

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7599412号
(P7599412)

(45)発行日 令和6年12月13日(2024.12.13)

(24)登録日 令和6年12月5日(2024.12.5)

(51)国際特許分類		F I	
A 0 1 N	65/36 (2009.01)	A 0 1 N	65/36
A 0 1 N	33/04 (2006.01)	A 0 1 N	33/04
A 0 1 P	3/00 (2006.01)	A 0 1 P	3/00
A 6 1 K	47/46 (2006.01)	A 6 1 K	47/46
A 6 1 K	9/10 (2006.01)	A 6 1 K	9/10
請求項の数 11 (全175頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2021-514310(P2021-514310)	(73)特許権者	520445473
(86)(22)出願日	令和1年5月15日(2019.5.15)		フラッグシップ パイオニアリング イノ
(65)公表番号	特表2021-528484(P2021-528484		ベーションズ シックス, エルエルシー
	A)		アメリカ合衆国マサチューセッツ州02
(43)公表日	令和3年10月21日(2021.10.21)		142, ケンブリッジ, ケンブリッジ・
(86)国際出願番号	PCT/US2019/032473		パークウェイ 55, エイス・フロア
(87)国際公開番号	WO2019/222390	(74)代理人	110002077
(87)国際公開日	令和1年11月21日(2019.11.21)		園田・小林弁理士法人
審査請求日	令和4年5月10日(2022.5.10)	(72)発明者	ファン ローイエン, マリア ヘレナ ク
(31)優先権主張番号	62/672,022		リスティネ
(32)優先日	平成30年5月15日(2018.5.15)		アメリカ合衆国 02138 マサチュー
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		セッツ, ケンブリッジ, バンクス ス
前置審査		(72)発明者	トリート 35, アpartment 2
			マーティン, バリー アンドリュウ
			アメリカ合衆国 02108 マサチュー
			最終頁に続く

(54)【発明の名称】 病原体防除組成物及びその使用

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】
複数の植物メッセンジャーパック（PMP）を含む病原体防除組成物であって、前記PMPはアントラサイクリン系抗生物質を含み、組成物は動物の病原体への送達のために製剤化されており、前記PMPは、柑橘類植物により分泌され、精製された細胞外小胞を含む脂質構造である、病原体防除組成物。

【請求項2】
複数のPMPが、再構成されている、請求項1に記載の病原体防除組成物。

【請求項3】
アントラサイクリン系抗生物質がドキソルビシンである、請求項1に記載の病原体防除組成物。

【請求項4】
病原体が、細菌である、請求項1に記載の病原体防除組成物。

【請求項5】
細菌が、シュードモナス属（Pseudomonas）種である、請求項4に記載の病原体防除組成物。

【請求項6】
動物における病原体による感染又は寄生を予防する又は治療する方法であって、前記方法が、アントラサイクリン系抗生物質を含む複数のPMPを含みかつ動物の病原体への送達のために製剤化されている病原体防除組成物の有効量を動物に投与することを含み、前

記PMPは、柑橘類植物により分泌され、精製された細胞外小胞を含む脂質構造であり、治療された前記動物において、病原体による感染又は寄生の可能性又は重篤度が、前記病原体防除組成物により治療されていない参照動物と比較して低減され、動物が獣医学対象動物又は家畜動物である、方法。

【請求項7】

病原体防除組成物は、(a)動物に局所投与、経口投与、静脈内投与、又は皮下投与される；又は(b)病原体若しくはそのベクターが成長、生息、繁殖、摂食、又は寄生する少なくとも1つの生息場所へ送達される、請求項6に記載の方法。

【請求項8】

病原体による摂取のための摂食可能組成物として送達される、請求項6に記載の方法。

【請求項9】

病原体による感染又は寄生が細菌による感染である、請求項6に記載の方法。

【請求項10】

細菌が、シュードモナス属(Pseudomonas)種である、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

アントラサイクリン系抗生物質がドキソルビシンである、請求項6に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【背景技術】

【0001】

動物病原体(例えば、細菌、真菌、寄生体又はウイルス)を含む病原体は、ヒト及び動物に深刻な疾患を引き起こす。動物病原体又はそれらのベクターを防除するために多数の手段が使用されているが、安全且つ効果的な病原体防除戦略に対する需要が高まっている。従って、動物病原体を防除するための新規の方法及び組成物が当技術分野において求められている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0002】

本明細書には、感染の処置を、それを必要とする動物において行うか、感染を、そのリスクがある動物において予防するか、又は病原体(例えば、動物病原体)若しくはそれらのベクターの適応度を低減させる方法に有用である、複数の植物メッセンジャーパックを含む病原体防除組成物が開示される。

【0003】

一態様では、本開示は、複数の植物メッセンジャーパック(PMP)を含む病原体防除組成物を特徴とし、ここで、本組成物は、動物への送達のために製剤化され、本組成物は、wt/volにより測定して少なくとも5%のPMP、パーセントPMPタンパク質組成物及び/又はパーセント脂質組成物(例えば、蛍光標識脂質を測定することによる)を含む。

【0004】

別の態様では、本開示は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を特徴とし、ここで、本組成物は、動物病原体への送達のために製剤化され、本組成物は、少なくとも5%のPMPを含む。

【0005】

また別の態様では、本開示は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を特徴とし、ここで、本組成物は、動物病原体ベクターへの送達のために製剤化され、本組成物は、少なくとも5%のPMPを含む。

【0006】

さらに別の態様では、本開示は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を特徴とし、ここで、本組成物は、室温で少なくとも1日間にわたって安定しており、且つ/又は4℃で少なくとも1週間にわたって安定している。

10

20

30

40

50

【0007】

病原体防除組成物の一部の実施形態では、組成物中の複数のPMPは、動物病原体又は動物病原体ベクターの適応度を低減させるのに有効な濃度である。一部の実施形態では、組成物中の複数のPMPは、病原体に感染した動物の感染を処置するのに有効な濃度である。他の実施形態では、組成物中の複数のPMPは、病原体への感染のリスクがある動物の感染を予防するのに有効な濃度である。

【0008】

別の態様では、本開示は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を特徴とし、ここで、組成物中の複数のPMPは、動物病原体の適応度を低減させるのに有効な濃度である。

【0009】

また別の態様では、本開示は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を特徴とし、ここで、組成物中の複数のPMPは、動物病原体ベクターの適応度を低減させるのに有効な濃度である。

【0010】

さらに別の態様では、本開示は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を特徴とし、ここで、組成物中の複数のPMPは、病原体に感染した動物の感染を処置するのに有効な濃度である。

【0011】

さらにまた別の態様では、本開示は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を特徴とし、ここで、組成物中の複数のPMPは、病原体に感染するリスクがある動物の感染を予防するのに有効な濃度である。

【0012】

病原体防除組成物の一部の実施形態では、組成物中の複数のPMPは、少なくとも0.01ng、0.1ng、1ng、2ng、3ng、4ng、5ng、10ng、50ng、100ng、250ng、500ng、750ng、1μg、10μg、50μg、100μg又は250μg PMPタンパク質/mLの濃度である。一部の実施形態では、複数のPMPは、追加的な病原体防除剤をさらに含む。

【0013】

別の態様では、本開示は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を特徴とし、ここで、複数のPMPの各々は、異種病原体防除剤を含み、組成物は、農業若しくは獣医学対象動物病原体又はそれらのベクターへの送達のために製剤化される。

【0014】

病原体防除組成物の一部の実施形態では、異種病原体防除剤は、抗菌剤、例えばドキソルピシン、抗真菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、殺虫剤、殺線虫剤、抗寄生虫剤又は昆虫忌避剤である。一部の実施形態では、抗菌剤は、抗生物質、例えばバンコマイシン、ペニシリン、セファロスポリン、モノバクタム、カルバペネム、マクロライド、アミノグリコシド、キノロン、スルホンアミド、テトラサイクリン、グリコペプチド、リポグリコペプチド、オキサゾリジノン、リファマイシン、ツベルアクチノマイシン、クロラムフェニコール、メトロニダゾール、チニダゾール、ニトロフラントイン、テイコプラニン、テラバンシン、リネゾリド、シクロセリン2、バシトラシン、ポリミキシンB、バイオマイシン又はカプレオマイシンである。

【0015】

病原体防除組成物の一部の実施形態では、抗真菌剤は、アリルアミン、イミダゾール、トリアゾール、チアゾール、ポリエン又はエキノカンジンである。

【0016】

病原体防除組成物の一部の実施形態では、殺虫剤は、クロロニコチニル、ネオニコチノイド、カルバメート、有機リン酸エステル、ピレトロイド、オキサジアジン、スピノシン、シクロジエン、有機塩素、フィプロール、メクチン、ジアシルヒドラジン、ベンゾイル尿素、有機スズ、ピロール、ジニトロテルペノール、METI、テトロン酸、テトラミン酸又はフタルアミドである。

10

20

30

40

50

【0017】

病原体防除組成物の一部の実施形態では、異種病原体防除剤は、小分子（例えば、抗生物質若しくは二次代謝物）、核酸（例えば、阻害性RNA）又はポリペプチドである。

【0018】

病原体防除組成物の一部の実施形態では、異種病原体防除剤は、複数のPMPの各々によって封入されるか；複数のPMPの各々の表面に埋め込まれるか；又は複数のPMPの各々の表面に共役される。一部の実施形態では、複数のPMPの各々は、追加的な病原体防除剤をさらに含む。

【0019】

一部の実施形態では、病原体は、細菌（例えば、シュードモナス属（*Pseudomonas*）種（例えば、緑膿菌（*Pseudomonas aeruginosa*））、エスケリキア属（*Escherichia*）種（例えば、大腸菌（*Escherichia coli*））、ストレプトコッカス属（*Streptococcus*）種、肺炎球菌属（*Pneumococcus*）種、シゲラ属（*Shigella*）種、サルモネラ属（*Salmonella*）種若しくはカンピロバクター属（*Campylobacter*）種）、真菌（例えば、サッカロミセス属（*Saccharomyces*）種若しくはカンジダ属（*Candida*）種）、寄生昆虫（例えば、キメクス属（*Cimex*）種）、寄生線虫（例えば、ヘリグモソモイデス属（*Heligmosomoides*）種）又は寄生原虫（例えば、トリコモナス属（*Trichomonas*）種）である。

【0020】

病原体防除組成物の一部の実施形態では、ベクターは、蚊、マダニ、ダニ又はシラミである。

【0021】

病原体防除組成物の一部の実施形態では、組成物は、室温で少なくとも1日間にわたって安定しており、且つ／若しくは4℃で少なくとも1週間にわたって安定しているか；4℃で少なくとも24時間、48時間、7日間若しくは30日間にわたって安定しているか；又は少なくとも20℃、24℃若しくは37℃の温度で安定している。

【0022】

病原体防除組成物の一部の実施形態では、組成物中の複数のPMPは、動物病原体若しくは動物病原体ベクターの適応度を低減させるのに有効な濃度；病原体に感染した動物の感染を処置するのに有効な濃度；又は病原体への感染のリスクがある動物の感染を予防するのに有効な濃度である。

【0023】

一部の実施形態では、組成物中の複数のPMPは、少なくとも0.01ng、0.1ng、1ng、2ng、3ng、4ng、5ng、10ng、50ng、100ng、250ng、500ng、750ng、1μg、10μg、50μg、100μg又は250μg PMPタンパク質/mLの濃度である。

【0024】

一部の実施形態では、組成物は、農業的に許容可能な担体又は薬学的に許容可能な担体を含む。一部の実施形態では、組成物は、PMPを安定化するために製剤化される。一部の実施形態では、組成物は、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル又は気体組成物として製剤化される。一部の実施形態では、組成物は、少なくとも5%のPMPを含む。

【0025】

別の実施形態では、本開示は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を特徴とし、ここで、PMPは、（a）植物又はその部分から初期サンプルを提供するステップであって、植物又はその部分は、EVを含む、ステップ；（b）初期サンプルから粗PMP画分を単離するステップであって、粗PMP画分は、初期サンプル中のレベルに対して、植物又はその部分からの少なくとも1つの混入物又は不要な成分の低減したレベルを有する、ステップ；（c）粗PMP画分を精製し、それにより複数の純粋なPMPを生成するステップであって、複数の純粋なPMPは、粗EV画分中のレベルに対して、植物又はその部分か

10

20

30

40

50

らの少なくとも1つの混入物又は不要な成分の低減したレベルを有する、ステップ；（d）ステップ（c）の複数のPMPに病原体防除薬剤をロードするステップ；及び（e）ステップ（d）のPMPを農業若しくは獣医学対象動物病原体又はそのベクターへの送達のために製剤化するステップを含むプロセスによって植物から単離される。

【0026】

別の態様において、本開示は、本明細書に記載される病原体防除組成物のいずれか1つを含む動物病原体を特徴とする。

【0027】

別の態様において、本開示は、本明細書に記載される病原体防除組成物のいずれか1つを含む動物病原体ベクターを特徴とする。

【0028】

また別の態様では、本開示は、病原体防除組成物を動物に送達する方法を特徴とし、これは、本明細書に記載される病原体防除組成物のいずれか1つを動物に投与するステップを含む。

【0029】

さらに別の実施形態では、本開示は、感染の処置を、それを必要とする動物において行う方法を特徴とし、ここで、本方法は、有効量の、本明細書に記載される組成物のいずれか1つを動物に投与するステップを含む。

【0030】

さらにまた別の実施形態では、本開示は、感染を、そのリスクがある動物において予防する方法を特徴とし、ここで、本方法は、有効量の、本明細書に記載される病原体防除組成物のいずれか1つを動物に投与するステップを含み、本方法は、非処置動物に対して動物の感染の可能性を低減させる。

【0031】

前述した方法の一部の実施形態では、感染は、病原体によって引き起こされ、且つ病原体は、細菌（例えば、シュードモナス属（*Pseudomonas*）種、エスキリア属（*Escherichia*）種、ストレプトコッカス属（*Streptococcus*）種、肺炎球菌属（*Pneumococcus*）種、シゲラ属（*Shigella*）種、サルモネラ属（*Salmonella*）種若しくはカンピロバクター属（*Campylobacter*）種）、真菌（例えば、サッカロミセス属（*Saccharomyces*）種若しくはカンジダ属（*Candida*）種）、ウイルス、寄生昆虫（例えば、キメクス属（*Cimex*）種）、寄生線虫（例えば、ヘリグモソモイデス属（*Heligmosomoides*）種）又は寄生原虫（例えば、トリコモナス属（*Trichomonas*）種）である。

【0032】

一部の実施形態では、病原体防除組成物は、動物に経口、静脈内又は皮下投与される。

【0033】

別の態様では、本開示は、病原体防除組成物を病原体に送達する方法を特徴とし、これは、病原体を、本明細書に記載の病原体防除組成物のいずれか1つと接触させるステップを含む。

【0034】

別の態様では、本開示は、病原体の適応度を低減させる方法を特徴とし、ここで、本方法は、本明細書に記載の病原体防除組成物のいずれか1つを病原体に送達するステップを含み、本方法は、非処置病原体に対して病原体の適応度を低減させる。

【0035】

一部の実施形態では、本方法は、病原体が成長、生息、繁殖、摂食又は寄生する少なくとも1つの生息場所に組成物を送達するステップを含む。一部の実施形態では、本組成物は、病原体による摂食のための病原体摂食可能組成物として送達される。

【0036】

前述した方法の一部の実施形態では、病原体は、細菌（例えば、シュードモナス属（*P*

10

20

30

40

50

seudomonas) 種、エスケリキア属 (*Escherichia*) 種、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus*) 種、肺炎球菌属 (*Pneumococcus*) 種、シゲラ属 (*Shigella*) 種、サルモネラ属 (*Salmonella*) 種若しくはカンピロバクター属 (*Campylobacter*) 種)、真菌 (例えば、サッカロミセス属 (*Saccharomyces*) 種若しくはカンジダ属 (*Candida*) 種)、寄生虫 (例えば、キメクス属 (*Cimex*) 種)、寄生線虫 (例えば、ヘリグモソモイデス属 (*Heligmosomoides*) 種) 又は寄生原虫 (例えば、トリコモナス属 (*Trichomonas*) 種) である。

【0037】

一部の実施形態では、組成物は、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル又は気体として送達される。

10

【0038】

別の態様では、本開示は、動物病原体ベクターの適応度を低減させる方法の特徴とし、ここで、本方法は、有効量の、本明細書に記載の病原体防除組成物のいずれか1つをベクターに送達するステップを含み、本方法は、非処置ベクターに対して上記ベクターの適応度を低減させる。

【0039】

一部の実施形態では、本方法は、ベクターが成長、生息、繁殖、摂食又は寄生する少なくとも1つの生息場所に組成物を送達するステップを含む。一部の実施形態では、本組成物は、ベクターによる摂食のための摂食可能組成物として送達される。一部の実施形態では、ベクターは、昆虫、例えば蚊、マダニ、ダニ又はシラミである。一部の実施形態では、組成物は、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル又は気体として送達される。

20

【0040】

別の態様では、本開示は、真菌感染を有する動物を処置する方法の特徴とし、ここで、本方法は、有効量の、複数のPMPを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含む。

【0041】

別の態様では、本開示は、真菌感染を有する動物を処置する方法の特徴とし、ここで、本方法は、有効量の、複数のPMPを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含み、複数のPMPは、抗真菌剤を含む。

30

【0042】

一部の実施形態では、抗真菌剤は、真菌感染を引き起こす真菌の遺伝子の発現を阻害する核酸である。一部の実施形態では、遺伝子は、フィラメント成長促進タンパク質 (*Enhanced Filamentous Growth Protein*) (*EFG1*) である。一部の実施形態では、真菌感染は、カンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*) によって引き起こされる。

【0043】

一部の実施形態では、組成物は、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) 由来のPMPを含む。

【0044】

一部の実施形態では、本方法は、真菌感染を低減するか又は実質的に排除する。

40

【0045】

別の態様では、本開示は、細菌感染を有する動物を処置する方法の特徴とし、ここで、本方法は、有効量の、複数のPMPを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含む。

【0046】

別の態様では、本開示は、細菌感染を有する動物を処置する方法の特徴とし、ここで、本方法は、有効量の、複数のPMPを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含み、複数のPMPは、抗菌剤を含む。

【0047】

50

一部の実施形態では、抗菌剤は、アムホテリシンBである。

【0048】

一部の実施形態では、細菌は、シュードモナス属 (*Pseudomonas*) 種、エスキリア属 (*Escherichia*) 種、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus*) 種、肺炎球菌属 (*Pneumococcus*) 種、シゲラ属 (*Shigella*) 種、サルモネラ属 (*Salmonella*) 種又はカンピロバクター属 (*Campylobacter*) 種である。

【0049】

一部の実施形態では、組成物は、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) 由来のPMPを含む。

【0050】

一部の実施形態では、本方法は、細菌感染を低減するか又は実質的に排除する。

【0051】

一部の実施形態では、動物は、獣医学対象動物又は家畜動物である。

【0052】

別の態様では、本開示は、寄生昆虫の適応度を低減させる方法の特徴とし、ここで、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生昆虫に送達するステップを含む。

【0053】

別の態様では、本開示は、寄生昆虫の適応度を低減させる方法の特徴とし、ここで、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生昆虫に送達するステップを含み、複数のPMPは、殺虫剤を含む。

【0054】

一部の実施形態では、殺虫剤は、ペプチド核酸である。

【0055】

一部の実施形態では、寄生虫は、トコジラミである。

【0056】

一部の実施形態では、本方法は、非処置寄生昆虫に対して寄生昆虫の適応度を低減させる。

【0057】

別の態様では、本開示は、寄生線虫の適応度を低減させる方法の特徴とし、ここで、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生線虫に送達するステップを含む。

【0058】

別の態様では、本開示は、寄生線虫の適応度を低減させる方法の特徴とし、ここで、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生線虫に送達するステップを含み、複数のPMPは、殺線虫剤を含む。

【0059】

一部の実施形態では、寄生線虫は、ヘリグモソモイデス・ポリギルス (*Heligmosomoides polygyrus*) である。

【0060】

一部の実施形態では、本方法は、非処置寄生線虫に対して寄生線虫の適応度を低減させる。

【0061】

別の態様では、本開示は、寄生原虫の適応度を低減させる方法の特徴とし、ここで、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生原虫に送達するステップを含む。

【0062】

別の態様では、本開示は、寄生原虫の適応度を低減させる方法の特徴とし、ここで、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生原虫に送達するステップを含み、複数のPMPは、抗寄生虫剤を含む。

【0063】

一部の実施形態では、寄生原虫は、膺トリコモナス (*T. vaginalis*) である。

10

20

30

40

50

【0064】

一部の実施形態では、本方法は、非処置寄生原虫に対して寄生原虫の適応度を低減させる。

【0065】

別の態様では、本開示は、動物病原体の昆虫ベクターの適応度を低減させる方法の特徴とし、ここで、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物をベクターに送達するステップを含む。

【0066】

別の態様では、本開示は、動物病原体の昆虫ベクターの適応度を低減させる方法の特徴とし、ここで、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物をベクターに送達するステップを含み、複数のPMPは、殺虫剤を含む。

10

【0067】

一部の実施形態では、本方法は、非処置ベクターに対してベクターの適応度を低減させる。一部の実施形態では、昆虫は、蚊、マダニ、ダニ又はシラミである。

【0068】

本発明の他の特徴及び利点は、以下の詳細な説明及び特許請求の範囲から明らかになるであろう。

【0069】

定義

本明細書で使用されるとき、用語「動物」は、ヒト、家畜、農場動物又は獣医学対象哺乳動物（例えば、イヌ、ネコ、ウマ、ウサギ、動物園動物、ウシ、ブタ、ヒツジ、ニワトリ及びヒト以外の霊長類を含む）を指す。

20

【0070】

本明細書で使用されるとき、「病原体の適応度を低減させる」は、限定されないが、以下の所望の効果：（１）病原体の個体群の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少；（２）病原体の繁殖率の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少；（３）病原体の移動性の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少；（４）病原体の体重若しくは質量の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少；又は（５）病原体の代謝率又は活動の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える低減；又は（６）病原体による病原体伝染（例えば、１つの昆虫から別の昆虫への病原体の垂直若しくは水平伝染）の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少のいずれか１つ以上を含め、本明細書に記載される病原体防除組成物の投与がもたらす結果としての病原体の生理機能のいずれかの破綻を指す。病原体適応度の低減は、例えば、非処置病原体と比較して決定することができる。

30

【0071】

本明細書で使用されるとき、「ベクターの適応度を低減させる」は、限定されないが、以下の所望の効果：（１）ベクターの個体群の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少；（２）ベクター（例えば、昆虫、例えば蚊、マダニ、ダニ又はシラミ）の繁殖率の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少；（３）ベクター（例えば、昆虫、例えば蚊、マダニ、ダニ又はシラミ）の移動性の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少；（４）ベクター（例えば、昆虫、例えば蚊、マダニ、ダニ又はシラミ）の体重の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９

40

50

％、１００％若しくはそれを超える減少；（５）ベクター（例えば、昆虫、例えば蚊、マダニ、ダニ又はシラミ）の代謝率又は活動の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える増加；（６）ベクター（例えば、昆虫、例えば蚊、マダニ、ダニ又はシラミ）によるベクター－ベクター病原体伝染（例えば、１つの昆虫から別の昆虫へのベクターの垂直若しくは水平伝染）の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少；（７）ベクター－動物病原体伝染の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少；（８）ベクター（例えば、昆虫、例えば蚊、マダニ、ダニ又はシラミ）寿命の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える減少；（９）農薬（例えば、殺虫剤）に対するベクター（例えば、昆虫、例えば蚊、マダニ、ダニ又はシラミ）感受性の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える増大；又は（１０）ベクター（例えば、昆虫、例えば蚊、マダニ、ダニ又はシラミ）によるベクター競合性の約１０％、２０％、３０％、４０％、５０％、６０％、７０％、８０％、９０％、９５％、９９％、１００％若しくはそれを超える低減のいずれか１つ以上を含め、本明細書に記載されるベクター防除組成物の投与がもたらす結果としてのベクターの生理機能又は前記ベクターにより実施される任意の活動のいずれかの破綻を指す。ベクター適応度の低減は、例えば、非処置ベクターと比較して決定することができる。

