

(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2009-529576

(P2009-529576A)

(43) 公表日 平成21年8月20日 (2009. 8. 20)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00 Z N A	4 B 0 2 4
A 6 1 K 39/245 (2006.01)	A 6 1 K 39/245	4 B 0 6 5
A 6 1 K 39/29 (2006.01)	A 6 1 K 39/29	4 C 0 8 4
A 6 1 K 39/21 (2006.01)	A 6 1 K 39/21	4 C 0 8 5
A 6 1 P 31/12 (2006.01)	A 6 1 P 31/12	
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 78 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号 特願2009-500402 (P2009-500402)
 (86) (22) 出願日 平成19年3月9日 (2007. 3. 9)
 (85) 翻訳文提出日 平成20年11月10日 (2008. 11. 10)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2007/006113
 (87) 国際公開番号 W02007/106404
 (87) 国際公開日 平成19年9月20日 (2007. 9. 20)
 (31) 優先権主張番号 60/781, 123
 (32) 優先日 平成18年3月10日 (2006. 3. 10)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 592130699
 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ
 ティ オブ カリフォルニア
 The Regents of The
 University of Calif
 ornia
 アメリカ合衆国 カリフォルニア 946
 07, オークランド, フランクリン スト
 リート 1111, 12ティーエイチ フ
 ロアー
 (74) 代理人 100082005
 弁理士 熊倉 禎男
 (74) 代理人 100084009
 弁理士 小川 信夫

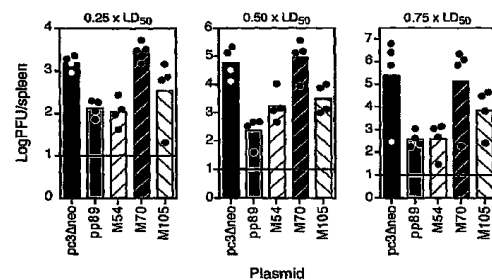
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 持続感染または潜伏感染を引き起こすウイルスに対するワクチン

(57) 【要約】

本発明は、一般に、持続感染および/または潜伏感染に関与するウイルスによる感染を予防または治療する方法および組成物に関する。本方法および組成物は、ウイルス、例えばサイトメガロウイルスを含む、ヘルペスウイルス、レトロウイルス、肝炎ウイルスおよびパピローマウイルスなどにより引き起こされる感染の予防および治療に関する。

【選択図】 図 1



【特許請求の範囲】

【請求項 1】

高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも1つのDNA配列を含むDNA分子を個体に投与することを含む、ウイルス感染を予防または治療する方法。

【請求項 2】

前記ウイルスが持続感染または潜伏感染を引き起こす、請求項1記載の方法。

【請求項 3】

前記ウイルスがヘルペスウイルス、レトロウイルス、肝炎ウイルスおよびパピローマウイルスからなる群から選択される、請求項1または2記載の方法。

【請求項 4】

前記ウイルスがサイトメガロウイルスである、請求項1または2記載の方法。

【請求項 5】

前記ウイルスがヒトサイトメガロウイルスである、請求項1または2記載の方法。

【請求項 6】

前記DNA分子が精製プラスミドDNAである、請求項1～5のいずれかに記載の方法。

【請求項 7】

弱毒生ウイルスまたは不活化ウイルスを含む追加免疫ワクチンを投与することをさらに含む、請求項1～6のいずれかに記載の方法。

【請求項 8】

前記ウイルスが化学的に不活化されている、請求項7記載の方法。

【請求項 9】

前記化学的不活化がホルマリン不活化である、請求項8記載の方法。

【請求項 10】

前記ウイルスが弱毒化されている、請求項7記載の方法。

【請求項 11】

前記ウイルスがHCMVであり、前記弱毒ウイルスがHCMVのTowne株である、請求項10記載の方法。

【請求項 12】

前記DNA分子が、少なくとも2つの高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも2つのDNA配列を含む、請求項1～11記載の方法。

【請求項 13】

前記DNA分子が、少なくとも3つの高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも3つのDNA配列を含む、請求項1～11記載の方法。

【請求項 14】

前記DNA分子が、少なくとも2つの高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも4つのDNA配列を含む、請求項1～11記載の方法。

【請求項 15】

前記DNA分子が、5～10の高度に保存されたウイルス遺伝子由来の5～10のDNA配列を含む、請求項1～11記載の方法。

【請求項 16】

前記高度に保存されたウイルス遺伝子が、マウスgB、M54、M105、ヒトgB、UL54およびUL105からなる群から選択されるCMV遺伝子である、請求項1～15記載の方法。

【請求項 17】

高度に保存された必須HCMV遺伝子由来の少なくとも1つのDNA配列を含むDNA分子を投与することを含む、個体においてHCMV感染を予防または治療する方法。

【請求項 18】

前記個体が妊娠している、請求項16記載の方法。

【請求項 19】

前記個体が女性である、請求項16記載の方法。

【請求項 20】

10

20

30

40

50

前記個体が臓器移植レシピエントである、請求項16記載の方法。

【請求項 2 1】

前記個体が臓器移植ドナーである、請求項16記載の方法。

【請求項 2 2】

前記個体が1歳未満の小児である、請求項16記載の方法。

【請求項 2 3】

弱毒生HCMVウイルスまたは不活化HCMVウイルスを含む追加免疫ワクチンをさらに含む、請求項17～22記載の方法。

【請求項 2 4】

前記弱毒ウイルスがHCMVのTowne株である、請求項23記載の方法。

10

【請求項 2 5】

高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも1つのDNA配列を含むDNA分子を含むワクチン組成物であって、前記ウイルスが持続感染または潜伏感染を引き起こす前記ワクチン組成物。

【請求項 2 6】

前記ウイルスがヘルペスウイルス、レトロウイルス、肝炎ウイルスおよびパピローマウイルスからなる群から選択される、請求項25記載のワクチン組成物。

【請求項 2 7】

前記ウイルスがヒトサイトメガロウイルスである、請求項26記載のワクチン組成物。

【請求項 2 8】

前記DNA分子が、少なくとも2つの高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも2つのDNA配列を含む、請求項27記載のワクチン組成物。

20

【請求項 2 9】

前記DNA分子が、少なくとも3つの高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも3つのDNA配列を含む、請求項27記載のワクチン組成物。

【請求項 3 0】

前記高度に保存されたウイルス遺伝子がgB、UL54およびUL105からなる群から選択される、請求項27～29記載のワクチン組成物。

【請求項 3 1】

請求項25～30のいずれかに記載の第1ワクチン組成物および弱毒生ウイルスまたは不活化ウイルスを含む第2ワクチン組成物を含むキット。

30

【請求項 3 2】

前記第1ワクチン組成物が、高度に保存されたヒトサイトメガロウイルス遺伝子由来の少なくとも1つのDNA配列を含むDNA分子を含み、前記第2ワクチン組成物が弱毒生HCMVを含む、請求項31記載のキット。

【請求項 3 3】

高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも1つのDNA配列を含むDNA分子を前記個体に投与することを含む、個体においてCD8+T細胞応答を誘発する方法。

【請求項 3 4】

前記ウイルスが持続感染または潜伏感染を引き起こす、請求項33記載の方法。

40

【請求項 3 5】

前記ウイルスがヘルペスウイルス、レトロウイルス、肝炎ウイルスおよびパピローマウイルスからなる群から選択される、請求項33または34記載の方法。

【請求項 3 6】

前記ウイルスがサイトメガロウイルスである、請求項33または34記載の方法。

【請求項 3 7】

前記ウイルスがヒトサイトメガロウイルスである、請求項33または34記載の方法。

【請求項 3 8】

前記DNA分子が精製プラスミドDNAである、請求項33～37のいずれかに記載の方法。

【請求項 3 9】

50

弱毒生ウイルスまたは不活化ウイルスを含む追加免疫ワクチンを投与することをさらに含む、請求項33～38のいずれかに記載の方法。

【請求項 4 0】

前記ウイルスが化学的に不活化されている、請求項39記載の方法。

【請求項 4 1】

前記化学的不活化がホルマリン不活化である、請求項40記載の方法。

【請求項 4 2】

前記ウイルスが弱毒化されている、請求項39記載の方法。

【請求項 4 3】

前記ウイルスがHCMVであり、前記弱毒ウイルスがHCMVのTowne株である、請求項40記載の方法。

10

【請求項 4 4】

前記DNA分子が、少なくとも2つの高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも2つのDNA配列を含む、請求項33～43記載の方法。

【請求項 4 5】

前記DNA分子が、少なくとも3つの高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも3つのDNA配列を含む、請求項33～43記載の方法。

【請求項 4 6】

前記DNA分子が、少なくとも2つの高度に保存されたウイルス遺伝子由来の少なくとも4つのDNA配列を含む、請求項33～43記載の方法。

20

【請求項 4 7】

前記DNA分子が、5～10の高度に保存されたウイルス遺伝子由来の5～10のDNA配列を含む、請求項33～43記載の方法。

【請求項 4 8】

前記高度に保存されたウイルス遺伝子が、マウスgB、M54、M105、ヒトgB、UL54およびUL105からなる群から選択されるCMV遺伝子である、請求項33～47記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【0001】

連邦政府による資金提供を受けた研究の記載

30

本発明は、米国立衛生研究所による助成金番号R01A1051557の元で連邦政府の支援を受けて行われた。連邦政府は本発明に一定の権利を有しうる。

【0002】

技術分野

本発明は、一般に、持続感染および/または潜伏感染に関与するウイルスによる感染を予防または治療する方法および組成物に関する。

【0003】

優先権

本出願は、Vaccine for Human Cytomegalovirusと題して2006年3月10日に提出された米国仮出願出願番号US60/781,123に基づく優先権を主張する(その全体が参照により本願に組み込まれる)。

40

【0004】

背景技術

現行ワクチンの大部分は、急性感染を引き起こし、ついで免疫系により排除される疾患を標的とする。ワクチン開発において、重要な選択基準は、所定の免疫原が強力なT細胞応答を引き起こすことができる程度であった。しかしながら、この戦略は、持続感染または潜伏感染、例えばヒトサイトメガロウイルス(human cytomegalovirus)(HCMV)により引き起こされるものには最適ではなかった。実際に、大変強力なT細胞応答を引き起こすが、持続感染または潜伏感染を引き起こすウイルスに対するワクチンとしては効果のない免疫原もある。

50

【 0 0 0 5 】

ワクチンは、多くの場合の免疫優勢な(immunodominant)ウイルスタンパク質を標的とする。すなわち、ワクチンは、しばしば健常宿主の免疫系により認識され標的とされる同じ抗原を利用する。前臨床試験および臨床試験におけるHCMV候補ワクチンは、免疫適格健常宿主のHCMV感染中に標的とされることが知られているHCMVタンパク質に対してCD8+T細胞または中和抗体反応を誘発することに焦点が合わされている。試験されているCD8+T細胞媒介性免疫のHCMV標的は、通常、免疫優勢なUL83-pp65およびIE1-pp72タンパク質である。これらのウイルスタンパク質に特異的なCD8+T細胞は防御に有効と考えられるが、動物モデルにおける最近の結果により、感染宿主内に多数存在するにもかかわらず、免疫優勢なCMV抗原に対するCD8+T細胞は防御に有効ではないことが示唆されている。

10

【 0 0 0 6 】

アメリカ合衆国においては、毎年およそ40,000人の新生児がヒトサイトメガロウイルス(HCMV)により先天的に感染を受けている。妊娠中、ヒトサイトメガロウイルス(HCMV)が胎児に効率的に感染することは長年の間認められていることであり、全新生児の0.5~2.5%が先天性感染症の証拠を示す。残念なことに子宮内感染は無害ではなく、先天的に感染した乳児の5~10%は出生時に症候性であり、重症の神経障害を伴う(概説については、(67)参照)。出生時に症候性である5%~10%のうち、大部分は小頭症、感音難聴、視神経萎縮、脈絡網膜炎および肢体不自由などの後遺症を発症する。出生時に無症候性に見える感染した小児であっても、これらの小児のうち10~15%は後年種々の程度の神経障害を示すのでハイリスクである。デイケアセンターにおける小児間のHCMV感染率は高く、これらの小児はしばしば血清反応陰性の母親または介護担当者にウイルスを感染させるので、デイケアセンターにおける幼児数の大幅な増加は問題を深刻にしている。感染した小児を生んだ女性の例年のセロコンバージョン率は30%であるのに対し、感染していない小児を生んだ女性のセロコンバージョン率は3%である。さらに、潜在的ワクチンとして試験されたHCMVのTowne株を用いる免疫感作は、感染率の有意の低下をもたらさなかった。通常は妊娠すると考えられる女性の群なので、新生児へのリスクは大きい。母親の血清学的状況は新生児の疾患の防御と正に相関するが、一方で、妊娠前免疫では、再発性感染または異なるHCMV株の感染から新生児の疾患を完全には防御しないことを最近の証拠は強く示唆している(4、21)。子宮内感染の破壊的な結果から、急性感染および潜伏の成立の両方を予防する有効で安全なワクチンを開発することが急務である。新生児における影響に加えて、他の集団、例えば固形組織および骨髄移植の両方を含む臓器移植者などにおけるHCMV疾患は極めて重篤な恐れがあり、移植数が顕著に増加してきているので、多くの注目を集めてきた。

20

30

【 0 0 0 7 】

HCMV疾患からの回復は、CMV中和抗体の存在よりもむしろ細胞性免疫反応と関連している(59、70)。HCMV特異的CTLの大部分は、HCMV UL83(pp65)マトリックスリン酸化タンパク質に対するものであり、HCMV IE172-kDaタンパク質(MCMV gBの機能的ホモログ)および構造糖タンパク質Bに特異的なCTLが比較的低レベル伴っていると最初に推測された(1、5、23、28、55、78)。続いて、IE1に対するCD8+CTLの頻度はpp65(30、43)に対するものと同様であり、多数のHCMVタンパク質がCD8+T細胞の潜在的標的であることが見いだされた(14、50)。

40

【 0 0 0 8 】

中和抗体およびCD8+T細胞応答の抗原標的の多くが同定されているにもかかわらず、HCMV疾患に対する有効なワクチンは長年の間手に入れることが困難な目標であった(概説については、(26、67)参照)。組織培養に継代接種したTowne株を用いた臨床試験により、中和抗体およびCTLの両方が誘導され、臓器移植者および低用量HCMVチャレンジを受けたボランティアにおける重篤な疾患に対してわずかに防御するが、幼児に接触している、HCMVを排出している女性における感染を防御する事ができないことが見いだされた。サブユニットワクチン(MF59でアジュバントされた)ばかりでなく、組換え複製欠損性キャナリーボックスベクター-ALVAC-CMV(gB)として、ウイルスの中和抗体を誘導するワクチンのために、

50

エンベロープの糖タンパク質B(gB)が根拠として用いられてきた。どちらのワクチンも臨床試験において認容性が良好であることが見いだされ、サブユニットgBワクチンは血清反応陰性ボランティアにおいて高レベルのHCMV中和抗体を誘発することが見いだされたが、ALVAC-CMV(gB)は、Towneを用いる後続の追加免疫後に中和抗体を誘発することができたに過ぎなかった。強いpp65特異的CTLレベルばかりでなく、HCMV血清反応陽性被験者において見られるものと同様なCTL前駆細胞頻度が誘発されたので、pp65を発現するALVAC-CMV(pp65)ベクターを用いて血清反応陰性被験者にワクチン接種した後、予備的な結果が得られた。マウスにおいて前臨床試験が行われた他のワクチン接種アプローチには、gBまたはpp65をコードするプラスミドDNA(pDNA)、pp65の保存されたCD8+T細胞エピトープのペプチド、暗調小体(dark body)および、つい最近では、gBを発現する組換えワクシニアウイルスAnkaraが含まれる(2、16、17、46、69、91)。しかしながら、重要な問題は、血清反応陰性個体において、これらが感染を防ぐかどうかである。

10

【0009】

HCMV感染を予防することができ、HCMV複製およびおそらくは母子垂直感染または移植レシピエントにおけるウイルス播種および疾患を抑制することができるHCMVワクチンが求められている。

【0010】

単純ヘルペスウイルス2型(HSV-2)は世界中に分布する医学的に重要な病原体であり、米国では過去20年間にわたって血清陽性率が増加している。世界の人口の10~50%がHSV-2に感染しており、米国では人口の20%が感染していると推定されている(概説については、(92)参照)。ヘルペスウイルスの特有の特徴は、潜伏期(すなわち、感染性ウイルスの不在および抑制されたウイルス遺伝子発現を特徴とする状態)に入ることができることである。種々の刺激に応じて、このウイルスは再活性化し、自己複製し、感染性ビリオンを生じる。通例、血清反応陰性個体と感染性ウイルスを排出している個体との性的接触に次いでHSV-2感染が始まる。生殖器、生殖器周囲または肛門の粘膜皮膚部位の一次感染に次いで、通常仙骨神経節への感染がおり、そこでウイルスが潜伏を成立させる。神経節からの再活性化は、続いて膣または陰茎皮膚における感染およびウイルス排出を引き起こす。頻繁な生殖器ヘルペス再活性化は、身体的な不快感および心理的ストレスの原因となるばかりでなく、しばしば死に至る、新生児における重篤な疾患を引き起こす恐れもある。性感染を制御する上で主な問題は、ウイルスの排出が無症候性の場合があり、HSV-2感染の罹患率が増え続けていることである。抗ウイルス剤は利用できるが、このウイルスの終世にわたる存続は、感染および潜伏の成立を予防するためのワクチンの開発に対して強い機動力となっている。

20

30

【0011】

感染および潜伏の成立を予防し、それによって再発の可能性を排除するための有効なワクチンの開発が求められている。今日までの大抵のワクチン戦略はヒトの臨床試験に成功していないが、長年にわたって得られた免疫学的データにより、病変からのウイルスクリアランスに、自然免疫反応および、CD8およびCD4 T細胞が主な役割を果たす獲得免疫反応によりHSV-2感染が制御されることが示されている。T細胞系防御ワクチンの基礎を与えるために、最近の研究は、感染によりプライミングされるHSV-2タンパク質の多くを同定している。しかしながら、HSV-2感染に対する細胞性反応および抗体反応は、再発性感染およびウイルス排出に対して滅菌免疫(sterilizing immunity)および防御を示すには不十分である。従って、成功するワクチンにより引き起こされる免疫反応は、自然免疫よりもより有効でなければならない。

40

【0012】

概要

本発明は、一般に持続感染および/または潜伏感染に関与するウイルスによる感染を予防または治療する方法および組成物に関する。本方法および組成物は、ウイルス、例えばサイトメガロウイルスを含む、ヘルペスウイルス、レトロウイルス、肝炎ウイルスおよびパピローマウイルスなどにより引き起こされる感染の予防および治療に関する。

50

【 0 0 1 3 】

詳細な説明

驚いたことに、高度に保存された遺伝子由来のDNAまたは高度に保存された遺伝子産物をコードするDNAで免疫することにより、持続感染または潜伏感染を引き起こすウイルスに対する強力な免疫反応が得られることが見いだされた。通例免疫優勢なタンパク質を標的とする旧来のワクチンと対照的に、本来なら自然免疫反応により標的とされないタンパク質を標的とするワクチンにより、持続感染または潜伏感染に対する有効な反応が得られる。本発明はまた、例えば初回免疫段階において必須ウイルス遺伝子をコードするDNAワクチンを投与し、追加免疫段階において死滅ウイルスまたは弱毒生ウイルスを投与することにより、持続感染または潜伏感染を引き起こすウイルスに対して有効な免疫反応を誘導する新規な方法を提供する。本発明は、例えばサイトメガロウイルスを含む、ヘルペスウイルス、レトロウイルス、肝炎ウイルスおよびパピローマウイルスなどの持続感染または潜伏感染関連ウイルスに対する有効な免疫を生じるのに使用できる。

10

20

【 0 0 1 4 】

ワクチンの標的として高度に保存されたウイルスタンパク質を用いる1つの利点は、複製するためにはウイルスは標的とされる遺伝子産物を発現しなければならない、従ってそれらの発現を排除することにより免疫検出を逃れることができないことである。もう1つは、これらの遺伝子に特異的なCD8+T細胞を本来なら逃れることができるウイルス変異体が、それらのコードされるタンパク質の酵素活性を維持するためにそれらの遺伝子の保存の必要性があるため、生じる可能性が低いと考えられることである。

【 0 0 1 5 】

本発明の一実施形態において、本ワクチンは、初回免疫段階および追加免疫段階において、必須で保存されたウイルス遺伝子をコードするプラスミドDNAおよび死滅ウイルスまたは弱毒生ウイルス製剤を送達することからなる。当業者は、送達の順序および方法を決定する事ができる。例えば、保存されたウイルス必須タンパク質に対する特異的なCD8+T細胞応答を誘発するためにプラスミドDNAが送達される。その後のHCMVによる感染の際に、これらのCD8+T細胞は、宿主内のウイルスに感染した細胞を認識して破壊し、それにより標的器官内のウイルスの複製を抑制し、疾患を予防する事ができる。

【 0 0 1 6 】

免疫感作手順の初回免疫アームは、CD8+Tリンパ球防御反応を誘発するウイルス遺伝子標的を発現する精製プラスミドDNAを送達することからなるが、ワクチンの追加免疫アームは、化学的死滅HCMVまたは弱毒生HCMVを送達して、ウイルスの播種を抑制するのに役立つウイルス中和抗体を誘発することからなる。高度に保存されたHCMV必須遺伝子に対する抗ウイルスCD8+T細胞免疫を標的とすることは特に重要である。なぜならば、1)複製するためにはウイルスは標的とされる遺伝子産物を発現しなければならない、従ってそれらの発現を排除することにより免疫検出を逃れることができない、2)これらの遺伝子に特異的なCD8+T細胞を本来なら逃れることができるウイルス変異体は、それらのコードされるタンパク質の酵素活性を維持するためにそれらの遺伝子の保存の必要性があるため、生じる可能性が低いと考えられる、3)HCMV感染中、これらの遺伝子産物に対するCD8+T反応は全般的に低いことが見いだされており、従ってプラスミドDNAでプライミングされた、これらの遺伝子産物に対するCD8+T細胞は、ウイルス感染により誘発される最終的に不完全防御よりも質的によりすぐれた防御を与えることができる、そして4)HCMVと、モデル動物に感染するCMVとの間での高レベルの保存は、ヒト被験者における第1相臨床試験に対する動物モデルにおける効果データを提供するからである。

30

40

【 0 0 1 7 】

本ワクチンは、任意の個体を免疫するために使用できる。"個体"とは、任意の動物、例えば哺乳動物を意味し、または例えば、治療を必要とする患者などを含むヒトを意味する。FDAにより認可され、商用認可されたHCMVワクチンは、その防御能力に応じて、リスクのある特定の集団に、あるいは小児期予防接種の一部としてできる限りすべての小児に、医師または診療所により販売され、投与されることができる。"リスクのある"集団とは、

50

例えば、妊娠可能年齢前の女性、小児、1歳未満の小児、介護担当者および臓器移植者または移植ドナーを含む、HCMVにより引き起こされる疾患または他へのHCMV感染を媒介する事ができる疾患のリスクのある任意の個体を意味する。例えば移植片が提供される前に移植ドナーを処置することにより、レシピエントの感染を避けることができる。移植片は、例えば、造血幹細胞および固形臓器移植片を含むことができる。

【0018】

疾患

本発明により治療、予防できあるいは症状の軽減を示すことができる疾患または状態は、持続感染または潜伏感染を引き起こすウイルスによる急性または潜伏感染を含む任意の疾患または状態を含む。これらは、例えばサイトメガロウイルスを含む、ヘルペスウイルス、レトロウイルス、肝炎ウイルスおよびパピローマウイルスなどによる感染を含む疾患などを含む。本明細書において治療というとき、成立した感染または症状の治療ばかりでなく予防にまで及ぶことは、当業者には明らかであろう。

【0019】

DNAワクチン接種

動物組織へのpDNAの直接接種("ネイキッド(naked)DNA法"または"DNA免疫感作")は、旧来の免疫感作法に伴う危険および限界の多くを克服しているので、ワクチン接種に広く使用されるアプローチとなった(概説については、(29)参照)。DNA免疫感作は、種々の伝染病モデルにおいて、体液性および細胞性防御反応を引き起こすことが明らかにされているが、MHCクラスI複合体上に抗原由来ペプチドを提示し、抗ウイルスCD8+Tリンパ球を生じるその能力は、CMV疾患に対する防御と強く相関する(上記参照)。このことは、主としてMHCクラスII媒介性反応を誘導する従来のタンパク質ベースの免疫感作法とは対照的であり、それ自身はCD8+Tリンパ球反応の弱い刺激剤である。加えて、マイクロプロジェクタイル(microprojectile)を用いる粒子銃(biolistic)(遺伝子銃)送達、筋肉内(i.m.)および皮内(i.d.)注射(針またはBioject無針ジェット注射による投与)ならびに粘膜送達を含む、pDNAを送達するためのいくつかの方法が、免疫反応を効果的に引き起こすために開発されている(22、72、80、84)。皮内DNA注射は、全身性MCMVチャレンジに対して防御を引き起こすが(27、62、64)、CMV免疫感作により粘膜免疫を誘起させるのには他のアプローチが必要な可能性がある。さらなるアプローチである、初回免疫段階としてDNAを用いる異種プライムブースト(heterologousprime-boost)が、HIV、単純ヘルペスウイルス、肝炎ウイルスBおよびC、結核菌(マイコバクテリウム・ツベルクロシス/Mycobacterium tuberculosis)ならびにマラリアを引き起こすプラスモジウム寄生体(Plasmodium parasite)などの病原体に対するワクチン接種の有効な手段として浮上しつつあり、一部の例では臨床試験がすでに進行中である(概説については、(87)参照)。異種DNAプライムブーストは、同一抗原デリバリーシステムでの反復ブーストでは認められない、相乗的なT細胞免疫および抗体免疫レベルを誘発することが示されており、この相乗作用の基礎をなす機構は明確になりつつある(20、54)。高レベルの防御抗体を生じる能力と一緒にあって、異種プライムブーストワクチン接種は、旧来のワクチン接種戦略を用いる制御では手に負えない病原体に対するワクチン接種のための待望のツールを提供する事ができる。

【0020】

DNAワクチンは、例えば複製型または非複製型ウイルスベクター、例えばアデノウイルスもしくはワクシニアウイルスベクター、精製プラスミドベクターまたは当業者に公知のDNAワクチンの他の形を用いることを含む任意の適切な方法を用いて投与する事ができる。

【0021】

"高度に保存された遺伝子由来の"は、高度に保存されたタンパク質の一部または全部をDNAがコードすることまたは高度に保存された遺伝子の一部または全部とDNA配列が同じであることを意味する。"一部"はタンパク質または遺伝子配列の少なくとも20、30、40、50、60、70、80または90%を意味する。遺伝子が高度に保存されているかどうかを測定する1つの方法は、その%FastA aa一致を測定することであり、この測定の手引きは、例えば表1

10

20

30

40

50

を含む本願において見いだすことができる。

【0022】

本出願の多くの実施例はマウスCMVの使用を論じているが、本方法がヒトCMVならびにヒトCMVの遺伝子およびタンパク質の使用を含むことができることは当業者に明らかである。例えば、高度に保存されたタンパク質をコードするDNAは、HCMV由来のタンパク質コードセグメント、例えばGenBankアクセッション番号GI|28373214(NC001347)に登録されているDNA配列を含むことができる。

【0023】

HCMV感染マウスモデル

HCMV感染に付随する深刻な問題により、HCMV感染の予防および治療のための戦略を開発するためには、このウイルスの病因および免疫学を理解することが避けられないこととなった。しかしながら、主としてこのウイルスの厳密な種特異性が動物モデルでの研究を阻んだため、ヒトウイルスに関する進歩は緩やかであった。別の方法として、*in vivo*研究の多くが、マウスのマウスCMV(MCMV)感染をモデルとして用いてきたが、急性感染、ウイルス遺伝子発現、潜伏の成立、ウイルス遺伝子産物に対する宿主の免疫反応および免疫抑制に続く再活性化に関しては、これはそのヒトカウンターパートと大変良く類似している。多数のマウスを用いる実験の行いやすさ、多くの遺伝学的に明確な近交系が利用可能であることおよびマウス免疫生物学に関する広い知識体系と相まって、これらの類似性は、このモデル系を極めて魅力的なものにした。このモデルの最も優れた価値の1つは、比較的低コストかつ妥当な期間内で大量の情報を得ることができることである。次いでこの知識を、ヒトワクチンの開発および試験のための、はるかに複雑で高価な研究を効率的に設計し優先順位をつけるために使用できる。

【0024】

CMVゲノムの分子構築、許容感染中の転写パターン、ウイルスDNA複製に関与する機構ならびに急性および潜伏感染中の*in vivo*でのウイルスの病因が明らかにされた(51~53、56、57)。HCMVのDNAポリメラーゼ、糖タンパク質Bおよびマトリックスタンパク質のMCMVホモログが同定された(10、11、15)。このマウスモデルを用いてワクチンを開発するための努力がなされた。((27、61、62、64、88、89、93)。

【0025】

MCMVゲノムは長さで~230kbpであり、少なくとも170のオープンリーディングフレームをコードしている(13、56、71)。許容感染中、少なくとも3つの区別できる遺伝子発現相が存在する(概説については、(60)参照)。IE遺伝子産物は、感染後直ちに合成され、その発現を主として宿主因子に依存する遺伝子産物である。初期のRNAおよびタンパク質合成はウイルスDNA複製よりも先に起こり、1以上のIE遺伝子の先行発現に依存している。最後に、ウイルスDNA合成開始後に後期遺伝子が転写される。

【0026】

MCMV感染は、自然免疫反応および獲得免疫反応の両方により制御される。NK細胞、マクロファージならびにサイトカインであるIFN- γ 、TNF- α 、IL-12およびIFN- β からなる自然免疫反応は、感染に対する初期抵抗性における中心的役割を果たす(8、31、49、65、66、68、81)。加えて、*cmv1*で示される細胞遺伝子は、MCMVの初期の脾臓での複製を制御し、NK細胞媒介性抵抗性を与える(79)。この遺伝子は、キラー細胞受容体Ly49hとして同定されており、これはウイルス感染標的に対してNK細胞を活性化する(7、47)。

【0027】

臓器移植者におけるHCMV免疫および疾患の研究から、HCMV疾患に対する防御における細胞性免疫の重要性が示され(3、77)、MCMVモデルなどの動物モデルにおける研究から、特異的白血球サブセットの防御役割が解明された(74)。急性感染、持続感染、潜伏感染および再活性化感染を抑制するための、獲得細胞性免疫成分であるCD8+およびCD4+Tリンパ球の必要性は、枯渇研究および養子移植研究により立証されている((73)で概説されている)。免疫アブレーションした(*immunoablated*)マウスのMCMV特異的CD8+Tリンパ球による免疫再構築により、脾臓、肺、肝臓および副腎におけるウイルス量を低下させることが示され

、感染マウスにおけるCD4+Tリンパ球の長期枯渇は、唾液腺における持続感染をもたらす(41)。抗ウイルスCD8+T細胞の特異性の正体は、その所見が、抗ウイルス細胞免疫療法および抗ウイルスワクチンに使用するためのウイルス抗原を選択することを強く示唆しているため、長い間関心の対象となってきた。前初期1(immediate early 1)(IE1) 遺伝子産物の免疫優勢ペプチドとBALB/cマウスにおけるIE1特異的CD8+T細胞の防御能力の正体は長い間知られてきたことであるが(74)、未確認のウイルス初期(early)(E)および後期(late)(L) 遺伝子産物に対して生じたCD8+T細胞の存在を示す有力な証拠もまた存在してきた(75)。特異的CD8+T細胞の検出および定量的ためのより信頼性のある方法の出現と共に、さらなるCD8+T細胞特異性の正体が明らかとなった。これらには、HCMV UL83-pp65ホモログであるM83-pp105およびM84-p65、抗アポトーシス遺伝子産物M45、MCMV immunoevasin遺伝子産物m04(gp34)ならびにMCMVに特有の2つのさらなる遺伝子であるm164およびm18(24、34~40)が含まれる。これらのMCMV遺伝子の1つの共通な特徴は、感染のEまたはE/L期のいずれかでのそれらの発現である。

10

20

30

40

50

【0028】

CD8+T細胞標的としてのこれらのEおよびE/L遺伝子産物の同定は、MHCクラスI複合体上のウイルス由来抗原ペプチドの細胞表面提示または認識を妨げる糖タンパク質をコードするimmunoevasin E遺伝子の発現が既知であったため、当初は逆説的であった(73)。MCMV m152遺伝子産物gp37/40は、ER-シスゴルジ中間区画(intermediate compartment)においてペプチド負荷クラスI複合体を保持し、m06-gp48はこれらの複合体を分解のためにリソソームに再送する(24、45、48、76、92)。m04遺伝子産物であるgp34は、その細胞表面への輸送を妨げることなくMHCクラスI複合体と結合するが、CD8+T細胞による複合体の認識を予防すると思われる(44)。MCMVの変異解析により、MHCクラスIダウンレギュレーションにおける既知のimmunoevasinの相対役割ばかりでなく、immunoevasin間の協調的および競合的相互作用の一部が明らかとなった(42、85)。加えて、m152欠失変異体はT細胞コンピテントマウスにおいて弱毒化されていることが明らかにされており(45)、野生型に感染しているがm152が欠失していない細胞において、M45特異的CD8+Tリンパ球によりMCMVは認識されない(24、37)。C57BL/6マウスにおいて、M45は急性および記憶反応中における主要抗原であることが示されているので、このことは重要な結果である。この主要抗原に対する特異的CTL株を用いる細胞免疫療法はウイルス複製を抑制するのに有効ではなかったことから、このことはワクチンデザインにも重要な波及効果を有する(37)。

【0029】

MCMVタンパク質を発現する13プラスミドプールを用いて皮内(i.d.)DNAで免疫感作し、ついでホルマリン不活化MCMV(FI-MCMV)を用いる腹腔内(i.p.)ワクチン接種を行って強力な中和Abおよび抗原特異的CD8 T細胞を生じさせ、BALB/cマウスにおける感染に対する完全な短期間防御を付与し、ついで強毒性ウイルスを用いる全身性チャレンジを行うことからなるプライムブーストアプローチを試験するためにマウスモデルが用いられてきた(64、89)。脾臓または唾液腺のいずれにおいてもウイルスが検出されなかったので、滅菌免疫が達成された。皮内DNA免疫感作もホルマリン不活化MCMVを用いるワクチン接種も単独では完全防御を示さなかった。鼻腔内(i.n.)粘膜チャレンジに対する防御およびその防御が長期であるかどうかを試験するさらなる研究が行われた。脾臓および肺ならびに唾液腺の大部分におけるウイルス力価は全身性チャレンジに続くすべての時点で検出限界以下であることが見いだされた。完全な滅菌免疫は得られなかったが、粘膜チャレンジに次いで、非免疫感作対照における複製ピークに対応する時点で、肺および脾臓におけるウイルス力価は1,000~10,000倍低下し、唾液腺における力価は、10,000倍低下した。

【0030】

感染のマウスCMV(MCMV)モデルを用い、保存されたMCMVの必須遺伝子をコードするプラスミドDNAでマウスに免疫感作することにより、ワクチン接種マウスの脾臓におけるそれに続くMCMV複製に対して防御免疫を与えることができる。全死滅MCMVウイルスまたは弱毒生ウイルス粒子の送達により、ウイルスを中和し、臓器から臓器へのウイルスの広がりを抑制するのに役立つことができる、ウイルスエンベロープにおける糖タンパク質に対する

抗体反応が誘発される。

【0031】

マウスサイトメガロウイルス(MCMV)タンパク質を発現する13プラスミドプールを用いてDNA免疫感作し、ついでホルマリン不活化MCMV(FI-MCMV)を用いるワクチン接種を行うことからなるプライムブーストアプローチは、強力な中和Abばかりでなく抗原特異的CD8 T細胞を生じさせ、強毒性ウイルスを用いる全身性チャレンジに続いて、BALB/cマウスにおける感染に対する完全な短期間防御を付与する。実施例で詳述するように、免疫反応を引き起こすために、より小さなプラスミドプールを用いることができる。より小さいプールは、少なくとも2つの、少なくとも3つの、少なくとも4つの、少なくとも5つのまたは少なくとも6つのMCMVタンパク質を発現するDNAプラスミドを含むことができる。実施例に示すように、このプールは、例えばgB、M54およびM105の全部または一部をコードするDNAを含むことができる。各DNA配列を別々のプラスミド上に含むこともできるし、1つのプラスミドが2以上のDNA配列を含むこともできる。他のプロトコルにおいて、3つのMCMV DNAプラスミド(その内の1つはもともとの13にはなかった)を注射し、ついでホルマリン不活化MCMVで免疫感作した。最も重要な所見は、全身性チャレンジした全BALB/cマウスの肺、脾臓および唾液腺において、この二重免疫感作プロトコルは長期滅菌免疫を引き起こしたことであつた。

10

【0032】

追加免疫ワクチン

本発明の追加免疫段階において、不活化ウイルスまたは弱毒生ウイルスのいずれかを用いることができる。例えば、化学的処理などを含む当業者に公知の化学的手段または加熱などの極端な温度での処理によりウイルスを不活化できる。例えば、ホルマリン処理は生ウイルスを不活化する1つの方法である。他の実施形態において、弱毒生ウイルスは追加免疫段階で用いられる。例えば、弱毒生ウイルスはHCMVのTowne株であることができる。典型的な実施形態において、ヒトの治療のために、HCMVのTowne株は追加免疫段階で用いられる。

20

【0033】

単純ヘルペスウイルス2型感染

A. HSV-2のゲノム構成および増殖サイクル

HSV-2ゲノムは長さ~154kbpであり、少なくとも84のオープンリーディングフレーム(ORF)をコードする。許容感染中、遺伝子発現の少なくとも3つの期である、前初期(immediate early)(IE)、(E)および後期(late)(L)が存在する(実施例16で引用した70)。IE遺伝子産物は感染後直ちに合成され、主として宿主因子および少なくとも1つのインプットビリオンタンパク質(VP16)に発現を依存する。初期のRNAおよびタンパク質合成はウイルスDNA複製に先行し、1以上のIE遺伝子の先行発現に依存する。最後に、ウイルスDNA合成開始後に後期遺伝子が転写される。

30

【0034】

B. HSV-2感染に対する免疫反応

HSV-2感染は、自然免疫反応および獲得免疫反応の両方により制御される(実施例16で引用した41、67)。獲得免疫は中和および非中和抗体ならびに特異的細胞性免疫反応を含み、CD8およびCD4 T細胞の両方が主な役割を果たしている。これらの免疫反応は感染を制御するが、再発性感染または他のHSV-2分離株による感染を予防しない。しかしながら、これらの重要性は、免疫不全個体に見られる頻度の高い再発および疾患の重症度の増加により浮き彫りとなる。再発性HSV-2生殖器病変の分析により、細胞障害性Tリンパ球(CTL:CD4+およびCD8+)の浸潤は、病変からのウイルスのクリアランスと関連していることもまた示されている(実施例16で引用した44)。

40

【0035】

HSV-2感染個体における中和抗体は主としてgBおよびgDに対するものである。初期の研究により、ヒトにおいては、HSV-2タンパク質に対するCD8 T細胞応答は比較的限られていることが示され、以下のORPが検出された：gB2、gD2、gE2、UL46、UL47、UL49、ICP0、IC

50

P4、ICP22、ICP27、UL7およびUL25(実施例16で引用した40、42、43、58、86、87)。最近になって、48のHSV-2 ORFに相当するペプチドを用いる詳しい分析によりCD8 T細胞応答がより広いことが示された(実施例16で引用した35)。全48ORFが検出され、異なる個体間で反応のパターンに大きな相違が存在した。最も大きい反応頻度はORFであるUL39、UL25、UL27、ICP0、UL46およびUL47に特異的であった。しかしながら、分析されたORFは主としてIEおよびウイルス構造タンパク質であったことに注意が必要である。

【0036】

ヘルペスウイルスは免疫逃避に堪能であり、HSV-2は例外ではない。HSV-1およびHSV-2は、抗原提示に関連する輸送体タンパク質(TAP)とウイルスタンパク質ICP47の相互作用を含む機構によりウイルス抗原のMHCクラスI提示を下方制御する(実施例16で引用した24、32、88)。この相互作用により、TAPによる、小胞体内腔へのウイルスペプチドの輸送が妨げられるが、小胞体内腔においては、ウイルスペプチドとMHCクラスI分子との複合体が形成され、それがCD8+CTLにより認識されるために細胞の表面へ輸送されると考えられる。免疫逃避の他の機構は、専門の抗原提示細胞(APC)である樹状細胞へのウイルスの影響を含む。HSV-2はマウス樹状細胞の機能をそこね、細胞死を誘導する事ができる(実施例16で引用した37)。特に、骨髄由来樹状細胞のHSV-2感染は、それらの同種刺激能およびIL-12を損ね、それによりHSV-2感染に対するナイーブT細胞のプライミングを抑制する事ができる。マウスにおけるHSV-2の腔内接種に続く防御Th1指向性T細胞免疫の開始を支配する機構の研究から、感染上皮に対する粘膜下樹上細胞の迅速な動員が存在する事が示された(実施例16で引用した96)。これらの細胞は感染していなかったが、ウイルス抗原を取得しており、おそらくはリンパ節に移動し、そこでCD4+T細胞に、MHCクラスII分子と結合したウイルス抗原を提示した。最近になって、ヒト単球由来樹状細胞のHSV-2感染もまたアポトーシスをもたらすが、感染していない樹状細胞は死細胞からの細胞フラグメントを貪食し、抗原を交差提示することができる事が見いだされた(実施例16で引用した8)。このように、リンパ節におけるT細胞をプライミングすることにより、感染していない樹状細胞によるウイルス抗原の交差提示により、樹状細胞に対するウイルスの影響を宿主は阻止する事ができる。

【0037】

C. HSV-2ワクチン試験

HSV-1またはHSV-2に対するワクチンを開発するために、多くのアプローチが採用された(概説については、実施例16で引用した36、41、78参照)。動物モデルにおいて、ほとんどすべてが一定レベルの防御効果を示したが、強力な中和抗体反応を誘発する能力があるにもかかわらずヒトの臨床試験に失敗した。1980年代に用いられたアプローチは、不活化HSVウイルス製剤からなるワクチンを開発することであった。このアプローチには感染細胞からのHSV-1タンパク質のホルマリン不活化画分が含まれ、生殖器疾患を予防するために、HSV不一致(discordant)のカップルにおいてこれが試験された(実施例16で引用した74~76)。イタリアにおいて、熱失活HSV-2およびHSV-1ビリオン製剤もまた試験された(実施例16で引用した49)。残念なことに、これらの研究は二重盲検無作為化臨床試験で行われておらず、そのことが結果の解釈を困難にした。他のワクチンは、界面活性剤で分離されたウイルス糖タンパク質の製剤を用いた。このワクチンは、動物モデルにおける急性感染および中枢神経系疾患を防御し、ヒトにおける免疫反応を誘発したが、臨床試験において防御を示さなかった(実施例16で引用した2、15、54、79)。

【0038】

種々の生弱毒HSVワクチンが試験されたが、それはそれらがより広範な免疫反応を引き起こすであろうと考えられたからである。これらのワクチンは、組織培養におけるウイルスの多数の継代培養または特定のウイルス遺伝子の変異のいずれかにより製造された。これらのワクチンに関する問題は、高い免疫原性および低下したビルレンスのバランスが保たれていなければならないということである。現在開発中のHSV-2に対する生弱毒ワクチンの1つは、リボヌクレオチドレダクターゼICP10の大サブユニットのプロテインキナーゼドメインの欠失を有するHSV-2からなる(実施例16で引用した実施例16で引用した4)。この

ドメインは極性化したTh2活性を有し、効率的なウイルス複製および潜伏感染・再活性化に必要である。このワクチン(ICP10DPK)は動物モデルにおいて防御を与え、最初の試験結果は、このワクチンがいくらかの治療効果を有することを示している(実施例16で引用した3、16)。₁34.5遺伝子のみならずUL55-56、UL43.5およびUS10-12のコピーを欠失させることにより他の生弱毒HSV-2ワクチンが得られた(実施例16で引用した69)。このワクチンは免疫原性を示し、疾患からモルモットを防御する事ができたが、感染を防御しなかった。

【0039】

生弱毒HSVワクチンに対する代替手段の1つは複製異常HSVを含むワクチンである。1つのアプローチは、gHを欠失し、それによりそのウイルスが1ラウンドの複製しか行うことができないHSV-1またはHSV-2のいずれかからなる(実施例16で引用した13、22)。これらのワクチンは動物モデルにおいて防御を示したが、gH陰性HSV-2ウイルスワクチンは、ヒトにおいて治療効果を試験したとき、再発に対して防御を示さなかった(実施例16で引用した14)。第2のアプローチは、ICP8(UL29)およびヘリカーゼ-プライマーゼ複合体のタンパク質の1つ(UL5)を発現しない複製欠損HSV-1およびHSV-2ウイルスを得ることであった(概説については、実施例16で引用した19参照)。d15-29HSV-2ワクチンは、マウスにおける致死性のウイルス感染に防御を示し、モルモットにおいて予防または治療用ワクチンとして使用されたとき防御効果を示した。このワクチンの主な利点は、それが潜伏を成立しないことである。このワクチンを用いる臨床試験が計画されている。

【0040】

他のアプローチとして、組換えHSV糖タンパク質(主としてgBおよびgD)を含むワクチンが開発された。Chironにより開発されたワクチンはHSV-2由来のgDおよびgBにアジュバントMF59を加えたものからなった(実施例16で引用した17)。GlaxoSmithKlineにより開発された他のワクチンは、アジュバントであるアラムおよび脱アシル化モノホスホリル脂質Aと共にHSV-2のgDを含有した(実施例16で引用した82)。HSV-2血清不一致(serodiscordant)カップルにおいて両方のワクチンが試験された。ChironのワクチンはHSV-2感染に対して統計的に有意な防御を示さなかったが、GlaxoSmithKlineのワクチンは、特にHSV-1およびHSV-2の両方に対して血清反応陰性の女性における疾患に対し有意な防御効果を示した(男性においてはそうではなかった)。興味深いことに、後者の研究において、HSV-1による先行感染はHSV-2疾患に対していくらかの防御を付与したと思われるが、ワクチンは防御レベルを高めなかった。ペプチドワクチンもまた代替的アプローチとして考慮されたが、異なるHLA遺伝子を有する個体において防御を発揮すると考えられる免疫原性ペプチドの適切な組み合わせを見いだすことが困難である(実施例16で引用した7、26)。

【0041】

HSV抗原(通例gD)を発現する事ができるいくつかのウイルスベクターもまた試験された: ワクシニアウイルス、アデノウイルス、Oka水痘帯状疱疹ウイルスおよび水疱性口内炎ウイルス(VSV)(実施例16で引用した1、5、6、23、25、53、64)。これらのワクチンは動物モデルにおいて防御を示したが、未だヒトの臨床試験に移行していない。VSVを除いては、これらのワクチンはベクターに対する事前免疫を有する個体において潜在的に有効性が低いという不都合を有する。

【0042】

製剤

本発明の組成物および方法は、通常ヒト患者の治療に用いられるが、獣医学において同様または同一の疾患を治療するために使用することもできる。本組成物は、例えば限定するものではないが、霊長類の動物および家畜哺乳動物を含む哺乳動物の治療に使用できる。本発明の組成物は、幾何異性体および光学異性体を含む。

【0043】

本発明における使用に適した医薬組成物は、その使用目的を達成するために活性成分が有効量含有されている組成物を含む。特に、本明細書に記載の詳細な説明を考慮に入れば、有効量の決定は十分に当業者の能力の範囲内である。

