18)_4974	UCGUUGGUUACAUUUGAUAAUCCAG
891	HPV45_25_HR&LR(-18)_4926	AAUCAACAGGUCCGUGUGUCCACCU
892	HPV45_25_HR&LR(-18)_4837	CAUCUUCUGGGUCAGGUACGGAACC
893	HPV45_25_HR&LR(-18)_4781	UGGUACACCAACAUCGGGCAGCCAU
894	HPV45_25_HR&LR(-18)_4716	GCAUUUUCUGAUCCCCUCUAAUUAUG
895	HPV45_25_HR&LR(-18)_4679	CUCUGUUUCUAUUUCGUCAACUAGU
896	HPV45_25_HR&LR(-18)_4654	UGUUGGACAUCACACCUACCGUGGA
897	HPV45_25_HR&LR(-18)_4573	UUGCCUCUGGGUCUCCGGUUCCCAC
898	HPV45_25_HR&LR(-18)_4463	CAGGUCUAAUACUGUUGUGGAUGUU
899	HPV45_25_HR&LR(-18)_4367	UUUACAGUGGUUAGCCUUGGGUAUA
900	HPV45_25_HR&LR(-18)_4224	GUUUAAAACCAUGGUAUCCCACC
901	HPV45_25_HR&LR(-18)_4158	AUACCUGUGAUGUGCAUGUUGUUGU
902	HPV45_25_HR&LR(-18)_4106	GCAUGCUUUACACACCAUACAAUAA
903	HPV45_25_HR&LR(-18)_4053	GCAUUUGCUGUAUACAAUUGUUGCU
904	HPV45_25_HR&LR(-18)_3989	UGUGUGUGCUUUUGCUUGGUUGUUG
905	HPV45_25_HR&LR(-18)_3944	GUGCCUUUAUGUGUGCUGCAAUGUC
906	HPV45_25_HR&LR(-18)_3857	GGGAUACAUGACAUUAUGAAUCUGU
907	HPV45_25_HR&LR(-18)_3832	UUCCUAACAGUGUACAAACUCUGGU
908	HPV45_25_HR&LR(-18)_3717	UACUCAGAAAAUACCUCCACCUGGC
909	HPV45_25_HR&LR(-18)_3685	UAAGAUAUAGGCUACCGAAUAUGC
910	HPV45_25_HR&LR(-18)_3612	AGAAGGAAAGUGUGUAGUGGUAAACA
911	HPV45_25_HR&LR(-18)_3585	CUGUGUCAAGUACAAGUAACAACA
912	HPV45_25_HR&LR(-18)_3535	UCACAGAGCAGCACACGGACGUGU
913	HPV45_25_HR&LR(-18)_3492	CACAUCCAGACGCCGGCUACUAAGC
914	HPV45_25_HR&LR(-18)_3429	AGACAGCUACAAACGCCUCCACGU
915	HPV45_25_HR&LR(-18)_3325	GAAAUAGUAAUACGUUGGGAGUACA
916	HPV45_25_HR&LR(-18)_3241	GUGUUAGCUAUUGGGGUGUAAUUA
917	HPV45_25_HR&LR(-18)_3216	GGGAUAUAGGGACAAACAGCAGCAU
918	HPV45_25_HR&LR(-18)_3173	GAACUAUGUAGUAUGGGACAGUUA
919	HPV45_25_HR&LR(-18)_3134	CGUGCACGUAUACUUUGAUGGCAAC
920	HPV45_25_HR&LR(-18)_3092	GAAUACAGAACCGUCCAGUGUUUU
921	HPV45_25_HR&LR(-18)_3039	AGCAAGUAAACAAUGAGGAAUGGA
922	HPV45_25_HR&LR(-18)_2918	UACAGCAAGGGAACAUUGGUUUACC
923	HPV45_25_HR&LR(-18)_2883	UGGCAACUUUAACGUUUGGAAAUG
924	HPV45_25_HR&LR(-18)_2850	GACAGUAAAGACAAACAGCCAAA
925	HPV45_25_HR&LR(-18)_2765	GACGAUGAAGAUGCAGACACCGAAG
926	HPV45_25_HR&LR(-18)_2642	ACGGUAAAACAUUUCACAUUGCAU
927	HPV45_25_HR&LR(-18)_2586	CAUCCAAUUAUGAUCCAGCAAAAGA
928	HPV45_25_HR&LR(-18)_2560	GCUAAAAUGUCCUCCAAUCCUAUJA
929	HPV45_25_HR&LR(-18)_2431	AGCAGAUACUAAGGUAGCCAUGUUG
930	HPV45_25_HR&LR(-18)_2358	GUUUUAUACAUUUCUACAAGGUGC
931	HPV45_25_HR&LR(-18)_2266	GGCACUAAAGGAAUUUCUUAAAGGA
932	HPV45_25_HR&LR(-18)_1781	UUGUUGCACGUACCUGAAACAUGUA
933	HPV45_25_HR&LR(-18)_1754	CUAACUGUUGCAAAAGGCUUAAGCA
934	HPV45_25_HR&LR(-18)_1676	GCCCAUAUCCAUGUUUAGAUUGUA

10

20

30

40

935	HPV45_25_HR&LR(-18)_1599	GGGUAAUGGCUAUAUUUGGAGUUAA
936	HPV45_25_HR&LR(-18)_1541	CUGUCAUUUACGGAUUUGGUUAGAA
937	HPV45_25_HR&LR(-18)_1516	GGCAGUAUUAAAAGACAUUAUGGG
938	HPV45_25_HR&LR(-18)_1474	AAAGGAGCUUACAAGCAAGUAAC
939	HPV45_25_HR&LR(-18)_1449	AUCCGCAUUGCAGUAUACAGAACU
940	HPV45_25_HR&LR(-18)_1424	AGUAGUGACAAUGCAGAAAAUGUAG
941	HPV45_25_HR&LR(-18)_1399	UAGUACACAAAGUAGUGGUUGGGAU
942	HPV45_25_HR&LR(-18)_1365	UAAACACUAUAGCGAAAUGGCCG
943	HPV45_25_HR&LR(-18)_1338	UGGAAGCUGCAGAGACUCAGGUAC
944	HPV45_25_HR&LR(-18)_1242	GUCCACGGUUACAAGAAAUUCAUU
945	HPV45_25_HR&LR(-18)_1217	CAGCUAAGUGUGGUACGGAUACGUAA
946	HPV45_25_HR&LR(-18)_1153	GGUGUUGCAUCUUUAAAACGAAAG
947	HPV45_25_HR&LR(-18)_1124	CAUGCGCAGGAAGUUCAGAAUGAUG
948	HPV45_25_HR&LR(-18)_1072	ACAAUUAUCCAUUUGUGAACAGGCA
949	HPV45_25_HR&LR(-18)_954	GUAAUGGCUGGUUCUUUGUAGAAAC
950	HPV45_25_HR&LR(-18)_897	CUAACCAAUAUACUACAAUGGCCGA
951	HPV45_25_HR&LR(-18)_832	GGACCUUAGAACACUACAGCAGCUG
952	HPV45_25_HR&LR(-18)_799	CAGAAUUGAGCUUACAGUAGAGAGC
953	HPV45_25_HR&LR(-18)_649	AGAUCCUGUUGACCUCAGAAUGGUAC
954	HPV45_25_HR&LR(-18)_624	UGCAUUUGGAACCUCAGAAUGGUAU
955	HPV45_25_HR&LR(-18)_596	CCCCGGAAACACUGCAAGAAUUG
956	HPV45_25_HR&LR(-18)_570	CAAGUAUAGCAAUAAGUAUGCAUGG
957	HPV45_25_HR&LR(-18)_536	ACGGCAAGAAAGACUUCGCAGACGU
958	HPV45_25_HR&LR(-18)_511	AGUGUAAUACAUGUUGUGACCAGGC
959	HPV45_25_HR&LR(-18)_486	AGCAUAGCUGGACAGUACCGAGGGC
960	HPV45_25_HR&LR(-18)_461	CCUUAAGGACAAACGAAGAUUUCAC
961	HPV45_25_HR&LR(-18)_348	AACUCUGUAUAUGGAGAGACACUGG
962	HPV45_25_HR&LR(-18)_265	UGUAUAGAGACUGUAUAGCAUAUGC
963	HPV45_25_HR&LR(-18)_218	GGAACGCACAGAGGUUAUCAAUUU
964	HPV45_25_HR&LR(-18)_188	UAUUGCCUGUGUAUUAUGCAAAGCA
965	HPV45_25_HR&LR(-18)_163	UGAAUACAUACAUACAAGACGUAC
966	HPV45_25_HR&LR(-18)_138	AAGCUACCAGAUUUGUGCACAGAAU
967	HPV45_25_HR&LR(-18)_113	UGACGAUCCAAAGCAACGACCCUAC
968	HPV45_25_HR&LR(-18)_87	AAAGUGCAUUAACAGGAUGGCGCGCU
969	HPV45_7599	CCUGGUAUUAGUCAUJUUUCUGUCC
970	HPV45_6860	UGGUGGAUACAUACGUUUUGUGCA
971	HPV45_2617	AUGGCCAUUUAGAAAGUAGGGUG
972	HPV45_1297	GUUGUUUACAAUAUCAGAUAGUGGC
973	HPV45_733	ACUACCAGCCCAGCAGGCCAACCA
974	HPV45_414	UGCCUGCGGUGCCAGAAACCAUUGA

【 0 0 8 3 】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:310～454からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 31への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表4を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 31への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:310～454からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:310～454を含む、HPV 31への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【 0 0 8 4 】

(表4) HPV 31核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

10

20

30

40

SEQ ID NO:	名称	配列
310	HPV31_7871	GUUUUCGGUUACAGUUUACAAGCA
311	HPV31_7799	CCAAGGUUGUGUCAUGCAUUUAAGA
312	HPV31_7760	CCUUGAUUGCAGUGCUGCUUUUGC
313	HPV31_7709	CCUACACACCUCUAAACUGCUUUUAG
314	HPV31_7670	UGUAGUUCAACUAUGUGUCAUGCAC
315	HPV31_7620	CCAGGUCCAACUUUGCAUUUAUACUA
316	HPV31_7595	CUAACACACCUCUGCCAACAUUAUAAU
317	HPV31_7570	AACAUUCUGGCUUGUAGUUUCCUGC
318	HPV31_7502	CAUGCUAGUACAACUAUGCUGAUGC
319	HPV31_7462	CAUUUAAAUCCCUAACCGUUUUCG
320	HPV31_7437	CUACUCCAUUUUGAUUUUAUGCAGC
321	HPV31_7396	UAGUAAAAGUUGUACACCCGGUCCG
322	HPV31_7350	CAAUAGUCAUGUACUUUUUCUGCC
323	HPV31_7325	UGUUCCUACUUGUUCUGCUCUCC
324	HPV31_7261	GUUGUCCUUUAUACACCCUAUUAG
325	HPV31_7232	AUAUGUGUAUACCUUGUGUGUUGU
326	HPV31_7111	GCUGUAUUGUUAUAGUGUGUGUUUG
327	HPV31_7086	UGUGUCUGUAUGUGUAUGUGCUUGU
328	HPV31_7024	AUCUACCUACACCAGCAAAACGU
329	HPV31_6984	GUCCUAAAUAUAAAAGCAGGUAAACG
330	HPV31_6860	CCCCAGGAAGAUCCAUUUAAAGAUU
331	HPV31_6786	CAGGUUCUUUUGGAGGAUACCUAUAG
332	HPV31_6593	GCAAUUGCAAACAGUGAUACUACAU
333	HPV31_6567	GUAGUACCAAUAUGUCUGUUUGUGC
334	HPV31_6424	AUACUUUCCUACACCUAGCGGCUCC
335	HPV31_6390	GCUCCGGUUCAACAGCUACUUUAGC
336	HPV31_6358	UGAAUCGGUCCCACUGACUUUAU
337	HPV31_6197	GACACUAAAAGUAAUGUUCCUUUGG
338	HPV31_6089	GCUAUUACCCCUUGGUGAUUGUCCUC
339	HPV31_6017	CAACUGUGUUUACUUGGUUGCAAAAC
340	HPV31_5962	CGGUGGUCCUGGCACUGAUAAUAGG
341	HPV31_5701	UCCAUACCUAAUCUGACAAUCCU
342	HPV31_5666	AGUGCUAGGCUGCUUACAGUAGGCC
343	HPV31_5640	GAACCAACAUUAUUAUCACGCAGG
344	HPV31_5596	UGUCCCAGUGUCUAAAGUUGUAAGC
345	HPV31_5571	GCGAGGCUACUGUCUACUUACCACC
346	HPV31_5440	GCCCCUACACGCCACAAGUGUCUA
347	HPV31_5415	UACACAGGUUUUCCCAUUUCCUUUG
348	HPV31_5390	CUGAUGUACCUAUAGAGCAUGCACC
349	HPV31_5364	UUUUGACAUUCCCAUAUUUUCUGGG
350	HPV31_5337	AAAUACCAUCUGUGCCACUAAGUACA
351	HPV31_5294	CUGCUGUACAGUCCACACUGCUGU
352	HPV31_5258	UGGAUACACCUGCCACACAUAAUGU
353	HPV31_5173	AUGCAACCUUAGGGCGUCUGCAA

10

20

30

40

354	HPV31_5148	UAAUCCUGCAGGUGAAAGUAUUGAA
355	HPV31_5097	UGGUGCUACUAUJUGGUGCAAGGGUG
356	HPV31_5072	AUAAAACAACUUUGCGCACUCGUAG
357	HPV31_5046	CACUGUUAGAUUAUGACUAGGU
358	HPV31_4990	CCCGACUUUCUAGAUUAUAGCAU
359	HPV31_4965	UACAUUCGAUAAAUAUGCCCCUGAU
360	HPV31_4922	CCUAUGAACUGUAAAUGCUGAAGA
361	HPV31_4888	GCUCCAAAACAGCUAAUACAU AUG
362	HPV31_4841	GUAAGGCUACACAACAAGUAAAAGU
363	HPV31_4782	CAUAACAAGUAGCACACCCAUUCCA
364	HPV31_4688	CAGGUCAUUUACUACUUUCAUCAUC
365	HPV31_4663	CAGCCUCCUACACCUGCAGAAACAU
366	HPV31_4622	GCACACAUGAAAAUCCUACUUUUA C
367	HPV31_4583	CAGACACAACACCUGCAAUUUAGA
368	HPV31_4558	UCUGGGUUUGACAUUGCUCACACUG
369	HPV31_4533	UCCUAUACCACACCUUACAAACA
370	HPV31_4508	GAUUUGUUGAUGUUGGUGCCCCUGC
371	HPV31_4478	CCUCUAUAGUAAGUCUUGUUGAAGA
372	HPV31_4442	CAACAGUUAGCAUUGACCCUGUAGG
373	HPV31_4417	UCUGAGGCAAGUAUACCUUUAUGAC
374	HPV31_4392	UCUUAGUACACGUCCUUCUACAGUA
375	HPV31_4303	AUAUUAGGUAUUGGUAGUAUGGGUG
376	HPV31_4255	CCAUCAGACGUUAUACCUAAAUA G
377	HPV31_4182	ACGCUCUACAAAACGCACUAAACGU
378	HPV31_3967	UUAUUGCAACCUCUCCAUJACGUUG
379	HPV31_3923	GUCGGUAUAGCAACACUACUAUUA
380	HPV31_3898	UCAUACGUCCACUUGUGCUGUCUGU
381	HPV31_3873	UGUGUGCUACUAUUGUGUGUCUUG
382	HPV31_3789	CAACAGGAUUAUAGACUAAUUAAGCC
383	HPV31_3673	UUGGGACAUGUACAGAUGGAAAACAU
384	HPV31_3645	UGUAUGAACAAAGUGUACUACAUCAUG
385	HPV31_3561	CUGCAACUACACCACUAAUACACUU
386	HPV31_3536	AACCAAACAAGGGCUGUCAGUUGUC
387	HPV31_3506	UGUGGGGUUAUCAGUGCAGCUGCAU
388	HPV31_3428	CCAAGAACAGAGGCCAGAGCACAGAA
389	HPV31_3361	GAUUUCCAAAACCUGGCCUUGGGC
390	HPV31_3308	UCCUUUGCUGGGAUUGUUACAAAGC
391	HPV31_3281	GAAUCUGUAUUUAGCAGUGACGAAA
392	HPV31_3158	GGCAUUUUAUUAUGUACAUUGAAGGAC
393	HPV31_3133	UGUGGAAGGGCAAGUUAAUUGUAAG
394	HPV31_3108	UAUGUAUAGAUGGCCAACGUACUGU
395	HPV31_3073	CACCAUGCAUUUAACUACUGGAAA
396	HPV31_3046	GGUGCAUUUUGAUGGUGAUGUACAC
397	HPV31_2988	UUGAACUGUAUUUACUGCACCUAC
398	HPV31_2963	GACUGGACAAUGCAGCAAACAAGUC
399	HPV31_2897	GCCUUACAAGCUAUUGAACUACAAA
400	HPV31_2870	CCAGCGUUGUCAGUAUCAAAGGCCA
401	HPV31_2839	GGGAAUACACAGUAUUAACCACCA G
402	HPV31_2783	GACAUUUGGAAACAUUAUCGACUUG
403	HPV31_2698	GACUCUUUCUCAACGUUUAAAUGUG
404	HPV31_2660	UAAAUUUGCACCGAGGAAGAGGACAA

10

20

30

40

405	HPV31_2520	UGACAGAUGGCCAUACCUACAUAGC
406	HPV31_2430	CCCUGUAUCUUAJAGAUGUAAAGCAU
407	HPV31_2402	AUUACCUACGAAAUGCACUAGAUGG
408	HPV31_2222	UAAUACAUGGUGCACCUALACAGG
409	HPV31_2109	AGGUGACUGGAGGGACAUAGUAAAG
410	HPV31_2084	GUAGAUGUGACAAAGUUAGUGACGA
411	HPV31_1949	CUGACAGUGAUAGUAAUGCAUGUGC
412	HPV31_1855	GACACAACAUUUGAUUUGUCCAAA
413	HPV31_1712	GUAUGUUAAUUCAGCCACCCAAA
414	HPV31_1591	UUACAAAGUUUAGCAUGUUCUCCUGGG
415	HPV31_1566	GCAACCAUAUUGUUUGUAUUGCCAU
416	HPV31_1540	GUUGCAGAAGGAUUUAAAACCCUAU
417	HPV31_1515	AGCUGCGUUUUGGAGUUACAGGUACA
418	HPV31_1490	AAAGCACAUGUACUGAUUGGUGUGU
419	HPV31_1462	GAACUAAUUAAGGCCAUUUCAAAGCA
420	HPV31_1408	GGUAAGCUGCUAUGUUAGGUAAA
421	HPV31_1369	CCAACACGUAAUUAUUGCAAGUGU
422	HPV31_1344	ACAUAGUGAACGAGAGAAUGAAACU
423	HPV31_1319	UAAGUUGUAAUGGUAGUGACGGGAC
424	HPV31_1294	CAGGUAGAGGAGCAACAAACAACAU
425	HPV31_1269	UGAAGUGGAAACGCAGCAGAUGGU
426	HPV31_1233	ACUCUUUGAACUUCAGACAGCGGG
427	HPV31_1181	CACGGUAAAAGCUUAUUGCAUAGA
428	HPV31_1084	GCGGAGGAACAUGCAGAGGCUGUGC
429	HPV31_994	GAGGAUAUGGUUGACUUUAUGACA
430	HPV31_965	ACGAAAAGAACAGUAGUGAUAC
431	HPV31_940	CAGACAGGGACAACAUUUCAGAGG
432	HPV31_907	GGUUGGUUUUAUGUAGAAGCAGUAA
433	HPV31_848	AGACUGUAACUACAAUGGCUGAUCC
434	HPV31_814	CUCAUUUUGGAUUCGUGUGCCCCAAC
435	HPV31_789	GCAUAIUUGCAAGAGCUGUUUAUGGG
436	HPV31_764	GUACAGAGCACACAAGUAGAUUUC
437	HPV31_727	CUUUUGUUGUCAGUGUAAGCUACA
438	HPV31_700	GGACACAUCCAAUACAAUACGUU
439	HPV31_662	GAGGAUGUCAUAGACAGUCCAGCUG
440	HPV31_629	UGUU AUGAGCAAUUACCCGACAGCU
441	HPV31_594	UGUUAGAUUUGCAACCUGAGGCAAC
442	HPV31_569	GAAACACCUACGUUGCAAGACUAUG
443	HPV31_535	CUCGUACUGAAACCCAAGUGUAAAC
444	HPV31_510	CGUUGCAUAGCAUGUUGGAGAAGAC
445	HPV31_478	GAUUCCACAACAUAGGAGGAAGGUG
446	HPV31_340	GGUAUAGAUUAUGUGUGUAUGGAAC
447	HPV31_287	CGGAGUGUGUACAAAUGUUUAAGA
448	HPV31_262	UAGUAUAUAGGGACGACACACCACA
449	HPV31_220	CAGAACAGAGGUUUAGAUUUUGC
450	HPV31_186	AGAUUGAAUUGUGUCUACUGCAAAG
451	HPV31_161	AUUGGAAAUACCCUACGAUGAACUA
452	HPV31_136	GGAAA UUGCAUGAACUAAGCUCGGC
453	HPV31_89	GUGCAAACCUACAGACGCCAUGUUC
454	HPV31_60	CGGUUGGUUAUAAAGCACAUAGUA

【 0 0 8 5 】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:455～579からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 33への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表5を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 33への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを

10

20

30

40

50

提供し、このセットは、SEQ ID NO:455～579からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:455～579を含む、HPV 33への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【 0 0 8 6 】

(表5) HPV 33核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
455	HPV33_7867	CCGUUUUAGGUCAUAUUGGUCAUU
456	HPV33_7831	UGAGUCACUACCUGUUUAUACCAG
457	HPV33_7805	GUAUGCCAAACUAUGCCUUGUAAAA
458	HPV33_7780	CAGUUUUGGCUUACACAAUUGCUUU
459	HPV33_7680	UCAUAUAUACAUGCAGUGCAAUGC
460	HPV33_7655	GUUUGUCUGUACUUGCUGCAUUGAC
461	HPV33_7630	UUAAUCCUUUUCUUUCCUGCACUGU
462	HPV33_7605	AUACCCUAUGACAUUGGCAGAACAG
463	HPV33_7576	GUUUGUCUGUACUUGCUGCAUUGGC
464	HPV33_7551	UUAAUCCUUUUCUUUCCUGCACUGU
465	HPV33_7526	AUACCCUAUGACAUUGGCAGAACAG
466	HPV33_7465	GUCCAUUUGUACAAUUCUCCAU
467	HPV33_7425	CCUACAUUUAGUAUUGCUUUACC
468	HPV33_7389	CAAUGUACCUACCUUUUUUCCUA
469	HPV33_7364	GUAUUGCUCUGCCCUACCCUGCAUUG
470	HPV33_7339	GGUGUACCUAU AUGAGUAAGGAGUU
471	HPV33_7228	UGUACUUGUUUGUGUGCAUGUUCUA
472	HPV33_7129	CUGUCUAUGUACUUUGUGUUGUUGU
473	HPV33_7051	CACCCGCACAU CGUCUGCAAACGCC
474	HPV33_7016	GCAAAACCUAAACUAAAACGUGCAG
475	HPV33_6914	GGUAAAUAUACAUUUUGGGAGUGG
476	HPV33_6804	GUUUAACACCUCCUCCAU CUGCUAG
477	HPV33_6630	CACAAGUAACUAGUGACAGUACUA
478	HPV33_6490	GGUUACUUCCGAAUCUCAGUUUUU
479	HPV33_6434	GGAACUACUGCCUCUAAUCAAAGCA
480	HPV33_6405	UUCCCGAUGACCUGUACAUUAAGG
481	HPV33_6380	AGGGCUGGUACAUUAGGAGAGGCUG
482	HPV33_6135	CUGCCAAUGAUUGUCCACCUUAGA
483	HPV33_6109	AGGUGUUGCUUGUACUA AUGCAGCA
484	HPV33_6063	UAUGUUUACUUGGAUGUAAGCCUCC
485	HPV33_6004	UGGACAACCGGGUGCUGAUAAUAGG
486	HPV33_5979	ACACUGAAACCGGUACAAGUAUCC
487	HPV33_5902	UGUAGGCCUUGAAAAGGUAGAGGG