【００７２】

本明細書で使用されるとき、用語「動物への送達のために製剤化される」とは、薬学的に許容可能な担体を含む病原体防除組成物を指す。

【００７３】

本明細書で使用されるとき、用語「病原体への送達のために製剤化される」とは、薬学的に許容可能な担体又は農業的に許容可能な担体を含む病原体防除組成物を指す。

【００７４】

本明細書で使用されるとき、用語「ベクターへの送達のために製剤化される」とは、農業的に許容可能な担体を含む病原体防除組成物を指す。

【００７５】

本明細書で使用されるとき、用語「感染」は、動物（例えば、動物の１つ若しくは複数の部分）体内、動物（例えば、動物の１つ若しくは複数の部分）身体上又は動物周囲の生息場所における病原体の存在又はそのコロニー形成を指し、特に例えば疾患、疾患症状又は免疫（例えば、炎症）反応を引き起こすことにより、その感染が動物の適応度を低減させる場合を指す。

【００７６】

本明細書で使用されるとき、用語「核酸」及び「ポリヌクレオチド」は、置き換え可能であり、長さ（例えば、少なくとも２、３、４、５、６、７、８、９、１０、２０、３０、４０、５０、１００、１５０、２００、２５０、５００、１０００又はそれを超える核酸）とは関係なく、直鎖状若しくは分岐、一本鎖若しくは二本鎖のRNA若しくはDNA又はそれらのハイブリッドを指す。この用語は、RNA／DNAハイブリッドも包含する。ヌクレオチドは、典型的に、リン酸ジエステル結合により核酸中で連結されるが、用語「核酸」は、他のタイプの結合又は骨格（例えば、中でも、ホスホロアミド、ホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、Ｏ－メチルホスホロアミダート、モルホリノ、ロックド核酸（LNA）、グリセロール核酸（GNA）、トレオース核酸（TNA）及びペプチド核酸（PNA）結合又は骨格）を有する核酸類似体も包含する。核酸は、一本鎖、二本鎖であり得るか、又は一本鎖及び二本鎖配列の両方の部分を含み得る。核酸は、デオキシリボヌクレオチド及びリボヌクレオチドの任意の組合せ並びに例えばアデニン、チミン、シトシン、グアニン、ウラシル及び修飾若しくは非標準塩基（例えば、ヒポキサンチン、キサンチン、７－メチルグアニン、５，６－ジヒドロウラシル、５－メチルシトシン及び

5 ヒドロキシメチルシトシンを含む)をはじめとする塩基の任意の組合せを含み得る。

【0077】

本明細書で使用されるとき、用語「病原体」は、例えば、(i) 動物に直接感染することにより、(ii) 動物に疾患若しくは疾患症状を引き起こす物質を産生する(例えば、病原性毒素などを産生する細菌)ことにより、且つ／又は(iii) 動物に免疫(例えば、炎症反応)を誘発する(例えば、刺咬昆虫、例えばトコジラミ)ことにより、動物に疾患又は疾患症状を引き起こす微生物又は無脊椎動物などの生物を指す。本明細書で使用されるとき、病原体は、限定されないが、細菌、原虫、寄生体、真菌、線虫、昆虫、ウィロイド及びウイルス又はそれらの組合せを含み、この場合、各病原体は、単独で又は別の病原体と共同でヒトに疾患又は症状を誘発し得る。

10

【0078】

本明細書で使用されるとき、用語「病原体防除組成物」は、複数の植物メッセンジャー(PMP)パックを含む抗菌剤、抗真菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、抗寄生虫剤(例えば、殺蠕虫薬)、寄生虫駆除剤、抗寄生虫剤、殺虫剤、殺線虫剤又はベクター忌避剤組成物を指す。複数のPMPの各々は、病原体防除剤、例えば異種病原体防除剤を含み得る。

【0079】

本明細書で使用されるとき、用語「ペプチド」、「タンパク質」又は「ポリペプチド」は、長さ(例えば、少なくとも2、3、4、5、6、7、10、12、14、16、18、20、25、30、40、50、100アミノ酸又はそれを超える)、翻訳後修飾(例えば、グリコシル化又はリン酸化)の有無又は例えばペプチドに共有結合的に連結した1つ以上の非アミノアシル基(例えば、糖、脂質等)の存在に関わらず、天然に存在する又は天然に存在しないアミノ酸鎖(D-アミノ酸又はL-アミノ酸のいずれも)を包含し、例えば天然タンパク質、合成若しくは組換えのポリペプチド及びペプチド、ハイブリッド分子、ペプチド又はペプチドミメティクスが含まれる。

20

【0080】

本明細書で使用されるとき、2つの配列間の「パーセント同一性」は、Altschul et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410に記載されるBLAST 2.0アルゴリズムによって決定される。BLAST解析の実行用ソフトウェアは、国立バイオテクノロジー情報センター(National Center for Biotechnology Information)を通して公的に利用可能である。

30

【0081】

本明細書で使用されるとき、用語「病原体防除剤」は、昆虫、軟体動物、線虫、真菌、細菌又はウイルスなどの農業、環境又は家庭／住居病原体又は病原体ベクターの適応度を制御するか又は低減させる(例えば、殺傷するか、又は成長、繁殖、分裂、生殖若しくは拡大を阻害する)薬剤、組成物又はそれに含まれる物質を指す。病原体防除剤は、天然に存在するか又は合成の殺虫剤(幼虫駆除剤若しくは成虫駆除剤)、昆虫成長調節物質、殺ダニ剤(ダニ駆除剤)、軟体動物駆除剤、殺線虫剤、外部寄生生物撲滅薬、殺菌剤、殺真菌剤又は除草剤を包含するものと理解される。用語「病原体防除剤」は、抗生物質、抗ウイルス薬、農薬、抗真菌薬、抗寄生虫剤、栄養素及び／又は病原体若しくは病原体ベクターの運動を停止又は緩徐にする薬剤をさらに包含し得る。一部の例では、病原体防除剤は、アレロケミカルである。本明細書で使用されるとき、「アレロケミカル」又は「アレロケミカル薬剤」は、別の生物(例えば、病原体又は病原体ベクター)の生理学的機能(例えば、発芽、成長、生存又は繁殖)に影響を及ぼすことができる生物(例えば、植物)によって産生される物質である。

40

【0082】

病原体防除剤は、異種であり得る。本明細書で使用されるとき、用語「異種」は、(1) 植物に対して外来性である(例えば、PMPが産生される植物若しくは植物部分ではな

50

い起源に由来する) (例えば、本明細書に記載のロード手法により添加される) か、又は (2) PMPが産生される植物細胞若しくは組織に対して内在性であるが、天然に存在するより高い (例えば、天然に存在する植物細胞外小胞中に存在する濃度より高い) 濃度でPMP中に存在する (例えば、本明細書に記載のロード手法、遺伝子操作、インビトロ若しくはインビボ手法を用いてPMPに添加される) かのいずれかである薬剤 (例えば、病原体防除剤) を指す。

【0083】

本明細書で使用されるとき、用語「植物」は、全植物、植物器官、植物組織、種子、植物細胞、種子及びその子孫を指す。植物細胞には、限定なしに、種子、浮遊培養物、胚、分裂組織領域、カルス組織、葉、根、シュート、配偶体、孢子体、花粉又は小胞子の細胞が含まれる。植物部位には、限定はされないが、根、茎、シュート、葉、花粉、種子、果実、収穫物、腫瘍組織、樹液及び様々な形態の細胞及び培養物 (例えば、単細胞、プロトプラスト、胚及びカルス組織) を含めた、分化した及び未分化の組織が含まれる。植物組織は、植物のものであるか、又は植物器官、組織若しくは細胞培養物のものであり得る。加えて、植物は、例えば、本明細書に記載の方法又は組成物におけるいずれかの病原体防除組成物の異種タンパク質若しくはRNAを生産するように遺伝子操作され得る。

【0084】

本明細書で使用されるとき、用語「植物細胞外小胞」、「植物EV」又は「EV」は、植物中に天然に存在する内包脂質二重層構造を指す。任意選択で、植物EVは、1つ又は複数の植物EVマーカを含む。本明細書で使用されるとき、用語「植物EVマーカ」は、植物タンパク質、タンパク質核酸、植物小分子、植物脂質又はそれらの組合せなどの天然に植物に付随する成分を指し、限定されないが、付録に列挙する植物EVマーカのいずれかを含む。一部の例では、植物EVマーカは、植物EVマーカの識別マーカであるが、農業用薬剤ではない。一部の例では、植物EVマーカは、植物EVマーカの識別マーカであり、且つ農業用薬剤でもある (例えば、複数のPMPと結合しているか若しくはそれらに封入されているか、又は複数のPMPと直接結合していないか若しくはそれらに封入されていない)。

【0085】

本明細書で使用されるとき、用語「植物メッセンジャーパック」又は「PMP」は、直径が約5~2000nm (例えば、少なくとも5~1000nm、少なくとも5~500nm、少なくとも400~500nm、少なくとも25~250nm、少なくとも50~150nm又は少なくとも70~120nm) の脂質構造 (例えば、脂質二重層、単層、多層構造; 例えば、小胞脂質構造) を指し、これは、それらに結合した脂質若しくは非脂質成分 (例えば、ペプチド、核酸若しくは小分子) を含め、植物起源又はその断片、部分若しくは抽出物から得られ (例えば、濃縮、単離若しくは精製され)、植物、植物部分又は植物細胞から濃縮、単離若しくは精製されており、この場合、濃縮又は単離は、起源植物から1つ若しくは複数の混入物又は不要な要素を除去することである。PMPは、天然に存在するEVの高度に精製された調製物であり得る。好ましくは、起源植物からの混入物又は不要な要素、起源植物からの1つ若しくは複数の混入物又は不要な要素、例えば植物細胞壁要素; ペクチン; 植物オルガネラ (例えば、ミトコンドリア; 葉緑体、白色体若しくはアミロプラストなどの色素体; 及び核); 植物クロマチン (例えば、植物染色体); 又は植物分子凝集体 (例えば、タンパク質凝集体、タンパク質-核酸凝集体、リポタンパク質凝集体若しくは脂質-タンパク質構造) の少なくとも1% (例えば、少なくとも2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、98%、99%若しくは100%) が除去される。好ましくは、PMPは、重量 (w/w)、スペクトルイメージング (%透過率) 又は伝導率 (S/m) により測定した場合、起源植物からの1つ若しくは複数の混入物又は不要な要素に対して、少なくとも30%純粋 (例えば、少なくとも40%純粋、少なくとも50%純粋、少なくとも60%純粋、少なくとも70%純粋、少なくとも80%純粋、少なくとも90%純粋、少なくとも99%純粋若しくは少なくとも100%純

10

20

30

40

50

粹)である。

【0086】

PMPは、任意選択で、異種機能性薬剤、例えば病原体防除剤、忌避剤、ポリヌクレオチド、ポリペプチド又は小分子などの追加的な薬剤を含み得る。PMPは、薬剤を標的植物に送達することを可能にする様々な方法において、例えば薬剤の封入、脂質二重層構造内への薬剤の組み込み又は脂質二重層構造の表面と薬剤の結合(例えば、共役)により、追加的な薬剤(例えば異種機能性薬剤)を担持させるか又はそれらと結合させることができる。異種機能性薬剤は、インビボ(例えば、植物中に)又はインビトロ(例えば、組織細胞中、細胞培養物中に若しくは合成により組み込んで)のいずれかでPMPに組み込むことができる。本明細書で使用されるとき、用語「忌避剤」は、病原体ベクター(例えば、昆虫、例えば蚊、マダニ、ダニ又はシラミ)が動物に接近又はそこに残留することを防ぐ薬剤、組成物又はそれらに含まれる物質を指す。忌避剤は、例えば、動物上又はその近傍の病原体ベクターの数を減少させ得るが、必ずしも病原体ベクターを殺傷するか又はその適応度を低減させるわけではない。

10

【0087】

本明細書で使用されるとき、用語「処置」は、予防及び／又は治療目的で動物に医薬組成物を投与することを指す。「感染を予防すること」は、依然として病気ではないが、特定の疾患に罹患しやすいか又はそうでなければそのリスクがある動物の予防的処置を指す。「感染を処置すること」は、動物の状態を改善又は安定化するために、既に罹患した動物に対して処置を施すことを指す。

20

【0088】

本明細書で使用されるとき、用語「感染を処置する」とは、個体の状態を改善又は安定化するために、既にある疾患に罹患した個体に対して処置を施すことを指す。これは、初期量と比較して、動物体内、身体上若しくは周囲の1つ若しくは複数の病原体による病原体のコロニー形成を(例えば、約1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%若しくは100%)低減すること及び／又は個体に対する利益(例えば、症状の分利に十分な量のコロニー形成の減少)を可能にすることを含み得る。このような例では、感染処置は、症状の低減(例えば、約1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又は100%)として現れ得る。一部の例では、個体の生存の可能性を増加する(例えば、約1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%若しくは100%の増加)か、又は個体群の全生存率を増加する(例えば、約1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%若しくは100%の増加)上で有効である。例えば、組成物及び方法は、感染を「実質的に排除する」上で有効であり得るが、これは、動物の症状を持続可能に(例えば、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11又は12ヶ月にわたって)分利する上で十分な量の感染の低減を指す。

30

【0089】

本明細書で使用されるとき、用語「感染を予防する」とは、初期病原体個体群(例えば、健康な個体に存在する大まかな量)を維持するのに十分な量で動物体内、身体上若しくは周囲の1つ若しくは複数の病原体によるコロニー形成の増加を(例えば、約1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%若しくは100%超)予防し、感染の発症を予防し、且つ／又は感染に関連する症状若しくは状態を予防することを指す。例えば、免疫不全個体(例えば、癌、HIV／AIDSを有するか若しくは免疫抑制剤を摂取している個体)又は長期抗生物質療法を受けている個体において、侵襲的医療処置の準備(例えば、移植、幹細胞療法、移植片、プロテーゼを受けるか、長期若しくは高頻度で静脈内カテーテル法を受けるか、又は集中治療室内での処置を受けるなどの手術の準備)をする間、個体は、真菌感染を予防するための予防処置を受けることができる。

40

【0090】

50

本明細書で使用されるとき、用語「安定したPMP組成物」（例えば、ロード又は非ロードPMPを含む組成物）は、一定の期間（例えば、少なくとも24時間、少なくとも48時間、少なくとも1週間、少なくとも2週間、少なくとも3週間、少なくとも4週間、少なくとも30日、少なくとも60日又は少なくとも90日）にわたり、任意選択で規定の温度範囲（例えば、少なくとも24℃（例えば、少なくとも24℃、25℃、26℃、27℃、28℃、29℃若しくは30℃）、少なくとも20℃（例えば、少なくとも20℃、21℃、22℃若しくは23℃）、少なくとも4℃（例えば、少なくとも5℃、10℃若しくは15℃）、少なくとも−20℃（例えば、少なくとも−20℃、−15℃、−10℃若しくは0℃）又は少なくとも−80℃（例えば、少なくとも−80℃、−70℃、−60℃、−50℃、−40℃若しくは−30℃）の温度）において、（例えば、生成若しくは製剤化時点の）PMP組成物中のPMPの数と比較して、PMPの初期数（例えば、溶液1mL当たりのPMP）の少なくとも5%（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%若しくは100%）を保持するか；又は任意選択で規定の温度範囲（例えば、少なくとも24℃（例えば、少なくとも24℃、25℃、26℃、27℃、28℃、29℃若しくは30℃）、少なくとも20℃（例えば、少なくとも20℃、21℃、22℃若しくは23℃）、少なくとも4℃（例えば、少なくとも5℃、10℃若しくは15℃）、少なくとも−20℃（例えば、少なくとも−20℃、−15℃、−10℃若しくは0℃）又は少なくとも−80℃（例えば、少なくとも−80℃、−70℃、−60℃、−50℃、−40℃若しくは−30℃）の温度）において、（例えば、生成若しくは製剤化時点の）PMPの初期活性と比較して、その活性（例えば、病原体防除及び／又は忌避剤活性）の少なくとも5%（例えば、少なくとも5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%若しくは100%）を保持する、PMP組成物を指す。

【0091】

本明細書で使用されるとき、用語「非処置」は、病原体防除組成物を送達されていない個別の動物を含め、病原体防除組成物と接触させていないか、又はそれを送達されていない動物又は病原体ベクターを指し、処置を受けた同じ動物を病原体防除組成物の送達前の時点で評価するか、又は処置を受けた同じ動物をその動物の非処置部分で評価する。

【0092】

本明細書で使用されるとき、用語「ベクター」は、保有宿主から動物に動物病原体を運搬又は伝播することができる昆虫を指す。例示的なベクターとして、昆虫、例えばカメムシ目（Hemiptera）及び一部のハチ目（Hymenoptera）並びに双翅目（Diptera）に見出されるような突き刺し、吸う口器を有するもの、例えば蚊、ミツバチ、スズメバチ、ユスリカ、シラミ、ツェツェバエ、ノミ及びアリ並びにマダニ及びダニなどのクモ綱（Arachnidae）のメンバーが挙げられる。

【0093】

本明細書で使用されるとき、用語「砂じょう（juice sac）」又は「砂じょう（juice vesicle）」は、ミカン状果、例えば柑橘類の内果皮（心皮）の果汁含有膜結合要素を指す。一部の態様では、砂じょうは、果実の他の部分、例えば皮（外皮若しくはフラベド）、内皮（中果皮、アルベド若しくは髄）、中心柱（プラセンタ）、分割壁又は種子から分離される。一部の態様では、砂じょうは、グレープフルーツ、レモン、ライム又はオレンジの砂じょうである。

【図面の簡単な説明】

【0094】

【図1A】ブレンダの使用を含む破壊的搾汁ステップ、続いて超遠心分離及びショ糖勾配精製を用いるグレープフルーツPMP生成のプロトコルを示す概略図である。1000×gで10分間の遠心分離後のグレープフルーツ果汁及び150,000×gで2時間の超遠心分離後のショ糖勾配バンドパターンの画像が含まれる。

【図1B】 Spectradyne NCS1により測定されるPMP粒度分布のプロットである。

【図2】 メッシュフィルタの使用を含む穏やかな搾汁ステップ、続いて遠心分離及びショ糖勾配精製を用いるグレープフルーツPMP生成のプロトコルを示す概略図である。1000×gで10分間の遠心分離後のグレープフルーツ果汁及び150,000×gで2時間の超遠心分離後のショ糖勾配バンドパターンの画像が含まれる。

【図3A】 超遠心分離、続いてPMP含有画分を単離するためのサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）を使用するグレープフルーツPMP生成のプロトコルを示す概略図である。溶出したSEC画分は、粒子濃度（NanoFCM）、メジアン粒径（NanoFCM）及びタンパク質濃度（BCA）について分析される。

10

【図3B】 溶出されたサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）画分中の1mL当たりの粒子濃度を示すグラフである（NanoFCM）。大部分のPMPを含む画分（「PMP画分」）を矢印で示す。PMPは、画分2～4に溶出されている。

【図3C】 NanoFCMを用いて測定される通り、選択したSEC画分についての粒径（nm）を示す一連のグラフ及び表である。グラフは、画分1、3、5及び8のPMP粒度分布を示す。

【図3D】 BCAアッセイを用いて測定される、SEC画分中のタンパク質濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）を示すグラフである。大部分のPMPを含む画分（「PMP画分」）を標識し、矢印は、混入物を含む画分を示す。

【図4A】 果汁絞り機、続いて大きい残屑を除去するための分画遠心分離、TFFを用いる果汁の100×濃縮及びPMP含有画分を単離するためのサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）を使用する、1リットルのグレープフルーツ果汁（約7個のグレープフルーツ）からのスケール化PMP生成のプロトコルを示す概略図である。SEC溶出画分は、粒子濃度（NanoFCM）、メジアン粒径（NanoFCM）及びタンパク質濃度（BCA）について分析される。

20

【図4B】 1000mLのグレープフルーツ果汁のスケール化出発材料からのSEC溶出液体積（mL）のタンパク質濃度（BCAアッセイ、上のパネル）及び粒子濃度（NanoFCM、下のパネル）を示すグラフの対であり、後期SEC溶出体積中の多量の混入物を示している。

【図4C】 最終濃度50mM EDTA、pH7.15を有する粗グレープフルーツPMP画分のインキュベーション、続いて300kDa膜を用いる一晩の透析により、280nmでの吸光度により示されるように、後期SEC溶出画分中に存在する混入物の除去に成功したこと示すグラフである。使用した透析バッファー（カルシウム／マグネシウムを含まないPBS、pH7.4、MES pH6、トリス pH8.6）に差はなかった。

30

【図4D】 終濃度50mM EDTA、pH7.15を有する粗グレープフルーツPMP画分のインキュベーション、続いて300kDa膜を用いる一晩の透析により、BCAタンパク質分析（タンパク質の検出以外に、糖及びペクチンの存在を感知できる）により示されるように、SEC後の後期溶出画分中に存在する混入物の除去に成功したこと示すグラフである。使用した透析バッファー（カルシウム／マグネシウムを含まないPBS、pH7.4、MES pH6、トリス pH8.6）に差はなかった。

40

【図5A】 果汁絞り機、続いて大きい残屑を除去するための分画遠心分離、ペクチン高分子の形成を抑制するためのEDTAとのインキュベーション、大きい粒子を除去するための連続濾過、TFFによる5×濃縮／洗浄、混入物除去のための一晩の透析、TFFによるさらなる濃縮（20×最終）及びPMP含有画分を単離するためのSECを使用する、グレープフルーツ果汁からのPMP生成のプロトコルを示す概略図である。

【図5B】 複数のSECカラムを用いる溶出グレープフルーツSEC画分の280nmでの吸光度（A.U.）を示すグラフである。PMPは、早期画分4～6に溶出され、混入物は、後期画分に溶出される。

【図5C】 複数のSECカラムを用いる溶出グレープフルーツSEC画分のタンパク質濃度（ $\mu\text{g/mL}$ ）を示すグラフである。PMPは、早期画分4～6に溶出され、混入物は

50

、後期画分に溶出される。

【図5D】複数のSECカラムを用いる溶出レモンSEC画分の280nmでの吸光度（A.U.）を示すグラフである。PMPは、早期画分4～6に溶出され、混入物は、後期画分に溶出される。

【図5E】複数のSECカラムを用いる溶出レモンSEC画分のタンパク質濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を示すグラフである。PMPは、早期画分4～6に溶出され、混入物は、後期画分に溶出される。

【図5F】0.22 μm 濾過滅菌後のグレープフルーツPMP含有SEC画分中の粒径を示す散布図及びグラフである。上のパネルは、ナノフローサイトメトリー（NanoFCM）により測定される通り、合わせたSEC画分中の粒子の散布図である。下のパネルは、ゲート化粒子（バックグラウンド除去）の粒度（nm）分布グラフである。PMP濃度（粒子/mL）及びメジアン粒径（nm）は、NanoFCMの指示に従い、ビーズ標準を用いて決定した。