10

20

30

40

50

【0044】

正確な投与量は、投与経路、組成物が投与される形態、治療対象、年齢、治療対象の体重/身長ならびに担当医の選択および経験に左右される。

【0045】

本発明の組成物は薬学的に許容される塩を含むことができる。薬学的に許容される塩は一般に当業者に公知であり、限定ではなく例として、酢酸塩、ベンゼンスルホン酸塩、ベシル酸塩、安息香酸塩、重炭酸塩、重酒石酸塩、臭化物、エデト酸カルシウム、カンファースルホネート、炭酸塩、クエン酸塩、エデト酸塩、エジシラート、エストレート、エシラート、フマル酸塩、グルセプタート、グルコン酸塩、グルタミン酸塩、グリコリルアルサニル酸塩、ヘキシルレゾルシン酸塩、ヒドラバミン塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、ヒドロキシナフトエ酸塩、ヨウ化物、イセチオン酸塩、乳酸塩、ラクトビオン酸塩、リンゴ酸塩、マレイン酸塩、マンデル酸塩、メシレート、粘液酸塩、ナブシラート、硝酸塩、パモ酸塩(エンボネート)、パントテン酸塩、リン酸塩/ニリン酸塩、ポリガラクトロン酸塩、サリチル酸塩、ステアリン酸塩、塩基性酢酸塩、コハク酸塩、硫酸塩、タンニン酸塩、酒石酸塩またはテオクル酸塩を含むことができる。他の薬学的に許容される塩は、例えばRemington: The Science and Practice of Pharmacy (20.sup.th ed.) Lippincott, Williams & Wilkins (2000)中に見いだす事ができる。好ましい薬学的に許容される塩は、例えば、酢酸塩、安息香酸塩、臭化物、炭酸塩、クエン酸塩、グルコン酸塩、臭化水素酸塩、塩酸塩、マレイン酸塩、メシレート、ナブシラート、パモ酸塩(エンボネート)、リン酸塩、サリチル酸塩、コハク酸塩、硫酸塩または酒石酸塩を含む。

10

20

【0046】

本明細書記載のDNA分子の薬学的に許容される塩の投与は本発明の範囲に含まれる。例えば、薬学的に許容される塩は、有機塩基および無機塩基を含む無毒の塩基から製造する事ができる。無機塩基由来の塩は、ナトリウム、カリウム、リチウム、アンモニウム、カルシウム、マグネシウムなどを含む。薬学的に許容される毒性のない有機塩基由来の塩は、第一級、第二級および第三級アミン、塩基性アミノ酸などの塩を含む。薬学的に許容される塩は、例えば、S. M. Berge et al., Journal of Pharmaceutical Sciences 66:1-19 (1977) 中に見いだすことができる。

【0047】

DNAワクチンの送達方法のみならず製剤および投与方法は、例えば米国特許第6,806,084号および第5,580,859号に見いだすことができる。DNAワクチンは、例えば、トランスフェクション促進タンパク質、ウイルス粒子、金粒子、リボソーム製剤、荷電脂質およびリン酸カルシウム沈殿剤を含むように製剤化することもできるし、あるいはDNAワクチンはこれらの成分を含まないこともできる。当業者は、例えば皮内、筋肉内または鼻腔内などの投与経路などの要素を考慮して適切な製剤を決定することができる。投与方法は複製型または非複製型ベクターの使用を含むことができる。

30

【0048】

活性成分に加えて、これらの医薬組成物は、賦形剤および補助剤を含む適切な薬学的に許容される担体を含むことができる。

【0049】

キット

本発明は、さらに、ワクチン組成物またはワクチン組成物を製造するために使用できる成分を含むキットを提供する。例えば、このようなキットは本発明のDNA分子を含むことができ、このようなDNA分子は、例えば、ワクチン送達用に製剤化できる。このようなキットは、例えば、弱毒生ウイルスまたは不活化ウイルスを含む第2のワクチン組成物をさらに含むことができる。あるいは、例えば、このようなキットは、例えばホルマリンなどの、ウイルスを不活化するために用いることができる化学物質を提供することができ、このようなキットは、まだ化学的に不活化されていないウイルスをさらに含むことができる。

40

【0050】

50

キットは使用説明書を含むこともでき、免疫感作に必要な、例えば鼻腔内、筋肉内または経皮デリバリーシステムなどの他の構成要素、例えば針、シリンジおよび吸入もしくは霧吹き装置を含むこともできる。

【0051】

実施例

以下に示す実施例はMCMVにおける研究を詳細に説明するものではあるが、これらの実施例は他の持続または潜伏ウイルスにおいて使用できる方法の例証となる。従って、例えば、免疫感作プロトコルにおいて使用する適切なDNA配列または送達方法の決定方法を提供する実施例は、他のウイルスにおいて適切なDNA配列または送達方法を決定するために使用できる方法の例証となる。典型的な保存されたHCMV遺伝子のアミノ酸配列を、対応するヌクレオチド配列と共に図8に示す。場合によっては、提示したヌクレオチド配列は図におけるアミノ酸配列よりも長いタンパク質をコードするが、完全長または短縮型のヌクレオチド配列が適切かどうか当業者は決定することができる。当業者はまた、対応するタンパク質をコードするヌクレオチド配列と該ヌクレオチド配列が異なることができる場合、例えば、該ヌクレオチド配列がコード配列の相補鎖である場合を認識するであろう。加えて、図8においてHCMVの特定の株であるAD169が用いられているが、他の株および関連ウイルスもまた使用できることは当業者には明らかである。

【0052】

実施例1

3つのMCMVプラスミド(IE1、M84およびgBをコードする)およびホルマリン不活化ウイルスでのマウスの二重ワクチン接種に続く全身性および粘膜チャレンジに対する長期防御(31週間)

3つのMCMVプラスミドを皮内投与し、ついでFI-MCMVの注射を行った。IE1およびM84を発現するプラスミドは強力な防御を示したが、続いてFI-MCMVの注射によりDNAで免疫感作を行う場合でも共に滅菌免疫を生じなかった前回の結果に基づいてプラスミドの選択を行った。それによって、自然感染中の中和抗体の主要な標的である糖タンパク質Bを発現するプラスミドを加えた。第30週において、組織培養由来ウイルスでマウスの1群を粘膜チャレンジし、第31週において、第2群を唾液腺由来ウイルスで全身性チャレンジした。チャレンジ後6、10、14、18、24および32日目に臓器(脾臓、肝臓、肺および唾液腺)を採取し、ウイルス力価を測定した。粘膜チャレンジしたマウスの肺において、ウイルス力価は、MCMVプラスミドを単独で投与したマウスにおいて少し低下し、MCMVプラスミドおよびFI-MCMVを投与したマウスにおいて著しく低下した。チャレンジ後32日目には、二重免疫感作したマウスの肺においてウイルスは検出できなかった。粘膜チャレンジしたマウスの唾液腺において、二重免疫感作したマウスにおける力価の低下はより著しく、大部分のマウスに関して、力価は検出限界以下であった。最も重要な所見は、全身性チャレンジしたマウスの肺、脾臓および唾液腺において、この二重免疫感作プロトコルが長期滅菌免疫を生じさせたことであった(93)。

【0053】

実施例2

MCMV初期遺伝子産物M84における複数のエピトープは、感染一次マクロファージにおいて効率的に提示され、DNA免疫感作に続く強力なCD8+Tリンパ球反応および防御に寄与する

MCMV IE1またはM84でのBALB/cマウスのDNAワクチン接種後に、MCMV感染に対する同様なレベルの防御が得られた(89)。しかしながら、脾細胞をエピトープペプチドで刺激するとき、IE1により誘発される抗原特異的CD8+T細胞の、細胞内サイトカイン染色(ICCIS)で測定される百分率はM84によるものより高かった。これらの結果により、MCMVチャレンジに対してどちらも同様な防御効果を示すのに、なぜ2つのワクチン間にCTL反応における大きな差異が存在するのかという問題が提起された。皮内DNA免疫感作に続くM84特異的CTL反応をさらに研究するために、完全長M84を発現する抗原提示細胞(APC)を刺激細胞として用いた改変ICCISアッセイを開発した。この改変ICCISアッセイを用いたとき、単一の確定されたエピトープに対する反応と比較して、ずっと高い百分率のM84特異的CD8+T細胞が検出され

た。M84遺伝子のサブフラグメントを発現するプラスミドでマウスに免疫することにより、M84において少なくとも2つのさらなるCD8+T細胞エピトープが明らかにされた。これらの結果は、DNAベースワクチンの免疫感作に続く免疫反応の強度とウイルス防御間の相関を説明する。改変ICCSアッセイでのBALB/cマウスのMCMV感染に続くIE1およびM84特異的CD8+T細胞応答も同様にさらに研究した。このアッセイにおいてさらなるエピトープを用いたとき、M84特異的CD8+T細胞の百分率のわずかな上昇しか検出されなかった。感染中、防御反応を誘発しない抗原がDNAワクチンで投与したとき強力な防御を示すことができることに留意する重要性をこれらの結果は強調している(88)。

【0054】

実施例3

IE1、M84およびgBをコードする3つのMCMVプラスミドまたはgBpDNA単独で免疫感作したBALB/cマウスにおける、IE1、M84およびgBに対するCD8 T応答

BALB/cマウスの各群を、1)pc3 neoベクター単独、2)gBpDNA単独または3)IE1、gBおよびM84のプール、のいずれかで皮内免疫感作した。マウスの他の群をTC-MCMVで腹腔内感染させた。最終pDNA免疫感作またはMCMV感染の9日後に、ICSアッセイによるCD8 T細胞定量的ために脾細胞を採取した。優性IE1ノナペプチドまたはgBもしくはM84のいずれかを発現する組換えワクシニアウイルスに感染したJ774(H-2d)マクロファージを用いて、in vitroで脾細胞を刺激した。

【0055】

ベクター単独で免疫感作したマウスからの脾細胞を、gBを発現するJ774細胞を用いて刺激したところ、0.08%という低いバックグラウンド染色レベルが得られた。それに引き換え、gBpDNA単独で皮内免疫感作したマウスは平均1.84%のgB特異的CD8 T細胞を有し、IE1、gBおよびM84pDNAプールで免疫感作したマウスは平均0.32%を有していた。MCMVでの感染はgB特異的CD8+T細胞を平均レベル0.66%まで誘発した。細胞M84を発現するJ774ばかりでなくIE1ペプチドも用いて、IE1、gBおよびM84群におけるこれらの抗原に対してCD8T反応が引き起されることを立証するために脾細胞を刺激した。総合すれば、MCMV gBはH-2d拘束性MHCクラスIエピトープを含み、pDNA免疫感作およびMCMV感染の両方ともBALB/cマウスにおけるgB特異的CD8+T細胞をプライミングすることをこれらの結果は明らかにしている。短期間腹腔内(i.p.)チャレンジ後にgBpDNAで免疫感作したマウスの脾臓におけるMCMV価の有意な減少が見られないことがいくつかの実験で示されたので、CD8+T細胞それ自身は有意の防御を与えないと推測される。

【0056】

実施例4

BALB/cマウスにおける粘膜チャレンジに対する防御を高めるORFの同定 gBおよび/またはgH/gLプラスミドおよびFI-MCMVでの免疫感作に続く、短期および長期の全身性または粘膜チャレンジに対する防御

粘膜チャレンジに対する防御を改善するための1つのアプローチは、糖タンパク質H(gH)を標的とするウイルス中和抗体をコードするベクターを含むことである。MCMV gHは、可溶性gHタンパク質での免疫感作に次いで、マウスにおいて補体非依存性ウイルス中和抗体を誘発することができることが以前の研究で示された。HCMV感染細胞において、細胞表面へのgHの転送(trafficking)には、gLに対するgHのジスルフィド結合とそれに続くgOとの相互作用によるgH/gL/gO複合体の形成を必要とする。gHの適切な転送およびグリコシル化パターンならびにおそらくは天然の免疫原性にはアクセサリ糖タンパク質の共発現を必要とする可能性があるため、ウイルス中和抗体反応のレベルまたは寿命を増強するために、DNAプール中に用いるMCMVのgHおよびgL(MCMVは明白なgOホモログを欠く)を共発現するベクターを構築した。分泌され、それにより高レベルの中和抗体をプライミングすることができるgBの短縮型を発現するプラスミドもまた構築した。

【0057】

1)DNAベクター+PBS/アラム;2)DNAベクター+FI-MCMV/アラム;3)gBプラスミド+PBS/アラム;4)gB短縮型プラスミド+PBS/アラム;5)gB短縮型プラスミド+FI-MCMV/アラム;6)gB短縮型プラスミド+FI-MCMV/アラム

10

20

30

40

50

スミド+FI-MCMV/アラム;7)gB+gH/gL+PBS/アラム;8)gB短縮型プラスミド+gH/gL+PBS/アラム;および9)上記の反復としてgB+IE1+M84+FI-MCMV/アラム;でマウスの各群を免疫感作した。DNA注射は皮内に行い、一方、すべてのFI-MCMVまたはPBS/アラムの注射は腹腔内に行った。チャレンジ前に血液サンプルを採取し、中和抗体を試験した。FI-MCMVを投与した全マウスは、粘膜または全身性チャレンジの前に中和抗体を獲得し、予備的ではあるが、1つの興味ある所見は、短縮型gBプラスミド+PBS/アラムを投与した群は粘膜および全身性の両方のチャレンジ後に中和力価の急速な上昇を示したが、gBプラスミド+PBS/アラムを投与した群は全身性チャレンジ後に中和力価の急速な上昇を示したに過ぎなかったことである。

【0058】

上記の実験に対する補足として、ウイルス糖タンパク質のDNAによりプライミングされた抗体および防御反応を注意深く評価し、プライミングが長期の粘膜または全身性チャレンジからのさらなる防御を与えるかどうかを決定するために、gBおよびgH/gLDNAの組み合わせでプライミングし、続いてFI-MCMVで追加免疫することによりマウスの各群を免疫感作した。この実験において、種々のDNAプライム群における免疫および防御を、FI-MCMVブーストのみを投与した群と直接比較できるように、FI-MCMVブーストを投与する免疫感作群に焦点が置かれる。以下:1)ベクターDNA+PBS/アラム、2)ベクターDNA、3)gBDNA+FI-MCMV/アラム、4)gH/gLDNA+FI-MCMV/アラム、5)gB+gH/gLDNAs+FI-MCMV/アラムまたは6)gB+gH/gL+IE1+M84DNAs+FI-MCMV/アラムを用いて、上記のようにマウスの各群を免疫感作した。抗体反応の陽性対照として、マウスのもう1つの群を生MCMVで腹腔内感染させた。腹腔内または鼻腔内チャレンジより前に血液サンプルを採取し、チャレンジ後14日目に、MCMVの力価測定のために標的器官を採取した。さらに、後での長期防御レベルの測定のために、マウスの半分をチャレンジせずに残した。

【0059】

チャレンジ前ビリオン特異的血清IgGをELISAにより定量した。第1FI-MCMVブーストより前に、gBpDNAを単独でまたはgH/gLもしくはgH/gL+IE1+M84と共に用いてプライミングしたところ、群当たり4匹のマウスのうち2匹において低レベルのセロコンバージョンが引き起こされたが、gH/gL単独でプライミングされたマウスにおいては一匹もセロコンバージョンが引き起こされなかった。第1ブーストの3週間後、PBS/アラムで追加免疫したマウス以外の全マウスはセロコンバージョンを引き起こした。ベクター+FI-MCMV群の平均ELISA力価と比較して、他の群はやや高いELISA力価を示し、このことはgBまたはgH/gLpDNAでのpDNAプライミングが測定可能なB細胞のプライミングを引き起こしたことを示唆した。第2FI-MCMVブーストの3週間後、gH/gL単独で、あるいは他のプラスミド(gBまたはgB+IE1+M84)と組み合わせてプライミングされたマウスは、ベクターでプライミングし、FI-MCMVで追加免疫したマウスのELISA力価よりもおよそ2倍高いELISA力価を示し、生SG-MCMVに感染したマウスにおけるELISA力価と同様なELISA力価を示した。gB単独でプライミングし、FI-MCMVで追加免疫したマウスは、ベクター単独でプライミングし、FI-MCMVで追加免疫したELISA力価と同様なELISA力価を示した。指標である力価の使用に内在するばらつきの存在に用心してのことであるが、チャレンジの時点で、ベクターまたはgBpDNA単独でプライミングしたマウス群におけるELISA力価よりも、gH/gLでプライミングした3つのマウス群におけるELISA力価の方が高かった傾向があることをこれらのデータは示唆している。

【0060】

実施例5

粘膜アジュバントの有無無しでFI-MCMVで粘膜(鼻腔内)免疫感作したBALB/cマウスにおける唾液腺のIgA反応および防御

上記のように、皮内pDNAプライミングとそれに続く腹腔内FI-MCMV追加免疫は、腹腔内チャレンジに次いで脾臓、唾液腺、肺および肝臓におけるウイルス複製に対して完全防御を与えられると思われる。加えて、この非経口プライムブーストワクチンは、鼻腔内チャレンジに次いで、大部分のマウスにおいて脾臓、唾液腺および肝臓の完全防御を与えることができた。しかしながら、鼻腔内チャレンジしたマウスの肺において、ビヒクルのみで免疫

10

20

30

40

50

感作した対照と比較して低レベルではあったが、マウスの大部分においてウイルスを検出することができた。そのため、FI-MCMVの鼻腔内送達、鼻腔内チャレンジ後に、複製の最初の部位でMCMVに対する粘膜防御を増強する事ができるかどうかを調べた。一般に、鼻腔内免疫感作に続く粘膜反応は、タンパク質抗原に対して弱いので、一般的に用いられる2つの実験粘膜アジュバントであるコレラ毒素(CT)および免疫刺激CpG DNA(CpG)の、粘膜免疫および防御レベルの上昇を誘発する能力もまた試験した。

【0061】

鼻腔内チャレンジに続く肺において、CT、CpGまたは両方と共にPBSまたはFI-MCMVのいずれかで鼻腔内免疫感作したマウスはすべて、腹腔内PBS+アラムを投与した対照群におけるMCMV力価と同様なMCMV力価を示した。対照的に、FI-MCMV単独で鼻腔内免疫感作したマウスまたはFI-MCMV単独で腹腔内免疫感作したマウスは、肺において対照より35倍低い平均力価を示した。しかしながら、FI-MCMV単独で鼻腔内免疫感作により与えられる防御は、唾液腺において対照よりも4倍低い平均力価を示したにとどまった。対照的に、FI-MCMV単独またはそれにアラムを加えたものの腹腔内免疫感作は、およそ40倍の平均力価の低下を与えた。最後に、腹腔内チャレンジに続くFI-MCMV単独での鼻腔内免疫感作は、対照と比較して肺、肝臓または唾液腺において防御を与えなかった。このことは腹腔内免疫感作によって与えられた腹腔内チャレンジに対する高レベルの防御と著しく異なっていた。

10

【0062】

腹腔内または鼻腔内MCMVチャレンジに続く、CTまたはCT+CpGと共にFI-MCMVを用いる鼻腔内免疫感作は、一部のマウスの死をもたらした。アジュバント単独で鼻腔内免疫感作した対照マウスにおいてこのことは起こらなかったが、これは単にCTの毒性によってのみ死が引き起こされたのではないことを示唆している。これらの結果は、抗原とアジュバントの間に有害な相互作用が存在しうることを示唆している。PBS+アジュバント対照におけるウイルス力価は、PBS+アラムで腹腔内免疫感作した対照マウスにおけるウイルス力価と匹敵していた。しかしながら、腹腔内チャレンジに次いで、FI-MCMV+CpGで鼻腔内免疫感作したマウスは、肝臓および肺において対照よりも50~100倍高いウイルス力価を示した。

20

【0063】

FI-MCMVでの鼻腔内免疫感作の利点はない可能性があり、免疫感作のために種々の抗原を用いる実験からアジュバントの効果を推定することは困難であるということをこの研究は示しているといつて差し支えない。

30

【0064】

実施例6

マウスの他の系統における二重免疫感作により与えられる防御のアッセイ

BALB/c以外のマウス系統における二重免疫感作プロトコルの有効性を試験するためにパイロットスタディを行った。C57BL/6(H-2b)マウスに:1)DNAベクター単独;2)DNAベクター+PBS/アラム;3)DNAベクター+FI-MCMV/アラム;4)13MCMV DNAプラスミド単独;5)13MCMV DNAプラスミド+PBS/アラム;または6)13MCMV DNAプラスミド+FI-MCMV/アラム、で免疫感作した。すべてのDNA注射は皮内に行い、FI-MCMVまたはPBS/アラムのすべての注射は腹腔内に行った。チャレンジ前に血液サンプルを採取し、FI-MCMVで免疫感作したマウスの全部が中和抗体を獲得した。最終FI-MCMVブーストの26週間後にマウスに腹腔内チャレンジした。チャレンジ後6日目および10日目に、MCMVの力価測定のために脾臓および唾液腺をそれぞれ採取した。

40

【0065】

13MCMV DNAプラスミド単独または13MCMV DNAプラスミド+PBS/アラムで免疫感作したマウスは、任意の臓器において有意の防御を示さなかった。唾液腺に関してこの結果は予期されたことであったが、脾臓における防御の欠如は、これらのMCMVプラスミド単独でのDNA免疫感作は防御CD8+T細胞応答を誘発する事ができなかったことを示した。しかしながら、DNAベクター+FI-MCMV/アラムで免疫感作したマウスの脾臓における力価は、DNAベクター単独で免疫感作したマウスにおける力価よりも45倍低かった。重要なことには、13MCMV

50

DNA+FI-MCMVで免疫感作したマウスの脾臓におけるウイルス力価は、試験したマウス4匹のうち3匹で検出限界以下であった。加えて、DNAベクター+FI-MCMV/アラムで免疫感作したマウス4匹のうち3匹の唾液腺のMCMVは検知できないレベルであった。最も重要なことに、13MCMV DNAプラスミド+FI-MCMVで免疫感作したマウスのうち4匹全部の唾液腺のMCMVは検知できないレベルであった。総数は少なかったが、FI-MCMVでのH-2bマウス系統の免疫感作は、全身性チャレンジに次いで、脾臓および唾液腺の両方におけるウイルス複製に対する長期防御を与えるのに有効であることをこれらの結果は示した。それらはまた、13MCMV DNAプラスミド+FI-MCMVでの連続免疫感作がさらなる防御を与えることを示した。

【0066】

実施例7

高度に保存されたHCMV DNAポリメラーゼ(M54)またはヘリカーゼ(M105)遺伝子のMCMVホモログでのDNA免疫感作は防御反応を誘発する

ウイルスDNA複製に必須であるMCMV(Smith株)遺伝子(71):M54(DNAポリメラーゼ HCMV UL54に対して415個のアミノ酸に関してFastAでの50%の一致);M105(ヘリカーゼ HCMV UL105に対して861個のアミノ酸に関してFastAでの43%の一致);およびM70(プライマーゼ HCMV UL70に対して982個のアミノ酸に関してFastAでの36%の一致)を、免疫を与えるその能力に関して試験した。

【0067】

1群当たり4匹のBALB/cマウスに、ベクタープラスミド単独(pc3 neo)または、MCMV IE1遺伝子または保存された必須遺伝子M54、M70もしくはM105を発現するこのプラスミドのいずれかで2週間に3回皮内免疫感作した。最終免疫感作の2週間後、3つの投与量(50%致死量(LD₅₀)の0.25倍、0.50倍または0.75倍)のうちの1つの毒性MCMVでマウスに腹腔内チャレンジし、チャレンジ後6日目に脾臓を採取し、ホモジナイズして感染チャレンジウイルス量を測定した。結果を、図1に、脾臓当たりのウイルスのプラーク形成単位(PFU)のlog10で示す。棒は群ごとの平均値を示し、円は各マウスからの数値を示す。陽性対照IE1 pDNAに加えて、M54およびM105をコードするpDNAは、腹腔内チャレンジ用量のすべてに次いで脾臓におけるウイルス複製に対して防御を示した(図1)。低用量のMCMVでのチャレンジに続く、M54およびM105 pDNAでの免疫感作により与えられた力価の低下は、IE1群における力価の低下に匹敵した。M54およびM105で免疫感作したマウス脾臓におけるウイルス力価の低下は、中間チャレンジ用量に次いでIE1で免疫感作したマウスにおけるウイルス力価の低下ほど大きくなかったが、高チャレンジ用量に次いで、IE1およびM54免疫感作は両方とも600倍を超えるウイルス力価の低下をもたらし、M105は60倍の低下をもたらした。M70 pDNAは、興味あることにそのHCMVホモログに対して最も低いaa一致を示すが、防御を示さなかった。

【0068】

実施例8

種々のマウス系統にわたって防御を示すMCMV ORFの同定

BALB/cマウスにおいて、より活発な粘膜防御反応を引き起こすことができる遺伝子の他の組み合わせを同定できる。関連する相同のヒトCMV遺伝子は、今度はヒトにおける、より強力な粘膜防御反応であることができる。種々のH-2ハプロタイプを有する動物における防御に必要な遺伝子の種々のサブセットもまた存在しうる。

【0069】

CMV自然感染に次いで成立した免疫は、ウイルスおよび疾患の播種を抑制することができるが、ウイルスが存続し、潜伏が成立している場合、ウイルスは再活性化でき、個体は種々の株のCMVに再感染することができる。従って、免疫感作は自然感染よりもより有効であるに違いない。血清反応陽性個体におけるCD8 T細胞(ならびにCD4 T細胞および抗体)の最も目立つ集団は、免疫優勢であることができるが、免疫防御的(immunoprotective)であることができない。高度に保存された必須非構造タンパク質は、"プライミングされた"CD8 T細胞にとって、感染細胞における優れた標的であることができるが、自然感染中、未だ見つかっていない、これらの抗原に対してプライミングされることからナイーブT細胞

10

20

30

40

50

胞を予防する免疫回避機構が存在する。しかしながら、DNA免疫感作によるこれらの抗原の送達、防御反応を誘発する事ができるであろう。

【0070】

CMVに対するCD8+T細胞応答を特徴づける最近の研究は、感染によりプライミングされるCD8+T細胞のレパートリーは既知のウイルスimmuno-evasinにより顕著に影響を受けないものの(24、25、50)、immuno-evasinはプライミングされたCD8+T細胞がウイルス複製のレベルを低下させるのを抑制する事ができることを強く示唆している。例えば、C57BL/6マウスのMCMV感染は、高レベルのM45特異的CD8+T細胞をプライミングする事が明らかにされている。しかしながら、照射レシピエントへのこれらの細胞の養子移植に次いで、野生型に感染した組織においてimmuno-evasinの発現が見られるが、変異体では見られず、ウイルスはウイルスペプチドの提示を抑制し、M45特異的CD8+T細胞がウイルス複製を制御するのを抑える(37)。これらの所見は、理にかなったワクチンデザインのための少なくとも2つの重要な含意を有する。第1に、免疫学的アッセイはCMV感染により誘発されるCD8+T細胞のレパートリーを特徴づけることができるものの、ウイルス複製の制御を与える各特異的CD8+T細胞サブセットの能力は、防御アッセイにより直接に評価されなければならない。第2に、CMVでの感染既往は、ウイルスの再感染または再活性化および子宮内感染に対する完全な防御を与えないので、CMV感染は、CD8+T細胞のレパートリーをゆがめる(skew)ことができ、それによってプライミングされてはいるが効果のないCD8+T細胞の中でウイルスは持続感染および潜伏感染を成立させ維持できる。感染中、ナイーブCD8 T細胞は保存された非構造必須タンパク質に対してプライミングされていない可能性があるが(表1参照)、なぜなら、このウイルスは免疫反応を回避するためにこれらのタンパク質における変異を維持できないからである。従って、CMVワクチンに滅菌免疫を与えるために、CD8+T細胞応答を誘導されたワクチンは、ウイルス感染に関連してCD8 T細胞をプライミングしない必須ウイルスタンパク質に対する特異性を含むことを必要とする可能性がある。

【0071】

すでに使用されているDNAベクターにより引き起こされる免疫反応の幅を増強し、防御を誘発するMCMV遺伝子をさらに同定するための1つのアプローチは、DNAワクチン接種に既知のMCMV ORFから構築したDNA発現ライブラリーを使用することである。3つのマウスハプロタイプにおいて防御を示すさらなるMCMV ORFを決定するために、それぞれのHCMVホモログに対して高度に保存されたMCMV遺伝子(表1参照)がクローニングされ試験される(71)。これらの多くは、ウイルスDNA合成に寄与するタンパク質をコードし、他のヘルペスウイルスに対して保存された初期遺伝子である。加えて、M114を除いては、HCMVホモログのすべては初代線維芽細胞におけるウイルス複製に必須であることが明らかにされている(12、90)。前述のとおり、腹腔内チャレンジに次いで、M54およびM105遺伝子はBALB/cマウスの脾臓において防御を示す。興味あることに、防御を示さないM70は、HCMV UL70に対してアミノ酸一致度が最も低い。これらの遺伝子のPCR産物を、タンパク質検出を容易にするためにカルボキシ末端Flagタグを付加した真核発現ベクター(すなわちpcDNA3)に連結する。得られる形質転換体を、制限酵素分析により正しい方向のインサートの存在に関してスクリーニングし、各ORFの5'および3'末端を配列の決定する。各タンパク質の発現は、in vitroでの転写/翻訳反応またはin vivoでの一時的発現アッセイにおいて明らかにされる。最初のスクリーニング実験において、例えば、特定のマウス系統において未だ試験されていない、表における5つまたは6つの遺伝子のプールで、1群当たり12匹のマウスに2週間に3回皮内免疫感作する。陰性対照として、マウスの1群を空プラスミドベクターで免疫感作する。最終注射の2週間後、毒性SG-MCMVの致死量以下の3つのチャレンジ用量の1つでマウスに腹腔内チャレンジする。データの解釈を改善するために、複数回投与を用いる。チャレンジ後6日目に、MCMVの力価測定のために脾臓を採取する。DNAプールが防御を示すと判断するためには、チャレンジ群の少なくとも2つにおいて、ベクターで免疫感作した群に対して少なくとも5倍の脾臓の力価の低下が存在する。異なるMHCハプロタイプのマウスにおけるDNAプールの防御能力を試験するために、CMV感受性BALB/c(H-2^d)、CBA(H-2^k)、および129/J(H-2^b)系統において該プールをスクリーニングする。目的は、全3マウスハプ

ロタイプにわたって防御するために必要な、保存された必須MCMV遺伝子の最小数を含む最小限のDNAプールを構築することである。

【表 1】

表 1: 高度に保存された HCMV および MCMV タンパク質

MCMV 遺伝子 (HCMV 機能的ホモログ)	HCMV との%FastA aa 一致 (aa の重なる長さ)
M44 (DNA ポリメラーゼプロセッシビティ ー (processivity) サブユニット)	59 (351) UL44
M50 (放出 (egress))	46 (252) UL50
M51 (DNA パッケージング/切断)	55 (78) UL51
M52 (DNA パッケージング/切断)	44 (250) UL52
M53 (放出)	49 (280) UL53
M54 (DNA ポリメラーゼ)	50 (415) UL54
M55 (糖タンパク質 B) (gB)	44 (929) UL55
M56 (DNA パッケージング/切断)	42 (696) UL56
M57 (ss DNA 結合タンパク質)	51 (597) UL57
M70 (DNA プライマーゼ)	36 (982) UL70
M71 (未知)	41 (201) UL71
M77 (ピルボイルデカルボキシラーゼ)	49 (478) UL77
M79 (未知)	49 (246) UL79
M87 (未知)	59 (408) UL87
M89 エキソン 2 (DNA 切断タンパク質)	65 (673) UL89
M92 (未知)	50 (199) UL92
M105 ヘリカーゼ (ヘリカーゼ-プライマー ゼサブユニット)	43 (861) UL105

10

20

30

40

50

【 0 0 7 2 】

実施例 9

抗原特異的 CD8+T 細胞応答の確認

ひとたび、上記のスクリーニングで最小限の系統間防御 DNA プールのメンバーが同定されたら、DNA のそれぞれが抗原特異的 CD8+T 細胞応答を引き起こすことを確認するのが重要

である。M100(gM)を除いては、上記の保存されたMCMV遺伝子により誘発される防御は、それらが非構造抗原をコードすると思われるのでCD8+T細胞により媒介されると考えられる。最小限のプールを含む防御DNAのそれぞれでの免疫感作に誘発される抗原特異的CD8+T細胞レベルは定量できる。加えて、MCMV感染に次いで、これらの抗原が天然のCD8+T細胞のレパートリーの一部であるかどうか決定するために、これらのMCMV遺伝子に特異的なCD8+T細胞レベルを測定できる。これらの保存された遺伝子がDNA免疫感作後にCD8+T反応を誘発するがウイルスが持続し、潜伏を成立させるために、ウイルスが誤った反応の指図をすることによりMCMV感染を誘発しないことはまったくありうることである。

【0073】

トランスフェクトされた細胞を刺激細胞として用いる改変ICSアッセイにより、CD8+T細胞応答を定量できる(94)。例えば、1群当たり4匹のマウスに、空DNAベクターまたは防御DNAの最小限のプールのそれぞれのいずれかで皮内免疫感作する。加えて、マウスの1群をTC-MCMVで腹腔内感染させる。MCMV感染または最終DNA免疫感作の10日後に、脾細胞を単離し、空ベクターまたは防御DNAのいずれかでトランスフェクトされた、同系の容易にトランスフェクトできる細胞株(例えばK41 H-2^b、BALB SV40 H-2^dなど)で培養液中刺激する。刺激に次いで、脾細胞を蛍光CD8およびIFN- γ 特異抗体で染色し、上記のようにフローサイトメトリーにより計数する。トランスフェクトされた細胞は完全長ORFを発現するため、プロテアソーム中で自然に生成でき、MHCクラスI複合体に結合されるすべての可能なエピトープを提示でき、各抗原の最小限のMHCクラスIエピトープを直ちに明らかにする必要性がない。この方法を用い、MCMV感染に次いで、C57BL/6マウスにおける抗原特異的CD8+T細胞の生成に関してMCMV Smith株のORFの大部分をスクリーニングした(94)。DNAで免疫感作し、MCMVで感染したマウスからのICSアッセイデータを一まとめにして考えれば、マウスハロタイプにわたって観察される防御の免疫学的基礎をすばやく評価できるばかりでなく、野生型MCMVでの感染は、感染中これらのほかの点では防御抗原に特異的なナイーブCD8+T細胞のプライミングを抑制する事ができるかどうかという問題に取り組むことができる。前述のとおり、M84は、DNA免疫感作に次いで高い抗原性および防御を示すが、MCMV感染中は最小限の抗原性を示す、MCMVの原型的なCD8+T細胞抗原であることが見いだされる。

【0074】

実施例10

CD8+T細胞応答を誘発する非構造E遺伝子の同定

本実施例において、CD8+T細胞応答を誘発する非構造初期遺伝子が同定された。本実施例はまた、抗原特異的CD8+T細胞応答が本発明の方法を用いて得られることを明らかにする。

【0075】

マウス、細胞およびウイルスならびにウイルス精製

3~4週齢の特定病原体不在雌BALB/cマウスをハーラン・スブラーグ・ドーリー社(Harlan Sprague Dawley, Inc.)から購入し、Pacific Hall自然動物園(University of California, San Diego)内のマイクロアイソレーターケージで飼育した。免疫感作またはMCMV感染の少なくとも1週間前にマウスを順化させた。

【0076】

NIH 3T3(ATCC CRL1658)、COS-7(ATCC CRL1651)およびBALB/cマウスの胚細胞(MEC)を既述のように増殖させた(24)。BALB SV40細胞、SV40形質転換H-2^d細胞株(95)をCOS-7培地中で培養した。

【0077】

唾液腺由来MCMV K181株(SG-MCMV)をBALB/cマウス内で増殖させ、組織培養由来MCMV K181株(TC-MCMV)を既述のようにMEC内で増殖させた(96、15)。NIH 3T3細胞を用いるブランクアッセイによりこれらの原液の力価を測定した(27)。本研究に用いたBALB/cマウスにおけるこのSG-MCMV原液のLD₅₀は 8×10^5 PFUであった(63)。

【0078】

プラスミドの構築および発現

IE1-pp89のcDNAを発現するpc3 neo-pp89の構築は前述した(89)。pcDNA3.1/V5-His-TOP O(Invitrogen Life Technologies)へのSmith株MCMVの細菌人工染色体由来のウイルスであるMCMV MW97.01のM54、M70およびM105遺伝子のクローニングもまた記載されている(97)。本明細書に記載の研究のために、クローニングされた3つのORFの全配列を決定し(Eton Biosciences, Inc., San Diego, CA)、公表されたMCMV Smithの配列(71)(GenBankアクセッション番号U68299(GI|21716071; NC004065))と比較した。M54およびM105のORFのコード配列は、公表された配列と同一であった。M70 ORFの配列は、MCMVによりコードされるORFの3'末端とベクターによりコードされるエピトープタグ配列の間での1個のTの挿入(immediate終止コドンをもたらす変異)を除けばSmith株の配列と同一であった。この変異は、M70タンパク質の、野生型タグなし全コード配列を生じた。全連続的リーディングフレームの確認は、製造業者による提案に従い、 $[^{35}\text{S}]$ メチオニン、ドデシル硫酸ナトリウム-ポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)およびオートラジオグラフィーを用い、共役in vitro転写/翻訳システム(TNT T7 Quick Coupled Transcription/Translation System, Promega Corporation)により行った。一過性にトランスフェクトされたCOS-7細胞における発現のその後のウェスタンブロット分析を容易にするために、製造業者による提案に従って、M70クローンの外来TをQuikChange部位特異的突然変異誘発(Stratagene, Inc.)により欠失させ、得られたクローンをDNA配列決定により立証した。

10

【0079】

Effectene(Qiagen)を用いるCOS-7細胞の一過性トランスフェクションとそれに続くウェスタンブロット分析によりタンパク質発現を確認した。トランスフェクション後48時間で、還元条件SDSサンプル緩衝液で細胞溶解物を調製し、42℃で可溶化し、SDS-PAGEで分離し、タンパク質をニトロセルロース膜に転写した。プラスミドにより発現されたMCMVタンパク質は、製造業者の推奨に従って、マウス抗V5タグ特異的モノクローナル抗体(Invitrogen)およびSuperSignal West Pico試薬(Pierce)を用いて検出した。

20

【0080】

皮内免疫感作のために、Qiagen Endo-Free MegaまたはGigaカラムを用いてプラスミドを精製し、エンドトキシンフリー10mMトリス-HCl(pH8)に、1ml当たりDNAおおよそ2mgを再懸濁した。

【0081】

免疫感作、ウイルスチャレンジおよびウイルス滴定

注射の直前に、プラスミドをエンドトキシンフリー10mMトリス-HCl(pH8)緩衝生理食塩水に希釈した。マウスの尾の基部付近の刈り込んだ脇腹または基部からおおよそ1.5~2cmの尾の皮内部位の1つのいずれかにおける3つの部位(部位当たり10 μ l)に希釈プラスミド30 μ lを皮内注射した。2週間に3回マウスに注射し、最終注射の2または3週間後に、致死量以下の種々の用量のSG-MCMVを含有するダルベッコリン酸緩衝化生理食塩水(DPBS)0.5mlを用いる腹腔内注射でチャレンジした。

30

【0082】

腹腔内チャレンジ後6日目にマウスを屠殺し、脾臓を無菌的に摘出し、DPBSで洗浄した。7ml Tenbroeckホモジナイザーを用い、10%熱失活新生仔ウシ血清(Invitrogen Life Technologies)および10%DMSOを含有するダルベッコ変法イーグル培地中で脾臓をホモジナイズし、ホモジネートを等分して滴定まで-80℃で保存した。既述(27)のように、24ウェルディッシュ中のNIH 3T3細胞を用い、清澄化ホモジネートのブランクアッセイにより感染性MCMVの力価を測定した。この最初のアッセイに対する感度限界は、脾臓当たり100PFUであった。脾臓のウイルス力価が検出限界の5倍以下(脾臓当たり<500PFU)の場合、培地中の熱失活新生仔ウシ血清の濃度を10%に増やす以外は既述(63、64)のようにして10cmディッシュ中にNIH 3T3細胞を用いる、より高感度のブランクアッセイにおいてホモジネートの他のアリコートからの清澄化ホモジネート100 μ lを用いた。このアッセイの感度限界は脾臓当たり10PFUであることが実験的に確認された。各群における個々のウイルス力価のLog₁₀を取り、Log₁₀の平均値を算出した。

40

50

【 0 0 8 3 】

細胞内サイトカイン染色(ICS)アッセイ

前述のように、トランスフェクトされた刺激細胞を用いてICSアッセイにより、DNA免疫感作により誘発された特異的CD8 T細胞レベルを測定した(97)。比較目的のため、アッセイの2または4週間前に 1.2×10^5 PFUのTC-MCMVを腹腔内感染させた、1群当たり3匹のBALB/cマウスにおいて、MCMV感染により生じたCD8 T細胞レベルを測定した。最終pDNA免疫感作の2~3週間後、ICSアッセイのために免疫感作群または感染群のそれぞれから3匹のマウスを屠殺した。簡潔に言えば、BALB SV40(H-2^d)細胞を96ウェル組織培養プレートに播種し、1日後、プラスミドDNA0.5 μ gおよびFuGene6(Roche)1.25 μ l/ウェルで細胞(およそ60~75%集密的)をトランスフェクトした。トランスフェクションの2日後、脾細胞を採取し、赤血球を溶解し(BD Pharm Lyse, BD Biosciences)、プレフェルディンA(GolgiPlug, BD Pharmingen)の存在下で、トランスフェクトされた BALB SV40細胞の2連ウェルに免疫感作マウスまたは感染マウスからの 8×10^5 脾細胞を加えた。ペプチド刺激のために、 2×10^6 脾細胞を含む2連ウェルのそれぞれを、プレフェルディンAの存在下、L^d拘束性ノナペプチドエピトープであるTEI(¹⁶⁸YPHFMPNL¹⁷⁶)1 μ Mで刺激した。CD8およびIFN- γ 染色のゲート制御の役割をする脾細胞をペプチドは刺激した。37 °Cおよび7%CO₂での刺激の8時間後、染色のために、脾細胞の2連ウェルを96ウェル丸底プレートの1ウェルにあわせた。フィコエリスリン-Cy5(PE-Cy5)で標識した抗マウスCD8a(Ly-2)抗体クローン53-6.7(eBioscience)で脾細胞を終夜表面染色し、固定および浸透化(BD Cytofix/Cytoperm, BD Biosciences)に次いで、フルオレセインイソチオシアナート(FITC)で標識した抗マウスIFN- γ 抗体クローンXMG1.2(eBioscience)で脾細胞を染色した。リンパ球はゲートされ、二重染色された脾細胞を、Research Flow Cytometry Core Facility, VA Medical Center, La Jolla, CaliforniaでのBD FACSDivaソフトウェアを用い、BD FACSCantoフローサイトメーター (BD Biosciences)で計数した。

10

20

【 0 0 8 4 】

二次CD8 T応答の測定のために、DNA免疫感作マウスまたはTC-MCMV感染マウスに 1.2×10^5 PFUのSG-MCMVを腹腔内感染させ、感染後5日目に脾細胞を採取し、上記の様にICSアッセイにより分析した。

【 0 0 8 5 】

統計分析

MCMV力価またはCD8 T細胞レベルを比較するために一元配置分散分析(ANOVA)を用い、対比較のための事後検定試験として、Fisherの制約付最小有意差検定(PLSD)を用いた。Macintosh用StatView4.51ソフトウェア(Abacus Concepts, Inc.)を用いて分析を行い、 $P < 0.05$ のとき、統計的に有意であると定めた。

30

【 0 0 8 6 】

MCMV DNA pol(M54)、プライマーゼ(M70)およびヘリカーゼ(M105)のクローニング、配列決定および発現

Smith株由来細菌人工染色体であるMCMV MW97.01から、pcDNA3.1/V5-His-TOPO(カルボキシ末端V5エピトープおよび6xHisタグを提供するベクター(97))に、M54、M70およびM105遺伝子をクローニングした。クローニングされたM54およびM105 ORFの全配列はMCMV Smith株の公表された配列(71)と同一であった。クローニングされたM70 ORFの配列は、M70 ORFの3'末端とベクターによりコードされるエピトープタグ配列の間での1個のTの挿入を除けばMCMV Smithと同一であった。この変異はimmediate終止コドンを生じ、従って、M70タンパク質の、タグなし全コード配列を生じた。M54、M70およびM105の全連続的リーディングフレームの確認は、共役in vitro転写-翻訳(TNT T7 Quick)反応および[³⁵S]メチオニン標識(図3A)により行った。SDS-PAGEおよびオートラジオグラフィーにより、プラスミドのそれぞれは、予測相対分子量:M54に対して128.8kDa、タグなしM70に対して109.6kDaおよびM105に対して111.4kDaを有する単一の標識ポリペプチドを発現する事が見いだされた。マウスの皮内免疫感作のために、これらのDNAクローンの大規模なエンドトキシンフリー製剤を調製した。

40

50

【 0 0 8 7 】

in vivo発現に続くその後のウェスタンブロット分析を容易にするために、M70 ORFの3'末端における外来Tを部位特異的突然変異誘発により欠失させた。得られたM70クローン(M70⁺で示される)のDNA配列はT欠失を除いては親と同一であることが見いだされた(データは示さず)。M54、M70⁺およびM105プラスミドをCOS-7細胞に一過性にトランスフェクトし、トランスフェクションの48時間後に還元条件SDS-PAGEサンプル緩衝液中で全細胞溶解物を調製し、V5タグ特異的モノクローナル抗体を用いてウェスタンブロット分析を行った。COS-7細胞におけるM70⁺の発現により、タンパク質分解産物を表すと思われる等しい強度の移動度の速いバンドと共に、予測された114.7kDAに対応するバンドが生じた(図3B)。もともとの変異体M70クローンでトランスフェクトされたCOS-7細胞のウェスタンブロット分析に次いで、抗V5に反応するバンドは認められなかった。加えて、M54およびM105レーンにおいて認められる主要なバンドは、in vitroでの発現に次いで観察される予期されるサイズであった(図3B)。マウス-抗MCMV高度免疫血清で2連ブロットを調べたが、血清に反応するバンドは検出できなかった。総合すれば、プラスミドは完全長のタグをつけたORFを発現するが、コードされるMCMV抗原はBALB/cマウスの反復感染に次いで検出できる抗体反応を誘発しないことをこれらの結果は立証している。

10

【 0 0 8 8 】

M70ではなく、M54およびM105遺伝子でのDNA免疫感作は、BALB/cマウスにおける防御反応を誘発する。

20

次の調査は、BALB/cマウスにおける3つの保存された必須遺伝子のいずれかを用いて防御・予防反応を生じさせることができるかどうかであった。M54、M70およびM105の遺伝子産物ならびにそれぞれのHCMVホモログはウイルスエンベロープの一部ではないと推定されるので、これらの遺伝子を用いるDNA免疫感作に次いで誘発される任意の防御反応は、細胞性反応由来であって、中和抗体反応由来ではないと考えられる。これらのプラスミドDNAの防御効果を試験するために、1群当たり4匹のBALB/c雌マウスの刈り込んだ脇腹に、1)p c3 neoベクター単独(20 μ g)またはpc3 neo(10 μ g)に2)IE1(pp89)、3)M54、4)M70もしくは5)M105のいずれか(10 μ g)を加えたもので皮内免疫感作した。最終免疫感作の2週間後、SG-MCMVの致死量以下の3つの用量の1つ:0.25x LD₅₀(2x10⁵PFU)、0.50x LD₅₀(4x10⁵PFU)または0.75x LD₅₀(6x10⁵PFU)でマウスに腹腔内チャレンジした。MCMVの力価測定のために、チャレンジ後6日目に脾臓を採取した。