10

20

30

488	HPV33_5839	UAAAUUUGGAUUUCCUGACACCUCC
489	HPV33_5783	CCCAAAGUAUCAGGCUUGCAAUUA
490	HPV33_5521	GCUGACUUUGUUUUACAUCUAGUU
491	HPV33_5496	UUUUGACACCAUUGUUGUAGACGGU
492	HPV33_5462	CUAGCCCACUUGUUCCUAUUCGCC
493	HPV33_5412	UACUCCUGUU AUGUCUGGCCUGAU
494	HPV33_5375	CCAGCAAUGUGUCUAUACCUUUAAA
495	HPV33_5349	AUACAGUACGUUUGCAACAACACGU
496	HPV33_5324	AUGUACACACCCAAUGCAACACUC
497	HPV33_5299	GAUGUUUAUGCUGACGAUGUGGAUA
498	HPV33_5249	CUUUACAUGAUACUUCUACAUCGUC
499	HPV33_5219	CCGUGCCAAAUGAACAAUAUGAAUU
500	HPV33_5194	AGUCCUAUUGUGCCUUUAGACCACA
501	HPV33_5164	GGAGCUAGAAUACAUUAUUAUCAGG
502	HPV33_5092	CGUAGACAUACUGUGCGUUUUAGUA
503	HPV33_4993	CCUGAAGACACAAUACAAUUCAAC
504	HPV33_4888	UUUAUAGUCGCAAUACCCAACAGG
505	HPV33_4836	UGUAACAUCAAGCACGCCAUUCCA
506	HPV33_4811	UUGUUGUUUCCACAGACAGUAGUAA
507	HPV33_4775	GCACACAAAGUUAUGAAAACAUACC
508	HPV33_4742	CUGGACAUUUUAUUUUCUCCCC
509	HPV33_4715	UACACCCUCCAGCGCCUGCAGAAC
510	HPV33_4652	GGGAGUCAUCUAUUCAAACUAAUUC
511	HPV33_4603	ACUACAUUCUGCAGAUACUACACCUG
512	HPV33_4568	CCCCAUCUAUUCCUACACCAUCAGG
513	HPV33_4510	GACUCGUCUAUAGUGUCAUUAUAG
514	HPV33_4485	UACUGUAGACACUGUUGGACCUUUA
515	HPV33_4460	CCUUGCAGCCUAUACGUCCUCCGGU
516	HPV33_4435	ACUGACCCACCUACAGCUGCAUCC
517	HPV33_4317	AGGAAGUACCAUAGCAGAUCAAAU
518	HPV33_4119	CAUGGUGGUGUUUAACAUUGUUGU
519	HPV33_4060	GCAUAUGACACAACAAGAGUAAUGU
520	HPV33_3969	UUUGGGUGUUUGUGGGAUCCUUU
521	HPV33_3944	UGGUUGCUGGUGUUGGUAUUGCUGC
522	HPV33_3773	CUACUGUGCAAUAAGUACUGGAUU
523	HPV33_3719	CAUUUGUAACUGAACAGCAACAACA
524	HPV33_3646	UAUAGUUCUAUGUCAUCCACCUGGC
525	HPV33_3555	UAGUUCUAACGUUGGCACCUAUAGUG
526	HPV33_3530	GCACAAACAAGCAGCGGACUGUGUG
527	HPV33_3497	UGGACAAUAGAACAGCACGUACUGC
528	HPV33_3463	CCCCUUACAAAGCUGUUCUGUGCAG
529	HPV33_3408	ACCACAAGCAGCGGCCAACGACGA
530	HPV33_3380	ACAUACAGACAGACAACGUAACCG
531	HPV33_3338	CGUCUUAUACUAGCAACCAAAUAUC
532	HPV33_3185	CUAUGGUUACAGGGAAAGUAGAUUA
533	HPV33_3135	GGAUUAUACAAACUGGGUGAAUA
534	HPV33_3096	AGUAACUGUGCAAUAUGACAAUGAC
535	HPV33_3008	AUAGUACAAGCCAUGGACAUUGCA
536	HPV33_2939	CAUCAAAGACCAAGCAUUCAAGU
537	HPV33_2895	GGGAUUUCACAUUAUGCCACCAG
538	HPV33_2867	GUGCUUUAUUGUUAACAGCCAAACA

10

20

30

40

539	HPV33_2809	GCUGAUAAAACUGAUUUACCAUCAC
540	HPV33_2654	CCCAGUGUAUGCAAAUAAAUGAUGAA
541	HPV33_2576	CUCUAGAUGGCCAUUUACAUAGU
542	HPV33_2526	UUAAAAUGUCCACCACUGCUUCUUA
543	HPV33_2454	GAUGAUUACAUGAGAAAUGCUGUAG
544	HPV33_2419	UAGAUGAUGUAACGCCAAUAAGUUG
545	HPV33_2269	GCUGUAUGCUAAUUGUGGACCAGC
546	HPV33_2174	GAGACCAAUAGUACAGUUGUUAAGA
547	HPV33_2004	GCAGAUUCAAAUAGUAAUGCUGCUG
548	HPV33_1951	AUGAUAAKGAGUUAACGGACGAUAG
549	HPV33_1795	GGAGCCAAACAUGUGCAUUGUAUUG
550	HPV33_1763	AACAUUGUAUGGUUAUAGAGCCACCA
551	HPV33_1715	CAGGUUAACAGUAGCAAAACUAAUG
552	HPV33_1567	GUUAACAGGAUAUGGAAUUAGUCC
553	HPV33_1496	GGCCUAUGGAAUAAGUUUUUAGGAA
554	HPV33_1426	CGUUGCAGGAAAUAGUAAUGUUCU
555	HPV33_1395	GAGACAAUAGUAGAUAGCUGUGAAA
556	HPV33_1345	UAAAUGACUUAGAAUCUAGUGGGGU
557	HPV33_1320	GAAAGUCAAAUAGGCACACAAACU
558	HPV33_1295	AACUCAGCAGAUGGUACAAACAGGU
559	HPV33_1183	AUCGUGCUGCAAACCGUGUAGAAC
560	HPV33_1154	UUCACAAAGUGCUGCGGAGGACGUU
561	HPV33_1009	GCACGGAUUUACUAGAGUUUAUAGA
562	HPV33_984	GAGGAUGAACACAGCAGAUGACAGUG
563	HPV33_870	UCAUCUACAAUGGCCGAUCCUGAAG
564	HPV33_830	AGUGAAUAUUGUGUGGCCUACCUGU
565	HPV33_805	CCAUACAGCAACUACUUAUGGGCAC
566	HPV33_780	AACAGUACAGCAAGUGACCUACGAA
567	HPV33_742	GUUGUCACACUUGUAACACACCACGU
568	HPV33_717	ACAGCUGAUUACUACAUUGUAACCU
569	HPV33_617	AUAUCCUGAACCAACUGACCUAUAC
570	HPV33_575	GAGAGGACACAAGCCAACGUUAAG
571	HPV33_539	GUAGAGAAACUGCACUGUGACGUGU
572	HPV33_490	AUUUCGGGUCGUUGGGCAGGGCGCU
573	HPV33_457	CGACAUGUGGAUUAAAACAAACGAU
574	HPV33_424	UGUCAAAGACCUUUGUGGUCCUCAAG
575	HPV33_301	CUGUGUUUGCGGUUCUUACUAAAA
576	HPV33_274	GAGGGAAAUCCAUUUGGAAUAUGUA
577	HPV33_214	CCUUUGCAACGAUCUGAGGUUAUG
578	HPV33_183	CAUUGAACUACAGUGCGUGGAAUGC
579	HPV33_103	ACGACUAUGUUUCAAGACACUGAGG

10

20

30

【0087】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:580～722からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 35への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表6を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 35への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:580～722からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:580～722を含む、HPV 35への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

40

【0088】

(表6) HPV 35核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
580	HPV35_7767	CACAUUGUUUAUAGCACACAGGUGU
581	HPV35_7737	CAUGCAUGUAAAACAUUACUCACUG
582	HPV35_7711	CACAUCCUGCCAACUUUAAGUAAA
583	HPV35_7648	CUAAAGGGCUUUAAUUGCACACCUU
584	HPV35_7606	AACACUUGUAACAGUGCUUUUAGGC
585	HPV35_7549	CUUGAUUCAUCUUGCAGUAUUAGUC
586	HPV35_7493	GUGUUCCUGAUUAUAUUUGUUUGCC
587	HPV35_7424	GGUUGCUGUUGGUAGCUUUUAUAG
588	HPV35_7393	GUGUCCUUUACAUUACCUUCAACC
589	HPV35_7327	GAGCUUACAUAAUUAUGACAGCU
590	HPV35_7302	UUGUAUGACUAUGGUGCACCAGAU
591	HPV35_7261	GCCAUAAGUGAUGUGUGUUUAU
592	HPV35_7236	GUACUUAGUGUGUAGUAGUUCAGUA
593	HPV35_7206	UUGUGCAAUGUGUUGUACGUGGGUG
594	HPV35_7180	CAUGGCGUGUAAAUGUGUGUAAU
595	HPV35_7155	UGUUGUGGUGGCCUGUUUGUGUUGUA
596	HPV35_7108	CAUGUAUACUGUGUGUUAUGUGUUG
597	HPV35_7028	GCGUGCAGCUCCAGCAUCUACAU
598	HPV35_6874	CACCAAAACCUAAAGAUGAUCCAU
599	HPV35_6825	ACAUACGCUAUGUAACAUACACAGG
600	HPV35_6759	AACCCGUCCAUUUUAGAGGAUUGGA
601	HPV35_6592	GUACAAAUAUGUCUGUGUUCUGC
602	HPV35_6474	GUAACCUCCGAUGCACAAAUUUUA
603	HPV35_6439	GUACUAGUUAUUUUCCUACUCCUAG
604	HPV35_6392	AGUACCUGCAGACCUAUAAUUAAG
605	HPV35_6296	UUCUGAGCCAUAUGGAGAUAUGUUA
606	HPV35_6245	CCUAGAUUAUAGCAGUUCCAUUUGC
607	HPV35_6141	CCUUUGGAGUUACUAAACACUGUAC
608	HPV35_6115	ACCAGGUAAAAGCAGGAGAAUGUCC
609	HPV35_6045	CAAUUGGUUUAAAAGGUUGUAGGC
610	HPV35_6006	GAUACAGGAAUGCAUUUCUAUGG
611	HPV35_5981	UGGUACUCUGGUACUCUGGUACA
612	HPV35_5877	UGUACAGGAGUUGAAGUAGGUGUG
613	HPV35_5849	UCCCUGCCUCCAGCGUUUGGUUUGG
614	HPV35_5748	AAAAUAGCAGUACCCAAGGUACUG
615	HPV35_5682	GCAGGCAGUUUCUAGGCUAUUAGCUG
616	HPV35_5589	UCUAACGAAGCCACUGUCUACCUGC
617	HPV35_5465	CCCACAGGUCCUAUAUUAUCUUA
618	HPV35_5440	UAUUACUAACUCUGUACUACCGGUA
619	HPV35_5412	GGCCAGACAUUGUAUUUACUCUAA
620	HPV35_5387	GGCUAUGAUUUCCUUAACAGCAG
621	HPV35_5354	GUUCCUAGCAAUACUACUUAACCAU

10

20

30

622	HPV35_5274	CUCCUAUAGAUACUGAGGAAGAUAU
623	HPV35_5223	CACAUACCACUGUUCAACAUCAUU
624	HPV35_5198	UUACAACAUGUACCAUCCUCUUAC
625	HPV35_5120	AGUGGAAAAGCUAUAGGGGCACGG
626	HPV35_5094	GUAAUAAAACGUACUAUGCAUACACG
627	HPV35_5050	UGCACUAACAUCUAGGAAAGGCACU
628	HPV35_5024	AUGGACAUUAUAGCUUUACAUAGGC
629	HPV35_4993	GGAUUUAGCUUAGCUCCGGAUCCU
630	HPV35_4967	GAUACACCUUACAAUUGAGCAUG
631	HPV35_4909	GACUUCUCCUGCAAAACUUUUACA
632	HPV35_4857	GAUUAUAUAGUAAGGUACCCAGCA
633	HPV35_4800	GCAAUUUAUAACUAAUAGCACGCC
634	HPV35_4713	CAGGUCAUUUUGUACUUUCAUCAUC
635	HPV35_4688	CACCCACCCACGCCUGCAGAACUU
636	HPV35_4634	GUGACAUCCAUAAGUACACAAUGUA
637	HPV35_4605	CUACAGAUACCACACCUGCUAUUUU
638	HPV35_4578	CUACAAACAGGUUUUACAAUAACAC
639	HPV35_4553	CCUGUUGUUACACCAAGGGUCCCAC
640	HPV35_4506	CUAUAGUGUCAUUAUGUAGAGGAAAC
641	HPV35_4481	GACACAAUUGGCCUUUAGAUUCUU
642	HPV35_4426	GGCUGGCCACAAACAUCCUUAACGA
643	HPV35_4401	UCCACACUGGUACAACACCUCCAAC
644	HPV35_4376	GGCACAGGUGGAAGAUCUGGUAUG
645	HPV35_4233	AACUAUAUCGUACUUGCAAAGCUGC
646	HPV35_4190	CACAAAAGGUCAACAAAACGUGUUA
647	HPV35_4068	GUAACAUUGUGUUAUGGUGGUUUUA
648	HPV35_4026	GGCAGUACAGUAUUGUAUACAAAC
649	HPV35_3999	GAUGAUUAACGCUCAUGCACAAUUA
650	HPV35_3958	CUACUUGCUUUUGUUGUUUCUUGCU
651	HPV35_3933	ACUGUGGUUACUGUAGCAACACCA
652	HPV35_3889	CUAUCUGUGUCAUUAUACUCAGCAU
653	HPV35_3864	GUGUCUGCUUGUACGUUCGCUAUUG
654	HPV35_3839	UGUGCUUUUGUGUGCUUUUGUGCUU
655	HPV35_3807	AGCUUCCAGUACUGUGUUGCUGUGC
656	HPV35_3760	CACAGUUACAGUGUCUAAAGGAUAU
657	HPV35_3705	CUUACACAAACAGAAUAUCAAAGGGA
658	HPV35_3652	AUGGAGAUGGACAUGUACAAACGAU
659	HPV35_3513	ACUGCACAAACAAAGACCGGUGUGG
660	HPV35_3481	CAGUGUUGACAGAGGGGUACUCU
661	HPV35_3456	AGCGAGUGCGACUCAGUGCCGUGGA
662	HPV35_3431	ACCGAGCUCCCCUACAAACCCACCA
663	HPV35_3399	AGAAGACAAAUCACAAACGACUUCG
664	HPV35_3360	CCCAUACCAAAGCCUGCUCCGUGGG
665	HPV35_3293	UUUAGCAGCACAGAACUAUCCACUG
666	HPV35_3196	UUAUGUUACUUUUJAGGGAAGAGGCU
667	HPV35_3171	AUGUGCAUCAGGGUGUAGAAACAU
668	HPV35_3123	GUUAUGUACUGUUGUAAAGGGACU
669	HPV35_3047	GAAGCACAAUJUGAUGGUGUAAC
670	HPV35_2946	CAACUGAGUAUAGCACAGAGGACUG
671	HPV35_2890	AAAAGCCAAAGCAAUAGCAAGCAAUU
672	HPV35_2865	AAGUGGUUCCAACGCAGGCCAUUC

10

20

30

40

673	HPV35_2840	AUGGGAAUUAAAACUCUUAACCACC
674	HPV35_2788	GUAUUGGAAACUGAUUCGCUUUGAA
675	HPV35_2763	GCACAUGUUUGUCUGAUCACAUACA
676	HPV35_2679	AGAGGUCAAAGAAAAUGAUGGAGAC
677	HPV35_2648	GGACGUGGUGCAGAUAAAUGCA
678	HPV35_2551	GUAGUGGUUUACAUUCACAAUG
679	HPV35_2526	CAGGUGGCCAUACUUACAUAGCAGG
680	HPV35_2386	CCAUGUGGCAUUAUAGACCAAUAU
681	HPV35_2338	CAGCCAUUAUAUGAUGCCAAAUAAG
682	HPV35_2275	CUAAUGCAUUUCUUACAAGGAGCUA
683	HPV35_2220	UUGCAUACUAAUUAUGGAGCACCA
684	HPV35_2147	GAUAUCAACAAGUAGAUUUUGUGGC
685	HPV35_2075	CACAGUGGAUAAAAGGCGAUGUGC
686	HPV35_1955	CAGAACUAAUAGUAUAGCAUGUGC
687	HPV35_1791	UAUUAGUGAGGUUGAUGGAGAAACA
688	HPV35_1744	CGUAGUACCCCAGCUGCGUUUAUU
689	HPV35_1698	GCUAUGUAUUUCAGCUGCAAGUAUG
690	HPV35_1619	GGGCUAUGGUAAAUCUAGCAUUAUU
691	HPV35_1559	GUGUGGCGAACUUAAAACAUUAAC
692	HPV35_1534	GUGGCCGCAUUUGGAAUAGCCCCAA
693	HPV35_1391	CAACGGGAGACAUUAACAAUACU
694	HPV35_1366	AGCGAUGAAAGACAUGAUGAGACUC
695	HPV35_1341	CAGUGGGGAUAGUAUAAACCUCUAGU
696	HPV35_1316	AUACAGUUGAACAUUGUAGUAUGGG
697	HPV35_1286	UACACGAGAUACAAACAGGUAGAGGG
698	HPV35_1237	CGAUUAUUUGAACUACCAAGACAGCG
699	HPV35_1136	CUAGUAGUCCACUUAGCAGCGUGAG
700	HPV35_1101	CAAAGAGGCUGUACAGGUCCUAAA
701	HPV35_1051	GAAACAGAGACAGCACAAGCAUUAU
702	HPV35_970	GACGAAAAUGAAGAUGACUGUGACA
703	HPV35_945	UAGACGUACGGGAUCCAGUGUAGAG
704	HPV35_858	AUAAUCUACAAUGGCUGAUCCUGCA
705	HPV35_828	AAUAGUGUGCCCGGGCUGUUCACAG
706	HPV35_781	CACAUUGACAUACGUAAAUGGAAG
707	HPV35_739	UGUAAAUGUGAGGCCACACUACGUC
708	HPV35_703	CCAGACACCUCCAUUUAUAAUUUG
709	HPV35_669	AGAUACUAAUUGACGGGUCCAGCUGGA
710	HPV35_592	UAUGUUUUAGAUUUGGAACCCGAGG
711	HPV35_554	GUGUAAUCAUGCAUGGAGAAUAAAC
712	HPV35_529	GAAACCAACACGUAGAGAAACCGAG
713	HPV35_443	CCAGUUGAAAAGCAAAGACAUUAG
714	HPV35_350	UAUAGUGUGUAUGGAGAAACGUUAG
715	HPV35_284	CCAUUAUGGAGUAUGCAUGAAAUGUU
716	HPV35_259	GUGUAUAGUAUUAUGAGAGAAGGCCAG
717	HPV35_232	GGUAUAUGACUUUGCAUGCUAUGAU
718	HPV35_207	GCAAACAAGAAUUACAGCGGAGUGA
719	HPV35_163	GGUAGAAGAAAGCAUCCAUAGAAUU
720	HPV35_131	CGACCUUACAAACUGCAUGAUUUGU
721	HPV35_106	CGGUAUGUUUCAGGACCCAGCUGAA
722	HPV35_46	ACGGUUGCCAUAAAAGCAGAAGUGC

【 0 0 8 9 】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:723～841からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 39への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表7を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 39への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを

10

20

30

40

50

提供し、このセットは、SEQ ID NO:723～841からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:723～841を含む、HPV 39への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【 0 0 9 0 】

(表7) HPV 39核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
723	HPV39_7780	CACACAAUAGUUUAUGCAACCGAAA
724	HPV39_7735	CAGGAAUGUGUCUUACAGUUAAGU
725	HPV39_7692	CUUGCUUAAUAAAAGUUGGCCUG
726	HPV39_7642	CCACCCUAUGUAAAACUGCUUU
727	HPV39_7617	CAAUACUUUGGCAACAUCUAAUCU
728	HPV39_7581	CCUUUUUACUCAUCAUCCUGUCCAG
729	HPV39_7538	UUCACCCUGCAUAGUUGGCACUGGU
730	HPV39_7429	CAUUUUUAUCUUCGCCAUUUGUGG
731	HPV39_7349	UCAUACAUAAUCUUAUAGCCUAC
732	HPV39_7273	AUGACAGUUUCAUGUGUGAUUGCAC
733	HPV39_7203	CCUUUAUGUGUUGAGUGUUAUGUGU
734	HPV39_7173	CCUUGUUUAUGUGUGUGUAUGUUGU
735	HPV39_7146	CGUGUGUCUAAAUAUGCAUGUGUA
736	HPV39_7111	CUUCCUCGUCCUCAGCUACUAAACA
737	HPV39_7072	GCCCACUUAUAGGUCCCCGAAAGCG
738	HPV39_7012	UGGAACUUGAUCAAUUCCUUUGGG
739	HPV39_6956	AGAUCCAUAUGACGGUCUAAAGUUU
740	HPV39_6902	CCUACAGUCUGCAGCCAUUACAGU
741	HPV39_6877	CCAGUUUGGUAGACACUUACAGAUA
742	HPV39_6851	UUUUGCUGUAGCUCCUCCACCAUCU
743	HPV39_6824	GAAUUCCUCUAUAAUUGGACAAUUGG
744	HPV39_6696	CCUUCUACAUAAUGAUCCUUCUAAGU
745	HPV39_6671	AUCUACCUCUAUAGAGUCUUCCAAU
746	HPV39_6511	ACUGCCCCUCUCCAGCGGUUCCAU
747	HPV39_6486	CGUGCAAACCCCGGUAGUUUCUGUAU
748	HPV39_6458	CCAAUUGUAUAUUAAGGGCACAGAU
749	HPV39_6370	ACAGUAUGUUUCUUCUGUUUACGUAG
750	HPV39_6204	GAACUAGUAACACCCCUAUUGAGG
751	HPV39_6160	CAUGCAAGCCCAAUAAGUAUCUAC
752	HPV39_6039	CCAUUUUCAUCAACCACCAAUAAGG
753	HPV39_5998	GACACCCAUUAUAAAAGACAGGAA
754	HPV39_5908	CCUUUAUAAAUCAGAACACAAACG
755	HPV39_5875	CCGAUCCUAUAAAUCAGUAUUCC

10

20

30

756	HPV39_5850	UAUAGGGUAUUUCGCGUGACAUUGC
757	HPV39_5792	UAAAAGGGGUUAUGAAUGGGUGGUCGC
758	HPV39_5758	GCUCUAGAUUAUAAACAGUAGGACA
759	HPV39_5543	ACAACAUUAUGCAAUAACCAUUCAGG
760	HPV39_5512	GUUGCCAUUGGUGGCCUUCUGGACCA
761	HPV39_5487	UUGCUUUACCAAGUACUACUCCACA
762	HPV39_5462	AUGCCUGUAAAUAUCUGGUCCUGAUA
763	HPV39_5436	CUAUUCCUUUAGUACCUCUAGGAA
764	HPV39_5409	CAGCAUCUACUAAAUAUGCCAAUAC
765	HPV39_5384	GGCUCACUACCUUCUGUGGCCUUCUU
766	HPV39_5359	GGAUUCGGGCACUACAUUAACACA
767	HPV39_5305	AUAUGCUGAUGGGACAUAACACA
768	HPV39_5264	CACGCUGAGCCCUCUGAUGCUUCAG
769	HPV39_5239	AAGCAUUGAAUUAACAGCCCCUAGUU
770	HPV39_5209	CCAUGACAUUAAGUAGUAAUJUGCUCCU
771	HPV39_5178	GCACACAAUUGGAGCGCAAGUACA
772	HPV39_5121	AAGGAACAGUAAGGUUAGUAGGCU
773	HPV39_5018	GAGCCUGUUGAUACUACAUUAACAU
774	HPV39_4928	UAUAGUAGAGCACAUCAUCAGCAGGUUC
775	HPV39_4889	CCUACACCUGGAAUCAGUCGUGUGG
776	HPV39_4778	UCGGGUAAUUAUUGUCAGUACCC
777	HPV39_4736	ACGGAUCCUUCUAAUUGAGGUUC
778	HPV39_4706	ACCUCUACUAGUUUAUCUAACCCUG
779	HPV39_4621	CACCUCUGGAUUUGAAAUAACUUCU
780	HPV39_4596	GAACACCAAGUACCAACAUUAACAGG
781	HPV39_4571	GAGGACUCAAGGUUAUAACCUUCUG
782	HPV39_4546	UGAGCCAUCUAUUGUGCAAUUGGUG
783	HPV39_4487	ACUGUUGUAGAUGUGUCUCCUGCAC
784	HPV39_4358	GGUACUACACUUGCUGACAAAAUUU
785	HPV39_4333	ACCAGACGUUGUUGAUAAAGUUGAG
786	HPV39_4297	CCUAUAUAGAACCUUGUAACAAUCG
787	HPV39_4239	UACUAUAACAAUGGUUUCCCACCG
788	HPV39_4195	AUUGUGCAUACUACUGUACAUAGC
789	HPV39_4158	GGCAAUGGAAUAGAUUAAGUACUGU
790	HPV39_4133	UGCCCCAUGUGGUUGUUGCAUAGACU
791	HPV39_4046	CGUAUGUGUGGAUAAUUGUGUUUGU
792	HPV39_3888	CAUUGGGUUAC AUGACAUUGUAAAG
793	HPV39_3854	GACACUGUUAAAACCUCUUCUAGUG
794	HPV39_3818	ACAU AUGCCACAGAGUCACAAGGCC
795	HPV39_3641	AGACGGUACCUCAGUUGUGGUACA
796	HPV39_3616	CAGUAACAGUACAGGCCACAACACA
797	HPV39_3591	UGGACCAUCUUAACAACCCACUCCA
798	HPV39_3556	AGUCACAGAGCCCACUGAGGCCGAC
799	HPV39_3458	GAUUUAUCAAACACCACCGCGACCC
800	HPV39_3426	ACGGAUCGGUACCCACUACUGAACU
801	HPV39_3328	UAUUCAGAUGCGGAAAGGUAGGG
802	HPV39_3301	GCACCUAAAAGUUAACUAUGAAGUG
803	HPV39_3199	GAACUAUGUAUUAUGGGUGCUUA
804	HPV39_3174	AUGAUGGGACAAAGUAAUGCUAL
805	HPV39_3067	UGAAUACAAUACAGAGGAGUGGACA
806	HPV39_2986	GGUGCCAACCAUAACAUUUCAAA