10

【図5G】0.22 μm 濾過滅菌後のレモンPMP含有SEC画分中の粒径を示す散布図及びグラフである。上のパネルは、ナノフローサイトメトリー（NanoFCM）により測定される通り、合わせたSEC画分中の粒子の散布図である。下のパネルは、ゲート化粒子（バックグラウンド除去）の粒度（nm）分布グラフである。PMP濃度（粒子/mL）及びメジアン粒径（nm）は、NanoFCMの指示に従うビーズ標準を用いて決定した。

【図5H】NanoFCMにより測定される通り、様々な時点（生成からの日数）でのPMP濃度（PMP粒子/mL）により決定した、4℃でのグレープフルーツ及びレモンPMP安定性を示すグラフである。

20

【図5I】NanoFCMにより測定される通り、表示温度で1週間の保存後のPMP濃度（PMP粒子/mL）により決定した、4℃で保存したレモンPMPと比較して、-20℃及び-20℃で凍結融解サイクル後のレモン（LM）PMPの安定性を示す棒グラフである。

【図6A】ナノフローサイトメトリー（NanoFCM）により測定される通り、溶出BMS植物細胞培養物SEC画分中の粒子濃度（粒子/mL）を示すグラフである。PMPは、SEC画分4～6に溶出された。

【図6B】SpectraMax（登録商標）分光光度計で測定される、溶出BMS SEC画分中の280nmでの吸光度（A.U.）を示すグラフである。PMPは、画分4～6に溶出され；画分9～13は、混入物を含有した。

30

【図6C】BCA分析により決定される通り、溶出BMS SEC画分中のタンパク質濃度（ $\mu\text{g}/\text{mL}$ ）を示すグラフである。PMPは、画分4～6に溶出され；画分9～13は、混入物を含有した。

【図6D】ナノフローサイトメトリー（NanoFCM）により測定される通り、合わせたBMS PMP含有SEC画分中の粒子を示す散布図である。PMP濃度（粒子/mL）は、NanoFCMの指示に従うビーズ標準を用いて決定した。

【図6E】図6Dのゲート化粒子（バックグラウンド除去）のBMS PMPの粒度分布（nm）を示すグラフである。メジアンPMP粒径（nm）は、NanoFCMの指示に従うExoビーズ標準を用いて決定した。

40

【図7A】ナノフローサイトメトリー（NanoFCM）により測定される通り、DyLight 800nm標識グレープフルーツPMPを示す散布図及びグラフである。上のパネルは、合わせたSEC画分中の粒子の散布図である。PMP濃度（ 4.44×10^{12} PMP/mL）は、NanoFCMの指示に従うビーズ標準を用いて決定した。下のパネルは、グレープフルーツDyLight 800-PMPの粒度（nm）分布グラフである。メジアンPMP粒径は、NanoFCMの指示に従うExoビーズ標準を用いて決定した。メジアングレープフルーツDyLight 800-PMP粒径は、 $72.6\text{nm} + / - 14.6\text{nm}$ （SD）であった。

【図7B】ナノフローサイトメトリー（NanoFCM）により測定される通り、DyL

50

light 800 nm 標識レモン PMP を示す散布図及びグラフである。メジアン PMP 濃度 (5.18×10^{12} PMP/ml) は、NanoFCM の指示に従うビーズ標準を用いて決定した。下のパネルは、グレープフルーツ DyLight 800-PMP の粒度 (nm) 分布グラフである。PMP 粒径は、NanoFCM の指示に従う Exo ビーズ標準を用いて決定した。メジアンレモン DyLight 800-PMP 粒径は、 $68.5 \text{ nm} + / - 14 \text{ nm}$ (SD) であった。

【図 7 C】処理から 2 時間後の細菌 (大腸菌 (*E. coli*) 及び緑膿菌 (*P. aeruginosa*)) 並びに酵母 (*S. cerevisiae*) によるグレープフルーツ及びレモン由来 DyLight 800 標識 PMP の取込みを示す棒グラフである。取込みは、相対蛍光強度 (A.U.) で決定され、これは、色素単独処理微生物対照の相対蛍光強度に対して正規化した。

10

【図 8 A】ナノフローサイトメトリー (NanoFCM) により測定される通り、精製レモン PMP (合わせて、ペレット化した PMP SEC 画分) を示す散布図及びグラフである。上のパネルは、合わせた SEC 画分中の粒子の散布図である。最終レモン PMP 濃度 (1.53×10^{13} PMP/ml) は、NanoFCM の指示に従うビーズ標準を用いて決定した。下のパネルは、精製レモン PMP の粒度 (nm) 分布グラフである。下のパネルは、ゲート化粒子の粒度 (nm) 分布グラフである。メジアン PMP 粒径は、NanoFCM の指示に従う Exo ビーズ標準を用いて決定した。メジアンレモン PMP 粒径は、 $72.4 \text{ nm} + / - 19.8 \text{ nm}$ (SD) であった。

【図 8 B】ナノフローサイトメトリー (NanoFCM) により測定される通り、Alexa Fluor (登録商標) 488 (AF488) 標識レモン PMP を示す散布図及びグラフである。上のパネルは、散布図である。粒子は、非標識粒子及びバックグラウンドシグナルに対し、FITC 蛍光シグナルについてゲート化した。検出された粒子の総数に対して蛍光粒子の数により決定される通り、標識効率は、99% であった。蛍光粒子の数から、また NanoFCM の指示に従う既知濃度のビーズ標準を用いて、最終 AF488-PMP 濃度 (1.34×10^{13} PMP/ml) を決定した。下のパネルは、AF488 標識レモン PMP の粒度 (nm) 分布グラフである。メジアン PMP 粒径は、NanoFCM の指示に従う Exo ビーズ標準を用いて決定した。メジアンレモン PMP 粒径は、 $72.1 \text{ nm} + / - 15.9 \text{ nm}$ (SD) であった。

20

【図 9 A】SpectraMax (登録商標) 分光光度計で測定される、様々な SEC カラム (カラム A、B、C、D 及び E) から生成される溶出グレープフルーツ SEC 画分の 280 nm での吸光度 (A.U.) を示すグラフである。PMP は、画分 4~6 に溶出された。

30

【図 9 B】ナノフローサイトメトリー (NanoFCM) により測定される通り、精製グレープフルーツ PMP (合わせて、ペレット化した PMP SEC 画分) を示す散布図である。NanoFCM の指示に従うビーズ標準を用いて、最終グレープフルーツ PMP 濃度 (6.34×10^{12} PMP/ml) を決定した。

【図 9 C】精製グレープフルーツ PMP の粒度 (nm) 分布を示すグラフである。メジアン PMP 粒径は、NanoFCM の指示に従う Exo ビーズ標準を用いて決定した。メジアングレープフルーツ PMP 粒径は、 $63.7 \text{ nm} + / - 11.5 \text{ nm}$ (SD) であった。

40

【図 9 D】SpectraMax (登録商標) 分光光度計で測定される、使用した様々な SEC カラムの溶出レモン SEC 画分の 280 nm での吸光度 (A.U.) を示すグラフである。PMP は、画分 4~6 に溶出された。

【図 9 E】ナノフローサイトメトリー (NanoFCM) により測定される通り、精製レモン PMP (合わせて、ペレット化した PMP SEC 画分) を示す散布図である。NanoFCM の指示に従うビーズ標準を用いて、最終レモン PMP 濃度 (7.42×10^{12} PMP/ml) を決定した。

【図 9 F】精製レモン PMP の粒度 (nm) 分布を示すグラフである。メジアン PMP 粒径は、NanoFCM の指示に従う Exo ビーズ標準を用いて決定した。メジアンレモン PMP 粒径は、 $68 \text{ nm} + / - 17.5 \text{ nm}$ (SD) であった。

50

【図9G】ドキソルビシンをアクティブ（超音波／押出し）又はパッシブ（インキュベーション）ロードした、レモン（LM）及びグレープフルーツ（GF）PMPのDOXロード能力（1000PMP当たりのpg DOX）を示す棒グラフである。ロード能力は、PMP-DOXサンプル中のDOXの総濃度（pg/mL）（SpectraMax（登録商標）分光光度計を用いる蛍光強度測定（Ex/Em=485/550nm）により評価される）をサンプルの総PMP濃度（PMP/mL）で割った商として計算した。

【図9H】NanoFCMにより測定される通り、様々な時点（ローディングからの日数）でのPMP濃度（PMP粒子/mL）により決定した、4℃でのグレープフルーツ及びレモンDOXロードPMPの安定性を示すグラフである。

【図10A】ペクチナーゼ及びEDTAで処理し、300kDa TFFを用いて5×濃縮し、PBSの6容量交換により洗浄した後、最終濃度20×まで濃縮した4リットルのグレープフルーツ果汁からのPMPプロトコル生成を示す概略図である。サイズ排除クロマトグラフィーを使用して、PMP含有画分を溶出した。

【図10B】使用した9つの異なるSECカラム（SECカラムA～J）を介して溶出されたSEC画分の280nmでの吸光度（A.U.）を示すグラフである。PMPは、画分3～7に溶出された。

【図10C】使用した9つの異なるSECカラム（SECカラムA～J）を介して溶出されたSEC画分のタンパク質濃度（μg/mL）を示すグラフである。PMPは、画分3～7に溶出された。矢印は、混入物を含む画分を示す。

【図10D】ナノフローサイトメトリー（NanoFCM）により測定される通り、精製グレープフルーツPMP（合わせて、ペレット化したPMP SEC画分）を示す散布図である。NanoFCMの指示に従うビーズ標準を用いて、最終グレープフルーツPMP濃度（ 7.56×10^{12} PMP/mL）を決定した。

【図10E】精製グレープフルーツPMPの粒度（nm）分布を示すグラフである。メジアンPMP粒径は、NanoFCMの指示に従うExoビーズ標準を用いて決定した。メジアングレープフルーツPMP粒径は、 $70.3 \text{ nm} + / - 12.4 \text{ nm}$ （SD）であった。

【図10F】緑膿菌（*P. aeruginosa*）のドキソルビシン（DOX）ロードグレープフルーツPMPの細胞傷害性作用を示すグラフである。細菌をPMP-DOXで0（陰性対照）、5 μM、10 μM、25 μM、50 μM及び100 μMの有効DOX濃度まで2回反復して処理した。600nmでのカイネティック吸光度測定（SpectraMax（登録商標）分光光度計）を実施して、表示した時点での培養物のODをモニターした。高濃度の600nmでのDOX蛍光漏れ込み（bleed-through）を正規化するために、まず処理用量当たりの全てのOD値をその用量の最初の時点のODに対して正規化した。細菌に対するPMP-DOXの細胞傷害性作用を決定するために、非処置対照（100％に設定）と比較して、各処理群内で相対ODを決定した。

【図10G】大腸菌（*E. coli*）のドキソルビシン（DOX）ロードグレープフルーツPMPの細胞傷害性作用を示すグラフである。細菌をPMP-DOXで0（陰性対照）、5 μM、10 μM、25 μM、50 μM及び100 μMの有効DOX濃度まで2回反復して処理した。600nmでのカイネティック吸光度測定（SpectraMax（登録商標）分光光度計）を実施して、表示した時点での培養物のODをモニターした。高濃度の600nmでのDOX蛍光漏れ込み（bleed-through）を正規化するために、まず処理用量当たりの全てのOD値をその用量の最初の時点のODに対して正規化した。細菌に対するPMP-DOXの細胞傷害性作用を決定するために、非処置対照（100％に設定）と比較して、各処理群内で相対ODを決定した。

【図10H】*S. cerevisiae*（*S. cerebisiae*）のドキソルビシン（DOX）ロードグレープフルーツPMPの細胞傷害性作用を示すグラフである。酵母細胞をPMP-DOXで0（陰性対照）、5 μM、10 μM、25 μM、50 μM及び100 μMの有効DOX濃度まで2回反復して処理した。600nmでのカイネティック吸光度測定（SpectraMax（登録商標）分光光度計）を実施して、表示した時点での培養物のO

10

20

30

40

50

Dをモニターした。高濃度の600nmでのDOX蛍光漏れ込み(bleed-through)を正規化するために、まず処理用量当たりの全てのOD値をその用量の最初の時点のODに対して正規化した。酵母に対するPMP-DOXの細胞傷害性作用を決定するために、非処置対照(100%に設定)と比較して、各処理群内で相対ODを決定した。

【図11】Ultrapore水(陰性対照)、3ngの遊離ルシフェラーゼタンパク質(タンパク質単独対照)又はルシフェラーゼタンパク質ロードPMP(PMP-Luc)による3ngの有効ルシフェラーゼタンパク質量でRTにおいて2hr、サンプルを2回反復して処理した緑膿菌(*Pseudomonas aeruginosa*)細菌の発光(R.L.U. 相対発光単位)を示すグラフである。上清及びペレット化した細菌中のルシフェラーゼタンパク質を、ONE-Glo(商標)ルシフェラーゼアッセイキット(Promega)を用いた発光により測定し、SpectraMax(登録商標)分光光度計で測定した。

【発明を実施するための形態】

【0095】

本明細書には、植物メッセンジャーパック(PMP)、すなわち全体又は一部が植物細胞外小胞(EV)又はその断片、部分若しくは抽出物から産生される脂質集合体を含む病原体防除組成物によって病原体を防除するための組成物及び関連方法が記載される。PMPは、追加的な薬剤を含有することなく、抗病原体作用(例えば、感染を処置する目的で動物への投与に適した薬剤、例えば抗菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、抗寄生虫剤若しくは殺線虫剤)又は昆虫忌避作用を有し得るが、任意選択で追加的な抗病原体剤、農薬又は昆虫忌避剤を含有するように修飾され得る。また、PMPが実質的に純粋な形態又は濃縮された形態でもたらされる製剤も含まれる。本明細書に記載の病原体防除組成物及び製剤は、病原体感染を処置又は予防するために直接動物に送達することができる。加えて又は代わりに、病原体防除組成物は、種々の動物病原体又は動物病原体のベクターに送達することにより、病原体又はそのベクターの適応度を低減させ、それによって有害病原体の拡大を制御することもできる。

【0096】

I. 病原体防除組成物

本明細書に記載の病原体防除組成物は、複数の植物メッセンジャーパック(PMP)を含む。PMPは、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物(例えば、脂質抽出物)を含む脂質(例えば、脂質二重層、単層若しくは多層構造)構造である。植物EVとは、植物中に天然に存在する内包脂質二重層構造を指す。PMPは、直径が約5~2000nmであり得る。植物EVは、多様な植物生合成経路を起源とし得る。天然では、植物EVは、植物アポプラストなどの植物の細胞内及び細胞外コンパートメント、原形質膜の外側に位置して、一連の細胞壁と細胞外空間により形成されるコンパートメント内に見られ得る。代わりに、PMPは、植物細胞からの分泌時に細胞培地中見られる濃縮された植物EVであり得る。植物EVは、本明細書により詳細に記載される様々な方法により、植物から(例えば、アポプラスト液から)分離し、これによりPMPをもたらすことができる。

【0097】

病原体防除組成物は、追加的な抗病原体剤、農薬又は忌避剤を含有することなく、病原体に対する抗病原体作用(例えば、抗菌、抗真菌、抗線虫、抗寄生虫若しくは抗ウイルス作用)、農薬作用又は忌避剤作用を有するPMPを含み得る。しかし、PMPは、異種病原体防除剤、例えば抗病原体剤(例えば、抗菌、抗真菌、抗線虫、抗寄生虫若しくは抗ウイルス剤)、農薬用薬剤又は忌避剤をさらに含有し得、これらは、インビボ又はインビトロで導入することができる。このように、PMPは、抗病原体、農薬作用を有する物質を含み得、これらは、PMPが産生される植物によってPMP中又はPMP上にロードされる。例えば、インビボでPMPにロードされる異種機能性薬剤は、植物に対して内因性の因子又は植物に対して外因性の因子(例えば、遺伝子操作された植物内で異種遺伝子構築物により発現されるような)のいずれでもあり得る。代わりに、PMPに異種機能性薬剤をインビトロでロードし得る(例えば、本明細書により詳細に記載される様々な方法によ

10

20

30

40

50

る生成後)。

【0098】

PMPは、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物を含み得、その場合、植物EVは、直径が約5～2000nmである。例えば、PMPは、約5～50nm、約50～100nm、約100～150nm、約150～200nm、約200～250nm、約250～300nm、約300～350nm、約350～400nm、約400～450nm、約450～500nm、約500～550nm、約550～600nm、約600～650nm、約650～700nm、約700～750nm、約750～800nm、約800～850nm、約850～900nm、約900～950nm、約950～1000nm、約1000～1250nm、約1250～1500nm、約1500～1750nm又は約1750～2000nmの平均直径を有する、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物を含む。一部の例では、PMPは、約5～950nm、約5～900nm、約5～850nm、約5～800nm、約5～750nm、約5～700nm、約5～650nm、約5～600nm、約5～550nm、約5～500nm、約5～450nm、約5～400nm、約5～350nm、約5～300nm、約5～250nm、約5～200nm、約5～150nm、約5～100nm、約5～50nm又は約5～25nmの平均直径を有する、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物を含む。特定の例では、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物は、約50～200nmの平均直径を有する。特定の例では、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物は、約50～300nmの平均直径を有する。特定の例では、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物は、約200～500nmの平均直径を有する。特定の例では、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物は、約30～150nmの平均直径を有する。

【0099】

一部の例では、PMPは、少なくとも5nm、少なくとも50nm、少なくとも100nm、少なくとも150nm、少なくとも200nm、少なくとも250nm、少なくとも300nm、少なくとも350nm、少なくとも400nm、少なくとも450nm、少なくとも500nm、少なくとも550nm、少なくとも600nm、少なくとも650nm、少なくとも700nm、少なくとも750nm、少なくとも800nm、少なくとも850nm、少なくとも900nm、少なくとも950nm若しくは少なくとも1000nmの平均直径を有する、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物を含む。一部の例では、PMPは、1000nm未満、950nm未満、900nm未満、850nm未満、800nm未満、750nm未満、700nm未満、650nm未満、600nm未満、550nm未満、500nm未満、450nm未満、400nm未満、350nm未満、300nm未満、250nm未満、200nm未満、150nm未満、100nm未満若しくは50nm未満の平均直径を有する、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物を含む。当技術分野で標準的な様々な方法（例えば、動的光散乱法）を使用して、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物の粒径を測定することができる。

【0100】

一部の例では、PMPは、 $77\text{ nm}^2 \sim 3.2 \times 10^6\text{ nm}^2$ （例えば、 $77 \sim 100\text{ nm}^2$ 、 $100 \sim 1000\text{ nm}^2$ 、 $1000 \sim 1 \times 10^4\text{ nm}^2$ 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5\text{ nm}^2$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6\text{ nm}^2$ 又は $1 \times 10^6 \sim 3.2 \times 10^6\text{ nm}^2$ ）の平均表面積を有する、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物を含む。一部の例では、PMPは、 $65\text{ nm}^3 \sim 5.3 \times 10^8\text{ nm}^3$ （例えば、 $65 \sim 100\text{ nm}^3$ 、 $100 \sim 1000\text{ nm}^3$ 、 $1000 \sim 1 \times 10^4\text{ nm}^3$ 、 $1 \times 10^4 \sim 1 \times 10^5\text{ nm}^3$ 、 $1 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6\text{ nm}^3$ 、 $1 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7\text{ nm}^3$ 、 $1 \times 10^7 \sim 1 \times 10^8\text{ nm}^3$ 、 $1 \times 10^8 \sim 5.3 \times 10^8\text{ nm}^3$ ）の平均体積を有する、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物を含む。一部の例では、PMPは、少なくとも 77 nm^2 （例えば、少なくとも 77 nm^2 、少なくとも 100 nm^2 、少なくとも 1000 nm^2 、少なくとも $1 \times 10^4\text{ nm}^2$ 、少なくとも $1 \times 10^5\text{ nm}^2$ 、少なくとも $1 \times 10^6\text{ nm}^2$ 若しくは少なくとも $2 \times 10^6\text{ nm}^2$ ）の平均表面積を有する、植物EV又はその断片、部分若しくは

抽出物を含有し得る。一部の例では、PMPは、少なくとも 65 nm^3 （例えば、少なくとも 65 nm^3 、少なくとも 100 nm^3 、少なくとも 1000 nm^3 、少なくとも $1\times 10^4\text{ nm}^3$ 、少なくとも $1\times 10^5\text{ nm}^3$ 、少なくとも $1\times 10^6\text{ nm}^3$ 、少なくとも $1\times 10^7\text{ nm}^3$ 、少なくとも $1\times 10^8\text{ nm}^3$ 、少なくとも $2\times 10^8\text{ nm}^3$ 、少なくとも $3\times 10^8\text{ nm}^3$ 、少なくとも $4\times 10^8\text{ nm}^3$ 若しくは少なくとも $5\times 10^8\text{ nm}^3$ ）の平均体積を有する、植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物を含有し得る。

【0101】

一部の例では、PMPは、植物EV又はその断片、抽出物若しくは部分と同じ大きさを有し得る。代わりに、PMPは、PMPが産生される初期植物EVと異なる大きさを有し得る。例えば、PMPは、約 $5\sim 2000\text{ nm}$ の直径を有し得る。例えば、PMPは、約 $5\sim 50\text{ nm}$ 、約 $50\sim 100\text{ nm}$ 、約 $100\sim 150\text{ nm}$ 、約 $150\sim 200\text{ nm}$ 、約 $200\sim 250\text{ nm}$ 、約 $250\sim 300\text{ nm}$ 、約 $300\sim 350\text{ nm}$ 、約 $350\sim 400\text{ nm}$ 、約 $400\sim 450\text{ nm}$ 、約 $450\sim 500\text{ nm}$ 、約 $500\sim 550\text{ nm}$ 、約 $550\sim 600\text{ nm}$ 、約 $600\sim 650\text{ nm}$ 、約 $650\sim 700\text{ nm}$ 、約 $700\sim 750\text{ nm}$ 、約 $750\sim 800\text{ nm}$ 、約 $800\sim 850\text{ nm}$ 、約 $850\sim 900\text{ nm}$ 、約 $900\sim 950\text{ nm}$ 、約 $950\sim 1000\text{ nm}$ 、約 $1000\sim 1200\text{ nm}$ 、約 $1200\sim 1400\text{ nm}$ 、約 $1400\sim 1600\text{ nm}$ 、約 $1600\sim 1800\text{ nm}$ 又は約 $1800\sim 2000\text{ nm}$ の平均直径を有し得る。一部の例では、PMPは、少なくとも 5 nm 、少なくとも 50 nm 、少なくとも 100 nm 、少なくとも 150 nm 、少なくとも 200 nm 、少なくとも 250 nm 、少なくとも 300 nm 、少なくとも 350 nm 、少なくとも 400 nm 、少なくとも 450 nm 、少なくとも 500 nm 、少なくとも 550 nm 、少なくとも 600 nm 、少なくとも 650 nm 、少なくとも 700 nm 、少なくとも 750 nm 、少なくとも 800 nm 、少なくとも 850 nm 、少なくとも 900 nm 、少なくとも 950 nm 、少なくとも 1000 nm 、少なくとも 1200 nm 、少なくとも 1400 nm 、少なくとも 1600 nm 、少なくとも 1800 nm 又は少なくとも 2000 nm の平均直径を有し得る。当技術分野で標準的な様々な方法（例えば、動的光散乱法）を使用して、PMPの粒径を測定することができる。一部の例では、PMPの大きさは、異種機能性薬剤のローディング後又はPMPに対する他の修飾後に決定する。