30

【 0 0 8 9 】

陽性対照IE1 DNAに加えて、M54およびM105をコードするDNAは、すべての腹腔内チャレンジ用量に次いで、脾臓におけるウイルス複製に対して防御を示した(図1)。低用量のMCMVでのチャレンジに次いで、M54およびM105 DNAでの免疫感作により与えられる力価の平均低下は、IE1群におけるものに匹敵した(ベクター単独で免疫感作したマウスに対して12~15倍)。M54およびM105で免疫感作したマウスの脾臓におけるウイルス力価の低下は、中間チャレンジ用量に次いでIE1で免疫感作したマウスにおけるものよりも高くはなかったが、高チャレンジ用量に次いで、IE1およびM54免疫感作は両方とも600倍を超えるウイルス力価の低下をもたらし、M105は60倍の低下をもたらした。それぞれのベクターDNA単独で免疫感作した対照と比較して、M54またはM105 DNAで免疫感作したマウスにおける脾臓の力価の低下は、高用量(0.75x LD₅₀)チャレンジ後のM105群(P=0.13)を除いて統計的に有意であった。最後に、興味あることに、そのHCMVホモログに対するアミノ酸一致度が最も低いM70 DNAは、任意のチャレンジ用量レベルで防御を示さなかった。これらの結果は、高度に保存された必須遺伝子であるM54およびM105を、防御抗原の新規なクラスの防御メンバーとして同定している。

40

【 0 0 9 0 】

M54およびM105 DNAの防御効果を確認するために、独立した実験を行った。BALB/cマウスの各群を、治療せずに放置(Naive)するか、または50 μ gのベクターDNA(Vect)、IE1、M54またはM105 DNAで尾に2週間に3回皮内免疫感作した。最終免疫感作の3週間後、0.50x LD₅₀(4x10³PFU)のSG-MCMVでマウスに腹腔内チャレンジし、ウイルス力価測定のためにチャ

50

レンジ後6日目に脾臓を採取した。図2に示すように、IE1またはM54 DNAでの免疫感作は、この実験における各マウスの防御レベルにおけるばらつきはより大きかったが、ベクターDNA単独で免疫感作した対照に対してそれぞれ700倍および500倍を超える、脾臓における平均ウイルス力価の低下をもたらした(図4)。これらのプラスミドのいずれかにより誘発されたウイルス力価の低下は統計的に有意であった(Vectと比較して $P<0.002$)。この実験において、M105 DNAでの免疫感作は、Vect群よりもおよそ40倍の平均レベルを有する、より少量のウイルス力価の低下をもたらした($P=0.059$)。総合すれば、M54 DNAでの免疫感作は、免疫優勢IE1 DNAにより誘発される防御と同様な高レベルの防御を与えたが、M105 DNAでの免疫感作はより少量のウイルス力価の低下を誘発した。

【0091】

M54またはM105での免疫感作は、ウイルスチャレンジに続く、急速に増強する特異的CD8 T反応を誘発する。

DNA修飾酵素をコードする保存された必須遺伝子でのDNA免疫感作により誘発される防御反応は、特異的獲得細胞性免疫反応、すなわちCD8またはCD4 Tリンパ球反応によるものと思われる。IE1またはM84を発現するプラスミドを単独または組み合わせで注射することによるDNA免疫感作は、致死量以下の腹腔内チャレンジ後に脾臓におけるウイルス複製に対して強力なCD8 T細胞応答および防御を誘発する(62、89)。ICSアッセイによる、DNA免疫感作マウスまたはMCMV感染マウスにおけるpM84特異的CD8 T細胞の計数は、Holtappelsらにより確定されたエピトープペプチドと比較して、完全長M84タンパク質を発現する細胞での脾細胞の刺激に次いで、一貫してIFN- γ +CD8+T細胞の高い数値をもたらした(37、88)。これらの結果は、これらの遺伝子産物のH-2^d拘束性エピトープのすべての地図を作る試み(そしておそらくは防御特異性の一部を見逃している)というよりはむしろ完全長防御M54およびM105遺伝子産物に対する細胞性反応の測定をもたらした。容易にトランスフェクトできるSV40形質転換H-2^d細胞株(95)であって、完全長MCMV ORFを発現するDNAであらかじめトランスフェクトされたBALB SV40細胞により脾細胞刺激が媒介されるICSアッセイを用いた。この技術は、最近、既知のMCMV ORFの全部170をコードするプラスミドを用いてMCMV感染C57BL/6マウスのCD8 T細胞のレパートリーの特異性を特徴づけるために用いられた(97)。

【0092】

DNAで免疫感作したマウスにおける特異的CD8 T反応の測定のために、空プラスミドベクター(Vect)またはIE1、M54もしくはM105を発現するプラスミドDNAのいずれか25 μ gで7週齢雌BALB/cマウスの尾を皮内免疫感作した。2週間に3回マウスに免疫感作し、ICSアッセイの2週間前(図6A)または3週間前(図6B)にさらなるブースターを与えた。DNA免疫感作マウスとMCMV感染マウスの特異的CD8 T細胞レベルを比較するために、ICSアッセイより2週間前(図5A)または4週間前(図5B)にさらなるマウスの群を 1.2×10^5 PFUのTC-MCMVで腹腔内感染させた。ICSアッセイのために、DNA免疫感作マウスまたはMCMV感染マウスからの脾細胞を採取する48時間前に、IE1、M54またはM105 DNAのいずれかで96ウェルディッシュ中のSV40 BALB刺激細胞をトランスフェクトした。刺激細胞のトランスフェクション効率をモニターするために、IE1 DNAまたは増強緑色蛍光タンパク質(enhanced green fluorescent protein)(EGFP)であるpcDNA3-EGFPを発現するDNAのいずれかでさらなるウェルをトランスフェクトした。1群当たり3匹のマウスからの赤血球除去脾細胞をプレフェルディンAの存在下で刺激細胞と共に8時間インキュベートし、抗CD8抗体で終夜表面染色し、抗IFN- γ 抗体で細胞内染色し、フローサイトメトリーで分析した。図4に、感染群の免疫感作についての1匹の典型的なマウス(マウス2)についてのフローサイトメトリー結果を示す。刺激細胞をトランスフェクトするために用いたDNAにかかわらず、ベクター免疫感作マウスからの脾細胞のバックグラウンド染色は、IFN- γ 陽性に染色したCD8+T細胞の0.01%~0.02%と、大変低かった。

【0093】

図6Aは、最終DNA免疫感作の2週間後またはMCMV感染の2週間後のマウスにおいて得られたCD8 T細胞レベルを示す。IE1 DNA免疫感作マウスまたはMCMV感染マウスにおけるIE1特

10

20

30

40

50

異的CD8 T細胞レベルは、それぞれ平均レベルが0.38%および0.32%と、同等であった。全般的に、これらのレベルは優性IE1エピトープペプチドで脾細胞が刺激されたときに得られるレベルよりも低い、このことは、おそらく、大過剰の刺激ペプチドのみで浸された脾細胞と比較して、単一のIE1エピトープを提示している刺激細胞との接触を生じる、プライミングされたCD8 T細胞の確率が低いことから生じると考えられる。刺激の時点で、トランスフェクトされた刺激細胞は通常85~100%集密的であり、EGFPでトランスフェクトされた細胞の直接蛍光またはIE1でトランスフェクトされた細胞の免疫蛍光染色のいずれかによる測定では、60~70%の細胞がトランスフェクトされた(データは示さず)。それにもかかわらず、DNA免疫感作マウスまたはMCMV感染マウスIE1特異的CD8 T細胞のレベルは、ベクターで免疫感作したマウスよりも統計的に有意に高かった(それぞれ $P=0.001$ および $P=0.003$)。すべてのM54 DNA免疫感作マウスまたはMCMV感染マウスにおいて、M54でトランスフェクトされた刺激細胞での刺激後、M54特異的CD8 T細胞を検出できたが、DNAで免疫感作したマウスはMCMV感染マウス(平均0.18%、範囲0.15~0.21%)に対してやや高いがより変動するレベル(平均0.39%、範囲0.20~0.58%)を示した(図6A)。M54で免疫感作したマウスにおける反応は、ベクターで免疫感作した対照($P=0.006$)よりも有意に高かったが、MCMV感染マウス($P=0.06$)に対してはそうではなかった。MCMV感染マウスにおけるM54特異的反応は、同様にベクター対照よりも有意に高くはなかった($P=0.12$)。M105 DNA免疫感作またはMCMV感染は、M105特異的CD8 T細胞を誘発したが、ここでも同様に、DNA免疫感作は、MCMV感染(平均0.30%、範囲0.20~0.35%)と比較して高いが変動するレベル(平均0.74%、範囲0.52~1.16%)を誘発した。上記のM54試験群と同様に、M105 DNAで免疫感作したマウスにおけるCD8 T細胞応答はベクターで免疫感作したマウスよりも有意に高かったが($P=0.006$)、MCMV感染マウスにおける反応は、対照と比較して統計的に異ならなかった($P=0.15$)。しかしながら、DNA免疫感作およびMCMV感染に対するM105特異的反応は、この群においてはかなり異なった($P=0.045$)。

【0094】

続いて、最終DNA免疫感作後にさらに1週間休ませた(全部で3週間)またはMCMV感染後にさらに2週間休ませた(全部で4週間)マウスにおいてCD8 T細胞レベルを試験した。全般的に、これらの結果(図6B)は上記で得られた結果と大変類似していた。最も注目し値する例外は、M54 DNA免疫感作マウスにおけるM54特異的CD8 T反応はMCMV感染マウスに対して有意に増強したことである($P<0.001$)。MCMV感染マウスにおける平均M54特異的CD8 T反応は、2つの実験間で同等であったが(0.18%および0.21%)、これは、M54 DNA免疫感作マウスにおいて観察された増強が、IE1またはM105 DNAと比較してM54 DNAに対するCD8反応のより遅いキネティクスに由来するものであったことを示唆している。この実験において、MCMV感染マウスにおいてM105特異的CD8 T細胞レベルはベクター免疫感作対照よりも有意に高かったが($P=0.03$)、M105 DNA免疫感作マウスとは有意に異ならなかった($P=0.11$)。総合すれば、これら2つの実験の結果は、M54およびM105 DNAは抗原特異的CD8 T細胞反応を誘発し、そしておそらくはM54 DNAに対する反応はより遅いキネティクスを示すことを明らかにしている。MCMVでの急性腹腔内感染に次いでM54およびM105特異的CD8 T細胞応答を検出できたが、ベクター対照と比較して4週間でのM105に対する反応のみが統計的に有意であった。同様に、MCMV感染によるものと比較してM54およびM105 DNAが、CD8 T細胞レベルのより高いレベル誘発する傾向が見られ、MCMV感染は、2つの実験の1つにおいてM54またはM105に対して統計的に有意なCD8 T細胞レベルを誘発した。

【0095】

DNA免疫感作によりプライミングされたCD8 T細胞がどのようにウイルスチャレンジに回答するかを測定するために、M54およびM105遺伝子産物に対する二次応答を測定した。MCMV感染はベクター単独で免疫感作したマウスにおいてチャレンジ後5日目までに有意なレベルのIE1またはM84特異的CD8 T細胞をプライミングしない(89)。対照的に、IE1またはM84 DNAで免疫感作したマウスにおけるCD8 T細胞は、この初期時点までに活発に回答することができ、二次応答が引き起こされたことを示した。MCMV感染によりプライミングされた低いM54またはM105特異的CD8 T細胞レベルがその後のウイルスチャレンジに次いで増強する

かどうか、あるいは感染中のこれらの抗原の垂優性(subdominance)はプライミングされたCD8 T細胞の増加を妨げるかどうかが本実施例の目的でもあった。この目的のために、最終免疫感作の7週間後に、1群当たり3匹のDNA免疫感作マウスに 1.2×10^5 PFUのSG-MCMVで腹腔内チャレンジし、同様に、MCMV感染マウスのうち3匹を、一次MCMV感染の6週後にSG-MCMVで再感染した。チャレンジまたは再感染の5日後に脾細胞を分離し、上記のようにICSアッセイにより分析した。

【0096】

IE1、M54またはM105 DNAを発現する細胞で刺激するとき、チャレンジ後5日目にベクター単独で免疫感作したマウスにおける特異的CD8 T細胞の平均レベルは、それぞれ0.06%、0.09%および0.10%であった(図7)。これらの結果は、これらの抗原に対する一次反応は感染後のこの時点では全般的に低かったことを示し、DNA免疫感作マウスまたはMCMV感染マウスにおけるレベルへのそれらの貢献の可能性の大きさを示している。IE1 DNA免疫感作マウスにおけるIE1特異的CD8 T細胞の平均百分率は0.48%であった(図7)。この値はチャレンジ前に観察されたピークレベルよりもやや高かった(0.38%、図6A)。比較すると、再感染後のMCMV感染マウスにおける平均は0.73%であったが、これはチャレンジ前ピークレベルの0.32%よりも少なくとも2倍高かった(図6A)。

【0097】

最終免疫感作の7週間後にM54またはM105 DNAでMCMVチャレンジしたマウスにおけるCD8 T細胞レベルは、同様に、それぞれのチャレンジ前ピークレベルの2~3倍高かった。対照的に、以前MCMVに感染したマウスにおいて、M54およびM105に特異的なCD8 T細胞のチャレンジ後レベルは、それぞれのチャレンジ前レベルとほぼ同一であった。ウイルスでの再刺激がない場合に、DNA免疫感作マウスのこの群におけるM54およびM105に対する特異的CD8 T細胞のレベルがどのくらいであったかはわからないが、IE1またはM84DNAで免疫感作したマウスは最終免疫感作の2週間後より低いと同じであるCD8 T細胞レベルを有していた(89)。より具体的には、IE1ペプチド特異的CD8 T細胞のレベルは、最終免疫感作の2週間後において5.2%であり、第4週において1.7%まで減少し、一方でM84ペプチド特異的CD8 T細胞のレベルは、第2週において1.1%であり、第4週において1.0%であった。総合すれば、DNA免疫感作マウスにおけるM54およびM105特異的CD8 T細胞は、ウイルスチャレンジに対してIFN- γ 細胞レベルの上昇を伴って迅速に応答できたが、MCMV感染マウスにおけるIFN-分泌M54およびM105特異的細胞は、IE1特異的CD8 T細胞とは異なり、その後の再感染により刺激されなかったことを我々のデータは示した。

【0098】

本実施例において、HCMVにおけるホモログが培養細胞内でのウイルス複製に必須であることが見いだされている、E遺伝子上のMCMVの防御CD8 T細胞標的が同定された。一過性トランスフェクションシステムにおけるoriLyt依存性DNA複製にHCMV UL54およびUL105が必須であることが明らかにされ(98)、in vivoでのそれらのウイルス複製のための必要性は、DunnらおよびYuらによる独立した突然変異誘発研究により確認されている(12、90)。UL54はDNAポリメラーゼ触媒サブユニットをコードし、UL5によりコードされるHSV-1ヘリカーゼタンパク質とのaa相同性に基つき、HCMV UL105は提案されているヘリカーゼ-プライマーゼ複合体(UL70-UL102-UL105)のヘリカーゼ活性を有すると考えられる。このように、MCMVは、同族のエフェクターCD8 T細胞に直面してin vivoでの増殖感染においてM54およびM105の発現を強く下方制御または排除する事ができることは起こりそうもない。しかしながら、MCMVがより遅い複製速度および病原性低下を促進するレベルまで感染組織内でのM54またはM105の発現を下方制御できるが、それらの同族のCD8 T細胞に認識されるための十分なM54またはM105由来ペプチドの表面提示が防止される可能性も残っている。感染性ウイルスでの比較的高用量の全身性チャレンジに続く急性期の脾臓でのウイルス複製の我々の防御アッセイにより示されるIE1およびM54 DNAの同様な防御能力は、IE1およびM54特異的CD8 T細胞の最終的防御能力間の質的差異を説明しないが、慢性または潜伏感染中にこれらの細胞の抗ウイルス効果における差異が存在するかどうかを決定するための研究が進行中である。

【 0 0 9 9 】

M54またはM105でのDNA免疫感作により、一貫して、トランスフェクトされたH-2^d刺激細胞での短期間のインキュベーションによりIFN- γ 分泌能を有するCD8 T細胞応答が誘発された。このように、各ポリペプチド配列内に少なくとも1つのH-2^d拘束性抗原ペプチドが存在する。M54に対するピーク反応はM105に対して遅れることもまた明らかとなった。このことは、IE1およびM84特異的CD8 T細胞応答のキネティクスもまた少し異なるという所見と一致する(89)。

【 0 1 0 0 】

MCMV感染がM54またはM105のいずれかにCD8 T細胞応答を生じるかどうかを試験したとき、急性感染はこれらの抗原に対する特異的反応に対するプライミングしたことも見いだされたが、M105に対する反応は2つの実験のうち1つのみに統計的有意性が得られた。各マウスにおける急性MCMV感染に対するM54特異的反応は、2つの実験においてバックグラウンドレベルの9~39倍であり、一方、これらの実験におけるM105特異的反応はバックグラウンドの20~49倍であった。従って、MCMV感染はM54およびM105の両方の抗原ペプチド(単数または複数)に対する特異的CD8 T細胞応答を誘発することができ、これらの細胞を検出するために用いられるこの反応またはアッセイにおけるばらつきにより、群サイズ、ばらつきおよび増強レベルでの統計的有意性を得ることが困難である。M105およびIE1に特異的であった平均および個別のCD8 T細胞応答は、示された2つの実験内でMCMV感染マウスに対して同様であったが(図6Aおよび6B)、このアッセイは各抗原に対して厳密に最適化されていなかった。しかしながら、M54およびM105 DNAはそれぞれ各実験において、それらのコードされた抗原に対して、MCMV感染により誘発されるものよりも強いピーク反応を誘発することができたので(IE1反応とは異なる)、さらなる分析により、M54およびM105はBALB/cマウスにおけるMCMVの亜優性抗原(subdominant antigen)に分類されるであろう。急性MCMV感染はM54およびM105に対する高レベルの特異的CD8 T細胞をプライミングする事ができないが、DNA免疫感作によりプライミングされたCD8 T細胞の有効性は、M54およびM105由来抗原ペプチドがin vivoで感染脾細胞により実際に提示されることを明らかにしている。

【 0 1 0 1 】

SylwesterらおよびMunksらは、それぞれ、HCMVおよびMCMV感染に対するCD8 T細胞免疫のレパートリーを包括的に記録した。HCMVの場合は、33名の血清反応陽性被験者のうち3名(9%)のみが検出可能なUL54ペプチド特異的CD8 T細胞応答を示し、レベルは1%未満であったが(99)、これはUL54が亜優性HLA拘束性抗原ペプチドをコードしていることを示唆している。33名の被験者のうち6名(18%)が検出可能なUL105特異的CD8 T細胞応答を示したので、UL105はこれらの被験者におけるCD8 T細胞によりやや高い頻度で認識されたが、1名の被験者のみが1%を超えるレベルを示した。

【 0 1 0 2 】

3匹の急性感染C57BL/6マウスのプールにおいて、CD8 T細胞のレパートリーには、弱いバックグラウンドの>5倍のM54に対する反応が含まれた(およそCD8 T細胞の0.2%)。しかしながら、M105に対する測定可能な反応はなかった(97)。C57BL/6の研究において用いられたものと同じ方法を用いる急性感染BALB/cマウスでの実験において、CD8 T細胞の0.2%のM54に同様な平均反応が認められ、0.3~0.4%のより高いレベルのM105特異的CD8 T細胞が認められた。急性MCMV中、M54およびM105に対してプライミングされたこれらの反応は低かったが、MCMVでの再感染がこれらのCD8 T細胞レベルを増強するかどうか、または感染中これらの抗原の見掛けの亜優性を支配する機構(単数または複数)が増強された二次応答を予防するかどうかはまだ決定されていなかった。マウスの再感染により、M54およびM105特異的CD8 T細胞のレベル(図7)は、感染後4週間での急性感染マウスにおけるそれぞれのレベルよりも認めうるほどには高くはなかった(図6B)。しかしながら、一次感染後の第4週(再感染前に測定される最終時点)と第6週(マウスの再感染時)との間にCD8 T細胞レベルにおけるさらなる低下が存在し、その後の再感染により第4週レベルまでのCD8 T細胞応答の増強をもたらした可能性がある。いずれにしても、再感染マウスにおけるM54およびM105に対する反応は、測定時点でMCMVでの再感染により少なくとも2倍増強されたIE1特異

的CD8 T細胞レベルと対照的であった。従って、もし感染マウスにおいてMCMVに対する既存の免疫が、その後の感染ウイルス(またはウイルス抗原)が脾臓の区画に入ってM54またはM105に対する二次応答を再刺激することを予防したとすれば、IE1に対する二次応答も同様に排除される。IE1に対する二次応答の生成はM54およびM105 Eタンパク質に優る一時の利点を有する考えられ、従って、強力な防御を示すIE1特異的CD8 T細胞における増強は、M54およびM105エピトープに対してプライミングされたCD8 T細胞を再刺激する、感染脾細胞における十分なE遺伝子発現を排除した可能性がある。チャレンジウイルスの用量の増加がM54およびM105に対する二次応答の不足を克服するかどうかは、DNA免疫感作マウスにおけるこれらの抗原に対する二次応答が明確に観察されたので、解らない。IE1 DNA免疫感作マウスにおける二次応答は、免疫優勢IE1 L^d拘束性エピトープペプチド(24)を用いるICSアッセイにおいて以前観察されたものよりも高くはなかったが、これはおそらくは用いたICSアッセイにおける差異によるものである。

10

20

30

40

50

【0103】

試験したMCMVの3つの保存された必須E遺伝子のうち2つに対する反応がウイルス複製に対して防御を示すことが見いだされたが、MCMV感染に対するCD8 T反応がウイルスにより故意にゆがめられてこれらの抗原に対する反応を限定するかどうかは未だに見いだされていない。免疫優勢ではあるが最終的に効果のないゆがんだCD8 T反応が、M45特異的CD8 T細胞で再構成した免疫アブレーションしたC57BL/6マウスにおけるウイルス制御の欠如から明らかにされた(7)。D^b拘束性M45ペプチドは、おそらくは、感染していない樹状細胞におけるM45タンパク質のクロスプレゼンテーションにより、特異的CD8 T細胞応答をプライミングするのに大変有効であるが、感染組織におけるこのペプチドのMHCクラスI提示は、immunoevin m152により十分に阻害されてウイルス制御のエフェクター機構を抑制する事が示された。T細胞のプライミングに関する現行の知識を考慮しても、ウイルス抗原に対する一次CD8 T反応の負のゆがみ(negative skewing)の機構は、容易に説明されない。しかしながら、CMVは、哺乳動物が放散を始めてからこれまで~7千万年にわたってそれぞれの宿主と共に共進化し、拡散することに成功した。疑いもなく、宿主の選択的免疫圧力は、免疫優性の階層およびウイルスと宿主とのバランスを形成させ、通常は病原性ではない終生の持続感染を成立させるのに役立った。ウイルス特異的CD8 T細胞を誘発するDNA免疫感作を用いる利点は、immunoevinまたは、ウイルス複製中発現される 170ウイルスタンパク質間の抗原競合の非存在下で反応を生じさせることができることである。

【0104】

実施例11

全3マウス系統において個々のDNAと少なくとも同様に防御を示すCD8+T細胞応答を、組み合わせたDNAの最小限のプールが協力して誘発するかどうかの決定

BALB/cマウスにおけるMCMVに対するDNA免疫感作を実験により、単独で用いられたときそれぞれ防御を示す複数のプラスミドの組み合わせは、増強され、場合により相乗的な防御レベルをもたらすことが示された(62~64、89)。しかしながら、マウスに最小限のDNAプールでプライミングし、FI-MCMVで追加免疫し、粘膜および全身性経路によりチャレンジする次の実験に進む前に、プール内のDNAが防御反応に悪影響を与えるかどうか最初に確認してもよいだろう。この可能性は、個別の防御pDNAが、他の防御を示すまたは防御を示さないプラスミドと混合されるとき十分に防御を示し続けることを示す結果と矛盾する可能性がある。それにもかかわらず、FI-MCMVでの追加免疫を用いる実験の期間ばかりでなく3つのマウス系統を免疫感作する必要性により、さらなる比較的短期間の実験を行う必要性が正当化される。追加の測定として、単独またはプールで注射したときの、最小限のDNAプールにおける各抗原に対するCD8+T反応を比較することにより組み合わせた免疫反応を特徴づける最良の機会を本実験は提供する。とりわけ、IE1およびM84 DNAでの同時免疫は、pDNA単独のそれぞれでの免疫感作と比較するとき、一般的には低レベルのIE1特異的CD8+T細胞および高レベルのM84特異的CD8+T細胞をもたらすが、同時免疫は一貫して相乗的なレベルの防御を与える(89)。従って、最小限のDNAプールで免疫感作したマウスからのCD8+T細胞データを解釈する場合、単一のDNA免疫感作に対して防御が増強または維持

されている限り、個々のCD8+T細胞レベルにおける低下は準最適ワクチンを構成しない。

【0105】

最小限のDNAプールのCD8+T細胞および防御反応を測定するために、毎日の作業量を減じ
るために実験の日時をずらして、3つのマウス系統のそれぞれにおいて実験を行うことが
できる。1群当たり16匹のマウスに空ベクター(pcDNA3)DNA、最小限のDNAプールまたは、
プールを構成する2または3の個別の防御DNAのそれぞれで皮内免疫感作する。さらにまた
、gBまたはgH/gLプラスミド(単数または複数)の包含が防御を増強させることが見いださ
れる場合、最小限のDNAプールはこれらのプラスミドをも含む。最終免疫感作の7~10日後
、各群からの4匹のマウスを屠殺し、上記のようにICSアッセイのために脾細胞を調製する
。空pcDNA3ベクターまたは、注射に用いたMCMV DNAの1つのいずれかでトランスフェクト
された適切な同系の細胞株で脾細胞を刺激する。ベクター単独および、最小限のDNAプー
ルで免疫感作したマウスからの脾細胞は、共に、空ベクターおよび各MCMV DNAを発現する
トランスフェクタントでそれぞれ刺激されるが、プールの個別成分で免疫感作したマウス
からの脾細胞は、免疫感作に用いる空ベクターまたはDNAのいずれかでトランスフェクト
された細胞で刺激される。

10

【0106】

最終免疫感作の2週間後、最小限のプールにおけるDNAに対して最適の防御レベルを与
えるために、上記のスクリーニング実験において示されるSG-MCMVの単回投与でマウスに腹
腔内チャレンジし、上記のように脾臓を採取して、
MCMVの力価を測定した。これらの結果により、得られたCD8+T細胞および防御のレベルに
関して、最小限のDNAプールにおけるプラスミドの相互作用を直ちに特徴づけるであらう
。

20

【0107】

実施例12

最小限のDNAプールおよび弱毒生または不活化MCMVを用いるプライムブーストワクチン接
種が粘膜および全身性チャレンジに対して全3マウス系統に対して完全な長期防御を与
えるかどうかの決定

上記で定義された最小限のDNAプールが、弱毒生または不活化MCMVを用いる追加免疫よ
り前にプライミング段階で用いられた場合の有効性を評価することができる。ウイルスの
感染のための経粘膜経路の重要性から、鼻腔内チャレンジに対するプライムブーストワク
チンの有効性を測定できる。

30

【0108】

MCMV感受性BALB/c(H-2^d)、CBA(H-2^k)、および129/J(H-2^b)系統のそれぞれにおいて実験
を行うことができる。標準的ワクチン接種スケジュール(スケジュール表については図2参
照)を用いて、1群当たり52匹のマウスに、1)pcDNA3ベクターを用いる皮内プライミングお
よびPBS+アラムを用いる腹腔内追加免疫または2)最小限のDNAプールを用いる皮内プライ
ミングおよび弱毒生または不活化FI-MCMVを用いる腹腔内追加免疫、のいずれかにより免
疫感作する。実施例2の実験が、最小限のDNAプール単独での免疫感作は、試験マウスの全
3系統の脾臓において検知できるレベルのウイルスをもたらさないことを示すという事象
において、DNA媒介性防御をさらに特徴づけるために、最小限のDNAプールでプライミング
され、PBS+アラムで追加免疫した第3の免疫感作群を含めることができる。最終皮内DNA免
疫感作の7~10日後、DNAプールにおける各抗原に特異的なCD8+T細胞のレベルを測定す
るために、各免疫感作群からの4匹のマウスにICSアッセイを行う。最終腹腔内ブーストの11
~12週間後、眼窩後方から血液サンプルを採取してビリオン特異的IgGおよびウイルス中
和抗体を定量し、ついで最終腹腔内ブーストの12週間後、マウスにTC-MCMVで鼻腔内にま
たはSG-MCMVで腹腔内にチャレンジする。3、6、10、14、21および32日目に免疫感作群当
たり4匹のマウスを屠殺し、脾臓、肝臓、肺および唾液腺を摘出して急性感染の間のウイ
ルス量を測定する。

40

【0109】

実施例13

50

最小限のDNAでプライミングされた/弱毒生または不活化MCMVで追加免疫したマウスにおいて弱毒もしくは不活化ウイルスまたはチャレンジウイルスが潜伏を成立させるかどうかの決定

【0110】

固形臓器または骨髄の臓器移植者などの免疫抑制された個体においてばかりでなく、エイズ患者における潜伏HCMVの再活性化は深刻な問題であり、しばしば移植片不全および重篤なCMV疾患を引き起こす(67)。感染性ウイルスの非存在下、ウイルスDNAおよび再活性化可能なウイルスの存在により確定される潜伏を成立させるチャレンジウイルスの能力を試験するために、1群当たり48匹のBALB/c雌マウスからなる2つの群に、A)ワクチン接種なしまたはB)ベクターDNAの皮内注射およびPBS/アラムの腹腔内注射のいずれかを接種させる。さらに、52匹のマウスからなる1つの群にC)最小限のDNAプールの皮内注射および弱毒生または不活化MCMV/アラム、例えばFI-MCMV/アラム(免疫感作群に関しては以下の表を参照)の腹腔内注射で免疫感作する。本実験において、チャレンジウイルスのゲノムとそのゲノムを区別するために、ホルマリン不活化および免疫感作のために使用する、ie1のイントロン3においてloxP部位を有するMCMVを構築するために公表された方法(61)を使用することができる。ie1のイントロン3における35bp loxP部位を有する免疫感作ウイルスのみにタグを付けることにより、ウイルスの抗原性および増殖特性を維持しながら、野生型K181(チャレンジウイルス)および不活化ワクチンMCMVからのゲノムDNA由来のie1配列を検出し識別する高感度PCRプロトコル(61)の使用が可能となる。

【0111】

最終免疫感作の8週間後、1群当たり12匹のマウスにTC-MCMVまたはSG-MCMVの致死量以下の2つの用量のうちの1つで鼻腔内または腹腔内にチャレンジする(経路および用量に関しては表を参照)。これらのチャレンジ条件により、低用量または高用量のウイルスでの粘膜または非経口チャレンジに続く潜伏成立の測定が可能となる。加えて、最適化されたpDNAプール/弱毒生またはFI-MCMV/アラム免疫感作群における4匹のマウスを、FI-MCMVからのゲノムie1配列のPCRベースの検出の対照としてチャレンジせずに残す。

【表2】

表2: 潜伏-実験群の概要(マウス数)

ワクチン接種 (マウス数)	チャレンジ経路 (数)	チャレンジ 用量	肺/SGにおける 防御	潜伏の確認	共培養 および PCR
なし(48)	i.p. (12)	0.5xLD ₅₀	(4)	(2)	(6)
	i.p. (12)	0.05xLD ₅₀	(4)	(2)	(6)
	i.n. (12)	5x10 ⁵ PFU	(4)	(2)	(6)
	i.n. (12)	5x10 ⁴ PFU	(4)	(2)	(6)
ベクター DNA + PBS/アラム (48)	i.p. (12)	0.5xLD ₅₀	(4)	(2)	(6)
	i.p. (12)	0.05xLD ₅₀	(4)	(2)	(6)
	i.n. (12)	5x10 ⁵ PFU	(4)	(2)	(6)
	i.n. (12)	5x10 ⁴ PFU	(4)	(2)	(6)
最小 DNA プール + FI-MCMV/アラム (52)	i.p. (12)	0.5xLD ₅₀	(4)	(2)	(6)
	i.p. (12)	0.05xLD ₅₀	(4)	(2)	(6)
	i.n. (12)	5x10 ⁵ PFU	(4)	(2)	(6)
	i.n. (12)	5x10 ⁴ PFU	(4)	(2)	(6)
	なし (4)	なし	(0)	(0)	(4)

【0112】

チャレンジ後10日目に、腹腔内または鼻腔内チャレンジ経路および低または高チャレンジ用量の4つの組み合わせのそれぞれにつき4匹のマウスを屠殺し、完全な防御が得られたことを確認するために肺および唾液腺におけるMCMVの力価測定を行う。残りのマウスを少なくとも4ヶ月飼育して急性および持続感染を沈静化させ、潜伏の成立を可能にする。チ

チャレンジ経路およびチャレンジ用量当たり2匹のマウスを屠殺し、高感度ブランクアッセイでそれらの唾液腺のホモジネートを滴定することにより感染性ウイルスの不存在を確認する。潜伏成立の確認後、残りのマウスを屠殺し、1)感染性ウイルスの不存在、2)潜伏ウイルスDNAの相対レベルおよび3)再活性化可能な潜伏ウイルスのレベル、の測定を行う。簡潔に言えば、脾臓、唾液腺、肝臓および肺を採取し、それぞれを3つの画分に分割する。1つの画分をDounceでホモジナイズし、ブランクアッセイにより感染性ウイルスの不存在を確認する。第2組織画分からゲノムDNAを精製し、ネステッドPCRにかけ、ie1ゲノム領域の増幅を行う。この方法は、組織DNA1 μ gのバックグラウンド中の標的DNAのシングルコピーまで確実に検出し、潜伏ウイルスDNAの相対量を半定量的に評価する(61)。ゲノムDNAが分解しておらず、PCR阻害剤を含んでいないことを確認するために、MCMV DNAが陰性である同一DNA希釈液から α -アクチン配列を増幅した。加えて、弱毒生または不活化MCMV由来のウイルスDNAがまだ検出可能かどうかを決定するために、免疫感作したがチャレンジしていないマウスからの組織を並行して処理する。いずれにしても、FI-MCMVおよび生チャレンジウイルス中のie1配列を2つの方法で識別することができる:1)ネステッド反応からのPCR産物は、チャレンジウイルス中で310bpであり、弱毒生または不活化MCMV中ではおよそ350bpである、2)弱毒生または不活化MCMVにおけるloxP部位に特異的な標識オリゴヌクレオチドプローブは、PCR産物に寄与する任意の弱毒生または不活化MCMV配列のサザンプロットにより検出できる。さらにまた、IE1 cDNAの増幅に由来する188bp PCR産物は、不活化またはチャレンジウイルス中のゲノムie1配列とは明確に区別できる。最後に、潜伏マウスから採取した残りの組織をMECで共培養し、再活性化可能なウイルスの存在が検出される(58)。このように、PCRは潜伏ウイルスDNAの総量の最も高感度な測定値を与えるが、共培養によるMCMV再活性化の相対頻度は、再活性化し再発疾患またはウイルス感染を引き起こす可能性のあるウイルスDNAのレベルを明らかにする。

【0113】

実施例14

最小限のDNAプールおよび弱毒生または不活化MCMVでのプライムブーストワクチン接種は非近交系集団において急性および潜伏MCMV感染に完全な防御を与えるかどうかの決定

子宮内胎児にうつすことができる持続または不活化ウイルスが存在しないことを保障するので、全身性および粘膜感染に対する滅菌免疫を与えるワクチンの能力は、CMVに対するワクチン接種の黄金律を表す。ヒトにおいてこの目的を達成するためには、ワクチンは非近交系集団において有効でなければならない。上記の実験において、3つのマウスハプロタイプ(H-2^d、H-2^kおよびH-2^b)のそれぞれからのマウスに保存されたMCMV遺伝子の最小限のプールでプライミングし、FI-MCMVで追加免疫することにより完全な系統間防御をもたらすことが明らかにできる。しかしながら、強力な初期NK反応の非存在下で保存された防御遺伝子をより明白に同定するために、これらの実験はMCMV感受性系統においてのみなされたであろう。加えて、ワクチン免疫を突破することができる任意のウイルスは、自然耐性株と比較してより効率的に検出可能レベルに複製されるので、MCMV感受性系統は、滅菌免疫を与えるためのDNAプライム/FI-MCMVブーストの能力の最も厳密な試験を提供する。

【0114】

最適のプライムブーストワクチンが、全身性または粘膜チャレンジに続く急性および潜伏MCMV感染の両方に対して完全に防御を示すかどうかを決定するための、Swiss Webster 非近交系マウスにおけ免疫感作実験を行うことができる。この系統におけるチャレンジ条件を最適化するために、1)ベクターDNAプライム+PBS/アラムブーストまたは2)最小限のDNAプールプライム+弱毒生または不活化ウイルス、例えばFI-MCMV/アラムブースト、のいずれかでSwiss Websterマウスに免疫感作する。ウイルス特異的IgGおよび中和抗体のレベルを測定するために上記のように血液サンプルを採取する。最終ブーストの12週間後、マウスに鼻腔内または腹腔内チャレンジし、短期間チャレンジに続く防御レベルを評価するために標的器官を分析する。ついでチャレンジしたマウスの残りを飼育し分析して、ウイルス潜伏の成立を確認し、対照およびDNAプライミングされた/FI-MCMVで追加免疫したマウ

スにおける潜伏ウイルスDNA量および再活性化可能なウイルスのレベルを定量する。

【0115】

もし、保存された必須遺伝子の一次スクリーニングにおいて見いだされた防御プールの1以上が全3マウス系統に防御を示さない場合、1系統よりも2系統を防御するプールを優先して、引き続きの免疫感作実験を行う。従って、2系統における観察された防御に単一のプラスミドが関与するかどうかを決定するために、2系統において防御を示す一次スクリーニングからのプールをさらに分ける。もし単一のプラスミドが一次スクリーニングにおいて防御された両方のマウス系統を防御することが見いだされたら、それをマスタープールに加える。いったんこのマスタープールが、全3マウス系統を交差防御する最小数のプラスミドを含めば、このプールにより誘発される免疫反応および防御を上記の番号付けされた実験において評価される。

10

【0116】

個々のプラスミドを用いる二次スクリーニングからの結果が、2系統における防御が2以上のプラスミドにより媒介されたことを示す場合、第1にそれらが防御する系統に数により、ついでそれらが付与する防御のレベルに基づいて防御プラスミドの順位をつける。従って、最も複雑なマスタープールは、それぞれが1つのH-2ハプロタイプのみを防御する3つの保存された必須MCMV遺伝子からなり、一方、中間程度の複雑さのプールは、協力して全3系統を防御できる2プラスミド(すなわちプラスミド1 H-2^dおよびH-2^k系統、プラスミド2 H-2^bおよびH-2^k系統)を含む。

20

【0117】

全3マウス系統を交差防御する上記の保存された必須遺伝子のマスタープールが、1以上のマウス系統における防御の欠如により構成できない場合、最も保存された遺伝子であってIE、EおよびE/Lクラスのを優先して、他のMCMV ORPを系統的にクローニングし、15の異なるMCMV遺伝子プールにおいてスクリーニングすることができる。個別的には防御を示さない10のさらなるプラスミドのプールにおけるIE1およびM84 DNAベクターでの皮内免疫感作は、腹腔内ウイルスチャレンジに続く脾臓におけるウイルス力価を顕著に低下させることができる。50に等しい防御を示さないプラスミドプール内のわずか1つのIE1防御プラスミドが完全な防御を与える。

【0118】

1群当たり4匹のマウスに、14~20日間かけて、15のDNAワクチン候補(各プラスミドを2 µg)の各プールを注射することができる。陰性対照として1つの群にベクター骨格単独を注射する。上記のスクリーニングにおいて、DNA免疫感作により与えられる防御をより容易に同定できるように、ホルマリン不活化ウイルスでブーストしない。ワクチン接種の2週間後、3つの異なる致死量以下の用量のSG-MCMVの1つでマウスに腹腔内チャレンジする。脾臓におけるMCMV力価を測定し、ORFのプールが防御を示すことが見いだされた場合、それを3プールの5ORPにさらに分割し、ついでそれを上記のように試験する。これらのサブプールの1つが防御を示す場合、ついでORFのそれぞれを個別的に試験する。ひとたび、系統間防御プラスミドの最小限のプールが確定されれば、このプールを用いて上記の番号付けされた実験を行うことができる。

30

【0119】

実施例15

粘膜および全身性チャレンジに対する防御免疫のためのDNA免疫感作経路の最適化

粘膜領域はCMV初感染の重要な侵入部位である。防御DNAでのプライミングおよび弱毒生または不活化MCMVでの追加免疫が粘膜チャレンジに対して完全に防御を示さない場合、粘膜感染に対する最適の防御をもたらす防御DNAを投与するための方法を決定できる。DNA(皮内)および弱毒生または不活化MCMV(腹腔内)、例えばFI-MCMVの両方の非経口投与は、鼻腔内チャレンジに次いで、免疫感作したマウスの大部分の脾臓、肝臓および唾液腺において完全な防御を与える(93)。加えて、DNAプライミングされた/FI-MCMVで追加免疫したマウスの肺におけるMCMV力価は、対照と比較して複製のピーク時に3logを超えて低下した。従って、二重非経口免疫感作は粘膜侵入部位でのウイルス複製の突破を許したが、他の標

40

50

的器官へのウイルス播種をほぼ完全に防御した。加えて、gB、gBおよびM84を含む3種混合DNAカクテルでのみプライミングされたマウスは、腹腔内チャレンジに次いで肺において少しの防御を示したばかりでなく、鼻腔内チャレンジ後に肺においてウイルス特異的IgAのより急速な誘導を示した(93)。DNAおよびFI-MCMVにより与えられる免疫は肺において防御を示すが、DNAにコードされる抗原およびそれらの投与経路の選択は粘膜感染を防御するために最適化できることをこれらの結果は示している。

【0120】

鼻腔内チャレンジに次いで肺において防御を増強させるために、マウスにFI-MCMVで鼻腔内免疫感作した。FI-MCMVでの鼻腔内免疫感作は鼻腔内チャレンジに次いで肺における防御を付与したが、その防御はFI-MCMVでの腹腔内免疫感作に次いで防御と同一であり、他の臓器には広がらなかった。一般に、鼻腔内免疫感作に次いでタンパク質抗原に対する粘膜反応は弱いので、2つの強力で一般的に用いられる粘膜アジュバントであるコレラ毒素(CT)および免疫刺激CpG DNA(CpG)の1つまたは両方と共に、マウスの各群をFI-MCMVで鼻腔内免疫感作した(33、83)。しかしながら、一方または両方のアジュバントは、FI-MCMVと共に、FI-MCMV単独と比較してウイルス特異的唾液腺IgAレベルを増強させたばかりでなく、FI-MCMVと共にこれらの鼻腔内アジュバントを投与した、'致死量以下で'腹腔内および鼻腔内チャレンジしたマウスは、アジュバント(単数または複数)単独を投与したマウスにおいては観察されなかった、異常に高い肝臓におけるウイルス力価、罹患率および死亡率までも有していた。

【0121】

DNAの鼻腔内または経口送達および弱毒生または不活化ウイルス(例えばFI-MCMV)での腹腔内追加免疫による免疫感作の有効性を決定できる。例えば、以下の粘膜免疫感作法を使用できる。第1の方法は、ウイルス遺伝子ならびにマクロファージ炎症性タンパク質1 および2(MIP-1 およびMIP-2)をコードするプラスミドでの鼻腔内免疫感作を含む(19)。HSV糖タンパク質gB遺伝子をコードするDNAプラスミドでの免疫感作の方法は粘膜および全身性Th1型免疫反応を促進し、腔を介して投与されたHSVからの防御を与えることが示されている。これらの実験において、ケモカインMIP-1 およびMIP-2をコードするプラスミド200 µgと共に、防御DNAをコードするプラスミドプール100 µg(防御を増強させることが見いだされた場合、gBおよび/またはgH/gLと共に)で、5日間隔で3回BALB/cマウスに免疫感作する。対照として、皮内経路により防御DNA(ケモカインDNAなし)で1つの群のマウスに免疫感作し、空DNAベクター+MIP-1 およびMIP-2 DNAでもう1つの群を鼻腔内免疫感作する。続いて、鼻腔内にプライミングしたマウスにFI-MCMV+アラムで腹腔内に追加免疫する。DNAプライミングおよび異種ブーストの順序は粘膜および全身性免疫ならびに防御のその後のレベルに影響することが示されているので(18)、最初にFI-MCMV+アラムの腹腔内注射、ついでMCMV ORFおよびMIPプラスミドの鼻腔内投与によりマウスの第4の群を免疫感作する。免疫感作したマウスにMCMVで鼻腔内または腹腔内チャレンジし、粘膜(肺および唾液腺)および腹部(脾臓および肝臓)臓器におけるウイルス力価を上記のように測定し、それぞれ粘膜および全身性防御のレベルを評価する。

【0122】

MIP-1 およびMIP-2ケモカインプラスミドでの同時投与と同様に、Th1媒介性免疫および粘膜ウイルスチャレンジに対する防御を促進するために、サイトカインIL-2、IL-12、およびIL-15を発現するプラスミドでの粘膜免疫感作が用いられている。3つのサイトカインはすべてCD8+T反応の進行を促進するが、IL-15は記憶CD8+T細胞の増殖を促進する事が見いだされ、このことは後者を長期防御のための魅力的な遺伝子アジュバントにしている(83)。IL-2プラスミドと次善最適の防御MCMV遺伝子との皮内同時投与により、腹腔内MCMVチャレンジに対する防御レベルを増強することができたが、このことはこのアプローチがプラスミド媒介性粘膜防御を促進するのにも有効であることを示唆している。上記の実験と同様な実験において、FI-MCMVでの腹腔内免疫感作より前または後に、IL-2、IL-12またはIL-15 DNAのいずれかと共に防御DNAプールでマウスに鼻腔内免疫感作する。鼻腔内または腹腔内ウイルスチャレンジのいずれかに対する防御を上記のように測定する。

【0123】

最後の方法は、ポリ(D,L-乳酸-co-グリコール酸)(PLGA)により調製される封入されたマイクロパーティクルの形でのロタウイルス遺伝子をコードするプラスミドの経口投与に次いで、ロタウイルス感染に対する粘膜および全身性免疫反応ならびに防御が誘発されることを示す試験に基づく(9、32、82)。つい最近、HTV env-gp160 DNAおよび組換えワクシニアウイルスでの経口プライムブーストワクチン接種の2日後のPLGA封入IL-2 DNAの経口投与はgp160特異的血清抗体、血清中和抗体、粘膜IgAおよび全身性env特異的CTL増強させたことが明らかにされた(86)。強制経口投与によりPLGAに封入されたプラスミドDNA(100 µg/ml)0.5mlをマウスに接種することができる。

【0124】

最適のDNAプールがgHおよび/またはgH/gLプラスミドを含有する場合、血清IgA、gBおよびgHおよびウイルス構造タンパク質に対する全IgGならびにIgG_{2a}/IgG₁比の試験のために、最終経口免疫感作の4週間後に後眼窩血を採取する。同時に、腔IgAレベルおよび補体依存性中和力価を測定する。結果が陰性または境界線上の場合、さらに2週間後、マウスの血清を試験し、ついで弱毒生または不活化MCMVでマウスに腹腔内ブーストすることができる。4週間後、弱毒生または不活化MCMVでマウスに腹腔内追加免疫する。ブーストの5週間後に、後眼窩血を再度分析する。腔、糞便および鼻IgAレベルもまた測定する。マウスを3週間回復させ、腹腔内または鼻腔内チャレンジし、標的器官におけるMCMV力価を測定する。

【0125】

実施例16

単純ヘルペスウイルス2型に対するCD8+T細胞応答の誘発

本実施例におけるすべての引用は、本実施例内の参照番号を指す。免疫優勢MCMV抗原に特異的なCD8 T細胞はウイルス複製の抑制に効果を有さない(33)。逆に、感染中ほとんど免疫原性を示さないウイルス抗原を用いるDNA免疫感作は、強力な防御を示すCD8 T細胞応答を誘発する(94、95)。総合すれば、感染中の免疫優性は必ずしも防御と相関せず、ウイルスクリアランスよりもむしろウイルス持続感染に有利な特異性を優性にするために、ヘルペスウイルスは宿主T細胞応答をゆがませることができる。ヘルペスウイルス中で高度に保存された必須非構造タンパク質は、T細胞標的の新規クラスを代表できる。ウイルス複製のためにこれらの遺伝子が発現されなければならず、タンパク質活性を維持するために必要な高いアミノ酸保存性は変異による免疫回避を限定することが理論的根拠である。注目すべきは、ヒトCMV、MCMVおよびHSV-2での感染によりプライミングされたT細胞特異性の免疫学的検査により、このクラスの標的は主として亜優性であることが示されたことである(35、42、63、84)。本実施例は、DNAワクチン接種を用いることにより防御を示す保存された必須HSV-2遺伝子を同定し、これらの遺伝子の適切な組み合わせを決定し、適切なプライムブーストプロトコルを決定するための3組のアッセイを提供するが、それらは以下の3つの照準に要約される。