10

20

30

40

807	HPV39_2636	ACGAUAGGUGGCCAUUUUACGUAG
808	HPV39_2542	GGGU AUGCAAUUAGUUUAGAUAGGA
809	HPV39_2479	UUAGAUGAUGCAACCGGUACCUGCU
810	HPV39_2412	UAUUUCAUAUGUAAACUCCCACCAGC
811	HPV39_2338	GUUAUUAUAGGACCUGCGAAUACAG
812	HPV39_2235	GAGACCCAUAGUACAAUUCUUAAGA
813	HPV39_2205	GUGUAGUAAAUGUGAUGAAGGCAGGG
814	HPV39_2056	GCAAUGUUAGCAGAUUGUAACAGUA
815	HPV39_1974	UAGUGUAUUUGACCUAUCGGACAUG
816	HPV39_1906	AGUGUGGUACAGGGAUACGCCAG
817	HPV39_1881	GUACUGCACAGGUUAUCCAAUAUU
818	HPV39_1835	UUCUGGAGCCUCCUAAACUGCGCAG
819	HPV39_1789	GGAAAGGGAUUAAGUACAUUGUUAC
820	HPV39_1716	CUUAGACACAAAACAAGGAGUACUA
821	HPV39_1645	GUACAUCCAACUAUUGCAGAAGGAU
822	HPV39_1568	UAUCCUUUACUGACCUUGGUACGUAC
823	HPV39_1531	GCUGCAAUGCUAACACAAUUUAAG
824	HPV39_1478	CCAAUUCUCCAACUGCACAAUUA
825	HPV39_1453	GCUAUAGAUAGUGAAAACCAGGAUC
826	HPV39_1390	AAUGGGGAUGCUGAAGGGGAACAUG
827	HPV39_1283	GCAGUACGCAGGCAACACAAACGGU
828	HPV39_1251	GGGAACACUACAGGAAAUUCAUUA
829	HPV39_1189	AAGUAUACAGACAGCAGUGGCGACA
830	HPV39_1083	UGAUUCCACAGAUUUUGUGUACAG
831	HPV39_876	CUCACUAGGAUJUGUGUGUCCGUGG
832	HPV39_839	GGGAUACUCUGCGACAACUACAGCA
833	HPV39_803	GUAAACACACACUGCAGCUGGUAGU
834	HPV39_595	CGUGGACCAAAGCCCACCUUGCAGG
835	HPV39_567	GAGAAACCCAAGUAUAACAUCAGAU
836	HPV39_464	CACCUAAAAGCAAACGAAGAUUUC
837	HPV39_336	AGCUACGAUUAUACUCGGACUCGGU
838	HPV39_284	GAACCACUAGCUGCAUGCCAUCAU
839	HPV39_259	UUUAUAUGUAGUUAUAGGGACGGG
840	HPV39_212	AGACGACCACUACAGCAAACCGAGG
841	HPV39_7808	GUUGGGCAUACAUACCUAUACUUUU

10

20

30

40

【0091】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:975～1120からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 51への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表8を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 51への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:975～1120からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:975～1120を含む、HPV 51への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【0092】

(表8) HPV 51核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
975	HPV51_7766	UUGUGUUCUGCCUAUGCUUGCAACA
976	HPV51_7716	CCAUCUUACUCAUAUGCAGGUGUGC
977	HPV51_7689	GUGCCAAGUUUCUAUCCUACUUUA
978	HPV51_7593	CCGCCCUAUAAUAAUUUACUGCUU
979	HPV51_7566	CUUUAACAAUUGUUGGCACACUGUU
980	HPV51_7536	GCUAGUCAUACAACCUCUAAUAGUCAU
981	HPV51_7510	CCUJUGUACUJUGCGCGCCUUACCGG
982	HPV51_7485	UAGUGCAUACAUCGGCCGCCACG
983	HPV51_7427	AAGUUUUAAAACCACAACUGCCAGUU
984	HPV51_7394	GAUUUCGGUUCGUGUACUUUAGUA
985	HPV51_7368	CAGCUGCAGCCAUUUGAGUGCAAC
986	HPV51_7265	AGGGUGGUGUUUCGGUGGCGUCCU
987	HPV51_7236	UGUGGGUAUUACAUUAUCCCCGUAG
988	HPV51_7211	CAUUUGUAUGACAUGUAACGGGUGUA
989	HPV51_7131	GUUGUUCCUGUAUGUAUGAGUUAUG
990	HPV51_7071	GUAUGCCUGUAUGUAUAUGUUUGUG
991	HPV51_6979	UCAUCGGCAUCCUCUUCCUCUUCU
992	HPV51_6939	CGUACAACGCAAGCCCAGACCAGGC
993	HPV51_6738	AACAUUACCUCCGUCUGCUAGUUUG
994	HPV51_6707	CUACCAUUCUUGAACAGUGGAAUUU
995	HPV51_6671	CUACAGAGGUAAUGGCCUUUUACA
996	HPV51_6597	CUUUAAGCAAUAUUAUAGGCAUGGG
997	HPV51_6572	UUUCCCCAACAUUAUCUCCAAGUAA
998	HPV51_6543	UUUAACUAAUAGCACUGCCACUGCU
999	HPV51_6514	ACCUGUGUUGAUACUACCCAGAAGUA
1000	HPV51_6385	UAUAUAUACUCUGCUACUCCCAGUG
1001	HPV51_6360	UAAUGGCCGUGACCCUAUAGAAAGU
1002	HPV51_6307	CUUGUAGGUGUUGGGGAAGACAUUC
1003	HPV51_6160	GCCACCAAAUCAGACGUCCCCUUUGG
1004	HPV51_6084	ACUUGUAUCCUCUGCUAUUCAGGAU
1005	HPV51_5962	GUUGACAACAAACAGACUCAGUUAU
1006	HPV51_5922	AAAUGGCAAUGCACAACAAGAUGUU
1007	HPV51_5897	AUGACACAGAAAUCACGCAUAGC
1008	HPV51_5773	CCGGAUCCAAUUUAUAAAUCAGCAG
1009	HPV51_5707	AAAGUAUCUGCAUUCAAAUACAGGG
1010	HPV51_5682	AACCUCAACGCGUGCUGCUAUUCU
1011	HPV51_5641	AGACUAAUACAUUAGGACAUCUCCU
1012	HPV51_5590	ACAGAAAGAAUAAUCACACGCACCG
1013	HPV51_5565	UGCACCUUGUGUCUCGAAUUGUGAAU
1014	HPV51_5469	UAUACACAAUUAUCACGCAAACGCC
1015	HPV51_5444	AGGUGGGGAUUACUAUUUGUGGCC
1016	HPV51_5418	GACACCAAGCAUUCUAUUGUUUAAC
1017	HPV51_5393	GCCUUAUGUUCCCCACACUCCAUU
1018	HPV51_5368	UAUUGCCCACAUUCUACAGUAUG
1019	HPV51_5343	CCUAAUCAUACAGGGCCUGAUGUGG
1020	HPV51_5281	CUUCAUCUAUGUCUUCAUCUUAUGC
1021	HPV51_5247	CACUCCUCUUUGUCUAGGCAGUUGC
1022	HPV51_5189	UGAUUUAGAUGAAGCUGAAACAGGU

10

20

30

40

1023	HPV51_5142	CAGCCUUUACUUUCACCUUCUAAUA
1024	HPV51_5117	UGCACCAGCUGAUGAACUUGAAAUG
1025	HPV51_4967	UCUGGAAUAAUAAUACACUGCACCAG
1026	HPV51_4926	ACUUUUGAGGAACCUGAUGCUGUUG
1027	HPV51_4901	UUUUGAGCCUAUUGACACAUCUAUA
1028	HPV51_4825	CCUACACACAGGUUAAGUUACAAA
1029	HPV51_4800	GCUGCUCCCCCGCUUGUAUAGUAAGU
1030	HPV51_4762	CUAUUAGCAGCACACCUACUCCAGG
1031	HPV51_4733	UGCAUCCAUGUCAGUACUGGUACU
1032	HPV51_4676	UUUACUAGUACACUACUCUGGUACU
1033	HPV51_4633	CAUCCAUUGAGGGCUCCACAAUCUGG
1034	HPV51_4578	GGUACUGUACAUGUUUCUAGUACUA
1035	HPV51_4526	UACUUCAUCUUCCACAACAACCCU
1036	HPV51_4483	GGUCUCCUAUACCUACCUUUACUGG
1037	HPV51_4458	GAGGACUCUAGUAUUAUUCAGUCUG
1038	HPV51_4425	CACCAUACUGAACCUUCUUAUAGUAA
1039	HPV51_4400	GCCACCUUUUAUAAUUGACCUAUGG
1040	HPV51_4373	AGGCGUGGUGGAUUAUGCUCUGCA
1041	HPV51_4337	UACUGGAAUUAUCCCUUUAGGUGGU
1042	HPV51_4253	GGCCGAUAAAUAUUAACAGUGGAGU
1043	HPV51_4223	UGUUGUGAAUAAGGUUGAAGGUACU
1044	HPV51_4131	AAUAUGGUGGCCUACACGUGCACGGC
1045	HPV51_4009	UGUUGCAACAUCCCAAUUAACUACA
1046	HPV51_3964	CGUGUUUGCAGCUGCCUUUAUUAUUA
1047	HPV51_3939	UGUUGCCGCUACUGCUGUCCCAAUA
1048	HPV51_3861	GACAUAUUGUAACCAUUGCAGGUU
1049	HPV51_3816	GUACAUUAUACUGUCACAAGCCAA
1050	HPV51_3778	GGGAAUUAUGACACUGUAACUAGUG
1051	HPV51_3714	GUGCACAUCAACGGGAAACAUUUAU
1052	HPV51_3689	GGCAUUGUUACCAUUGUGUUUGACA
1053	HPV51_3552	CAACUCAGACUGCGUUUAUAGUGCA
1054	HPV51_3495	CAAACAACCAAAUACACUGUGGAAG
1055	HPV51_3463	CUCCACAAUCUCCCCACUGUCCGUG
1056	HPV51_3438	GACAGCGACUUACUGAGGGGACUC
1057	HPV51_3413	GAAGCCCAGACACAACAGCGAAAAC
1058	HPV51_3379	GACCAAUCCCCUUACCACCGUGCGUG
1059	HPV51_3354	UUGAACAAACUAUCAAACACCCCCAAC
1060	HPV51_3329	GACGCGUUACCUACAUACACUG
1061	HPV51_3284	GGUACUGUAAAACAUGUCCUGAAU
1062	HPV51_3259	ACAACAGUGGGAGGUCAUAUGUAU
1063	HPV51_3234	AAGAUGAAGCCAAAUAUUAUGGGC
1064	HPV51_3176	GACUAUACGGGUAAUAAUACACUG
1065	HPV51_3151	GUGGGUAAAGACAAUUGGAAAUGUG
1066	HPV51_3102	CAAUGGACUAUACAAGCUGGAAAU
1067	HPV51_3017	GAACUAUGGUGUGUGGUCCCCAAGC
1068	HPV51_2992	AUGGACAAUGCGGGAGACAUGUUAU
1069	HPV51_2967	ACAAACAGACUAUAAACAUGGAACC
1070	HPV51_2942	AUGCACAUUGGCCUUACAAUCGCUUA
1071	HPV51_2914	AAAACAAAAGGCCUGUCAAGCAAUU
1072	HPV51_2889	AGGUAGUACCAGCAACACAGUAUC
1073	HPV51_2864	AGAAACUUACGAACAAUCAUCACC

10

20

30

40

1074	HPV51_2829	GAUAUGAAGCUGCUAUGUUUUUUGC
1075	HPV51_2623	GGGAAUGCUGUGUAUACAUUGAAUG
1076	HPV51_2545	GAGGAUGCAAACCUAAUGUAUUUAC
1077	HPV51_2363	AGCCACUAGAGGAUGCUAAAAUAGC
1078	HPV51_2307	GUUUAUGCAAGGGGUCCAUAUUUCA
1079	HPV51_2280	GUCAUUAUUUGCAAUGAGGCCUAUAG
1080	HPV51_2243	AUUGCAUAGUCAUUAUAGGCCACC
1081	HPV51_2121	UGAUAGAGCAAAGGAUGGAGGCAAC
1082	HPV51_2089	UUAUCUAUGUCAGCCUGGUAAGGU
1083	HPV51_2061	GCAUUACAAACGGAGCACAAAGAAAA
1084	HPV51_2036	UAAAAGAUUGUGGGACCAUGGCACG
1085	HPV51_1927	GACCAUGAAGUAUAGAUGAUAGUG
1086	HPV51_1854	ACGACAAACGCAACUACAACAUAGU
1087	HPV51_1819	AGCAAUACAU AUGGAGAGACACCUG
1088	HPV51_1600	CCAUUUUGCAUGUACUACCAUAUAC
1089	HPV51_1559	UUUCCCCAAUGGUAGCAGAAAAUUU
1090	HPV51_1534	GAUUGGGUUUGUGCAUUGUUUGGCG
1091	HPV51_1489	AAUGAGUUGGUACGGGUGUUAAA
1092	HPV51_1438	GCAAAAGCAACGUUAUAGGCAAAAU
1093	HPV51_1386	CUGUGCAAUGUAGAACUAACAGU
1094	HPV51_1317	UGGCGGUUCACAGAACAGUGUGU
1095	HPV51_1228	AGGAGAUUACUGGACAGUUAUCCGG
1096	HPV51_1203	UCAGGCAAACGAGUCACAAGUUAAA
1097	HPV51_1178	AUCAAAACAACACACAGCCAUAG
1098	HPV51_1130	GAAAGUUUCUAGUCAGCCCCGCGAAG
1099	HPV51_1101	AAACAAAGAGGCUGUGCAUCAGUUA
1100	HPV51_1076	UGUUUCAGGCCAAGAAUACAGGC
1101	HPV51_1047	UCAGGCGAACAGGAGACAGCACGG
1102	HPV51_982	AAAAAUGCAGAUGAUACAGGAUCUG
1103	HPV51_957	AGAUAAAUGUUUCGGAUGAUGAGGAU
1104	HPV51_862	CUAGCAACGGCGAUGGACUGUGAAG
1105	HPV51_832	AAGCCUGGUUUGCCCGUGUUGUGCG
1106	HPV51_800	CGCGUUGUACACGCAGAUGUUAAU
1107	HPV51_770	CUGGCAGUGGAAAGCAGUGGAGACA
1108	HPV51_745	UUGCAGGUGUJCAAGUGUAGUACAA
1109	HPV51_720	CGUGUUACAGAAUUGAAGCUCCGUG
1110	HPV51_686	GACCAGCUACCAGAAAGACGGCUG
1111	HPV51_661	GGAGGAUGAAGUAGAUAAAUGCGU
1112	HPV51_552	AUAAAGCCAUGCGUGGUAAUGUACC
1113	HPV51_503	GCGCUAAUUGCUGGCAACGUACACG
1114	HPV51_418	AGACCACUUGGGCCUGAAGAAAAGC
1115	HPV51_348	UGGUACUACAUUAGAGGGCAAUUACU
1116	HPV51_323	AUAGACGUUAUAGCAGGUCUGUGUA
1117	HPV51_209	GUAGAGCAGAUGUAUAAAUGUAGC
1118	HPV51_160	UCUAUGCACAAUUAACAGGUAGUGU
1119	HPV51_103	GAAGACAAGAGGGAAAGACCACGAA
1120	HPV51_75	GGUAAAAGUAUAGAAGAACACCAUG

【 0 0 9 3 】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:1121～1252からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 52への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表9を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 52への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:1121～1252からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:1121～1252を含む、HPV 52への特異的ハイブリダイゼー

10

20

30

40

50

ションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【 0 0 9 4 】

(表9) HPV 52核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
1121	HPV52_7871	UGUUACUCACCAGGUGUGCACUACA
1122	HPV52_7837	CGCCAAUAUGUCUUGUAAAACAUG
1123	HPV52_7812	UGUUGGCUUACACAAGUACAUCCUA
1124	HPV52_7732	CAAUACAUUGCCUAACAUUGCAUGU
1125	HPV52_7701	GCUGACUCACAGGUCCUGCAGUGCA
1126	HPV52_7676	GUUGUCCGCCUAAACUGACUUCUU
1127	HPV52_7651	UCCUGGAGUCCACUGGUCUACACUU
1128	HPV52_7540	CCAUUUAAAUCCUAACCGAAUUCG
1129	HPV52_7509	CUCUCCAUUUUGUACCAUUUUGUAC
1130	HPV52_7473	GUGUCCUACUUUUGUUACACUACUAA
1131	HPV52_7448	UACCCUGUGUCCCCUGCCCUACCCU
1132	HPV52_7421	GCUCCUAUCUAUUGCAUCUCCUGC
1133	HPV52_7396	CACCCACAUAGAGUAACAAUACAGUU
1134	HPV52_7307	CAGUUCCUGUAUGUAUGUUUUGUGU
1135	HPV52_7266	UUUGCAUGUAUGUAUGUGUGUGCA
1136	HPV52_7241	AUUGUUUUGUGUGUGUACUGUGUUG
1137	HPV52_7200	UGUCAAACACAGGUAAAAGGUAC
1138	HPV52_7168	GGUAAUUGUCUGUGUCAUGUAUGUG
1139	HPV52_7143	GUUAAAAGGUACCAUUGUCUGUUG
1140	HPV52_7112	GGCCCCACGUACCUCCACAAAGAAG
1141	HPV52_7087	CCAAACUAAAACGCCUGCAUCAUC
1142	HPV52_7062	UUACAGGCAGGGCUACAGGUAGGC
1143	HPV52_6977	AAAGGACUAUAUGUUUUGGGAGGUG
1144	HPV52_6949	CACCAACUAAAGGAAAGGAAGAUCC
1145	HPV52_6915	GUCACUUCUACUGCUUAACUUGUC
1146	HPV52_6880	CACCGUCUGCAUCUUUGGAGGACAC
1147	HPV52_6828	CAUAAGAUGGAUGGCCACUAUUUUAG
1148	HPV52_6484	AAGGGUCUAACUCUGGCAAUCUGC
1149	HPV52_6459	CCUGUGCCAGGUGAUUUUAUAUAC
1150	HPV52_6368	CGAGCCAUAUGGUGACAGUUUUGUUC
1151	HPV52_6326	UAGCAGUGUAUGUAAGUAUCCAGAU
1152	HPV52_6275	GGAUUUUAACCUUGCAAGCUAGU
1153	HPV52_6216	CAGCUCAUUAACAGUGUAAUACAGG
1154	HPV52_6058	CUGGUAAAACCUGGUAUAGAUAAUAG
1155	HPV52_6026	GUUUGAUGAUACUGAAACCAGUAAC
1156	HPV52_5540	GCUCCAUCUACAUCAUUUAUUGUUG

10

20

30

1157	HPV52_5515	UCCUUUUGUUCCUAUAGCCCCUACA
1158	HPV52_5490	CAUUACCUUCGUUACCCACACAUAC
1159	HPV52_5460	CUAUGUCCAUUGAGUCAGGUCCUGA
1160	HPV52_5435	GGUAUUGACUUUGUAUAUCAACCCA
1161	HPV52_5385	CUUCCACACUUUCUACCCAUAUAA
1162	HPV52_5360	UUGCAGCAACCCACGUUUCACUUAC
1163	HPV52_5314	CCCUUACACUUAUAAAUGAUGGUUG
1164	HPV52_5289	AACCUUUAUACCACAGUCUGUGUC
1165	HPV52_5264	GAAGUUCAGGAAGACAUAGAAUUGC
1166	HPV52_5239	UGAUAUUAGUCCUAUCCAGCCUGCU
1167	HPV52_5076	AACUUUACCUGCACCGGAUCCUGA
1168	HPV52_5036	GGCGUUGAUACAGAUGAACUUA
1169	HPV52_4990	GUCAUCACCACAGAAAAUAGUAACA
1170	HPV52_4933	CCUUGGUUUUAUAGCCGUGCCACA
1171	HPV52_4884	GCAGUGUAACAAGUAGUACACCUAU
1172	HPV52_4859	ACAUUUGUUACCUCUACUGACAGCA
1173	HPV52_4821	CUAUUAGUACACACACCACUGAAGA
1174	HPV52_4796	GGUCAUGUAUUGUUUCUAGUCCAA
1175	HPV52_4742	CCUACAUUCACUGAACCUAUAA
1176	HPV52_4710	CAUCUGUACAAUCAGUUUCUACACA
1177	HPV52_4655	ACAACAUUCUGCAAAUAAUACUCCUG
1178	HPV52_4628	AUUCCAUCAGCAACAGGGUUUGAUG
1179	HPV52_4593	CAACAUUUAUUGAGUCUGGCGCACC
1180	HPV52_4556	CCCUUAGAACCAUCUAUAGUUUCUA
1181	HPV52_4504	UAGUAUUACCACGUCCACCAUUCGU
1182	HPV52_4479	CAUUGUCCACUCGUCCCACUAG
1183	HPV52_4452	GCUCUGGUGGUAGGGCAGGCUAUGU
1184	HPV52_4424	GGAGGUUUGGGUAUAGGUACAGGUG
1185	HPV52_4392	UUUUAAAAUAUGGCAGCCUAGGGGU
1186	HPV52_4250	UAGCUUGUCGCAAUGAGAUACAGAC
1187	HPV52_4157	AUAACUGUACAUGUAGAUUGGUAC
1188	HPV52_4114	UGUUUUGUAUUCACUGUCAUGCACA
1189	HPV52_4055	AUCUAUUGGGUACCCAUUUAAGUG
1190	HPV52_4017	UAUGCGCAGGUGUUGGUGUCUGGUGC
1191	HPV52_3982	CAGUGCUUAGGCCCGCUCUJGCUAUC
1192	HPV52_3887	AACACCCAACACAAGCCAUAUUGC
1193	HPV52_3832	GGUGUCAUGUCAUUGUGAUUUUGU
1194	HPV52_3762	CAGUGAUGAACACAACGUCAACAA
1195	HPV52_3681	GUAUGUCAAAUUUCAUCUACCUGG
1196	HPV52_3593	CAACUUGUACUGCACCUUAUUAACA
1197	HPV52_3541	CGGGGACUCGUACUGAACUGAGU
1198	HPV52_3509	UGCGGGACAACAAUCCGUGGACAG
1199	HPV52_3484	AACACCAAGUACCCCAACAACCUUU
1200	HPV52_3437	UACAACCACACAGAAACGACGACG
1201	HPV52_3406	GCAGUGUCCGUUGGUGGCCAAAGACA
1202	HPV52_3381	AUGCACCGAAACCUCCAAGACCUC
1203	HPV52_3208	GGGUUAUUAUUGGUGUGAUGGAG
1204	HPV52_3176	GUACAAUUGUAGAAGGACAAGUAGA
1205	HPV52_3125	CUAUGGAAUACAAACUGUGCAAAGGA
1206	HPV52_3081	UGGGUAUACAAUACAGUGCAAUAC
1207	HPV52_3036	UCUAGAAAUGUGGCGUGCAGAACCA

10

20

30

40

1208	HPV52_3009	AGAUGGAUGGACAUUACAACAAACA
1209	HPV52_2975	CAUUGGAGGCAUUAACAAAACACA
1210	HPV52_2887	CUGGGAAUAACUCAUAUAGGCCACC
1211	HPV52_2847	GACUCGAAUGGAAUGUGUUUUGUUU
1212	HPV52_2815	GACCUAACGACAAAUUGAACAUU
1213	HPV52_2788	CUAGAUCUAUACGAAGCUGAUAGUA
1214	HPV52_2578	GGCCAUUUACAUAGUAGAUUGGU
1215	HPV52_2548	CAAAUACAAUUGCAGGAACAGAUCC
1216	HPV52_2403	GUGGGUAUGAUAGAUGAUGUAACAC
1217	HPV52_2327	GUUCUUAAGUGGAUGUGUAAUUAUCC
1218	HPV52_2143	AUAGAAUAGAUGAUGGUGGAGAUUG
1219	HPV52_1909	GCAUAAUCGAUUUUGGAGAAAUGGU
1220	HPV52_1822	CAGGUUUGUCUAAUUAUAGUGAGGU
1221	HPV52_1789	GAAGUGCUACCUGUGCAUUUAUUG
1222	HPV52_1753	CAGAACACAAUAGGUAAUAGAACCC
1223	HPV52_1723	CCAAACUAAUGUCACAGCUGUAAA
1224	HPV52_1670	GCUUUAUACUGCUGCUAAUAGGUUU
1225	HPV52_1585	CAUCAGUUGCAGAAGGAAUAAAAGU
1226	HPV52_1560	UGUAUUUAAGGAAUGGGAGUAACAC
1227	HPV52_1387	GUAUAGAGGACAAUGAGGAAAAUAG
1228	HPV52_1330	GUAACAGUAGUCAAUCAAGUGGGGU
1229	HPV52_1237	CAUGUCACGUAGAAGACAGCGGCJA
1230	HPV52_1207	AUACAGAGUGUGUUUACCAAAACG
1231	HPV52_1143	GAAAGUGCUGGGCAAGAUGGUGUAG
1232	HPV52_1099	UACAUUGCUGUGUCUGCAGUAAAACG
1233	HPV52_1035	AAUGAACAGGCAGAACAUAGAGGCAG
1234	HPV52_981	GCAUAUGAUAGUGGAACAGAACUAA
1235	HPV52_899	GGGAUGUACAGGCUGGUUUGAAGUA
1236	HPV52_853	ACAACCCUGCAAUGGAGGACCCUGA
1237	HPV52_781	GACCUUCGUACUCUACAGCAAUGC
1238	HPV52_746	GCACACUACGGCUAUGCACAUUCAUAG
1239	HPV52_590	UAGAUCUGCAACCUGAAACACUGA
1240	HPV52_557	GUGGAGACAAAGCAACUAUAAAAGA
1241	HPV52_532	CUGUGACCCAAGUGUAACGUCAUGC
1242	HPV52_483	AUUAUGGGUCGUUGGACAGGGCGCU
1243	HPV52_453	CAUGUUUAUGCAAACAAAGCGAUUUC
1244	HPV52_417	UGUCAAACGCCAUUAUGUCCUGAAG
1245	HPV52_352	AUGGGAAAACAUUAGAAGAGAGGGU
1246	HPV52_280	AUGGCGUGUGUAAAUGUGCCUACG
1247	HPV52_216	CGAAGAGAGGUUACAAGUUUCUAU
1248	HPV52_170	GCAUGAAAUAAGGCUGCAGUGUGUG
1249	HPV52_145	UGUGUGAGGUGCUGGAAGAACCGGU
1250	HPV52_120	ACACGACCCC GGACCCUGCACGAAU
1251	HPV52_95	CACGGCCAUGUUUGAGGAUCCAGCA
1252	HPV52_70	UAUAUAGAACACAGUGUAGCUAACG