【0102】

一部の例では、PMPは、 $77\text{ nm}^2\sim 1.3\times 10^7\text{ nm}^2$ （例えば、 $77\sim 100\text{ nm}^2$ 、 $100\sim 1000\text{ nm}^2$ 、 $1000\sim 1\times 10^4\text{ nm}^2$ 、 $1\times 10^4\sim 1\times 10^5\text{ nm}^2$ 、 $1\times 10^5\sim 1\times 10^6\text{ nm}^2$ 又は $1\times 10^6\sim 1.3\times 10^7\text{ nm}^2$ ）の平均表面積を有し得る。一部の例では、PMPは、 $65\text{ nm}^3\sim 4.2\times 10^9\text{ nm}^3$ （例えば、 $65\sim 100\text{ nm}^3$ 、 $100\sim 1000\text{ nm}^3$ 、 $1000\sim 1\times 10^4\text{ nm}^3$ 、 $1\times 10^4\sim 1\times 10^5\text{ nm}^3$ 、 $1\times 10^5\sim 1\times 10^6\text{ nm}^3$ 、 $1\times 10^6\sim 1\times 10^7\text{ nm}^3$ 、 $1\times 10^7\sim 1\times 10^8\text{ nm}^3$ 、 $1\times 10^8\sim 1\times 10^9\text{ nm}^3$ 又は $1\times 10^9\sim 4.2\times 10^9\text{ nm}^3$ ）の平均体積を有し得る。一部の例では、PMPは、少なくとも 77 nm^2 （例えば、少なくとも 77 nm^2 、少なくとも 100 nm^2 、少なくとも 1000 nm^2 、少なくとも $1\times 10^4\text{ nm}^2$ 、少なくとも $1\times 10^5\text{ nm}^2$ 、少なくとも $1\times 10^6\text{ nm}^2$ 又は $1\times 10^7\text{ nm}^3$ ）の平均表面積を有する。一部の例では、PMPは、少なくとも 65 nm^3 （例えば、少なくとも 65 nm^3 、少なくとも 100 nm^3 、少なくとも 1000 nm^3 、少なくとも $1\times 10^4\text{ nm}^3$ 、少なくとも $1\times 10^5\text{ nm}^3$ 、少なくとも $1\times 10^6\text{ nm}^3$ 、少なくとも $1\times 10^7\text{ nm}^3$ 、少なくとも $1\times 10^8\text{ nm}^3$ 、少なくとも $1\times 10^9\text{ nm}^3$ 、少なくとも $2\times 10^9\text{ nm}^3$ 、少なくとも $3\times 10^9\text{ nm}^3$ 又は少なくとも $4\times 10^9\text{ nm}^3$ ）の平均体積を有する。

【0103】

一部の例では、PMPは、インタクトな植物EVを含有し得る。代わりに、PMPは、植物EVの小胞の全表面積の断片、部分又は抽出物（例えば、小胞の全表面積の 100% 未満（例えば、 90% 未満、 80% 未満、 70% 未満、 60% 未満、 50% 未満、 40% 未満、 30% 未満、 20% 未満、 10% 未満、 5% 未満若しくは 1% 未満）を含む断片、

部分又は抽出物)を含有し得る。断片、部分又は抽出物は、円周方向断片、球状断片(例えば、半球)、曲線断片、線状断片又は平板型断片など、任意の形状であり得る。断片が、小胞の球状断片である場合、球状断片は、平行線の対に沿った球状小胞の分割から生じたもの又は非平行線の対に沿った球状小胞の分割から生じたものを呈示し得る。従って、複数のPMPは、複数のインタクトな植物EV、複数の植物EV断片、部分若しくは抽出物又はインタクトな植物EV及びその断片の混合物を含み得る。当業者は、インタクト及び断片化植物EVの比が、使用した具体的な単離方法によって変動することを理解するであろう。例えば、植物若しくはその部分の粉碎又はブレンドにより、真空浸潤法などの非破壊抽出方法よりも高い比率の植物EV断片、部分又は抽出物を含有するPMPを生成することができる。

10

【0104】

PMPが、植物EVの断片、部分又は抽出物を含有する例では、EV断片、部分又は抽出物は、インタクトな小胞のそれより小さい平均表面積、例えば 77 nm^2 、 100 nm^2 、 1000 nm^2 、 $1 \times 10^4\text{ nm}^2$ 、 $1 \times 10^5\text{ nm}^2$ 、 $1 \times 10^6\text{ nm}^2$ 又は $3.2 \times 10^6\text{ nm}^2$ 未満の平均表面積を有し得る。一部の例では、EV断片、部分又は抽出物は、 70 nm^2 、 60 nm^2 、 50 nm^2 、 40 nm^2 、 30 nm^2 、 20 nm^2 又は 10 nm^2 未満の表面積を有する。一部の例では、PMPは、インタクトな小胞のそれより小さい平均体積、例えば 65 nm^3 、 100 nm^3 、 1000 nm^3 、 $1 \times 10^4\text{ nm}^3$ 、 $1 \times 10^5\text{ nm}^3$ 、 $1 \times 10^6\text{ nm}^3$ 、 $1 \times 10^7\text{ nm}^3$ 、 $1 \times 10^8\text{ nm}^3$ 又は $5.3 \times 10^8\text{ nm}^3$ 未満の平均体積を有する植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物を含有し得る。

20

【0105】

PMPが、植物EVの抽出物を含む例、例えばPMPが、植物EVから抽出された(例えば、クロロホルムで)脂質を含む例では、PMPは、植物EVから抽出された(例えば、クロロホルムで)脂質の少なくとも1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%以上を含有し得る。多数のPMPは、植物EV断片及び／又は植物EV抽出脂質又はそれらの混合物を含有し得る。

【0106】

本明細書では、PMPの生成方法、PMPと結合させることができる植物EVマーカ及びPMPを含む組成物の製剤についての詳細をさらに概説する。

30

【0107】

A. 生成方法

PMPは、植物又は植物組織若しくは植物細胞を含むその部分に天然に存在する植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物(例えば、脂質抽出物)から生成することができる。PMPを生成する例示的な方法は、(a)植物又はその部分から初期サンプルを提供するステップであって、植物又はその部分は、EVを含む、ステップと；(b)初期サンプルから粗PMP画分を単離するステップであって、粗PMP画分は、初期サンプル中のレベルに対して、植物又はその部分からの少なくとも1つの混入物又は不要な成分の低減したレベルを有する、ステップとを含む。この方法は、粗PMP画分を精製し、それにより複数の純粋なPMPを生成する追加的なステップ(c)であって、複数の純粋なPMPは、粗PMP画分のレベルに対して、植物又はその部分からの少なくとも1つの混入物又は不要な成分の低減したレベルを有する、追加的なステップ(c)をさらに含み得る。各生成ステップについては、以下にさらに詳細に論じる。PMPの単離及び精製に関する例示的な方法は、例えば、Rutter and Innes, Plant Physiol. 173 (1): 728-741, 2017; Rutter et Al, Bio. Protoc. 7 (17): e2533, 2017; Regente et Al, J of Exp. Biol. 68 (20): 5485-5496, 2017; Mu et Al, Mol. Nutr. Food Res., 58, 1561-1573, 2014並びにRegente et Al, FEBS Letters. 583: 3363-3366, 2009に見出され、これらの各々は、参照により本明細書に組み込む。

40

50

【0108】

例えば、(a) 植物又はその部分から初期サンプルを提供するステップであって、植物又はその部分は、EVを含む、ステップと；(b) 初期サンプルから粗PMP画分を単離するステップであって、粗PMP画分は、初期サンプル中のレベルに対して、植物又はその部分からの少なくとも1つの混入物又は不要な成分の低減したレベル（例えば、少なくとも1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、98%、99%若しくは100%低減したレベル）を有する、ステップと；(c) 粗PMP画分を精製し、それにより複数の純粋なPMPを生成するステップであって、複数の純粋なPMPは、粗EV画分に対して、植物又はその部分からの少なくとも1つの混入物又は不要な成分の低減したレベル（例えば、少なくとも1%、2%、5%、10%、15%、20%、25%、30%、40%、45%、50%、55%、60%、70%、80%、90%、95%、96%、98%、99%若しくは100%低減したレベル）を有する、ステップとを含むプロセスによって複数のPMPを植物から単離され得る。

10

【0109】

本明細書に提供されるPMPは、多様な植物から単離した植物EV又はその断片、部分若しくは抽出物を含み得る。PMPは、任意の属の植物（維管束若しくは非維管束）から単離することができ、こうした植物として、限定されないが、被子植物（単子葉及び双子葉植物）、裸子植物、シダ、イワヒバ（*selaginella*）、トクサ、裸茎植物（*psilophytes*）、ヒカゲノカズラ（*lycophyte*）、藻類（例えば、単細胞若しくは多細胞、例えばアーケプラスチダ（*archaeplastida*））又はコケ類が挙げられる。特定の例では、PMPは、維管束植物、例えば単子葉若しくは双子葉又は裸子植物から生成することができる。例えば、PMPは、アルファルファ、リンゴ、シロイヌナズナ（*Arabidopsis*）、バナナ、オオムギ、カノーラ、トウモロコシ、チコリー、キク、クローバー、カカオ、コーヒー、綿、綿実、トウモロコシ、クランベ、クランベリー、キュウリ、デンドロビウム、ヤマイモ、ユーカリ属、ウシノケグサ、亜麻、グラジオラス、ユリ科、亜麻仁、キビ、マスキメロン、カラシ、オーツムギ、アブラヤシ、アブラナ、パパイア、ピーナッツ、パイナップル、観賞植物、インゲンマメ、ジャガイモ、ナタネ、コメ、ライムギ、ライグラス、ベニバナ、ゴマ、モロコシ、ダイズ、テンサイ、サトウキビ、ヒマワリ、イチゴ、タバコ、トマト、芝草、コムギ又はレタス、セロリ、ブロッコリー、カリフラワー、ウリ科植物などの野菜作物；リンゴ、ナシ、モモ、オレンジ、グレープフルーツ、レモン、ライム、アーモンド、ペカン、クルミ、ヘーゼルなどの果実及び堅果樹；ブドウ、キウイ、ホップなどのブドウ；ラズベリー、ブラックベリー、セイヨウスグリなどの果実低木及びイチゴ；セイヨウトネリコ、マツ、モミ、カエデ、オーク、クルミ、ポプラなどの森林樹；アルファルファ、カノーラ、トウモロコシ、トウモロコシ、綿、クランベ、亜麻、亜麻仁、カラシ、アブラヤシ、アブラナ、ピーナッツ、ジャガイモ、コメ、ベニバナ、ゴマ、ダイズ、テンサイ、ヒマワリ、タバコ又はコムギから生成することができる。

20

30

【0110】

PMPは、全植物（例えば、全ロゼット若しくは苗）又は代替的に1つ若しくは複数の植物部分（例えば、葉、種子、根、果実、野菜、花粉、師管液若しくは木部樹液）から生成することができる。例えば、PMPは、新芽植物器官／構造（例えば、葉、莖若しくは塊莖）、根、花及び花器／構造（例えば、花粉、包葉、萼片、花弁、雄蕊、心皮、葯若しくは胚珠）、種子（胚、胚乳若しくは種皮を含む）、果実（成熟した子房）、樹液（例えば、師部若しくは木部樹液）、植物組織（例えば、維管束組織、基本組織、腫瘍組織など）並びに細胞（例えば、単細胞、プロトプラスト、胚、カルス組織、孔辺細胞、卵細胞など）又はこれらの子孫から生成することができる。例えば、単離ステップは、(a) 植物又はその一部を用意することを含み得る。一部の例では、植物部分は、シロイヌナズナ（*Arabidopsis*）の葉である。植物は、任意の発育段階のものであり得る。例えば、PMPは、苗、例えば1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週又は8週齢の苗（

40

50

例えば、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) の苗) から生成することができる。他の例示的 PMP は、根 (例えば、根生姜)、果汁 (例えば、グレープフルーツ果汁)、野菜 (例えば、ブロッコリー)、花粉 (例えば、オリーブ花粉)、師部液 (例えば、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) の師部液) 又は木部樹液 (例えば、トマト植物木部樹液) から生成された PMP を含み得る。

【0111】

PMP は、様々な方法により、植物又はその部分から生成することができる。植物の EV 含有アポプラスト画分又はそうでなければ分泌された EV を含む PMP を含有する細胞外画分 (例えば、細胞培地) の放出を可能にするいずれの方法も本方法において好適である。EV は、破壊的 (例えば、植物若しくは任意の植物部分の粉碎若しくはブレンド) 又は非破壊的 (植物若しくは任意の植物部分の洗浄若しくは真空浸潤法) 方法のいずれかによって放出され得る。例えば、植物又はその部分を真空浸潤、粉碎、ブレンド又はこれらの組合せに付して、植物又は植物部分から EV を単離し、これにより PMP を生成することができる。例えば、単離ステップは、(b) 初期サンプル (例えば、植物、植物部分又は植物若しくは植物部分由来のサンプル) から粗 PMP 画分を単離することを含み得、単離ステップは、植物 (例えば、小胞単離バッファーと一緒に) を真空浸潤して、アポプラスト画分を放出させ、収集することを含む。代わりに、単離ステップは、(b) 植物又はその部分を提供するステップを含み、放出させるステップは、植物を粉碎又はブレンドして、EV を放出させ、これにより PMP を生成することを含む。

【0112】

植物 EV を単離することにより、PMP を生成したら、PMP を粗 PMP 画分 (例えば、アポプラスト画分) に分離又は収集することができる。例えば、分離ステップは、植物組織残屑、植物細胞若しくは植物細胞オルガネラ (例えば、核、ミトコンドリア若しくは葉緑体) をはじめとする大きい混入物から、PMP 含量画分を分離するための遠心分離 (例えば、分画遠心分離若しくは超遠心分離) 及び／又は濾過を用いて、複数の PMP を粗 PMP 画分に分離することを含み得る。このように、粗植物 EV 画分は、起源植物又は植物部分からの初期サンプルと比較して、例えば植物組織残屑、植物細胞又は植物細胞オルガネラ (例えば、核、ミトコンドリア又は葉緑体) などの大きい混入物の数が減少する。

【0113】

複数の純粋な PMP を生成するために、追加的な精製方法により粗 PMP 画分をさらに精製することもできる。例えば、超遠心分離により、例えば密度勾配 (イオジキサノール若しくはショ糖) の使用、サイズ排除及び／又は凝集要素を除去するための他の手法 (例えば、沈殿若しくはサイズ排除クロマトグラフィー) の使用により、粗 PMP 画分を他の植物要素から分離することができる。得られた純粋な PMP は、より早期の分離ステップ中に生成された 1 つ若しくは複数の画分と比較して又は所定の閾値レベル、例えば商業的公開仕様と比較して、低減したレベルの混入物 (例えば、1 つ若しくは複数の非 PMP 要素、例えばタンパク質凝集体、核酸凝集体、タンパク質-核酸凝集体、遊離リボタンパク質、脂質-タンパク質構造)、核、細胞壁要素、細胞オルガネラ又はこれらの組合せ) を有し得る。例えば、純粋な PMP は、初期サンプルのレベルに対して、植物オルガネラ又は細胞壁要素の低減したレベル (例えば、約 5 %、10 %、15 %、20 %、30 %、40 %、50 %、60 %、70 %、80 %、90 %、100 % 若しくは 100 % 超; 又は約 $2 \times$ 、 $4 \times$ 、 $5 \times$ 、 $10 \times$ 、 $20 \times$ 、 $25 \times$ 、 $50 \times$ 、 $75 \times$ 、 $100 \times$ 若しくは $100 \times$ 超) を有し得る。一部の例では、純粋な PMP は、タンパク質凝集体、核酸凝集体、タンパク質-核酸凝集体、遊離リボタンパク質、脂質-タンパク質構造)、核、細胞壁要素、細胞オルガネラ又はこれらの組合せなどの 1 つ若しくは複数の非 PMP 要素を実質的に含有しない (例えば、それらの検出不能レベルを有する)。放出及び分離ステップのさらに別の例を実施例 1 に見出すことができる。PMP は、例えば、 1×10^9 、 5×10^9 、 1×10^{10} 、 5×10^{10} 、 5×10^{10} 、 1×10^{11} 、 2×10^{11} 、 3×10^{11} 、 4×10^{11} 、 5×10^{11} 、 6×10^{11} 、 7×10^{11} 、 8×10^{11} 、 9×10^{11} 、 1×10^{12} 、 2×10^{12} 、 3×10^{12} 、 4×10^{12} 、 5×10^{12} 、 6×10^{12}

、 7×10^{12} 、 8×10^{12} 、 9×10^{12} 、 1×10^{13} 又は 1×10^{13} PMPs / mL 超の濃度であり得る。

【0114】

例えば、単離したPMPから、タンパク質凝集体を除去することができる。例えば、単離したPMP溶液を様々なpH（例えば、pHブロープを用いて測定されるように）に付して、溶液中にタンパク質凝集体を沈殿させることができる。pHは、例えば、水酸化ナトリウム又は塩酸の添加により、例えばpH3、pH5、pH7、pH9又はpH11に調節することができる。溶液が指定pHに達したら、これを濾過して微粒子を除去することができる。代わりに、単離したPMP溶液をPolymine-P又はPraestol 2640などの荷電ポリマーの添加により凝集させることもできる。手短には、Polymine-P又はPraestol 2640を溶液に添加し、インペラで混合する。次に、溶液を濾過して微粒子を除去する。代わりに、塩濃度を増加させることにより凝集体を可溶化することもできる。例えば、単離したPMP溶液にNaClを、それが例えば、1 mol/Lになるまで添加することができる。次に、溶液を濾過して、PMPを単離する。代わりに、昇温によって凝集体を可溶化することもできる。例えば、単離したPMPを混合しながら、溶液が例えば、約50℃の均一温度に達するまで5分間加熱することができる。次に、PMP混合物を濾過して、PMPを単離することができる。代わりに、標準的手順に従うサイズ排除クロマトグラフィーにより、PMP溶液から可溶性混入物を分離することができ、この場合、最初の画分中にPMPを溶出させる一方、タンパク質及びリボ核タンパク質並びに一部のリボタンパク質をのちに溶出させる。タンパク質凝集体除去の効率は、BCA/Bradfordタンパク質量を用いて、タンパク質凝集体の除去前後のタンパク質濃度を測定及び比較することにより決定することができる。

【0115】

生成方法の任意のステップでPMPを特性決定又は同定するために、本明細書に記載される生成方法のいずれにも、当技術分野で公知のいかなる定量的又は定性的方法も追加し得る。PMPは、PMP収率、PMP濃度、PMP純度、PMP組成又はPMPサイズを推定するための多様な分析方法によって特性決定され得る。PMPは、PMPの視覚化、定量又は定性的特性決定（例えば、組成物の同定）を可能にする、当技術分野で公知のいくつかの方法、例えば顕微鏡検査（例えば、透過電子顕微鏡）、動的光散乱法、ナノ粒子追跡、分光法（例えば、フーリエ変換赤外分光法）若しくは質量分析法（タンパク質及び脂質分析）により評価することができる。特定の例では、方法（例えば、質量分析法）を用いて、PMPに存在する植物EVマーカ、例えば付録に開示されるマーカを同定することができる。PMP画分の分析及び特性決定を補助するために、PMPをさらに標識又は染色することができる。例えば、3,3'-ジヘキシルオキサカルボシアニンヨード（DIOC6）、蛍光親油性色素、PKH67（Sigma Aldrich）；Alexa Fluor（登録商標）488（Thermo Fisher Scientific）又はDyLight（商標）800（Thermo Fisher）で、PMPを染色することができる。高度な形態のナノ粒子追跡の非存在下でも、この比較的単純な手法は、総膜含量を定量することから、PMPの濃度を間接的に測定するために使用することができる（Rutter and Innes, Plant Physiol. 173 (1): 728-741, 2017; Rutter et al., Bio. Protoc. 7 (17): e2533, 2017）。より正確な測定のため、またPMPの粒度分布を評価するためにナノ粒子追跡又は調整可能抵抗パルスセンシングを使用することができる。

【0116】

生成工程中、任意選択で、PMPが対照又は初期サンプル中のEVレベルに対して高い濃度（例えば、約5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%若しくは100%超；又は約2倍、4倍、5倍、10倍、20倍、25倍、50倍、75倍、100倍若しくは100倍超）であるように、PMPを調製することができる。単離したPMPは、病原体防除組成物の約0.1%～約100%、例えば約0.01%～約100%、約1%～約99.9%、約0.1%～約10%

、約1%～約25%、約10%～約50%、約50%～約99%又は約75～約100%のいずれか1つを占め得る。一部の例では、組成物は、例えば、wt/vol、パーセントPMPタンパク質組成物及び／又はパーセント脂質組成物により測定して（例えば、蛍光標識脂質の測定により）；例えば、実施例3を参照されたい）、少なくとも0.1%、0.5%、1%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、95%若しくはそれを超えるPMPのいずれかを含む。一部の例では、市販の製品のような濃縮薬剤を使用し、例えば、最終ユーザは、希釈された薬剤を使用し得、これは、実質的に低い濃度の有効成分を有する。一部の実施形態では、組成物は、病原体防除濃縮製剤、例えば高濃度少量製剤として製剤化する。

【0117】

実施例1に説明されるように、多様な植物又はその部分（例えば、葉アポプラスト、種子アポプラスト、根、果実、野菜、花粉、師管液若しくは木部樹液）からPMPを生成することができる。例えば、PMPは、植物のアポプラスト画分、例えば葉のアポプラスト（例えば、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 葉のアポプラスト）又は種子のアポプラスト（例えば、ヒマワリ種子のアポプラスト）から単離することができる。他の例示的なPMPは、根（例えば、根生姜）、果汁（例えば、グレープフルーツ果汁）、野菜（例えば、ブロッコリー）、花粉（例えば、オリーブ花粉）、師管液（例えば、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) 師管液）、木部樹液（例えば、トマト植物木部樹液）又は細胞培養上清（例えば、BY2タバコ細胞培養上清）から生成される。この実施例は、これらの種々の植物供給源からPMPの生成をさらに示す。

【0118】

実施例2に説明されるように、様々な方法により、例えば超遠心分離及び／又は凝集混入物を除去する方法、例えば沈殿若しくはサイズ排除クロマトグラフィーと一緒に密度勾配（イオジキサノール若しくはショ糖）を使用することにより、PMPを精製することができる。例えば、実施例2では、実施例1で概説される分離ステップによって得られたPMPの精製を説明する。さらに、PMPは、実施例3に説明される方法に従って特性決定することができる。

【0119】

一部の例では、本組成物及び方法のPMPは、植物又は植物部分から単離することができる、PMPにさらなる修飾を加えることなく、これを使用することができる。他の例では、本明細書にさらに概説するように、使用前にPMPを修飾することができる。

【0120】

B. 植物EVマーカ

本組成物及び方法のPMPは、植物EV（及び／又はその断片、部分若しくは抽出物を含む）から生成されるものとしてPMPを同定する多様なマーカを有し得る。本明細書で使用される場合、用語「植物EVマーカ」は、天然に植物に付随し、植物タンパク質、植物核酸、植物小分子、植物脂質又はそれらの組合せなど、インプラントで植物EV中若しくは上に組み込まれる要素を指す。植物EVマーカの例は、例えば、Rutter and Innes, *Plant Physiol.* 173 (1): 728-741, 2017; Raimondo et al., *Oncotarget*. 6 (23): 19514, 2015; Ju et al., *Mol. Therapy*. 21 (7): 1345-1357, 2013; Wang et al., *Molecular Therapy*. 22 (3): 522-534, 2014; 及びRegente et al., *J. Exp. Biol.* 68 (20): 5485-5496, 2017に見出すことができ；これらの各々は、参照により本明細書に組み込まれる。植物EVマーカのさらに別の例は付録に列挙されており、これらについては、本明細書においてさらに概説する。

【0121】

植物EVマーカは、植物脂質を含み得る。PMPに見られ得る植物脂質マーカの例としては、フィトステロール、カンペステロール、 β -シトステロール、シグマステロール、アベナステロール、グリコシルイノシトールホスホリルセラミド (GIPC)、糖脂質（