【0126】

照準A。予防DNAワクチン接種によりマウスにおいて防御を示す保存された必須HSV-2遺伝子の同定。マウス致死チャレンジモデルを用いて、保存されたHSV-2必須遺伝子のそれぞれを発現するDNAワクチンを試験する。該遺伝子は、単独および、分泌糖タンパク質D2をコードするDNA(gD2)(中和抗体の主要な標的)との組み合わせの両方で試験される。ついで、最も防御を示すDNAワクチンの組み合わせ同定するために、gD2 DNAの存在下または不存在下のいずれかで、互いに組み合わせで防御遺伝子を試験する。

【0127】

照準B。保存された必須HSV-2遺伝子の最適の組み合わせにより誘発される免疫および防御のモルモットモデルにおける測定。該組み合わせはそれ自身およびgD2プラスミドDNAの存在下で試験される。単独および、gD2を発現するDNAとの組み合わせの両方での最適化されたpDNAワクチンの防御効果をよりヒト関連性のあるモルモットモデルにおいて評価し、臨床試験において部分的ではあるが有意に防御を示すワクチンであることが示されている

MPL/アラム中にgD2タンパク質を含有するサブユニットタンパク質ワクチンによって引き起こされる防御と該防御とを比較する。

【0128】

照準C。最適化されたプラスミドDNAワクチンおよび全死滅HSV-2+MPL/アラムでのプライムブースト免疫感作にに次いで、モルモットにおける免疫および防御の測定。gD2ばかりでなく他のウイルスエンベロープ糖タンパク質に対するウイルス特異的Th1反応および中和抗体を誘発すると考えられる、全死滅ウイルスの新規組み合わせ+MPL/アラムアジュバントでの追加免疫によりDNA媒介性防御が増強されるどうかをモルモットモデルにおいて試験する。潜伏ウイルスDNA量に対する防御の免疫相関物およびワクチンの効果を試験する。

10

【0129】

照準A。予防DNAワクチン接種によりマウスにより防御を示す保存された必須HSV-2遺伝子の同定。単独および、分泌糖タンパク質D2をコードするDNA(gD2)との組み合わせで遺伝子を試験する。ついで、最も防御を示すDNAの組み合わせを同定するために、gD2 DNAの存在下および不存在下で互いに組み合わせて防御を示す保存された遺伝子を試験する。

【0130】

感染中、ナイーブCD8 T細胞は保存された非構造必須タンパク質(以下の表参照)に対してプライミングされることができない。なぜなら、ウイルスは免疫反応を回避するためにこれらのタンパク質における変異を維持する事ができないからである。従って、滅菌免疫を与えるために、ヘルペスウイルスワクチンで誘導されたCD8+T細胞応答は、ウイルス感染中にCD8 T細胞をプライミングしない必須ウイルスタンパク質に対する特異性を含む必要があると考えられる。注目すべきは、ヒトCMV、MCMVおよびHSV-2での感染によりプライミングされたT細胞特異性の免疫学的検査により、このクラスの標的は主として亜優性であることが示されたことである(35、42、63、84)。前述のとおり、我々の予備的な結果は、この仮説に対する支持を与える。

20

【0131】

HSV-2病変のクリアランスはCD8+およびCD4+T細胞免疫と相関する事が示されているが、一方、組換えgD2+3-d-モノホスホリル脂質A(3-d-MPL)/アラムに対する予防抗体反応は、HSV-1および-2血清反応陰性の女性において有意な防御を与えることが示されている(82)。従って、最適のワクチンは、防御を示す細胞性および体液性免疫の両方をプライミングすべきである。種々の形態のgD2(完全長、分泌型および細胞内)を発現するプラスミドDNAワクチンがマウスおよびモルモットモデルにおいて評価されている(83)。完全長または分泌型gD2のいずれかをコードするDNAでのマウスの免疫感作は、致死腔内チャレンジに防御を示したが、一方、分泌型gD2 pDNAでの免疫感作は(完全長gD2ではより低い程度で)、腔内チャレンジ後にモルモットにおける急性期病変スコアの有意の低下を与えたが、ウイルス排出はせず、小幅ではあるが統計的に有意な再発病変の低下を与えた(83)。加えて、gD2またはgB1 pDNA免疫感作による防御および/または免疫は、弱毒ワクシニア(20)もしくはMVA(55)ベクターまたはおそらくは可溶性gD2タンパク質での追加免疫により増強させることがいくつかの研究によって示された。マウスおよびモルモットへのgD2および/もしくはgB2可溶性抗原またはプラスミドの送達は、致死率、急性期ウイルス複製ならびに急性期病変の罹患率および重篤度における統計的に有意な低下をもたらすことが示されているが、結果として生じる反応は、なお有意なレベルの急性期ウイルス複製、再発性ウイルス排出および潜伏ウイルスゲノム量の余地があることに留意する事が重要である。従って、HSV-2ワクチンの有効性のこれらの動物モデルにおいてさえも、保存された必須HSV-2遺伝子に対する細胞性免疫により誘発されうる防御反応の増強を測定するための重要な窓が存在する。さらに、分泌型gD2発現プラスミドと保存された必須HSV-2遺伝子の包含は、特にD2および他のビリオン構造タンパク質の異種の送達方法での後続の追加免疫後に、質的に増強された防御を与えることができる(照準C参照)。

30

40

【0132】

遺伝子の選択およびDNA発現ベクターの構築

50

保存された必須MCMV遺伝子を用いる成功した我々の免疫感作戦略がHSV-2にも適用できるかどうかを試験するために、それぞれのHCMVホモログに必須で高度に保存されたHSV-2遺伝子(表参照)をクローニングし、DNA免疫感作により試験する。これらの多くはウイルスDNA合成に寄与するタンパク質をコードする初期遺伝子であり、他のヘルペスウイルスで保存されている。ヘルペスウイルス遺伝子をクローニングするためのPCRベースの方法は、あらかじめ最適化されており、実験室において能率化されているので、HSV-2 ORFのクローニングは簡単である。タンパク質検出を容易にするためにカルボキシ末端FLAGタグを付加した真核発現ベクター(pcDNA3)にPCR産物を連結する。制限酵素分析により、得られる形質転換細胞について正しい方向のインサートの存在をスクリーニングし、各ORFの5'および3'末端の配列の決定をする。in vivo一時的発現アッセイまたはin vitro転写/翻訳反応で、各タンパク質の発現を明らかにする。クローニングし、in vivoで試験するHSV-2 ORF(表参照)の優先順位は、1)CMVおよび他のヘルペスウイルスでのそれらのアミノ酸保存性および2)HSV-1でのそれらのアミノ酸保存性、に基づいて決める。タグを付けていない膜貫通および細胞内ドメインを欠くgD2を増幅するということを除いては、gD2の分泌型を発現するプラスミドも同様に構成する(31)。

【表 3】

表 3:HSV-2HG52 株の保存された必須遺伝子およびそれらの HCMV AD169 ホモログ

HSV-2 ORF	タンパク質	HCMV ORF	%一致 (aa の重なる長さ)	HCMV ORF の FastA スコア* vs. EBV/VZV/HSV-1
UL5	HP 複合体タンパク質	UL 105	39% (753)	704/642/598
UL6	DNA 切断-パッケージング	UL104	30% (521)	357/375/309
UL8	DNA 切断-パッケージング	UL102	35% (40)	Post/Pos/Pos
UL15	ターミナーゼ、 DNA パッケージング	UL89	41% (674)	1181/1104/1206
UL17	DNA パッケージング	UL93	14% (433)	Pos/Pos/Pos
UL29	ICP8、ssDNA 結合タンパク質	UL57	25% (503)	352/220/298
UL30	DNA ポリメラーゼ	UL54	38% (955)	343/326/423
UL32	DNA パッケージング	UL52	20% (397)	138/179/207
UL33	DNA パッケージング	UL51	22% (126)	Pos/97/106
UL34	排出	UL50	24% (230)	Pos/Pos/Pos
UL42	DNA ポリメラーゼの プロセシビティ	UL44	15% (53)	ND
UL52	HP 複合体タンパク質	UL70	29% (771)	293/302/305

* FastA スコア>100 を有意と見なす

†Pos、位置の保存のみ;HP、ヘリカーゼ-プライマーゼ;ND、未測定

【 0 1 3 3 】

DNAベクターの一次スクリーニング

我々の新規アプローチの最も迅速な評価のための致死性腔内感染のマウスモデルにおいて一次スクリーニング実験を行う。試験すべき保存された必須遺伝子の数に従って、2つのスクリーニング実験を行う。1群当たり8匹の6~8週齢BALB/c雌マウスの尾の基部付近に、pDNA50 µgで2週間に3回皮内免疫感作する。各保存された遺伝子に2つの群を用いる。保存された遺伝子単独での防御効果を試験するために、1群に保存された必須遺伝子pDNA25 µg+空ベクター25 µgを投与する。保存された遺伝子がgD2 pDNA媒介性防御を増強するかどうか決定するために、第2群には、保存された必須遺伝子pDNA25 µg+分泌型gD2 pDNA25 µgを投与する。2つの対照群を用いる。1つの対照群には、単独でのgD2 pDNA媒介性防御に対する対照として分泌型gD2 pDNA+空ベクターを投与する。陰性対照として、第2群を空

プラスミドベクターのみで免疫感作する。

【0134】

文献記載の方法で(83)、最終免疫感作後14日目および20日目に、発情サイクルを同期させ、膣HSV感染に対する感受性を増強するために、酢酸メドロキシプロゲステロン(Depo-Provera)3mgでマウスに皮下注射し、21日目に、HSV-2 333株 5×10^5 PFUでマウスの膣内にチャレンジする。膣の炎症の重篤度について、0(膣炎なし)、1(軽い腫れまたは発赤のみ)、2(中程度の腫れまたはびらん)、3(重い生殖器の浸軟)または4(中枢神経障害または死)で21日間毎日マウスのスコアをつける。膣でのウイルス複製を確認し、排出を測定するために、チャレンジ後1、3および5日目に膣スワブを採取し、Vero細胞単層上でのブランクアッセイによる滴定まで、抗生物質を含有するVero細胞培地中-80 で保存する。gD2 pDNAの有り無しでの保存された必須遺伝子を用いるpDNA免疫感作の有効性を測定するために、1)感染および致死率(Fisherの直接確率検定)、2)毎日の病変スコア(Kruskal Wallisノンパラメトリック分散分析+対比較試験)および3)膣内ウイルス排出レベル(片側分散分析+対Fisherの最小有意差法)について統計分析(両側)を行う。総合すれば、これらの分析は、保存された必須HSV-2遺伝子のそれぞれにより誘発される任意の防御反応を同定する。防御を評価するためのパラメータの組み合わせを用いることにより、防御における差異を認識でき、弱く寄与する抗原を同定できる。さらに、たとえばgD2単独の対照と比較するときこれらの防御レベルが低くても、gD2 pDNA媒介性防御を増強させる保存された必須遺伝子に対する任意の反応を同定できる。

10

【0135】

20

結果1

保存された必須遺伝子の1以上は、一次膣HSV-2感染および/または疾患に予防防御を与える

上記の結果に基づいて、HSV-2の保存された必須遺伝子のプラスミドを、第1にそれらの単独での防御効果レベルに従って、続いてそれらのgD2 pDNA媒介性防御の増強レベルに従って順位をつける。最高レベルの防御を与えるpDNAの最小限の組み合わせを決定するためのその後の実験の優先順位を決めるためにこの順位を用いる。HSV-2の保存された必須遺伝子が1つだけで防御効果を示す(単独でまたはgD2 pDNAを増強させることにより)場合、このプラスミドを照準Bでのモルモットモデルにおいて試験する。

【0136】

30

結果2

保存された必須遺伝子のいずれも、それ自身によるプラスミドDNA免疫感作に次いで有意な防御を与えず、gD2 pDNA防御も増強しない

本新規抗原群の選択は、細胞性(CD4+またはCD8+T)防御反応を引き起こすそれらの潜在性に基づくため、抗原の推定上のMHCクラスIエピトープはBALB/c(H-2^d)モデルに存在しないクラスI対立遺伝子に限定される可能性があることを考慮することは重要である。異なるMHC拘束を有することができる他のマウス系統における免疫感作実験を繰り返すよりはむしろ、照準Bの場合のように、感染および疾患のモルモットモデルにおいて直接にpDNAが試験される。このモデルからの結果はヒト感染により強く関連すると考えられるが、それにはコストおよび労力の増加が伴うため、どの遺伝子(単数または複数)が防御を示すか同定する前に第1に概念実証を明らかにするために、3つの保存された必須遺伝子pDNA+(または-)gD2 pDNAの4つのプールのうちの1つでモルモットを免疫感作する。上記のマウス実験におけるように、2つの群において保存された必須遺伝子pDNAの各プールを試験する。1つの群には、保存された必須遺伝子pDNA単独のプールを投与する。第2群には、gD2 pDNA媒介性防御の増強が測定できるように、gD2 pDNAと組み合わせて保存された必須遺伝子pDNAのプールを投与する。1以上の防御HSV-2遺伝子が同定されたら、残りの時間および助成金は、防御pDNAの1以上で各群を免疫することにより、モルモットにおける最適の防御を与える最小限のpDNAの組み合わせを同定することに使用する。1つのみの保存された必須遺伝子が防御を示し、かつ十分な時間が残されていたら、全死滅HSV-2およびMPL/アラムでプライミングしたモルモットのpDNAの異種追加免疫によりこの得られた免疫および防御

40

50

が増強できるかどうか決定するために、照準CにおいてgD2プラスミドと共にそれを試験する。

【0137】

マウスにおいて腔内HSV-2チャレンジに対して最適の防御レベルを与える、最小限の数の防御を示す保存された必須遺伝子pDNAの決定

MCMV免疫のマウスモデルを用いる、2つの個別的に防御を示すpDNAでの免疫感作により、脾臓におけるチャレンジウイルス複製の低下により測定されるように、両方の抗原に特異的なCD8+T細胞を誘発し、相乗的な防御レベルを与えることができる(60)。加えて、個別的に防御を示すプラスミドおよび防御を示さないプラスミドの両方を発現する13のpDNAの組み合わせたプールでのマウスの免疫感作は、最高レベルの防御(ベクター単独で免疫感作した対照と比較しての脾臓におけるチャレンジウイルス力価の10,000倍の低下)をもたらした(62)。ヘルペスウイルス防御モデルにおいて、最適化されたプラスミドの組み合わせにより、相乗的なpDNAで誘導される細胞性免疫および防御レベルが達成できることを、これらの結果は例証している。さらに、非近交系集団にわたって広く防御を示すHSV-2ワクチンは、各抗原の防御エピトープは1または少数のHLA形に関連するだけなので、2以上のHSV抗原に対してCD4+および/またはCD8+T細胞をプライミングする必要があると考えられる。同じ論法で、防御プラスミドは同じHLA状況で提示されるエピトープをそれぞれが含む抗原を発現できる。この場合は、組み合わせたプラスミドプールでの免疫感作は、拘束性HLA分子の競合をもたらす恐れがあり、得られる防御効果は増強されない恐れがあり、不必要に複雑なワクチンの解析はより困難なものとなるであろう。最後に、保存された必須遺伝子に対する細胞性免疫は、原発疾患(再発疾患ではなく)に対する防御を与えることが可能である。従って、感染のすべての期に対する最適の防御を得るために、防御プラスミドを組み合わせることが必要であろう。

この実験において、上記のように、1)空ベクター単独または2)分泌型gD2 pDNA+空ベクターのいずれかで8匹のBALB/cマウスの各群を皮内免疫感作する。上記の実験からの結果は、gD2 pDNAとの同時免疫は、保存された必須遺伝子pDNAにより誘発される防御ならびに、保存された遺伝子pDNAおよびgD2 pDNAにより誘発される防御の相対レベルにも影響を与えるかどうかを示すであろう。各pDNAを単独で再試験するかまたは他の防御pDNAのそれぞれと組み合わせて試験するために、1以上の防御を示す保存された必須遺伝子pDNAで残りのマウス群を皮内免疫感作する。加えて、gD2 pDNA媒介性防御を増強させるそれぞれの保存された遺伝子pDNAの組み合わせの能力を測定するために、これらの組み合わせをgD2 pDNAと共に試験する。3を超えるpDNAが防御を示す場合、群の数を処理可能に維持するために、全ての可能な組み合わせにおけるそれらの試験の優先順位を決めるために、それらの個別の防御効果の順位を用いる。上記のように免疫感作したマウスの腔内にチャレンジし、上記の実験におけるように、感染および致死率、毎日の病変スコアならびに腔内ウイルス排出レベルを測定し、分析する。モルモットモデルにおいてさらに評価できるように、腔内HSV-2チャレンジに対して最高レベルの防御を与える、最も簡単なpDNAワクチンの組み合わせを迅速に同定するためにこれらのデータを用いる。

【0138】

照準B

保存された必須HSV-2遺伝子の最適の組み合わせにより誘発される免疫および防御の予防のモルモットモデルにおける測定

照準Aからの結果により、最良のワクチン候補が迅速に同定され、T細胞免疫の新規標的としてHSV-2の保存された必須遺伝子を用いることの概念実証が明らかにされるであろう。その防御潜在性をより厳密に試験するために、最適化されたpDNAの組み合わせは生殖器HSV-2感染のモルモットモデルにおいてさらに評価される。このモルモットモデルはより厳密にヒト疾患を模倣するので、原発性および再発性の感染および疾患の両方に対する防御におけるその有効性に関するワクチンの試験を可能にする(80、81)。加えて、最適化されたpDNAワクチンの免疫および防御を、現在までに臨床試験で最も成功したワクチン接種戦略であるgD2タンパク質/MPL/アラムでのサブユニットワクチン接種と比較する。gD2

タンパク質/MPL/アラムは一次感染および疾患に有意な防御を示すとはいえ、このワクチンは最終的に、男性またはHSV血清反応陽性個体において防御を示すことにその能力が限定されると思われ、感染を防御しない(82)。照準Bにおいて、HSV-2の保存された必須遺伝子の最適化された組み合わせ(分泌型gD2 pDNAの存在下および不存在下の両方で)でモルモットを免疫感作し、得られる免疫および防御レベルを、gD2タンパク質/MPL/アラムでのサブユニットワクチン接種により誘発されるものと比較する。

【0139】

実験計画

雌HartleyモルモットをCharles Riverから購入し、4~6週齢(300~400g)で免疫感作する。1群当たり10匹のモルモットの各脇腹の皮内にpDNA50 µg(合計で100 µg)で6週間に3回免疫感作する。陰性対照群に空ベクターを投与する。1つの試験群に、保存された防御必須遺伝子の最適化された組み合わせ単独を投与し、第2試験群に、gD2 pDNAと共に保存された防御必須遺伝子の最適化された組み合わせを投与する。さらなる群に、保存された必須遺伝子によるgD2 pDNA媒介性反応の任意の増強の対照として役立つgD2 pDNA(+空ベクター)単独を投与する。防御の陽性対照および免疫反応レベルの参照として、0日および32日目に、短縮型分泌型gD2タンパク質5 µg+MPL(Sigma)12.5 µgおよびアラム(Pierce)125 µgを含有する全125 µlで大腿四頭筋に両側注射することにより1群を免疫感作するが、なぜならモルモットにおける原発疾患および再発疾患の両方にこれが有意な防御を与えることが示されているからである(11)。既述のように、レンチルレクチンおよびイムノアフィニティクロマトグラフィーにより、安定的にトランスフェクトされたCHO細胞の馴化培地から分泌型gD2タンパク質を精製する(66)。最後に、MPLおよびアラムアジュバント単独で、mockサブユニット対照群を免疫感作する。

【0140】

免疫感作動物における抗体レベルを測定するために、チャレンジ(第9週)より1日前にトウネイルクリップにより血液を採取し、血清を-20 °Cで保存する。前述のように、1)上記の精製gD2タンパク質を用いるELISAによるgD2特異的IgGおよび、2)50~100PFUのHSV-2を用いるVero細胞上でのブランク低下アッセイによる補体非依存性ウイルス中和抗体に関して血清を試験する(34)。

【0141】

最終pDNA免疫感作の3週間後および第2サブユニット免疫感作の5週間後、既述のように麻酔モルモットの腔内にチャレンジする(9)。簡潔に言えば、アルギン酸カルシウムで先を湿らせた綿棒で腔閉鎖膜を断裂させ、5.7log10PFUのHSV-2 333株を含有するウイルス懸濁液0.1mlをプラスチックカテーテルにより腔円蓋に滴下することにより、モルモットにウイルスを接種する。0(病変なし)、1(紅斑症のみ)、2(1つまたは小数のベシクル)、3(大きいまたは融合したベシクル)または4(潰瘍性病変)の重症度に基づいて、毎日、動物の病変の発達のスコアをつける。急性期および再発病変の両方を評価するために、ワクチン群の識別を研究者に盲検化して、60日まで病変のスコアをつける。加えて、チャレンジ後2、5、7および10日目に、腔におけるウイルス排出を測定する。抗生物質を含有するVero細胞培地1mlに腔スワブを入れ、Vero細胞単層上のブランクアッセイによる滴定まで-80 °Cで保存する。実験の終わりに、各モルモットから腰仙骨神経節(動物当たり6~8)を切開し、プールし、PBSで洗浄し、-20 °Cで保存して将来のDNAの抽出および潜伏HSV-2 DNAのリアルタイムPCRによる定量に用いる。潜伏HSV-2 DNAの量を定量するために、細胞およびウイルスのDNAをDNeasy Tissueキット(Qiagen)を用いて抽出し、ABI Prism7000検出システム(Applied Biosystems)を用いるリアルタイム定量PCRにかける。pDNAワクチン中に存在しないウイルス遺伝子に対してHSV-2プライマーおよびプローブをデザインし、モルモットラクトアルブミン遺伝子に特異的なプライマーおよびプローブを用いてインプットDNAを標準化する(64)。

【0142】

1)感染率、2)チャレンジ後(一次感染)14日目までの病変スコア、3)チャレンジ後(一次感染)10日目までの腔内ウイルスレベル、4)チャレンジ後(再発性感染)60日目までの累積

病変スコアおよび、5) 神経節における潜伏HSV-2 DNAの量、の統計分析(照準Aと同様)によりDNAで免疫感作したモルモットにおける防御を評価する。現行のサブユニット戦略に対して最適のpDNAの組み合わせにより誘発される防御を決定するために、単独または+gD2 pDNAで用いた保存された必須pDNAの組み合わせからのデータをgD2/MPL/アラムサブユニット群と比較する。

【0143】

結果1

マウス実験において最適化されたpDNAワクチンは、腔内HSV-2チャレンジに対してもモルモットを有意に防御する。

【0144】

この場合は、照準Cにおいて、全死滅HSV-2とMPLおよびアラムアジュバントとの新規組み合わせでの後続の追加免疫により、最適化されたpDNAにより誘発される防御を増強させることができるかどうかを試験する。

【0145】

結果2

マウス実験において最適と判明したpDNAワクチンは、モルモットを有意に防御しない。

【0146】

この場合は、感染組織において負荷したMHC複合体を認識することができるCD8 T細胞を抗原がプライミングできることは、マウスにおいてすでに明白であろう。潜在的問題の1つは、CD8 T細胞のDNAワクチン媒介性プライミングが大型げっ歯類において準最適である可能性があるということであろう。次の段階は、ポリ-乳酸-co-グリコリド(PLG)マイクロパーティクルに吸着させた各pDNAプールでモルモットを免疫することによりDNA送達を最適化することであろう。この送達方法は、樹状細胞に対してDNAをターゲティングすることにより、DNAワクチンに対する抗体または細胞反応を亢進することが、モルモットおよびヒト以外の霊長類を含む種々の動物モデルにおいて示されている(概説については、(65)参照)。加えて、同一PLG製剤により、いくつかのプラスミドを同時に送達することができる。

【0147】

結果3

保存された必須遺伝子のプールでのモルモットのDNA免疫感作は、単独で防御効果を示さず、gD2 pDNA防御を増強させない。

【0148】

この場合は、優先事項は、照準Cに移り、gD2 pDNAにより誘発される防御がTh1を促進するアジュバントであるMPLおよびアラムと共に全死滅HSV-2でのモルモットの後続の追加免疫により増強できるかどうかを試験することであろう。加えて、上記の結果2におけるように、PLG粒子に吸着した保存された必須遺伝子pDNAのプールでモルモットを免疫感作することができる。

【0149】

照準C

最適化されたプラスミドDNAワクチンおよび全死滅HSV-2+MPL/アラムでのプライムブースト免疫感作に次いで、モルモットにおける免疫および防御の測定

【0150】

ホルマリン死滅MCMVでの追加免疫の前のMCMV gB pDNAでのマウスのプライミングが死滅ビリオン単独での防御と比較してより強力な防御をもたらす一方で(61)、HSV-2の保存された必須遺伝子およびgD2 pDNAを用いる防御のプライムブースト増強は、HSV-2疾患のモルモットモデルにおいて具体的に試験する必要性があると考えられる。再発性HSV感染の防御または治療のための臨床試験において、以前、全ホルマリン死滅ウイルス製剤が評価されたが、これらの初期の研究は、多くの場合、防御の客観的測定の欠如およびプラセボ群の不存在を含む方法的欠陥を欠点として持つ(概説については(41)参照)。加えて、全死滅ウイルスまたは界面活性剤抽出糖タンパク質を用いる試験は、いずれも、今日では入手

10

20

30

40

50

可能な高い免疫原性を有するアジュバントを用いておらず、従って低いかまたは矛盾した抗体反応(細胞性反応も同様)が引き起こされ、防御に有意差が見られなかったのも驚くべきことではない。つい最近、リボ多糖誘導体MPLがTh1型反応の強力なアジュバントであることが示され、アラムと共に、gD2サブユニットワクチンはHSV血清反応陰性女性における症候性生殖器疾患に対する防御を与えることが見いだされた(82)。しかしながら、2つの第3相試験において、HSV-2感染に対してこのサブユニットワクチンは、単独では、限定された防御(46%および39%)しか与えることができなかった。最適のウイルス中和および防御には、他のHSV-2エンベロープ糖タンパク質(ビリオン粒子中に存在する)に対するさらなる抗体特異性が必要な可能性がある。例えば、d15-29免疫感作は有意に低レベルのgD2特異的IgGを誘発するにもかかわらず、欠損HSV-2変異株d15-29でのモルモットの免疫感作は可溶性gD2タンパク質と比較して有意に高レベルの中和抗体を誘発した(34)。より中和する抗体標的を含むことに加えて、ウイルスエンベロープに関連するHSV-2糖タンパク質の提示は、可溶性サブユニットワクチン中に存在できない非線形エピトープに対する防御抗体反応を誘発することもできる。総合すれば、生殖器の感染および疾患に対する最適の防御は、細胞性および抗体反応の両方の存在に左右される可能性がある。この目的のために、保存された必須防御遺伝子の最適化された組み合わせおよびgD2 pDNAでのプライミングの組み合わせの有効性とそれに続く全死滅HSV-2+MPL/アラムでの追加免疫が試験される。

【0151】

実験計画

VeroまたはBHK細胞内でHSV-2を増殖させ、CPEが100%に達した後、記載されている標準法を用いるショ糖勾配超遠心分離により清澄化上清から細胞外ウイルスを精製する(68)。死滅HSV-2ワクチンからのDNAが膣スワブまたは腰仙骨神経節のその後のPCRにより検出可能になるというあまりなさそうな可能性を抑えるために、ワクチンとチャレンジウイルスを区別するのにlacZ特異的プライマーおよびプローブを使用できるように、ワクチンに使用するウイルスには、lacZタグをつけたHSV-2 333株を用いる(77)。簡潔に言えば、感染性ウイルスバンドを緩衝液で希釈し、ベレット化し、感染性およびタンパク質含量を測定するために再懸濁する。該製剤は、タンパク質5 μ g当たり $\sim 10^9$ PFUの純度を有すると予期される。この製剤は、ホルマリンにより不活化され、前述の感染性アッセイにより不活性であることが確認される(62)。

【0152】

1群当たり14匹のHartley雌モルモットを、照準Bの場合のようにpDNAプライミングを行い(6週間で3回の皮内注射)、第9週および第13週に、mockで皮内追加免疫するかまたは全ホルマリン死滅HSV-2+MPL/アラムで皮内追加免疫する。具体的には、各群に以下のプライムブーストの組み合わせを投与する:1)空ベクターpDNAでのプライムおよびMPL/アラム(ビヒクル対照)でのブースト;2)空ベクターpDNAでのプライムならびに死滅HSV-25 μ g+MPL(Sigma)12.5 μ gおよびアラム(Pierce)125 μ gでのブースト3)最適化された保存された必須pDNAの組み合わせ+gD2 pDNAでプライムおよびMPL/アラムでのブースト;4)最適化された保存された必須pDNAの組み合わせでのプライムおよび第2群におけるような死滅HSV-2でのブースト;5)gD2 pDNAでのプライムおよび死滅HSV-2でのブーストならびに6)最適化された保存された必須pDNAの組み合わせ+gD2 pDNAでのプライムおよび死滅HSV-2でのブースト。防御および免疫の両方の陽性対照および参照として、照準Bの場合のように、第7群をgD2/MPL/アラムタンパク質サブユニットワクチンでプライミングし、追加免疫する。

【0153】

照準Bの場合のように、2回のブーストのそれぞれの1日前およびチャレンジの1日前に血液サンプルを採取し、HSV-2特異的IgGおよびウイルス中和抗体の定量的ために血清を保存する。pDNAプライムおよびタンパク質ブーストにより引き起こされる抗原特異的T細胞媒介性(CD4+T)免疫を明らかにするために、第1死滅HSV-2ブーストの3日前(モルモットにおいてはDTH測定は除外する)およびチャレンジの3日前(チャレンジされる動物において)にモルモットにおいて遅延型過敏症(DTH)反応を測定する。1群当たり4匹のモルモットの各耳に、感染していないまたはHSV-2感染細胞のいずれかからの清澄化UV-不活化Vero細胞溶

解物10 µgを皮内注射し、24、48および72時間後、細胞浸潤レベルを定量するために、マイクロキャリパーで硬結の直径を測定する(38、90)。全HSV-2細胞抗原に対する反応を、HSV-2および陰性対照耳(バックグラウンド)における硬結の直径の差として算出する。また、個々のHSV-2抗原に対するT細胞応答を測定するために、トランスフェクション後48時間目に、空ベクター(バックグラウンド対照)または、pDNAプライミングの組み合わせをふくむ保存された必須遺伝子pDNAの1つとともに、293T細胞からの溶解物で耳に皮内注射する(39)。上記のように炎症の大きさを測定し、算出する。トランスフェクトしていない細胞溶解物からのバックグラウンドが高すぎる場合、より大規模なトランスフェクションからの抗FLAG単一ステップイムノアフィニティ精製により保存された必須遺伝子産物を濃縮する。

10

【0154】

最終死滅HSV-2ブーストの4週間後、残りのモルモットに腔内チャレンジし、照準Bの場合のように感染および疾患を測定する。ウイルス感染を抑制するためのウイルス再活性化および排出の抑制におけるワクチン候補の重要性から、モルモットにおいてチャレンジ後90日まで、病変スコアおよび生殖管へのウイルス排出の両方を評価する。DNAを抽出し、リアルタイム定量PCRで分析するまで、モルモットから採取した腔スワブを-80℃で保存する。pDNAプライム中に存在しないウイルス遺伝子に対してHSV-2プライマーおよびプローブをデザインする。前述のとおり、腔スワブ中で検出されるウイルスDNAがチャレンジウイルス由来であり、死滅ウイルスワクチン由来ではないことを確認するために、PCR分析においてlacZ特異的プライマーおよびプローブもまた用いる。既述のように、罹患率、頻度(ウイルスDNAが分離された平均日数)および強さ(ウイルスゲノム相当数)に関して、対照群およびワクチン群におけるウイルス排出の再活性化を比較する(11)。実験の終わりに、各モルモットから腰仙骨神経節(動物当たり6~8)を切開し、プールし、PBSで洗浄し、-20℃で保存する。潜伏HSV-2 DNAの量を定量するために、細胞およびウイルスのDNAを抽出し、上記のようにリアルタイム定量PCRにかける。モルモットラクトアルブミン遺伝子に特異的なプライマーおよびプローブを用いてインプットDNAを標準化する(64)。

20

【0155】

全身性チャレンジに次いでウイルス複製に対するマウスの完全な防御のために、pDNA免疫感作に次いでブーストとしてホルマリン死滅MCMVを使用できるが(61、62)、死滅HSV-2全ビリオンを用いては同じ成功は得られない可能性がある。中和抗体の主要な標的である、エンベロープ中のgD2およびgB2タンパク質の濃度は最適の防御抗体反応を誘発するのに十分ではなく、他のエンベロープ糖タンパク質による、防御に対する小さな寄与のみが与えられる可能性がある。従って、追加免疫において、gD2およびgB2タンパク質により焦点をあてた戦略を使用することができる。潜在的戦略は、上記に概略を記したように設計された反復実験において、改変ワクシニアウイルスAnkara(MVA)によりこれらの抗原を送達することであろう。MVAは、天然痘に対するワクチンとして安全に用いられてきた、つい最近ワクチンベクターとして用いられた高度弱毒化ワクシニアウイルスである。MVAは大部分のヒトおよび哺乳動物細胞に1以上の異種遺伝子を送達することができ、既存のポックスウイルス免疫を有する宿主においてさえも体液性および細胞性反応の両方を誘導することができる(91)。前述のとおり、異種プライムブースト法は、引き続き、同一抗原送達法を用いる反復ブーストと比較して免疫増強を与える見込みが高く、HIVおよびマラリアに対するMVAベクターベース実験ワクチン(単独で、あるいはDNAワクチンと組み合わせ)は、現在、第1相臨床試験中である。

30

40

【0156】

実施例16の参考文献・引用文献

1. Allen, E. M., J. P. Weir, S. Martin, C. Mercadal, and B. T. Rouse. 1990. Role of coexpression of IL-2 and herpes simplex virus proteins in recombinant vaccinia virus vectors on levels of induced immunity. *Viral Immunol.* 3:207-215.
2. Ashley, R., G. J. Mertz, and L. Corey. 1987. Detection of asymptomatic herpes simplex virus infections after vaccination. *J. Virol.* 61:264-268.
3. Aurelian, L. 2004. Herpes simplex virus type 2 vaccines: new ground for optimism? *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 11:437-445.
4. Aurelian, L., H. Kokuba, and C. C. Smith. 1999. Vaccine potential of a herpes simplex virus type 2 mutant deleted in the PK domain of the large subunit of ribonucleotide reductase (ICP10). *Vaccine* 17:1951-1963. 10
5. Aurelian, L., C. C. Smith, M. Wachsman, and E. Paoletti. 1991. Immune responses to herpes simplex virus in guinea pigs (footpad model) and mice immunized with vaccinia virus recombinants containing herpes simplex virus glycoprotein D. *Rev. Infect. Dis.* 13 Suppl 11:S924-934.
6. Bernstein, D. I. 2000. Effect of route of vaccination with vaccinia virus expressing HSV-2 glycoprotein D on protection from genital HSV-2 infection. *Vaccine* 18:1351-1358. 20
7. Blaney, J. E., E. Nobusawa, M. A. Brehm, R. H. Bonneau, L. M. Mylin, T. M. Fu, Y. Kawaoka, and S. S. Tevethia. 1998. Immunization with a single major histocompatibility complex class I-restricted cytotoxic T-lymphocyte recognition epitope of herpes simplex virus type 2 confers protective immunity. *J. Virol.* 72:9567-9574.
8. Bosnjak, L., M. Miranda-Saksena, D. M. Koelle, R. A. Boadle, C. A. Jones, and A. L. Cunningham. 2005. Herpes Simplex Virus Infection of Human Dendritic Cells Induces Apoptosis and Allows Cross-Presentation via Uninfected Dendritic Cells. *J. Immunol.* 174:2220-2227. 30

9. Bourne, N., F. J. Bravo, M. Francotte, D. I. Bernstein, M. G. Myers, M. Slaoui, and L. R. Stanberry. 2003. Herpes simplex virus (HSV) type 2 glycoprotein D subunit vaccines and protection against genital HSV-1 or HSV-2 disease in guinea pigs. *J. Infect. Dis.* 187:542-549.
10. Bourne, N., G. N. Milligan, M. R. Schleiss, D. I. Bernstein, and L. R. Stanberry. 1996. DNA immunization confers protective immunity on mice challenged intravaginally with herpes simplex virus type 2. *Vaccine* 14:1230-1234.
11. Bourne, N., G. N. Milligan, L. R. Stanberry, R. Stegall, and R. B. Pyles. 2005. Impact of immunization with glycoprotein D2/AS04 on herpes simplex virus type 2 shedding into the genital tract in guinea pigs that become infected. *J Infect Dis* 192:2117-23. 10
12. Bourne, N., L. R. Stanberry, D. I. Bernstein, and D. Lew. 1996. DNA immunization against experimental genital herpes simplex virus infection. *J. Infect. Dis.* 173:800-807.
13. Bournsnel, M. E., C. Entwisle, D. Blakeley, C. Roberts, I. A. Duncan, S. E. Chisholm, G. M. Martin, R. Jennings, D. N. Challanain, I. Sobek, S. C. Inglis, and C. S. McLean. 1997. A genetically inactivated herpes simplex virus type 2 (HSV-2) vaccine provides effective protection against primary and recurrent HSV-2 disease. *J. Infect. Dis.* 175:16-25.
14. Bruyn, G. d., M. Vargas-Cortez, T. Warren, S. K. Tying, K. H. Fife, J. Lalezari, R. C. Brady, M. Shahmanesh, G. Kinghorn, K. R. Beutner, R. Patel, M. A. Dreho, P. Horner, T. O. Kurtz, S. McDermott, A. Wald, and L. Corey. 2006. A randomized controlled trial of a replication defective (gH deletion) herpes simplex virus vaccine for the treatment of recurrent genital herpes among immunocompetent subjects. *Vaccine* 24:914-920. 20
15. Cappel, R., S. Sprecher, F. D. Cuyper, and J. D. Braekeleer. 1985. Clinical efficacy of a herpes simplex subunit vaccine. *J. Med. Virol.* 16:137-145.
16. Casanova, G., R. Cancela, L. Alonzo, R. Benuto, C. M. Magana, D. R. Hurley, E. Fishbein, C. Lara, T. Gonzalez, R. Ponce, J. W. Burnett, and G. J. Calton. 2002. A double-blind study of the efficacy and safety of the ICP10PK vaccine against recurrent genital HSV-2 infections. *Cutis* 70. 30
17. Corey, L., A. G. Langenberg, R. Ashley, R. E. Sekulovich, A. E. Izu, J. M. Douglas, H. H. Handsfield, T. Warren, L. Marr, S. Tying, R. DiCarlo, A. A. Adimora, P. Leone, C. L. Dekker, R. L. Burke, W. P. Leong, and S. E. Straus. 1999. Recombinant glycoprotein vaccine for the prevention of genital HSV-2 infection: two randomized controlled trials. Chiron HSV Vaccine Study Group. *JAMA* 282:331-340.
18. Cranmer, L. D., C. L. Clark, C. S. Morello, H. E. Farrell, W. D. Rawlinson, and D. H. Spector. 1996. Identification, analysis, and evolutionary relationship of the putative murine cytomegalovirus homologues of the human cytomegalovirus UL82 (pp71) and UL83 (pp65) matrix phosphoproteins. *J. Virol.* 70:7929-7939. 40

19. Dudek, T., and D. M. Knipe. 2006. Replication-defective viruses as vaccines and vaccine vectors. *Virol.* 344:230-239.
20. Eo, S. K., M. Gierynska, A. A. Kamar, and B. T. Rouse. 2001. Prime-boost immunization with DNA vaccine: mucosal route of administration changes the rules. *J Immunol* 166:5473-9.
21. Estcourt, M. J., A. J. Ramsay, A. Brooks, S. A. Thomson, C. J. Medveckzy, and I. A. Ramshaw. 2002. Prime-boost immunization generates a high frequency, high-avidity CD8(+) cytotoxic T lymphocyte population. *Int. Immunol.* 14:31-37. 10
22. Farrell, H. E., C. S. McLean, C. Harley, S. Efsthathiou, S. Inglis, and A. C. Minson. 1994. Vaccine potential of a herpes simplex virus type 1 mutant with an essential glycoprotein deleted. *J. Virol.* 68:927-932.
23. Fleck, M., J. Podlech, K. Weise, and D. Falke. 1994. A vaccinia virus--herpes simplex virus (HSV) glycoprotein B1 recombinant or an HSV vaccine overcome the HSV type 2 induced humoral immunosuppression and protect against vaginal challenge in BALB/c mice. *Med. Microbiol. Immunol.* 183:87-94.
24. Fruh, K., K. Ahn, H. Djaballah, P. Sempe, P. v. Endert, R. Tampe, P. Peterson, and Y. Yang. 1995. A viral inhibitor of peptide transporters for antigen presentation. *Nature* 375:415-418. 20
25. Gallichan, W. S., D. C. Johnson, F. L. Graham, and K. L. Rosenthal. 1993. Mucosal immunity and protection after intranasal immunization with recombinant adenovirus expressing herpes simplex virus glycoprotein B. *J. Infect. Dis.* 168:622-629.
26. Goel, N., Q. Rong, D. Zimmerman, and K. S. Rosenthal. 2003. A L.E.A.P.S. heteroconjugate vaccine containing a T cell epitope from HSV-1 glycoprotein D elicits Th1 responses and protection. *Vaccine* 21:4410-4420.
27. Gold, M. C., M. W. Munks, M. Wagner, U. H. Koszinowski, A. B. Hill, and S. P. Fling. 2002. The murine cytomegalovirus immunomodulatory gene m152 prevents recognition of infected cells by M45-specific CTL but does not alter the immunodominance of the M45-specific CD8 T cell response in vivo. *J. Immunol.* 169:359-365. 30
28. Gonzalez Armas, J. C., C. S. Morello, L. D. Cranmer, and D. H. Spector. 1996. DNA immunization confers protection against murine cytomegalovirus infection. *J. Virol.* 70:7921-7928.
29. Gurunathan, S., D. M. Klinman, and R. A. Seder. 2000. DNA Vaccines: Immunology, Application, and Optimization. *Annu. Rev. Immunol.* 18:927-994.
30. Haynes, J. R., J. Arrington, L. Dong, R. P. Braun, and L. G. Payne. 2006. Potent protective cellular immune responses generated by a DNA vaccine encoding HSV-2 ICP27 and the *E. coli* heat labile enterotoxin. *Vaccine* 24:5016-5026. 40

31. Higgins, T. J., K. M. Herold, R. L. Arnold, S. P. McElhiney, K. E. Shroff, and C. J. Pachuk. 2000. Plasmid DNA-expressed secreted and nonsecreted forms of herpes simplex virus glycoprotein D2 induce different types of immune responses. *J Infect Dis* 182:1311-20.
32. Hill, A., P. Jugovic, I. York, G. Russ, J. Bennink, J. Yewdell, H. Ploegh, and D. Johnson. 1995. Herpes simplex virus turns off the TAP to evade host immunity. *Nature* 375:411-415.
33. Holtappels, R., J. Podlech, M. F. Pahl-Seibert, M. Julch, D. Thomas, C. O. Simon, M. Wagner, and M. J. Reddehase. 2004. Cytomegalovirus misleads its host by priming of CD8 T cells specific for an epitope not presented in infected tissues. *J. Exp. Med.* 199:131-136. 10
34. Hoshino, Y., S. K. Dalai, K. Wang, L. Pesnicak, T. Y. Lau, D. M. Knipe, J. I. Cohen, and S. E. Straus. 2005. Comparative efficacy and immunogenicity of replication-defective, recombinant glycoprotein, and DNA vaccines for herpes simplex virus 2 infections in mice and guinea pigs. *J Virol* 79:410-8.
35. Hosken, N., P. McGowan, A. Meier, D. M. Koelle, P. Sleath, F. Wagener, M. Elliott, K. Grabstein, C. Posavad, and L. Corey. 2006. Diversity of the CD8+ T-Cell Response to Herpes Simplex Virus Type 2 Proteins among Persons with Genital Herpes. *J. Virol.* 80:5509-5515.
36. Jones, C. A., and A. L. Cunningham. 2003. Development of prophylactic vaccines for genital and neonatal herpes. *Expert Rev. Vaccines* 2:541-549. 20
37. Jones, C. A., M. Fernandez, K. Herc, L. Bosnjak, M. Miranda-Saksena, R. A. Boadle, and A. Cunningham. 2003. Herpes simplex virus type 2 induces rapid cell death and functional impairment of murine dendritic cells in vitro. *J. Virol.* 77:11139-11149.
38. Kawahara, M., K. Matsuo, and M. Honda. 2006. Intradermal and oral immunization with recombinant *Mycobacterium bovis* BCG expressing the simian immunodeficiency virus Gag protein induces long-lasting, antigen-specific immune responses in guinea pigs. *Clin Immunol* 119:67-78.
39. Khabiri, A. R., F. Bagheri, M. H. Alimohammadian, M. Assmar, and S. R. Nadaf. 2005. Leishmanin skin test in guinea pig with a single purified protein of *Leishmania major*. *Exp Parasitol* 111:239-43. 30
40. Koelle, D. M., H. B. Chen, M. A. Gavin, A. Wald, W. W. Kwok, and L. Corey. 2001. CD8 CTL from genital herpes simplex lesions: recognition of viral tegument and immediate early proteins and lysis of infected cutaneous cells. *J. Immunol.* 166:4049-4058.
41. Koelle, D. M., and L. Corey. 2003. Recent progress in herpes simplex virus immunobiology and vaccine research. *Clin. Microbiol. Rev.* 16:96-113.
42. Koelle, D. M., Z. Liu, C. L. McClurkan, R. C. Cevallos, J. Vieira, N. A. Hosken, C. A. Meseda, D. C. Snow, A. Wald, and L. Corey. 2003. Immunodominance among herpes simplex virus-specific CD8 T cells expressing a tissue-specific homing receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 100:12899-12904. 40