【 0 0 9 5 】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:1253～1367からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 56への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表10を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 56への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:1253～1367からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:1253～1367を含む、HPV 56への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【 0 0 9 6 】

10

20

30

40

50

(表10) HPV 56核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
1253	HPV56_7754	GUCAGUAUCUGUUUUGCAAACAUGU
1254	HPV56_7729	AAUACACUAUGUAGGCCAAGUAUCU
1255	HPV56_7697	UGUGUCUGCAACUUUGGUGUUUUGG
1256	HPV56_7605	GUACCGCACCCUGUAUUACUCACAG
1257	HPV56_7532	GGCCCUUUUCAGCAGAACAGUUAU
1258	HPV56_7506	GCCUAGUGCCAUAUAAAACCAAA
1259	HPV56_7431	CAUUUUGUACAUUGCAACCGAAUUCG
1260	HPV56_7366	GUGUACUAUGUGUAUUGUGCAUACA
1261	HPV56_7322	GUGUGUCAUUAUUGUGGGCUUUUGUU
1262	HPV56_7271	GUCUGUAAUAAACAUGAAUGAGUGC
1263	HPV56_7111	UUUGUGUAACUGUGUUUGUGUUG
1264	HPV56_7083	GUAAAAGGCGGUAGUGUGUUGUUGU
1265	HPV56_7058	ACCUCCACCUCUACACCAGCAAAAC
1266	HPV56_7015	GUCAAAGCCUGCUGUAGCUACCUCU
1267	HPV56_6872	UGUCAACGGGAACAGCCACCAACAG
1268	HPV56_6823	CACCAGCCUAGAAGAUAAAUAUAGA
1269	HPV56_6767	AAUAUGAAUGCUAACCUCUGGAGG
1270	HPV56_6727	CAAAAUUACUUUGUCUGCAGAGGUU
1271	HPV56_6612	CUAACAUAGACAUUAGUACUGCUAC
1272	HPV56_6489	UGAUUACGUCUGAGGCACAGUUUU
1273	HPV56_6421	UUUAAAGGGUAGCAAUGGUAGAGAA
1274	HPV56_6393	UUGGGGAAACAAUACCUCUGCAGAGUU
1275	HPV56_6253	ACCUUUAGACAUUGUACAAUCCACC
1276	HPV56_6212	GCUAUGGACUUUAAGGUGUUGCAGG
1277	HPV56_6151	GCCUCUUGCAUUAUAAUACACCU
1278	HPV56_6119	AAGUCCACACAAGUUACCACAGGGG
1279	HPV56_6094	ACAUUGGACUAAGGUGGCUGUGUGU
1280	HPV56_6031	UAUAUCAGUUGAUGGCAAGCAAACA
1281	HPV56_5860	UAUUUAUAAUCCGGACCAGGAACGG
1282	HPV56_5776	CAUUCCAAAGUUAGUGCAUAUCAA
1283	HPV56_5750	GUGACUAAGGACAUAACCAAAACAA
1284	HPV56_5524	UCCUCUUGCAUUAUGGCCUGUGU
1285	HPV56_5471	CCUUUGUUCUCAGUCUCCUUAUGA
1286	HPV56_5419	CCAUUUUAUCAGGUCCUGACAUAG
1287	HPV56_5394	CCCUUUAGGUAAUGUGUGGGAAACA
1288	HPV56_5369	CUAGUAACACCACUAAUGUAACUGC
1289	HPV56_5334	ACACUUACCUUAAGGCCUUCACACA

10

20

30

1290	HPV56_5306	CUAGCCAGUCAGUUGCUACACCUUC
1291	HPV56_5131	ACUAUACAAACACGUAGAGGGCACAC
1292	HPV56_4953	ACCUGCAACAUUAGUAUCUGCUGAU
1293	HPV56_4885	GCAGCUCCUAGAUUAUAUAGAAAAG
1294	HPV56_4818	AUUUGCUGUUUCACGGUUCUGGUACA
1295	HPV56_4754	GCAAUAUAAAUAUAGCACACCCCAC
1296	HPV56_4682	GUACCCAUAUAACCAAUCGUUAUU
1297	HPV56_4657	ACCUCUAGUACUGUACAUGUCAGUA
1298	HPV56_4572	AGGGAUUCCUAUUUACUGGGUCU
1299	HPV56_4546	GAGUCCAGUGUUUAAGAAUCUGGUG
1300	HPV56_4474	ACUCGGCGCGACCACCUAUUGUUG
1301	HPV56_4429	GGCUAUGUUCUCAUUGGGUCUAGGC
1302	HPV56_4206	UAGUACUGUUACUACUAUGGUUGCC
1303	HPV56_4150	CUGUGCUGGUUAUAAAUCAGGC
1304	HPV56_4082	GUUUUUGGUUUGUUUAUAGGCCACAUCC
1305	HPV56_4045	CCUCUGGUUUUCCAGUUGUAUAAU
1306	HPV56_4018	GUCAUGUUGUCCCGCUUUUGCUAUC
1307	HPV56_3993	UGCUUUUGUGUUUGUUUGCUUGUGU
1308	HPV56_3937	UGCACGCAUAUAUUAUGCAACCAU
1309	HPV56_3912	GUGAAGUGUACCUGCCAUACAUUGC
1310	HPV56_3844	CAAAUGAGUUUCCAUAAAGUGCUG
1311	HPV56_3819	CAGUAGUGUACAGGUUAGUUUGGG
1312	HPV56_3717	CAUAUCAUUGGACAAGUACAGACAA
1313	HPV56_3571	CAGUAGAAGUAGAAGUAUCAACAAAC
1314	HPV56_3546	ACAUCAGCGACACAGACAAUACCGA
1315	HPV56_3488	GAAUCAGAAUUGACUCCUCCAGAG
1316	HPV56_3463	ACCAGGAAACGACCCAGACUACGG
1317	HPV56_3438	ACCAAGACGCCAGUAUCCCCACAG
1318	HPV56_3390	AAUACAACACCCACAAGACCACCAC
1319	HPV56_3247	CUACACAGACUUUGAACAAGAGGCC
1320	HPV56_3197	GGGGUAGACUAUAGAGGUUAUAAU
1321	HPV56_3129	GUAUGCAUAUAGUAGGCCUGGAAUA
1322	HPV56_3024	CAUUAAGAGACACAUGCGAGGAACU
1323	HPV56_2978	GCACUGGAAUCAUUAAGUACAACAA
1324	HPV56_2896	CAUUACUGUACUAAACCACCAUG
1325	HPV56_2738	AGAAAACAAUGGAGACGCUUCCCCA
1326	HPV56_2683	AAUGUUUCUUUACAAGGACGUGGUC
1327	HPV56_2562	CCUAUGCUAGAUGCACAAUACGAU
1328	HPV56_2530	GUCCACCAUUACUAAUACAACCAA
1329	HPV56_2398	AUGCUAAACUUGGGUUGUUGGAUGA
1330	HPV56_2269	GUUUGGUACUUUGUGGACCGCCAAA
1331	HPV56_2124	CAGUGGAUAAAGCACAU AUGUAGUA
1332	HPV56_1957	AAGUAACAGAUGAUAGCCAAUUGC
1333	HPV56_1896	CACAGUUUACAGGAUAGUCAUUUG
1334	HPV56_1837	AUAUUAGUGAUGUGUAUGGAGACAC
1335	HPV56_1756	CACAGGAGCAAUGUUAAUCAACC
1336	HPV56_1436	GCAGGACUUGUUAAAAGUAGCAAU
1337	HPV56_1411	ACAAUGAACGCCAACACAACAAU
1338	HPV56_1377	GAGGACUCUGUAAUACAU AUGGAU
1339	HPV56_1346	CUCACAAAACAGUACCUAUAGUAAC
1340	HPV56_1321	GGUGCGGGAAUACACAAAUGGAGG

10

20

30

40

1341	HPV56_1296	GUAGAUGAAGAGGUACAGGGACGUG
1342	HPV56_1265	UACAUUGGAAACUCUGGAAACACCA
1343	HPV56_1231	UUUUUAUCAGACCUACAAGACAGCGG
1344	HPV56_1170	CCAUUAAGGGAUUAUAGUAAUCAGC
1345	HPV56_1108	UACAAACAGCACAUGCAGAUAAAACA
1346	HPV56_1078	GACGCAGAAACAGUCAACAAUUGUU
1347	HPV56_993	AGAUGAUGAAAGUGACGAGGAGGAU
1348	HPV56_943	UGGUUUGAAGUAGAGGCAAUUGUAG
1349	HPV56_874	CGCAUCAAGUAACUAACUGCAAUUGG
1350	HPV56_807	CCAAAGAGGAGCUCGCGUGUUGUACA
1351	HPV56_778	GUUUGUGGUGGCAGUUGGACAUUCAG
1352	HPV56_751	AAUACACGUACCUUGUUGUGAGUGU
1353	HPV56_722	AGACAAGCUAAACAACAUACGUGUU
1354	HPV56_619	ACCUAAACAGAAAUGACCUACAG
1355	HPV56_594	UGCAAGACGUUGUUAUAGAACUAAC
1356	HPV56_529	GGAGACAAACACUAGAGAACCUAG
1357	HPV56_504	UGGACCGGGUCAUGUUUGGGUGCU
1358	HPV56_479	ACGAUUUCAUCUAAUAGCACAUGGU
1359	HPV56_423	AGAUGUCAAAGUCCGUUAACUCCGG
1360	HPV56_362	UGGAGCUACACUAGAAAGUUAACU
1361	HPV56_292	CAGUGUGCAGAGUAUGUUUAUUGUU
1362	HPV56_267	GUGUAUAGGGAUAGAUUUUCCUUAUG
1363	HPV56_222	ACACGUGCUGAGGUUAUAAUAAAUG
1364	HPV56_150	CACUUGAGUGAGGUUUAGAAAAC
1365	HPV56_115	UCAACAAUCCCACAGAACGUCCACG
1366	HPV56_77	CAGCUUAUUCUGUGUGGACAUAUCC
1367	HPV56_15	UACUUUUUAUAAUUGGGAGUGACCG

10

20

30

40

【0097】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:1368～1497からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 58への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表11を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 58への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:1368～1497からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:1368～1497を含む、HPV 58への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【0098】

(表11) HPV 58核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
1368	HPV58_7715	GUUUGUUAUGCCAAACUAUGUCUUG
1369	HPV58_7678	CUUUCAAUGCUUAGUGUGCAGUUUUG
1370	HPV58_7596	UCAUAUAUACAUGCAGUGCAGUUGC
1371	HPV58_7571	UUUUGCCUAUACUUGCAUAUGUGAC

1372	HPV58_7546	UUAAUCCUUUCCUUCUGCACUGC
1373	HPV58_7472	CAUUUUGUGCAUGUAACCGAUUUCG
1374	HPV58_7444	CAGUACUGCCUCCAUUUACUUUAC
1375	HPV58_7384	CUGCCUAAAUGCAUACCUAUGUAA
1376	HPV58_7359	UGUCCUAAAUGCCCACCCUGCC
1377	HPV58_7334	UUGGGUGUAUCUAUGAGUAAGGUGC
1378	HPV58_7266	CUUGUCAGUUUCCUGUUUCUGUAUA
1379	HPV58_7232	GUUAUGUGUCAUGUUUGUGUACAUG
1380	HPV58_7097	UACCCGUGCACCAUCCACCAAACGC
1381	HPV58_7070	GCCCAGACUAAAAGUUCGGCCCCU
1382	HPV58_6784	CACUAACUGCAGAGAUAAUGACAU
1383	HPV58_6722	GGAAUAUGUACGUCAUGUUGAAGAA
1384	HPV58_6676	GCACUGAAGUAACUAAGGAAGGUAC
1385	HPV58_6625	AGUUUUUGUUACCGUGGUUGAUAC
1386	HPV58_6533	CUCUUAUAGUUACCUUCAGAAUCACAA
1387	HPV58_6488	UACUGCAGUUAUCCAAAGUAGUGCA
1388	HPV58_6453	GUCCCCGAUGACCUUUAUUAAG
1389	HPV58_6428	UAGGGCUGGAAAACUUGGCGAGGCU
1390	HPV58_6395	ACGUGAGCAGAUGUUUUGUUAGACAC
1391	HPV58_6177	AAUGCAGCUGCUACUGAUUUGUCCUC
1392	HPV58_6055	CACAGCCAGGGUCUGAUACAGGGA
1393	HPV58_6030	ACUGAAACCAGUAACAGAUAUCCCCG
1394	HPV58_5840	AUCAGGCUUACAGUAUAGGGUCUUU
1395	HPV58_5590	UAGCUAUUUUAUUUUGCGUCGCAGA
1396	HPV58_5562	UGGAUGGUGUCUGAUUUUAUGUUGCA
1397	HPV58_5532	CUCCACUAACUCCUUUUAAUACCAU
1398	HPV58_5502	CAUCUAUGUCUAGUCCAUUUAUUCC
1399	HPV58_5477	GGUCCAGACAUUGCAUCUUCUGUAA
1400	HPV58_5452	CACUCUCUUGUGUCAUUGGAACCU
1401	HPV58_5423	GUGUCCAUACCAUAAAACUGGAU
1402	HPV58_5398	CUUUGCCACCACGUACCAGUAU
1403	HPV58_5373	AGAGGUCCUCUGCACUCACAUACGUC
1404	HPV58_5345	GACGAUGCUGAUACUAUACAUGAUU
1405	HPV58_5304	CUCCCACAUAGUAUAAAUGAUGGACU
1406	HPV58_5258	CAACAGCAGCAACAUUUGAAUJAC
1407	HPV58_5225	UUAAGUCCCAUACAGCCUGUCCAGG
1408	HPV58_5200	GGCUAAAAGUACAUUACUACCAAGAC
1409	HPV58_5161	AAAGGCCACACUUCGUACUCGCAGU
1410	HPV58_5050	ACAUAGUGACAUACGCCUGCUCCU
1411	HPV58_5025	ACCCUGAGGACACAUUGCAGUUUCA
1412	HPV58_4977	CUCCUCAUAGACUUGUAACAUauga
1413	HPV58_4929	GUCGCAACACCCAACAAGUUAAGGU
1414	HPV58_4867	CAAUGUCACGUAGCACACCCAUU
1415	HPV58_4842	CCUUUGUUAUUUUCUACUGACAGUGG
1416	HPV58_4809	GCACACAUAGUUAUGAAAACAUACC
1417	HPV58_4776	CUGGACAUUUAUAAAUCUCCUCUCC
1418	HPV58_4741	AUCCGUACUCCGCCUCCUGCACC
1419	HPV58_4716	AUUUAAAUCCCUCCUUACUGAGGCC
1420	HPV58_4658	CCUGCAAUACUUAUGUUUCCUCUA
1421	HPV58_4633	UAUUACCACCUUCUGCAGAUACUACA
1422	HPV58_4608	CAAUUCCCACUCCACUUCUGGUUUUGA

10

20

30

40

1423	HPV58_4583	AUAGACGCCGGUGCACCAGCCCCAU
1424	HPV58_4470	GUACCCCACCGUCUGAGGCUAUACC
1425	HPV58_4375	AUUACGGAUAGGUAGCUUAGGGGUG
1426	HPV58_4278	CAUCUGCUACACAACUUUACCAAAC
1427	HPV58_4139	CACAUGGUGGUAGGUAUUGUAAAUAU
1428	HPV58_4114	CAAGACUAACUGUAUACUGGUUCUG
1429	HPV58_4015	GUGUCUGUGGGUCGGCUCUACGAA
1430	HPV58_3990	GCUGGGUGUUGGUGUUGCUGCUUUGG
1431	HPV58_3954	GCCAUUGGUGCUAUCUAUUCUAUA
1432	HPV58_3845	ACUGUAUGUAACCACAAGCCAAUA
1433	HPV58_3799	GCAAAUAAGUACUGGUGUUAUGUCA
1434	HPV58_3737	ACAUACACAACGGAAACACAACGAC
1435	HPV58_3711	GUGACAAAGUAGGAAUUGUUACUGU
1436	HPV58_3579	CUAAAGUUUCACCUAUCCUGUGCAUUU
1437	HPV58_3544	UAACUGUACAUACAAAGGGCGGAAC
1438	HPV58_3487	GUAUACAGACUGCGCCGUGGACAGU
1439	HPV58_3462	GAGACAACACCCAGUACUCCACAAA
1440	HPV58_3437	CGACGACUCGAUUUACCAGACUCCA
1441	HPV58_3412	CGAAAGUACACAGGGACAAAGCGA
1442	HPV58_3350	CCUAGUGAUCAAAUAUCCACUACUG
1443	HPV58_3288	CUAAAACACAAUUAUGGGAGGUACA
1444	HPV58_3209	GACUAUGUGGGGUUGUAUUAUUAUAC
1445	HPV58_3184	AUGUACUUUGGUAGCAGGAGAAGUU
1446	HPV58_3116	GACAAUGAUAAAGCAAACACAAUGG
1447	HPV58_3046	CUUAGAACUGGGGUUAUCAGAGCCA
1448	HPV58_2985	CAUUAGAGACAUUAAAUGCAUCACC
1449	HPV58_2943	CAUCAAGACUAAAGCGUUUCAAGU
1450	HPV58_2898	UGGGAAUUAUCACAUUUGUGGCCACCA
1451	HPV58_2873	GCUUAUAUGUAUACAGCCAGACAAA
1452	HPV58_2842	UGAACAUUGGAAACUAAUACGCAUG
1453	HPV58_2794	AAUCCUAGACAUUAACGAAGCUGAU
1454	HPV58_2717	AAUUAGGCUUAAUAGAGGAAGAGGA
1455	HPV58_2598	GCACAGUAGACUAACAGUAAUUGAA
1456	HPV58_2573	GCAAAGAUUCACGAUGGCCAUUUU
1457	HPV58_2516	GGGCAUUAGUACAAUAAAUGUCC
1458	HPV58_2482	GAUGGUAACGACAUUCAAUAGAUG
1459	HPV58_2404	GAUGCACAUACAGGUAGAUAGAUG
1460	HPV58_2278	AUGUUACUGUGUGGCCAGCAAAUA
1461	HPV58_2109	AAAGCGUGGUAGACAAUGGGACAA
1462	HPV58_1885	AGAUUAACAGUGUUACAGCAUAGCU
1463	HPV58_1852	GAUGUGCAAGGGACAACACCAGAAU
1464	HPV58_1800	AAGUCAAGCAUGUGCCUUUAUUGG
1465	HPV58_1770	AUGUAUGAUUAUCGAGCCACCAAA
1466	HPV58_1643	AUACACACCUACAAUGUUUAACGUG
1467	HPV58_1590	AAGUCCCUCCGUAGCAGAAAGUUUA
1468	HPV58_1565	AUUGGUGUUAACAGGGUAUGGAU
1469	HPV58_1498	GAAGCUUAUGGAGUAAGUUUUUAGG
1470	HPV58_1456	CAUAACAGUAUACUAAAGCAACGC
1471	HPV58_1402	ACGGAUGUAGACAGUUGUAAUACUG
1472	HPV58_1349	UAAAUGACUCGGAGUCUAGUGGGGU
1473	HPV58_1313	CACACCAGGUAGAAAGCCAAAUGG

10

20

30

40

1474	HPV58_1196	CAAAUGUGUGUGUAUCGUGGAAUA
1475	HPV58_1108	GUGGACGAUAAAUGCUGUGUG
1476	HPV58_1083	AGCGUUGUUAAUGUACAGGAAGGG
1477	HPV58_1005	CGAUAGUGGUACAGAUUUAAUAGAG
1478	HPV58_958	CGAAGAACAGGAGAUAAAUCAG
1479	HPV58_933	GUUUGAGGUAGAAGCGGUAAUAGAA
1480	HPV58_837	UACCAUUGUGGCCUAGCUGUGCA
1481	HPV58_799	GACGUACGAACCUACAGCAGCUGC
1482	HPV58_774	UUUGUGUAUCAACAGUACAACAACC
1483	HPV58_749	GUUACACUUGUGGCACCACGGUUCG
1484	HPV58_719	CCACAGCUAAUUAUACAUUGUAAC
1485	HPV58_667	UCAGACGAGGAUGAAAAGGCUUGG
1486	HPV58_620	AUCCUGAACCAACUGACCUAUUCUG
1487	HPV58_585	CAACCCAACGCUAAGAGAAUUAU
1488	HPV58_560	CCUGUAACAAAGCCAUGAGAGGAAA
1489	HPV58_533	CCCCGACGUAGACAAACACAAGUGU
1490	HPV58_481	GUUUCAUAAUAAUUCGGGUCGUUGG
1491	HPV58_360	AUGGAGACACAUUAGAACAAACACU
1492	HPV58_302	GUGUGCACAUUGCUAUCUAAAA
1493	HPV58_261	GAAUAGUGUAUAGAGAUGGAAUCC
1494	HPV58_184	AAUCGAAUUGAAAUGCGUUGAAUGC
1495	HPV58_159	AGGCGUUGGAGACAUCUGUGCAUGA
1496	HPV58_134	CCACGGACAUUGCAUGAUUUGUGUC
1497	HPV58_104	AGGACUAUGUUCCAGGACGCAGAGG

10

20

30

40

【0099】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:1498～1646からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 59への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表12を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 59への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:1498～1646からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:1498～1646を含む、HPV 59への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【0100】

(表12) HPV 59核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
1498	HPV59_7826	CAAGUAC AUGCACACUUUCUACUUA
1499	HPV59_7735	ACUACUGUGCAAUCCAAGAAUGUGU
1500	HPV59_7657	CGCCCUUGUUAAAACAGCUUUU
1501	HPV59_7632	AACAAUACUUGCAUAACUUUGGUGG
1502	HPV59_7592	ACGCCAAAUAGUUAGUCAUCAUCCU
1503	HPV59_7567	CCUAGACUACUAACACAACUUACAA
1504	HPV59_7542	UCCCCAUCUUGUUUCCUCCUACACG

1505	HPV59_7474	UCGGUUACCUUGGUUUAACCUUACC
1506	HPV59_7429	GUCCAUUUUAUCCUUAAAUCCUCC
1507	HPV59_7392	CCUGAAUGUCCAGUUUUGCAUUUGC
1508	HPV59_7367	AGGUGUGUUUGUUCCUUCAUUUGU
1509	HPV59_7340	CAUUAUUACACAUUGCCUACUUAC
1510	HPV59_7309	GUCCCCUUAUUGUUUCUUUGUCCUU
1511	HPV59_7218	GUUUGUCUGCUGUAUGUGUGUAUUU
1512	HPV59_7152	GUAUGUGUGCAUGUUGUAUGUUUUG
1513	HPV59_7117	GUCUUCCAGAAAAGUGUUGUUUG
1514	HPV59_7086	CCCCAUCACCAAAACGUGUUAAGCG
1515	HPV59_7027	AGCUAGACCUAAGCCCACUAUAGGC
1516	HPV59_6965	GAAAGGUUUUCUGCAGAUCUUGAUC
1517	HPV59_6940	AAAGUUUUGGCCUGUAGAUCUUAAAG
1518	HPV59_6915	UUAAAACAGGACCCUUAUGACAAACU
1519	HPV59_6877	UGCUGCUGUAACUUGUCAAAAGGAC
1520	HPV59_6852	UUGACACAUACCGUUUUGUCAAUC
1521	HPV59_6688	UAAAGAAUAUGCCAGACAUGUGGAG
1522	HPV59_6663	CUAAUGUAUACACACCUACCAGUUU
1523	HPV59_6638	UGUGCUUCUACUACUUCUUCUAUUC
1524	HPV59_6463	AGGCAGUUUUUAUUAUUCCCCCUUCC
1525	HPV59_6408	GUGAUCAACUUCUGAAUCACUAUA
1526	HPV59_6248	GAUAAACAAAGUGAAGUACCAUUGG
1527	HPV59_6223	GGCUAUGGACUUUAAAUGUUGCAG
1528	HPV59_6136	UACUACUGUGGUUCAGGGCGAUUGU
1529	HPV59_6020	GAUACCAAAGAUACACGUGAUAAUG
1530	HPV59_5991	CUGAAAACUCUCAUGUAGCAUCUGC
1531	HPV59_5912	GUAGGUGUUGAAAUCGGUCGGGCC
1532	HPV59_5882	CCUACACUCAACGCUUGGUCUGGG
1533	HPV59_5857	CCUUCCAGAUAAACACAGUAUAUGAU
1534	HPV59_5798	GUGUCUGCAUAUCAAUACAGAGUAU
1535	HPV59_5765	AAAGGGUGGUAAUGGUAGACAGGAUG
1536	HPV59_5701	UAUUUUCUACCAACCGCAGGCAGUUCC
1537	HPV59_5676	CUGAUGAGUAUGUCACCCGUACCAG
1538	HPV59_5642	CUACCUCCACCUUCGGUAGCUAAGG
1539	HPV59_5498	CCUUUJACCAACAGUCUAUJAA
1540	HPV59_5473	GUUGAACCCACUUUUUCUACUACAC
1541	HPV59_5441	GACCCGAUUAUGUUUUACCUAAUAC
1542	HPV59_5416	GCCUGGGGAUGUUCCUGUAAAACAG
1543	HPV59_5382	CACCUUUUCAAUGUAACUGUUCCU
1544	HPV59_5357	UGUCAUUAACACGGUCGGCAUCUAG
1545	HPV59_5315	CCAACACUGCAUUACAAUCCUAA
1546	HPV59_5290	ACAGAUGAAGCACCUACUAGUACUG
1547	HPV59_5250	GGCUGCUACUGAUGAUUAUAUGAU
1548	HPV59_5225	AAUUGCAACCACUUCUGUUUCUCCCA
1549	HPV59_5200	CCUAUACCACACUGCUGAAGAUAUUG
1550	HPV59_5088	AACAUCCAGACGCAGCACUGUAAGG
1551	HPV59_5046	CCCGGACUUUAUGGAUAUAGUUCGU
1552	HPV59_5013	AUUAACUUUUGACCCCUCAUCAGAG
1553	HPV59_4988	CUGCUUAUGAUCCAAUUGAUACUAC
1554	HPV59_4958	GUCCAUCACACAUUUGUUACAUAGA
1555	HPV59_4923	ACAAGUUCGGUGUCUAACGCUGAC