10

20

30

40

50

例えば、モノガラクトシルジアシルグリセロール (MGDG) 若しくはジガラクトシルジアシルグリセロール (DGDG) 又はそれらの組合せが挙げられる。例えば、PMPは、GIPCを含み得、これは、植物の主要スフィンゴ脂質クラスの代表であり、植物において最も豊富な膜脂質の1つである。他の植物EVマーカは、非生物的又は生物的ストレス (例えば、細菌若しくは真菌感染) に応答して植物中に蓄積する脂質、例えばホスファチジン酸 (PA) 又はホスファチジルイノシトール-4-リン酸 (PI4P) を挙げることができる。

【0122】

代わりに、植物EVマーカは、植物タンパク質を含み得る。一部の例では、タンパク質植物EVマーカは、植物により天然に産生される抗微生物タンパク質であり得、そうしたものとして、非生物的又は生物的ストレス (例えば、細菌若しくは真菌感染) に応答して植物が分泌する防御タンパク質がある。植物病原体防御タンパク質としては、可溶性N-エチルマレイミド感受性因子結合タンパク質受容体タンパク質 (SNARE) タンパク質 (例えば、Syntaxin-121 (SYP121; GenBankアクセッション番号: NP_187788.1 若しくは NP_974288.1)、Penetration1 (PEN1; GenBankアクセッション番号: NP_567462.1)) 又はABC輸送体Penetration3 (PEN3; GenBankアクセッション番号: NP_191283.2) がある。植物EVマーカの他の例としては、植物中のRNAの長距離輸送を促進するタンパク質があり、こうしたものとして、師部タンパク質 (例えば、師部タンパク質2-A1 (PP2-A1)、GenBankアクセッション番号: NP_193719.1)、カルシウム依存性脂質結合タンパク質又はレクチン (例えば、ジャカリン (Jacalin) 関連レクチン、例えばヒマワリ (Helianthus annuus) ジャカリン (Helja; GenBank: AHZ86978.1) が挙げられる。例えば、RNA結合タンパク質は、グリシンリッチRNA結合タンパク質-7 (GRP7; GenBankアクセッション番号: NP_179760.1) であり得る。加えて、プラスモデスマータ機能を調節するタンパク質が、一部の例で、植物EV中に見られ得るが、こうしたものとして、Synap-Totgamin AA (GenBankアクセッション番号: NP_565495.1) がある。一部の例では、植物EVマーカは、ホスホリパーゼC又はホスホリパーゼDなど、脂質機序に関与するタンパク質を含み得る。一部の例では、植物タンパク質EVマーカは、植物の細胞トラフィッキングタンパク質である。植物EVマーカがタンパク質である特定の例では、タンパク質マーカは、分泌タンパク質と典型的に結合するシグナルペプチドが欠失している場合がある。非古典的分泌タンパク質は、(i) リーダ配列の欠失、(ii) ER又はゴルジ装置に特異的なPTMの非存在、及び/又は (iii) 古典的ER/ゴルジ依存性分泌経路を遮断するブレフェルディンAによる影響を受けない分泌のような、いくつかの共通の特徴を有すると思われる。当業者は、一般に自由に利用可能な様々な手段 (例えば、SecretomeP Database; SUBA3 (SUBcellular localization database for Arabidopsis proteins)) を使用して、シグナル配列又はその欠失についてタンパク質を評価することができる。

【0123】

植物EVマーカがタンパク質である例では、タンパク質は、植物EVマーカ、例えば付録に列挙される植物EVマーカのいずれかと、少なくとも35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有し得る。例えば、タンパク質は、シロイヌナズナ (Arabidopsis thaliana) 由来のPEN1 (GenBankアクセッション番号: NP_567462.1) と、少なくとも35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%又は100%の配列同一性を有するアミノ酸配列を有し得る。

【0124】

一部の例では、植物EVマーカは、植物によりコードされる核酸、例えば植物RNA、植物DNA又は植物PNAを含む。例えば、PMPは、植物によりコードされるdsRNA、mRNA、ウイルスRNA、マイクロRNA(miRNA)又は低分子干渉RNA(sRNA)を含み得る。一部の例では、核酸は、本明細書で論じるように、植物においてRNAの長距離輸送を促進するタンパク質に関連するものであり得る。一部の例では、核酸植物EVマーカは、宿主誘導遺伝子サイレンシング(HIGS)に関与するものであり得、これは、植物が、植物有害生物(例えば、真菌などの病原体)の外来転写物を抑制するプロセスである。例えば、核酸は、細菌又は真菌遺伝子を抑制するものであり得る。一部の例では、核酸は、真菌病原体(例えば、バーティシリウム・ダリエ(*Verticillium dahliae*))中の遺伝子をターゲティングする、miR159又はmiR166などのマイクロRNAであり得る。一部の例では、タンパク質は、植物防御化合物の運搬に関与するもの、例えばグルコシノレート(GSL)輸送及び代謝に関与するタンパク質であり得、こうしたものとして、グルコシノレートトランスポーター1-1(GTR1; GenBankアクセッション番号: NP_566896.2)、グルコシノレートトランスポーター2(GTR2; NP_201074.1)又はエピチオ特異的修飾因子1(ESM1; NP_188037.1)が挙げられる。

【0125】

植物EVマーカが核酸である例では、核酸は、植物EVマーカ、例えば付録に列挙される植物EVマーカをコードするものなどと、少なくとも35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%又は100%の配列同一性を有するヌクレオチド配列を有し得る。例えば、核酸は、miR159又はmiR166と、少なくとも35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98%、99%又は100%の配列同一性を有するポリヌクレオチド配列を有し得る。

【0126】

一部の例では、植物EVマーカは、植物により産生される化合物を含む。例えば、化合物は、非生物的又は生物的ストレスに応答して産生される防御化合物、例えば二次代謝物などであり得る。PMP中に見られ得るこうした二次代謝物の1つは、グルコシノレート(GSL)であり、これは、主にアブラナ科(*Brassicaceae*)植物に見られる窒素及びイオウ含有二次代謝物である。他の二次代謝物は、アレロケミカルを含み得る。

【0127】

一部の例では、PMPは、典型的には植物によって産生されないが、一般に他の生物(例えば、動物EV、細菌EV若しくは真菌EVのマーカ)に関連する特定のマーカ(例えば、脂質、ポリペプチド若しくはポリヌクレオチド)の欠失に基づいて植物EVから産生されるものとしても同定され得る。例えば、一部の例では、PMPは、動物EV、細菌EV若しくは真菌EVに典型的に見られる脂質を欠失している。一部の例では、PMPは、動物EVに典型的な脂質(例えば、スフィンゴミエリン)を欠失している。一部の例では、PMPは、細菌EV又は細菌膜に典型的な脂質(例えば、LPS)を含有しない。一部の例では、PMPは、真菌膜に典型的な脂質(例えば、エルゴステロール)を欠失している。

【0128】

小分子(例えば、質量分光法、質量分析法)、脂質(例えば、質量分光法、質量分析法)、タンパク質(例えば、質量分光法、イムノブロッティング)又は核酸(例えば、PCR分析)の同定を可能にする、当技術分野で公知の任意の手法を用いて、植物EVマーカを同定することができる。一部の例では、本明細書に記載のPMP組成物は、検出可能な量、例えば所定閾値量のPMP組成物に記載の植物EVマーカを含有する。

【0129】

C. 薬剤のローディング

PMPは、異種機能性薬剤、例えば本明細書に記載するものなどの病原体防除剤又は忌

10

20

30

40

50

避剤を含有するように修飾することができる。PMPは、薬剤を標的植物又は植物有害生物に送達することを可能にする様々な手段で、例えば薬剤の封入、脂質二重層構造内への成分の組込み又はPMPの脂質二重層構造の表面と成分の結合（例えば、共役）により、こうした薬剤を担持させるか又はそれらと結合させることができる。

【0130】

異種機能性薬剤は、PMPと薬剤同士の結合を直接若しくは間接的に可能にする、当技術分野で公知の任意の方法により、PMP中若しくは上に組み込むか又はロードすることができる。異種機能性薬剤は、インビボ法（例えば、インプラント、例えば異種薬剤を含むトランスジェニック植物からのPMPの産生により）若しくはインビトロで（例えば、組織培養若しくは細胞培養で）又はインビボ及びインビトロ法の両方によってPMPに組み込むことができる。

10

【0131】

PMPに異種機能性薬剤（例えば、病原体防除剤又は忌避剤）をインビボでロードする例では、PMPは、インプラントで、組織培養物又は細胞培養物にロードされたEV又はその断片、部分若しくは抽出物から産生され得る。インプラント法は、異種機能性薬剤を発現するように遺伝子修飾された植物における異種機能性薬剤（例えば、病原体防除剤又は忌避剤）の発現を含む。一部の例では、異種機能性薬剤は、植物に対して外性である。代わりに、異種機能性薬剤は、植物中に天然に見られ得るが、非遺伝子修飾植物に見られるレベルより高いレベルで発現され得る。

【0132】

一部の例では、PMPは、インビトロでロードすることができる。限定されないが、物理的、化学的及び／又は生物学的方法を用いて、物質をPMP上若しくは中にロードすることができる（例えば、PMPにより封入することができる）。例えば、異種機能性薬剤は、エレクトロポレーション、超音波処理、受動的拡散、攪拌、脂質抽出又は押出しの1つ又は複数によってPMP中に導入することができる。ロードされた薬剤の存在又はレベルを確認するために、様々な方法、例えばHPLC（例えば、小分子評価のため）；イムノブロットング（例えば、タンパク質評価のため）；及び定量的PCR（例えば、ヌクレオチドの評価のため）を用いて、ロードしたPMPを評価することができる。しかし、当業者には、PMPへの目的の物質のローディングは、上に例示した方法に限定されるわけではないことが理解されるべきである。

20

30

【0133】

一部の例では、異種機能性薬剤をPMPに共役させることができ、この場合、異種機能性薬剤は、PMPに間接的又は直接結合若しくは連結される。例えば、1つ又は複数の病原体防除剤が、PMPの脂質二重層に直接連結される（例えば、共有結合若しくはイオン結合により）ように、1つ又は複数の病原体防除剤をPMPに化学的連結させることができる。一部の例では、PMPに対する種々の病原体防除剤の共役は、最初に、好適な溶媒中で1つ又は複数の異種機能性薬剤を適切な架橋剤（例えば、N-エチルカルボジイミド（「EDC」）；これは、一般に、1級アミンとアミド結合のためのカルボキシル活性化剤として使用され、リン酸基とも反応する）と混合することによって達成することができる。異種機能性薬剤と架橋剤の結合を可能にするのに十分なインキュベーション時間後、架橋剤／異種機能性薬剤混合物をPMPと合わせて、さらなるインキュベーション時間後、ショ糖勾配（例えば、8、30、45及び60%ショ糖勾配）に付して、PMPに共役した病原体防除剤から遊離異種機能性薬剤及び遊離PMPを分離することができる。混合物をショ糖勾配と合わせるステップ及び付随の遠心分離ステップの一環として、病原体防除剤に共役させたPMPは、この時点で、ショ糖勾配中のバンドとして認められ、従って、次に、共役PMPを収集し、洗浄し、本明細書に記載の使用のために好適な溶液に溶解させることができる。

40

【0134】

一部の例では、例えば植物又は有害生物へのPMPの送達前及び送達後、PMPを異種機能性薬剤と安定に結合させる。別の例では、例えば植物又は有害生物へのPMPの送達

50

後、異種機能性薬剤がPMPから解離されるように、PMPを異種機能性と結合させる。

【0135】

PMPは、PMPの機能的及び構造的特徴をさらに改変するように、他の要素（例えば、脂質、例えばステロール、例えばコレステロール；又は小分子）でさらに修飾することもできる。例えば、PMPの安定性を高める（例えば、室温で少なくとも1日及び／又は4℃で少なくとも1週間にわたって安定している）安定化分子でPMPをさらに修飾することができる。

【0136】

PMPには、具体的な薬剤又は使用に応じて、様々な濃度の異種機能性薬剤をロードすることができる。例えば、一部の例では、本明細書に開示される病原体防除組成物が、約0.001、0.01、0.1、1.0、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90若しくは95（又は約0.001から95までの任意の範囲）以上のwt%の病原体防除剤及び／若しくは忌避剤を含むように、PMPにロードする。一部の例では、病原体防除組成物が、約95、90、80、70、60、50、40、30、20、15、10、9、8、7、6、5、4、3、2、1.0、0.1、0.01、0.001（又は約95から0.001までの任意の範囲）以下のwt%の病原体防除剤及び／若しくは忌避剤を含むように、PMPにロードする。例えば、病原体防除組成物は、約0.001～約0.01wt%、約0.01～約0.1wt%、約0.1～約1wt%、約1～約5wt%又は約5～約10wt%、約10～約20wt%の病原体防除剤及び／若しくは忌避剤を含有し得る。一部の例では、PMPに、約1、5、10、50、200若しくは500、1,000、2,000（又は約1から2,000までの任意の範囲）以上のμg/mlの病原体防除剤及び／若しくは忌避剤をロードすることができる。本発明のリポソームには、約2,000、1,000、500、200、100、50、10、5、1（又は約2,000から1までの任意の範囲）以下のμg/mlの病原体防除剤及び／若しくは忌避剤をロードすることができる。

【0137】

一部の例では、PMPには、本明細書に開示される病原体防除組成物が、少なくとも0.001wt%、少なくとも0.01wt%、少なくとも0.1wt%、少なくとも1.0wt%、少なくとも2wt%、少なくとも3wt%、少なくとも4wt%、少なくとも5wt%、少なくとも6wt%、少なくとも7wt%、少なくとも8wt%、少なくとも9wt%、少なくとも10wt%、少なくとも15wt%、少なくとも20wt%、少なくとも30wt%、少なくとも40wt%、少なくとも50wt%、少なくとも60wt%、少なくとも70wt%、少なくとも80wt%、少なくとも90wt%又は少なくとも95wt%の病原体防除剤及び／若しくは忌避剤をロードする。一部の例では、PMPには、少なくとも1μg/ml、少なくとも5μg/ml、少なくとも10μg/ml、少なくとも50μg/ml、少なくとも100μg/ml、少なくとも200μg/ml、少なくとも500μg/ml、少なくとも1,000μg/ml、少なくとも2,000μg/mlの病原体防除剤及び／若しくは忌避剤をロードすることができる。

【0138】

PMPにロードすることができる具体的な病原体防除剤又は忌避剤の例は、「異種機能性薬剤」と題するセクションでさらに概説する。

【0139】

D. 医薬製剤

本明細書には、例えば、動物への投与のための医薬組成物に製剤化することができる病原体防除組成物が含まれる。医薬組成物は、薬学的に許容可能な希釈剤、担体及び／又は賦形剤と一緒に動物に投与され得る。投与方法及び用量に応じて、本明細書に記載の方法の医薬組成物は、容易な送達を可能にする好適な医薬組成物に製剤化され得る。単回用量は、必要に応じて単位用量剤形であり得る。

【0140】

病原体防除組成物は、動物への経口投与、静脈内投与（例えば、注射若しくは注入）又

10

20

30

40

50

は皮下投与のために製剤化され得る。注射製剤の場合、種々の効果的な医薬担体が当技術分野において公知である（例えば、Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 22nd ed., (2012) 及び A S H P Handbook on Injectable Drugs, 18th ed., (2014) を参照されたい）。

【0141】

本組成物において薬学的に許容可能な担体及び賦形剤は、使用される用量及び濃度でレシピエントに対して非毒性である。許容可能な担体及び賦形剤としては、リン酸塩、クエン酸塩、H E P E S 及び T A E などの緩衝剤、アスコルビン酸及びメチオニンなどの抗酸化剤、塩化ヘキサメトニウム、オクタデシルジメチルベンジル塩化アンモニウム、レゾルシノール及び塩化ベンザルコニウムなどの保存料、ヒト血清アルブミン、ゼラチン、デキストラン及び免疫グロブリンなどのタンパク質、ポリビニルピロリドンなどの親水性ポリマー、グリシン、グルタミン、ヒスチジン及びリシンなどのアミノ酸並びにグルコース、マンノース、スクロース及びソルビトールなどの炭水化物を挙げることができる。組成物は、従来の製薬業務規範に従って製剤化され得る。製剤中の化合物の濃度は、投与しようとする有効薬剤（例えば、P M P）の用量、投与経路をはじめとするいくつかの要因に応じて変動し得る。

【0142】

動物への経口投与の場合、病原体防除組成物は、経口製剤の形態で調製することができる。経口用製剤は、非毒性の薬学的に許容可能な賦形剤と混合して有効成分を含有する錠剤、カプレット、カプセル、シロップ又は経口液体剤形を含み得る。これらの賦形剤は、例えば、不活性希釈剤又は充填剤（例えば、スクロース、ソルビトール、糖、マンニトール、微結晶セルロース、ジャガイモデンプンなどのデンプン、炭酸カルシウム、塩化ナトリウム、ラクトース、リン酸カルシウム、硫酸カルシウム又はリン酸ナトリウム）；造粒剤及び崩壊剤（例えば、微結晶セルロースなどのセルロース誘導体、ジャガイモデンプンなどのデンプン、クロスカルメロースナトリウム、アルギン酸塩又はアルギン酸）；結合剤（例えば、スクロース、グルコース、ソルビトール、アカシア、アルギン酸、アルギン酸ナトリウム、ゼラチン、デンプン、アルファデンプン、微結晶セルロース、ケイ酸アルミニウムマグネシウム、カルボキシメチルセルロースナトリウム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、エチルセルロース、ポリビニルピロリドン又はポリエチレングリコール）；並びに潤滑剤、滑剤及び付着防止剤（例えば、ステアリン酸マグネシウム、ステアリン酸亜鉛、ステアリン酸、シリカ、水素化植物油又はタルク）であり得る。他の薬学的に許容可能な賦形剤は、着色料、香味料、可塑剤、保湿剤、緩衝剤などであり得る。また、経口用製剤は、チュアブル錠、非チュアブル錠、カプレット、カプセルとして（有効成分が不活性固体希釈剤と混合されているハードゼラチンカプセルとして又は有効成分が水若しくは油媒体と混合されているソフトゼラチンカプセルとして）単位剤形で提供され得る。本明細書に開示される組成物は、即時放出、持続的放出又は遅延放出製剤もさらに含み得る。

【0143】

動物への非経口投与の場合、病原体防除組成物は、液体溶液又は懸濁液の形態で製剤化して、非経口経路（例えば、皮下、静脈内又は筋肉内）により投与することができる。医薬組成物は、注射又は注入のために製剤化することができる。非経口投与のための医薬組成物は、滅菌溶液又は任意の薬学的に許容可能な液体をビヒクルとして用いて製剤化することができる。薬学的に許容可能なビヒクルとして、限定されないが、滅菌水、生理食塩水又は細胞培地（例えば、ダルベッコ改変イーグル培地（D M E M）、 α -改変イーグル培地（ α -M E M）、F-12 培地）が挙げられる。製剤化方法は、当技術分野で公知であり、例えば G i b s o n (e d.) P h a r m a c e u t i c a l P r e f o r m u l a t i o n a n d F o r m u l a t i o n (2nd e d.) T a y l o r & F r a n c i s G r o u p, C R C P r e s s (2009) を参照されたい。

【0144】

E. 農業製剤

本明細書には、例えば、病原体又は病原体ベクター（例えば、昆虫）への投与の目的で農業組成物に製剤化することができる病原体防除組成物が含まれる。医薬組成物は、農業的に許容可能な希釈剤、担体及び／又は賦形剤と一緒に病原体又は病原体ベクター（例えば、昆虫）に投与され得る。本組成物及び方法に有用な農業製剤のさらなる例を本明細書にさらに概説する。

【0145】

適用、取扱い、輸送、貯蔵及び最大活性を容易にするために、有効物質、ここではPMPを他の物質と一緒に製剤化することができる。PMPは、例えば、ベイト、濃縮エマルジョン、粉剤、乳剤、燻蒸剤、ゲル、顆粒、マイクロカプセル封入剤、種子処理剤、懸濁剤、サスポエマルジョン剤、錠剤、水溶性液体、水分散性顆粒若しくはドライフロワブル（dry flowable）、水和剤及び極微量溶液に製剤化することができる。製剤の種類に関するさらに詳細な情報については、“Catalogue of Pesticide Formulation Types and International Coding System” Technical Monograph n° 2, 5th Edition by CropLife International (2002)を参照されたい。

【0146】

有効物質（例えば、異種機能性薬剤、例えば抗病原体剤、農業用薬剤若しくは忌避剤を含むか又は含まないPMP）は、最も一般的には、このような薬剤の濃縮製剤から調製される水性懸濁液又はエマルジョンとして適用することができる。こうした水溶性、水懸濁性又は乳化性製剤は、固体（通常、水和剤として知られる）、又は水分散性顆粒、又は通常、乳剤として知られる液体、又は水性懸濁液のいずれでもあり得る。圧縮して、水分散性顆粒を形成することができる水和剤は、農業、担体及び界面活性剤の均質混合物を含む。担体は、通常、アタパルジャイト（attapulgit）クレイ、モンモリロナイト粘土、珪藻土又は精製ケイ酸から選択される。約0.5%～約10%の水和剤を含む、有効な界面活性剤としては、スルホン化リグニン、濃縮ナフタレンスルホネート、ナフタレンスルホネート、アルキルベンゼンスルホネート、スルホン酸アルキル及びアルキルフェノールのエチレンオキシド付加物などの非イオン界面活性剤が挙げられる。

【0147】

乳剤は、水溶性溶媒又は水溶性有機溶媒と乳化剤との混合物のいずれかである担体に溶解させた液体1リットル当たり約50～約500グラムといった好適な濃度のPMPを含有し得る。有用な有機溶媒としては、芳香油、特にキシレン及び石油留分、特に石油の高沸点ナフタレン及びオレフィン部分、例えば重質芳香族ナフサが挙げられる。また、他の有機溶媒、例えばロジン誘導体を含むテルペン溶媒、シクロヘキサノンなどの脂肪族ケトン及び2-エトキシエタノールなどの錯体アルコールを使用し得る。乳剤に好適な乳化剤は、一般的な陰イオン及び非イオン界面活性剤から選択される。

【0148】

水性懸濁液は、約5%～約50重量%の範囲の濃度で水性担体中に分散される水不溶性農業の懸濁液を含む。懸濁液は、農業を微粉碎し、これを、水及び界面活性剤を含む担体中に激しく混合することにより調製される。また、水性担体の密度及び粘性を増大するために、無機塩及び合成又は天然ゴムなどの材料を添加し得る。

【0149】

PMPは、顆粒状組成物として適用され得、これは、特に土壌への適用に有用である。顆粒状組成物は、通常、粘土又は類似の物質を含む担体に分散させた約0.5%～約10重量%の農業を含有する。こうした組成物は、通常、好適な溶媒に製剤を溶解させた後、約0.5～約3mmの範囲の適切な粒径に事前に形成された顆粒状担体に適用することにより調製される。こうした組成物は、担体と化合物のダフ又はペーストを作製し、粉碎した後、乾燥させて、所望の顆粒粒径を得ることによって製剤化され得る。

【0150】

本PMP製剤を含有する粉剤は、好適な粉末状の担体、例えばカオリンクレイ、摩砕した火山岩などと一緒に粉末状のPMPを均質混合することにより調製される。粉剤は、好適には、パケットの約1%～約10%を占め得る。粉剤は、ダストブロー機で、種子粉衣又は葉適用として適用することができる。