43. Koelle, D. M., Z. Liu, C. M. McClurkan, M. S. Topp, S. R. Riddell, E. G. Pamer, A. S. Johnson, A. Wald, and L. Corey. 2002. Expression of cutaneous lymphocyte-associated antigen by CD8(+) T cells specific for a skin-tropic virus. *J. Clin. Invest.* 110:537-548.
44. Koelle, D. M., C. M. Posavad, G. R. Barnum, M. L. Johnson, J. M. Frank, and L. Corey. 1998. Clearance of HSV-2 from recurrent genital lesions correlates with infiltration of HSV-specific cytotoxic T lymphocytes. *J. Clin. Invest.* 101:1500-1508.
45. Kriesel, J. D., S. L. Spruance, R. A. Daynes, and B. A. Araneo. 1996. Nucleic acid vaccine encoding gD2 protects mice from herpes simplex virus type 2 disease. *J. Infect. Dis.* 173:536-541. 10
46. Liu, M. A. 2003. DNA vaccines: a review. *J. Intern. Med.* 253:402-410.
47. Manickan, E., M. Francotte, N. Kuklin, M. Dewerchin, C. Molitor, D. Gheysen, M. Slaoui, and B. T. Rouse. 1995. Vaccination with recombinant vaccinia viruses expressing ICP27 induces protective immunity against herpes simplex virus through CD4+ Th1+ T cells. *J. Virol* 69:4711-6.
48. Manickan, E., Z. Yu, R. J. Rouse, W. S. Wire, and B. T. Rouse. 1995. Induction of protective immunity against herpes simplex virus with DNA encoding the immediate early protein ICP 27. *Viral Immunol* 8:53-61. 20
49. Maria, A. D., P. Tundo, A. Romano, and P. Grima. 1995. Anti-HSV-1 herpes vaccination by LUPIDON H: preliminary results. *Adv. Exp. Med. Biol.* 371B:1599-1600.
50. McClements, W. L., M. E. Armstrong, R. D. Keys, and M. A. Liu. 1996. Immunization with DNA vaccines encoding glycoprotein D or glycoprotein B, alone or in combination, induces protective immunity in animal models of herpes simplex virus-2 disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93:11414-11420.
51. McClements, W. L., M. E. Armstrong, R. D. Keys, and M. A. Liu. 1997. The prophylactic effect of immunization with DNA encoding herpes simplex virus glycoproteins on HSV-induced disease in guinea pigs. *Vaccine* 15:857-860. 30
52. McConkey, S. J., W. H. Reece, V. S. Moorthy, D. Webster, S. Dunachie, G. Butcher, J. M. Vuola, T. J. Blanchard, P. Gothard, K. Watkins, C. M. Hannan, S. Everaere, K. Brown, K. E. Kester, J. Cummings, J. Williams, D. G. Heppner, A. Pathan, K. Flanagan, N. Arulanantham, M. T. Roberts, M. Roy, G. L. Smith, J. Schneider, T. Peto, R. E. Sinden, S. C. Gilbert, and A. V. Hill. 2003. Enhanced T-cell immunogenicity of plasmid DNA vaccines boosted by recombinant modified vaccinia virus Ankara in humans. *Nat. Med.* 9:729-735.
53. McDermott, M. R., F. L. Graham, T. Hanke, and D. C. Johnson. 1989. Protection of mice against lethal challenge with herpes simplex virus by vaccination with an adenovirus vector expressing HSV glycoprotein B. *Virology* 169:244-247. 40

54. Mertz, G. J., R. Ashley, R. L. Burke, J. Benedetti, C. Critchlow, C. C. Jones, and L. Corey. 1990. Double-blind, placebo-controlled trial of a herpes simplex virus type 2 glycoprotein vaccine in persons at high risk for genital herpes infection. *J. Infect. Dis.* 161:653-660.
55. Meseda, C. A., K. L. Elkins, M. J. Merchlinsky, and J. P. Weir. 2002. Prime-boost immunization with DNA and modified vaccinia virus ankara vectors expressing herpes simplex virus-2 glycoprotein D elicits greater specific antibody and cytokine responses than DNA vaccine alone. *J. Infect. Dis.* 186:1065-1073.
56. Meseda, C. A., R. R. Stout, and J. P. Weir. 2006. Evaluation of a needle-free delivery platform for prime-boost immunization with DNA and modified vaccinia virus ankara vectors expressing herpes simplex virus 2 glycoprotein D. *Viral Immunol.* 19:250-259. 10
57. Mester, J. C., T. A. Twomey, E. T. Tepe, and D. I. Bernstein. 1999. Immunity induced by DNA immunization with herpes simplex virus type 2 glycoproteins B and C. *Vaccine* 18:875-883.
58. Mikloska, Z., M. Ruckholdt, I. Ghadiminejad, H. Dunckley, M. Denis, and A. L. Cunningham. 2000. Monophosphoryl lipid A and QS21 increase CD8 T lymphocyte cytotoxicity to herpes simplex virus-2 infected cell proteins 4 and 27 through IFN-gamma and IL-12 production. *J. Immunol.* 164:5167-5176. 20
59. Morello, C. S., L. D. Cranmer, and D. H. Spector. 1999. In vivo replication, latency, and immunogenicity of murine cytomegalovirus mutants with deletions in the M83 and M84 genes, the putative homologs of human cytomegalovirus pp65 (UL83). *J. Virol.* 73:7678-7693.
60. Morello, C. S., L. D. Cranmer, and D. H. Spector. 2000. Suppression of murine cytomegalovirus replication with a DNA vaccine encoding the MCMV early nonstructural protein M84 (a homolog of human cytomegalovirus pp65). *J. Virol.* 74:3696-3708.
61. Morello, C. S., M. Ye, S. Hung, L. A. Kelley, and D. H. Spector. 2005. Systemic priming-boosting immunization with a trivalent plasmid DNA and inactivated murine cytomegalovirus (MCMV) vaccine provides long-term protection against viral replication following systemic or mucosal MCMV challenge. *J Virol* 79:159-75. 30
62. Morello, C. S., M. Ye, and D. H. Spector. 2002. Development of a vaccine against murine cytomegalovirus (MCMV), consisting of plasmid DNA and formalin-inactivated MCMV, that provides long-term, complete protection against viral replication. *J. Virol.* 76:4822-4835.
63. Munks, M. W., M. C. Gold, A. L. Zajac, C. M. Doorn, C. S. Morello, D. H. Spector, and A. B. Hill. 2006. Genome-wide analysis reveals a highly diverse CD8 T cell response to murine cytomegalovirus. *J Immunol* 176:3760-6. 40
64. Natuk, R. J., D. Cooper, M. Guo, P. Calderon, K. J. Wright, F. Nasar, S. Witko, D. Pawlyk, M. Lee, J. DeStefano, D. Tummolo, A. S. Abramovitz, S. Gangolli, N. Kalyan, D. K. Clarke, R. M. Hendry, J. H. Eldridge, S. A. Udem, and J. Kowalski. 2006. Recombinant vesicular

- stomatitis virus vectors expressing herpes simplex virus type 2 gD elicit robust CD4⁺ Th1 immune responses and are protective in mouse and guinea pig models of vaginal challenge. *J. Virol.* 80:4447-4457.
65. O'Hagan, D. T., M. Singh, and J. B. Ulmer. 2004. Microparticles for the delivery of DNA vaccines. *Immunol. Rev.* 199:191-200.
 66. Pachl, C., R. L. Burke, L. L. Stuve, L. Sanchez-Pescador, G. Van Nest, F. Masiarz, and D. Dina. 1987. Expression of cell-associated and secreted forms of herpes simplex virus type 1 glycoprotein gB in mammalian cells. *J Virol* 61:315-25. 10
 67. Pollara, G., D. R. Katz, and B. M. Chain. 2004. The host response to herpes simplex virus infection. *Curr. Opin. Infect. Dis.* 17:199-203.
 68. Powell, K. L., and D. H. Watson. 1975. Some structural antigens of herpes simplex virus type 1. *J Gen Virol* 29:167-78.
 69. Prichard, M. N., R. Kaiwar, W. T. Jackman, D. C. Quenelle, D. J. Collins, E. R. Kern, G. M. Kemble, and R. R. Spaete. 2005. Evaluation of AD472, a live attenuated recombinant herpes simplex virus type 2 vaccine in guinea pigs. *Vaccine* 23:5424-5431.
 70. Roizman, B., and D. M. Knipe. 2001. Herpes Simplex Viruses and their replication., p. 2399-2459. In D. M. Knipe and P. M. Howley (ed.), *Fields Virology*, Fourth ed, vol. 2. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 20
 71. Sin, J., J. J. Kim, C. Pachuk, C. Satishchandran, and D. B. Weiner. 2000. DNA vaccines encoding interleukin-8 and RANTES enhance antigen-specific Th1-type CD4(+) T-cell-mediated protective immunity against herpes simplex virus type 2 in vivo. *J. Virol.* 74:11173-11180.
 72. Sin, J. I., J. J. Kim, R. L. Arnold, K. E. Shroff, D. McCallus, C. Pachuk, S. P. McElhiney, M. W. Wolf, S. J. P.-d. Bruin, T. J. Higgins, R. B. Ciccarelli, and D. B. Weiner. 1999. IL-12 gene as a DNA vaccine adjuvant in a herpes mouse model: IL-12 enhances Th1-type CD4⁺ T cell-mediated protective immunity against herpes simplex virus-2 challenge. *J. Immunol.* 162:2912-29211. 30
 73. Sin, J. I., J. J. Kim, D. Zhang, and D. B. Weiner. 2001. Modulation of cellular responses by plasmid CD40L: CD40L plasmid vectors enhance antigen-specific helper T cell type 1 CD4⁺ T cell-mediated protective immunity against herpes simplex virus type 2 in vivo. *Hum. Gene Ther.* 12:1091-1102.
 74. Skinner, G. R., C. G. Fink, M. Cowan, A. Buchan, A. Fuller, C. E. Hartley, J. Durham, C. Wiblin, and J. Melling. 1987. Follow-up report on 50 subjects vaccinated against herpes genitalis with Skinner vaccine. *Med. Microbiol. Immunol.* 176:161-168.
 75. Skinner, G. R., C. Woodman, C. Hartley, A. Buchan, A. Fuller, C. Wiblin, G. Wilkins, and J. Melling. 1982. Early experience with "antigenoid" vaccine Ac NFU1(S-) MRC towards prevention or modification of herpes genitalis. *Dev. Biol. Stand.* 52:333-344. 40

76. Skinner, G. R., C. B. Woodman, C. E. Hartley, A. Buchan, A. Fuller, J. Durham, M. Synnott, J. C. Clay, J. Melling, C. Wiblin, and J. Wilkins. 1982. Preparation and immunogenicity of vaccine Ac NFU1 (S-) MRC towards the prevention of herpes genitalis. *Br J Vener Dis.* 58:381-386.
77. Smith, T. J., L. A. Morrison, and D. A. Leib. 2002. Pathogenesis of herpes simplex virus type 2 virion host shutoff (vhs) mutants. *J. Virol.* 76:2054-2061.
78. Stanberry, L. R. 2004. Clinical trials of prophylactic and therapeutic herpes simplex virus vaccines. *Herpes* 11 Suppl. 3:161A-169A. 10
79. Stanberry, L. R., D. I. Bernstein, R. L. Burke, C. Pacht, and M. G. Myers. 1987. Vaccination with recombinant herpes simplex virus glycoproteins: protection against initial and recurrent genital herpes. *J. Infect. Dis.* 155:914-920.
80. Stanberry, L. R., E. R. Kern, J. T. Richards, T. M. Abbott, and J. C. Overall, Jr. 1982. Genital herpes in guinea pigs: pathogenesis of the primary infection and description of recurrent disease. *J Infect Dis* 146:397-404.
81. Stanberry, L. R., E. R. Kern, J. T. Richards, and J. C. Overall, Jr. 1985. Recurrent genital herpes simplex virus infection in guinea pigs. *Intervirology* 24:226-31. 20
82. Stanberry, L. R., S. L. Spruance, A. L. Cunningham, D. I. Bernstein, A. Mindel, S. Sacks, S. Tying, F. Y. Aoki, M. Slaoui, M. Denis, P. Vandepapeliere, G. Dubin, and G. H. V. E. S. Group. 2002. Glycoprotein-D-adjuvant vaccine to prevent genital herpes. *N. Engl. J. Med.* 347:1652-1661.
83. Strasser, J. E., R. L. Arnold, C. Pachuk, T. J. Higgins, and D. I. Bernstein. 2000. Herpes simplex virus DNA vaccine efficacy: effect of glycoprotein D plasmid constructs. *J Infect Dis* 182:1304-10.
84. Sylwester, A. W., B. L. Mitchell, J. B. Edgar, C. Taormina, C. Pelte, F. Ruchti, P. R. Sleath, K. H. Grabstein, N. A. Hosken, F. Kern, J. A. Nelson, and L. J. Picker. 2005. Broadly targeted human cytomegalovirus-specific CD4+ and CD8+ T cells dominate the memory compartments of exposed subjects. *J Exp Med* 202:673-85. 30
85. Tengvall, S., A. Lundqvist, R. J. Eisenberg, G. H. Cohen, and A. M. Harandi. 2006. Mucosal administration of CpG oligodeoxynucleotide elicits strong CC and CXC chemokine responses in the vagina and serves as a potent Th1-tilting adjuvant for recombinant gD2 protein vaccination against genital herpes. *J. Virol.* 80:5283-5291.
86. Tigges, M. A., D. Koelle, K. Hartog, R. E. Sekulovich, L. Corey, and R. L. Burke. 1992. Human CD8+ herpes simplex virus-specific cytotoxic T-lymphocyte clones recognize diverse virion protein antigens. *J. Virol.* 66:1622-1634. 40
87. Tigges, M. A., S. Leng, D. C. Johnson, and R. L. Burke. 1996. Human herpes simplex virus (HSV)-specific CD8+ CTL clones recognize HSV-2-infected fibroblasts after treatment with IFN-gamma or when virion host shutoff functions are disabled. *J. Immunol.* 156:3901-3910.

88. Tomazin, R., N. E. G. v. Schoot, K. Goldsmith, P. Jugovic, P. Sempe, K. Fruh, and D. C. Johnson. 1998. Herpes simplex virus type 2 ICP47 inhibits human TAP but not mouse TAP. *J. Virol.* 72:2560-2563.
89. Ulmer, J. B., B. Wahren, and M. A. Liu. 2006. Gene-based vaccines: recent technical and clinical advances. *Trends Mol. Med.* 12:216-222.
90. Wachsman, M., L. Aurelian, C. C. Smith, M. E. Perkus, and E. Paoletti. 1989. Regulation of expression of herpes simplex virus (HSV) glycoprotein D in vaccinia recombinants affects their ability to protect from cutaneous HSV-2 disease. *J Infect Dis* 159:625-34. 10
91. Wang, Z., C. La Rosa, R. Maas, H. Ly, J. Brewer, S. Mekhoubad, P. Daftarian, J. Longmate, W. J. Britt, and D. J. Diamond. 2004. Recombinant modified vaccinia virus Ankara expressing a soluble form of glycoprotein B causes durable immunity and neutralizing antibodies against multiple strains of human cytomegalovirus. *J Virol* 78:3965-76.
92. Whitley, R. J. 2001. Herpes Simplex Viruses, p. 2461-2509. In D. M. Knipe and P. M. Howley (ed.), *Fields Virology*, Fourth ed, vol. 2. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
93. Woodland, D. L. 2004. Jump-starting the immune system: prime-boosting comes of age. *Trends Immunol.* 25:98-104. 20
94. Ye, M., C. S. Morello, and D. H. Spector. 2004. Multiple epitopes in the murine cytomegalovirus early gene product M84 are efficiently presented in infected primary macrophages and contribute to strong CD8⁺-T-lymphocyte responses and protection following DNA immunization. *J Virol* 78:11233-45.
95. Ye, M., C. S. Morello, and D. H. Spector. 2002. Strong CD8 T-cell responses following coimmunization with plasmids expressing the dominant pp89 and subdominant M84 antigens of murine cytomegalovirus correlate with long-term protection against subsequent viral challenge. *J Virol* 76:2100-12.
96. Zhao, X., E. Deak, K. Soderberg, M. Linehan, D. Spezzano, J. Zhu, D. M. Knipe, and A. Iwasaki. 2003. Vaginal submucosal dendritic cells, but not Langerhans cells, induce protective Th1 responses to herpes simplex virus-2. *J. Exp. Med.* 197:153-162. 30

【 0 1 5 7 】

引用文献

以下の文献番号は、本出願の実施例16以外のセクションに使用する。

1. Beninga, J., B. Kropff, and M. Mach. 1995. Comparative analysis of fourteen individual human cytomegalovirus proteins for helper T cell response. *Journal of General Virology* 76:153-160.
2. BenMohamed, L., R. Krishnan, C. Auge, J. F. Primus, and D. J. Diamond. 2002. Intranasal administration of a synthetic lipopeptide without adjuvant induces systemic immune responses. *Immunology* 106:113-121.
3. Boeckh, M., W. G. Nichols, G. Papanicolaou, R. Rubin, J. R. Wingard, and J. Zaia. 2003. Cytomegalovirus in hematopoietic stem cell transplant recipients: Current status, known challenges, and future strategies. *Biol. Blood Marrow Transplant.* 9:543-558. 10
4. Boppana, S. B., L. B. Rivera, K. B. Fowler, M. Mach, and W. J. Britt. 2001. Intrauterine transmission of cytomegalovirus to infants of women with preconceptional immunity. *N. Engl. J. Med.* 344:1366-1371.
5. Borysiewicz, L. K., J. K. Hickling, S. Graham, J. Sinclair, M. P. Cranage, G. L. Smith, and J. G. P. Sissons. 1988. Human cytomegalovirus-specific cytotoxic T cells. Relative frequency of stage-specific CTL recognizing the 72 kD immediate early protein and glycoprotein B expressed by recombinant vaccinia viruses. *Journal of Experimental Medicine* 168:919-931.
6. Britt, W. J., and M. Mach. 1996. Human cytomegalovirus glycoproteins. *Intervirology* 39:401-412. 20
7. Brown, M. G., A. O. Dokun, J. W. Heusel, H. R. C. Smith, D. L. Beckman, E. A. Blattenberger, C. E. Dubbelde, L. R. Stone, A. A. Scalzo, and W. Yokoyama. 2001. Vital involvement of a natural killer cell activation receptor in resistance to viral infection. *Science* 292:934-937.
8. Bukowski, J. F., J. F. Warner, G. Dennert, and R. M. Welsh. 1985. Adoptive transfer studies demonstrating the antiviral effect of natural killer cells in vivo. *Journal of Experimental Medicine* 161:40-52.
9. Chen, S. C., D. H. Jones, E. F. Fynan, G. H. Farrar, J. C. Clegg, H. B. Greenberg, and J. E. Herrmann. 1998. Protective immunity induced by oral immunization with a rotavirus DNA vaccine encapsulated in microparticles. *Journal of Virology* 72:5757-5761. 30
10. Cranmer, L., C. Clark, and D. H. Spector. 1994. Cloning, characterization and expression of the murine cytomegalovirus homologue of the human cytomegalovirus 28 kDa matrix phosphoprotein (UL99). *Virology* 205:417-429.
11. Cranmer, L. D., C. L. Clark, C. S. Morello, H. E. Farrell, W. D. Rawlinson, and D. H. Spector. 1996. Identification, analysis, and evolutionary relationships of the putative murine cytomegalovirus homologs of the human cytomegalovirus UL82 (pp71) and UL83 (pp65) matrix phosphoproteins. *J. Virol.* 70:7929-7939. 40

12. Dunn, W., C. Chou, H. Li, R. Hai, D. Patterson, V. Stole, H. Zhu, and F. Liu. 2003. Functional profiling of a human cytomegalovirus genome. *Proc. natl. Acad. Sci. USA* 100:14223-14228.
13. Ebeling, A., G. M. Keil, E. Knust, and U. H. Koszinowski. 1983. Molecular cloning and physical mapping of murine cytomegalovirus DNA. *Journal of Virology* 47:421-433.
14. Elkington, R., S. Walker, T. Crough, M. Menzies, J. Tellam, M. Bharadwaj, and R. Khanna. 2003. Ex vivo profiling of CD8 T-cell responses to human cytomegalovirus reveals broad and multispecific reactivities in healthy virus carriers. *J. Virol.* 77:5226-5240. 10
15. Elliott, R., C. Clark, D. Jaquish, and D. H. Spector. 1991. Transcription analysis and sequence of the putative murine cytomegalovirus DNA polymerase gene. *Virology* 185:169-186.
16. Endresz, V., K. Burian, K. Berencsi, Z. Gyulai, L. Kari, H. Horton, D. Virok, C. MERIC, S. A. Plotkin, and E. Gonczol. 2001. Optimization of DNA immunization against human cytomegalovirus. *Vaccine* 19:3972-3980.
17. Endresz, V., L. Kari, K. Berencsi, C. Kari, Z. Gyulai, C. Jeney, S. Pincus, U. Rodeck, C. MERIC, S. A. Plotkin, and E. Gonczol. 1999. Induction of human cytomegalovirus (HCMV)-glycoprotein B (gB)-specific neutralizing antibody and phosphoprotein 65 (pp65)-specific cytotoxic T lymphocyte responses by naked DNA immunization. *Vaccine* 17:50-58. 20
18. Eo, S. K., M. Gierynska, A. A. Kamar, and B. T. Rouse. 2001. Prime-boost immunization with DNA vaccine: mucosal route of administration changes the rules. *J. Immunol.* 166:5473-5479.
19. Eo, S. K., S. Lee, S. Chun, and B. T. Rouse. 2001. Modulation of immunity against herpes simplex virus infection via mucosal genetic transfer of plasmid DNA encoding chemokines. *Journal of Virology* 75:569-578.
20. Estcourt, M. J., A. J. Ramsay, A. Brooks, S. A. Thomson, C. J. Medveckzy, and I. A. Ramshaw. 2002. Prime-boost immunization generates a high frequency, high-avidity CD8(+) cytotoxic T lymphocyte population. *Int. Immunol.* 14:31-37. 30
21. Fowler, K. B., S. Stagno, and R. F. Pass. 2003. Maternal immunity and prevention of congenital cytomegalovirus infection. *J. Amer. Med. Assoc.* 289:1008-1011.
22. Fynan, E. F., R. G. Webster, D. H. Fuller, J. R. Haynes, J. C. Santoro, and H. L. Robinson. 1993. DNA vaccines: protective immunizations by parenteral, mucosal, and gene-gun inoculations. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 90:11478-11482.
23. Gilbert, M. J., S. R. Riddell, C.-R. Li, and P. D. Greenberg. 1993. Selective interference with class I major histocompatibility complex presentation of the major immediate-early protein following infection with human cytomegalovirus. *Journal of Virology* 67:3461-3469.
24. Gold, M. C., M. W. Munks, M. Wagner, U. H. Koszinowski, A. B. Hill, and S. P. Fling. 2002. The murine cytomegalovirus immunomodulatory gene m152 prevents recognition of infected cells by M45-specific CTL but does not alter the immunodominance of the M45-specific CD8 T cell response in vivo. *J. Immunol.* 169:359-365. 40

25. Gold, M. C., M. W. Munks, M. Wagner, C. W. McMahon, A. Kelly, D. G. Kavanagh, M. K. Slifka, U. H. Koszinowski, D. H. Raulet, and A. B. Hill. 2004. Murine cytomegalovirus interference with antigen presentation has little effect on the size or the effector memory phenotype of the CD8 T cell response. *J. Immunol.* 172:6944-6953.
26. Gonczol, E., and S. Plotkin. 2001. Development of a cytomegalovirus vaccine: lessons from recent clinical trials. *Expert Opin. Biol. Ther.* 1:401-412.
27. González Armas, J. C., C. S. Morello, L. D. Cranmer, and D. H. Spector. 1996. DNA immunization confers protection against murine cytomegalovirus infection. *J. Virol.* 70:7921-7928. 10
28. Greenberg, P. D., P. Reusser, J. M. Goodrich, and S. R. Riddell. 1991. Development of a treatment regimen for human cytomegalovirus (CMV) infection in bone marrow transplantation recipients by adoptive transfer of donor-derived CMV-specific T cell clones expanded in vitro. *Annals of the New York Academy of Sciences* 636:184-195.
29. Gurunathan, S., D. M. Klinman, and R. A. Seder. 2000. DNA Vaccines: Immunology, Application, and Optimization. *Annual Reviews of Immunology* 18:927-994.
30. Gyulai, Z., V. Endresz, K. Burian, S. Pincus, J. Toldi, W. I. Cox, C. Meric, S. Plotkin, E. Gonczol, and K. Berencsi. 2000. Cytotoxic T lymphocyte responses to HCMV pp65, IE1exon4, gB, pp150, and pp28 in healthy individuals: reevaluation of the prevalence of IE1-specific CTL. *Journal of Infectious Diseases* 181:1537-1546. 20
31. Heise, M. T., and H. W. Virgin. 1995. The T-cell-independent role of IFN-gamma and TNF-alpha in macrophage activation during murine cytomegalovirus and herpes simplex virus infection. *Journal of Virology* 69:904-909.
32. Herrmann, J. E., S. C. Chen, D. H. Jones, A. Tinsley-Brown, E. F. Fynan, H. B. Greenberg, and G. H. Farrar. 1999. Immune responses and protection obtained by oral immunization with rotavirus VP4 and VP7 DNA vaccines encapsulated in microparticles. *Virology* 256:148-153.
33. Holmgren, J., C. Czerkinsky, K. Eriksson, and A. Mharandi. 2003. Mucosal immunisation and adjuvants: a brief overview of recent advances and challenges. *Vaccine* 21 Suppl 2:S89-95. 30
34. Holtappels, R., N. K. Grzimek, C. O. Simon, D. Thomas, D. Dreis, and M. J. Reddehase. 2002. Processing and presentation of murine cytomegalovirus pORFm164-derived peptide in fibroblasts in the face of all viral immunosubversive early gene functions. *J. Virol.* 76:6044-6053.
35. Holtappels, R., N. K. Grzimek, D. Thomas, and M. J. Reddehase. 2002. Early gene m18, a novel player in the immune response to murine cytomegalovirus. *J. Gen. Virol.* 83:311-316.
36. Holtappels, R., J. Podlech, N. K. Grzimek, D. Thomas, M. F. Pahl-Scibert, and M. J. Reddehase. 2001. Experimental preemptive immunotherapy of murine cytomegalovirus disease with CD8 T-cell lines specific for ppM83 and pM84, the two homologs of human cytomegalovirus tegument protein ppUL83 (pp65). *J. Virol.* 75:6584-6600. 40

37. Holtappels, R., J. Podlech, M. F. Pahl-Seibert, M. Julch, D. Thomas, C. O. Simon, M. Wagner, and M. J. Reddehase. 2004. Cytomegalovirus misleads its host by priming of CD8 T cells specific for an epitope not presented in infected tissues. *J. Exp. Med.* 199:131-136.
38. Holtappels, R., D. Thomas, J. Podlech, G. Geginat, H. P. Steffens, and M. J. Reddehase. 2000. The putative natural killer decoy early gene m04 (gp34) of murine cytomegalovirus encodes an antigenic peptide recognized by protective antiviral CD8 T cells. *J. Virol.* 74:1871-1884.
39. Holtappels, R., D. Thomas, J. Podlech, and M. J. Reddehase. 2002. Two antigenic peptides from genes m123 and m164 of murine cytomegalovirus quantitatively dominate CD8 T-cell memory in the H-2d haplotype. *J. Virol.* 76:151-164. 10
40. Holtappels, R., D. Thomas, and M. J. Reddehase. 2000. Identification of a K(d)-restricted antigenic peptide encoded by murine cytomegalovirus early gene M84. *J. Gen. Virol.* 81:3037-3042.
41. Jonjic, S., W. Mutter, F. Weiland, M. J. Reddehase, and U. H. Koszinowski. 1989. Site-restricted persistent cytomegalovirus infection after selective long-term depletion of CD4+ T lymphocytes. *J. Exp. Med.* 169:1199-1212.
42. Kavanagh, D. G., M. C. Gold, M. Wagner, U. H. Koszinowski, and A. B. Hill. 2001. The multiple immune-evasion genes of murine cytomegalovirus are not redundant: m4 and m152 inhibit antigen presentation in a complementary and cooperative fashion. *J. Exp. Med.* 194:967-978. 20
43. Kern, F. I., I. P. Sural, N. Faulhaber, C. Frommel, J. Schneider-Mergener, C. Schonemann, P. Reinke, and H.-D. Vold. 1999. Target structures of the CD8+ -T Cell response to human cytomegalovirus: the 72-kilodalton major immediate-early protein revisited. *Journal of Virology* 73:8179-8184.
44. Kleijnen, M. F., J. B. Hupp, P. Lucin, S. Mukherjee, H. Farrell, A. E. Campbell, U. H. Koszinowski, A. B. Hill, and H. L. Ploegh. 1997. A mouse cytomegalovirus glycoprotein, gp34, forms a complex with folded class I MHC molecules in the ER is not retained but is transported to the cell surface. *EMBO J.* 16:685-694.
45. Krmpotic, A., M. Messerle, I. Crnkovic-Mertens, B. Polic, S. Jonjic, and U. H. Koszinowski. 1999. The immunoevasive function encoded by the mouse cytomegalovirus gene m152 protects the virus against T cell control in vivo. *J. Exp. Med.* 190:1285-1296. 30
46. La Rosa, C., Z. Wang, J. C. Brewer, S. F. Lacey, M. C. Villacres, R. Sharan, R. Krishnan, M. Crooks, S. Markel, R. Maas, and D. J. Diamond. 2002. Preclinical development of an adjuvant-free peptide vaccine with activity against CMV pp65 in HLA transgenic mice. *Blood* 100:3681-3689.
47. Lee, S. H., J. R. Webb, and S. M. Vidal. 2002. Innate immunity to cytomegalovirus: the Cmv1 locus and its role in natural killer cell function. *Microbes Infect.* 4:1491-1503.
48. LoPiccolo, D. M., M. C. Gold, D. G. Kavanagh, M. Wagner, U. H. Koszinowski, and A. B. Hill. 2003. Effective inhibition of K(b)- and D(b)-restricted antigen presentation in primary macrophages by murine cytomegalovirus. *J. Virol.* 77:301-308. 40

49. Lucin, P., I. Pavic, B. Polic, S. Jonjic, and U. H. Koszinowski. 1992. Gamma interferon-dependent clearance of cytomegalovirus infection in salivary glands. *Journal of Virology* 66:1977-1984.
50. Manley, T. J., L. Luy, T. Jones, M. Boeckh, H. Mutimer, and S. R. Riddell. 2004. Immune evasion proteins of human cytomegalovirus do not prevent a diverse CD8⁺ cytotoxic T-cell response in natural infection. *Blood* 104:1075-1082.
51. Marks, J. A., and D. H. Spector. 1988. Replication of the murine cytomegalovirus genome: structure and role of the termini in the generation and cleavage of concatenes. *Virology* 162:98-107. 10
52. Marks, J. R., J. A. Mercer, and D. H. Spector. 1983. Transcription in mouse embryo cells permissively infected by murine cytomegalovirus. *Virology* 131:247-254.
53. Marks, J. R., and D. H. Spector. 1984. Fusion of the termini of the murine cytomegalovirus genome after infection. *Journal of Virology* 52:24-28.
54. McConkey, S. J., W. H. Reece, V. S. Moorthy, D. Webster, S. Dunachie, G. Butcher, J. M. Vuola, T. J. Blanchard, P. Gothard, K. Watkins, C. M. Hannan, S. Everaere, K. Brown, K. E. Kester, J. Cummings, J. Williams, D. G. Heppner, A. Pathan, K. Flanagan, N. Arulanantham, M. T. Roberts, M. Roy, G. L. Smith, J. Schneider, T. Peto, R. E. Sinden, S. C. Gilbert, and A. V. Hill. 2003. Enhanced T-cell immunogenicity of plasmid DNA vaccines boosted by recombinant modified vaccinia virus Ankara in humans. *Nat. Med.* 9:729-735. 20
55. McLaughlin-Taylor, E., H. Pandey, S. J. Forman, B. Tanamachi, C.-R. Li, J. A. Zaia, P. D. Greenberg, and S. R. Riddell. 1994. Identification of the major late human cytomegalovirus matrix protein pp65 as a target antigen for CD8⁺ virus-specific cytotoxic T lymphocytes. *Journal of Medical Virology* 43:103-110.
56. Mercer, J. A., J. R. Marks, and D. H. Spector. 1983. Molecular cloning and restriction endonuclease mapping of the murine cytomegalovirus genome (Smith strain). *Virology* 129:94-106.
57. Mercer, J. A., and D. H. Spector. 1986. Pathogenesis of acute murine cytomegalovirus infection in resistant and susceptible strains of mice. *J. Virol.* 57:497-504. 30
58. Mercer, J. A., C. A. Wiley, and D. H. Spector. 1988. Pathogenesis of murine cytomegalovirus infection: identification of infected cells in the spleen during acute and latent infections. *Journal of Virology* 62:987-997.
59. Meyers, J. D. 1984. Cytomegalovirus infection following marrow transplantation: risk, treatment, and prevention. *Birth Defects* 20:101-117.
60. Mocarski, E. S., and C. T. Courcelle. 2001. Cytomegaloviruses and their replication, p. 2629-2673. In D. M. Knipe and P. M. Howley (ed.), *Fields Virology*, vol. 2. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia. 40
61. Morello, C. S., L. D. Cranmer, and D. H. Spector. 1999. In vivo replication, latency, and immunogenicity of murine cytomegalovirus mutants with deletions in the M83 and M84 genes, the putative homologs of human cytomegalovirus pp65 (UL83). *J. Virol.* 73:7678-7693.

62. Morello, C. S., L. D. Cranmer, and D. H. Spector. 2000. Suppression of murine cytomegalovirus (MCMV) replication with a DNA vaccine encoding MCMV M84 (a homolog of human cytomegalovirus pp65). *J. Virol.* 74:3696-3708.
63. Morello, C. S., M. Ye, S. Hung, L. A. Kelley, and D. H. Spector. 2004. Systemic prime-boost immunization with a trivalent plasmid DNA and inactivated murine cytomegalovirus (MCMV) vaccine provides long-term protection against viral replication following systemic or mucosal MCMV challenge. *J. Virol.* In press.
64. Morello, C. S., M. Ye, and D. H. Spector. 2002. Development of a vaccine against murine cytomegalovirus (MCMV), consisting of plasmid DNA and formalin-inactivated MCMV, that provides long-term, complete protection against viral replication. *J. Virol.* 76:4822-4835. 10
65. Orange, J. S., and C. A. Biron. 1996. Characterization of early IL-12, IFN-alpha/beta, and TNF effects on antiviral state and MK cell responses during murine cytomegalovirus infection. *Journal of Immunology* 156:4746-4756.
66. Orange, J. S., B. Wang, C. Terhorst, and C. A. Biron. 1995. Requirement for natural killer cell-produced interferon-in defense against murine cytomegalovirus infection and enhancement of this defense pathway by interleukin 12 administration. *Journal of Experimental Medicine* 182:1045-1056.
67. Pass, R. F. 2001. Cytomegaloviruses, p. 2675-2706. In D. M. Knipe and P. M. Howley (ed.), *Fields Virology*, 4th ed. Lippincott-Raven, Philadelphia. 20
68. Pavic, I., B. Polic, I. Crnkovic, P. Lucin, S. Jonjic, and U. H. Koszinowski. 1993. Participation of endogenous tumour necrosis factor-alpha in host resistance to cytomegalovirus infection. *Journal of General Virology* 74:2215-2223.
69. Pepperl, S., J. Munster, M. Mach, J. R. Harris, and B. Plachter. 2000. Dense bodies of human cytomegalovirus induce both humoral and cellular immune responses in the absence of viral gene expression. *J. Virol.* 74:6132-6146.
70. Quinlan, G. J., N. Kirmani, A. H. Rook, J. F. Manischewitz, L. Jackson, G. Moreschi, G. W. Santos, R. Saral, and W. H. Burns. 1982. Cytotoxic T cells in cytomegalovirus infection: HLA-restricted T-lymphocyte and non-T-lymphocyte cytotoxic responses correlate with recovery from cytomegalovirus infection in bone-marrow-transplant recipients. *New England Journal of Medicine* 307:7-13. 30
71. Rawlinson, W. D., H. E. Farrell, and B. G. Barrell. 1996. Analysis of the complete DNA sequence of murine cytomegalovirus. *J. Virol.* 70:8833-8849.
72. Raz, E., D. A. Carson, S. E. Parker, T. B. Parr, A. M. Abai, G. Aichinger, S. H. Gromkowski, M. Singh, D. Lew, M. A. Yankauckas, S. M. Baird, and G. H. Rhodes. 1994. Interdermal gene immunization: the possible role of DNA uptake in the induction of cellular immunity to viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 91:9519-9123. 40
73. Reddehase, M. J. 2002. Antigens and immunoevasins: opponents in cytomegalovirus immune surveillance. *Nat. Rev. Immunol.* 2:831-844.

74. Reddehase, M. J. 2000. The immunogenicity of human and murine cytomegaloviruses. *Curr. Opin. Immunol.* 12:390-396.
75. Reddehase, M. J., G. M. Keil, and U. H. Koszinowski. 1984. The cytolytic T lymphocyte response to the murine cytomegalovirus. II. Detection of virus replication stage-specific antigens by separate populations of in vivo active cytolytic T lymphocyte precursors. *Eur. J. Immunol.* 14:56-61.
76. Reusch, U., W. Muranyi, P. Lucin, H. G. Burgert, H. Hengel, and U. H. Koszinowski. 1999. A cytomegalovirus glycoprotein re-routes MHC class I complexes to lysosomes for degradation. *EMBO J.* 18:1081-1091. 10
77. Riddell, S. R., and P. D. Greenberg. 2000. T-cell therapy of cytomegalovirus and human immunodeficiency virus infection. *J. Antimicrob. Chemother.* 45:35-43.
78. Riddell, S. R., M. Rabin, A. P. Geballe, W. J. Britt, and P. D. Greenberg. 1991. Class I MHC-restricted cytotoxic T lymphocyte recognition of cells infected with human cytomegalovirus does not require endogenous viral gene expression. *Journal of Immunology* 146:2795-2804.
79. Scalzo, A. A., P. A. Lyons, N. A. Fitzgerald, C. A. Forber, W. M. Yokoyama, and G. R. Shellam. 1995. Genetic mapping of Cmv1 in the region of mouse chromosome 6 encoding the NK gene complex-associated loci Ly49 and musNKR-P1. *Genomics* 27:435-441.
80. Schirmbeck, R., K. Bohm, K. Ando, F. V. Chisari, and J. Reimann. 1995. Nucleic acid vaccination primes Hepatitis B Virus surface antigen-specific cytotoxic T lymphocytes in nonresponder mice. *Journal of Virology* 69:5929-5934. 20
81. Tay, C. H., and R. M. Welsh. 1997. Distinct organ-dependent mechanisms for the control of murine cytomegalovirus infection by natural killer cells. *J. Virol.* 71:267-275.
82. Tinsley-Bown, A. M., R. Fretwell, A. B. Dowsett, S. L. Davis, and G. H. Farrar. 2000. Formulation of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) microparticles for rapid plasmid DNA delivery. *J Control Release* 66:229-241.
83. Toka, F. N., C. D. Pack, and B. T. Rouse. 2004. Molecular adjuvants for mucosal immunity. *Immunol Rev* 199:100-112. 30
84. Ulmer, J. B., J. J. Donnelly, S. E. Parker, G. H. Rhodes, P. L. Felgner, V. J. Dwarki, S. H. Gromkowski, R. R. Deck, C. M. DeWitt, A. Friedman, L. A. Hawe, K. R. Leander, D. Martinez, H. C. Perry, J. W. Shiver, D. L. Montgomery, and M. A. Liu. 1993. Heterologous protection against influenza by injection of DNA encoding a viral protein [see comments]. *Science* 259:1745-1749.
85. Wagner, M., A. Gutermann, J. Podlech, M. J. Reddehase, and U. H. Koszinowski. 2002. Major histocompatibility complex class I allele-specific cooperative and competitive interactions between immune evasion proteins of cytomegalovirus. *J. Exp. Med.* 196:805-816.
86. Wierzbicki, A., I. Kiszka, H. Kaneko, D. Kmiecik, T. J. Wasik, J. Gzyl, Y. Kaneko, and D. Kozbor. 2002. Immunization strategies to augment oral vaccination with DNA and viral vectors expressing HIV envelope glycoprotein. *Vaccine* 20:1295-1307. 40

87. Woodland, D. L. 2004. Jump-starting the immune system: prime-boosting comes of age. *Trends Immunol.* 25:98-104.
88. Ye, M., C. S. Morello, and D. H. Spector. 2004. Multiple epitopes in the murine cytomegalovirus early gene product M84 are efficiently presented in infected primary macrophages and contribute to strong CD8+ T-lymphocyte responses and protection following DNA immunization. *J. Virol.* In press.
89. Ye, M., C. S. Morello, and D. H. Spector. 2002. Strong CD8 T-cell responses following coimmunization with plasmids expressing the dominant gB and subdominant M84 antigens of murine cytomegalovirus correlate with long-term protection against subsequent viral challenge. *J. Virol.* 76:2100-2112. 10
90. Yu, D., M. C. Silva, and T. Shenk. 2003. Functional map of human cytomegalovirus AD169 defined by global mutational analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100:12396-12401.
91. Zaia, J. A., G. Gallez-Hawkins, X. Li, Z. Q. Yao, N. Lomeli, K. Molinder, C. La Rosa, and D. J. Diamond. 2001. Infrequent occurrence of natural mutations in the pp65(495-503) epitope sequence presented by the HLA A*0201 allele among human cytomegalovirus isolates. *J. Virol.* 75:2472-2474.
92. Ziegler, H., R. Thale, P. Lucin, W. Muranyi, T. Flohr, H. Hengel, H. Farrell, W. Rawlinson, and U. H. Koszinowski. 1997. A mouse cytomegalovirus glycoprotein retains MHC class I complexes in the ERGIC/cis-Golgi compartments. *Immunity* 6:57-66. 20
93. Morello C.S., M. Ye, S. Hung, L.A. Kelley, and D.H. Spector. 2005. Systemic priming-boosting immunization with a trivalent plasmid DNA and inactivated murine cytomegalovirus (MCMV) vaccine provides long-term protection against viral replication following systemic or mucosal MCMV challenge. *J Virol.* 79:159-175.
94. Munks, M.W., M.C. Gold, A.L. Zajac, C.M. Doom, C.S. Morello, D.H. Spector, and A.B. Hill. 2006. Genome-wide analysis reveals a highly diverse CD8 T Cell Response to Murine Cytomegalovirus. *J. Immunol.* 176: 3760-3766. 30
95. Arase, H., E. S. Mocarski, A. E. Campbell, A. B. Hill, and L. L. Lanier. 2002. Direct recognition of cytomegalovirus by activating and inhibitory NK cell receptors. *Science* 296:1323-1326.
96. Brune, W., H. Hengel, and U. H. Koszinowski. 1999. A mouse model for cytomegalovirus infection, p. 19.17.11-19.17.13. In J. E. Coligan, A. M. Kruisbeek, D. H. Margulies, E. M. Shevach, and W. Strober (ed.), *Current Protocols In Immunology*, vol. 4. John Wiley & Sons, Inc., New York.
97. Munks, M. W., M. C. Gold, A. L. Zajac, C. M. Doom, C. S. Morello, D. H. Spector, and A. B. Hill. 2006. Genome-wide analysis reveals a highly diverse CD8 T cell response to murine cytomegalovirus. *J. Immunol.* 176:3760-3766. 40
98. Pari, G. S., and D. G. Anders. 1993. Eleven loci encoding trans-acting factors are required for transient complementation of human cytomegalovirus oriLyt-dependent DNA replication. *J. Virol.* 67:6979-6988.

99. Sylwester, A. W., B. L. Mitchell, J. B. Edgar, C. Taormina, C. Pelté, F. Ruchti, P. R. Sleath, K. H. Grabstein, N. A. Hosken, F. Kern, J. A. Nelson, and L. J. Picker. 2005. Broadly targeted human cytomegalovirus-specific CD4⁺ and CD8⁺ T cells dominate the memory compartments of exposed subjects. *J. Exp. Med.* 202:673-685.
111. Hosken, N., P. McGowan, A. Meier, D. M. Koelle, P. Sleath, F. Wagener, M. Elliott, K. Grabstein, C. Posavad, and L. Corey. 2006. Diversity of the CD8⁺ T-Cell Response to Herpes Simplex Virus Type 2 Proteins among Persons with Genital Herpes. *J. Virol.* 80:5509-5515.