10

20

30

40

1556	HPV59_4896	ACCUAGAUUGUACAGUAGGGCUAAU
1557	HPV59_4871	AUCCAACAGUACGUUCGUUGGCCUGG
1558	HPV59_4740	CCAAACAGGUGAAUUUUCUGGUAAU
1559	HPV59_4685	GUAGCUCUAGUUUAUAAAUCUCUGC
1560	HPV59_4660	ACCCCACCUCUUCUGUUCUAAAUA
1561	HPV59_4607	CAGGAUUUGAAAUAUCUACCUAG
1562	HPV59_4555	GAUUCUAGUGUUUAACAUUCUGGAG
1563	HPV59_4522	CCUACAGAUCCAUCUUAUAGUUACAU
1564	HPV59_4495	CCACCAAGUUAUUGAACCGUUG
1565	HPV59_4470	UAUAGUAGAUGUAUCGCCUGCUAAA
1566	HPV59_4362	AUUGCAGUGGACCAGCCUAGGAAUA
1567	HPV59_4238	CCCAUCGUGCUGCUCGUUCGUAAACG
1568	HPV59_4109	GCAAUACUGUCCAUACAUAUAAUUGC
1569	HPV59_4084	UCCACUGUUACUACUUAUAGCCAU
1570	HPV59_4029	UGGUUAUCACCUCCUCAUAUGAGUG
1571	HPV59_3991	GUGUGCAUAUACAUGGUUACUAGUA
1572	HPV59_3966	UCCCGCUUCUGCAAUCUGUCUUAU
1573	HPV59_3913	AACCCUUGUAUUUGUGUGUUGUGUU
1574	HPV59_3858	UGCAAAUGUAACACAAGCCAAUACU
1575	HPV59_3832	GGUUAUAGAGUGUGUAUUGGUUGUU
1576	HPV59_3754	UAACAUUAUACAAGCGAAACACAACG
1577	HPV59_3718	GAAACAGAGGAUCAGCCAAAACAGG
1578	HPV59_3686	UGAAAAAUUUCCUCUACCUGGCAU
1579	HPV59_3589	UCCCUUGCAGUAACACUACGCCUAU
1580	HPV59_3562	AUCCAGGCAACAACCCCGCGACGGCA
1581	HPV59_3537	UGUGACAACCCAGUCGUCCGUUUGC
1582	HPV59_3512	GUCUACCAGCGUGUCAGUGGGACUAC
1583	HPV59_3474	AAGCGACCAAGACAGUGUGGGAUACA
1584	HPV59_3392	GCAACUAUCAUACCCCUCCGCAACG
1585	HPV59_3354	ACCAGUGACGAGCAAGUAUCCACUG
1586	HPV59_3319	GCAAGGUUAUUGAUUGUUUAUGACUC
1587	HPV59_3291	ACAGACAAGUGGGAGUGCAUUAUA
1588	HPV59_3237	GAGGAACAGGUGUACUAUGUAAAAAU
1589	HPV59_3204	GUGGACUUUUGGGACUUAUUAUA
1590	HPV59_3170	UGAUGUAGGACAGUGGUAAAACC
1591	HPV59_3134	GCAUUACACAAGCUGGACAUUAUA
1592	HPV59_3109	CCAUCUGCAGCAAGGAAACACAAU
1593	HPV59_3050	UGUUUCUUGCAUUGGUCCAUUGCUC
1594	HPV59_3023	AGGUGCUGUUUUGCCAUAGUUCUUGG
1595	HPV59_2980	ACCGUACUUCACUGUAUAGCCCUG
1596	HPV59_2948	CAAGGCAUGUGAAGCUAUUGAACUG
1597	HPV59_2881	CAGCAAGAGAGAACAAUAACAUAC
1598	HPV59_2757	CUUUCGCAGCGUUUAAGUGUGUUAC
1599	HPV59_2732	GAAGAUGCAGACAGUGAUGGACACC
1600	HPV59_2706	GCAGAUUAGAUUUGAACCGAGGAAGA
1601	HPV59_2577	GGUGGCCAUUUAAAUAUGCAGAUU
1602	HPV59_2508	GGCACCUAGUACAAUAAAUGGUCC
1603	HPV59_2450	GAUACAUUAUJCGAAUUGCUCUUGG
1604	HPV59_2396	GAUCGUAAAUAUGCUAUGCUCAGACG
1605	HPV59_2371	UCACUUUUGGUAGAACCUUUAACA
1606	HPV59_2264	AAUUGCAUUGUGCUGUGUGGGCCAG

10

20

30

40

1607	HPV59_2123	CAGUGGAUAAAUGGAGAUGUGAU
1608	HPV59_2002	AGAUAGUAUAGUAACGCCGCUGCA
1609	HPV59_1909	UAGCGGUUUUGACCUGUCAGAAUG
1610	HPV59_1838	AUUAGUGAAGUUUAUAGGGAAACGC
1611	HPV59_1754	CCAGAUACGUGCAUGUUAAUUGAAC
1612	HPV59_1729	AGGACUUAGCACAUACUACAUAGUA
1613	HPV59_1662	CAUGGGAGUAGUAAUAAUAGCAUU
1614	HPV59_1614	UAAUACAACCCUAUGUGCUAUUGC
1615	HPV59_1585	UCCAACUGUAGCAGAAGGAUUUAAA
1616	HPV59_1374	GUAGCGACAGCAGUAACAAUGGAUGU
1617	HPV59_1348	UGUUUGUAGCGACAGUCAAUGGCAG
1618	HPV59_1323	CUGGAAAUGGGAUAGCAAUGGCAG
1619	HPV59_1298	GAGACUCAGGUAAACAGUGCCAGACAG
1620	HPV59_1242	GAAGGUUAAUAAACAGUGCCAGACAG
1621	HPV59_1212	CAGUAAAUGUUAACCACCCAAAAGU
1622	HPV59_1155	ACAGUAGUGAGAAAGCGGCAGG
1623	HPV59_1130	CGAAAGUUUGGGUGCAGUAUAGAAA
1624	HPV59_1105	UGCACGGAAAUGCAUGUUUUAAA
1625	HPV59_1073	GCCUUGUUAAUUGUGCAGGAAGCCC
1626	HPV59_954	CAGGUGACAAAAUUUCAGAUGACGA
1627	HPV59_814	GUUUUAUGGACACACUACUACCUUUGUG
1628	HPV59_773	GUAGAAACCUCGCAAGACGGAUUGC
1629	HPV59_684	AUCCUUUGCUACUAGCUAGACGAGC
1630	HPV59_632	UUACCUGACUCCGACUCCGAGAAUG
1631	HPV59_605	GAAGUUGACCUUGUGUGCUACGAGC
1632	HPV59_569	GACAUUGUUUAGAUUUGGAACCAC
1633	HPV59_541	AAUGCAUGGACCAAAAGCAACACUU
1634	HPV59_499	AGACAGCAACGACAAGCGCGUAGUG
1635	HPV59_459	AGGACAGUGUCGGUGGGUGUCGGACC
1636	HPV59_379	CUAAAACCUCUAUGUCCAACAGAU
1637	HPV59_354	GCUGCUGAUACGCUGUUUAUAGAUGC
1638	HPV59_329	CUGAAACCAAGACACCGUUACAUGA
1639	HPV59_304	UCCGUGUAUGGAGAAACAUUAGAGG
1640	HPV59_228	CUGUACACCGUAUGCAGCGUGUCUG
1641	HPV59_169	CUGCAAGAAAGAGAGGUUUUGAAU
1642	HPV59_130	CAUGAUUUUCGCAUCAAUUGUGUGU
1643	HPV59_105	GAGCACAACAUUGAAUAAUCCUCUG
1644	HPV59_74	CUACACAACGACCAUACAAACUGCC
1645	HPV59_49	AACGGCAUGGCACGCUUUGAGGAUC
1646	HPV59_24	UAAAGGUAGUUGAAAAGAAAAGGGC

【 0 1 0 1 】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:1647～1767からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 66への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表13を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 66への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:1647～1767からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:1647～1767を含む、HPV 66への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【 0 1 0 2 】

(表13) HPV 66核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

10

20

30

40

SEQ ID NO:	名称	配列
1647	HPV66_7794	GUCGUGCUAAACAGGUUUCUUUA
1648	HPV66_7737	GUAUCUGUCUUGCAAAUAGUAACC
1649	HPV66_7712	GUGUAGCCCUUAUUGUAUAAGCCAA
1650	HPV66_7687	GGUGUUUGCAAUAUAAAUGUUGGC
1651	HPV66_7611	UUACUCACCUAUCUGGCCAA
1652	HPV66_7586	GGUAUGUACACUGCCUUACCCUGUA
1653	HPV66_7521	CAAAACGACUUUCAGCAAAACAGU
1654	HPV66_7496	CUAGCCUUUGUCCUUAUUUAACC
1655	HPV66_7466	CAUUUAUAGCAUGCAACCGAAUCG
1656	HPV66_7441	CAAACUCCAUUUAGUGCUGUACGC
1657	HPV66_7416	GUUUGUAUGCACAUUAGUAACACAC
1658	HPV66_7377	GUGGUGUUCCUACUGUUUAUGUU
1659	HPV66_7352	CCUUGGGCAGUGUGUGUCAGGUAG
1660	HPV66_7299	AACAUGCAUGGUUACUUUACGCGU
1661	HPV66_7246	GCUAUGUGUAUGUAUGACUGUAUGU
1662	HPV66_7183	UGUAUGGUUGUGCUUGUACUGUAUG
1663	HPV66_7122	UUCCUCUUCUUCACCAGCUAACGU
1664	HPV66_7097	CUAAAAGGCAGGGCGGCCUACCUC
1665	HPV66_7071	UAGACCCAAGGCUAGUGUAUCUGCC
1666	HPV66_7000	AGCUUUUCUGCAGACCUGGAUCAGU
1667	HPV66_6956	AUCCCCUGGCUAAAUAAGUUUUG
1668	HPV66_6858	AUCCCCACCAGUUGCAACUAGCUUA
1669	HPV66_6720	CAAUCAAUACCUCUGCACUGUGGAG
1670	HPV66_6692	CAUUAACUAAAUAUGAUGGCCGUGA
1671	HPV66_6666	CAUGACUAUUAUAGCAGCUAAAAGC
1672	HPV66_6540	GAUUACCUCUGAGGCCAAUUUUU
1673	HPV66_6498	UCCUCCCAGUUCUGUAUAUGUUGCU
1674	HPV66_6466	UUGUAUUGGAAGGGUGGCAAUGGCA
1675	HPV66_6433	GCAGGUAAUGUUGGGAGGCCAUUC
1676	HPV66_6274	AAGCUAUUACAGGAAUCAAAGGCUG
1677	HPV66_6220	ACCCCGAUAGAGGACGGUGACAUGG
1678	HPV66_6195	UUGUCCACCUUCUGCAUUAGUUAU
1679	HPV66_6170	AGUCUACACCAGGUAAUACAGGGGA
1680	HPV66_6145	CAUUGGACUAAGGGCGGGUGUGUA
1681	HPV66_6061	AUAGAAGAUAGCCGGACAAUUAU
1682	HPV66_6031	GAGGUCUCUAAUUUAGCAGGUAAUA
1683	HPV66_5999	GUCAUCCAUUAAAUAUAGGCUGGA
1684	HPV66_5904	UCCAUCUUUCUAAUCCUGACCAG
1685	HPV66_5836	GUUAGUGCAUACAGUAUAGAGUGU
1686	HPV66_5811	UGGUACCAAAACAAACAUCCUAAA
1687	HPV66_5783	GCCAUCCUUAAAUCUCUGUUUCCAA
1688	HPV66_5718	GGAUACAUAGUAAAACGUACCAGU

10

20

30

1689	HPV66_5565	AUACAGGGAGCUACAUUUGCACUAU
1690	HPV66_5520	CCCUUCGUACCUCAGUCUCCUUUCUG
1691	HPV66_5469	CCAUUUUAUUCAGGUCCUGAUUAAG
1692	HPV66_5427	ACAGCUAAUGUUACUGCCCCUUUGG
1693	HPV66_5400	CCUUCUACAUUAUCCUUUGCUAGUA
1694	HPV66_5374	CACCUUCUGCACAAUUACCUAUAAA
1695	HPV66_5187	CAAACACGUAGGGGUACGCAAAUAG
1696	HPV66_5128	CAUUUACUACACGUAGAACAGGUGU
1697	HPV66_5003	CCCCACAACAUUAUAAUCUGCUGAU
1698	HPV66_4943	CAGGUUAUUAUAGUAGGGCUUUUCAG
1699	HPV66_4918	CAGGUUUUAGACGCCUUGCUGCUCC
1700	HPV66_4873	CUAUACACGGUACUGGCAACGAACC
1701	HPV66_4831	CUGGAAUACAUAGCUAUGAGGAAA
1702	HPV66_4801	CUGGUAAUAUUUUGAUUAGCACUCC
1703	HPV66_4760	UGAUCCUCCAGUAUUUGAGGGCUCCA
1704	HPV66_4729	GUAGUACUACUAUAACAAACCCACU
1705	HPV66_4704	CCCACAUCAGUACUGUACAUUGUAA
1706	HPV66_4617	GGGGCUGGUGUUCCCAAUUUUACUG
1707	HPV66_4544	UGUGGUGGAGUCAGUUGGGCCUACA
1708	HPV66_4509	ACUAUAGUUGAUGUCACUCCUGCAC
1709	HPV66_4209	GUGUAUAUAUUGCCAUGCUUUGUGG
1710	HPV66_4038	UGCGCUUUGC CUUUUGUGUUUGUCUG
1711	HPV66_3990	GUAAUCGCCAUUAUUGCAACCAUU
1712	HPV66_3965	AUUGUAACACUGGGAAAGGUACCGU
1713	HPV66_3915	GCUAAGCAUAUAUAUUGCACCCAUU
1714	HPV66_3890	UGAAGUGUAUUGCCAUCAUUGCU
1715	HPV66_3821	CAAAUGAGUUGUCCAUAAAGUGUUG
1716	HPV66_3796	ACCUAGUGUACAGGUUAUUUGGGGA
1717	HPV66_3702	GGACAAGUACAGAUAAAAGACAG
1718	HPV66_3586	UGAUAAAACUACGCCUGUAUCCAU
1719	HPV66_3536	AACAACGCCAACAGUAGAAGUCCAC
1720	HPV66_3470	GAAUCAGAACUGACUCCUCCAGAG
1721	HPV66_3445	ACCAGGAAAACGACCCAGAGCAAGU
1722	HPV66_3296	ACCGAGAGUAUUUACUGUCCUGACU
1723	HPV66_3228	AUUACACAGACUUUGAACAGGAGGC
1724	HPV66_3181	GGUGGAUUACAGAGGCAUUAUUAU
1725	HPV66_3144	AUAAUGGAGAGUGUGGGUGGUGUAA
1726	HPV66_3109	UUGUAUGGAAUAUGUGGUGUGGAAA
1727	HPV66_3017	ACAUGUGAUGAACUGUGGGCGCACGG
1728	HPV66_2961	CACUGGAAGCAUAAGUAACACAAU
1729	HPV66_2878	CAUUAAGUACUAACCACCAAGAUG
1730	HPV66_2614	CCAUUAGAUACAAUGGUAAUCCUG
1731	HPV66_2411	CAGAUACGUGUUGGAGAUACAUAGA
1732	HPV66_2374	CUAGACAAUGCCAAUUAGGUUUGC
1733	HPV66_2254	UUGGUACUGUGUGGACCAACAAUA
1734	HPV66_2104	UGCCAGUGGAUAAAGCAUUAUAGUA
1735	HPV66_1941	AGUAACAGAUGAUAGCCAAUUGCC
1736	HPV66_1875	GCAACACAGUUUACAAGACAAUCAA
1737	HPV66_1739	CACAAGAGCAAAUGUUAUUCACC
1738	HPV66_1649	GGGGAGUAAUUGUAUAGAUGCUAAU
1739	HPV66_1612	UGUGUGUACUAUCAUAUGCAAUGCU

10

20

30

40

1740	HPV66_1532	GUUGUAACGAUUGGAUAUGUGCAAU
1741	HPV66_1484	GAGUGCCAUAUACAGAGUUGGUGCG
1742	HPV66_1436	GUAGUAACGUACAAGGAAGAUUACA
1743	HPV66_1403	CACCAACACACCAAUUGCAGGAACU
1744	HPV66_1363	CACUCGGUAUCAAUAUGGAUUAUG
1745	HPV66_1332	UGGAGGCUCGCAAAACAGUAUUUGU
1746	HPV66_1298	ACGAAAAGGGAAAUGGGUGCGGGAG
1747	HPV66_1273	UUGGAAACAUACACAACAGGUAGAAU
1748	HPV66_1226	GGCUAAAUUAUCAGAACAGCAGCGG
1749	HPV66_1165	GGUAGUCCCUUAAGUGAUUUAGUA
1750	HPV66_1106	AAGUACAAACAGCACAUUGCAGAUGC
1751	HPV66_939	UGGAUGGUUUUCAGGUAGAAGCAAUU
1752	HPV66_874	CGCAUCAUCAAAUAAACUGCAAUGG
1753	HPV66_819	UACGUGUGGUACAAACAGCUGCUUAU
1754	HPV66_791	UUGGACAUUCAGAGUACCAAAGAGG
1755	HPV66_759	UACCUUGUUGUAAGUGUGAGUUGGU
1756	HPV66_604	UAUUUAGAACUUGCACCGCAAACG
1757	HPV66_579	GUAAAGUACCAACGUUGCAAGAGGU
1758	HPV66_554	AGAAUCUACAGUAUAACCAUAGCAUG
1759	HPV66_529	GGAGACAUACGAGUAGACAAGCUAC
1760	HPV66_504	UGGACCGGGUCAUGUUUUGCAGGUU
1761	HPV66_462	CACUGUGAACAUAAAAGACGAUUUC
1762	HPV66_346	AUAAAUAUUCAGUGUAUGGGGCAAC
1763	HPV66_291	GCAGUAUGUAGGGUAUGUUUUAUGU
1764	HPV66_150	CAUCUGAGCGAGGUAUUACAAAUAC
1765	HPV66_115	UCAGCAAUACACAGGAACGUCCACG
1766	HPV66_88	GCCUGUAGUAUCCAUGGAUUCCAU
1767	HPV66_63	GUACAUUAAGGCAAGCCUGUUGU

10

20

30

【 0 1 0 3 】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:1768～1875からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる、HPV 68への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表14を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 68への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:1768～1875からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:1768～1875を含む、HPV 68への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【 0 1 0 4 】

(表14) HPV 68核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
1768	HPV68_7798	CUGAACACAGCAGUUUCUCAUACUA
1769	HPV68_7696	GGCACACAUACCAAUACUUUUACUU
1770	HPV68_7661	CUACAUCCAUAAAUUUGUGCAACCG
1771	HPV68_7628	UGUCUGGUAGUGUAAGUUAACAGU
1772	HPV68_7597	GCCAGUAUAACUACUUUUGCAUUCA
1773	HPV68_7527	CCUCCCCUUGUAUAAAACUGCUUUU
1774	HPV68_7502	CAAUAGUUUUGGCAACCAACGUACU
1775	HPV68_7452	UCGUACUGGCGCACCUUAGUUAGUC
1776	HPV68_7427	CCCACAUAGUUGGCACCAGUAACAG
1777	HPV68_7352	GUCGUUGGUACUAAUUGCUUUUAGA
1778	HPV68_7325	UGGCCGGGUUGUGUGUGCGACCGCUII
1779	HPV68_7300	AACUAUACCGUGUGGGCCAUUUUGUA
1780	HPV68_7258	CCUAAGGUGUGUUACAUUAUAGCA
1781	HPV68_7186	CUGUGACUAACAUAAUGUCCUUGUUU
1782	HPV68_7159	UAUGUCCGUGGUCCUUUGUGGUUGCA
1783	HPV68_7108	GUGUAUGUUUGCAAGUAUGUGUGUA
1784	HPV68_7078	GUGUAUGUGCAUGUAUGUGUAUGUG
1785	HPV68_7053	UGUGUCAUGUUGGUGUUGGUUGUU
1786	HPV68_7028	UGUUGUUUGUCUGUGUGGUUGUAUA
1787	HPV68_6961	ACCACAUCAACCUCUAAACACAAAC
1788	HPV68_6898	UUACAGGCAGGUGUUCGCAGACGGC
1789	HPV68_6873	AUUCCCAUUAGGACGCAAUUUCUG
1790	HPV68_6848	AAAAGUUUAGUUCUGAACUGGACCA
1791	HPV68_6809	CCUAUGAUGGUCCUAAACUUUUGGAA
1792	HPV68_6749	ACCUACAAUCAGCAGCAAAUACAUG
1793	HPV68_6719	CAUCUGCUAGUCUUGUAGAUACAU
1794	HPV68_6541	GUACCAGCUGUGUAUGAUUCUAAUA
1795	HPV68_6516	AUUGUCCACUACUACAGACUCUACU
1796	HPV68_6337	GAAACUCCUAGUAGUUAUGUGUAUG
1797	HPV68_6312	GUAAUUAAGGGCACUGACAAUUCGU
1798	HPV68_6145	GUACCUUUGGAUUAUGUCAAUCUG
1799	HPV68_6118	GGUACAUUACAAGAACGAAAGCG
1800	HPV68_6052	GAUUGGUAAAACUCCUAAUGAGG
1801	HPV68_6016	CCUACCAAUGUACACAAGGGGACU
1802	HPV68_5924	AUGUUGCAGUGGACUGUAAACAAAC
1803	HPV68_5874	UGAAAAAUUCCCCGUUUUCCUCUAAU
1804	HPV68_5743	CCUGAGUCUACAUUAUAAAUCAG
1805	HPV68_5625	CCAUCCAAUUUUAAGGUUCCUAUG
1806	HPV68_5600	GUACAUCAUGGUUAAAACUGUAGG
1807	HPV68_5380	CAAUUGAUACAACCUUUGCCAUAC
1808	HPV68_5355	CAGUUGCCTTAAACACCCUCUACUC
1809	HPV68_5326	CUGAUGUUGUAAAACCAUCUACAAAC
1810	HPV68_5301	UGGAACACGCCUGUAAAACUGGUC
1811	HPV68_5270	UACUAAUACUACCAUUCUCUUGGU
1812	HPV68_5245	UGGCUUCUGCUGCAUCCACUACAU
1813	HPV68_5220	CGUUCCCACAUACAGUUCUUCAU
1814	HPV68_5158	CACCUAGAUACUGACAAUACUACAGU
1815	HPV68_5126	GGACCCUAUGGUAACUUUAUGAU
1816	HPV68_5101	AACCAUUGGUUGCCCCUGAGCAGGC
1817	HPV68_5066	UAGUAACAUUACCCUGCUGACAGC
1818	HPV68_5006	GACCAUGUUUACACGCCGAGGUACA
1819	HPV68_4973	AACAGUACGUUUUAGCAGAGUAGGC
1820	HPV68_4877	UACUACUCUUACAUUAUGAACCU
1821	HPV68_4823	AAACGCCACCUUCAUCAUUUGUAACA