【0151】

同様に、好適な有機溶媒、通常、農業化学で広く使用されている石油、例えばスプレーオイル中の溶液の形態の本製剤を適用するのも実用的である。

【0152】

PMPは、エアゾール組成物の形態で適用することもできる。こうした組成物では、パケットを、圧力発生噴霧剤混合物である担体に溶解又は分散させる。エアゾール組成物を容器内にパッケージし、この容器から霧状化弁を介して混合物を投与する。

【0153】

別の実施形態は、水中油形エマルジョンであり、エマルジョンは、油滴を含み、これらは、それぞれラメラ液晶コーティングを備え、水相に分散されており、各油滴は、農業的に有効な少なくとも1つの化合物を含み、(1)少なくとも1つの非イオン親油性界面活性剤、(2)少なくとも1つの非イオン親水性界面活性剤、及び(3)少なくとも1つのイオン界面活性剤を含むモノラメラ又はオリゴラメラ層で個別にコーティングされており、この場合、油滴は、800ナノメートル未満の平均粒径を有する。上記実施形態に関するさらに詳細な情報は、2007年2月1日に公開された米国特許出願公開第20070027034号明細書に開示されている。使用しやすいように、この実施形態は、「OIEWE」と呼ぶ。

【0154】

加えて、一般に、上に開示した分子を製剤に使用する場合、こうした製剤は、他の成分も含有することができる。これらの成分として、限定されないが、(これは、非排他的且つ非相互排他的リストである)湿潤剤、展着剤、粘着剤、浸透剤、緩衝剤、金属イオン封鎖剤、ドリフト制御添加剤、適合性薬剤、消泡剤、洗浄剤及び乳化剤が挙げられる。いくつかの成分を以降に記載する。

【0155】

湿潤剤は、液体に添加されると、液体と、それが展着される表面との間の界面張力を低減することにより、液体の展着又は浸透力を高める物質である。湿潤剤は、農業化学製剤の2つの主要な機能：処理及び製造工程中、水による粉末の湿潤速度を高めて、可溶性液体のための濃縮物又は懸濁剤を製造し；スプレータンク中で水と製品の混合工程中、水和剤の湿潤時間を短縮して、水分散性顆粒への水の浸透を改善するために使用される。水和剤、懸濁剤及び水分散性顆粒製剤に使用される湿潤剤の例は、ラウリル硫酸ナトリウム；ジオクチルスルホコハク酸ナトリウム；アルキルフェノールエトキシレート；及び脂肪族アルコールエトキシレートである。

【0156】

分散剤は、粒子の表面に吸着して、粒子の分散状態を保存することを促進すると共に、粒子が再凝集することを防ぐ物質である。分散剤は、製造工程中の分散及び懸濁を促進するため、且つスプレータンク内の水中に粒子を確実に再分散させるために農業製剤に添加される。分散剤は、水和剤、懸濁剤及び水分散性顆粒剤に広く使用されている。分散剤として使用される界面活性剤は、粒子表面に強力に吸着して、粒子の再凝集に対する荷電又は立体障害をもたらす能力がある。最も一般的に使用される界面活性剤は、陰イオン、非イオン又はこれら2種類の混合物である。水和剤の場合、最も一般的な分散剤は、リグノスルホン酸ナトリウムである。懸濁剤の場合、高分子電解質、例えばナトリウムナフタレンスルホン酸ホルムアルデヒド縮合物を使用して、非常に優れた吸着及び安定化が達成される。トリスチリルフェノールエトキシレートリン酸エステルも使用される。アルキルアリールエチレンオキシド縮合物及びEO-POブロックコポリマーなどの非イオン界面活性剤は、懸濁剤濃縮物として陰イオン界面活性剤と組み合わせる場合もある。近年、新たなタイプの非常に高分子量のポリマー界面活性剤が分散剤として開発されている。これら

は、非常に長い疎水性「骨格」と、「コーム」界面活性剤の「歯」を形成する多数のエチレンオキシド鎖を有する。これらの高分子量ポリマーは、疎水性骨格が、粒子表面に多くの固定点を有することから、懸濁剤に対して非常に良好な長期安定性を付与することができる。農薬製剤に使用される分散剤の例は、リグノスルホン酸ナトリウム；ナトリウムナフタレンスルホン酸ホルムアルデヒド縮合物；トリスチリルフェノールエトキシレートリン酸エステル；脂肪族アルコールエトキシレート；アルキルエトキシレート；E O - P O（エチレンオキシド-プロピレンオキシド）ブロックコポリマー；及びグラフトコポリマーである。

【0157】

乳化剤は、別の液相中の1つの液相の液滴の懸濁を安定化させる物質である。乳化剤がなければ、2つの液体は、2つの非混和性液相中に分離するであろう。最も一般的に使用される乳化剤ブレンドは、12以上のエチレンオキシド単位を有するアルキルフェノール又は脂肪族アルコールと、ドデシルベンゼンスルホン酸の油溶性カルシウム塩を含有する。8から18までの親水性-親油性バランス（「HLB」）値の範囲が、通常、優れた安定エマルジョンを提供する。エマルジョンの安定性は、時として、少量のE O - P Oブロックコポリマー界面活性剤の添加により改善することができる。

【0158】

可溶化剤は、臨界ミセル濃度を超える濃度のミセル水溶液を形成する界面活性剤である。そのため、ミセルは、ミセルの疎水性部分内で水不溶性材料を溶解又は可溶化させることができる。可溶化のために通常使用される界面活性剤のタイプは、非イオン界面活性剤、ソルビタンモノオレート、ソルビタンモノオレートエトキシレート及びオレイン酸メチルエステルである。

【0159】

標的に対する農薬の生物学的性能を改善するために、界面活性剤が、単独で又はスプレータンクミックスへの補助剤としての鉱油若しくは植物油などの他の添加剤と一緒に使用される場合もある。バイオエンハンスメントのために使用される界面活性剤のタイプは、一般に、農薬の性質及び作用モードに応じて変わる。しかし、これらは、多くの場合、アルキルエトキシレート；直鎖脂肪族アルコールエトキシレート；脂肪族アミンエトキシレートといった非イオン界面活性剤である。

【0160】

農薬製剤中の担体又は希釈剤は、必要な強度の製剤を提供するために農薬に添加される材料である。担体は、通常、高い吸収力を備える材料であるのに対し、希釈剤は、通常、低い吸収力を備える材料である。担体及び希釈剤は、粉剤、水和剤、顆粒及び水分散性顆粒の製剤に使用される。

【0161】

有機溶媒は、主として、乳剤、水中油形エマルジョン、サスポエマルジョン及び極少量製剤、また程度は低いが顆粒剤の製剤に使用される。溶媒の混合物が使用される場合もある。溶媒の第1主要グループは、ケロセン又は精製パラフィンなどの脂肪族パラフィン油である。第2の主要グループ（及び最も一般的）は、キシレン及びC9及びC10芳香族溶媒のより高分子量の画分などの芳香族溶媒を含む。塩素化炭化水素は、製剤を水に乳化する場合に農薬の結晶化を防止するための共溶媒として有用である。溶解力を高めるための共溶媒として、アルコールが使用される場合もある。他の溶媒としては、植物油、種子油及び植物及び種子油のエステルが挙げられ得る。

【0162】

増粘剤又はゲル化剤は、主として、液体のレオロジー又は流動性を変化させるため、且つ分散した粒子又は液滴の分離及び沈殿を防止するために、懸濁剤、エマルジョン及びサスポエマルジョンの製剤に使用される。増粘剤、ゲル化剤及び沈殿防止剤は、概して2つのカテゴリー、即ち水不溶性粒子及び水溶性ポリマーに属する。粘土及びシリカを用いて、懸濁製剤を製造することが可能である。これらのタイプの材料の例として、限定されないが、モンモリロナイト粘土、ベントナイト、ケイ酸アルミニウムマグネシウム及びアタ

10

20

30

40

50

ブルガイトが挙げられる。水溶性多糖が、増粘－ゲル化剤として長年使用されている。最も一般的に使用されている多糖のタイプは、種子及び海藻の天然抽出物であるか又はセルロースの合成誘導体である。これらのタイプの材料の例として、限定されないが、グアーガム；ローカストビーンガム；カラギーナン；アルギン酸塩；メチルセルロース；ナトリウムカルボキシメチルセルロース（SCMC）；ヒドロキシエチルセルロース（HEC）が挙げられる。他のタイプの沈殿防止剤は、加工デンプン、ポリアクリレート、ポリビニルアルコール及びポリエチレンオキッドを基材とする。別の優れた沈殿防止剤は、キサンタンガムである。

【0163】

微生物は、製剤化した製品の腐敗を引き起こし得る。そのため、微生物の作用を排除又は抑制するために、防腐剤が用いられる。こうした薬剤の例として、限定されないが、以下のものが挙げられる：プロピオン酸及びその塩；ソルビン酸及びそのナトリウム又はカリウム塩；安息香酸及びその塩；p－ヒドロキシ安息香酸ナトリウム塩；p－ヒドロキシ安息香酸メチル；並びに1，2－ベンズイソチアゾリン－3－オン（BIT）。

【0164】

界面活性剤の存在は、往々にして、生成及びスプレータンクからの適用での混合工程中に水性製剤を泡立たせる。泡立つ傾向を軽減するために、生産段階中又は瓶詰め前に消泡剤を添加することが多い。一般に、2種類の消泡剤、即ちシリコーン及び非シリコーンがある。シリコーンは、通常、ジメチルポリシロキサンの水性エマルジョンであり、非シリコーン消泡剤は、水不溶性油、例えばオクタノール及びノナノール又はシリカである。いずれの場合にも、消泡剤の機能は、界面活性剤を空気－水界面から移すことである。

【0165】

「グリーン（Green）剤」（例えば、助剤、界面活性剤、溶媒）は、作物保護製剤の環境フットプリント全体を低減することができる。グリーン剤は、生分解性であり、一般に、天然及び／又は持続可能な供給源、例えば植物及び動物源由来である。具体的な例は、植物油、種子油及びそれらのエステル、さらにはアルコキシル化アルキルフェノールポリグルコシドである。

【0166】

一部の例では、PMPをフリーズドライ又は凍結乾燥することができる。米国特許第4，311，712号明細書を参照されたい。PMPは、後に水又は別の液体と接触させて再構成することができる。凍結乾燥若しくは再構成したリポソームに、他の成分、例えば他の病原体防除剤、農薬用薬剤、忌避剤、農業的に許容可能な担体又は本明細書に記載の製剤に従う他の物質を添加することができる。

【0167】

本組成物の他の任意の特徴は、UV及び／又は酸性条件から病原体防除組成物を保護する担体又は送達ビヒクルを含む。一部の例では、送達ビヒクルは、pHバッファーを含有する。一部の例では、組成物は、約4.5～約9.0の範囲内のpHを有するように製剤化され、例えば約5.0～約8.0、約6.5～約7.5又は約6.5～約7.0のいずれか1つのpH範囲を含む。

【0168】

本組成物は、有害生物、例えば病原体ベクター（例えば、昆虫）を本組成物の近傍に誘引する誘引物質（例えば、化学誘引物質）と一緒にさらに製剤化され得る。誘引物質としては、フェロモン、動物、特に有害生物により分泌される化学物質又は同じ種の他の生物の挙動若しくは発生に影響を及ぼす化学誘引物質が挙げられる。他の誘引物質としては、砂糖及びタンパク質加水分解物シロップ、酵母及び腐肉が挙げられる。誘引物質は、有効成分と組み合わせて、処理領域内の葉全体又は他の品目に噴霧することもできる。有害生物の餌の探索、産卵又は交配場所若しくは交配相手といった有害生物の挙動に影響を与える多様な誘引物質が知られている。本明細書に記載される方法及び組成物に有用な誘引物質として、例えばオイゲノール、プロピオン酸フェネチル、カルボン酸エチルジメチルイソブチル－シクロプロパン、ベンゾジオキサンカルボン酸プロピル、シス－7，8－エポ

10

20

30

40

50

キシー２－メチルオクタデカン、トランス－８，トランス－１０－ドデカジエノール、シス－９－テトラデセナール（シス－１１－ヘキサデセナールを含む）、トランス－１１－テトラデセナール、シス－１１－ヘキサデセナール、（Ｚ）－１１，１２－ヘキサデカジエナール、酢酸シス－７－ドデセニル、酢酸シス－８－ドデセニル、酢酸シス－９－ドデセニル、酢酸シス－９－テトラデセニル、酢酸シス－１１－テトラデセニル、酢酸トランス－１１－テトラデセニル（シス－１１を含む）、酢酸シス－９，トランス－１１－テトラデセニル（シス－９，トランス－１２を含む）、酢酸シス－９，トランス－１２－テトラデセニル、酢酸シス－７，トランス－１１－ヘキサデカジエニル（シス－７，トランス－１１を含む）、酢酸シス－１３，シス－１３－オクタデカジエニル、酢酸トランス－３，シス－１３－オクタデカジエニル、アネトール及びサリチル酸イソアミルが挙げられる。

【０１６９】

農薬製剤に関するさらに詳細な情報については、以下を参照されたい：“Chemistry and Technology of Agrochemical Formulations” edited by D. A. Knowles, copyright 1998 by Kluwer Academic Publishers。また、以下も参照されたい：“Insecticides in Agriculture and Environment—Retrospects and Prospects” by A. S. Perry, I. Yamamoto, I. Ishaaya, and R. Perry, copyright 1998 by Springer-Verlag。

【０１７０】

II. 処置方法

本明細書に記載の病原体防除組成物は、様々な処置方法において、特に動物の病原体感染の予防又は処置のために有用である。本発明は、本明細書に記載の病原体防除組成物を動物に送達するステップを含む。

【０１７１】

本明細書には、本明細書に開示される病原体防除組成物を植物に投与する方法が提供される。本方法は、動物の病原体感染を予防又は処置する上で有用となり得る。

【０１７２】

例えば、本明細書には、真菌感染を有する動物を処置する方法が提供され、本方法は、有効量の、複数のＰＭＰを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含む。一部の例では、本方法は、有効量の、複数のＰＭＰを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含み、複数のＰＭＰは、抗真菌剤を含む。一部の例では、抗真菌剤は、真菌感染を引き起こす真菌の遺伝子（例えば、フィラメント成長促進タンパク質（ＥＦＧ１））の発現を阻害する核酸である。一部の例では、真菌感染は、カンジダ・アルビカンズ（*Candida albicans*）によって引き起こされる。一部の例では、組成物は、シロイヌナズナ（*Arabidopsis*）アポプラストＥＶから産生されたＰＭＰを含む。一部の例では、本方法は、真菌感染を低減するか又は実質的に排除する。

【０１７３】

別の態様では、本明細書には、細菌感染を有する動物を処置する方法が提供され、本方法は、有効量の、複数のＰＭＰを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含む。一部の例では、本方法は、有効量の、複数のＰＭＰを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含み、複数のＰＭＰは、抗菌剤（例えば、アムホテリシンＢ）を含む。一部の例では、細菌は、ストレプトコッカス属（*Streptococcus*）種、肺炎球菌属（*Pneumococcus*）種、シュードモナス属（*Pseudomonas*）種、シゲラ属（*Shigella*）種、サルモネラ属（*Salmonella*）種、カンピロバクター属（*Campylobacter*）種又はエスキリア属（*Escherichia*）種である。一部の例では、組成物は、シロイヌナズナ（*Arabidopsis*）アポプラストＥＶから産生されたＰＭＰを含む。一部の例では、本方法は、細菌感染を低減するか又は実質的に排除する。一部の例では、動物は、ヒト、獣医学対象動物又は家畜動物である。

【0174】

本方法は、動物の感染（例えば、動物病原体に起因するものなど）を処置する上で有用であり、これは、動物の状態を改善又は安定化するために、既に疾患に罹患した動物に処置を施すことを指す。これは、初期量と比較して、動物体内、身体上若しくは周囲の1つ若しくは複数の病原体による病原体のコロニー形成を（例えば、約1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%若しくは100%）低減すること及び／又は個体に利益（例えば、症状の分利に十分な量のコロニー形成の減少）を付与することを含み得る。このような例では、処置を受けた感染は、症状の低減（例えば、約1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%又は100%）として現れ得る。一部の例では、個体の生存の可能性を増加する（例えば、約1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%若しくは100%の増加）か、又は個体群の全生存率を増加する（例えば、約1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%若しくは100%の増加）上で有効である。例えば、組成物及び方法は、感染を「実質的に排除する」上で有効であり得るが、これは、動物の症状を持続可能に（例えば、少なくとも1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11又は12ヶ月にわたって）分利する上で十分な量の感染の低減を指す。

10

【0175】

本方法は、感染（例えば、動物病原体に起因するものなど）を予防する上で有用であり、これは、初期病原体個体群（例えば、健康な個体に存在する大まかな量）を維持するのに十分な量で動物体内、身体上若しくは周囲の1つ若しくは複数の病原体によるコロニー形成の増加を（例えば、約1%、2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%若しくは100%超）予防し、感染の発症を予防し、且つ／又は感染に関連する症状若しくは状態を予防することを指す。例えば、個体は、免疫不全個体（例えば、癌、HIV／AIDSを有するか若しくは免疫抑制剤を摂取している個体）又は長期抗生物質療法を受けている個体において、侵襲的医療処置の準備（例えば、移植、幹細胞療法、移植片、プロテアーゼを受けるか、長期若しくは高頻度で静脈内カテーテル法を受けるか、又は集中治療室内での処置を受けるなどの手術の準備）をする間、個体は、真菌感染を予防するための予防処置を受けることができる。

20

【0176】

病原体防除組成物は、以下を含む任意の好適な方法による投与のために製剤化するか、又はそうした方法によって投与することができる：例えば、静脈内、筋肉内、皮下、皮内、経皮、動脈内、腹腔内、病変内、頭蓋内、関節内、前立腺、胸膜内、気管内、髄腔内、鼻内、腔内、直腸内、局所、腫瘍内、腹膜内、結膜下、膀胱内、粘膜、心膜内、臍帯内、眼内、眼窩内、経口、局所、経皮、硝子体内（例えば、硝子体内注射による）、点眼薬により、吸入により、注射により、移植により、注入により、連続点滴により、標的細胞を局在化灌流浴に直接付すことにより、カテーテルにより、洗浄により、クリーム又は脂質組成物中において。本明細書に記載の方法で使用される組成物は、全身投与又は局所投与することもできる。投与方法は、様々な要因（例えば、投与される化合物又は組成物並びに治療しようとする状態、疾患又は障害の重大度）に応じて変動し得る。一部の例では、病原体防除組成物は、静脈内、筋肉内、皮下、局所、経口、経皮、腹腔内、眼窩内、移植により、吸入により、頭蓋内、心室内又は鼻内投与される。投与は、一部には投与が短期又は長期であるかに応じて、任意の好適な経路、例えば静脈内又は皮下注射などの注射によって行うことができる。本明細書では、限定されないが、単回投与若しくは様々な時点での複数回投与、ボラス投与及びパルス注入を含む多様な投与スケジュールが考慮される。

30

40

【0177】

本明細書に記載の感染の予防又は処置のために（単独で又は1つ若しくは複数の他の追加的な治療薬と組み合わせて使用する場合）、治療しようとする疾患の種類、疾患の重症度及び経過、それが予防若しくは治療目的のいずれで投与されるか、過去の治療、患者の

50

病歴並びに病原体防除組成物に対する応答に応じて変動し得る。病原体防除組成物は、例えば、1回で又は一連の処置にわたって患者に投与することができる。数日以上にわたる反復投与の場合、状態に応じて、処置は、概して、疾患症状の所望の抑制が起こるか、又は感染が検出できなくなるまで持続されることになる。こうした用量は、断続的に、例えば毎週又は2週間毎に（例えば、患者が、病原体防除組成物の用量を例えば約2～約20回受けるように）投与され得る。初期の比較的高い用量後、1つ又は複数のより低い用量を投与し得る。しかし、他の投与レジメンも有用であり得る。この治療法の進行は、従来の技術及びアッセイにより容易にモニターされる。

【0178】

一部の例では、個体（例えば、ヒト）に投与される病原体防除組成物の量は、個体の体重の約0.01mg/kg～約5g/kgの範囲（例えば、約0.01mg/kg～0.1mg/kg、約0.1mg/kg～1mg/kg、約1mg/kg～10mg/kg、約10mg/kg～100mg/kg、約100mg/kg～1g/kg又は約1g/kg～5g/kg）であり得る。一部の例では、個体（例えば、ヒト）に投与される病原体防除組成物の量は、個体の体重の少なくとも0.01mg/kg（例えば、少なくとも0.01mg/kg、少なくとも0.1mg/kg、少なくとも1mg/kg、少なくとも10mg/kg、少なくとも100mg/kg、少なくとも1g/kg又は少なくとも5g/kg）である。用量は、単回用量又は複数回用量（例えば、2、3、4、5、6、7若しくは8回以上の用量）として投与され得る。一部の例では、動物に投与される病原体防除組成物は、単独で又は追加的な治療薬若しくは病原体防除剤と組み合わせて投与され得る。併用療法で投与される抗体の用量は、単独処置と比較して低いことができる。この療法の進行は、従来の技術によって容易にモニターされる。

【0179】

III. 農業方法

本明細書に記載の病原体防除組成物は、様々な農業方法において、特に動物への病原体感染の予防又は処置及び例えば病原体ベクターによるこのような病原体の拡大の抑制のために有用である。本方法は、本明細書に記載の病原体防除組成物を病原体又は病原体ベクターに送達するステップを含む。

【0180】

本組成物及び関連方法を使用して、病原体又は病原体ベクターが常在する任意の生息場所（例えば、動物の外部、例えば植物上、植物部分（例えば、根、果実及び種子）上、土壤中若しくは土壌上、水又は別の病原体若しくは病原体ベクター生息地における病原体又は病原体ベクターによる寄生を予防するか、又はそれらの数を低減することができる。従って、本組成物及び方法は、ベクターを殺傷するか、障害するか又は活動を緩徐にすることにより、病原体ベクターの有害作用を低減することができ、これにより、病原体が動物に広がることを抑制することができる。本明細書に開示される組成物を用いて、あらゆる発生段階、例えばそれらの卵、若虫、虫齢、幼虫、成虫、幼若体又は乾燥形態にある任意の病原体又は病原体ベクターを防除、殺傷、障害、麻痺させるか、又はその1つ若しくは複数の活動を低減することができる。これらの方法の各々の詳細については、以下にさらに記載する。

【0181】

A. 病原体への送達

本明細書には、病原体を病原体防除組成物と接触させることにより、本明細書に開示されるものなどの病原体に病原体防除組成物を送達する方法が提供される。本方法は、例えば、病原体防除組成物の送達の結果として、病原体感染を予防若しくは処置するか又は病原体の拡大を制御するために病原体の適応度を低減させる上で有用となり得る。本明細書に記載の方法に従ってターゲティングすることができる病原体の例としては、細菌（例えば、ストレプトコッカス属（*Streptococcus*）種、肺炎球菌属（*Pneumococcus*）種、シュードモナス属（*Pseudomonas*）種、シゲラ属（*Shigella*）種、サルモネラ属（*Salmonella*）種、カンピロバクター属（*Campylobacter*）種、

ampylobacter) 種若しくはエスキリア属 (Escherichia) 種)、真菌 (サッカロミセス属 (Saccharomyces) 種又はカンジダ属 (Candida) 種)、寄生昆虫 (例えば、キメクス属 (Cimex) 種)、寄生線虫 (例えば、ヘリグモソモイデス属 (Heligmosomoides) 種) 又は寄生原虫 (例えば、トリコモナス属 (Trichomonas) 種) が挙げられる。