10

【 0 1 5 8 】

本明細書に引用したすべての特許、特許出願、出版物、公報は参照により本願に組み込まれる。上記の特許、特許出願、出版物、公報の引用は、前述のいずれかが直接関係のある先行技術であると認めるものではなく、これらの公開または公報の内容または日付に関して認めるものでもない。

【 0 1 5 9 】

文脈により明確に否定されない限りは、単数形の"a"、"an"および"the"は、複数指示を含む。従って例えば、"a subset"と言及する場合、複数の前記サブセットを含み、"a nucleic acid"と言及する場合、1以上の核酸および当業者に公知のそれらの均等物を含む等々である。用語"or"は、それが指し示すものまたは用語に限定されると解されるものではない。例えば、構造"A or B"の語句中で用いられるときは、A単独、B単独またはAおよびBを意味することができる。

20

【 0 1 6 0 】

特記しない限り、本明細書に記載のすべての学術用語は、本発明が属する技術分野の技術者に一般に理解される意味と同じ意味を有する。本発明の実施または試験において、本明細書記載のものと同様または等価な任意の方法またはシステムを使用することができるが、方法、装置および材料をここに記載する。本発明に関連して使用することができる、出版物に報告されている工程、システムおよび方法を記載し開示するための、本明細書記載のすべての出版物は、参照により本願に組み込まれる。先願発明によって、本発明がこのような開示に先行することの資格を与えないことを認めるものとしてこれらを解釈してはならない。

30

【 0 1 6 1 】

本発明の基本的な側面から逸脱することなく前述のものに改変を加えることができる。1以上の特定の実施形態を参照して本発明を十分詳細に説明してきたが、本願において具体的に開示された実施形態に変更を加えることができ、かつこれらの改変および改良が本発明の趣旨と範囲内であることは、当業者に明らかであろう。例示として記載された本発明を、本明細書に具体的に開示されていない任意の要素(単数または複数)の非存在下で適切に実施することができる。従って例えば、用語"含む"、"から本質的になる"および"からなる"のいずれかは、本明細書のそれぞれの例において、他の2つの用語と置き換えることができる。従って、用いてきた用語および表現は、説明の用語として用いたものであって限定するものではなく、図面に示されかつ明細書に記載されている特徴の均等物またはそれらの部分は排除されず、本発明の範囲内での種々の修飾が可能であることは明らかである。本発明の実施形態は、請求項に記載されている。

40

【 図面の簡単な説明 】

【 0 1 6 2 】

【 図 1 】脾臓におけるチャレンジウイルス複製に対して矛盾のない防御を示す、M54(DNAポリメラーゼ)またはM105(ヘリカーゼ)でのマウスのDNA免疫感作の結果の図形描画である。1群当たり4匹のBALB/cマウスに、空ベクターDNA(pc3 neo)またはIE1、M54、M70もしくは

50

はM105をコードするDNAのいずれかで2週間に3回皮内免疫感作した。最終免疫感作の2週間後、図面に示されたSG-MCMVの3つのLD₅₀用量のうちの1つでマウスに腹腔内チャレンジした。チャレンジ後6日目に脾臓を摘出し、ホモジナイズしてMCMVの力価を測定した。棒および円は、群ごとの平均および脾臓のそれぞれのウイルス力価の各Log₁₀をそれぞれ示す。横線は高感度ブランクアッセイの検出限界を示す。

【図2】免疫感作およびチャレンジ感染のスケジュール表の例である。

【図3】HCMV DNAポリメラーゼ(M54)、プライマーゼ(M70)およびヘリカーゼ(M105)のMCMVホモログのin vitroおよびin vivoでの発現を示す図である。A)pcDNA3.1/V5-His-TOPOにクローニングしたMCMV ORFを、[³⁵S]メチオニンを用いる共役in vitro転写/翻訳反応(すなわちTNT T7 Quick)により、T7プロモーターを用いて発現させた。SDS-PAGEおよびオートラジオグラフィーにより、プラスミドのそれぞれは、予測相対分子量:M54に対して128.8kDa、タグなしM70に対して109.6kDaおよびM105に対して111.4kDaを有する単一の標識ポリペプチドを発現する事が見いだされた。各反応の一部を7%ポリアクリルアミドゲルで還元条件SDS-PAGEにかけ、標識タンパク質をオートラジオグラフィーで検出した。左側の数字および線はマーカータンパク質の位置および相対分子量を示す。VectはDNAベクター単独を用いて行ったTNT反応を示す。コードされるタンパク質の予測分子量は:M54、128.8kDa;M70(タグなし)、109.6kDa;およびM105、111.4kDaである。B)M70クローンを変異させてV5-および6xHis-タグをつけたM70⁺を得た後、プラスミドをCOS-7細胞に一過性にトランスフェクトし、トランスフェクション後48時間で還元条件SDS-PAGEサンプル緩衝液中に全細胞を溶解し可溶化した。上記のようにSDS-PAGEによりタンパク質溶解物を分離し、ニトロセルロース膜にエレクトロブロットし、続いてこれをマウス抗V5モノクローナル抗体で試験した。左側の数字は(A)の場合と同様であり、Vectは空プラスミドベクターでトランスフェクトされた細胞からの溶解物を示す。M70⁺タンパク質の予測分子量は114.7kDaである。

【図4】独立した実験においてM54およびM105により誘発される、脾臓におけるウイルス複製に対する防御を示す図である。図2の場合と同様に、6匹のBALB/c群を治療せずに放置(Naive)するかまたは免疫感作した。最終免疫感作の3週間後、0.5x LD₅₀のSG-MCMVでマウスに腹腔内チャレンジし、チャレンジ後6日目に脾臓を採取し、図2の場合と同様に力価を測定した。棒、円および横線は図2の場合と同様に記載されている。

【図5】一過性にトランスフェクトされた刺激細胞を用いる、IE1、M54またはM105を発現するDNAで免疫感作したBALB/cマウスにおけるCD8 T細胞応答のフローサイトメトリー分析を示す図である。空プラスミドベクター(Vect DNA)またはIE1、M54もしくはM105を発現するプラスミドDNAのいずれかでマウスに4回皮内免疫感作した。MCMV感染により誘発されるCD8 T反応を測定するために、1.2 × 10⁵ PFUのTC-MCMVで他の群のマウスに腹腔内感染させた。最終DNA免疫感作またはMCMV感染の2週間後、マウスをICSアッセイのために屠殺した。実施例に記載されているように、脾細胞を調製し、計測し、プレフェルディンAの存在下で、(Stimulation)で示されるIE1、M54またはM105のいずれかを発現するプラスミドDNAで48時間前にトランスフェクトされたBALB SV40(H-2^d)刺激細胞とインキュベートした。刺激後、脾細胞をPE-Cy5-抗マウス-CD8aで表面染色し、固定し、FITC-抗マウス-IFN抗体で細胞内染色し、フローサイトメトリーで分析した。マウス#2を任意に選択し、免疫感作/感染および刺激群に対する1匹のマウスの散布図を示す。示されている百分率は、刺激後IFN-⁺であったCD8+T細胞の百分率であり、CD8およびIFN-⁺の二重陽性細胞の細胞数は、象限Q2における細胞数からゲートP4におけるバックグラウンド染色を差し引いたものとして算出される。

【図6】IE1、M54またはM105を発現するDNAで免疫感作したBALB/cマウスにおけるCD8 T細胞応答を示す図である。図4の場合と同様に、マウスの各群をDNA免疫感作またはMCMV感染した。A)最終DNA免疫感作またはMCMV感染の2週間後、ICSアッセイのために1群当たり3匹のマウスを屠殺した。図4における実験の全データにおいて、棒は各ワクチン群に関してIFN-⁺であったCD8+T細胞の群平均百分率を示し、記号は群における各マウスの個々の値を示す。同一の3つのTC-MCMV感染したマウスからの脾細胞は3つの刺激細胞群のそれぞれ

で試験したことに注意されたい。B) 最終DNA免疫感作の3週間後またはTC-MCMVでの感染の4週間後のマウスでICSアッセイを行ったこと以外は(A)の場合と同じに行った。

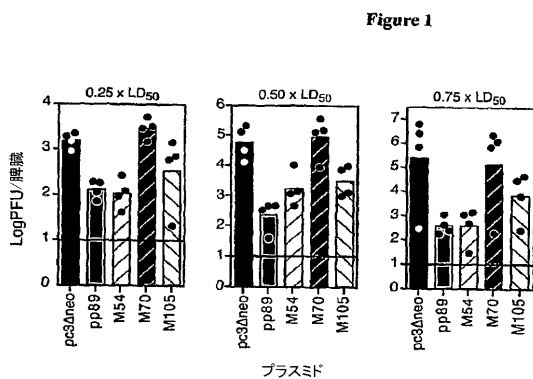
【図7】SG-MCMVでのチャレンジ後5日目にDNA免疫感作またはTC-MCMV感染したマウスにおけるCD8 T反応を示す図である。空ベクターまたはIE1、M54もしくはM105のいずれかが発現するプラスミドDNAのいずれかで3匹のBALB/cマウスを2週間で3回免疫感作した。図4の場合と同様にTC-MCMVで他の群のマウスを腹腔内感染させた。最終DNA免疫感作の7週間後またはMCMV感染の6週間後、 1.2×10^5 PFUのSG-MCMVでマウスに腹腔内チャレンジし、上記のようにチャレンジ後5日目にこれらのマウスの脾細胞にICSアッセイを行った。棒および記号は図5の場合と同様である。

【図8】HCMV(AD169株)の23個の保存された必須遺伝子のアミノ酸およびヌクレオチド配列ならびにそれらのMCMV(Smith株)ホモログのアミノ酸配列である。

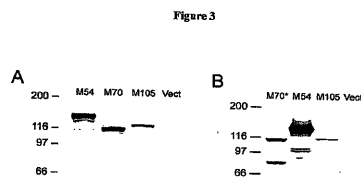
【図9】HCMV(AD169株)に高度に保存された単純ヘルペスウイルス2型(HG52株)の12個の必須遺伝子のアミノ酸配列および対応するヌクレオチド配列である。

10

【図1】

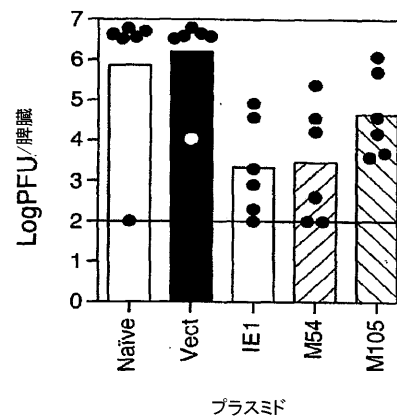


【図3】

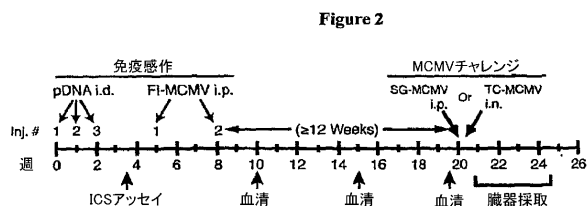


【図4】

Figure 4

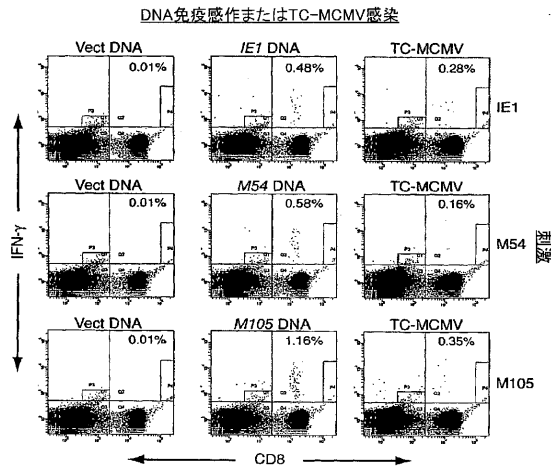


【図2】



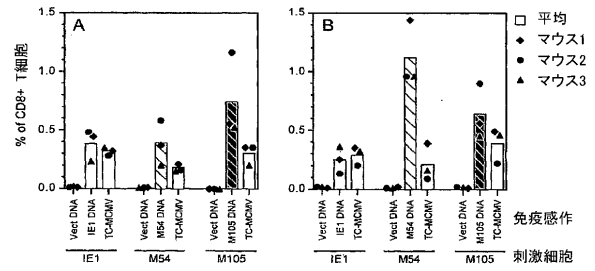
【図 5】

Figure 5



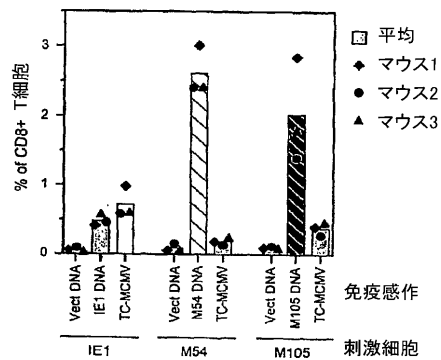
【図 6】

Figure 6



【図 7】

Figure 7



【図 8 - 1】

Figure 8

SEQ ID NO: 1

KEYWORD: HCMV UL44

PROTEIN

1

MDKRTLEPPIALALRKY KTAIQQLRSV IRALKENTTV TFLPTPSLTI QTVNSHCYSK

61

IFNRSCLYI TUKSPUPKI NNTSTLLGNT MYLRSKOLT KEVVDIOL SAKTSHCAED

121

FNMFSSACV NGQDIVRESE NSAVEVDLDF GVVDLLKWI GPHTRVKNV KQAPCTGTV

181

QILVAGPFA IKFLLNGSE LEFTANNRVF FGVNRMNIN VOLNIFYQTI LNCVATKLEC

241

TLRITVHTD LLYVSRNGL FAVENFTFES PQBQSPFVK NYVNSKSN GGGGGGSL

301

SLNAGGLID DQGLDNDIM NEMWLGGLG GGGGGGSLR DRGGGGSGT RSMSSGGGG

361

DHDSGLSRK KYEQHKTITS LTSKNGSGGG GGGGGGSLR NSGVFNDAK EESSEDSVT

421

FEFVFWKQK RGS

KEYWORD: DNA (NC_001347 REGION: 56142..57443)

SEQ ID NO: 2

1

ctagccgcac tttgtctct tgggttagg gacgaactg aactgtacg aactctogt

61

gtgctctct tttgtctct tgggttagg gacgaactg aactgtacg aactctogt

121

ctctctctct cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

181

ctgctctct tttgtctct tgggttagg gacgaactg aactgtacg aactctogt

241

gtcctctct cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

301

gcccgcac cctctctct cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

361

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

421

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

481

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

541

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

601

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

661

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

721

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

781

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

841

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

901

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

961

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

1021

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

1081

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

1141

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

1201

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

1261

accgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

KEYWORD: HCMV UL50

PROTEIN

SEQ ID NO: 3

1

MMNKKVLQD LVATRLIK LGFSLAVTD AGLICNPY SVCCAMKTD TVYCVLYLS

61

YRKSRLRVP CFYKMGCA VSLCPVRAV VGLVSRVAV GEPVLYAVN SLIVTADIE

121

ELKPSATGL TKCVVRKNS ASVINIELLA FGPEMGEYE NLRRLYAKK AASTSLAVN

181

RVTYSSHS SPSLHARMS ALATHTAGK SRRTASPEP PRHFSCTPT VAGGAAAGP

241

RPPPPHARS SWRLKRCAC MRCOCASG DHEDEELL ALASGRMAA AAGQDVGES

301

ARRPLEERVS RRGVSTHR HPSPCAPS LERTGTWAP SWVRKAGP SRQSGTWLP

361

ARFATLQPLV LALLVLALL WRGQCSSTP TRSALRD

KEYWORD: DNA (NC_001347 REGION: 73000..74193)

SEQ ID NO: 4

1

tcagtcggg tggcggggc ggtg-cggag cagcagctg coagcagc gccacagcag

61

agccagcacc agcagagag cagcagcag cggcgccagc gtcgcagc gcccgggcag

121

ccagcgccca gactgggtc gggatggcc gggcgccgt cggcagcag atgagcggtc

181

ccagcgccca cgggtggct cagcgccgc cggcgccgc gggcgccgc gtagcggtc

【 図 8 - 2 】

```

241 atgggtgacg accctctgac gacgactaac gtgtctcttc agagagccac ggcggagacc
301 tccagatcttc tggccgctgc ctgctgcctc ggcctctctc tctcccgcca gagcagagaa
361 cctctctctc tctctctctc cctctctctc gctctctctc gctctctctc gctctctctc
421 cctacacaga caccgacgac agaccacgac ggcctctctc ggcctctctc ggcctctctc
481 ggcagcgcgc cgcgcgcgc gcacacatgt ggcagcgcgc cgcgcgcgc ggcagcgcgc
541 agggagagat ggcgcgcgc agacgcctgt cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
601 ggcgcgcgc caccgacgac gacgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
661 gacgcgcgc cgcgcgcgc cgcctctctc ggcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc
721 cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
781 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
841 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
901 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
961 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
1021 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
1081 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc
1141 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgcgcgcgc

```

```

SEQ ID NO: 1
KEYWORD: HCV UL51
PROTEIN
1 MSWAKRVVF LDDDDGREN DVDDVDVDFV PRFVDFVDFV RPAAGTSGS LGGGGDDRD
61 GGGGALPDL DDDLLQTP MERVYDFV SUCVDFVDFV NMGKTRAFI KTVSGDCTC
121 SGGELIRRT QLLTAIVKQ MDINCLFSG DESAFKQ

```

```

KEYWORD: DNA (NC_001347 REGION: 74215..74668)
SEQ ID NO: 6
1 tttatttacc ggcgcgcgc cgtctcttc ctcacgact cgccttaagt cactgagatt
61 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgtctcttc ctcacgact cgccttaagt cactgagatt
121 cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgtctcttc ctcacgact cgccttaagt cactgagatt
181 atttattacc ggcgcgcgc cgtctcttc ctcacgact cgccttaagt cactgagatt
241 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgtctcttc ctcacgact cgccttaagt cactgagatt
301 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgtctcttc ctcacgact cgccttaagt cactgagatt
361 ggcgcgcgc cgcgcgcgc cgtctcttc ctcacgact cgccttaagt cactgagatt
421 cgcgcgcgc cgcgcgcgc cgtctcttc ctcacgact cgccttaagt cactgagatt

```

```

SEQ ID NO: 7
KEYWORD: HCV UL52
PROTEIN
1 MNPVSVVSN GTTFTHPHH TTFLETHSA PETSVAAT LCQPGQVAVS TSGSTSTYT
61 QWSDLTLE LHMHPQVQ MDAALAAA AAYVNPQV ANRYHTFQV TSLGTSTVD
121 ELNLCASST TGGTGTSTV TATNTTSSG GAVAGSNVQ PAGAAACML DAEIAGTFS
181 AAGFLARLL CAPALIDTC MLCATISCL NODCQSVLL EYSLCFPCS YAPRALATL
241 TMSFTHLL QTFEDALD LDFRHLVQL FQHLITFTN ICFERQVQA VQNVNLMH
301 LAVVAVMHG ETVTVNKR RHQPGQKNN PHVTEPQEL IOMFLEHSP SKRQVQLFV
361 TTMAGTGVH TPTZELTHT FKARLALST ASERDAJHM TEREDEBEG RKGDDPGRH
421 NGGTSRGLT ETLKQVSP TLTCTVAFV TWKTSFVCL LCLMLGCTY DMVLEBLVY
481 RVVSVQNNV KMYRVLQVL ADLLESTPS LGAHEDVAV CQLAFTPSG GDSYHGLSG
541 VQGLARVDF VCHVIRGDF VTGIVKHFF DFCAGNIVR THNAVLFGRL HHNVHVEVL
601 ALCHNYVLT RUPRHWLGI TFLPAQITK RTYKSHVLA OFMRBPTQLL ESDCLKVDV
661 TVYIKDV

```

```

KEYWORD: DNA (NC_001347 REGION: 74727..76733)
SEQ ID NO: 8
1 atgacatcga gtaccccgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
61 acacgcttcc ctcacgact gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
121 ttgtgcagtc gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
181 cagtgagcgc cagtgagcgc cagtgagcgc ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
241 atgacatcga gtaccccgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
301 gacacgact cagtgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc

```

【 図 8 - 4 】

```

1021 ggcgcgcgc cccacacata ctcacacacac cagtcacgac ctcacgacgac ctcacacgct
1081 cccacacata cccacacacac cagtcacgac ctcacgacgac ctcacacgct a

```

```

SEQ ID NO: 11
KEYWORD: HCV UL54
PROTEIN
1 MFPNVLSSG VTGCAVAGR QRSGQSGAG GSGRFRPQR FLVIVPRGV FQGGTGLKH
61 KTRGLFMTF KZIKRLSHD MFWPCWSTF LVRVNVGPIR FHTYQTDVAF LFDSPERVS
121 PRYKQVHPS GAVLAFPGT RKSYSICVW FQSGSTFVS TSDTDLRVS IASVGLVRS
181 PRTPYAVSV FAYKTSIYG QTRVFDLQV VSI SNWMAI KTEVLEDSG FVIVRVVVF
241 LARLVDIRI TTFQNCVNR VDRQGRASR TCDIEVDODV SDIVAFVDSR SVPRVCLSF
301 DLBNSSGEG FQKAKSDUI VIGUSVYIC TSGNTAVDGS IPHNGDGRG TSGVSPHGS
361 GILHTFYS QVQGVQVYV FPRFELLL GMLFQPIA PAVYVAIN SDQLKLTLS
421 LEVLKVSOG RCKLPFAGS GRFLHSFVAV GKFKQJAAF PSASHNPS TAATKVIAG
481 SVVDVNVVF MARSFNPK LNTAKELVIA QRDLSDIV TSPCFVMAE QAGVNYCL
541 QNVULVLE WTRFVYAGS IARLAKPI RVITFQQT RTTSLSDG ACRTFLPWS
601 YSKQTVTFP NSVAVPNAI IISTAVPGN ASVAVPMFO SPFLGSNPS QGVSPGSSG
661 NSSGVSVPF VSGSSGGVG VSNHMGAGS TAAVTVQAT VPEPEVGTN DPVAVPTAS
721 LYSFLNMRK LCYSLTVIS GVPVDSADV YVTLNNGVT HRPVRAVSV VSLGELLNR
781 VSGRAVRES MBEQDPVRR MLDRQNAL KYTCNATFG TVGNVGMPC LPTASITRI
841 GRMLNLETA FIKNFSEBC FLNFRFMDV VYVGTGDS EESALPFLK ETSQSGNER
901 RVEANVYD TSVVFRFG LTKGLVAVG POLANVVG LFPVFLVAF RRVFVLMFI
961 CKKRYGRVS GASLSMKGV DLYRKTACP VGVTVOLVS LFFEDRVSE AVRLSRLSL
1021 DEVKYGVPA GWRILARV QARDLYLVR VVNDIVLVS VLSKDISYA QNLPHAVFI
1081 KLAANRRL PSVGVVTVV LKRVVPTAP QSSNMGDSV TADVVSLSA IDTDDDLG
1141 GVEVSNRRS GEPAKRRAR PRFACNVEY AEDSVVRES GVTHADYF QNLIKAVTVV
1201 LSPVPGGCT AKRKFILMV RFLRLHLEA RFLSPVANE CC

```

```

KEYWORD: DNA (NC_001347 REGION: 77834..81562)
SEQ ID NO: 12
1 tcaacacgact cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
61 cgcgcgcgc cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
121 ggcgcgcgc cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
181 ggcgcgcgc cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
241 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
301 tcaacacgact cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
361 ggcgcgcgc cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
421 cgcgcgcgc cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
481 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
541 agacacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
601 ggcgcgcgc cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
661 ggcgcgcgc cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
721 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
781 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
841 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
901 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
961 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1021 ctcacacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1081 gctctctctc gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1141 gtcacacaaa cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1201 gtcacacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1261 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1321 gacgacgac cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1381 ctcacacgac cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1441 aagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1501 gtcacacgac cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1561 aggtgacgac gtcacacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1621 ctcacacgac gtcacacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1681 gtcacacgac gtcacacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
1741 actactgctta ctcacacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc

```

【 図 8 - 3 】

```

361 gacgtgctca actgtgtgtc ggaagaaacc aagtgaggcg gacgcgcgc cagcgtactc
421 acaactgctga ccaacacccc tagctggggc ggcgcgcgc cagcgtactc cagcgtactc
481 cgcgcgcgc cctgtggccc cctgtggccc cctgtggccc cctgtggccc cctgtggccc
541 ggcgcgcgc tttgaaacac ggcgcgcgc tttgaaacac ggcgcgcgc tttgaaacac
601 acaactgctga ccaacacccc tagctggggc ggcgcgcgc cagcgtactc cagcgtactc
661 gacgtgctca actgtgtgtc ggaagaaacc aagtgaggcg gacgcgcgc cagcgtactc
721 atactactgct gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
781 gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
841 gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
901 gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
961 gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1021 atagacacac tttgaaacac ggcgcgcgc tttgaaacac ggcgcgcgc tttgaaacac
1081 atactactgct gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1141 gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1201 atagacacac tttgaaacac ggcgcgcgc tttgaaacac ggcgcgcgc tttgaaacac
1261 aagcgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1321 atactactgct gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1381 cgtgtgacac tttgaaacac ggcgcgcgc tttgaaacac ggcgcgcgc tttgaaacac
1441 gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1501 gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1561 ttgtgacgac aagacacccc tagctggggc ggcgcgcgc cagcgtactc cagcgtactc
1621 gtcacacgac cagtcacgac aagacacccc tagctggggc ggcgcgcgc cagcgtactc
1681 gtcacacgac cagtcacgac aagacacccc tagctggggc ggcgcgcgc cagcgtactc
1741 acaacacgac cagtcacgac aagacacccc tagctggggc ggcgcgcgc cagcgtactc
1801 gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1861 acaactgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1921 gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1981 acaactgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga

```

```

SEQ ID NO: 13
KEYWORD: HCV UL53
PROTEIN
1 MNSVGVVTP RRRSALSL LRKRQRRLA SRVASTVGA TSANNHGF SPADAPRIT
61 LHLIDITFE IPELSLYTN MMRMAITGR SICLPNPHS RRGPTCLDIS FYNGQVSR
121 ACTSRDRI LPTASDMAV FIVQTNIM MNPVTVCK SKILLKSTV QFFPQTYL
181 LEANNDIVP FMHARDRLH MVRIFENPV HPCDCQTM LTAAREDSV TNNIVRVHV
241 ISVLCHAVA SVKIVDTVL OKRDEMID NVDSERYFR RELIQELQS SGNLVREAF
301 SETALRPT ASRLAVSTN CGPSSSSQS TFFLEFPFQ ATVPHYSHV QPQSQHHR
361 PQSPFPLTL NSTRAP

```

```

KEYWORD: DNA (NC_001347 REGION: 76726..77856)
SEQ ID NO: 10
1 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
61 ctcacacgac ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
121 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
181 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
241 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
301 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
361 gtcacacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
421 ttcacacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
481 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
541 ctcacacgac ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
601 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
661 ctcacacgac ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
721 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
781 ctcacacgac ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
841 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
901 gtcacacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
961 gtcacacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc

```

【 図 8 - 5 】

```

1801 ggcgcgcgc atctgaaaca tgcgcgcgc agaacacgac ggcgcgcgc cagcgtactc
1861 agacgactga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga gacgtgctga
1921 ttgtgacgac tttgtgggca ggaataaacc ggcgcgcgc cagcgtactc cagcgtactc
1981 atgtctaaagc atctgtgtc cgtacacgac ggcgcgcgc aagcgtactc gacgtgctga
2041 cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
2101 ggcgcgcgc agacacgac ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
2161 aagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
2221 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
2281 acaacacgac cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
2341 ggcgcgcgc aagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
2401 aagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
2461 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
2521 aagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
2581 aagcgtactc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
2641 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
2701 ttgtgacgac tttgtgggca ggaataaacc ggcgcgcgc cagcgtactc cagcgtactc
2761 atgtctaaagc atctgtgtc cgtacacgac ggcgcgcgc aagcgtactc gacgtgctga
2821 atgtctaaagc atctgtgtc cgtacacgac ggcgcgcgc aagcgtactc gacgtgctga
2881 atgtctaaagc atctgtgtc cgtacacgac ggcgcgcgc aagcgtactc gacgtgctga
2941 atgtctaaagc atctgtgtc cgtacacgac ggcgcgcgc aagcgtactc gacgtgctga
3001 atgtctaaagc atctgtgtc cgtacacgac ggcgcgcgc aagcgtactc gacgtgctga
3061 gacgtacttc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
3121 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
3181 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
3241 gtcacacgac cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
3301 gacgtacttc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
3361 atgtctaaagc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
3421 gtcacacgac cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
3481 ccaacacgac cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc cagcgtactc
3541 cagcgtactc tgaagcggcg ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc
3601 atgtctaaagc atctgtgtc cgtacacgac ggcgcgcgc aagcgtactc gacgtgctga
3661 atgtctaaagc atctgtgtc cgtacacgac ggcgcgcgc aagcgtactc gacgtgctga
3721 gaaacacgac

```

```

SEQ ID NO: 14
KEYWORD: HCV UL55 (db)
PROTEIN
1 MNSHICLVV CVMLICVLG AVSSSTSTH ATSSHNSH TSRTSNQTR SVYSQVTS
61 EAVSRNRET TMTIKVCG VGVNVTKYV RVKQVLFTR ASAYITTYT LLSSTETVA PMREIHHN
121 LSGIMVTVK RNVVATKRV RVKQVLFTR ASAYITTYT LLSSTETVA PMREIHHN
181 KPACQSNYS RVIGTVFVA YARDSTNKT NOLIPIDSN THSTNVTNK DWNBSGSTV
241 LKRTNMAC MLITITARK YPHITKATF GUVVIVSTF NPNRNVSV GENAKFTF
301 FNVITVSDG RPAAPFTHR LVAFLEADS VIMQDQSK NVTCOLVFE ASSTISEA
361 EDSHRSKAK MTFATLSKQ EVNMSDAL CVRQNLNGL QOIPISWIS TGVTVGVSV
421 FETSGLVVF MGTIKQVIL ELERLARS LATHRARS TSMTNTHL SMESHVAV
481 AGLQFTYOL RGTINRLAQ IARVQVDR RTVLEVRSL KINPAILLS TYNPILARP
541 MDVGLIAC VITNGSVKV LHMVRESF GCVSHPVVI PNFMSSVYV XQGLSDNEI
601 LHMVRESF QLPASIKTA GNSATVDFI LFMVRESF ISPVNVALI DIDLPLAF
661 RVLVLSQKE LRSNVDFLE EHMRESVK GRVYVDRV VDLPLPVKL LDMGLGAA
721 AGAVGVVIG AVGVASVSV KGVATFNK PAFITLVA IAVVITLYL YTRKRLCTQ
781 FLQMLFVIL SADGTVSSG SVKDTSLAR PVSSEVTS GRKGVSPSS DASTAPFET
841 MDVAVVILA LALDSARA QVNTQVLE QVNTQVLE QVNTQVLE QVNTQVLE
DEENV

```

```

KEYWORD: DNA (NC_001347 REGION: 81703..84423)
SEQ ID NO: 14
1 tcaacacgact cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
61 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
121 agactctgta cagtcacgac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc
181 cagtcacgac gacgactaac gacgactaac ggcgcgcgc ctcacgact cgcgcgcgc

```

【図 8 - 6】

```

241. tggatccggct cttttggagc cagaattata aacactttcc tggtagaagc gggagagctgt
301. tggagagctgt cttttggagc tggccagagc aacggtgttc cgttcggcgc acacagcata
361. tggagagagc tttttggagc gcttcggagc cagagcgccc tggctggatc agtcaataa
421. tggtagaagc actagagcga tggccagagc gctgagtggt aagctcgga aggggtttt
481. tggagagagc gcaagcgttc gggccagagc gggccagagc cccacacgcy ccccaattgc
541. tggccagagc cgtcttcggc gggccgccc gggccgagc gggccgagc gggccgagc
601. tggagagagc aggggtggc cttactgtgc cttactgtgc cttactgtgc cttactgtgc
661. tggatccggct cgtctgtgtc cttactgtgc cttactgtgc cttactgtgc cttactgtgc
721. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
781. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
841. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
901. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
961. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1021. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1081. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1141. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1201. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1261. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1321. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1381. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1441. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1501. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1561. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1621. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1681. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1741. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1801. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1861. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1921. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
1981. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2041. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2101. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2161. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2221. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2281. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2341. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2401. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2461. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2521. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2581. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2641. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct
2701. tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct tggatccggct

```

```

SEQ          HCV 1576
KEYWORD      PROTEIN
SEQ ID NO: 15
1      MBENLQKLC VVCSKNEYA MELKLYCKD INVLIAESTP FKNNAIAIV LYKRIYFV
61      AQRNIGSLA TLILALR LHEPFLALR LHEPFLALR LHEPFLALR LHEPFLALR
121      ELPTDINRV SVSLATNTI ENFLCMNVY YGLAPAGL EYKALIKLL RLICLISPA
181      RQFVIEGTT CAQCEBELT IINGRSLNK RLOGLIKNT AVHRFSQSD VNIOVBEDL
241      LDITRIHEH AOVLSAKSL FSSSSAHYS IQARZALR YNLFTDIFR IYSLIDFTY

```

【図 8 - 8】

```

421. YQPHLALVC GTCPLQVGF VYVILNRSVY NGLSGSSTL TWHVQVAG LKACGCGCC
481. HTVITLTVR VTRVTRVTRV TRVTRVTRV TRVTRVTRV TRVTRVTRV TRVTRVTRV
541. KGGDVGPOG AGGGGGRDYV GPGSDGLGG GGGGGGGGGG GGGGGGGGML GAVDRTYRL
601. NLLIDYGRM RLIDPVTGG TSFANKSGD VAVFSLAKL VODALGTVS EYKLSKSSBE
661. VAGNTOATL DNVNVAVAL PLYAYVRSV FVYVQVWL TRASTYVEN PLTNVLKSW
721. MTQFQSIQS ARSTSSRSK RPTKQIKRS KNSDRDLLO FLRYAQTYA VFPMIKIKSR
781. LKCLPWLNV VNNIRIVYR KNGAGGFFR RNVHVRNPA KGLGELTLR HBHLPFGCG
841. LKCLPWLNV VNNIRIVYR KNGAGGFFR RNVHVRNPA KGLGELTLR HBHLPFGCG
901. KFNKELTYL GKVYIGSLR GLTRILTON IADFFVLRV SRFSRSLR LKCLPWLNV
961. GYVAPKATV ARSLIVRSV ERSLSVTVV SVKRYIKSN SKEIVSGLV LYSAGNGVR
1021. SLVSVSSSGD DRPDRVRLV LKPLADVLV KSRNRVYCE DADLLSRVM GADLAKNLC
1081. DPVNAVYEL LVSRBPASV DNVPTVDC PALANSLNV PABVQGVRS DFLNLSRV
1141. LDADQRLTO AGRVSRVLS ALFAPSGVA ASOVGGSLG LGSVAGNSI CPGVPGTGG
1201. GCVLVNAGD EAGGVGGSG GGGGGGLLRA KSRLL

```

```

KEYWORD      DNA (NC_001347 REGION: 87505..91212)
SEQ ID NO: 18

```

```

1      ttacaaacgg cgtcgttgg cggcaataa cccgtgccc cccgcggccc cgtcgtccc
61      gcccggcggc cggcgtcgtc tttcggcgc gttcaagga aagagagcac cccgcgtccc
121      gcccggcggc cggcaataa tggcgttgg cgtcgtcgc tggcggcggc aagagcggc
181      cccgtcccgc cggcgtcgtc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
241      cccgtcccgc cggcgtcgtc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
301      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
361      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
421      cttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
481      cttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
541      cttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
601      cttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
661      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
721      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
781      taccacggat taccacggat taccacggat taccacggat taccacggat taccacggat
841      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
901      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
961      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1021      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1081      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1141      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1201      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1261      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1321      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1381      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1441      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1501      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1561      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1621      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1681      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1741      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1801      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1861      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1921      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
1981      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
2041      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
2101      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
2161      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
2221      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
2281      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
2341      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
2401      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
2461      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
2521      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc
2581      gttcgtcgc aagagcggc cgtcgtcgc cgtcgtcgc aagagcggc aagagcggc

```

【図 8 - 7】

```

661. CAGETVYSE MNVVKYNGFF NFSQDQOLAV LQKXNMHVR ELVLSVALN ETKGSLRIA
721. CLADEIMPR DVILYIKRW PLLHRSGLK YKSKDLYLL YHLISRPDS GDVTPYPAK
781. FSTLDAARV SGVFRKPRP WLSPFPSSS ZNGVARRVA TRKRFRAS LLLDLARNG
841. IQGVVPSLR

```

```

KEYWORD      DNA (NC_001347 REGION: 84386..86938)
SEQ ID NO: 16

```

```

1      ttacaaacgg cttacagcca cagatctctc gattctcgtc tctcgtcggc ccaaatccgc
61      cagcgtcgtc cgtcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
121      agtcagggag gaggagagc gaggagagc gaggagagc gaggagagc gaggagagc
181      gggagagcgc cggcgtcgtc cggcgtcgtc cggcgtcgtc cggcgtcgtc cggcgtcgtc
241      gggagagcgc cggcgtcgtc cggcgtcgtc cggcgtcgtc cggcgtcgtc cggcgtcgtc
301      aaaaagagc cttcgtcgtc gggagagcgc gggagagcgc gggagagcgc gggagagcgc
361      atctcgtcgc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
421      tttcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
481      cagcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
541      cactcgtcgc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
601      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
661      atctcgtcgc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
721      cggagagcgc tccagagcca gactcgtcgtc gactcgtcgtc gactcgtcgtc gactcgtcgtc
781      atctcgtcgc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
841      gttcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
901      gactcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
961      atctcgtcgc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1021      gactcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1081      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1141      atctcgtcgc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1201      atctcgtcgc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1261      cgtcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1321      cggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1381      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1441      gactcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1501      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1561      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1621      cggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1681      tctcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1741      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1801      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1861      atctcgtcgc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1921      cggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
1981      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
2041      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
2101      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
2161      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
2221      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
2281      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
2341      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
2401      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
2461      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc
2521      gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc gggcgtcgtc

```

```

SEQ          HCV UL57
KEYWORD      PROTEIN
SEQ ID NO: 17

```

```

1      NGBEELTALA FVGFPAFLYF SRINAETQST IATLSLDRS SVVITAPLLA GLTVEADFEV
61      SVRPFVCLD GYLVIVRVS CPALITVHTF GGVIVATHEM GVHILICRER RGVHILICRER
121      PAVRIVFTGL RALZANVCO ASSTVIVYV GGLIVCTVRA TVHILICRER
181      VVRLVFTGL RALZANVCO ASSTVIVYV GGLIVCTVRA TVHILICRER
241      SEVPLVLEAA LRKVHUSQV SVLAPLHFR LQVHUSQV LQVHUSQV LQVHUSQV
301      AVTIVCTVRA RALZANVCO ASSTVIVYV GGLIVCTVRA TVHILICRER
361      HRLVYQSSA RHPASAGTAS QETLKAQF TNGLSNACED VINDARVILV RGVHILICRER

```

【図 8 - 9】

```

2641. gggatagagc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
2701. aagcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
2761. gggatagagc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
2821. aagcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
2881. gttcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
2941. gttcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3001. gttcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3061. cttcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3121. aagcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3181. gttcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3241. cttcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3301. cttcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3361. aagcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3421. aagcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3481. cttcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3541. cttcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3601. aagcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
3661. aagcgtcgtc cttacagcca aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc

```

```

SEQ          HCV UL70
KEYWORD      PROTEIN
SEQ ID NO: 19

```

```

1      HTVITLTVR VTRVTRVTRV TRVTRVTRV TRVTRVTRV TRVTRVTRV TRVTRVTRV
61      FAVNNTQLR RYLAARQPI FLASLIASLO EAEYVLSPE HGVHVRNPA
121      LVYERHVAL RHLNVLCPV TRSFVLSVF GTRGVLLIT MAYLVQYGV STPLVSEV
181      RRTVTOLEI ITPHARMSO FARLALGSP RGVHVALVAV AVARARVDTI ELGVDTQIN
241      AFREARLEI TVCVHYVLA YATLALRRL LEYRVRVAD ADARFAECT RSGVLRRLR
301      STELLDPMK VSLDNFLRD VYVTHILRL ESPPHARSF GLIAGYGVG IODTHLAGEF
361      GTSVLQALR RYVLSLSEV FHLERLSE LALCALASAT ACTVTRILL RGVHILICR
421      SPALAPLER PLPVYRVLV NDQVFCVAV SEVHRSLEP RLLHLYRVS RFEALATEZ
481      VMLIDDDVAS TSPTQYFYT RIEVFNRLR RIEVFNRLR RIEVFNRLR RIEVFNRLR
541      LARVNVTVR SLVTHYRPR HPIVFTKSG FNSVYVDA GAFFDDYL DRDRRTEP
601      DEKDEKXNN VPDVYQVKT TSVYVFTPT CCKKSLGLA ITPHACTV AVHVRNPA
661      AOVNHNVAL DABLTLLEI ISEHSELDI GTYHRSVRS LFPMYVMDO DQYHNRLL
721      PLVFTVTRV EPLGVVQVQ LRLNLHLRH PHILLALPL SPFVYVLSV ROKTCTPDA
781      NFIESTRSLV YTRKRLGLE VLAVYVTDG GATAAISOT DQRLYRVS VPELLETD
841      HVEHVSSEV TAPVLLVLP GACCAVVRK RGDARTRPR CIATVIRNPQ ETVQVFTDR
901      TSHVYALAS LWSRCEPKK HSNANVRLR ILKAPFVPR FPAVAT

```

```

KEYWORD      DNA (NC_001347 REGION: 101464..104304)
SEQ ID NO: 20

```

```

1      ttacaaacgg gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
61      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
121      aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
181      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
241      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
301      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
361      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
421      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
481      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
541      aagcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
601      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
661      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
721      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
781      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
841      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
901      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
961      gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc
1021. atctcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc gttcgtcgtc

```

【 図 8 - 1 1 】

[illegible]

KEYWORD DNA (NC_001347 REGION: 111838..113766)
SEQ ID NO: 24

[illegible]

【 図 8 - 1 3 】

1201	agacogctaa	gcggcggtta	cgggtgttt	tgcgctgta	ggagcgtgt	actgtacga
1202	tcagatcgtac	cggtgtgttc	ggcgacgaag	acagcgtgt	ctccacgcg	gtccgcacag
1203	tcagagcggt	gcggcggttc	ggcgacgaag	acagcgtgt	ctccacgcg	gtccgcacag
1381	catcagctga	ttatctctgc	ttccatcagc	gtgcgtaagc	ggagagctgt	gtccaaacaa
1441	tgtaacgcgc	gctgtgcagc	ggagagaagc	gagagagagc	agacgtgcg	atcggggagc
1501	acgcacgcga	cgcgcgcatt	tgcctctatc	ggcgacgcg	tgccgcgcg	ctatcagcgc
1502	tcagacgcgt	gcggcggttc	ggcgacgaag	ggcgacgcg	tgccgcgcg	ctatcagcgc
1621	ggcgacgcgt	attttgcac	gtgcacggcg	gtgcacgcg	acgcacgcg	ctgtcaacgt
1681	tcacacgcga	acgcgcgtat	catcatcgag	gtgtgcctct	gtccacgcg	cgcgcgttat
1682	tcacacgcga	acgcgcgtat	catcatcgag	gtgtgcctct	gtccacgcg	cgcgcgttat
1801	caacacctta	agcgccgcg	ctgcacgcg	agcactttc	ttttccacg	cgcgcgttat
1861	ctcaacgcgc	tcacgcgtaa	tattcgcgt	ttttccacg	agttttcgc	ctgcgcggc
1921	gtatcagctc	tcagacgtta	tattcgcgt	ctccacgcg	cgcgcgtgt	gtccgcacgc
2001	ttctctctgc	ttctctctgc	ttctctctgc	ttctctctgc	cgcgcgtgt	gtccgcacgc
2041	aagctgtact	ggcacacaa	ctccatgcg	algcattgc	atactacaa	ctgcacagct
2101	ggcgacgtta	agacgcgtta	ggcgacgtta	cgcgcgtctc	ggcgcgcgca	ctgcagaagc
2102	ttctctctgc	ttctctctgc	ttctctctgc	ttctctctgc	ttctctctgc	ttctctctgc
2221	ctgcagcgtt	ttttccacg	actcagcgt	cgmacctgt	acgcacgtcc	ctctctgcg
2281	aagcagatgt	tctgtgttt	cgctgtgtc	ctgcacaa	tgacgcgtc	agagaagac
2311	ctgcagcgtt	acgcgcgtta	atttcagcg	gcacagggg	gtctttctta	ctgcacgaag
2312	ctgcagcgtt	acgcgcgtta	atttcagcg	gcacagggg	gtctttctta	ctgcacgaag
2461	acaacacgc	cgcagctgt	gcgcgcgaac	aaaaaacat	attgttcac	ctctggcgcc
2521	acgcacgcgt	tgtgcagcgt	gtgtgcgcg	ctgcgaagc	acaaatcgc	tgcgcgcgcg
2522	acgcacgcgt	tgtgcagcgt	gtgtgcgcg	ctgcgaagc	acaaatcgc	tgcgcgcgcg
2641	gcgcacgcgt	tcacacgcgt	gtgtttgtc	ttgtctgtc	ctgcacgcg	caactcgcgt
2701	ctgtgtttct	ccccctccc	atgtgtgtc	ttcctattt	ctctcctgc	ttctgtccca
2761	acccctctga	gctgtgcagc	catcttcgaa	ccccctcgc	cgcacgcgcg	gttttcgaca

[illegible]

KEYWORD DNA (NC_001347 REGION: 133394..139320)
SEQ ID NO: 30

1	cgtgcgtgc	cgtgcagcga	cggtgcgtat	acgtgcacac	aggtagagcg	ccatgatgac
61	cggtgcgtgc	aggtgcgtgc	acgtgcgtat	cggtgcgtgc	cggtgcgtgc	cggtgcgtgc
121	cgtgcgtgcg	acgtgcgtgc	cggtgcgtat	cggtgcgtgc	ccacagagct	acotgatgag
181	cggtgcgtgc	actgcgtgat	btgtgcagac	gagcgtctgc	gagcgtctgc	ttgtgcacga
241	cggtgcgtgc	gagcgtgatg	gttcgcgcgc	gagcgtctgc	ccgtgcgcgc	ttgtgcagaa
301	cggtgcgtgc	gagcgtgatg	gttcgcgcgc	gagcgtctgc	ccgtgcgcgc	ttgtgcagaa
361	cggtgcgtgc	ctgtgtgcga	ttgtgcagag	gatgcgcgc	cggtgcgcgc	gtgtgtgtgc
421	cggtgcgtgc	gggtgcgcgc	gtttgcgtgc	gtaagtcgtc	aggtgcgcgc	ccagatgatg
481	cggtgcgtgc	gggtgcgcgc	cggtgcgtgc	gtaagtcgtc	aggtgcgcgc	ccagatgatg
541	gaaatgcgt	gggcgcacac	cggtgcgtgc	gtaagtcgtc	aggtgcgcgc	ccagatgatg

【 図 8 - 1 4 】

```

601. cgtgcgcgcgc gcttcggcgtt tgggtgtgaa ggcgcgcgcgc agatcaacgt aaagcgtctt
661. ggcgaataaa tctgtagcgt tgggtgtgaa ggcgcgcgcgc agatcaacgt aaagcgtctt
662. ggcgcgcgcgc tctgtagcgt tgggtgtgaa ggcgcgcgcgc agatcaacgt aaagcgtctt
781. cgtgcgcgcgc tctgtagcgt tgggtgtgaa ggcgcgcgcgc agatcaacgt aaagcgtctt
841. gctgtagcgc gttggtgtgt gtagcgtgta gcaagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
901. cgtgtagcgc gttggtgtgt cttgcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
961. ggcgcgcgcgc gttggtgtgt gtagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1021. gtagcgcgcgc tttggtgtgt tctggtgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1081. cttgtagcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1141. tttgtagcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1201. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1261. tttgtagcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1321. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1381. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1441. cttgtagcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1501. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1561. cttgtagcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1621. tctgcgcgcgc tctgcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1681. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1741. cttgtagcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1801. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1861. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1921. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
1981. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2041. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2101. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2161. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2221. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2281. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2341. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2401. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2461. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2521. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2581. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2641. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2701. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2761. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2821. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2881. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
2941. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3001. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3061. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3121. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3181. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3241. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3301. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3361. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3421. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3481. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3541. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3601. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3661. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3721. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3781. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3841. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3901. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
3961. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
4021. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
4081. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
4141. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
4201. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc
4261. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgc gcgcgcgcgc gcgcgcgcgc

```

【 図 8 - 1 5 】

```

4321. tgggtgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc tgggtgcgcgc tgggtgcgcgc aaagcgcgcgc
4381. cttgtagcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc cttgtagcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
4441. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
4501. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
4561. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
4621. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
4681. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
4741. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
4801. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
4861. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
4921. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
4981. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5041. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5101. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5161. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5221. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5281. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5341. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5401. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5461. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5521. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5581. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5641. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5701. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5761. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5821. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc
5881. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc gtagcgcgc gtagcgcgcgc aaagcgcgcgc

```

```

SEQ HCV UL2
KEYWORD PROTEIN
SEQ ID NO: 31
1 NC045840 NC045840 NC045840 NC045840 NC045840 NC045840 NC045840 NC045840
61 VYALYFVAR SHLLPPIEA ALDDVHISA VLGVSYSTM THACRYADY GGVGRVRLK
121 KQVDSLYIT FNVKPSHNM VNRISVFPVLS QLFQLIIGI YKQKRYDCA VIKVSRKRN
181 DALLQWRE VYALYFVAR V
KEYWORD DNA (NC_001347 REGION: 135071..135676)
SEQ ID NO: 32

```

```

1 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
61 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
121 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
181 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
241 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
301 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
361 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
421 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
481 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
541 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
601 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc

```

```

SEQ HCV UL5
KEYWORD PROTEIN
SEQ ID NO: 33
1 SASGDESS ASPSPVSS STAYERSA ACVSTELCV ERWFLSAS SHAFPSVS
61 WFEFAVMA LVACAVSPV DRFLIEDT ENFLIVNVI PRESAEVPT NSSSGDAG
121 PDKKRVGN RVKRNKGV SARKRKRNR APKNDATPS FRIHIVHLE PAAKAPLPS
181 LCVYDILN RVKRVNDSI VYVSTELCV ERWFLSAS SHAFPSVS
241 HNVCDLAL NLYVCPSPV CARDPCGR NGCPFPALL PHLEFVPRV YTMNMLAL
301 YVYVVRGE FPAPTPQAT AGGGGSGSG GAGGACVET SASRAGVDA GDEHVLKLP
361

```

【 図 8 - 1 6 】

```

421. VBLDRLAEV QAVKRFGRS EVFPAVSSS TOLCALYSO NRCLDRLAO EARYVSTSI
481. VTQDAARVT DVLTSRLIG QSTVSLFPV HVKGLDRLS LNDGLITAN L
KEYWORD DNA (NC_001347 REGION: 139319..140914)
SEQ ID NO: 34
1 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
61 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
121 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
181 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
241 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
301 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
361 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
421 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
481 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
541 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
601 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
661 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
721 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
781 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
841 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
901 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
961 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1021 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1081 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1141 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1201 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1261 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1321 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1381 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1441 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1501 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1561 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1621 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1681 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1741 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc

```

```

SEQ HCV UL9
KEYWORD PROTEIN
SEQ ID NO: 35
1 MKGVSSLDY DDEILFRLA VMDDEPLSL DMFTFLRGE GFNLFPFVL RLSYAYRFA
61 RMLRANGVT AEDMTFVVA LKRLDGLDI LQRLHAKAS RARIRAKER VAKRCDHRG
121 GEDVYVSL LILARVNO VELPFLRGE SRGKRVNV HILKRVTVS TVYVAVVGS
181 CLGAAADAO SGGSSEHYTG SRAGSPVIG FOIRIEGLVX TLVECVNMGH RVPVDRGLG
241 LIDFSLGLA ASHGLGCVL RQSGSKTLV EPCARVYKX CRYKRLKRE DPFVQVNLK
301 IDARVSLQ QSHVYVPRV RGRRTFPRK EYLLSDRAL FRALIKRAR LKQVPLRKY
361 LADLLYKNA ECVSIVFDR KILSDNDSG DATTINSL GLADGDAGS GADHILKPS
421 GDSFPFVPE DMFTFELLR INYVVRKRS LAFVPRVRO YFQVQLIQY VLSYVYKXK
481 PDRVSLRI LTVYVSLR FRMRSEKIC CILLAGRVF SCURILPILI VLPVVFQPV
541 TRAVSTVLD RWSRLSRIT NLPVFPVSA NYKVVSVR VPSV
KEYWORD: DNA (NC_001347 REGION: 143632..145386)
SEQ ID NO: 36
1 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
61 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
121 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
181 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
241 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
301 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
361 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
421 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
481 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
541 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc

```

【 図 8 - 1 7 】

```

421. gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
481. ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
541. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
601. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
661. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
721. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
781. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
841. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
901. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
961. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1021. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1081. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1141. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1201. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1261. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1321. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1381. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1441. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1501. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1561. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1621. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1681. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1741. gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc

```

```

SEQ HCV UL100
KEYWORD PROTEIN
SEQ ID NO: 37
1 MAFSVHVRN TRVNSASIV MLTVFNVSF HVLNSFPHL GPVCFYVHV OFERLMSAY
61 RVNHLFPHL FLSVHLYVC AVFVGLVLA VYVLYVNI KIMSRKGN SLNQTNDIS
121 YMGSLTAE FILMSTPFL FILMSTRFL SMIAFRAVH FCLILNVN MYTVYSYR
181 SLFFSLRFL KLQTVQPTL LVLNVLEH GENTVYVMA LCTGFQNNF VGRHVLAV
241 FYVYVLSII VYVLYVNI QYVYVQPTL LQVFLGLGL YFVYVYVY LBNVYVYIS
301 WSGMLFFIV AMFTTCRAV YFRGSGSGV KYQALATASG REVALVSHD SLERLRLRE
361 EDDDDDDPDS DA
KEYWORD: DNA (NC_001347 REGION: 146157..147275)
SEQ ID NO: 38

```

```

1 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
61 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
121 ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
181 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
241 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
301 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
361 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
421 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
481 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
541 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
601 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
661 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
721 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
781 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
841 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
901 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
961 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1021 atgtgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc
1081 gtagcgcgcgc ctagcgcgcgc ctagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc gtagcgcgcgc

```

```

SEQ HCV UL102

```

【 図 8 - 18 】

KEYWORD PROTEIN
SEQ ID NO: 39

1 MYAOPLEHRH RHPITLPGTS CHLSVGLLE ASVIVQCILF LDLSGGRAEP RLHTFVVRGD
61 RLPPARAVAV HRASVAAAS AVTADADNR RLGLGRRAVL ARVLLESLAL IRLVARTFTF
121 VQIQTADAGV ELILASAPAG VETALSHAL SLFVAVKLVV TQSYFVEHVP RVVHTHARV
181 SRVYTHAKH KLRGTYATO LAMHVRVTH KYLAEKIDNA VLADLVPTRE VGLATYCTIL
241 VTFPGVAVA VTGHOQCLLL QSATWHLIVD LFRGAGQDFF LRDVIGDPLF ETGAASRFFF
301 GPPFPVPPYA VIGLHTIMEE TALDAARVL SWGLFDIWP SACKLEVEVC ALSUGVERDE
361 NVYFVTEAG GVNLKATAF RHRFAGGHR WLLFVLRPD GDSRNVVTE SSTGAAHPP
421 SDDATFFVHV RDLATLRLVI VDLVRLVAK CYRADDFNYF VVYSHRLTY AVCEKFEHL
481 RPSRARAPWQ TQSLGVISE HVTSACASAP LAMVLSRGRH EPVYVDGYSV RGVPSAVVCV
541 RYVVCVSRK LFGSDGPHF CRVGSBQV LLWDSRRLV PFTPTFRNG GAGGSPHGV
601 VGGFAGRGHC GACACGCVTT HRSSGGGGG GYGDADHAGS GGLDAAAGSS HNGSDRVP
661 STPPAALGGC CCANGSDWLS AVHRVLGRH ALLARVSVVS ELAVYREIL FPFVARNVD
721 DFVLLRQDPA RNEVFRAGH IDCARFQHW ASQGLVLOS KDTALADIG YGVYVYKAFI
781 MLTACVFWNA RLSSRSYAS TTACISDVL SALVSVSVA GSCATVTFP XCSYSSATKL
841 BERDEWVSL AVDAQAARR VASGLRPFH LMA

KEYWORD DNA (NC_001347 REGION: 147453..150074)
SEQ ID NO: 40

1 atgcacgctc agccgcgctt gccacacgcg caccacccgtt acacccgttt cgggacagcc
61 tgcacatcca gctgtatagg cctttatagg gctcgtgtgc ctatcgacaa atgttgttt
121 tctgactctg gtggcgccgc tgcgcagcgc cgggtccatca cgttgttgtt gggcggtgaa
181 cgtcacgcgc cgggtgtgtg cgtgtgtgtg catcgccgca gctacgctgc cctgtgtgtg
241 gctgtgacta cggacgcgca tgcgctgtgc cgggtcctag agcagctgtg cgcgtgtgtg
301 cgcgcgtgtg tgcataagag cagcgcgtta atccgcgtgt tgcgcgcgc atccacagcc
361 atgcacgctc agcgcgcgc tgcgtgtgtg gactgtttag agcgcgcgc gactcgtgtg
421 gtggasacgc cagcgtgtgc gacgcgcgtt agctctttcc acgtacgaca gctagtgtg
481 atcgcgtgtt atccgaagt cgcacgcgcg cgtgtgtgtc cgtacacgc ggcacgcgtc
541 tgcgaagagt atgcacgca cgcgcacaaa aaatctgtgc cgtgtgtcgc cgcctagat
601 tctgcacatg cgttgtctt cgcacttccc aaatctgtgc tgcgcgcgc cgcgcgcgc
661 gctcgtgcac gctctcttga gttgcgcgcg gttgtgtctt tgcgcacgc tctgtgtgtg
721 tgcacgcgtc tctgttgtt ggcgtgtgca gtgcgcagcg acagctgtgt tttatgtctg
781 cgttgtgtgt gctcactcct ttcacgcgtg cttttcgtgt ttttgtgtgt gtcgcgcgcg
841 ctacgcgact acctgtggcc gactcctttt gtagcgcgtg cgcgcgttgc tttctttttt
901 cccggttttc cgcgcgttgc cgtctacgcg tgcacgcgtc tgcacgcgtt atctgcagcg
961 acgcgtgtgt acgcgcgcgc tgcgtgtgtc tctgtgtgtg tctgtgtgtg cactgtgtgc
1021 tgcgcgcgca agctgtgagt ggaacccgtt ggcgtctgtc tgcgtgtgtc cgcgcgtgag
1081 tgcgcgcgtt tgcgcgcgca ggcgcgcgcg gtcgcgcgtg gtcgcgcgtc acgcgcgttt
1141 cgcgcgcgca cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgtg cgcgcgcgtc acgcgcgtg
1201 ggcgcgcgtt ggaacccgtt cgcgcgcgcg cgcgcgcgtg cgcgcgcgtc acgcgcgtt
1261 agcgcgcgag cactcttccc cgtgcacgtc cgcgcgcgca cgcgcgcgtt agtgcctaac
1321 tctgttgttg tgcgcgcgca cgtgtgtgtg cgcgcgcgtt cgcgcgcgtc acgcgcgtt
1381 tctgtgtata gtcacgcgtc ccaactctat ggcgttgtttt aaagctgtgt cgcgcgcgtt
1441 cgttgttgtt cgcgcgcgcg tctgtgtgtg atccagctgt tctgtgtgta cactctgcag
1501 caagttaagt cgcgcgcgcg cactgtgtgt cactgtgtgt tctgtgtgtg cgcgcgcgcg
1561 gacttgtatg tctacgcgcg ctatgttgtt caccacgctg tctgcgcgcg autgtgtgtg
1621 cgcgcgtgtg tgcgcgtgta tctgtgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1681 tctgttgttg aagcgcgcgc cgcgcgcgcg cgtgtgtgtt ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1741 gctccttctg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1801 gctgtgttgt tgcgcgcgcg aaactcgcgt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1861 cgcgcgcgtt atgcgcgcgc cgtgtgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1921 ggcgcgcgtt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1981 tccacgcgtt cgcgcgcgtt aggttgtgtt tctgtgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
2041 ggcgcgcgtt atgttgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2101 ggcgcgcgtt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
2161 gacttgttgt tactgtgtt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
2221 atgttgttgt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
2281 cgcgcgcgtt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
2341 atgttgttgt cgtgtgtgtg gctgtgtgtg cgcgcgcgcg tgcgcgcgcg cgcgcgcgcg

【 図 8 - 19 】

2401 accacccgctt gttctttctt ttcctgtctt tccctgcctt tgcctgtctt cacttgtctt
2461 tctctgtgga cggcgagcgt gctctctctt tctgtgtctt ctttgtgtctt gacttgtctt
2521 gggcgagcgc acgctgtgtt gctgtgtgtt gctgtgtgtt cgtgtgtgtt gctgtgtgtt
2581 gttgtgtgtt aggtgtgtt gtttttgtt cttacgctt aa

SEQ ID NO: 41

1 RCHV UL104
KEYWORD PROTEIN
SEQ ID NO: 41

1 MRHNRHNSKS SGAKRSRRRD LTSTIKSIL ADERILRTIA SSYLVGRCV DDAVIDIIP
61 TQTNLSLIL LRGTFVQSR QNRLGVRQ CVLRLGVR VCTETTYIT VARVAEWEL
121 HAALFYRAL DEEDLEQVIL VMSASLQSV QTVGLAGLRD ILVYADND ILVYDNCVT
181 VOLVPLLDVX TRPSEARARA QPVRANVRA TETHPLAQDL IQANLALLQ VGLVAVAV
241 ANRANRVTK RVSRSELEAG LAGRTILTY ANPLATARD KLPTFTVAV LARLILAVD
301 LCRNQICQL LMTFFVKVT ASRIELNCKX LYEMHQHQR GSDAKSLMK FLIMVSDIS
361 RIGEDSVES FLQDLTSLV QNRLPARG PGGGVVGGG GAVGVGAGH VGLLEPPGP
421 ALPFDRLRL FRNCVLRKLS RQISQVDEI QDLATLQWV RNRVRLRD LRTYASRRD
481 RSLGALDA LTLPLTAVY RKRRLPFR FLAVENRILV ANSFVSVY QTESLREIV
541 QLWENYFRT FLRLRLVTH GAEALVYSV YTSRVTLTY LCHLALCTL DPEVRLTGL
601 SFGVLVAAV DSKFVRYVE LICSREKAR RQMSRGAAG VPERGASSG GPTLERSAP
661 RULTADEX RSEFVWGR NGCPDPRRA GPFGR

KEYWORD DNA (NC_001347 REGION: 150936..153029)
SEQ ID NO: 42

1 ctactgaaat cgtatagac ctcgcgcgcg cgcgcgcgcg tgcgcgcgcg cacttgtgaa
61 tgcgcgcgca cgtctgtgc cgcgcgcgcg cgtctgtgc cgtctgtgc cgtctgtgc
121 gactcttcca atgttctctg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg cacttgtg gactctgaa
181 cgcgcgcgcg cgtctctctt ggcgcgcgcg cgtctctctt cgtctctctt cgtctctctt
241 gctgtgcgaa aacttgtctg cgtctgtgc ggcgcgcgcg cctctgtgc aggcagctg
301 cagctgtgac cgtgtgtg gttctgtg gctctgtg cgcgcgcgcg agactgtg acagatgag
361 cagctgtgac cgtctgtg gttctgtg gctctgtg gctctgtg cgtctgtg cacttgtg
421 cgtctgtgac cgtctgtg ggcgcgcgcg gactgtgac gactgtgac gactgtgac
481 gactgtgac cgtctgtg ggcgcgcgcg gactgtgac gactgtgac gactgtgac
541 gactgtgac cgtctgtg ggcgcgcgcg gactgtgac gactgtgac gactgtgac
601 cctctgtgac cgtctgtg gactgtgac gactgtgac gactgtgac gactgtgac
661 gactgtgac cgtctgtg gactgtgac gactgtgac gactgtgac gactgtgac
721 cgtgtgtgac gctgcgcgcg cgtgtgtgac cgtgtgtgac gactgtgac gactgtgac
781 gactgtgac cgtctgtg gactgtgac gactgtgac gactgtgac gactgtgac
841 gactgtgac gactgtgac gactgtgac gactgtgac gactgtgac gactgtgac
901 tccacccgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
961 tccacccgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1021 gctgtgcgag acgttaagca aaactctat aactgtgac cactgtgac cgcgcgcgcg
1081 gctgtgcgag acgttaagca aaactctat aactgtgac cactgtgac cgcgcgcgcg
1141 cactgtgac acgttaagca aaactctat aactgtgac cactgtgac cgcgcgcgcg
1201 gctgtgcgag acgttaagca aaactctat aactgtgac cactgtgac cgcgcgcgcg
1261 cctactgacg agcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1321 cctactgacg agcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1381 cgcgcgcgcg agcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1441 cgcgcgcgcg gctgtgtgtt cgtgtgtgtt gctgtgtgtt gctgtgtgtt gctgtgtgtt
1501 cgcgcgcgcg gctgtgtgtt cgtgtgtgtt gctgtgtgtt gctgtgtgtt gctgtgtgtt
1561 gacttgtatg tctacgcgcg ctatgttgtt caccacgctg tctgcgcgcg autgtgtgtg
1621 cgcgcgtgtg tgcgcgtgta tctgtgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1681 tctgttgttg aagcgcgcgc cgcgcgcgcg cgtgtgtgtt ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1741 gctccttctg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1801 gctgtgttgt tgcgcgcgcg aaactcgcgt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1861 cgcgcgcgtt atgcgcgcgc cgtgtgtgtt ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1921 ggcgcgcgtt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
1981 tccacgcgtt cgcgcgcgtt aggttgtgtt tctgtgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
2041 ggcgcgcgtt atgttgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2101 ggcgcgcgtt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
2161 gacttgttgt tactgtgtt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
2221 atgttgttgt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
2281 cgcgcgcgtt cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
2341 atgttgttgt cgtgtgtgtg gctgtgtgtg cgcgcgcgcg tgcgcgcgcg cgcgcgcgcg

SEQ ID NO: 43

【 図 8 - 20 】

KEYWORD PROTEIN
SEQ ID NO: 43

1 MSMTASSTB RPTKYDHAL IMLLSRANKI RIVRYKPKL SRNRPAPDF SPWFRAISR
61 VERTYDNRB ATRATATAT VHSASSSA AASRSGCT RPYCVWRFT FFRALLTV
121 TAGACTSSTI QVLAANDCV ITGTVIARQ NLSALIRTR BAQVKTIVRV PGVSKNVL
181 ADSANSHETI RYVCEPNEE TITKIRGLN DGLAVPVIA DIVYDCLANW RKRKASASA
241 AARAKCDELS ELCSNIIYI DECOLMANV LGVVFVTHI FRALGOTLIL RRRVFCILC
301 VGSPTQTEAL ESRVDHYTN KSVKGVDLV SALLQNEVLI NYCDIANMV NFRHWCZD
361 LDFGOLIKYI EFGILKEER VAYVDFRVR PSSIRNPSYA RMTLRLFLSH VEQVAFKRL
421 HEGIALSRFA RLPLRVPCY VNMRKQIC ELADLGDSR QPVELFWRN LARILNOSP
481 VQNLSSSTY KRALRAGDV VQNLSSSTY HGGGCVYCS TGNDSATY QDUTTRAT
541 SRZILLRLI TYVSSSGVV NSKVRACVY YQVVERAFD ILQKOTFIER TPCEQALAYV
601 SLVSGLLSFA MYVIVSPIT ZEMLRRLAR VLQVDSBIC AAHARTAPR AWGSGENPI
661 NQVMDKSLR RQGVETDRI PCLSNHSDS DATTANLRI FRLVLRPFP
721 LKVVPEPSEA LLSFSEPTVM YTTDFIRLK RVQIMQLRLE GRFATLEIV YRNSRVFKA
781 RCUISQSTGS FYMLSRVSP AQTYLDEGT SOWLSLPSD BRHLRHEVQV RSLSLVSLD
841 LGFTVQVH VWSVPSNG QGLVLCVYI DYVLSSRTH STASQICIL RRYVAVDGH
901 PKNLASHYI VMSRVDPDE HMMVNLRL LRYRNTAIT PYICRALRK RTZIF

KEYWORD DNA (NC_001347 REGION: 152857..155727)
SEQ ID NO: 44

1 atgtctatga cgcctctgtc atccacgcgc cgcgcgcgcg ccaagctaga cgcgcgtgtg
61 atccacgcgc tctgtgtg cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg tgcacacagct cactgtcttc
121 tgcgcgcgcg cgttgtgtgc cgcgcgcgcg tgcacacagct cactgtcttc cactgtcttc
181 gttgcacgca cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg tgcacacagct cactgtcttc cactgtcttc
241 gttacacact cgcgcgcgcg tctgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
301 cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg tgcgcgcgcg tctgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
361 cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg tgcgcgcgcg tctgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
421 cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg tgcgcgcgcg tctgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
481 tgcgcgcgcg cgcgcgcgcg tgcgcgcgcg tctgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
541 gttgcacgca cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg tgcacacagct cactgtcttc cactgtcttc
601 ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg tgcacacagct cactgtcttc cactgtcttc
661 gacatctgtg ccaactgtgtt aaatctgtt ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
721 ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg gacatctgtt ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
781 ggcgcgcgcg gacatctgtt ggcgcgcgcg gacatctgtt ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
841 tacaacgcgc tgggcgcgcg ggcatttat cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cactctctgc
901 gctgtgtg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg
961 ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1021 aactctgtg cactgtgtgc cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1081 cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1141 ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1201 ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1261 cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1321 gtcacacgca cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1381 cgcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1441 gtcacacgca cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1501 gtcacacgca cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1561 cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1621 cgcgcgcgcg cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1681 aactctgtg cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1741 atctgtgtgc cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1801 tgcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1861 cgcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1921 ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
1981 cactgtgtgc cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2041 cactgtgtgc cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2101 cactgtgtgc cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2161 cactgtgtgc cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2221 cactgtgtgc cactgtgtgc ggcgcgcgcg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2281 gctgtgtg cactgtgtgc gctgtgtgc tacaacgca gctgtgtg tgcgcgcgcg

【 図 8 - 21 】

2341 aactgtgaga tcaactgtga gacgcgcgcg tctgtgtgca tctgtgtgca tctgtgtgca
2401 ggcgcgcgcg aactgtgtga ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2461 ggcgcgcgcg tcaacacgca gctgtgtgca ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2521 ggcgcgcgcg tctctgtgtg cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2581 ggcgcgcgcg tcaacacgca ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2641 aactgtgaga aactgtgtga cactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2701 cgcgcgcgcg tcaacacgca ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2761 cactgtgtga tcaacacgca ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg
2821 cactgtgtgc ggcgcgcgcg ccaacacgca ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg

SEQ ID NO: 45

1 HMLKQMLAN IADNKSLLP PDEQAVFCL SANWIFSLP PRDFTVLID PVAVNGARQ
61 LMTYFAPRP VHSVYSLCP EQVRYVTVQO OPTVCGSARS LAGFTLAGRP PPSRLNPR
121 ELARTVQGP RPASGLDAN ARRGVLLMT VFTVTVQGP SHRHLGQTL SHNVIRLES
181 RRLVIRVLA GAQATFCLY IDRARHLVL SCBPSPMPT RRVVNDRI LANVLDTHY
241 RTHMDRLCG

KEYWORD DNA (NC_001347 REGION: 163901..164653)
SEQ ID NO: 46

1 tcaacacgca agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
61 cactgtgtga agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
121 gactgtgtga aactgtgtgc cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
181 ggcgcgcgcg tcaacacgca gactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
241 aactgtgtga agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
301 cactgtgtga agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
361 agtcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
421 ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
481 ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
541 tgcgcgcgc ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg
601 ggcgcgcgc ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg
661 ggcgcgcgc aactgtgtgc cactgtgtgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc tactgtgtgc
721 aactgtgtgc gactgtgtgc gactgtgtgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc

SEQ ID NO: 47

1 HMLKQMLAN IADNKSLLP PDEQAVFCL SANWIFSLP PRDFTVLID PVAVNGARQ
61 LMTYFAPRP VHSVYSLCP EQVRYVTVQO OPTVCGSARS LAGFTLAGRP PPSRLNPR
121 ELARTVQGP RPASGLDAN ARRGVLLMT VFTVTVQGP SHRHLGQTL SHNVIRLES
181 RRLVIRVLA GAQATFCLY IDRARHLVL SCBPSPMPT RRVVNDRI LANVLDTHY
241 RTHMDRLCG

KEYWORD DNA (NC_001347 REGION: 163901..164653)
SEQ ID NO: 48

1 tcaacacgca agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
61 cactgtgtga agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
121 gactgtgtga aactgtgtgc cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
181 ggcgcgcgcg tcaacacgca gactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
241 aactgtgtga agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
301 cactgtgtga agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
361 agtcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
421 ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
481 ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
541 tgcgcgcgc ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg
601 ggcgcgcgc ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg
661 ggcgcgcgc aactgtgtgc cactgtgtgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc tactgtgtgc
721 aactgtgtgc gactgtgtgc gactgtgtgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc

SEQ ID NO: 49

1 HMLKQMLAN IADNKSLLP PDEQAVFCL SANWIFSLP PRDFTVLID PVAVNGARQ
61 LMTYFAPRP VHSVYSLCP EQVRYVTVQO OPTVCGSARS LAGFTLAGRP PPSRLNPR
121 ELARTVQGP RPASGLDAN ARRGVLLMT VFTVTVQGP SHRHLGQTL SHNVIRLES
181 RRLVIRVLA GAQATFCLY IDRARHLVL SCBPSPMPT RRVVNDRI LANVLDTHY
241 RTHMDRLCG

KEYWORD DNA (NC_001347 REGION: 163901..164653)
SEQ ID NO: 50

1 tcaacacgca agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
61 cactgtgtga agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
121 gactgtgtga aactgtgtgc cgcgcgcgcg ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
181 ggcgcgcgcg tcaacacgca gactgtgtgc ggcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
241 aactgtgtga agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
301 cactgtgtga agtcgcgcgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
361 agtcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
421 ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
481 ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg cgcgcgcgcg
541 tgcgcgcgc ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg
601 ggcgcgcgc ggcgcgcgc cactgtgtgc cactgtgtgc tgcgcgcgcg ggcgcgcgcg
661 ggcgcgcgc aactgtgtgc cactgtgtgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc tactgtgtgc
721 aactgtgtgc gactgtgtgc gactgtgtgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc ggcgcgcgc

【 図 8 - 2 2 】

```

SEQ      MCMV M51
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 48
1      MLIPIAHLRQ ESISSGHRHS RIADVFSSPT RASSESSRSH AASSSSSTVS RPSVDEDEK
61      EDGVFSPVTS GOVLVGCACS NSSLTRNSET VVBSGSQALY ZASAATAMNG DSVRRGGDA
121      PDDEAAGAA GVPAECNLD ALERFPQGD GADAIRFPM LPVFTLITLP SISHLNFM
181      VGRHIAATLA HYYGSGDRC HANVAREKH LPVAVITKL DVGILSREHE TTD

SEQ      MCMV M52
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 49
1      MYRAHPSLT TIDSLVNL LLHARITKPT PEVTEGOTFS SSSSSSTDS RETMLEEERA
61      ACCDLSBLA RIGDENTAEI BELCLFLIED SMCNCAIVS ICLARDPOK WLDVCTFCH
121      KCAALPFTAM AYLVATBEL HLKALFIEDI APDNTFKEI YTFORANFP FNRCTYGRD
181      EHPWWEIET LABWYTRAL LVDQAVYTI KSKTQYTLF KCPAPASFE IALLKTKRA
241      TEGSFARVL YWSTWNMP MTZLDALIK KQKALKALKT QSEIEFSGV PVFLSPITPF
301      ALRNATTVTC LGLKALHSTY KQNVYAGIA ERIYVGRNN LKILDKQTLF MALLSHGSH
361      SEFQDQKRN DWITVTESE ETAAASSE TEEFEELSAI TULVQGVGV IGVHULFAD
421      ELCAAMRST DWILFEDVP NEYINAKLA ICSTNATFSR VERDFWLHAH MAFQAIKIR
481      NEKTKQLSD FLRDFSQVLS SHDPSLVDS FIVEKTV

```

```

SEQ      MCMV M53
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 50
1      HPSRDEEER DAARDEEESG GEARASRMP HSPRAVGRAR HRPAGSGELT PLASPSACRC
61      SSPSPERQWG QSRRAKRSST TPTDPPPPK RASAASAGA AAFSESLYN KLSGLHRO
121      RHPOLEQKYL KIMKLPITOK ESIRLFFDFK SHRGTCCLD SPYGNQVSR SACTCKEZZT
181      RLPTASDSEY AFWQGNBM KHAKFTGFK KALLKLMMA WQFLQFTIY IVQSCQGV
241      PLIYTGEMH SDGLTFEKT VHPQECOR LUYLAKVGS VSDIARHNI TIRACIRLS
301      SSSLADIVLA LQWDELKLI INETNEKES YSL

```

```

SEQ      MCMV M54
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 51
1      MDCVTEFFN PYLARKPRD WRACENNNH FIVQVPGVL YOGATGLIK QSGMFMHFY
61      AKSEYVLPD KPWPLARTS WCRGYSDEI RFHTYQGVN LVLDSEQZI SPRKHHVVP
121      AGNVLNFGA TDEGVSVCN VFQKAVYTC SMGSEGLDN TVOIAKVPF EPCSPFYSI
181      SPVTSSTPY VGLGTFMIL ELAPNMWMC HIKGAKLES GRVTEGLDQ PLARLILRK
241      IFSFQCLAR VYSVRAAGT SRAQLIEDQ VADILPTEQ SNMFFRCLS FDECMSTG
301      APTAASVDD IYIGISVCFC GVSGWHYAH DWALATLTA VERNHUTTG PCAPIDVKI
361      YTFPESRI KQTFIITLQ SPETITQNI WQFQIILIT NAKLIRWVD QPTFLKARG
421      RMVFSSEKQ KAGOTSMYV KVPSSGIVL DMVYCTAKA SSNYKLTOM AYLKJKKKO
481      DLSYKEIPLV PSAGDEGRAR VSGVCLQAV IYNSFLGIA PHFEAAZAR LARIPLAKVI
541      FDOQIITLY CLLEDSORD MLENMPLG HDAAPATEA AAGSEGDTS EGNMNNST
601      VYQGVATVL PECSFHVVP CVDFASLYI SIDNNKLYI STLIVSGSPE VPEKVLVLE
661      IGQCCHRVFA ENVERILLAS LVLWVLTOK IYNSAMQCT NEMQRMIMK QIALKVTIN
721      AFTGTFYVA GMLCFPIIA SITKGRMLD IATAHEDR CMLPDLKTV LGLPEALPD
781      EALVKTIVY UDSVFAAYI GIDKALGA VGLAANTYI ALGFTGRLS FEMSYLKM
841      ICKKYLKYG HGSNLSMG VOLVARTAC VQAVVLEIV BMVFNDEVS SGZMLSRMT
901      FDLKXGKIF CSFVPSVSL CHARDLAKV KVPVETLIS SVLSGSLCT KQKPHLAV
961      TRALAKRSL LRVAGVGVY VILPQCKG NUVYIARD PRVYKMLS INAKYTSQV
1021      VKAVTSLMP VFPALPKKE KFFSLVLPOR IYIPDQLH CANYNELARG GDSPGSGDS
1081      KENMOTERS SREAMEY

```

【 図 8 - 2 4 】

```

841      FDLVRLPIL YDIDYSDV VDIQPCILS IYENRHNKF LYMFQPDYV STIQMSTEL
901      TPNMSQPC LKQAKPKYS TARYLAKK MLGQVRAQ VAITTFEVL NRVGKSLV
961      SVSEFAVKS SMTGTDFVQ FGQIYYVGS GVDLSLNGS MTQDYRFVH VYVLTATLV
1021      DVLSRRARR NHTYDADVR SVRLAALST GLDWPDLAA TARIAGEDE GQIDPDLDI
1081      FYVDQVITA ASHTMRSLS AERYDPSLI ASIKRATAM ATAGSAGGS GASPAGGGG
1141      AANADESQM YDSALFSER DEARDVNAI INGVDRGDD FTLFESKRA I

SEQ      MCMV M70
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 55
1      MTVLFATYI DTFNIVNML SETTPHELF PMIKYKFSN RIEPVLQQR CPDSTRVRF
61      FICDARISL ZEYVSNTEL PARVICAGID AOTRELYER LPOROKMTEG HNEGNSAGG
121      DUSCLISLT KULVYHNSA LRIYANVTI SPSPRWFLS TYCHESDILI LMSYTLER
181      QYSTIQTAD YTKCTZADD RNLPYIMM DMALMNGSR FRQYDARFA FAKNANRDR
241      RELEVDAKI NAFRESKLA ADEVCYVYI AYVILDEKAL SPFSISRETQ WTEADPMVG
301      ARENLYERS LQALISLNA TYVSECTFY STVHEDKAL SPFSISRETQ WTEADPMVG
361      YSTATIALI SLKALNSTCE SLFSDPLTL MGLLCLMD RYVFRANSR KEISSEKKE
421      DETRVCARNY LINDTSPGIV PMVFRVPM EKRHFVQVS AEWTRRLPL KMLKNLISE
481      VYSDCLTDA VRLASDIAS CEVEGLQIT ERMFNSHLP VNFVGDVL KLEDLGLGS
541      HQSVELCRA LKRLIGARR BELFVDPHS HPTVFESC PQAKAGARE MLYGGGTD
601      REDDPREHA ANVYVDGAV RRPFCVORA KULAVYIEF PPTAAGAQ TIKRIAGILD
661      HTICLDLDV CKKALSHG SCPTGLYSH GRTFHPIMY KLDASGML HSRNPTFY
721      PAGYKDFAP VLOQFCPO LTRHQPVR DSDAQITV FLITIRACA DEONPQVR
781      ARAMSRRL FGLFLAKL SLSSQSPS LPTLVGGGS GEGASDSE KRAYSGDSE
841      REDDVENLA AFARILAWA LINDTNRHY EHVQCLREA VYTAGVRC VAKRLKSL
901      KDFECLARR HTKPEZTV FLDIGDGRH NWATLMSG TYRKNNAK VTKLSKLSL
961      PSQY

```

```

SEQ      MCMV M71
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 56
1      NMHTDFOGG TGTNARGCV GGAIAAADG AGAPFACWR MLIETALCR KTVSGEYV
61      LRAEDVYMA ELEGFKDPE GNIGVSSAD SIDRESEVT KHLALLPY KRVGRVTR
121      DILLANQCR KLRNAIEIC QSKRYMALD DIVILKLVG EFTLSDEDS ERLKEFTSD
181      QFTICSVRI VRLIDHREN FORLVGKEE PAPFDLADG VPSSSSSSY AATTIISAS
241      DILLRELMA PAHRELCE TMLILARA TSGCRLEWY GSDULDSKQ QIQQGMAL

```

```

SEQ      MCMV M77
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 57
1      MSLATLTHV PCIVAFEAR ENVLVFPREK IAKLEDEAL RLQVADLQ HDARLRRAG
61      EULSGLCKL BRUCRFRGR IDGABQLGS PMSDLQSGE GTVAGTAD GGVVNAQK
121      NRRKAGGGA SASSCATGD GGGSGYDSD DSQQCLMVT FNDPFIYST DFGSLVTL
181      PNVQWATFS FSWYTKRK KLNQRPWRK VRLQITELI SVSQELMVG LNAVEQVTV
241      PNDYVUSL QALDORAV FTVVQVLRD SGVRLALSD DIAZTARR
301      SGNAPAYQ PSLFLAPV QGCRFACAT FDNALVAVL SERGNAYP CATATVAA
361      SGGPOSSAA AVASEVMSR LSGAVDDVL ALWTLERFK RLSSGVPLL CEBYLRSL
421      FVTLGLAH KLNSSEVSS GRAGKSLRD VPFLQCKRG APPFVRESG FAGSGKXPE
481      FMERVYVW YSDPATVS GLWPELVLL YCSHRSRGN LSRPFRENT AGVSSANGV
541      LQVQSRNE LVDMLIQO AAKQDWDL AADFLAPFC ENGGRLLSI TLKRVLTIL
601      GQFNLQNV YDMTFVLV FLVSVST

```

【 図 8 - 2 3 】

```

SEQ      MCMV M55 (gB)
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 52
1      MSRRNERGCR SSSWYAMSTA LAVTICLLA CTSEVIAAAS TGTTPKAKT DTSSSETABR
61      TETATSGAAT GKKEATPTQ SKIQTIVTP FVNETNNWS VOIDKYPKV CMVSTDLR
121      FMSIICINR TKTPTQSGI LMYKINVA HESVITIKK DAIFQRYAD VTNVTLGT
181      VYTKRYEYK GANTWRYTES CMHCVVVT KANSNTPFE FVLSGEVVE ISEFYDENS
241      EPESEYFPM WIRMTYKT YGILAAPEK VVLEAPLER EMTGTWELF PQHVTCDWR
301      KQVTSRATR TDNTSYHFV SKSLATFVA SKKIDYMLT TSGKNYFR CVIETVEL
361      NRVPDEYNE THVQGELEM YRTQGLIVL WQGLKAKSL NLEKPAINN VSVGTSPFP
421      TSRENETTA ASVAARRRS LRLIDGVVD ITYAGLQTY DVLQYDRA LNMIMWCR
481      DQKTADEAK ELKRIENSI LSAIYEPVT AKLQGVLMN SCVYVSSS VYVLEHMT
541      QGKVVNCSY RPLVYQFIN STKLESQGL ENNEMLGTF RTEMCDNRS KIVVGTGY
601      ERYDTRFHV TSLHILQVL TLIGLIEPE EMTDFVLEL YSKELASRN VFSLDGMR
661      VNSQGLIST LSNVWMTY SVLLGLTTP GVLGVQGLG GVALGAGA VSVVNVTV
721      FLTNFPGST TLLVIGVLA VVILFTGRS SAARVEYFE QVATQAVQ YAPFGAGGG
781      LBSGFGAGG LHRVNGSGS DSGKMTSD KQGLERTYE QOAILLALR KLQDLSQRT
901      KQKQKATPL TGLIRKGN DTSGTKLEA SDGDFY

```

```

SEQ      MCMV M56
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 53
1      NAMTILQRLC VVCSKNECA MOVECLKYCD PNIVSMOSTA FRNNGVMVH LYRLVPAVL
61      SQNAVQTSVL TLYNMLLQ LKOTMREIM ALTVGTHRD RQRYRVLK LOSCNRESI
121      TITATREAL RACHTPLAV RLLKLCNVC RGAVDASQV AVCRLLSLA RLCDICPVA
181      GPETRETVT CTCTREAMA VPHGRLNR NQGLCLNI TIKYVQLD NQATVQRM
241      GDIAIRAPV KGLIRAKSL ASFSPASVY INABEALG YMLFSDIR LYSISDITW
301      KSTSAIVH VGLINQAVL SHSLKTLAT ELRYVGED LDQVTFQES RQGDERTIV
361      GSITANQV YMTISMKI SEHNPJNR LKESNIVAK TSLISIEG VSGAGRLA
421      ASRAEASGA GAGSGRGA AAGSGTGGD EAGGTAMS SALECDPL KHVDNKNV
481      VERKALIKV SENGYNKMA CIRWELHVT KLVNVLQV VCLSAVKMS VLSLSQRT
541      TSATYPTA SSGVLEML VNNVAREL PELLPLQGO QIYTFMGH PTHYDRPL
601      PYNVNYAC DNAGILPRV SOLVRCADT VVSDNMVY YMGFPRADI RELNDLRHV
661      WHLRELVL VALYNETQK OLALNRVEDG DEIGDGLIT YMPSEPLIR RQDYSYSDR
721      LYLILVLS VDSLETADG SRASVADLC VERGQIAG RSTQVYKK RRMSSLELV
781      RDVDAGGDD LVFPCLYK

```

```

SEQ      MCMV M57
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 54
1      MADDOLSLA PVAPVWVFY IAKTLEADI VAMSLCRA TTVVAVELI DUTVNDPQ
61      AVYRMTSTY GVLKXVIF CPAPFFHNT DEILDVDEB GVLVLCDA RRGVQVPS
121      FLANRDETV DLICDELGIA PASTYGRVVC ONGLKELYA GLQICEPRA VVQVSAVG
181      VYVILPTTL FSGQADAAH DQSAANVACD DWPVLSGPT DPALSEALF IMPTWSQGL
241      RVCEHLLIE AGIQCFVLP QGVLCVFPK KTVYVSQL TAVNDILAT VAVCSLAP
301      SVASITLQSV YESTASKEI EWPVEMAKT HADLLNLDR FQLSLAKHA ALIPSSNLI
361      YGTAVVPS AKGASNPS AQGLLKSIR FNGLQMDY DLINDAKLT REGAVGRSE
421      KESVLEST LSTGQLST IAHFPMSTI VYVSGSGT VESHLNGLK GSGGAC
481      CITCATSI RVNTRLPPI KQIKKEPVV TILSRADA DLNGYGRY GLESGRAGD
541      GSGAGGRUD KVAAGPPAG ASGLNVFSD NMKVLQSD YCKRSLIDA ITGSDILNR
601      SGRVLEST LSTGQLST IAHFPMSTI VYVSGSGT VESHLNGLK GSGGAC
661      FOYTATSI LQNALINA SYVDNFTL AQISKWAL PQSICOGAT TANKAFSL
721      KDKNLSVE FERIMOFSP QETGRFKIS TEIKSCMSV QSLKCKKIK RPSIKTQSS
781      VTFKGLGR KPTFNSCLF LLFRCHEKL FACGLSCLF KQVNLQSLV RLVNVRKVD

```

【 図 8 - 2 5 】

```

SEQ      MCMV M79
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 58
1      HRYLWGRF LMLDNNHIL LHTTQLSG QPLSMRLEI IATILACLA TLGSHILLI
61      LRYVWNVY SONTLARKI SPFFRPMY ANRATVFET LRAFSRRA ASLAVETS
121      KACRALVSH IRTETALAS LPKLLSDGN IFFSLGTVY HELFLRFF NRWGRBAE
181      PARITQNV WFTLLMNRK LVSPFASV QSDRELGLI SLIQLDIT TGLRSTFP
241      MCKSEVILA DLGALAE

```

```

SEQ      MCMV M87
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 59
1      MMSASDSPA SLSCLDPAI VKSTAVRES APFCVSNL THSIFPDS RLQAVVDE
61      ELISSITEL RACHTPOT DEGRANVVC RLQWVAPV CYGDWDVQ VIANKARS
121      GPALYVRSR CACGAGGOT MFTLADRYT THVFLSLZL SEWYALDV FCAHAPRD
181      RYMAVLEPK QSVFIEYF PLVCLARYL VPEIDOCANS MPALHGLA ARVOVPMR
241      FGNARAPPT TVARARND LFLLEQGM LAYVYRNP RDEFTVTA PHIGYKML
301      ALRSQGLQL FPMISMSEF SKQVLELE VCHTSEKRE LNALATRI SVLPADIVI
361      WNLFTYITA WCHRGFGE SLMGPFSSG GGAATSESG GQVGRDQNT TASMAAAS
421      TQDASART EGVVYASA AATSAARH PHAPAPTV GGGQVSSV TATQVYV
481      DELVALRSL RRRALAPAA VSGSGSSVG AVAGTSQV TVKRAEVA VSPDEPFR
541      CLVRHRAAB VRESGSVY GAKTIGRE FSRMTAVSL RYAVANPM RVIMIKTV
601      QPRLSAPV FNNMLSPM VETFEKPY VYVYVMA AKNALNVL KSVSTLIA
661      LAYLKVNI SMPLASVC NSSSLOWG IEDQVINE RUKVVTNP PCHNSTOI
721      NQWFRATA LIPVQVAL ENVLKELAY VSDIQLQV YLHREFTV ERYCQIFP
781      LKQFLLVY IMKALGLE SLAVRLIP RALGQVTV HNTVATKE KVALCQVR
841      LANNVFLV KQKIGLVL GRANLALIC RHYDACTVA HELALIVL DCLKLSID
901      RTNKLTRR VRLQGSYRE ATSRK

```

```

SEQ      MCMV M89 Ex2
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 60
1      MTRQGNFLI LIVDEHFKI KEAFNTILGF LAQNTKLIIF ISTNTSIS TCFILKLSA
61      PFMVNVST VCEHIOARS EKGDAVACC YLHRTPIIT INSDRYVAN MFMGSPME
121      IMHTNKRH ETLVILDES EFTLPIEST TAPQPIRLA ALGVVYDVA FPMRASH
181      GYAAVQTD QTVYGLHY FAKDLQSGE TSADVCYSH LSLALHFF LQVRYTIG
241      NQGAANVAT AKNIKHLIS ABATFYSI PQNLQIQF YLNNRKLIA ERYCQIFP
301      SYKAGSLI SHTKLSQV VETLQQLAN IQTILNIVY TSKRANNS DOLVATNS
361      VTMSPERSF NYKPI

```

```

SEQ      MCMV M92
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 61
1      MFSRGRDPT KQIPASAGR ABAAGGSGK CGDGGGCMR KLCNPLQEL LRMNVYVR
61      CETHLECLA RCVYVTVQ GSVCITSL YGVNPGCV SAEVTFPM VQENVGV
121      MSVTVYTLA NADYADVIG SVIEGWNK PTEALYTF NQVKNPNA QKVTSVIG
181      LPLVILVIG ARVYITDST INVSRRKRD GLKMHREY GRAPSTFGR

```

```

SEQ      MCMV M95
KEYWORD  PROTEIN
SEQ ID NO: 62
1      NATAGGVYA GEGDQOQRP RATVSTALC OVEALAEVE GRSVSDANV YREAVDAI
61      ACASSRDR LKELZAGSN FLVYVNALEK DRTPQPCV LSGGRASNN NYEIGTFS
121      AGSASRDL LALERTSGG GLTATVPAQ GTYASVNL SYGLRLNS YLTKLQKL

```


【 図 8 - 26 】

181 KSLSPDKRAI VERILRFVOT PGILLOHNUQ DVEANLILFL CGPQSVQGNP TCGRDRECE
241 VSPVLPFFV FYDPTIDYSA YINLAKELYI VYKRNDFDS EPTCRTELEGT VAMORVYKTL
301 QSVVRQFSDS SVFVWPSBR TCVPICALQ NVKCLDANS DUVVTSYSP IIKKCDRAAY
361 NVTLNHLVLE QVSLAFPPYI DITGLIALIC DSDGDEHKK RMRLETDSAL STTDAD

SEQ ID NO: 59
KEYWORD PROTEIN
1 MATVLPFPA TAMTIPRRI VDDVVDDGG GPVFNHIDA FGSEHMECL VFQDSQCCLA
61 RVFDGLSRS FOIYCLYNLL DIKEVSSVGV VCALRLAYER SFVNKNILTH DQGLATNFI
121 SIVDRVESA GSESTVRQAV GGVTEQAQAL ARATIRLPAR RLRNWKALIE RDSRQGANP
181 VMLBLVDTI SATVPEVILA TRATAPRND DVRESSEAVR PQMGCSATA QVLESEVABG
241 RGVSDIGILL LDPASGVIGA SLDPCSGSR DDGLLYVAP GAALFRIKCA FYLASRDR
301 AVQGLLDQD LGSFADFLD HTTPAVFRRI GQLEPTRECE LVSVDREVRG SKCRRTGVV
361 SKSLALDID LKRSRVLIS VYTTIDARA EGTGATCV GDDGDFILIS ARPLFLDGL
421 ELKAAFAAP FANRPPTVC QTVQHYVLS QYINARDP RMSGDELPS VLVGLATEX
481 RDESERGRVI RINGSRDSD EPLVCVPTV VRLDHPARD AVSSVDLWVE GQGRKTKGLA
541 LWPQSAVST VACIPPEPT F

SEQ ID NO: 64
KEYWORD PROTEIN
1 MSLSDPDRS ERTADICTMA KQGVNTHSR DRNMLKTNM AIALCLSFV NIVVSVAAH
61 FSGICGFTY PRILDFDMM LMYAIEHL TPGLFLDQW LIVVYFTEL IFPCVLTSTI
121 VCVQVYFBS EMTGVNQST KQINMGDGA TCFTVLVND FTQILFILLS FLRPMVAFS
181 KCMYFMCITA FVTVIYNTH SRERSAFALS KIRPKLQCTI KRTAVVNTI QLLGATGTM
241 LAMSLALQD NFFPKYAVI VQGMVARTI VACVYFIIIE SVLSRDMQV RSTHGLTGL
301 VCGMYPIIE YFALNASSYA KDINIGITVL LILCVAFSVI RTVRFLLRN KRTALADW
361 REITALRSDA R

SEQ ID NO: 65
KEYWORD PROTEIN
1 MERRRRRGLP VLSIYAFIL BENQALICG FCVRADGDRV VTLVFPVFN IPADGEARTY
61 LLANYTSYAI SSSLDTTPDS TTAANGSGG GEVGGGGGSG DECAORVARR SRALQILMS
121 VGPDEPETH FTFTEVTPD QVILLSRSH RNVNRYNVI LQTLALVYG RIRAGSYHQ
181 MANDVETTS NALGSLIAG ATPDNARIC VYKRVAVK LAKVWPRDI FSTIISGNS
241 FMSESPAVG AKFVSVDVFI QDVKNRCKK LILCFRLEF AFVSDQDCL VLRLDMQRL
301 PKVIGGSGS LVPFVDFGP NMLRSGBRS VFEPGFAPA VYSVFRYIM NTENGDALN
361 KIRSLVGLP TVGVKDVIL VQGVANVIT LADVNDID LAYDAMRHR IMARLVYND
421 MGOALDDES SVAILYVGV GVCRIIVUL RFAVAKCLE GREFFVLED VARRVORMI
481 DAFGLRANS SRIFRVRAS LKVICRVM DACSDGYPM TLVRDDCEFI VARPVDCQV
541 NFUTITRAL AGTIVPCNTI VAMGVLPAK GKLLGSDTG EKQVITPFG
601 VQATGRILSE AVFCAPGSD MGRKDLIRYI MATMLALSH RSTETFWAG RFAKSRVQ
661 QGVWDNANE FCGILVCGRM VAVQPLDAL HDNICYNVYI KSTFEVLT VLEKVLVLSQ
721 QGVWYVNM SPGLIDCAL KQVTDPAVI SDTSGDVAI AALRALRETT ANTVGMVHR
781 TGRNLEEF NVDSQTMDF VYKRSFYS NM

SEQ ID NO: 66
KEYWORD PROTEIN
1 MERRRRRGLP VLSIYAFIL BENQALICG FCVRADGDRV VTLVFPVFN IPADGEARTY
61 LLANYTSYAI SSSLDTTPDS TTAANGSGG GEVGGGGGSG DECAORVARR SRALQILMS
121 VGPDEPETH FTFTEVTPD QVILLSRSH RNVNRYNVI LQTLALVYG RIRAGSYHQ
181 MANDVETTS NALGSLIAG ATPDNARIC VYKRVAVK LAKVWPRDI FSTIISGNS
241 FMSESPAVG AKFVSVDVFI QDVKNRCKK LILCFRLEF AFVSDQDCL VLRLDMQRL
301 PKVIGGSGS LVPFVDFGP NMLRSGBRS VFEPGFAPA VYSVFRYIM NTENGDALN
361 KIRSLVGLP TVGVKDVIL VQGVANVIT LADVNDID LAYDAMRHR IMARLVYND
421 MGOALDDES SVAILYVGV GVCRIIVUL RFAVAKCLE GREFFVLED VARRVORMI
481 DAFGLRANS SRIFRVRAS LKVICRVM DACSDGYPM TLVRDDCEFI VARPVDCQV
541 NFUTITRAL AGTIVPCNTI VAMGVLPAK GKLLGSDTG EKQVITPFG
601 VQATGRILSE AVFCAPGSD MGRKDLIRYI MATMLALSH RSTETFWAG RFAKSRVQ
661 QGVWDNANE FCGILVCGRM VAVQPLDAL HDNICYNVYI KSTFEVLT VLEKVLVLSQ
721 QGVWYVNM SPGLIDCAL KQVTDPAVI SDTSGDVAI AALRALRETT ANTVGMVHR
781 TGRNLEEF NVDSQTMDF VYKRSFYS NM