10

20

30

40

1822	HPV68_4692	GUAUUUGCAACACAUGGCACUGGUA
1823	HPV68_4636	UGUUUUGUAAGUACCCCUACAUCAUCAGG
1824	HPV68_4595	UAUAAUAGAAGUGGCCACAAACAGGU
1825	HPV68_4570	CUAACCCUGCAUUUACAGACCCGAC
1826	HPV68_4498	CUACCACAUACACCGGCAGUUUAGA
1827	HPV68_4452	GUACCAAACAUUACAGGCACCUCUG
1828	HPV68_4427	CAGUGUUUUACAUCUGGGACACCA
1829	HPV68_4395	GAACCCUCCAUGUGCAAUUGGUGG
1830	HPV68_4323	GGAAAACCUAAUACUGUUGUGGAUG
1831	HPV68_4206	GGUACUACACUUGCAGACAAAAAU
1832	HPV68_4046	CAGUAACUGUUUAUGUGUGCAUUUG
1833	HPV68_4012	GUGGUUAUUACACAGUCUUACUU
1834	HPV68_3966	CAUUUGAGGUGUUUGCUGUAUACCU
1835	HPV68_3867	GCAUGUAUUAUGUUGCACUGUCCC
1836	HPV68_3796	CCCACACUGUACACUUAUGUUAU
1837	HPV68_3766	GGGGUUAUAGACAUUAAGUGUGU
1838	HPV68_3728	GAAACUGUAAAACUACCAUCUAGUG
1839	HPV68_3697	UGUUUCAGAAGCACACGUGACAAG
1840	HPV68_3514	AAGACGGAGCCUUUGUUGUGGUGAC
1841	HPV68_3489	UCAGUAGAAGUGCAGGCCAAACAA
1842	HPV68_3438	AGCCCUCUGAGCCGACAACGUGUC
1843	HPV68_3316	UACUGAAUCUGUUGCCGACCUACAG
1844	HPV68_3291	GUACCACUGACGGAAAAGUAUCCAC
1845	HPV68_3188	UAUUACGAAAGGUUUUAUGCAGGAUG
1846	HPV68_3129	AAACCCAAGGGCGUGUGGAUUACUG
1847	HPV68_3079	UGUAGUGUGGGUACAAUUUACUUU
1848	HPV68_3054	GGGACAAGAGUAACUCAUGCAUUA
1849	HPV68_2978	AGUAAUGAACUAUGGCAUACAAAGC
1850	HPV68_2927	AGCCUUGCACAAACUGCAUUAUGUG
1851	HPV68_2776	UAACUAUUGGAAUUGUGUGCGACUG
1852	HPV68_2523	GUAUUUACAUAGUAGACUAACCGUG
1853	HPV68_2496	UAACCCUGUAGAAGACAAUAGGUGG
1854	HPV68_2429	GUUUAGAUAGAAAACACAGACACCU
1855	HPV68_2301	UUCAGCAAGUCACUUUUGGUUAGAG
1856	HPV68_2186	AAGGCACGCCAAACGAAAUJGUAU
1857	HPV68_1684	UUGCAUGUUCCAGACAGCUGUAUGC
1858	HPV68_1358	CACCUACUACCAACUAAAAGUAAU
1859	HPV68_1333	GAUAGUGAAAACCAGGAUCCUAAA
1860	HPV68_1166	CAAGACAACCGCGUACAGUGCC
1861	HPV68_1141	UCACUAAAUGUAAGCAGUACACAGG
1862	HPV68_1116	AGCAAAGUCGCCAUACAGGAAUUA
1863	HPV68_1091	CAGACAGUAUAGAAAGCAGUCCUUU
1864	HPV68_897	UAAACAAACAGGUGACACAGUCUCA
1865	HPV68_772	UCACUAAAUUUUGUGUGGUCCGUGGU
1866	HPV68_745	CGGACACUACACAGCUGUUUAUGG
1867	HPV68_685	CUGUGUUGUAAGUGUAACAAGGCAC
1868	HPV68_518	UGUUAGAGCUAUGUCCAUACAAUGA
1869	HPV68_487	CAUGGACCAAAGCCCCACCGUGCAGG
1870	HPV68_358	CACCUAACACAAAACGAAGAUUAC
1871	HPV68_253	GUGUAUGCAACUACAUUAGAAACCA
1872	HPV68_228	GGAACUACGAUUAUCUCGGAAUCG
1873	HPV68_150	UGACCACUGUAGUGUAUAGAGAC
1874	HPV68_117	ACAACGGACAGAGGUUAUAGAAUUU
1875	HPV68_3	GGCGCUUUUCACAACCCUGAGGAA

【 0 1 0 5 】

1つの態様において、本発明は、SEQ ID NO:1876～2026からなる群より選択される配列

10

20

30

40

50

またはその相補体から本質的になる、HPV 82への特異的ハイブリダイゼーションのための単離されたポリヌクレオチドを提供する(表15を参照されたい)。いくつかの態様において、本発明は、HPV 82への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドセットを提供し、このセットは、SEQ ID NO:1876 ~ 2026からなる群より選択される配列またはその相補体から本質的になる少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む。一定の態様において、本発明の方法は、SEQ ID NO:1876 ~ 2026を含む、HPV 82への特異的ハイブリダイゼーションのためのポリヌクレオチドプローブセットを使用する。

【 0 1 0 6 】

(表15) HPV 82核酸を判別するためのポリリボヌクレオチドプローブ

SEQ ID NO:	名称	配列
1876	HPV82_7835	UUGUGUUUUGCCUAUGCUUGCAACA
1877	HPV82_7785	AUGUAUUACUCAUUCUGCAGGUGUGC
1878	HPV82_7760	GCCAAGUUUCUAUCCUACCUUAUAAA
1879	HPV82_7735	GGCAGGUCAUGAACUAAAUGUCUCU
1880	HPV82_7662	CCGCCUGUAAUAAUUAUUAUGCUU
1881	HPV82_7612	CACACCACAUUACUCAUUGUACUU
1882	HPV82_7550	UGGU AUGUACAUCCC GCCC GCCC AC
1883	HPV82_7525	GGCAUAACCC UUAAUUCUUU UGGCA
1884	HPV82_7494	CAACUUUUGAACCACACUACCUAUG
1885	HPV82_7408	GCAUGUACCACAGGAUUC CAUUU JUG
1886	HPV82_7373	GCAGCACACUUGUAUUAUUAUGUUC
1887	HPV82_7348	AUUGCCUACCCAUU UUGUGGGCUU
1888	HPV82_7319	GUUAAGGGUGGUUUAGGUGGGCGU
1889	HPV82_7191	GUAUGGUUUCUGUGUGGUUACUAA
1890	HPV82_7130	GUGUGCUGUUGUGUGUAUUUGUGU
1891	HPV82_7086	CGCCCUGCCUAUGUAUGUGUUUGUG
1892	HPV82_7030	CCCCAUCCUCUCCGCUUCCUCGUC
1893	HPV82_7001	CAAACCCAGACCAGGCCUUAAAAGG
1894	HPV82_6939	UCUUUGGAU UUGGAUCAGUUUGCAU
1895	HPV82_6880	CUAAAGAAGACCCUUUGGCAAAUA
1896	HPV82_6755	GGAUUCUACAAU UUAGAACAGUGG
1897	HPV82_6651	UUUAAGCAGUACAUUAGGCAUGGGG
1898	HPV82_6626	UGCACAAACAUU UACUCCAGCAC AAC
1899	HPV82_6589	CCAAU UUACCAU UAGCACUG CUGU
1900	HPV82_6459	GGUUCUAUGAU ACCUCUGAUUCUC
1901	HPV82_6433	GUUAU UUUAUUCAGCUACUCC CAG
1902	HPV82_6408	GGUGCUGGCCGCGACCCU AUUAGUA
1903	HPV82_6383	AGACAAGGCUU AUUAGGGUACU

10

20

30

1904	HPV82_6358	CUGGUGUGGUUGGUGAUGC CAU UCC
1905	HPV82_6281	AGCAGAUACAU AUG GCA AU UCU AUG
1906	HPV82_6247	CUGUGUGAAA UACCCUGAUU ACUU
1907	HPV82_6210	GCUACUA AAUCAGAUGU UCCAU UGG
1908	HPV82_6137	UGUGUCUACUGUCAU UGAGGAUGGC
1909	HPV82_6039	AUUAUAGGCUGCGCUCCU CUAUUG
1910	HPV82_6012	GUGGACAACA AACAAACU CAGUU AU
1911	HPV82_5840	UAAUCCAGACACAGAUCGUU UGGUG
1912	HPV82_5815	UUGGUCUUC CUGAUCCU AUUUGUU
1913	HPV82_5738	UACAC GUGCUG AAAU ACCUA AGGU A
1914	HPV82_5654	AACCCGCACC GGCAU AUUAUU AUU
1915	HPV82_5628	CGCAUUGUCAACACAGAAGAU AUJA
1916	HPV82_5603	GU AUU UACCAC CUG CACCAGUGUCA
1917	HPV82_5519	UAUACAU AUUUGUUACG CAAACGCC
1918	HPV82_5494	GGUGGGGAU UACUACU UUGUGGCCG
1919	HPV82_5467	GACACACA ACAUGCUAU UGUU AUAC
1920	HPV82_5442	GCCC UUU AUUCCACACACA CU AUU
1921	HPV82_5417	UGUUACCUACUUCACCCACUGUGUG
1922	HPV82_5392	CCU AUUCAUACGGGUCCUGAUGUUG
1923	HPV82_5345	CAUCUUAUGCUA AUGUUACUAUCC
1924	HPV82_5320	CCU UC AUUUGCUUCCUCUGUUU CUU
1925	HPV82_5294	CAU UUUCUCCU UUGUCUACACAACU
1926	HPV82_5269	CAA ACCAC ACCU AUGC UUCG CUCU C
1927	HPV82_5244	UGAAACAGG UUUU AUGCAG CCU AC
1928	HPV82_5182	CCU UUACUUU CCCU UCUACU AAUA
1929	HPV82_5143	AUAAGUAGUAU UGC ACCU GUGAGG
1930	HPV82_5009	AUAUUAUUAACUGCACC GCCC UGC
1931	HPV82_4976	CUACUGAUGUUGCACCAGA UCCUGA
1932	HPV82_4951	GAUACAUCAU UGUCCU UUGAGGAAC
1933	HPV82_4898	UUAGUAAGCC CUCUACAUU UGUU AC
1934	HPV82_4872	GGUUAAGGUUACUA AUCCAGACU UU
1935	HPV82_4847	GUUUUAU AUAGCAGGGCAU UUUCACA
1936	HPV82_4790	GUAAGGAACCCAUUAGCAGUACACC
1937	HPV82_4765	GU AUU UGCCUCCA AUGUUACUACUG
1938	HPV82_4706	AUAUAUU ACCAGU ACCCCUAC GUC
1939	HPV82_4667	CAU UU AUUUGAGG CACCAC AU CAGG
1940	HPV82_4627	ACAAGCACUAACAU UGAAAAAUCCU
1941	HPV82_4558	AUUACUUC CUCUUCUACAA CACACU
1942	HPV82_4511	AUUCAGGCUCUACU AUACCU ACCU
1943	HPV82_4425	UCCGGCCAGGCCUCCAUU AUUAUU
1944	HPV82_4400	GACGGCCUGGUUGUAGAU AUUGC
1945	HPV82_4259	UUAUUCCUAGGUAAAGGGCACUAC
1946	HPV82_4214	AAUUAU AUUCCACACUGCAAAGCUGC
1947	HPV82_4165	ACAAUGGUGGCUGCACGUGCACGGC
1948	HPV82_4036	CCACAUCA CCUU AACUACAUU AC
1949	HPV82_3976	AAUCCCAAU AUGGUU UGCAGCAGC
1950	HPV82_3876	UGUAU AUAGGUUACUCGCA ACCAU
1951	HPV82_3801	GUCAU UGGGUAU UAUGACAGUGUAA
1952	HPV82_3776	UUAAAGUACCAUCAAGUGUGACAGU
1953	HPV82_3746	CACACCAACGUCAAAAGUUU AUUGA
1954	HPV82_3704	GUAAUACAAAGCAGGCAU UGUU AC

10

20

30

40

1955	HPV82_3668	UGUUUAAAAGAAGGUGUCAUCUACCUG
1956	HPV82_3580	GCAACUAAAACUGC GUUUUA GUUC
1957	HPV82_3544	GGAACUGCAGGCCAACACCGGGAG
1958	HPV82_3519	CACCUGCGACCACCAAAUACACUGU
1959	HPV82_3487	GACUCUCCACAGUCACCCCGCUGU
1960	HPV82_3449	CACCAACAACGAAAACGACAGCG
1961	HPV82_3404	CGACCAAUACCUAUUCGCCUCCGC
1962	HPV82_3362	CACCCUCUACUACAACUGUUGAACA
1963	HPV82_3337	GUAUCUAGUACCUACAGCACCCCCGU
1964	HPV82_3295	GAGGUUAUUAUGUGUGGGCAAUGUAA
1965	HPV82_3198	CGUGGACUAUACAGGUUUUUAUAC
1966	HPV82_3131	UGGACUAUACAUUGUUGGACAUUAUGU
1967	HPV82_3105	GUUUGAUGGGAAUAAGGACAAUACA
1968	HPV82_3036	AUGCUAUGAACUAUGGGCGAGGCC
1969	HPV82_2977	GCAUUAGAAUCGC UAAACAAUUCUG
1970	HPV82_2937	AUCAAAACAAAAGGCCUGCCAAGCC
1971	HPV82_2912	AUCAAGUAGUACCAGCAUCGGCAGU
1972	HPV82_2887	GAAAGAAACAUGCAAACCCUUAACC
1973	HPV82_2751	GACCCUAUGUCAUCGUUUAAAUGUG
1974	HPV82_2650	GGAAUCCUGUUAUAGCACUAAAUGA
1975	HPV82_2519	GCUGCAAUUGUAUGCCCACCAUUG
1976	HPV82_2454	GACCA GUACCUAAGAAAAUUUCCUAA
1977	HPV82_2196	CGAUACCAGGGUAAAACUUUAUGU
1978	HPV82_2138	GUAUAGAUGUGACAAAGUGCAAGAC
1979	HPV82_2113	CACUAACAAUGUCAGCAUGGAAUAG
1980	HPV82_2088	CACUACAAACGAGCACAAGAAAAAU
1981	HPV82_1999	AAUUGGCUGAUACAGAUAGCAAUUGC
1982	HPV82_1951	UUGACCAUGAUGUAGUAGACGAUAG
1983	HPV82_1914	AGCACGUUUGAACUAUCGCAAUGG
1984	HPV82_1889	ACAACUACAGCACAGUUUUGAU
1985	HPV82_1841	CAUUAGUAGCACAU AUGGC GAAACA
1986	HPV82_1774	UUUAGAACCAACCUAAGCUACGUAG
1987	HPV82_1723	CCAUUGCCAA AUGUUUAGGUACAUU
1988	HPV82_1685	ACUGUUAGCUAGAUUACAUGUGCC
1989	HPV82_1660	CAUGUGAUUGGGUACUAUJUGUGCU
1990	HPV82_1633	GUAUGUACUACCAUUAACAAUGGCC
1991	HPV82_1571	UGCCUUAUUUGGGUACUGCCAAUG
1992	HPV82_1546	AAACAU GCUGCACGGACUGGGUAUG
1993	HPV82_1518	GAGUUGGUAGGGUAUAAAAGUG
1994	HPV82_1460	CAAUGCAAAGCAAUGUUUAUGGCA
1995	HPV82_1417	CCAAUGUAGGACUAAACAGUUAUG
1996	HPV82_1392	GACCUGGAAACAAACGAAAAUGCUA
1997	HPV82_1320	GAUGGGCAAA AUGACGGGUACAAAC
1998	HPV82_1294	AGACUGUGGAAGGACCCUUACAGGU
1999	HPV82_1242	AGGAGAUUACUGGACAGUUUACCGG
2000	HPV82_1203	CAGCAACAACCAAAACAGGCAAACC
2001	HPV82_1156	GCAGCCCAUUAAAAGACAUUACAA
2002	HPV82_1093	AAACACAGGCACACAAAGAGGGCUGU
2003	HPV82_1068	GCACAGGC GUUGUUG CAGGUCCAAG
2004	HPV82_1035	AAUAGUAUUUGUAGUCAGGC GGAAAC
2005	HPV82_987	GAUACAA AUGAUACAGGUCUGUA

10

20

30

40

2006	HPV82_955	CGGGAGAUAAUAUCAGACGAUGA
2007	HPV82_867	ACAUCGGCAUUGGACAGUGAAGGU
2008	HPV82_833	UAAGCCUGGUGUGCCCUGGGUGGC
2009	HPV82_807	AUUUCAGCAAUGUUACUGGGCGAC
2010	HPV82_782	AAAGCAGUGGAGACAGCCUUCGCAU
2011	HPV82_748	UGCAGGUGUUCGAGUGUUGUACAGC
2012	HPV82_723	GUGUUACAGAAUUAAGUGCACUGU
2013	HPV82_608	UAACACCACAACCUGAAAUGACUU
2014	HPV82_583	CAAUAAAAGGACAUAGUGUUGGAGU
2015	HPV82_539	UAGUGAAACCCAGGUGUAAUACGC
2016	HPV82_514	AUUGCAGAAAACCACCAAGACAACG
2017	HPV82_440	AGAAAAGCAAAGGUGGUGGACGAC
2018	HPV82_415	GAUGUCAGAGACCACUUGGGCCUGA
2019	HPV82_361	CAUUAGAGGCCAUUACUAACAAAAG
2020	HPV82_332	AAGGUAUAGUAGGUCUGUGUAUGGU
2021	HPV82_265	GGGACAAUACGCCAUUGCAGCAUG
2022	HPV82_234	GUAGCAUUUACAGAACUUAGGAUUG
2023	HPV82_209	GUUGUGUAGAGCAGAUGUGUAUAAU
2024	HPV82_164	GUCUAUGCACAAUAAUCAGGUAUUG
2025	HPV82_139	ACGAUUUAUGUGAAGGCCUGCAAUAC
2026	HPV82_105	UUUGAAGACAUAGAGAAAGACCAC

10

20

【0107】

30

30

ハイブリダイゼーション

本発明の方法は、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが試料中の標的核酸とハイブリダイズして二本鎖核酸ハイブリッドを形成するのに十分なハイブリダイゼーション条件下で、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブを試料と接触させる段階を含む。好ましくは、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、中和ハイブリダイゼーション緩衝液としても作用し得るプローブ希釈液中で希釈される。この希釈液は、プローブを溶解し希釈するために使用され得、また、試料をほぼ中性のpH、例えば、約pH6～約pH9に回復させてハイブリダイゼーションにとってより都合の良い環境を提供するのを助け得る。十分な体積、好ましくは2分の1体積量のプローブ希釈液を用いて、1と2分の1体積量の塩基処理した試料を中和することができる。好ましくは、プローブ希釈液は、2-[ビス(2-ヒドロキシエチル)アミノ]エタンスルホン酸(BES, Sigma, St. Louis, Mo.)/酢酸ナトリウム緩衝液である。最も好ましくは、プローブ希釈液は、2M BES、1M酢酸ナトリウム、0.05%の抗菌剤NaN₃、5mMの金属キレート剤EDTA、0.4%の界面活性剤Tween(商標)-20、およびハイブリダイゼーション促進物質である20%硫酸デキストランの混合物である。プローブ希釈液のpHは、約5～約5.5でよい。

【0108】

40

したがって、例えば、塩基で処理した後、試料チューブから一定量の試料を取り出し、ハイブリダイゼーション条件下でハイブリダイゼーションが起こるのを可能にするのに十分な量のプローブと混合してよい。ハイブリダイゼーション条件は、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが、試料中の対応する相補的核酸配列(存在する場合)にアニールして二本鎖核酸ハイブリッドを形成するのを可能にするのに十分である。プローブおよび試料核酸をハイブリダイゼーション期間、好ましくは少なくとも約5分間インキュベートして、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブが、対応する相補的核酸配列にアニールするのを可能にすることができる。ハイブリダイゼーション条件は、少なくとも約20、好ましくは約50～約80のハイブリダイゼーション温度を含んでよい。一定の態様において、ハイブリダイゼーションは、55より低い温度で実施される。他の態様において、synRNAプローブが使用される場合、および標的核酸を含む試料が体積の大きな採取用培地(すなわち1ml)を含む場合、ハイブリダイゼーション温度は45～55の間であり、好ましくは約50である(図20Aおよび20Bを参照されたい)。ハイブリダイゼーション温度を低下させることにより、アッセイ法において20,000コピーのHPV標的核酸を検出する能力

50

が提供される。判別対象である任意の所与の標的および使用する1つまたは複数のポリヌクレオチドに対して、当業者は慣用の実験法によって所望のハイブリダイゼーション条件を容易に決定することができる。

【0109】

本発明はまた、二本鎖核酸ハイブリッドに免疫特異的である抗ハイブリッド抗体の存在下での、標的へのプローブのハイブリダイゼーションも可能にする(すなわち、標的核酸を含む試料にプローブを添加するのと同時に、抗ハイブリッド抗体を添加することができる)。これにより、アッセイ法を実施するための時間を短縮することが可能になる。

【0110】

抗ハイブリッド抗体

本発明に従って形成された二本鎖核酸ハイブリッドは、二本鎖核酸ハイブリッドに免疫特異的である抗体を用いて検出することができる。抗体は、限定されるわけではないがRNA/DNA;DNA/DNA;RNA/RNA;およびそれらの模倣体などの二本鎖ハイブリッドに免疫特異的であり、この場合、本明細書において定義する「模倣体」とは、RNA/DNAハイブリッド、DNA/DNAハイブリッド、またはRNA/RNAハイブリッドと同様に挙動する分子を意味する。使用される抗二本鎖核酸ハイブリッド抗体(すなわち、「抗ハイブリッド」抗体)は、形成された二本鎖核酸ハイブリッドのタイプに依存する。1つの態様において、抗体は、RNA/DNAハイブリッドに免疫特異的である。

【0111】

ポリクローナル抗ハイブリッド抗体またはモノクローナル抗ハイブリッド抗体のいずれかが、後述するように本発明のアッセイ法において使用され得、かつ/または固体支持体もしくは固相に固定され得ることが、当業者に理解されると考えられる。標準技術を用いて調製したモノクローナル抗体を、ポリクローナル抗体の代わりに使用することができる。また、二本鎖ハイブリッドに特異的な抗体の免疫的な断片または誘導体も含まれ、このような断片または誘導体は抗体の結合領域を含む。

【0112】

例えば、RNA:DNAハイブリッドで免疫化したヤギに由来するポリクローナルRNA:DNAハイブリッド抗体を使用することができる。例えば、参照により本明細書にそれぞれ組み入れられるKitawaga et al., Mol. Immunology, 19:413 (1982);および米国特許第4,732,847号において説明されているように、固体支持体に固定されたRNA:DNAハイブリッドに対してアフィニティー精製を行うことによって、ヤギ血清からハイブリッド特異的抗体を精製することができる。

【0113】

ヒト抗体または人工抗体を含む抗体を作製または単離する他の適切な方法を使用することができ、例えば、組換え抗体(例えば、単鎖FvもしくはFab、またはそれらの他の断片)をライブラリーから選択する方法、またはヒト抗体のレパートリーを産生できるトランスジェニック動物(例えば、マウス)の免疫化に依拠する方法が含まれる(例えば、Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature, 362: 255 (1993);ならびに米国特許第5,545,806号および同第5,545,807号を参照されたい)。

【0114】

1つの態様において、判別対象となる標的核酸はDNA(例えば、HPV 18ゲノムDNA)またはRNA(例えば、mRNA、リボソームRNA、核小体RNA、転移RNA、ウイルスRNA、異種の核RNA)であり、その際、1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブは、それぞれポリリボヌクレオチドまたはポリデオキシリボヌクレオチドである。この態様によれば、形成された二本鎖核酸ハイブリッド(すなわちDN/RNAハイブリッド)は、RNA:DNAハイブリッドに免疫特異的である抗体を用いて検出することができる。

【0115】

本発明の好ましい態様において、ポリクローナル抗RNA/DNAハイブリッド抗体は、RNA/D

10

20

30

40

50

NAハイブリッドで免疫化したヤギに由来する。ハイブリッド特異的抗体は、固体支持体に固定されたRNA/DNAハイブリッドに対してアフィニティー精製を行うことによってヤギ血清から精製される。標準技術を用いて調製したモノクローナル抗体を、ポリクローナル抗体の代わりに使用することができる。

【0116】

任意の脊椎動物が、抗RNA/DNAハイブリッドモノクローナル抗体の調製のために使用され得るもの、ヤギまたはウサギが好ましい。好ましくは、ヤギまたはウサギは、従来の注射手順に従って動物にハイブリッドを注射することによって、合成のポリ(A)-ポリ(dT)ハイブリッドで免疫化される。周知の抗体単離技術に従って、免疫化した動物の種に特異的な抗体を有する動物の血液からポリクローナル抗体を採取し精製することができる。モノクローナル抗体を作製するためには、十分な長さの期間の後に動物から脾臓を摘出してよく、脾細胞を適切な骨髄腫細胞と融合させてハイブリドーマを作製してよい。次いで、抗ハイブリッド抗体を分泌する能力について、ハイブリドーマをスクリーニングすることができる。次いで、選択されたハイブリドーマを、第2の動物の腹膜腔に注射して腹水を生じさせるために使用することができ、この腹水は、参照により本明細書に組み入れられる所望のモノクローナル抗体の豊富な供給源として抜き取り、使用され得る。