【0182】

例えば、本明細書には、病原体の適応度を低減させる方法が提供され、この方法は、本明細書に記載の組成物のいずれかを病原体に送達するステップを含み、本方法は、非処置病原体に対して病原体の適応度を低減させる。一部の実施形態では、本方法は、病原体が成長、生息、繁殖、摂食又は寄生する少なくとも1つの生息場所に組成物を送達するステップを含む。本明細書に記載の方法の一部の例では、組成物は、病原体による摂食のための病原体摂食可能組成物として送達される。本明細書に記載の方法の一部の例では、組成物は、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル又は気体として (例えば、病原体に) 送達される。

【0183】

また、本明細書には、寄生昆虫の適応度を低減させる方法も提供され、この方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生昆虫に送達するステップを含む。一部の例では、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生昆虫に送達するステップを含み、複数のPMPは、殺虫剤を含む。例えば、寄生昆虫は、トコジラミであり得る。寄生昆虫の他の非限定的な例は、本明細書に記載する。一部の例では、本方法は、非処置寄生昆虫に対して寄生昆虫の適応度を低減させる。

【0184】

加えて、本明細書には、寄生線虫の適応度を低減させる方法も提供され、この方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生線虫に送達するステップを含む。一部の例では、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生線虫に送達するステップを含み、複数のPMPは、殺線虫剤を含む。例えば、寄生線虫は、ヘリグモソモイデス・ポリギルス (Heligmosomoides polygyrus) である。寄生線虫の他の非限定的な例は、本明細書に記載する。一部の例では、本方法は、非処置寄生線虫に対して寄生線虫の適応度を低減させる。

【0185】

さらに、本明細書には、寄生原虫の適応度を低減させる方法も提供され、この方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生原虫に送達するステップを含む。一部の例では、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物を寄生線虫に送達するステップを含み、複数のPMPは、抗寄生虫剤を含む。例えば、寄生原虫は、膾トリコモナス (T. vaginalis) である。寄生原虫の他の非限定的な例は、本明細書に記載する。一部の例では、本方法は、非処置寄生原虫に対して寄生原虫の適応度を低減させる。

【0186】

病原体防除組成物の送達の結果としての病原体の適応度の低減は、いくつかの様式で現れ得る。一部の例では、病原体の適応度の低減は、病原体防除組成物の送達の結果として、病原体の生理機能の劣化又は衰え (例えば、健康状態若しくは生存率の低減) として現れ得る。一部の例では、生物の適応度は、病原体防除組成物が投与されなかった病原体と比較して、限定されないが、繁殖率、生殖能力、寿命、生存能力、移動性、繁殖力、病原体発生、体重、代謝率若しくは活動又は生存率を含む1つ又は複数のパラメータにより測定することができる。例えば、本明細書に記載の方法又は組成物は、病原体の健康全般を低減させるか、又は病原体の全生存率を低減させるのに有効であり得る。一部の例では、病原体の生存率低減は、参照レベル (例えば、病原体防除組成物を受けていない病原体で見られるレベルと比較して約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超である。一部の例では、本方法又は組成物は、病原体防除を投与されていない病原体と比較して病原体の繁殖 (例えば、繁殖率、生殖力) を低減させるのに有効である。一部の例では、本方法又は組成物は、移

動性、体重、寿命、繁殖力又は代謝率などの他の生理学的パラメータを参照レベル（例えば、病原体防除組成物を受けていない病原体で見られるレベル）と比較して約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超低減させるのに有効である。

【0187】

一部の例では、病害虫適応度の低減は、病原体防除組成物が送達されていない病原体と比較して、抗病原体剤に対する病原体の感受性の増加及び／又は抗病原体剤に対する病原体の耐性の低減として現れ得る。一部の例では、本明細書に記載の方法又は組成物は、病原体防除剤に対する病原体の感受性を参照レベル（例えば、病原体防除組成物を受けていない病原体で見られるレベル）と比較して約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超増加させるのに有効であり得る。

【0188】

一部の例では、病原体適応度の低減は、病原体防除（組成物が送達されていない病原体と比較して、他の適応不利点、例えば特定の環境因子に対する耐性（例えば、高温若しくは低温耐性）の低減、特定の生息場所で生存する能力の低減又は特定の食餌を持続する能力の低減として現れ得る。一部の例では、本明細書に記載の方法又は組成物は、本明細書に記載されるいずれか複数の方法で病原体の適応度を低減させるのに有用であり得る。さらに、病原体防除組成物は、任意の数の病原体綱、目、科、属又は種（例えば、1つの病原体種、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、200、250、500又はそれを超える病原体種）の病原体適応度を低減させることができる。一部の例では、病原体防除組成物は、単一の病原体綱、目、科、属又は種に作用する。

【0189】

病原体適応度は、当技術分野における任意の標準的方法を用いて判定することができる。一部の例では、病害虫適応度は、個別の病原体を評価することにより判定され得る。代わりに、病害虫適応度は、病原体個体群を評価することにより判定され得る。例えば、病原体適応度の低減は、他の病原体との競合の成功の低減として現れ、それが病原体個体群サイズの減少につながり得る。

【0190】

B. 病原体ベクターへの送達

本明細書には、病原体を病原体防除組成物と接触させることにより、本明細書に開示されるものなどの病原体ベクターに病原体防除組成物を送達する方法が提供される。本方法は、例えば、病原体防除組成物の送達の結果として、病原体の拡大を制御するために、病原体ベクターの適応度を低減させる上で有用となり得る。本明細書に記載の方法に従ってターゲティングすることができる病原体の例としては、セクションIV.Gに記載されるものなどの昆虫が挙げられる。

【0191】

例えば、本明細書には、動物病原体ベクターの適応度を低減させる方法が提供され、この方法は、有効量の、本明細書に記載の組成物のいずれかをベクターに送達するステップを含み、本方法は、非処置ベクターに対してベクターの適応度を低減させる。一部の例では、本方法は、ベクターが成長、生息、繁殖、摂食又は寄生する少なくとも1つの生息場所に組成物を送達するステップを含む。一部の例では、組成物は、ベクターによる摂食のための摂食可能組成物として送達される。一部の例では、ベクターは、昆虫である。一部の例では、昆虫は、蚊、マダニ、ダニ又はシラミである。一部の例では、組成物は、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル又は気体として送達される。

【0192】

例えば、本明細書には、動物病原体の昆虫ベクターの適応度を低減させる方法が提供され、この方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物をベクターに送達するステップを含む。一部の例では、本方法は、複数のPMPを含む病原体防除組成物をベクターに送達

するステップを含み、複数のPMPは、殺虫剤を含む。例えば、昆虫ベクターは、蚊、マダニ、ダニ又はシラミである。病原体ベクターの他の非限定的な例は、本明細書に記載する。一部の例では、本方法は、非処置ベクターと比較してベクターの適応度を低減させる。

【0193】

一部の例では、ベクター適応度の低減は、組成物の投与の結果として、ベクターの生理機能の劣化又は衰え（例えば、健康状態若しくは生存率の低減）として現れ得る。一部の例では、生物の適応度は、組成物が送達されていないベクターと比較して、限定されないが、繁殖率、寿命、移動性、繁殖力、体重、代謝率若しくは活動又は生存率を含む1つ又は複数のパラメータにより測定することができる。例えば、本明細書に記載の方法又は組成物は、ベクターの健康全般を低減させるか、又はベクターの全生存率を低減させるのに有効であり得る。一部の例では、ベクターの生存率低減は、参照レベル（例えば、組成物を受けていないベクターで見られるレベル）と比較して約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超である。一部の例では、本方法又は組成物は、組成物が投与されていないベクター生物と比較してベクターの繁殖（例えば、繁殖率）を低減させるのに有効である。一部の例では、本方法又は組成物は、移動性、体重、寿命、繁殖力又は代謝率などの他の生理学的パラメータを参照レベル（例えば、組成物が送達されていないベクターで見られるレベル）と比較して約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超低減させるのに有効である。

【0194】

一部の例では、ベクター適応度の低減は、組成物が送達されていないベクター生物と比較して、農薬用薬剤に対するベクターの感受性の増加及び／又は農薬用薬剤に対するベクターの耐性の低減として現れ得る。一部の例では、本明細書に記載の方法又は組成物は、農薬用薬剤に対するベクターの感受性を参照レベル（例えば、組成物を受けていないベクターで見られるレベル）と比較して約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超増加させるのに有効であり得る。農薬用薬剤は、殺虫剤を含め、当技術分野で公知の任意の農薬用薬剤であり得る。一部の例では、本明細書に記載の方法又は組成物は、組成物が送達されていないベクターと比較して、農薬用薬剤を使用可能な基質に代謝又は分解するベクターの能力を低減することにより、農薬用薬剤に対するベクターの感受性を増加させ得る。

【0195】

一部の例では、ベクター適応度の低減は、組成物が送達されていないベクター生物と比較して、他の適応不利点、例えば特定の環境因子に対する耐性（例えば、高温若しくは低温耐性）の低減、特定の生息場所で生存する能力の低減又は特定の食餌を持続する能力の低減として現れ得る。一部の例では、本明細書に記載の方法又は組成物は、本明細書に記載されるいずれか複数の方法でベクターの適応度を低減させるのに有用であり得る。さらに、本組成物は、任意の数のベクター綱、目、科、属又は種（例えば、1つのベクター種、2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、200、250、500又はそれを超えるベクター種）のベクター適応度を低減させることができる。一部の例では、組成物は、単一のベクター綱、目、科、属又は種に作用する。

【0196】

ベクター適応度は、当技術分野における任意の標準的方法を用いて判定することができる。一部の例では、ベクター適応度は、個別ベクターを評価することにより判定され得る。代わりに、ベクター適応度は、ベクター個体群を評価することにより判定され得る。例えば、ベクター適応度の低減は、他のベクターとの競合の成功の低減として現れ、それがベクター個体群サイズの減少につながり得る。

【0197】

動物病原体を担持するベクターの適応度を低減させることにより、本明細書に記載の組成物は、ベクター媒介病の拡大を低減するのに有効である。本明細書に記載される製剤及

10

20

30

40

50

び送達のいずれかを用いて、疾患の伝染を低減する、例えばベクター同士の垂直若しくは水平伝染を低減し、且つ／又は動物への伝染を低減するのに有効な量及び時間で本組成物を昆虫に送達することができる。例えば、本明細書に記載の組成物は、ベクター媒介病原体の垂直又は水平伝染を、組成物が送達されていないベクター生物と比較して約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超低減し得る。別の例として、本明細書に記載の組成物は、昆虫ベクターのベクター競合を、組成物が送達されていないベクター生物と比較して約2%、5%、10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%又は100%超低減し得る。

【0198】

本明細書に記載の組成物及び方法により防除され得る疾患の非限定的な例として、トガウイルス科 (Togaviridae) ウイルスに起因する疾患 (例えば、チクングニア熱、ロスリバー熱、マヤ口熱、オニオンニオン熱、シンドビス熱、東部馬脳炎、西部馬脳炎、ベネズエラ馬脳炎若しくはバーマ森林 (Barmah forest)) ; フラビウイルス科 (Flaviviridae) ウイルスに起因する疾患 (例えば、デング熱、黄熱病、キャサナル森林病、オムスク出血熱、日本脳炎、マレー溪谷脳炎、ロシオ (Ross) 、セントルイス脳炎、ウエストナイル脳炎若しくはダニ媒介性脳炎) ; ブニヤウイルス科 (Bunyaviridae) ウイルスに起因する疾患 (例えば、サシチョウバエ熱、リフトバレー熱、ラクロス脳炎、カリフォルニア脳炎、クリミア・コンゴ出血熱若しくはオロプーシェ熱) ; ラブドウイルス科 (Rhabdoviridae) ウイルスに起因する疾患 (例えば、水疱性口炎) ; オルビウイルス科 (Orbiviridae) に起因する疾患 (例えば、ブルータング) ; 細菌に起因する疾患 (例えば、ブランク、野兎病、Q熱、ロッキー山紅斑熱、発疹熱 (Murine typhus) 、ボタン熱、クイーンズランド発疹熱 (Queensland tick typhus) 、シベリア発疹熱 (Siberian tick typhus) 、ツツガムシ病 (Scrub typhus) 、回歸熱若しくはライム病) ; 又は原虫に起因する疾患 (例えば、マラリア、アフリカトリパノソーマ症、ナガナ病 (Nagana) 、シャーガス病、リーシュマニア症、ピロプラズマ症、バンクロフトフィラリア症若しくはブルギアフィラリア症) が挙げられる。

【0199】

C. 適用方法

本明細書に記載の病原体又は病原体ベクターは、病原体又は病原体ベクターに対する組成物の送達又は投与を可能にする任意の好適な方法で本明細書に記載の組成物のいずれかに曝露することができる。病原体防除組成物は、単独で又は他の活性物質 (例えば、農薬用薬剤) 若しくは非活性物質と組み合わせてのいずれかで送達され得、例えば有効濃度の病原体防除組成物を送達するように製剤化された濃縮液、ゲル、溶液、懸濁液、散布液、粉末、ペレット、ブリケット、ブリックなどの形態において、例えば噴霧、マイクロインジェクション、植物経由、注入、浸漬によって適用され得る。本明細書に記載される組成物の適用量及び適用部位は、概して、病原体又は病原体ベクターの習性、病原体又は病原体ベクターを病原体防除組成物によりターゲティングすることができる生活環ステージ、適用が行われる部位並びに病原体防除組成物の物理的及び機能的特性によって決定される。本明細書に記載される病原体防除組成物は、病原体又は病原体ベクターに経口摂取によって投与され得るが、クチクラを通した浸透又は病原体若しくは病原体ベクターの呼吸器系への浸透を可能にする手段によっても投与され得る。

【0200】

一部の例では、病原体防除組成物を含む溶液に病原体又は病原体ベクターを単純に「浸漬」するか、又は病原体又は病原体ベクターに上記溶液を「噴霧」することができる。代わりに、病原体防除組成物を病原体又は病原体ベクターの飼料成分 (例えば、摂食可能物) に連結して送達を容易にし、且つ／又は病害虫による病原体防除組成物の取込みを増大することもできる。経口導入方法には、例えば、病原体防除組成物を病原体又は病原体ベクターの飼料と直接混合すること、病原体又は病原体ベクターの生息場所若しくは畑に病

10

20

30

40

50

病原体防除組成物を噴霧すること及び飼料として使用される種が病原体防除組成物を発現するように改変した後、次に影響を与えようとする病原体又は病原体ベクターに給餌する操作手法が含まれ得る。一部の例では、例えば、病原体防除組成物は、病原体又は病原体ベクターの食餌中に配合するか又は食餌の上にかけることができる。例えば、病原体防除組成物は、病原体又は病原体ベクターが生息する作物畑の上に噴霧することができる。

【0201】

一部の例では、本組成物は、例えば、背負式散布、空中散布、作物散布／散粉等により、植物、例えば作物の上に直接噴霧される。病原体防除組成物が植物に送達される例では、病原体防除組成物を受け取る植物は、いずれかの植物成長段階であり得る。例えば、製剤化された病原体防除組成物は、植物成長初期に種子コーティング若しくは経根処理として又は作物サイクル後期に植物全体の処理として適用することができる。一部の例では、病原体防除組成物は、局所薬剤として植物に適用され得、これにより病原体若しくは病原体ベクターがその植物を摂食するか、又はそうでなければその植物との相互作用時に植物と接触するようにする。

【0202】

さらに、病原体防除組成物は、植物又は動物病原体若しくは病原体ベクターの組織を通して吸収され、分布する全身薬として（例えば、植物が成長する土壌中又は植物の水やりに使用される水中に）適用され得、これにより、それを餌にする病原体又は病原体ベクターが有効量の病原体防除組成物を摂取するようにする。一部の例では、植物又は飼料生物は、病原体防除組成物を発現するように遺伝的に形質転換され得、これにより、その植物又は飼料生物を餌にする病原体又は病原体ベクターが病原体防除組成物を摂食するようにする。

【0203】

また、遅延放出又は継続的放出は、病原体防除組成物又は1つ以上の病原体防除組成物を含む組成物をゼラチンなどの溶解性又は生体内分解性コーティング層で被覆することにより、このコーティングが使用環境内で溶解又は分解し、次に病原体防除組成物が利用可能になるようにするか、又は薬剤を溶解性又は分解性マトリックス中に分散させることにより達成することができる。有利には、こうした継続的放出及び／又は分注手段装置を使用して、本明細書に記載される1つ又は複数の病原体防除組成物の有効濃度を特定の病原体又は病原体ベクター生息場所内で常に維持することができる。

【0204】

病原体防除組成物は、病原体又は病原体ベクターが成長、生息、繁殖、摂食又は寄生する媒体に配合することもできる。例えば、病原体防除組成物は、飼料容器、餌場、保護用ラッピング材又は巣箱に配合することができる。いくつかの適用の場合、病原体防除組成物は、粉末形態での適用又はトラップ若しくは餌場への適用のための固体支持体に結合し得る。例として、組成物が特定の病原体又は病原体ベクターのためのトラップにおいて又はベイトとして使用される適用の場合にも組成物を固体支持体に結合するか又は時限放出材料に封入し得る。例えば、本明細書に記載の組成物は、農業病原体又は病原体ベクターが成長、生息、繁殖又は摂食する少なくとも1つの生息場所に組成物を送達することにより投与され得る。

【0205】

農薬は、多くの場合、野外適用の場合、1ヘクタール当たりの農薬の量（ $g/h a$ 若しくは $kg/h a$ ）又は1ヘクタール当たりの有効成分若しくは酸同等物の量（ $kg a.i./ha$ 若しくは $a.i./ha$ ）として推奨される。一部の例では、組成物中にPMPを含まない農薬を適用した場合と同じ結果を達成するために、本組成物中では、より少ない量の農薬が土壌、植物培地、種子植物組織又は植物に適用されることが必要とされ得る。例えば、農薬用薬剤の量は、非PMP組成物中に適用される同じ農薬用薬剤、例えば同じ農薬用薬剤の直接適用より約2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、30、50若しくは100倍（又は約2から約100倍までの任意の範囲、例えば約2～10倍；約5～15倍、約10～20倍；約10～50倍）低いレベルで適用され得る。

本明細書に開示される病原体防除組成物は、1ヘクタール当たりの様々な量、例えば約0.0001、0.001、0.005、0.01、0.1、1、2、10、100、1,000、2,000、5,000（又は約0.0001～5,000の任意の範囲）kg/haで適用することができる。例えば、約0.0001～約0.01、約0.01～約10、約10～約1,000、約1,000～約5,000kg/haである。

【0206】

IV. 病原体又はそれらのベクター

本明細書に記載される病原体防除組成物及び関連方法は、動物病原体の適応度を低減させ、これにより動物への感染を処置又は予防するのに有用である。本病原体防除組成物又は関連方法で処理することができる動物病原体又はそれらのベクターの例を本明細書にさらに記載する。

【0207】

A. 真菌

病原体防除組成物及び関連方法は、例えば、動物の真菌感染を予防又は処置するために、真菌の適応度を低減させる上で有用であり得る。病原体防除組成物を真菌と接触させることにより、病原体防除組成物を真菌に送達する方法が含まれる。加えて又は代わりに、本方法は、病原体防除組成物を動物に投与することにより、真菌感染のリスクがある動物又はそれを必要とする動物の真菌感染（例えば、本明細書に記載の真菌に起因するもの）を予防又は処置するステップを含む。

【0208】

病原体防除組成物及び関連方法は、子囊菌門（*Ascomycota*）（フザリウム・オキシスポルム（*Fusarium oxysporum*）、ニューモシスチス・イロベチイ（*Pneumocystis jirovecii*）、アスペルギルス種（*Aspergillus* spp.）、コクシジオイデス・イミチス／ポサダシ（*Coccidioides immitis/posadasii*）、カンジダ・アルビカンス（*Candida albicans*）、担子菌門（*Basidiomycota*）（フィロバシジエラ・ネオフォルマンズ（*Filobasidiella neoformans*）、トリコスポロン（*Trichosporon*）、微孢子虫（*Microsporidia*）（エンセファリトゾーン・クニクリ（*Encephalitozoon cuniculi*）、エンテロシトゾーン・ビエヌーシ（*Enterocytozoon biehusi*）、ケカビ亜門（*Mucoromycotina*）（ムーコル・シルシネロイデス（*Mucor circinelloides*）、リゾプス・オリゼ（*Rhizopus oryzae*）、リクテイミア・コリムビフェラ（*Lichtheimia corymbifera*））に属する真菌に起因する感染を含め、動物の真菌感染の処置又は予防に好適である。

【0209】

一部の例では、真菌感染は、以下の門：子囊菌門（*Ascomycota*）、担子菌門（*Basidiomycota*）、ツボカビ門（*Chytridiomycota*）、ケカビ亜門（*Microsporidia*）又は接合菌門（*Zygomycota*）に属する真菌に起因するものである。真菌感染又は過剰増殖は、1つ又は複数の真菌種、例えばカンジダ・アルビカンス（*Candida albicans*）、*C. トロピカリス*（*C. tropicalis*）、*C. パラプシロシス*（*C. parapsilosis*）、*C. グラブラタ*（*C. glabrata*）、*C. アウリス*（*C. auris*）、*C. クルセイ*（*C. krusei*）、サッカロミセス・セレビスエ（*Saccharomyces cerevisiae*）、マラッセジア・グロボース（*Malassezia globosa*）、*M. レストリクタ*（*M. restricta*）又はデバリオマイセス・ハンセニイ（*Debaryomyces hansenii*）、ジベレラ・モニリフォルミス（*Gibberella moniliformis*）、アルタルナリア・ブラシコラ（*Alternaria brassicicola*）、クリプトコックス・ネオフォルマンズ（*Cryptococcus neoformans*）、ニューモシスチス・カリニイ（

Pneumocystis carinii)、*P. jirovecii*)、*P. murina*)、*P. oryctolagi*)、*P. wakefieldiae*) 及び *Aspergillus clavatus*) を含み得る。これらの真菌種は、病原体又は日和見病原体と考えられ得る。

【0210】

一部の例では、真菌感染は、カンジダ (*Candida*) 属に起因する (すなわちカンジダ (*Candida*) 感染)。例えば、カンジダ (*Candida*) 感染は、*C. albicans*)、*C. glabrata*)、*C. dubliniensis*)、*C. krusei*)、*C. auris*)、*C. parapsilosis*)、*C. tropicalis*)、*C. orthopsilosis*)、*C. guilliermondii*)、*C. rugose*) 及び *C. lusitanae*) からなる群から選択される、カンジダ (*Candida*) 属の真菌に起因し得る。本明細書に開示される方法により処置することができるカンジダ (*Candida*) 感染として、限定されないが、カンジダ菌血症、口腔咽頭カンジダ症、食道カンジダ症、粘膜カンジダ症、性器カンジダ症、外陰膺カンジダ症、直腸カンジダ症、肝カンジダ症、腎カンジダ症、肺カンジダ症、脾カンジダ症、耳真菌症、骨髄炎、化膿性関節炎、心血管カンジダ症 (例えば、心内膜炎) 及び侵襲性カンジダ症が挙げられる。

【0211】

B. 細菌

病原体防除組成物及び関連方法は、例えば、動物の細菌感染を予防又は処置するために、細菌の適応度を低減させる上で有用であり得る。病原体防除組成物を細菌と接触させることにより、病原体防除組成物を細菌に送達する方法が含まれる。加えて又は代わりに、本方法は、病原体防除組成物を動物に投与することにより、細菌感染のリスクがある動物又はそれを必要とする動物の細菌感染 (例えば、本明細書に記載の細菌に起因するもの) を予防又は処置することを含む。