【 図 9 - 1 】

Figure 9

SEQ ID NO: 67
KEYWORD PROTEIN
1 MERRRRRGLP VLSIYAFIL BENQALICG FCVRADGDRV VTLVFPVFN IPADGEARTY
61 LLANYTSYAI SSSLDTTPDS TTAANGSGG GEVGGGGGSG DECAORVARR SRALQILMS
121 VGPDEPETH FTFTEVTPD QVILLSRSH RNVNRYNVI LQTLALVYG RIRAGSYHQ
181 MANDVETTS NALGSLIAG ATPDNARIC VYKRVAVK LAKVWPRDI FSTIISGNS
241 FMSESPAVG AKFVSVDVFI QDVKNRCKK LILCFRLEF AFVSDQDCL VLRLDMQRL
301 PKVIGGSGS LVPFVDFGP NMLRSGBRS VFEPGFAPA VYSVFRYIM NTENGDALN
361 KIRSLVGLP TVGVKDVIL VQGVANVIT LADVNDID LAYDAMRHR IMARLVYND
421 MGOALDDES SVAILYVGV GVCRIIVUL RFAVAKCLE GREFFVLED VARRVORMI
481 DAFGLRANS SRIFRVRAS LKVICRVM DACSDGYPM TLVRDDCEFI VARPVDCQV
541 NFUTITRAL AGTIVPCNTI VAMGVLPAK GKLLGSDTG EKQVITPFG
601 VQATGRILSE AVFCAPGSD MGRKDLIRYI MATMLALSH RSTETFWAG RFAKSRVQ
661 QGVWDNANE FCGILVCGRM VAVQPLDAL HDNICYNVYI KSTFEVLT VLEKVLVLSQ
721 QGVWYVNM SPGLIDCAL KQVTDPAVI SDTSGDVAI AALRALRETT ANTVGMVHR
781 TGRNLEEF NVDSQTMDF VYKRSFYS NM

DNA (NC_001798 REGION: 11846..15249)
SEQ ID NO: 70
1 ttattgacc gtctgttgc caggcgatgc cgtccgcgc cgcagagga atagcaagc
61 agggagagc agagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
121 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
181 aagtcgcgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
241 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
301 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
361 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
421 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
481 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
541 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
601 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
661 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
721 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
781 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
841 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
901 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
961 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1021 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1081 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1141 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1201 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1261 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1321 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1381 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1441 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1501 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1561 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1621 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1681 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1741 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1801 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1861 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1921 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
1981 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
2041 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc
2101 gtagggatgc atagagagc agagagagc gtccgcgcgc cgcagagga atagcaagc

【 図 8 - 27 】

1 MERRRRRGLP VLSIYAFIL BENQALICG FCVRADGDRV VTLVFPVFN IPADGEARTY
61 LLANYTSYAI SSSLDTTPDS TTAANGSGG GEVGGGGGSG DECAORVARR SRALQILMS
121 VGPDEPETH FTFTEVTPD QVILLSRSH RNVNRYNVI LQTLALVYG RIRAGSYHQ
181 MANDVETTS NALGSLIAG ATPDNARIC VYKRVAVK LAKVWPRDI FSTIISGNS
241 FMSESPAVG AKFVSVDVFI QDVKNRCKK LILCFRLEF AFVSDQDCL VLRLDMQRL
301 PKVIGGSGS LVPFVDFGP NMLRSGBRS VFEPGFAPA VYSVFRYIM NTENGDALN
361 KIRSLVGLP TVGVKDVIL VQGVANVIT LADVNDID LAYDAMRHR IMARLVYND
421 MGOALDDES SVAILYVGV GVCRIIVUL RFAVAKCLE GREFFVLED VARRVORMI
481 DAFGLRANS SRIFRVRAS LKVICRVM DACSDGYPM TLVRDDCEFI VARPVDCQV
541 NFUTITRAL AGTIVPCNTI VAMGVLPAK GKLLGSDTG EKQVITPFG
601 VQATGRILSE AVFCAPGSD MGRKDLIRYI MATMLALSH RSTETFWAG RFAKSRVQ
661 QGVWDNANE FCGILVCGRM VAVQPLDAL HDNICYNVYI KSTFEVLT VLEKVLVLSQ
721 QGVWYVNM SPGLIDCAL KQVTDPAVI SDTSGDVAI AALRALRETT ANTVGMVHR
781 TGRNLEEF NVDSQTMDF VYKRSFYS NM

SEQ ID NO: 67
KEYWORD PROTEIN
1 MERRRRRGLP VLSIYAFIL BENQALICG FCVRADGDRV VTLVFPVFN IPADGEARTY
61 LLANYTSYAI SSSLDTTPDS TTAANGSGG GEVGGGGGSG DECAORVARR SRALQILMS
121 VGPDEPETH FTFTEVTPD QVILLSRSH RNVNRYNVI LQTLALVYG RIRAGSYHQ
181 MANDVETTS NALGSLIAG ATPDNARIC VYKRVAVK LAKVWPRDI FSTIISGNS
241 FMSESPAVG AKFVSVDVFI QDVKNRCKK LILCFRLEF AFVSDQDCL VLRLDMQRL
301 PKVIGGSGS LVPFVDFGP NMLRSGBRS VFEPGFAPA VYSVFRYIM NTENGDALN
361 KIRSLVGLP TVGVKDVIL VQGVANVIT LADVNDID LAYDAMRHR IMARLVYND
421 MGOALDDES SVAILYVGV GVCRIIVUL RFAVAKCLE GREFFVLED VARRVORMI
481 DAFGLRANS SRIFRVRAS LKVICRVM DACSDGYPM TLVRDDCEFI VARPVDCQV
541 NFUTITRAL AGTIVPCNTI VAMGVLPAK GKLLGSDTG EKQVITPFG
601 VQATGRILSE AVFCAPGSD MGRKDLIRYI MATMLALSH RSTETFWAG RFAKSRVQ
661 QGVWDNANE FCGILVCGRM VAVQPLDAL HDNICYNVYI KSTFEVLT VLEKVLVLSQ
721 QGVWYVNM SPGLIDCAL KQVTDPAVI SDTSGDVAI AALRALRETT ANTVGMVHR
781 TGRNLEEF NVDSQTMDF VYKRSFYS NM

SEQ ID NO: 68
KEYWORD PROTEIN
1 MERRRRRGLP VLSIYAFIL BENQALICG FCVRADGDRV VTLVFPVFN IPADGEARTY
61 LLANYTSYAI SSSLDTTPDS TTAANGSGG GEVGGGGGSG DECAORVARR SRALQILMS
121 VGPDEPETH FTFTEVTPD QVILLSRSH RNVNRYNVI LQTLALVYG RIRAGSYHQ
181 MANDVETTS NALGSLIAG ATPDNARIC VYKRVAVK LAKVWPRDI FSTIISGNS
241 FMSESPAVG AKFVSVDVFI QDVKNRCKK LILCFRLEF AFVSDQDCL VLRLDMQRL
301 PKVIGGSGS LVPFVDFGP NMLRSGBRS VFEPGFAPA VYSVFRYIM NTENGDALN
361 KIRSLVGLP TVGVKDVIL VQGVANVIT LADVNDID LAYDAMRHR IMARLVYND
421 MGOALDDES SVAILYVGV GVCRIIVUL RFAVAKCLE GREFFVLED VARRVORMI
481 DAFGLRANS SRIFRVRAS LKVICRVM DACSDGYPM TLVRDDCEFI VARPVDCQV
541 NFUTITRAL AGTIVPCNTI VAMGVLPAK GKLLGSDTG EKQVITPFG
601 VQATGRILSE AVFCAPGSD MGRKDLIRYI MATMLALSH RSTETFWAG RFAKSRVQ
661 QGVWDNANE FCGILVCGRM VAVQPLDAL HDNICYNVYI KSTFEVLT VLEKVLVLSQ
721 QGVWYVNM SPGLIDCAL KQVTDPAVI SDTSGDVAI AALRALRETT ANTVGMVHR
781 TGRNLEEF NVDSQTMDF VYKRSFYS NM

SEQ ID NO: 69
KEYWORD PROTEIN
1 MERRRRRGLP VLSIYAFIL BENQALICG FCVRADGDRV VTLVFPVFN IPADGEARTY
61 LLANYTSYAI SSSLDTTPDS TTAANGSGG GEVGGGGGSG DECAORVARR SRALQILMS
121 VGPDEPETH FTFTEVTPD QVILLSRSH RNVNRYNVI LQTLALVYG RIRAGSYHQ
181 MANDVETTS NALGSLIAG ATPDNARIC VYKRVAVK LAKVWPRDI FSTIISGNS
241 FMSESPAVG AKFVSVDVFI QDVKNRCKK LILCFRLEF AFVSDQDCL VLRLDMQRL
301 PKVIGGSGS LVPFVDFGP NMLRSGBRS VFEPGFAPA VYSVFRYIM NTENGDALN
361 KIRSLVGLP TVGVKDVIL VQGVANVIT LADVNDID LAYDAMRHR IMARLVYND
421 MGOALDDES SVAILYVGV GVCRIIVUL RFAVAKCLE GREFFVLED VARRVORMI
481 DAFGLRANS SRIFRVRAS LKVICRVM DACSDGYPM TLVRDDCEFI VARPVDCQV
541 NFUTITRAL AGTIVPCNTI VAMGVLPAK GKLLGSDTG EKQVITPFG
601 VQATGRILSE AVFCAPGSD MGRKDLIRYI MATMLALSH RSTETFWAG RFAKSRVQ
661 QGVWDNANE FCGILVCGRM VAVQPLDAL HDNICYNVYI KSTFEVLT VLEKVLVLSQ
721 QGVWYVNM SPGLIDCAL KQVTDPAVI SDTSGDVAI AALRALRETT ANTVGMVHR
781 TGRNLEEF NVDSQTMDF VYKRSFYS NM

SEQ ID NO: 70
KEYWORD PROTEIN
1 MERRRRRGLP VLSIYAFIL BENQALICG FCVRADGDRV VTLVFPVFN IPADGEARTY
61 LLANYTSYAI SSSLDTTPDS TTAANGSGG GEVGGGGGSG DECAORVARR SRALQILMS
121 VGPDEPETH FTFTEVTPD QVILLSRSH RNVNRYNVI LQTLALVYG RIRAGSYHQ
181 MANDVETTS NALGSLIAG ATPDNARIC VYKRVAVK LAKVWPRDI FSTIISGNS
241 FMSESPAVG AKFVSVDVFI QDVKNRCKK LILCFRLEF AFVSDQDCL VLRLDMQRL
301 PKVIGGSGS LVPFVDFGP NMLRSGBRS VFEPGFAPA VYSVFRYIM NTENGDALN
361 KIRSLVGLP TVGVKDVIL VQGVANVIT LADVNDID LAYDAMRHR IMARLVYND
421 MGOALDDES SVAILYVGV GVCRIIVUL RFAVAKCLE GREFFVLED VARRVORMI
481 DAFGLRANS SRIFRVRAS LKVICRVM DACSDGYPM TLVRDDCEFI VARPVDCQV
541 NFUTITRAL AGTIVPCNTI VAMGVLPAK GKLLGSDTG EKQVITPFG
601 VQATGRILSE AVFCAPGSD MGRKDLIRYI MATMLALSH RSTETFWAG RFAKSRVQ
661 QGVWDNANE FCGILVCGRM VAVQPLDAL HDNICYNVYI KSTFEVLT VLEKVLVLSQ
721 QGVWYVNM SPGLIDCAL KQVTDPAVI SDTSGDVAI AALRALRETT ANTVGMVHR
781 TGRNLEEF NVDSQTMDF VYKRSFYS NM

【 図 9 - 2 】

2161 cagatcaact ttaggttagc gtagagatgc gcatgttagc cgttgaccc cttgtggagc
2221 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2281 aagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2341 ttaggttagc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2401 ctaggttagc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2461 ttaggttagc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2521 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2581 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2641 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2701 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2761 ttaggttagc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2821 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2881 ttaggttagc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
2941 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
3001 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
3061 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
3121 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
3181 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
3241 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
3301 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc
3361 gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc gtagagagcc

SEQ ID NO: 71
KEYWORD PROTEIN
1 MERRRRRGLP VLSIYAFIL BENQALICG FCVRADGDRV VTLVFPVFN IPADGEARTY
61 LLANYTSYAI SSSLDTTPDS TTAANGSGG GEVGGGGGSG DECAORVARR SRALQILMS
121 VGPDEPETH FTFTEVTPD QVILLSRSH RNVNRYNVI LQTLALVYG RIRAGSYHQ
181 MANDVETTS NALGSLIAG ATPDNARIC VYKRVAVK LAKVWPRDI FSTIISGNS
241 FMSESPAVG AKFVSVDVFI QDVKNRCKK LILCFRLEF AFVSDQDCL VLRLDMQRL
301 PKVIGGSGS LVPFVDFGP NMLRSGBRS VFEPGFAPA VYSVFRYIM NTENGDALN
361 KIRSLVGLP TVGVKDVIL VQGVANVIT LADVNDID LAYDAMRHR IMARLVYND
421 MGOALDDES SVAILYVGV GVCRIIVUL RFAVAKCLE GREFFVLED VARRVORMI
481 DAFGLRANS SRIFRVRAS LKVICRVM DACSDGYPM TLVRDDCEFI VARPVDCQV
541 NFUTITRAL AGTIVPCNTI VAMGVLPAK GKLLGSDTG EKQVITPFG
601 VQATGRILSE AVFCAPGSD MGRKDLIRYI MATMLALSH RSTETFWAG RFAKSRVQ
661 QGVWDNANE FCGILVCGRM VAVQPLDAL HDNICYNVYI KSTFEVLT VLEKVLVLSQ
721 QGVWYVNM SPGLIDCAL KQVTDPAVI SDTSGDVAI AALRALRETT ANTVGMVHR
781 TGRNLEEF NVDSQTMDF VYKRSFYS NM

DNA (NC_001798 REGION: 15248..18163)
SEQ ID NO: 72
1 atagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
61 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
121 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
181 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
241 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
301 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
361 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
421 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
481 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
541 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
601 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
661 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
721 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
781 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
841 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
901 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
961 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
1021 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc
1081 gtagagagcc agagagagcc gtagagagcc atagagagcc agagagagcc agagagagcc

【 図 9 - 3 】

```

1141 acotcctcgt ggttcggaca gggcggcaac ggcgcgggtt cgcgcgccca ggcacccggg
1201 ggcgcggcgc agcagcttgc cagcggcttt cagcgcggcg tgcgcacaaa cctaaacggc
1251 atgcgtggag gcttccttgc caactcttgc ggcacatag aagcgtcgcg agcagcgaac
1321 cgcgtctgtg gaccacagct gcacgcgcgc gcgcgcgcgc tgcgcgcgc cagcggcgag
1381 ggcgtcgagc gggagcagcg gcgcgcggac ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1441 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1501 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1561 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1621 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1681 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1741 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1801 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1861 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1921 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1981 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2041 aagcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2101 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2161 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2221 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2281 aagcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2341 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2401 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2461 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2521 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2581 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2641 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2701 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2761 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2821 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2881 gcttttctat cgttttgtat aacttcgaaa aataaa

```

SEQ HS2 UL8
KEYWORD PROTEIN
SEQ ID No: 73

```

1 MEAPGIVWVE ESVSALTLYA VMLPRTBDC ILALLYLVCV DAAEGRARAF BEVSVGSSDL
61 QDFYGRFQVS ARGVAVAAHA ATAPASAPLE FLGDTPTFRA LTAICVLAALR RGTGRWALVF
121 FILLGNDQCF GUVAVFRAAS WGPVAPARA LLYAVAVDV DPALABARA GPCNRLARA
181 ALAARDPQSG CASSASIAVT TITTRTARF EYTLIAFPPT RGEAGPALVF EVCBEVLRFR
241 GIPORFVAVR ILPHGQYTVF SAGDFSRASA IVALFRNHT ZVIAALGALA PVFVFLGDFG
301 EYVSGDQYVF AVLGFRWHT FTVPAAARAB SARLLYKGA ATLLGLZWFG PVGVRVLPV
361 FANWFAVSSA AAGLLAPFAR ENAVNHMTA TTIGLOFLA AVGVFWTAR FCISGLQQLL
421 AALAGLGSAG LPEARGRGL ERIDALIVNA PSEWAVARV RLIVFPACDA CFALRQLGLG
481 PHANVAGTGF QTAKEFARV CGDFVAAWRV LRVVNDQDA ABAGTQBAR ALAVAAARVAV
541 LSAAGIRFLR ASPLASPGVY THYVWSQCT AFNFWSDOT DFLQGFPLRG ALVAAARVAV
601 RDLAKRLRLR GAAGPPEARV CANRVNEDH CDRVLFORDR RLNDVYFGRV LTFGEARDOR
661 LQYTAWGA LQAAWGA LQVYVGVV LQVYVGVV LQVYVGVV LQVYVGVV LQVYVGVV
721 LQVYVGVV LQVYVGVV LQVYVGVV LQVYVGVV LQVYVGVV LQVYVGVV

```

KEYWORD DNA (NC_001798 REGION: 18393..20665)
SEQ ID No: 74

```

1 tttattgccc aaattcgggg aaacagaaac cgaattcttt catcgaaagg gtacaaagag
61 atctctcgcc gcccacacac gotttcgaag aacacggtaa aacacggtt aatctctgac
121 agacttcgag cgaactgatt gggcagcttc aaggggggga cgcgcgcggc aacacggttc
181 agatctcgag ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
241 cagattctgc ctcggggcag cagggcgctc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc
301 tgcgcgcggc ctcggggcag cagggcgctc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc
361 ggcgcgcggc ctcggggcag cagggcgctc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc
421 tctctcggcg ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
481 tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc

```

【 図 9 - 5 】

```

601 ttcgcgcgtc tccagaatat galactaac gacagaacat accttttcgc cgcgcgcggc
661 ctcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
721 ttttcgagca cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
781 cgcgcgcggc agactctggt tttgttgcce ctaacgcgcgc tgcgcgcggc gtccttcggc
841 ggcgcgcggc tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
901 atgcgcgcgt cgcgcgcggc cgtgttttgc tgcgcgcggc tgcgcgcggc ggcgcgcggc
961 acactctgct tctcgttccc ggcgcgcggc ggcgcgcggc tgcgcgcggc ctcacgcgcgc
1021 aacagaaagg tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1081 gagctcgcgc gacagacaaa cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1141 cgcgcgcggc atgcgcgcggc ggcgcgcggc cgtgttttgc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1201 tgcgcgcggc tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1261 aacagaaagg tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1321 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1381 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1441 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1501 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1561 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1621 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1681 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1741 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1801 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1861 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1921 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1981 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2041 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2101 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2161 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2221 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2281 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2341 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2401 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2461 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2521 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2581 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2641 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2701 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2761 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2821 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2881 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc

```

SEQ HS2 UL17
KEYWORD PROTEIN
SEQ ID No: 77

```

1 tttatttata atgcagagat gagctctgag cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
61 tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
121 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
181 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
241 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
301 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
361 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
421 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
481 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
541 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
601 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
661 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc

```

KEYWORD DNA (NC_001798 REGION: 30142..33471)
SEQ ID No: 78

1 tttatttata atgcagagat gagctctgag cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc

【 図 9 - 4 】

```

541 tgcgcgcggc tccagaacaa cgcgcgcggc tgcgcgcggc tgcgcgcggc ggcgcgcggc
601 cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc
661 cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc
721 cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc
781 aacttcacgc agctgcgcgt cgcgcgcggc tgcgcgcggc tgcgcgcggc ggcgcgcggc
841 aacttcacgc agctgcgcgt cgcgcgcggc tgcgcgcggc tgcgcgcggc ggcgcgcggc
901 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
961 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1021 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1081 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1141 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1201 aacttcacgc agctgcgcgt cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc
1261 cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc
1321 cgcgcgcggc atccacgacg ggcgcgcggc tgcgcgcggc ggcgcgcggc ctcacgcgcgc
1381 ggcgcgcggc aacgcgaagc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1441 cgcgcgcggc aggcgcgcgc cgcgcgcggc ggcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc
1501 aacttcacgc agctgcgcgt cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc
1561 cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc
1621 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1681 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1741 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1801 aacttcacgc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1861 cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc cgcgcgcggc
1921 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
1981 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2041 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2101 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2161 aacttcacgc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
2221 aggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc

```

SEQ HS2 UL15
KEYWORD PROTEIN
SEQ ID No: 75

```

1 NFGQQLARIV QYLERLEKQ RCKVYVWMA SAGLTLGDA LNVFLPFLAT ATPRKATVYV
61 RQVTLRDECC EHSPLFKIVA RALLNSLVP RQLRQRPDQG DHTAKLEFIA PEIVRAVAVL
121 RFRCAPEADA VQPNRAYSIV IATFPAIHR SAEKGLVHVF RDAFLAKTGS FRASLSAETT
181 GPFKRRARVD VATHGQTVGT LELPQRIUM IATFPAIHRV LQDHSAYVMT FALVLPFPL
241 FSDVAVRHR QRAVYFVPA RQKQWFLVP LIALSLALFR GIKTIVTMT RHAETVPE
301 IDMLCQWGF SRWDIVHVGZ TISFSPDGS ASTIVFASH NTNGIRQDF NLIVEDRANF
361 IAPDAVVTIM FLQANRCKI IYVSTWTK ASTFELYIHA GADELLIYV TICIDIMHPR
421 VYTHNATAC GICLIRAPVY IYHAGVHMT ADLAFQPMF QKICQACNA TODRNPKE
481 SAGERELLYR PSTTNSGIM APZLVVDPD APTANTRAG TGVAVGVRV DDFIIFALIE
541 FTALALTCGA FADIRACVH SIAQVLHAP GAFPSVRVAV EKNSSQVAV ALACHVITRM
601 HIRLALSGAG GPCVGVVAV PFFLAWKNT PAFVFIKAT NSGRVAGVAV
661 LVSVTVRLGT DPVEYLSQUL NMLIETVSN TQVMTYSGR NGADLIMVA VMAYILAAP
721 TGIPAPFFI TRTS

```

KEYWORD DNA (NC_001798 REGION: 28969..34829)
SEQ ID No: 76

```

1 atgtttggcc agcagctgag gtcgcgcggc cgcgcgcggc tgcgcgcggc ggcgcgcggc
61 aggcgcgcggc agtggggcgt cgcgcgcggc cgcgcgcggc tgcgcgcggc ggcgcgcggc
121 cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
181 cgcgcgcggc ggcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
241 cgcgcgcggc ggcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
301 cgcgcgcggc ggcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
361 cgcgcgcggc ggcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
421 cgcgcgcggc ggcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
481 cgcgcgcggc ggcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
541 ggcgcgcggc ggcgcgcggc cgcgcgcggc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc

```

【 図 9 - 6 】

```

4321 ctcgcgcgtc tccagaatat galactaac gacagaacat accttttcgc cgcgcgcggc
4381 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
4441 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
4501 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
4561 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
4621 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
4681 tgcgcgcggc tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
4741 tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
4801 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
4861 tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
4921 tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5001 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5061 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5121 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5181 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5241 tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5301 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5361 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5421 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5481 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5541 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5601 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5661 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5721 cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
5821 ctcgcgcgtc tccagaatat galactaac gacagaacat accttttcgc cgcgcgcggc

```

SEQ HS2 UL17
KEYWORD PROTEIN
SEQ ID No: 77

```

1 MNAIFANFQ YDTRAPESP ASLIRVLISS ECLAAAGVPL SALVRGHPDS GAANFRVET
61 QTRAHKQDC FPRRAFAPV VADAVVAIL APTIAPHDL LRVFPAQGL FVSLVPACDA
121 QGVYDPTTFA ALRLANGPA TCARVLFSY DRVFPVHGF ALKASRLML CTRVLFVAVR
181 LGAAAPRAAT EAAHLSLGM GESQTFPFA SVSVCAGPFA VVETDFFIS PEOGLTAPQG
241 TRADAVDSY TQERHEIAL VGRVQGVTR RHPVRARPR ANGVAVSLGR GCLVIVHVS
301 GAGLSDASE AVLAGLQPF GGRFASDGP RAKGQVIND VILVPTCAR FSLVLELOR
361 GMEALAGOR FQWLKRSRI SVLIRHYOT KQRFVVVSE NVNANGPRA APPLSESLA
421 FALTEACAE RVRFRQFSF AQTALLRF PALGRLIAR RVLVLPDRA ARVAFVARTQ
481 IACLRALRS IHALAGORR ITQRLAVR FQGRMLGAV TRAPVPLRM LARALGAP
541 DAFHTATYAL AVIALGQGS GGRGRRLVP LSLDIPARFA DDAVATVYV YSTGDTYRL
601 TRVRIAVID GQNRNGRQSK CRHSESPST AFRVRCYGLR PQSSTAYVLC GRRRLCGVLV
661 VFGQKQFTI ETATSLIALV PVARVILRF CRAGATGFL VR

```

KEYWORD DNA (NC_001798 REGION: 30142..33471)
SEQ ID No: 78

```

1 tttatttata atgcagagat gagctctgag cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
61 tgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
121 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
181 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
241 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
301 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
361 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
421 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
481 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
541 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
601 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
661 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
721 ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc
781 aacttcacgc cgcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc ggcgcgcggc

```

【図 9 - 7】

```

841 agatctctgca gaaagagcca cgcctggggt cggggctcgg aaggggcaac tggcaccagc
901 gctcgttgag gaccttgagg cagcagaataa tcttaagcgg ctgctccccc cgaacacagc
961 gcaacacagc gacagaggtg gtagctggcg agcgagagctg ggtctcggcg cccggctggcg
1021 gggcgagcgt gtcggggggt gtagctggcg gacccggctg cccgggggagc
1081 ctggtgctgc ctgggggagc gacagtgccc gctgtccagc gttggtgtg gggagagagc
1141 cggagacaca caaagagcgg agggcgacag cgtgtatga gttgggggg gttggtgtga
1201 ggggtgagac aaagagagag gtcagggagc aagggggggg gggggggggg gggggggg
1261 gaacccagat ccagagcgac gggcgaggg gctcgtgagg ctgaggttag cccgctgttt
1321 aaagagcgtc gaaagagctc ccggaagacc caataagccc cagagagggc gattgagacc
1381 aagcgagagg taagcgagcg tctctccggc aaggtatgta tccggttacc tgtgtggggc
1441 agtgaggggg ctgcctccca tgaagcgaca tttactgctg tccggttacc tgtgtggggc
1501 gtaactcaac actcgagatg cgggtgtgtg gactagccgc cagagagggc gattgagacc
1561 gtagtcaagc gctcagagcg gctcagagat gctcggggcg cccctatggc cccagagggc
1621 agggagagag agcgagcgag ccggcgagcg gggcgagggc gggcgaggtt cgtcgtggcg
1681 aagcgaggtac ggggtgtgaa agagcggctc ggggggggct cccctatggc cccagagggc
1741 gttctccagc agcgagggga agcgcgagct caactccctc agccactggc tctgttgggg
1801 gcaaaagtag taagcgagcg gctcagagat gctcggggcg cctctatggc cccagagggc
1861 agagtggccc agggcgagca gacacgagat ctggagtagc gggcgagggc ccaactggcg
1921 cgtcagtgca agggctggcg cagcgagggc cgggttagcg aggggtccct cggcgagggc
1981 aagcgagagc agcgagcgct tctggggcg gggcgagagc ggttggggc gcgagagggc
2041 ctctggcgca cagcgctggc taaaggcgct gggcgagcg cggcgagggc gggggggggc
2101 agcgagtgca ccccgagcag ccaacgaact ctctgagagc agcgagagca agcgctggtt
2161 ggtcccgtag tctagtagca ggaacagcga gctggagaga cggctccaca gcaactggcg
2221 cgggtggcgg cggcgagcag gctccagcag cgggtccagc caactagaca gctagtcagg
2281 ctgttgagtc ccccgagcag ggttgagcac gctcgttagg agctcccgcc ccccgagcgg
2341 gggcgagcag cgtcagtagc agggcgagcc gggcgagggc tccagggcgc cagagagcgg
2401 ctccgctgcc gacggcgcca gggctccgca gcttagagcg tggtagacca gggcgagcgg
2461 cggcgagcag gggcgagcag cggagagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
2521 cggcgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
2581 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
2641 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
2701 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
2761 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
2821 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
2881 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
2941 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
3001 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
3061 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
3121 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
3181 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
3241 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg
3301 ggttgagcag cggcgagcag cggcgagcgc gctcgttagg cggcgagcga cgggttggcg

```

SEQ ID NO: 79
KEYWORD: PROTEIN
SEQ ID NO: 79

```

1 MDTKPKTTT VVVPFPMG VYGRACFAR LELLSLSAR SGDAVAVAF LTVGLTVSSG
61 FEANVAVAVV GTTGTGGTGA VSLKMPSTY SPVYTVFHG RHIAFSTAPC NTHLCERAR
121 PHGFADIVAR NCOLGHEIT GIALCKRGLT DFRLKRVH VITGFRVAC IZNTFILLAG
181 HUNVYVIGAE YVRLPYVGL HMPFVSVH ADPFWNHLS IZGNVPLFE QNTFILLARL
241 FEANVAVAVV ALNARVAVD ARAALAFAD ENHGAELAPA DITTFAPFAG QKQFILLARL
301 AGAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG
361 AGAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG
421 AGAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG
481 AGAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG
541 AGAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG
601 AGAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG
661 AGAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG
721 AGAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG
781 AGAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG
841 AGAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG GAGAGAGAG

```

【図 9 - 9】

```

3121 aggtgtgtgt gatgacagc gctcccgccc agccctccgt gatccagca taacagtagc
3181 cccgtgtgtg gtcacagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
3241 gctccagcgc ccccggtgtg gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
3301 gctccagcgc gtcggggggc tgggtgtgtg gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
3361 aagcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
3421 cctgtgtgtg ggaacagcgc agccctccgt agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
3481 gggcgagcgt gggcgagcgc agccctccgt agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
3541 aagcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
3601 gggcgagcgt gggcgagcgc agccctccgt agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc

```

SEQ ID NO: 81
KEYWORD: PROTEIN
SEQ ID NO: 81

```

1 MFCAGGAPAS GGGGAPARA SGFAPARNA GATQATPFC BRQNFVNPFL AQTGTQPKL
61 GPMQVAVAVV EODEFRFAP RSLDEDAPE QTVGVDRGL RRAKPVYCGS DEADVLVAG
121 GPMQVAVAVV EODEFRFAP RSLDEDAPE QTVGVDRGL RRAKPVYCGS DEADVLVAG
181 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
241 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
301 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
361 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
421 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
481 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
541 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
601 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
661 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
721 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
781 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS
841 FVTLGLTGLT EGNVAVVHYV YTPSTFNNK RYVHLEHCL APRILCRILA AALREAPAS

```

KEYWORD: DNA(SEQ ID NO: 82)
SEQ ID NO: 82

```

1 tttttttttt cccggggggg cccggggggg cccggggggg agccgggggc tggggggg
61 tttttttttt cccggggggg cccggggggg cccggggggg agccgggggc tggggggg
121 cccggggggg cccggggggg cccggggggg cccggggggg agccgggggc tggggggg
181 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
241 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
301 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
361 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
421 tttttttttt cccggggggg cccggggggg cccggggggg agccgggggc tggggggg
481 tttttttttt cccggggggg cccggggggg cccggggggg agccgggggc tggggggg
541 agccctccgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
601 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
661 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
721 tttttttttt cccggggggg cccggggggg cccggggggg agccgggggc tggggggg
781 tttttttttt cccggggggg cccggggggg cccggggggg agccgggggc tggggggg
841 gctcagcgc gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
901 agccctccgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
961 cccggggggg cccggggggg cccggggggg cccggggggg agccgggggc tggggggg
1021 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1081 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1141 gctcagcgc gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1201 gctcagcgc gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc

```

【図 9 - 8】

```

901 LRYCDSTYF INTLAVIAG SRBPVQAA AARAPQAGC LAGARAMD ELDAHGWAT
961 SMFASNLIR PVMAAPMV LGLSISKYF MAGNDVRVQA GNWASLIGKC NACPLIFOR
1021 TRKVLACIR AGVCASSV GGGARNSIC EQLGRIIABE GNWASLIGKC NACPLIFOR
1081 QGATIKWLA LSTVYIABE WSTVTRALS NGWSTVTRALS NGWSTVTRALS NGWSTVTRALS
1141 VYNGDQGE DOHAASFGL AAAAGAGVA RKAHFGDDP RUGGPFKKD IYLMZL

```

KEYWORD: DNA(SEQ ID NO: 83)
SEQ ID NO: 83

```

1 tttttttttt aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
61 tttttttttt aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
121 aacaaacac aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
181 aacaaacac aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
241 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
301 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
361 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
421 tttttttttt aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
481 aacaaacac aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
541 aacaaacac aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
601 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
661 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
721 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
781 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
841 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
901 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
961 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1021 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1081 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1141 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1201 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc

```

【図 9 - 10】

```

1261 aacaaacac aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
1321 tttttttttt aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
1381 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1441 aacaaacac aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
1501 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1561 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1621 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1681 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1741 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1801 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1861 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1921 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1981 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2041 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2101 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2161 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2221 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2281 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2341 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2401 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2461 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2521 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2581 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2641 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2701 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2761 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2821 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2881 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
2941 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
3001 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
3061 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc

```

KEYWORD: DNA(SEQ ID NO: 84)
SEQ ID NO: 84

```

1 MATSAPGVS SIVVREPSG SWNKGAFAF PVVAPDPL ALNALCARL LAACHVIVP
61 PASALDEIV SVAPAPFPP RGAREASAG RGGGARGFP ADTAEGLL TGPFAASVD
121 FTALDRCLIV CRTILYKHA YLSRQWAD YAFICANGLG APICASIVP ADFEVYVD
181 HIFLIRCLIV LGVSRALR LGVSRALR LGVSRALR LGVSRALR LGVSRALR LGVSRALR
241 VOYNSYFLA QSATRLIGT LAGSDGDCG AGAGAGAGAG AGAGAGAGAG AGAGAGAGAG
301 EKKRGSDGC CTRARARNS FAAGAGALG GEFETPWA DILLIAGT LAWVESGRL
361 RAHARARA VRSRARAAG VRSRARAAG VRSRARAAG VRSRARAAG VRSRARAAG
421 TEGELCLIN LLSRATWLM RRLASVYKT SENTISLGT TVPVQDLA DEPAQDGE
481 REVSLARAG PEALFRMFC DMPCATFME VPPVIRLGE RADHREJGL RAKALCONE
541 FGRVCLIALA LILITRYTTP VVPVIRLGE VPPVIRLGE VPPVIRLGE VPPVIRLGE

```

KEYWORD: DNA(SEQ ID NO: 85)
SEQ ID NO: 85

```

1 tttttttttt aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
61 tttttttttt aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
121 aacaaacac aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
181 aacaaacac aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
241 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
301 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
361 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
421 tttttttttt aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
481 aacaaacac aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
541 aacaaacac aacaaacac aacaaacac tttttttttt tttttttttt tttttttttt
601 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
661 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
721 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
781 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
841 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
901 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
961 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1021 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1081 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1141 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc
1201 gggcgagcgt gctcagcgc gctcagcgc agccctccgt agccctccgt gatccagca taacagtagc

```

【図 9 - 11】

```

1 tttattcccg agacgttgca ccccccagac gacgtgagcg cggcgctcag ggcgcggggg
61 ttggggcgcg cggggcgcg cgtacagcgt gaggaaactc gtgaaactgt goataagacc
121 ttgataactc taagatgaga ccccgctgca agctgagctc cgtgactgtt gctgtacaca
181 ttggggcgcg cggggcgcg cgtacagcgt gaggaaactc gtgaaactgt goataagacc
241 cggagcaaaa cgtgctgctc cacaagctgg cggcgcaaac gtacggcggg cagcggttca
301 gactcagctc gatagcgcg tagtgcaggt gggcgcaaac gtacggcggg cagcggttca
361 cactgtggcg cccagagctg ggttctgggt aaaaagagaa gggcgcaaac gtacggcggg
421 ctccgcagcg gatcgtgtcg aaaaagagaa ggttctgggt gggcgcaaac gtacggcggg
481 gttctgtggc ggggggtctg tagcgtgtcg agacagcagc caggagagcg agacagcagc
541 gttctgtggc gttctgtgtg attctgtgca agagagcgag caggagagcg agacagcagc
601 cgtgttcagc ccccgctgct ccccgctgct acggcgcgca cagacccccc attcccaggt
661 agtagccact ccccgagagg gtagacaggt gttgtgcgac gttctgtctc agtctgaagc
721 gggcgcaaac ggggtgtgtg ttccacagag agcagcgagc agcagcgagc atgtgagctt
781 cctggagagg cgtctggggg agggcgagcg agcagcgagc agcagcgagc cgtctgtgca
841 gggagagctc cagcgtgcgc ggtgtgcgac agcagctgtt cggcgagcgc agcagctgtc
901 cggcgagctc cagcgtgcgc ggtgtgcgac agcagctgtt cggcgagcgc agcagctgtc
961 cggcgagctc cagcgtgcgc ggtgtgcgac agcagctgtt cggcgagcgc agcagctgtc
1021 agggagcaga gagagataga gttgtgtctg agcagcgagc agcagcgagc gacaatgtg
1081 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1141 cggagagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1201 cggagagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1261 agtgcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1321 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1381 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1441 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1501 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1561 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1621 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1681 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1741 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1801 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc

```

SEQ ID No: 85

KEYWORD PROTEIN

1 MNRGAGRPR RTIADAPIC ALASGTLISL DARYVSDGA GDAVWFDM TRAEIVVIF

61 TDONKILTSI KFORLSILIT VAGPIKEDS PAIRKEDTGA CYSELILAKR KRPVAVINR

121 FLOLQILQLG

KEYWORD DNA(001798 REGION: 69367..71469)

SEQ ID No: 86

1 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

【図 9 - 12】

```

61 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
121 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
181 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
241 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
301 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
361 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
421 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
481 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
541 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
601 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
661 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
721 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
781 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
841 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
901 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
961 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1021 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1081 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1141 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1201 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1261 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1321 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1381 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1441 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1501 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1561 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1621 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1681 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1741 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg
1801 gggcggttcg cccagacccc ggaagctata gggcggttcg aggtctcggc agagggcgcg

```

SEQ ID No: 87

KEYWORD PROTEIN

1 MNRGAGRPR RTIADAPIC ALASGTLISL DARYVSDGA GDAVWFDM TRAEIVVIF

61 TDONKILTSI KFORLSILIT VAGPIKEDS PAIRKEDTGA CYSELILAKR KRPVAVINR

121 FLOLQILQLG

KEYWORD DNA(001798 REGION: 70119..71469)

SEQ ID No: 88

1 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

61 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

121 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

181 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

241 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

301 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

361 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

421 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

481 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

541 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

601 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

661 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

721 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

781 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

841 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

901 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

【図 9 - 13】

```

961 ccccgagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1021 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1081 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1141 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1201 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1261 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc
1321 gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc gtagcagctc

```

SEQ ID No: 89

KEYWORD PROTEIN

1 MNRGAGRPR RTIADAPIC ALASGTLISL DARYVSDGA GDAVWFDM TRAEIVVIF

61 TDONKILTSI KFORLSILIT VAGPIKEDS PAIRKEDTGA CYSELILAKR KRPVAVINR

121 FLOLQILQLG

KEYWORD DNA(001798 REGION: 93769..95255)

SEQ ID No: 90

1 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

61 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

121 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

181 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

241 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

301 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

361 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

421 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

481 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

541 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

601 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

661 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

721 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

781 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

841 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

901 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

961 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1021 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1081 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1141 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1201 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1261 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1321 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1381 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1441 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1501 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1561 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1621 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

【図 9 - 14】

```

301 TRFQCTGYS HGAAAGFYI IYERIAADV RTGALERTI ADRSCLVUS DRFTIYLYL
361 AHTCKRPSR LAHRAVTHI HOPRPASTE GPHVLRGRI DOPPHVRAO DOPPHVRAO
421 VTPRETAGL DAAAYLARK TAPALPATA PATCVADSS TMMGRALNA BRLLVPHGW
481 APATPTPDD AGGTAAATQ CVIKVLLKL ARTZQGTTH PAIALAKMD SVCTFLVPH
541 TRHFTAFAP AABATAPPA TVVADABPA TVVADABPA TVVADABPA TVVADABPA
601 PRGLIAPAV MYNRRNIRI AALAVINIL DLIALKEPV PFPLRLALG IFRRLALAV
661 QULFPAARD PAFYCTFFK SACKRAPPV CAGPERSAG DODGIMFPD AGCGDGEENE
721 ULTERDUTH GLFPPDANR DDLARLDTA ATPRPSVSI CCKAKGLAR VCLVPAVNI
781 REGILMBOV RVYQVILV DDFVZVAGS RVNPLIIDL GYANGHSLR LYPFAKIGPD
841 GSACGRLLV FVPPACOVV PAFVADHAP RRFHFAFPM FSAAPRIRV LMSLGDGVV
901 FERKASRA LERFURVIL TVLGRDVR POKETVVEF ASELLIRVA CILHARHVA
961 REXYANVSE AVIKUWVIL QILHSGALN QSLCLAFPI GABSRBTRV FALSGVGNR
1021 RLCASLQOC FATKUNNRH HTLTPVART PCRSAPSTP SRPSSS

```

KEYWORD DNA(001798 REGION: 109875..114341)

SEQ ID No: 92

1 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

61 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

121 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

181 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

241 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

301 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

361 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

421 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

481 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

541 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

601 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

661 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

721 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

781 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

841 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

901 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

961 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1021 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1081 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1141 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1201 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1261 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1321 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1381 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1441 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1501 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1561 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1621 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1681 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1741 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1801 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1861 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1921 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

1981 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

2041 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

2101 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

2161 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

2221 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc

2281 atggcggttc gggcgggggc cagcggttcg cgaagctaac gggagcgagc cccgagctgc


【 図 9 - 1 5 】

```

2641 ttttccggg ccccgggga gatccggtc ctccacagcc tggggggga ctatgtcagc
2701 tttttcgaga agaaaggcgt gcgcacagcc ctggagcact ttggggagcg cagagaccctg
2761 acggagggtc tgggcccgtc cgtgtgtcgg ccgagcgccg gggagaccgt gtaggggttc
2821 ggttcagaac tgttggggcg aatgtgtcgg tgaatcgagg ctcaatttcc cagagacggg
2881 cgggaatata aggcctgttc cgttgcgcgg gcctcatta aggagactg ggtcctgtg
2941 cagctgatcc cggcccggg cgcctgaac caaagccctc cgtgtgtcgg ctccaaagcc
3001 ggcagggcaa gtccgggac ggcgcgacn ttcttcgopg tgaagctcgg caacaacac
3061 cgcctatgcg cgtccctgtg tccagcgtgc ttggccacta aatgcgataa caaccgcctg
3121 caacagctgt ttacgtcga tgggggcacg ccatgtctgc ggtccgtccc ctccagcccc
3181 tccagacgt cacttccatc agggcctac gctcgtgtgt cgtgtgtac atgtctttg
3241 gtgcaggtcc gtccacaga tgaatttac cgtgtgcgcc cgcggggggg caaaccgata
3301 ccgcctcgt gtgatgaag ataaccaga cgtgtgtgt ttggggcccg ccagaccgcc
3361 ccccggggg ggcctggacc ccccaagccc ggtctgtcta cgtcaatata atcgaaggtc
3421 gggcgtgttc cttcccgccc atcccgccg ccatgagcc cgggtctatg aactcgaacg
3481 aggcctgaat ctgcttgagg gccctctggg acaccagat gcctcgtgt gtctcgttt
3541 ggtttctgta tctagcgttc gtccgccttc accaagagag atgcatttgc ggcctcgtga
3601 gtcccgagaa cagctgtgtg gccccgggga cctatctttt gaactacgac ggcgcatag
3661 tgtcagcgt gttcttgcaa taccctata cgaatacac ccgctcttc tgcagctat
3721 ccgttcaacg ccagaacctg gtccagctgt tccaggggga tccggtcac ttctgttacc
3781 aacggccggc cactggctc atcgtgggt ccagagctgt gctcccttc ctggccctcg
3841 gtctcatcgt ccgaacgct ctcctctccc gggcgccctg ccgatacaca caccocctgt
3901 ttctaacat caccacctg tgttttgtt ccatcatcgc cctgaaggag ctgtatttca
3961 tccctggcg ggcctcgcc cccaaaag cgaacacag ggcocccag ggcgtctca
4021 aaggtgtgtc ggggtctgc gggcgtgct gtccatcat ccttcctgt atcgcctgc
4081 gctctgcta tatcccgct gtggccgggg tggctcgtt ggccttgcg taagaacagg
4141 agattcagcg gcgcctgttt gatctgtgac gtaagccctc ttcgttga agaggcgac
4201 cagtccgac atcaaatata aataacgac ccgctcggg cctacgacn ctgcagctc
4261 gcatcaaat taaaatcgt ccagagccg atccggctc ggtctgtct gccctcccc
4321 cggcccgaca caggacgct cgtccagctt ccgatacac cacaccctac cgtgtgttc
4381 cgcacccccc cctacgctg tccggaagg cgaacacga cctgcgtat gtaattaaa

```

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US07/06113
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8): A61K 48/00(2006.01),39/395(2006.01) USPC: 514/44;424/130.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 514/44; 424/130.1 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	Endresz et al. Induction of human cytomegalovirus (HCMV)-glycoprotein B (gB)-specific neutralizing antibody and phosphoprotein 65 (pp65)-specific cytotoxic T lymphocyte responses by naked DNA immunization. Vaccine. 1999. Vol. 17, pages 50-58.	1-48
A	Alder et al. A Canarypox Vector Expressing Cytomegalovirus (CMV) Glycoprotein B Primes for Antibody Responses to a Live Attenuated CMV Vaccine (Towne). Journal of Infectious Diseases. 1999. Vol. 180. pages 843-6.	1-48
A	Marshall and Adler. Avidity Maturation following Immunization with Two Human Cytomegalovirus (CMV) Vaccines: A Live Attenuated Vaccine (Towne) and a Recombinant Glycoprotein Vaccine (gB/MF59). 2003. Vol. 16. No. 4. page 491-500.	1-48
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 04 January 2008 (04.01.2008)		Date of mailing of the international search report 23 JAN 2008
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner of Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer Michelle Hornig  Telephone No. 571-273-8300

フロントページの続き

(51)Int.Cl.	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 P 31/22 (2006.01)	A 6 1 P 31/22	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	A
C 1 2 N 7/04 (2006.01)	C 1 2 N 7/04	

(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,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MT,NL,PL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,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,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(74)代理人 100084663

弁理士 箱田 篤

(74)代理人 100093300

弁理士 浅井 賢治

(74)代理人 100114007

弁理士 平山 孝二

(74)代理人 100136249

弁理士 星野 貴光

(72)発明者 スペクター デボラ エイチ

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 3 7 ラ ジョラ シュガーマン コート 2 8 8 5

(72)発明者 モレロ クリストファー エス

アメリカ合衆国 カリフォルニア州 9 2 0 0 9 カールスバッド アヴェニダ トローニャ 2
1 6 0

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA32 BA33 BA35 CA01 CA11 EA04 HA17

4B065 AA95Y AA96Y AA97Y BA14 BA30 BD13 BD28 CA45

4C084 AA13 NA14 ZB332

4C085 AA03 BA65 BA75 BA78 BA83 BA87 CC08 DD03 EE01