【0117】

いくつかの態様において、検出する段階は、二本鎖核酸ハイブリッドを、二本鎖核酸ハイブリッドに免疫特異的であり二本鎖核酸ハイブリッドを捕捉するための第1の抗ハイブリッド抗体と接触させる段階を含む。1つの態様において、第1の抗ハイブリッド抗体は、試験管表面のような固体支持体に固定される。固体支持体には、試験管、ビーズ、微粒子、または計量棒などの形状のポリスチレン、ポリエチレン、ポリプロピレン、ポリカーボネート、または任意の固体プラスチック材料が含まれることは、当業者に理解されると考えられる。また、固体支持体の例には、限定されるわけではないが、ガラスピーズ、シリカビーズ、ガラス試験管、および他の任意の適切なガラス製形状物が含まれる。表面がカルボキシル基、アミノ基、ヒドラジド基、またはアルデヒド基を含むように修飾されたプラスチック、シリカ、またはガラスなどの官能化固体支持体もまた、使用され得る。抗体の固定化は直接的または間接的でよい。好ましくは、試験管は、当業者には公知であるか、または簡単に後述する方法に従って、抗ハイブリッド抗体で直接コーティングされる。また、抗体は、ビオチン標識し、続いて、例えば、ストレプトアビシンでコーティングされたチューブもしくはシリカに固定してもよく、または固相に共有結合させるために他の方法によって修飾してもよい。可溶化されたビオチン標識抗体は、後述するようにハイブリダイズされた試料の捕捉の前にストレプトアビシンでコーティングされたチューブに固定されてもよく、または、同時にビオチン標識抗体を固定しハイブリッドを捕捉するために、ハイブリダイズされた試料を添加するのと一緒に、ストレプトアビシンでコーティングされたチューブに固定されてもよい。

【0118】

別の態様において、第1の抗ハイブリッド抗体は、Fleminger et al., Appl. Biochem. Biotech. 23: 123 (1990) の方法に従い、抗体の炭水化物部分を過ヨウ素酸で酸化して反応性アルデヒド基を生じさせることによって、固相に結合させる。次いで、アルデヒド基を、Dynatech Laboratories (Chantilly, Va.) から入手可能なMicroBind-HZ(商標)マイクロタイタープレートのようなヒドラジド修飾固相と反応させる。Esser, P., Nunc Bulletin No. 6 (November 1988) (Nunc, Roskilde, Denmark) の周知の方法による抗体の受動的コーティングもまた、使用することができる。

【0119】

他の態様において、Ventrex Star(商標)チューブ (Ventrex Laboratories Inc., Portland, ME) は、Haun et al., Anal. Biochem. 191:337-342 (1990) の方法によってストレプトアビシンでコーティングされる。ストレプトアビシンの結合後、前述したような、またはそうでなければ当業者に公知の方法によって作製したビオチン標識ヤギポリクローナル抗体を、固定したストレプトアビシンに結合させる。抗体結合後、Esser, Nunc Bulletin

10

20

30

40

50

No. 8, pp. 1-5 (December 1990) および Nunc Bulletin No. 9, pp. 1-4 (June 1991) (Nunc, Roskilde, Denmark) ならびに Ansari, et al., J. Immunol. Methods, 84: 117 (1985)において説明されているようにして、チューブ上の未結合部位をロックし、結合されたタンパク質を安定化させるために、Tween(商標)-20 およびスクロースなどの界面活性剤でチューブを後からコーティングしてよい。好ましくは、各チューブは、10ng ~ 100 μg の間のビオチン標識抗体でコーティングされる。最も好ましくは、各チューブは、約250ng のビオチン標識抗体でコーティングされる。

【0120】

上述したように、固相は、抗ハイブリッド抗体の機能的な抗体断片または誘導体化された機能的断片でコーティングされてよい。

10

【0121】

いくつかの態様において、ハイブリダイズされた試料は、固定された捕捉抗体による二本鎖核酸ハイブリッドの捕捉を可能にするのに十分な長さの期間、第1の抗ハイブリッド抗体でコーティングされたチューブ中でインキュベートされる。ハイブリッドは、インキュベーション、例えば、約15 ~ 約65 度約5分 ~ 約24時間のインキュベーションによって、固定された抗体に結合され得る。いくつかの態様において、インキュベーション時間は、約300 ~ 約1200rpmで振盪しながら、約20 ~ 約40 度約30 ~ 約120分である。別の態様において、捕捉は、回転式プラットホーム上で勢いよく振盪しながらほぼ室温で約1時間のインキュベーションによって起こる。所望に応じて代替の捕捉動態を実現するためにインキュベーションの時間、温度、および/または振盪を変更できることが、当業者に理解されると考えられる。

20

【0122】

他の態様において、第1の抗ハイブリッド抗体は、二本鎖核酸ハイブリッドを捕捉するために、磁性ビーズ(例えば、COOH-ビーズ)と結合される。磁性ビーズに基づいた技術は、当技術分野において周知である。いくつかの態様において、抗体と反応するように誘導体化された表面を有する磁性シリカビーズが使用され得る。

30

【0123】

1つの態様において、検出する段階は、二本鎖核酸ハイブリッドに免疫特異的であり、検出可能となるように直接または間接的に標識されている第2の抗ハイブリッド抗体を提供する段階をさらに含む。

【0124】

例えば、いくつかの態様において、前述の抗ハイブリッド抗体を検出可能な標識と結合させて、二本鎖核酸ハイブリッドを検出するための第2の抗ハイブリッド抗体を提供することができる。標識するための結合方法は、当技術分野において周知である。好ましくは、ATCCアクセッション番号HB-8730として American Type Culture Collection に寄託されているマウスモノクローナル抗体のような抗体は、アルカリホスファターゼのような検出可能な標識に結合される。酵素、蛍光性分子、またはビオチン-アビジン結合体など任意の検出可能な標識を使用できることは当業者に理解されると考えられる。

40

【0125】

抗体結合体は、ジチオトレイトール(DTT)によってモノクローナル抗体を直接還元して一価の抗体断片を得るような周知の方法によって作製することができる。次いで、還元された抗体は、Ishikawa et al., J. Immunoassay 4:209-237 (1983) および Means et al., Chem. 1 : 2-12 (1990) の方法によってマレイン化(maleimated)アルカリホスファターゼに直接結合させることができ、結果として得られた結合体はHPLCによって精製することができる。

【0126】

別の態様において、二本鎖核酸ハイブリッドは、例えば、標識抗体が特異的である非標識抗ハイブリッド抗体を用いて間接的に検出することができる。例えば、第2の抗ハイブリッド抗体は、標識されたヤギ抗マウス抗体によって検出されるマウス免疫グロブリンでよい。

50

【0127】

二本鎖核酸ハイブリッドは、非特異的結合を最小限に抑えつつ、特異的な抗体-抗原結合(すなわち、抗体/二本鎖核酸ハイブリッド結合)を提供するのに十分である結合条件下で第2の抗ハイブリッド抗体と接触させてよい。結合条件は、好ましくは、抗体と他の核酸種との交差反応を低減させるための0.1M Tris-HCl、pH7.5、0.6M NaCl、アルカリホスファターゼを安定化させるためのZnCl₂およびMgCl₂、結合体と捕捉表面との非特異的相互作用をブロックするための正常ヤギ血清、結合体の非特異的結合をブロックするための界面活性剤としての0.25% Tween(商標)-20、ならびに保存剤としてのアジ化ナトリウムを含む結合緩衝液を含む。次いで、反応物を洗浄緩衝液(例えば、0.1M Tris-HCl、pH7.5、0.6M NaCl、0.25% Tween(商標)-20、およびアジ化ナトリウム)で洗浄して、未結合または非特異的に結合した第2の抗ハイブリッド抗体をできるだけ多く除去することができる。続いて、例えば比色法または化学発光法(例えば、Coutlee, et al., J. Clin. Microbiol. 27:1002-1007 (1989)において説明されている)によって、二本鎖核酸ハイブリッドに結合している第2の抗ハイブリッド抗体を検出することができる。例えば、結合されたアルカリホスファターゼ結合体は、E/Lumina(商標)ルミノメーター (Source Scientific Systems, Inc., Garden Grove, CA)またはOptocomp I(商標) Luminometer (MGM Instruments, Hamden, CT)などの検出器を用いて、Lumi-Phos(商標)530試薬(Lumigen, Detroit, MI)のような試薬による化学発光に基づいて検出することができる。

10

【0128】

いくつかの態様において、1つまたは複数のポリヌクレオチドは、酵素のような標識、またはビオチンのようなハプテン(次いで、標識された抗ハプテン抗体で検出される)に結合されてよい。

20

【0129】

したがって、標的特異的なオリゴリボヌクレオチドまたはオリゴデオキシヌクレオチドは、市販されているバイオインフォマティクスソフトウェアを用いて設計することができる。例えば、dsDNA標的を検出する場合、DNAを変性させ、RNAプローブにハイブリダイズさせ、抗RNA:DNAハイブリッド抗体を介して固体支持体上に捕捉することができる。検出は、化学発光検出のためにアルカリホスファターゼと結合させた抗RNA:DNAハイブリッド抗体を含む、様々な方法によって実施することができる。あるいは、例えば、蛍光による検出に適したフィコエリトリンと結合させた抗RNA:DNAハイブリッド抗体を使用するなど、他の方法を使用することもできる。

30

【0130】

他の態様において、本発明の方法は任意で、標的核酸を増幅する段階をさらに含む。増幅技術は当技術分野において公知であり、使用され得る。例えば、全ゲノム増幅(Whole Genome Amplification)(WGA)を使用することができる。WGAは、非特異的プライマーを使用し、標的核酸配列を鑄型として用いてアンプリコンを作製する等温プロセスである。例えば、Phi 29 DNAポリメラーゼが、標的核酸配列を増幅するために非特異的プライマーと組み合わせて使用され得る。このポリメラーゼは、標的核酸配列に沿って移動して、相補鎖を追い出すことができる。追い出された鎖は複製の鑄型となって、高収量の高分子量DNAが生成されることが可能になる。例えば、ヘリカーゼ依存性増幅を使用することができる。

40

【0131】

キット

他の局面において、本発明は、本発明の方法を実施するために必要な構成要素および試薬を含むキットを提供する。キットは、次の内の少なくとも1つを含んでよい:剥離細胞試料を採取するためのdacronスワップのような不活性な試料採取器具;解析するために実験室へと輸送する間、試料を安定化させるための試料搬送培地;塩基、または加水分解試薬;判別対象である標的核酸に特異的な1つまたは複数のポリヌクレオチドプローブ;中和プローブ希釈液;抗ハイブリッド抗体でコーティングした試験管;および任意の必要な対照。

【0132】

50

好ましくは、試料搬送培地はSpecimen Transport Mediumであり；塩基は0.415M NaOHであり；中和プローブ希釈液は、BES/酢酸ナトリウム緩衝液であり；試験管は、ポリクローナル抗ハイブリッド抗体でコーティングされたVentrex Star(商標)チューブであり；結合された抗ハイブリッド抗体は、アルカリホスファターゼに結合されたマウスモノクローナル抗体である。好ましくは、キットはまた、Emerald IIを用いるCDP-Star(登録商標)(Applied Biosystems, Bedford, MA)のように、アルカリホスファターゼを化学発光検出するための基質も含む。

【0133】

実施例を用いて本発明をより詳細に例示するが、本発明はこれらの実施例に限定されないことに留意すべきである。

10

【実施例】

【0134】

実施例1:HPV 18 DNAまたはHPV 16 DNAを判別するためのリボヌクレオチドプローブ

HPV 18 DNAまたはHPV 16 DNAに特異的なRNAプローブを同定するために用いるツールとしてOligoarray 2.0を選択した。この場合、ハイリスク型およびローリスク型のHPV:1、2、3、4、5、6、8、11、13、16、18、26、30、31、33、34、35、39、40、42、43、44、51、52、53、54、56、58、59、61、62、66、67、68、69、70、71、72、73、74、81、82、83、84、および89に対して検査され得る配列データベースが提供された。次いで、関心対象の配列、すなわちHPV 16またはHPV 18をそのデータベースに対してBLAST検索して、同一性のある任意の領域を検索し、類似性を保存した。次に、指定された長さのリボヌクレオチドについてTmおよび%GCを算出し、パラメーターと比較し、その後、二次構造を検査した。BLASTによって決定した類似性を用いて、Mfoldパッケージによってクロスハイブリダイゼーションをチェックした。

20

【0135】

Oligoarray 2.0プログラムのパラメーターは、長さ25nt、Tm範囲55～95、GC範囲35～65%、および55またはそれ以下では二次構造もクロスハイブリダイゼーションも無いリボヌクレオチドを探査するように設定した。これらのパラメーターを用いてHPV 18に対するリボヌクレオチドプローブを決定したところ(HPV45を含まない改変BLASTデータベースを使用。本発明者らはこの型に対する特異性に关心を持っていないため)、合計で標的(すなわち、HPV 18またはHPV 16のウイルスDNA)の約3.7kbをカバーする145個のリボクレオチド(HPV 18の場合)および127個のリボクレオチド(HPV 16の場合)が得られた。選択されたこれらのリボヌクレオチドプローブの配列は、上記の表1および表2に示している。20種のHPVゲノムにおける配列保存を図1aに示す。HPV 18に関して図1bに模式図的に示すように、HPV 18ゲノムの全領域が各プローブ中で表された。

30

【0136】

250nMスケールで、標準的に脱塩したRNAオリゴをIDT technologiesから取り寄せた。オリゴをAmbion社製のRNA保存溶液(Storage Solution)(1mMクエン酸ナトリウム、pH6.4)中で保存した。以下、合成リボヌクレオチドプローブを「synRNA」と呼ぶ。

【0137】

実施例2:HPV 18 synRNAを用いてまたはHPV 18 DNAを検出するためのプロトコール

40

本質的には表16に記載するようにして、ハイブリダイゼーションおよび検出のプロトコールを実施した。

【0138】

(表16) プロトコール

変性	1	試料核酸をアルカリおよび熱によって変性させた。
ハイブリダイズ /捕捉	2	合成RNAプローブを試料に添加し、ハイブリダイズさせ、中和した。
	3	合成RNAプローブ/標的DNAハイブリッドを、基材上に固定した抗ハイブリッド抗体を用いて捕捉した。
結合	4	アルカリホスファターゼを結合させた抗ハイブリッド抗体を添加した。
洗浄	5	試料を洗浄した。
検出	6	アルカリホスファターゼで活性化される化学発光基質を添加した。
読み取り	7	ルミノメーターを用いて試料を読み取った。

10

20

30

40

【0139】

実施例3: 結果

ばらつきをできるだけ無くすために、データを(S-N)/Nとして解析し、(S/N)-1として表した。シグナル=ノイズである場合、データ値=0.0。

【0140】

A HPV18 synRNAによって実証された特異性

表17に示すように、HPV 18用に設計された合成RNAプローブ(synRNA)は、 10^9 個のコピー/アッセイ法(200ng/ml)になるまで、HPV 6ともHPV 16とも交差反応性を示さなかった。synRNA=HPV18 DNAのカバー率3.7kb;25mer、ハイブリダイゼーション時の最終濃度1.34nM。

【0141】

(表17) HPV18 synRNAの特異性

	インプットコピー数	平均RLU	S-N	(S/N)-1
HPV 18	0	55	0	0.0
	5000	167	113	2.1
	10^4	238	183	3.4
	10^5	2044	1989	36.5
HPV 16	0	53	0	0.0
	10^7	79	26	0.5
	10^8	59	6	0.1
	10^9	84	32	0.6
HPV 6	0	51	0	0.0
	10^7	51	0	0.0
	10^8	54	3	0.1
	10^9	60	9	0.2

【0142】

B HPV18 synRNAとHPV45の交差反応性

HPV45は特異性設計の一部分ではなかったため、HPV 18 synRNAはHPV45に対して特異的になるようには設計しなかった。したがって、表18に示すように、HPV 18用のsynRNAがHPV 45プラスミドに対して交差反応性を示すのは、プラスミドコピーが 10^6 個～ 10^7 個の間にあってからのみであった。synRNA=HPV18 DNAのカバー率3.7kb;25mer、ハイブリダイゼーション時の最終濃度1.34nM。

【0143】

(表18):HPV18 synRNAとHPV45の限定期的な交差反応性

50

	インプットコピー数	平均RLU	S-N	(S/N)-1
HPV18 3.7kb RNA	0 c	44	0	0.0
	2500 c	105	61	1.4
	5000 c	111	67	1.5
	10^4 c	184	140	3.2
HPV45 3.7kb RNA	0 c	39	0	0.0
	10^5 c	51	12	0.3
	10^6 c	70	31	0.8
	10^7 c	334	296	7.7

【 0 1 4 4 】

C HPV16 synRNAを用いた特異性の判定

10

表19に示すように、HPV16 synRNAは、10⁹個のコピー / アッセイ法(200ng/ml)になるまで、HPV 6もHPV 18もHPV 45も検出することができない。synRNA =HPV16 DNAのカバー率3.175kb;25mer、ハイブリダイゼーション時の最終濃度1.34nM。

【 0 1 4 5 】

(表19) HPV16 synRNAの特異性

	インプットコピー数	平均RLU	(S/N)-1	%CV
HPV 16	0 c	24	0.0	5%
	5000 c	85	2.5	3%
	10^4 c	157	5.5	3%
	10^5 c	1270	51.4	2%
HPV 18	0 c	24	0.0	0%
	10^7 c	25	0.0	7%
	10^8 c	24	0.0	2%
	10^9 c	25	0.0	5%
HPV 45	0 c	25	0.0	6%
	10^7 c	26	0.0	5%
	10^8 c	28	0.1	17%
	10^9 c	38	0.5	3%
HPV 6	0 c	29	0.0	33%
	10^7 c	24	-0.2	2%
	10^8 c	26	-0.1	2%
	10^9 c	24	-0.2	5%

20

30

【 0 1 4 6 】

D 様々なHPV型の抑止(deterring)

約0.5kbのカバー率の特異的な25merプローブを、HPV 16、HPV 18、HPV 31、およびHPV 45のために提供した。図2に示すように、各HPV型は、コピー10⁶個の際に検出された。synRNAプローブは、どのHPV型が望ましいとしても、当然、それらの検出に同様に適用可能である。

【 0 1 4 7 】

E 検出感度に対するsynRNAカバー率の影響

synRNAプローブの合計カバー率は、アッセイ法のシグナルに影響を与えた。カバー率を上げるとシグナルは非直線的に強まった。これは、より多くのsynRNAプローブがハイブリダイズされるため、塩基スタッキング効果が生じ、一本鎖DNA標的の二次構造がゆるむことによる可能性が高い。図3に示すように、3.7kbのカバー率で、検出感度は5,000コピー / アッセイ法であった。

40

【 0 1 4 8 】

F 検出感度に対するsynRNA濃度の影響

図4に示すように、synRNAの濃度を上昇させると、検出感度が上昇した。25mer synRNAオリゴのTmは約45～約60 であった。プローブ濃度を上昇させるとTmが上昇し、その結果、ハイブリダイゼーションがより効率的になった。synRNA=3.7kbのカバー率;25mer、濃度は図4に示す濃度。

【 0 1 4 9 】

50

G 検出感度に対するsynRNAサイズの影響

図5に示すように、カバー率が等しいことを前提とすると、長いsynRNAの方が、高い感度を与えた。

【0150】**H 検出感度に対するsynRNAの隣接性の影響**

図6に示すように、synRNAプローブが隣接した領域を標的とするほど、感度が上昇した。特定の理論に固執するわけではないが、1つのプローブが結合して標的鎖の二次構造がゆるみ、隣接したsynRNAがハイブリダイゼーションするのにさらに接近しやすい鋳型を提供するために、ハイブリダイゼーション効率が改善したと考えられている。

【0151】**I HPV16およびHPV18は同じレベルで検出される**

図7に示すように、約3.175kbのカバー率のHPV16 synRNAおよび約3.7kbのカバー率のHPV18は、ほぼ同じ結果をもたらした。どちらのsynRNAも、5,000コピーの濃度で各自の標的を検出することができた。

【0152】**J 様々なsynRNA合成化学反応の比較**

TOMアミダイト化学反応(Operon Biotechnologies, Inc., Huntsville, AL)またはtBDMS化学反応(Integrated DNA Technologies (IDT))によってsynRNAを調製した。図8に示すように、様々な化学合成方法を用いて、品質が類似した25merを提供することができる。

【0153】**K 異なる温度での検出**

synRNAから生じるRNA依存性のバックグラウンドが無いため、所望の場合はハイブリダイゼーション温度を低下させて、抗体/抗原相互作用のための許容性がより高い条件を提供することができる(図9)。

【0154】**L 外因性RNaseは検出には不要である**

synRNAは、大部分は二次構造を持たない。これにより、長いRNA二次構造を認識する抗RNA:DNAハイブリッド抗体から生じる、非特異的なRNAに基づくバックグラウンドが排除される。DNAに結合されていないRNAはバックグラウンドシグナルにもはや寄与しないため、このアッセイ法においてRNase Aを使用することは不要となる(図10)。

【0155】**M 考察**

この方法により、特異性およびバックグラウンドの低減が提供された。この方法は、RNaseを必要とせず、SurePath、PC、STM、およびDCMを含む様々な培地に適合性がある。

【0156】

標的カバー率が0.5kbの場合、この方法により提供されたLODは、HPV18の場合5pg/mLでありS/N=3であるのに対し、標的カバー率が2.5kbの場合、1pg/mLの標的検出が可能になり得る。

【0157】**実施例4: 標的捕捉および増幅**

標的増幅構成要素を含めることにより、感度が増強された。この方法では、HPV核酸標的を含むわずか10コピーのHPVプラスミドまたはわずか10個のSiHa細胞を検出した。この方法はまた、強い特異性、すなわち、他のすべてのハイリスクHPV型およびローリスクHPV型からHPV 16プラスミドまたはHPV 18プラスミドを区別する能力を提供した。

【0158】

標的増幅は、例えば、配列特異的プライマーを用いて短いアンプリコンを作製すること(例えば、ポリメラーゼ連鎖反応法)または複数のランダムプライマーを用いて大型のアンプリコンを作製すること(例えば、全ゲノム増幅)を含み得る。増幅させた標的是、様々な異なる検出プラットホームにおいて捕捉し検出することができる。

【0159】

10

20

30

40

50

ハイブリッド特異的抗体を磁性ビーズに結合させ、標的捕捉のために短いタイプの特異的RNAプローブと組み合わせて使用した。試料を処理する手順は、標的増幅前の標的捕捉を含んだ。検出手順は、標的増幅後の標的捕捉を含む。アッセイ法の感度を増強するために、等温WGA技術を用いて、捕捉された任意の標的の非特異的増幅物を作製した。

【0160】

核酸ハイブリッドを形成する型特異的RNAプローブおよび抗RNA:DNAハイブリッド特異的抗体を用いて、関心対象の核酸標的を固体支持体に固定し、捕捉、濃縮、および精製を行った。試料調製プロセスにより、増幅阻害剤および非特異的標的を含まない一本鎖DNA標的が得られ、複数の標的を同時に捕捉することが可能になった。これは、ハイブリッド捕捉抗体を磁性ビーズに結合させ、検出のためにHPV配列特異的RNAプローブを用いることによって実証された。

10

【0161】

抗ハイブリッド抗体と結合させた磁性ビーズを用いて、WGAによって作製したアンプリコンを特異的に捕捉した。短いRNAプローブを特異的検出のために使用した。さらに、アルカリホスファターゼと結合させた抗RNA:DNAハイブリッド抗体を検出のために使用した。

20

【0162】

表20は、1つの態様に従う方法の段階を表すフローチャートを示す。検出試薬1は、好ましくは、digene Hybrid Capture Kit中で提供される検出試薬1であり、検出試薬2は、好ましくは、digene Hybrid Capture Kit中で提供される検出試薬2である。検出試薬1は、RNA:DNAハイブリッドに対するアルカリホスファターゼと結合させた抗体を含み、検出試薬2は、Emerald II(化学発光基質)を用いるCDP-Star(登録商標)を含む。

20

【0163】

(表20) プロトコール

アッセイ法のフローチャート
標的の変性
RNAプローブのハイブリダイゼーションおよび抗ハイブリッド抗体による捕捉
洗浄
等温増幅法
アンプリコンの変性
RNAプローブのハイブリダイゼーションおよび抗ハイブリッド抗体による捕捉
検出試薬1
洗浄
検出試薬2

30

40

【0164】

30分間のWGA後に、100コピーのHPV18プラスミドが得られる(図11)。

【0165】

15分間のWGA後に、500コピーのHPV18プラスミドが検出され;わずか10分間のWGA後に、1000コピーのHPV18プラスミドの検出が得られる(図12)。

【0166】

45分またはそれ以上の長い増幅時間を用いた場合、HPV核酸を含む10コピーのプラスミドまたは10個のSiHa細胞が検出される(図13)。

【0167】

図14は、HPV18に対する特異性を示す。

50

【0168】

これらの結果から、45分間の増幅後、わずか10コピーのプラスミドまたはわずか10個のSiHa細胞が検出され得;わずか10分間の増幅後に約1000コピーのプラスミドが検出され得ることが実証された。

【0169】

実施例5:合成の型特異的ビオチン標識DNAプローブDNAプローブ

別の態様において、合成の型特異的ビオチン標識DNAプローブを用いて、標的mRNAとの二本鎖ハイブリッドを形成させる(図15)。ハイブリッドは、磁性ストレプトアビジンビーズ上に捕捉される。シグナルの増幅および検出は、抗ハイブリッド抗体/アルカリホスファターゼを用いて実施し、結果として生じる化学発光シグナルを検出する。

10

【0170】

実施例6:試料アッセイ法のフロー

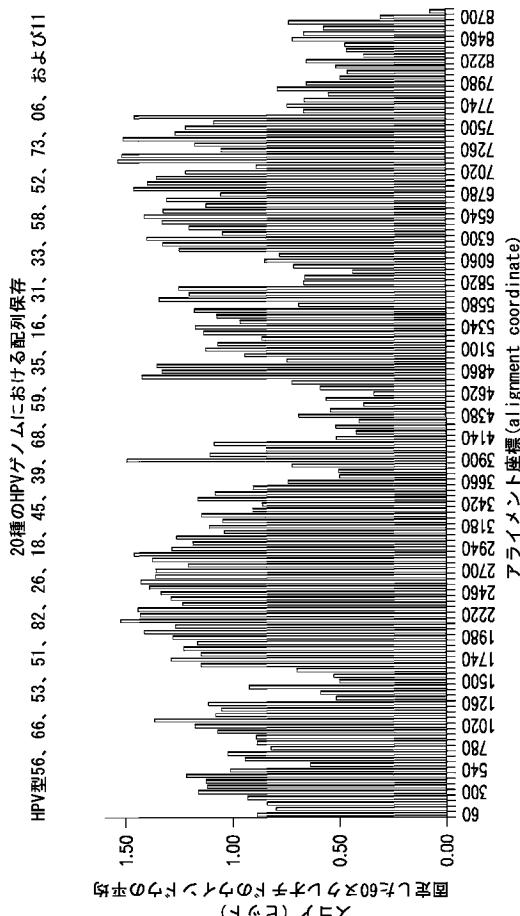
前もって変性させた試料をマルチウェルプレートに移す。変性させた試料に、中和溶液に溶かしたプローブを添加し、振盪しながら室温で約1分間インキュベートして、試料を中和する。標的DNAが合成RNAプローブにハイブリダイズでき、また、固定された抗体によって捕捉され得るように、中和した試料を、固定された抗RNA:DNAハイブリッド抗体を含むプレートに移す。インキュベーションは、約55°で約120分間である。アルカリホスファターゼと結合させた抗RNA:DNAハイブリッド抗体を室温で添加し、約30分間インキュベートする。結合された抗体の段階の後に、プレートを約12分間洗浄する。ジオキセタン基質を添加し、15分間インキュベートする。次いで、ルミノメーターを用いてプレートを読み取る。

20

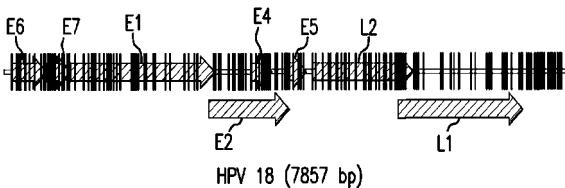
【0171】

ハイブリダイゼーションおよび抗RNA:DNAハイブリッド抗体によるハイブリッド捕捉は、約55°で、同じ段階で実施し、振盪を含んでよい。

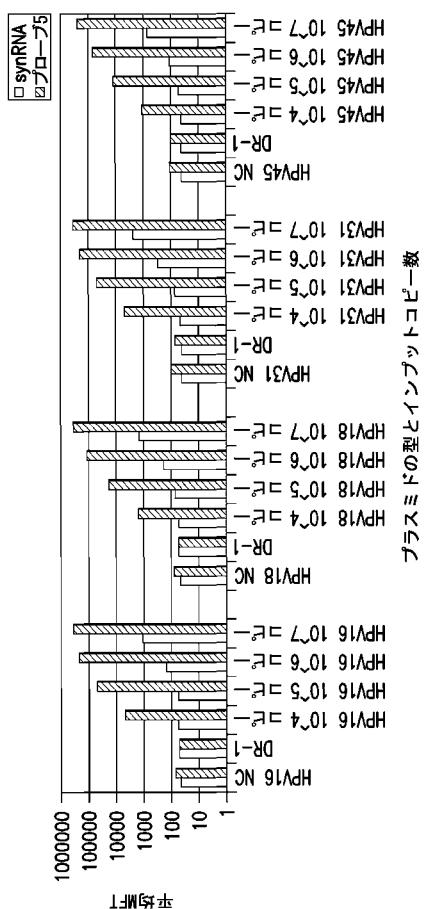
【図1a】



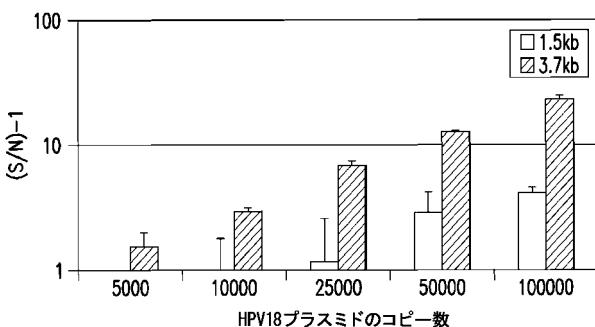
【図1b】



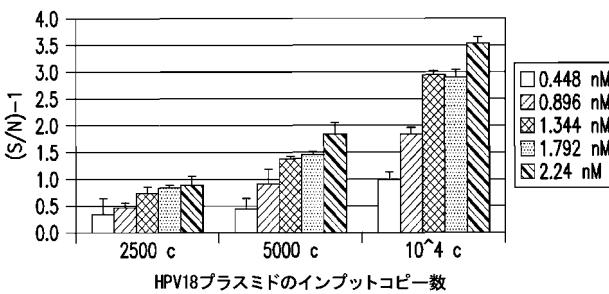
【図2】



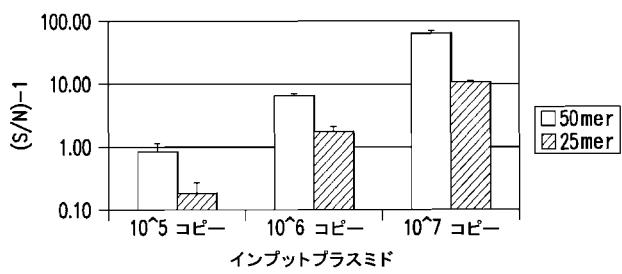
【図3】



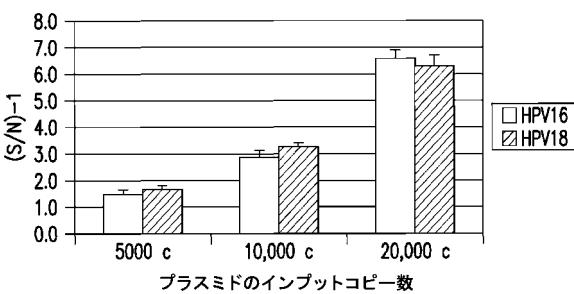
【図4】



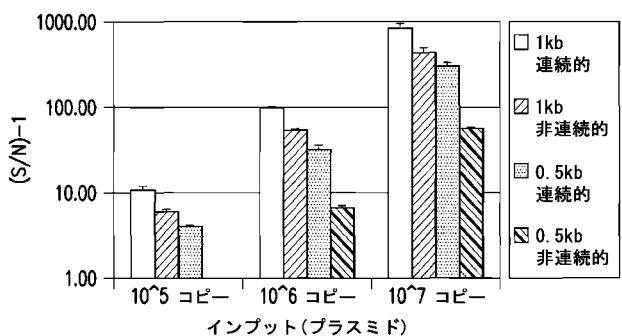
【図5】



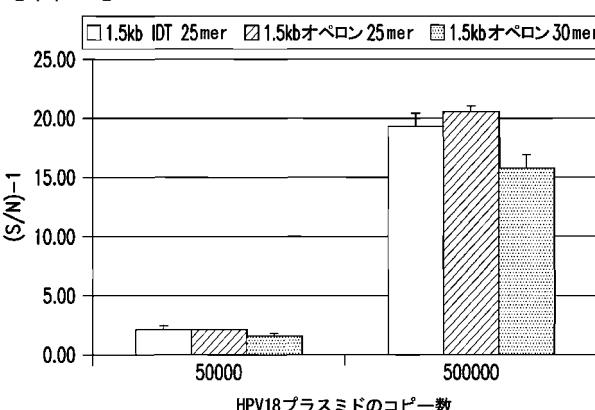
【図7】



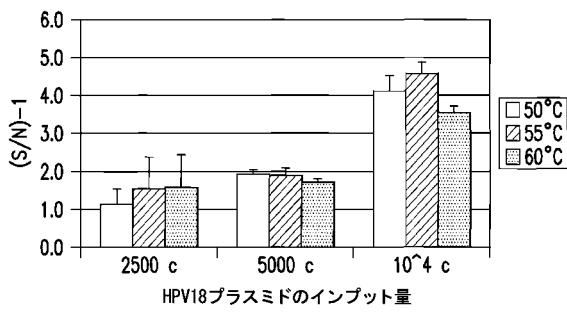
【図6】



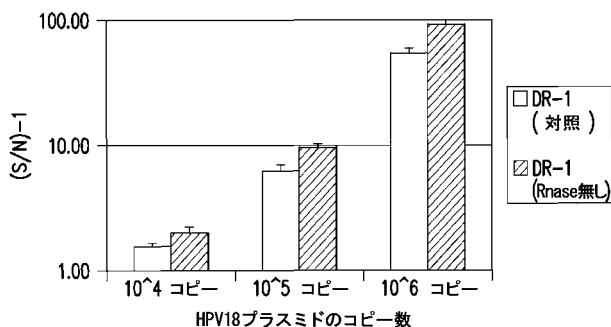
【図8】



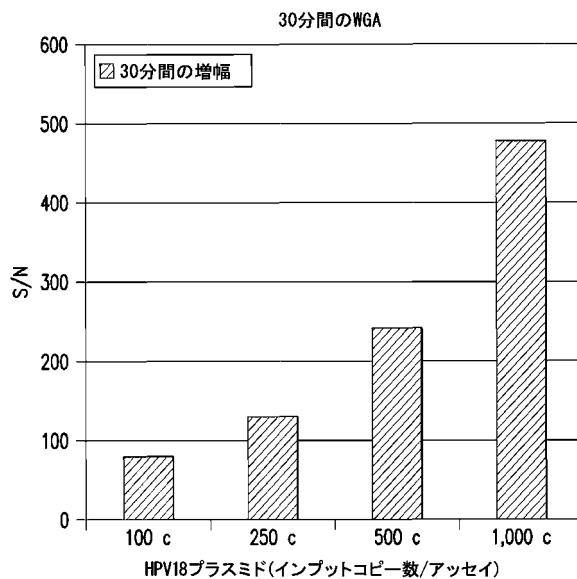
【図9】



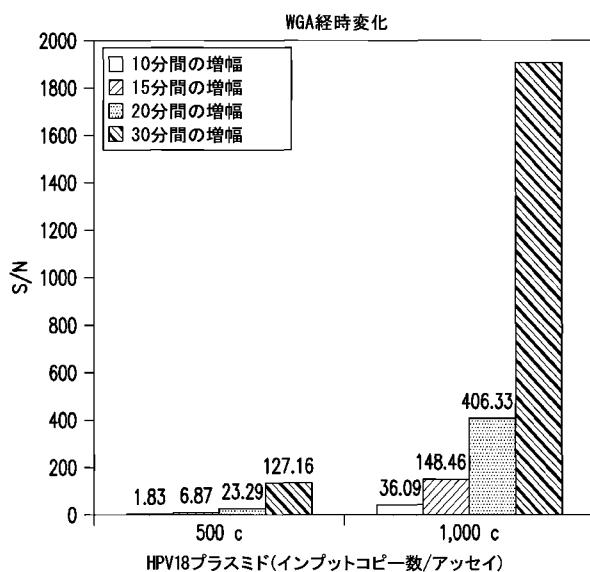
【図10】



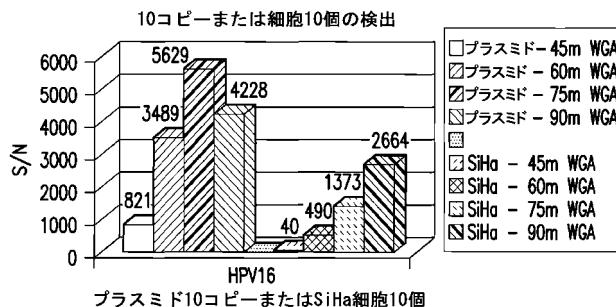
【図11】



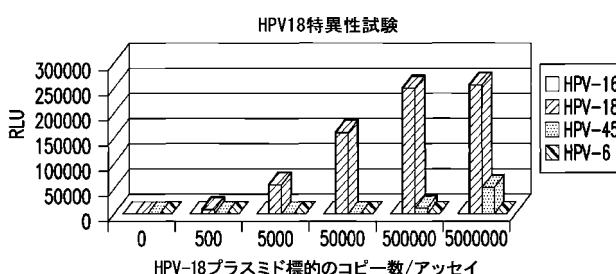
【図12】



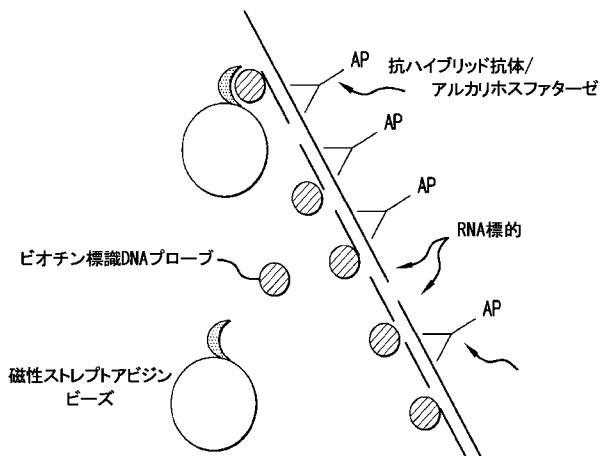
【図13】



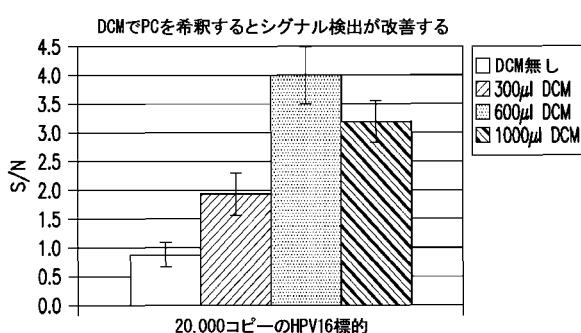
【図14】



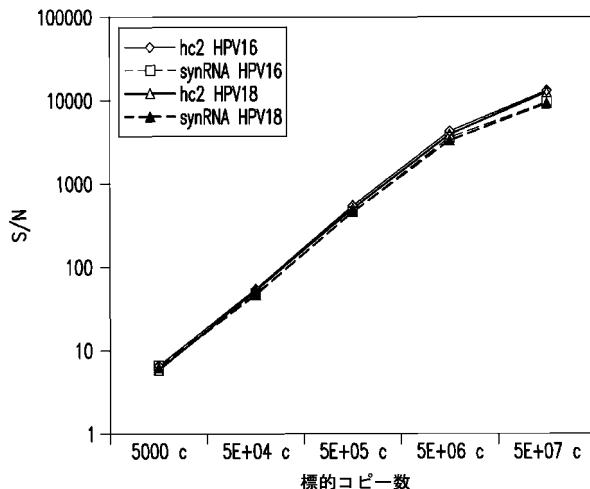
【図15】



【図16】



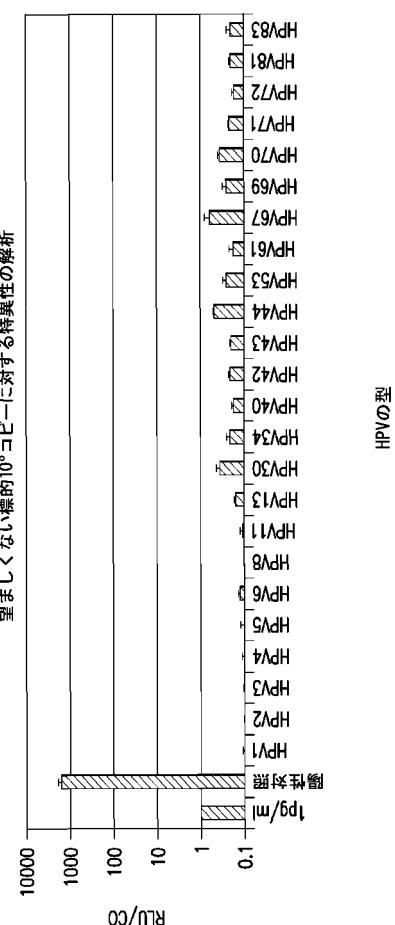
【図17】



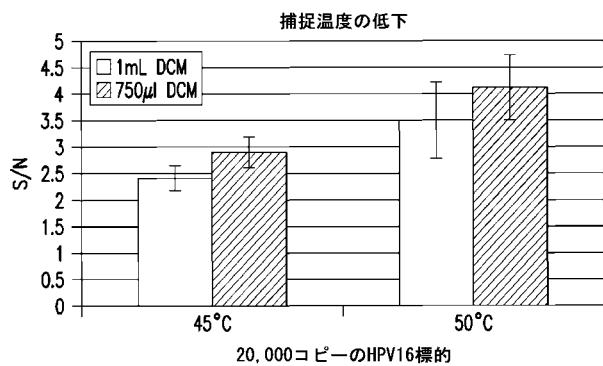
【図18】

標的	平均RLU	S/N	%CV	カバー率
0	129		10%	
16	639	5.0	8%	3.9 kb
18	712	5.5	11%	3.6 kb
31	958	7.5	7%	3.6 kb
33	632	4.9	10%	3.1 kb
35	608	4.7	5%	3.6 kb
39	618	4.8	9%	3.0 kb
45	631	4.9	9%	3.2 kb
51	796	6.2	8%	3.7 kb
52	781	6.1	8%	3.3 kb
56	531	4.1	11%	2.9 kb
58	534	4.2	8%	3.3 kb
59	668	5.2	6%	3.7 kb
66	520	4.0	4%	3.0 kb
68	535	4.2	7%	2.7 kb
82	821	6.4	9%	3.8 kb

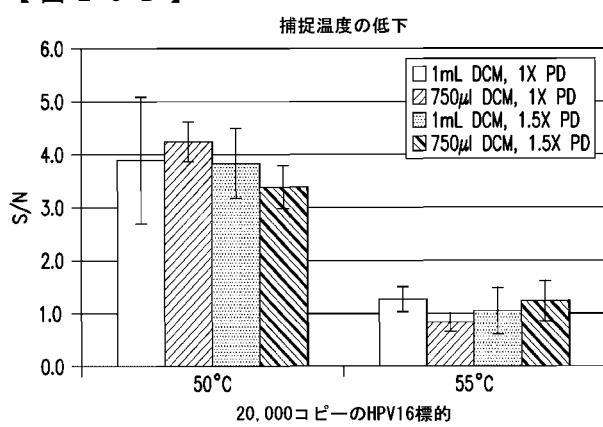
【図19】



【図 20 A】



【図 20 B】



【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2009/041033
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
<i>C12Q 1/68(2006.01)i, C12N 15/11(2006.01)i</i>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 8: C12Q 1/68, G01N 33/53		
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) eKOMPASS, WPI, USPTO, PAJ "HPV, anti-hybrid, antibody, HPV 16, HPV 18, HPV 45, HPV 31, HPV 33, HPV 35, HPV 39, HPV 51, HPV 52, HPV 56, HPV 58, HPV 59, HPV 66, HPV 68, HPV 82, etc."		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X --- Y	KRISTJAN SIGURDSSON et al. 'Human papillomavirus (HPV) in an icelandic population: the role of HPV DNA testing based on hybrid capture and PCR assays among women with screen-detected abnormal PAP smears.' In: International Journal of Cancer. July 1997, Vol.72(3), pp.446-452. See Abstract and "Hybrid capture test" section in p.447, left column.	1-9, 16 --- 10-15, 17
Y	ETHEL-MICHELE DE VILLIERS et al. 'Classification of papillomaviruses.' In: Virology. June 2004, Vol.324(1), pp.17-27. See Table 3.	10, 15
Y	GenBank Accession Number K02718, 'Human papillomavirus type 16 (HPV16), complete genome.', 18 March 1994. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/333031	12, 14, 17
Y	GenBank Accession Number X05015, 'Human papillomavirus type 18 E6, E7, E1, E2, E4, E5, L1 & L2 genes', 18 April 2005. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/60975	11, 14, 17
Y	GenBank Accession Number X74479, 'Human papillomavirus type 45 genomic DNA.', 18 April 2005. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/397022	13, 14, 17
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
<p>* 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 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</p> <p>"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</p>		
Date of the actual completion of the international search 17 DECEMBER 2009 (17.12.2009)	Date of mailing of the international search report 22 DECEMBER 2009 (22.12.2009)	
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	Authorized officer Heo, Joo-Hyung Telephone No. 82-42-481-8150	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/041033

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 1993-10263 A1 (DIGENE DIAGNOSTICS, INC., US) 27 May 1993 See the whole document	1-7, 9, 16
X	EP 0163220 A2 (MILES LABORATORIES, INC., US) 04 December 1985 See the whole document	1-3, 16
X	US 4,743,535 (ROBERT J. CARRICO, US) 10 May 1988 See the whole document	1-3, 16
Y	GenBank Accession Number J04353, 'Human papillomavirus type 31 (HPV-31), complete genome.', 18 March 1994. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/333048	14, 17
Y	GenBank Accession Number M12732, 'Human papillomavirus type 33, complete genome.', 21 March 1994. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/333049	14, 17
Y	GenBank Accession Number M74117, 'Human papillomavirus type 35, complete genome.', 10 May 2002. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/333050	14, 17
Y	GenBank Accession Number M62849, 'Human papillomavirus ORFs.', 26 January 2001. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/333245	14, 17
Y	GenBank Accession Number M62877, 'Human papillomavirus type 51 genomic DNA, partial sequence.', 29 October 1999. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/333087	14, 17
Y	GenBank Accession Number X74481, 'Human papillomavirus type 52 genomic DNA.', 18 April 2005. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/397038	14, 17
Y	GenBank Accession Number X74483, 'Human papillomavirus type 56 genomic DNA.', 18 April 2005. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/397053	14, 17
Y	GenBank Accession Number D90400, 'Human papillomavirus type 58, complete genome.', 07 December 2007. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/222386	14, 17
Y	GenBank Accession Number X77858, 'Human papilloma virus type 59, complete viral genome.', 18 April 2005. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/557236	14, 17
Y	GenBank Accession Number U31794, 'Human papillomavirus type 66, complete genome.', 18 October 1995. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/1020290	14, 17
Y	GenBank Accession Number X67161, 'Human papilloma virus L1 gene for major capsid protein.', 18 April 2005. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/1197494	14, 17
Y	GenBank Accession Number AB027021, 'Human papillomavirus type 82 DNA, complete genome.', 22 June 2000. See http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/6970427	14, 17
A	BERNHARD KLETER et al. 'Development and clinical evaluation of a highly sensitive PCR-reverse hybridization line probe assay for detection and identification of anogenital human papillomavirus.' In: Journal of Clinical Microbiology. August 1999, Vol.37(8), pp.2508-2517. See the whole document	1-17

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/US2009/041033

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 1993-10263 A1	27.05.1993	WO 1997-10364 A1 US 2002-0012936 A1 JP 03-091492 B2 GR 3033345 T3 FI 0112095 B1 ES 2145750 T3 EP 0667918 A1 DK 0667918 T3 DE 69230693 C0 AU 0679813 B2 AT 0189831 E	20.03.1997 31.01.2002 25.09.2000 29.09.2000 31.10.2003 16.07.2000 23.08.1995 05.06.2000 23.03.2000 28.11.1996 15.03.2000
EP 0163220 A2	04.12.1985	ZA 1985-03756 A US 5,200,313 NO 0166301 B JP 01-830339 C3 IL 0072499 A0 FI 0086311 B ES 0534864 A1 EP 0133671 A2 DK 0163383 B DE 3484832 C0 CA 1231303 A1 AU 0587188 B2 AT 0054028 E	29.01.1986 06.04.1993 18.03.1991 15.03.1994 30.11.1984 30.04.1992 16.08.1985 06.03.1985 24.02.1992 29.08.1991 12.01.1988 10.08.1989 15.07.1990
US 4,743,535	10.05.1988	ZA 1984-09596 A US 4,563,417 NO 0164384 B JP 05-031108 B4 IL 0073577 A1 FI 0084838 B ES 0538540 A1 EP 0144913 A2 DK 0160107 B CA 1238575 A1 AU 0578436 B2 AT 0055821 E	31.07.1985 07.01.1986 18.06.1990 11.05.1993 31.10.1989 15.10.1991 01.06.1986 19.06.1985 28.01.1991 28.06.1988 27.10.1988 15.09.1990

フロントページの続き

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

(71)出願人 311003569
オニール ドミニク
アメリカ合衆国 メリーランド州 ゲイサーズバーグ クロッパー ロード 1201

(74)代理人 100102978
弁理士 清水 初志

(74)代理人 100102118
弁理士 春名 雅夫

(74)代理人 100160923
弁理士 山口 裕孝

(74)代理人 100119507
弁理士 刑部 俊

(74)代理人 100142929
弁理士 井上 隆一

(74)代理人 100148699
弁理士 佐藤 利光

(74)代理人 100128048
弁理士 新見 浩一

(74)代理人 100129506
弁理士 小林 智彦

(74)代理人 100130845
弁理士 渡邊 伸一

(74)代理人 100114340
弁理士 大関 雅人

(74)代理人 100114889
弁理士 五十嵐 義弘

(74)代理人 100121072
弁理士 川本 和弥

(72)発明者 ナザレンコ イリナ
アメリカ合衆国 メリーランド州 ゲイサーズバーグ クロッパー ロード 1201

(72)発明者 オニール ドミニク
アメリカ合衆国 メリーランド州 ゲイサーズバーグ クロッパー ロード 1201

(72)発明者 パショウイツツ カロリーナ
アメリカ合衆国 メリーランド州 ゲイサーズバーグ クロッパー ロード 1201

F ターム(参考) 4B024 AA11 CA04 CA09 HA14
4B063 QA01 QA19 QQ42 QR13 QR48 QR51 QR56 QR58 QS33 QS34
QX02