【0212】

病原体防除組成物及び関連方法は、以下にさらに記載する任意の細菌に起因する動物の細菌感染を予防又は処置するのに好適である。例えば、細菌は、以下に属するものであり得る：バシラス目 (*Bacillales*) (炭疽菌 (*B. anthracis*)、セレウス菌 (*B. cereus*)、枯草菌 (*S. aureus*)、*L. monocytogenes*)、ラクトバシラス目 (*Lactobacillales*) (肺炎レンサ球菌 (*S. pneumoniae*)、化膿レンサ球菌 (*S. pyogenes*))、クロストリジウム目 (*Clostridiales*) (ボツリヌス菌 (*C. botulinum*)、*C. difficile*)、ウェルシュ菌 (*C. perfringens*)、破傷風菌 (*C. tetani*))、スピロヘータ目 (*Spirochaetales*) (ボレリア・ブルグドルフェリ (*Borrelia burgdorferi*)、トレポネマ・パリズム (*Treponema pallidum*))、クラミジア目 (*Chlamydiales*) (クラミジア・トラコマチス (*Chlamydia trachomatis*)、オウム病クラミジア (*Chlamydophila psittaci*))、放線菌目 (*Actinomycetales*) (ジフテリア菌 (*C. diphtheriae*)、マイコバクテリウム・ツベルクロシス (*Mycobacterium tuberculosis*)、アビウム菌 (*M. avium*))、リケッチア目 (*Rickettsiales*) (発疹チフスリケッチア (*R. prowazekii*)、リケッチア・リケッチ (*R. rickettsii*)、発疹熱リケッチア (*R. typhi*)、*A. phagocytophilum*)、*E. chaffeensis*))、リゾビウム目 (*Rhizobiales*) (ブルセラ・メリテンシス (*Brucella melitensis*

s))、バークホルデリア目 (*Burkholderiales*) (ボルデテラ・パートシス (*Bordetella pertussis*)、バークホルデリア・マレイ (*Burkholderia mallei*)、*B. シュードマレイ* (*B. pseudomallei*))、ナイセリア目 (*Neisseriales*) (淋菌 (*Neisseria gonorrhoeae*)、髄膜炎菌 (*N. meningitidis*))、カンピロバクター目 (*Campylobacterales*) (カンピロバクター・ジェジュニ (*Campylobacter jejuni*)、ヘリコバクター・ピロリ (*Helicobacter pylori*))、レジオネラ目 (*Legionellales*) (レジオネラ・ニューモフィラ (*Legionella pneumophila*))、シュードモナス目 (*Pseudomonadales*) (*A. バウマニ* (*A. baumannii*)、モラクセラ・カタラーリス (*Moraxella catarrhalis*)、緑膿菌 (*P. aeruginosa*))、エアロモナス目 (*Aeromonadales*) (エアロモナス属 (*Aeromonas*) 種)、ビブリオ目 (*Vibrionales*) (コレラ菌 (*Vibrio cholerae*)、*V. 腸炎ビブリオ* (*V. parahaemolyticus*))、チオトリックス目 (*Thiotrichales*)、パストゥレラ目 (*Pasteurellales*) (インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*))、腸内細菌目 (*Enterobacteriales*) (クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumoniae*)、プロテウス・ミラビリス (*Proteus mirabilis*)、エルシニア・ペスティス (*Yersinia pestis*)、*Y. エンテロコリチカ* (*Y. enterocolitica*)、フレクスナー赤痢菌 (*Shigella flexneri*)、サルモネラ・エンテリカ (*Salmonella enterica*)、大腸菌 (*E. coli*))。

【0213】

一部の例では、細菌は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 又は大腸菌 (*Escherichia coli*) である。

【0214】

C. 寄生昆虫

病原体防除組成物及び関連方法は、例えば、動物への寄生昆虫感染を予防又は処置するために、寄生昆虫の適応度を低減させる上で有用であり得る。用語「昆虫」には、任意の発育段階にある、すなわち幼虫及び成虫の、節足動物門 (*Arthropoda*) 及び昆虫綱 (*Insecta*) 又は蛛形綱 (*Arachnida*) に属するあらゆる生物が含まれる。病原体防除組成物と昆虫を接触させることにより、病原体防除組成物を昆虫に送達する方法が含まれる。加えて又は代わりに、本方法は、病原体防除組成物を動物に投与することにより、リスクがあるか又はそれを必要とする動物の寄生昆虫感染 (本明細書に記載の寄生昆虫に起因するもの) を予防又は処置することを含む。

【0215】

病原体防除組成物及び関連方法は、以下に属する昆虫による感染を含め、寄生昆虫による動物の感染を予防又は処置するのに好適である：シラミ目 (*Phthiraptera*)：シラミ亜目 (*Anoplura*) (吸血性シラミ)、ホソツノハジラミ亜目 (*Iscnoscera*) (咀嚼性シラミ)、マルツノハジラミ亜目 (*Amblycera*) (咀嚼性シラミ)。ノミ目 (*Siphonaptera*)：ヒトノミ科 (*Pulicidae*) (ネコノミ (*Cat fleas*)、ナガノミ科 (*Ceratophyllidae*) (ニワトリノミ (*Chicken-fleas*))。双翅目 (*Diptera*)：カ科 (*Culicidae*) (蚊 (*Mosquitoes*))、ヌカカ科 (*Ceratopogonidae*) (ユスリカ (*Midges*))、チョウバエ科 (*Psychodidae*) (サシチョウバエ (*Sandflies*))、ブユ科 (*Simuliidae*) (ブユ (*Blackflies*))、アブ科 (*Tabanidae*) (ウシアブ (*Horse-flies*))、イエバエ科 (*Muscidae*) (イエバエ (*House-flies*)) など)、クロバエ科 (*Calliphoridae*) (クロバエ (*Blowflies*))、ツェツェバエ科 (*Glossinidae*) (ツェツェバエ (*Tsetse-fly*))

10

20

30

40

50

s))、ヒツジバエ科 (Oestridae) (ウマバエ (Bot-flies))、シラミバエ科 (Hippoboscidae) (シラミバエ (Louse-flies))。カメムシ目 (Hemiptera)：サシガメ科 (Reduviidae) (サシガメ (Assassin-bugs))、トコジラミ科 (Cimicidae) (トコジラミ (Bed-bugs))。蛛形綱 (Arachnida)：ヒゼンダニ科 (Sarcoptidae) (ヒゼンダニ (Sarcoptic mites))、キュウセンヒゼンダニ科 (Psoroptidae) (キュウセンヒゼンダニ (Psoroptic mites))、シトジチダエ科 (Cytoditidae) (気嚢ダニ (Air-sac mites))、ラミノシオプテス (Laminosioptes) (シストダニ (Cyst-mites))、ウモウダニ科 (Analgiidae) (ウモウダニ (Feather-mites))、コナダニ科 (Acaridae) (コナダニ (Grain-mites))、ニキビダニ科 (Demodicidae) (毛包ダニ (Hair-follicle mites))、ツメダニ科 (Cheyletiellidae) (毛皮ダニ (Fur-mites))、ツツガムシ科 (Trombiculidae) (ツツガムシ (Trombiculids))、ワクモ科 (Dermanyssidae) (トリダニ (Bird mites))、オオサシダニ科 (Macronyssidae) (トリダニ (Bird mites))、ヒメダニ科 (Argasidae) (軟ダニ (Soft-ticks))、マダニ科 (Ixodidae (マダニ (Hard-ticks)))。

【0216】

D. 原虫

病原体防除組成物及び関連方法は、例えば、動物の寄生原虫感染を予防又は処置するために、寄生原虫の適応度を低減させる上で有用であり得る。用語「原虫」には、原生動物門 (Protozoa) に属するあらゆる生物が含まれる。病原体防除組成物と寄生原虫を接触させることにより、寄生原虫に病原体防除組成物を送達する方法が含まれる。加えて又は代わりに、本方法は、病原体防除組成物を動物に投与することにより、リスクがあるか又はそれを必要とする動物の原虫感染 (本明細書に記載の原虫に起因するもの) を予防又は処置することを含む。

【0217】

病原体防除組成物及び関連方法は、以下に属する原虫を含め、寄生原虫による動物の感染を予防又は処置するのに好適である：ユーグレノゾア目 (Euglenozoa) (クルーズ・トリパノソーマ (Trypanosoma cruzi)、ブルセイ・トリパノソーマ (Trypanosoma brucei)、リーシュマニア属 (Leishmania) 種)、ヘテロロボセア綱 (Heterolobosea) (フォーラーネグレリア (Naegleria fowleri))、ディプロモナス目 (Diplomonadida) (ランブル鞭毛虫 (Giardia intestinalis))、アメーバ動物門 (Amoebozoa) (アカントアメーバ・カステラーニ (Acanthamoeba castellanii)、バラムチア・マンドリラリス (Balamuthia mandrillaris)、赤痢アメーバ (Entamoeba histolytica))、ブラストシスチス属 (Blastocystis) (ブラストシスチス・ホミニス (Blastocystis hominis))、アピコンプレックス門 (Apicomplexa) (バベシア・ミクロチ (Babesia microti)、クリプトスポリジウム・パルブム (Cryptosporidium parvum)、シクロスポラ・カイエタネシス (Cyclospora cayetanensis)、プラスモジウム属 (Plasmodium) 種、トキソプラズマ・ゴンディ (Toxoplasma gondii))。

【0218】

E. 線虫

病原体防除組成物及び関連方法は、例えば、動物の寄生線虫感染を予防又は処置するために、寄生線虫の適応度を低減させる上で有用であり得る。病原体防除組成物と寄生線虫を接触させることにより、寄生線虫に病原体防除組成物を送達する方法が含まれる。加え

て又は代わりに、本方法は、病原体防除組成物を動物に投与することにより、リスクがあるか又はそれを必要とする動物の寄生線虫感染（本明細書に記載の寄生線虫に起因するもの）を予防又は処置することを含む。

【0219】

病原体防除組成物及び関連方法は、以下に属する線虫を含め、寄生線虫による動物の感染を予防又は処置するのに好適である：線形動物門（Nematoda）（回虫（roundworms））：広東住血線虫（*Angiostrongylus cantonensis*）（ネズミ肺線虫（rat lungworm））、アスカリス・ルンブリコイデス（*Ascaris lumbricoides*）（ヒト回虫（human roundworm））、ベイリサスカリス・プロシオニス（*Baylisascaris procyonis*）（アライグマ回虫（raccoon roundworm））、トリクリス・トリキウラ（*Trichuris trichiura*）（ヒト鞭虫（human whipworm））、トリヒネラ・スピラリス（*Trichinella spiralis*）、ストロンギロイデス・ステルコラリス（*Strongyloides stercoralis*）、バンクロフト糸状虫（*Wuchereria bancrofti*）、マレー糸状虫（*Brugia malayi*）、十二指腸鉤虫（*Ancylostoma duodenale*）及びアメリカ鉤虫（*Necator americanus*）（ヒト鉤虫（human hookworms））、条虫綱（Cestoda）（サナダムシ（tapeworms））：単包条虫（*Echinococcus granulosus*）、多包条虫（*Echinococcus multilocularis*）、有鉤条虫（*Taenia solium*）（カギサナダ（pork tapeworm））。

【0220】

F. ウイルス

病原体防除組成物及び関連方法は、例えば、動物のウイルス感染を予防又は処置するために、ウイルスの適応度を低減させる上で有用であり得る。病原体防除組成物とウイルスを接触させることにより、ウイルスに病原体防除組成物を送達する方法が含まれる。加えて又は代わりに、本方法は、病原体防除組成物を動物に投与することにより、リスクがあるか又はそれを必要とする動物のウイルス感染（本明細書に記載のウイルスに起因するもの）を予防又は処置することを含む。

【0221】

病原体防除組成物及び関連方法は、以下に属するウイルスによる感染を含め、動物のウイルス感染を予防又は処置するのに好適である：DNAウイルス（DNA viruses）：パルボウイルス科（*Parvoviridae*）、パピローマウイルス科（*Papillomaviridae*）、ポリオーマウイルス科（*Polyomaviridae*）、ポックスウイルス科（*Poxviridae*）、ヘルペスウイルス科（*Herpesviridae*）；一本鎖マイナス鎖RNAウイルス（*Single-stranded negative strand RNA viruses*）：アレナウイルス科（*Arenaviridae*）、パラミクソウイルス科（*Paramyxoviridae*）（ルブラウイルス（*Rubulavirus*）、レスピロウイルス（*Respirovirus*）、ニューモウイルス（*Pneumovirus*）、モリビリウイルス（*Morbillivirus*））、フィロウイルス科（*Filoviridae*）（マルブルグウイルス（*Marburgvirus*）、エボラウイルス（*Ebolavirus*））、ボルナオウイルス科（*Bornaoviridae*）、ラブドウイルス科（*Rhabdoviridae*）、オルトミクソウイルス科（*Orthomyxoviridae*）、ブニヤウイルス科（*Bunyaviridae*）、ナイロウイルス（*Nairovirus*）、ハンタウイルス（*Hantavirus*）、オルトブニヤウイルス（*Orthobunyavirus*）、フレボウイルス（*Phlebovirus*）。一本鎖プラス鎖RNAウイルス（*Single-stranded positive strand RNA virus*）：アストロウイルス科（*Astroviridae*）、コロナウイルス科（*Coronaviridae*）、カリシウイルス科（*Caliciviridae*）、トガ

ウイルス科 (Togaviridae) (ルビウイルス (Rubivirus)、アルファウイルス (Alphavirus))、フラビウイルス科 (Flaviviridae) (ヘパシウイルス (Hepacivirus)、フラビウイルス (Flavivirus))、ピコルナウイルス科 (Picornaviridae) (ヘパトウイルス (Hepatovirus)、ライノウイルス (Rhinovirus)、エンテロウイルス (Enterovirus))；又はdsRNAウイルス (sRNA Virus) 及びレトロ転写ウイルス (Retrotranscribed Virus)：レオウイルス科 (Reoviridae) (ロタウイルス (Rotavirus)、コルチウイルス (Coltivirus)、セアドルナウイルス (Seadornavirus))、レトロウイルス科 (Retroviridae) (デルタレトロウイルス (Deltaretrovirus)、レンチウイルス (Lentivirus))、ヘパドナウイルス科 (Hepadnaviridae) (オルトヘパドナウイルス (Orthohepadnavirus))。

【0222】

G. 病原体ベクター

本明細書に提供される病原体防除組成物及び関連方法は、動物病原体のベクターの適応度を低減させる上で有用であり得る。一部の例では、ベクターは、昆虫であり得る。例えば、昆虫ベクターとして、限定されないが、カメムシ目 (Hemiptera) 及び一部のハチ目 (Hymenoptera) 並びに双翅目 (Diptera) に見出されるような突き刺し、吸う口器を有するもの、例えば蚊、ミツバチ、スズメバチ、ユスリカ、シラミ、ツェツェバエ、ノミ及びアリ並びにマダニ及びダニなどの蛛形綱 (Arachnida) のメンバー：ダニ目 (Acarina) の目、綱又は科 (マダニ及びダニ)、例えば以下の科：ヒメダニ科 (Argasidae)、ワクモ科 (Dermanyssidae)、マダニ科 (Ixodidae)、キュウセンヒゼンダニ科 (Psoroptidae) 若しくはヒゼンダニ科 (Sarcoptidae) の代表的なもの並びに以下の種：キラマダニ属 (Amblyomma) 種、アノセントン属 (Anocentron) 種、ナガヒメダニ属 (Argas) 種、ウシマダニ属 (Boophilus) 種、ツメダニ属 (Cheyletiella) 種、ショクヒヒゼンダニ属 (Chorioptes) 種、ニキビダニ属 (Demodex) 種、カクマダニ属 (Dermacentor) 種、ワクモ属 (Dermanyssus) 種、チマダニ属 (Haemophysalis) 種、イボマダニ属 (Hyalomma) 種、マダニ属 (Ixodes) 種、リンクサカルス属 (Lynxacarus) 種、トゲダニ亜目 (Mesostigmata) 種、ショウセンコウヒゼンダニ属 (Notoednes) 種、カズキダニ属 (Ornithodoros) 種、イエダニ属 (Ornithonyssus) 種、オトビウス属 (Otobius) 種、ミミヒゼンダニ属 (Otodectes) 種、ニューモニサス属 (Pneumonyssus) 種、キュウセンヒゼンダニ属 (Psoroptes) 種、コイタマダニ属 (Rhipicephalus) 種、ヒゼンダニ科属 (Sarcoptes) 種若しくはツツガムシ属 (Trombicula) 種の代表的なもの；シラミ目 (Anoplura) (吸血及び刺咬性シラミ)、例えば以下の種：ボビコーラ属 (Bovicola) 種、ケモノジラミ属 (Haematopinus) 種、ケモノホソジラミ属 (Linognathus) 種、タンカクハジラミ属 (Menopon) 種、ヒトジラミ属 (Pediculus) 種、タマワタムシ属 (Pemphigus) 種、ネアブラムシ属 (Phylloxera) 種若しくはソレノポテス属 (Solenopotes) 種の代表的なもの；双翅目 (Diptera) (ハエ)、例えば以下の種：ヤブカ属 (Aedes) 種、ハマダラカ属 (Anopheles) 種、オオクロバエ属 (Calliphora) 種、オビキンバエ属 (Chrysomyia) 種、メクラアブ属 (Chrysops) 種、コクリオミヤ属 (Cochliomyia) 種、イエカ属 (Culex) 種、サシバエ属 (Culicoides) 種、ウサギヒフバエ属 (Cuterebra) 種、ヒフバエ属 (Dermatobia) 種、ウマバエ属 (Gastrophilus) 種、ツェツェバエ属 (Glossina) 種、ノサシバエ属 (Haematobia) 種、ゴマフバエ属 (Haem

10

20

30

40

50

atopota) 種、ウマシラミバエ属 (Hippobosca) 種、ウシバエ属 (Hypoderma) 種、キンバエ属 (Lucilia) 種、リペロシア属 (Lyperosia) 種、ヒツジシラミバエ属 (Melophagus) 種、ヒツジバエ属 (Oestrus) 種、フェニシア属 (Phaenicia) 種、サシチョウバエ属 (Phlebotomus) 種、クロキンバエ属 (Phormia) 種の代表的なもの、ダニ目 (Acar i) (ヒゼンダニによる疥癬 (sarcoptic mange))、例えばヒゼンダニ属 (Sarcoptidae) 種、ニクバエ属 (Sarcophaga) 種、ブユ属 (Simulium) 種、サシバエ属 (Stomoxys) 種、アブ属 (Tabanus) 種、タンニア属 (Tannia) 種若しくは Zzpu / アルファ属 (Zzpu / alpha) 種; ハジラミ目 (Mallophaga) (刺咬性シラミ)、例えば以下の種: ダマリナ属 (Damalina) 種、フェリコラ属 (Felicola) 種、ヘテロドクス属 (Heterodoxus) 種若しくはケモノハジラミ属 (Trichodectes) 種の代表的なもの; 又はノミ目 (Siphonaptera) (無翅昆虫 (wingless insects))、例えば以下の種: ナガノミ属 (Ceratophyllus) 種、ネズミノミ属 (Xenopsylla) 種の代表的なもの; トコジラミ科 (Cimicidae) (半翅類の昆虫 (true bugs))、例えば以下の種: キメクス属 (Cimex) 種、オオサシガメ属 (Tritominae) 種、ロドニウス属 (Rhodinius) 種若しくはサシガメ属 (Triatoma) 種の代表的なもの。

【0223】

一部の例では、昆虫は、双翅目 (Diptera) の吸血性昆虫 (例えば、カ亜目 (Nematocera)、例えばカ科 (Culicidae)) である。一部の例では、昆虫は、イエカ亜科 (Culicinae)、コレトリナ (Corethrinae)、ヌカカ科 (Ceratopogonidae) 又はブユ科 (Simuliidae) のものである。一部の例では、昆虫は、イエカ属 (Culex) 種、テオバルディア属 (Theobaldia) 種、ヤブカ属 (Aedes) 種、ハマダラカ属 (Anopheles) 種、ヤブカ属 (Aedes) 種、ホルシポミア属 (Forcipomyia) 種、サシバエ属 (Culicoides) 種又はヘレア属 (Helea) 種のものである。

【0224】

特定の例では、昆虫は、力である。特定の例では、昆虫は、マダニである。特定の例では、昆虫は、コダニである。特定の例では、昆虫は、ハジラミである。

【0225】

V. 異種機能性薬剤

本明細書に記載の病原体防除組成物は、異種機能性薬剤 (例えば、抗真菌剤、抗菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、殺虫剤、殺線虫剤、抗寄生虫剤又は昆虫忌避剤) などの追加的な薬剤をさらに含み得る。一部の例では、異種機能性薬剤 (例えば、抗真菌剤、抗菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、殺虫剤、殺線虫剤、抗寄生虫剤又は昆虫忌避剤) は、PMP 中に含有される。例えば、PMP は、異種機能性薬剤 (例えば、抗真菌剤、抗菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、殺虫剤、殺線虫剤、抗寄生虫剤又は昆虫忌避剤) を封入し得る。代わりに、異種機能性薬剤 (例えば、抗真菌剤、抗菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、殺虫剤、殺線虫剤、抗寄生虫剤又は昆虫忌避剤) は、PMP の表面に埋め込むか又はその表面と共役させることができる。一部の例では、病原体防除組成物は、2 種以上 (例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10 又は 10 種超) の異なる異種機能性薬剤を含む。

【0226】

他の例では、病原体防除組成物は、異種機能性薬剤 (例えば、抗真菌剤、抗菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、殺虫剤、殺線虫剤、抗寄生虫剤又は昆虫忌避剤) を含むように製剤化することができ、その場合、必ずしも PMP と結合されるわけではない。製剤及びこれらの製剤から調製される使用形態において、病害虫防除組成物は、例えば、抗菌剤、殺虫剤、滅菌剤、殺ダニ剤、殺線虫剤、軟体動物駆除剤、殺菌剤、殺真菌剤、殺ウイルス剤、誘引剤又は忌避剤などの追加的な有効化合物を含み得る。

【0227】

農薬用薬剤は、動物病原体のベクターに送達するのに好適な薬剤、例えば抗真菌剤、抗菌剤、殺虫剤、殺線虫剤、殺ウイルス剤又はこれらの組合せなどの農薬用薬剤であり得る。農薬用薬剤は、化学物質、例えば当技術分野で公知のものなどであり得る。農薬用薬剤は、多様な動物病原体若しくはそのベクターの適応度を低減させることができる任意の薬剤であるか、又は1つ若しくは複数の標的動物病原体若しくはそのベクター（例えば、特定の種若しくは属の病原体又はそれらのベクター）をターゲティングするものであり得る。

【0228】

代わりに又は加えて、異種機能性薬剤（例えば、抗真菌剤、抗菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、殺虫剤、殺線虫剤、抗寄生虫剤又は昆虫忌避剤）は、ペプチド、ポリペプチド、核酸、ポリヌクレオチド又は小分子であり得る。一部の例では、異種機能性薬剤を修飾することができる。例えば、修飾は、化学修飾、例えばマーカ、例えば蛍光マーカ若しくは放射性マーカに対する共役であり得る。他の例では、修飾は、薬剤、例えば脂質、グリカン、ポリマー（例えば、PEG）、カチオン部分の安定性、送達、ターゲティング、生体利用可能性又は半減期を増大する部分との共役若しくは機能的連結を含み得る。

【0229】

本明細書に開示される病原体防除組成物及び方法に使用することができる異種機能性薬剤（例えば、抗真菌剤、抗菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、殺虫剤、殺線虫剤、抗寄生虫剤又は昆虫忌避剤）の追加的な例を以下に概説する。

【0230】

A. 抗菌剤

本明細書に記載される病原体防除組成物は、抗菌剤をさらに含み得る。例えば、本明細書に記載されるような抗生物質を含む病原体防除組成物は、標的動物体内若しくは動物身体上で標的レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の抗生物質濃度を達成し；且つ／又は動物の細菌感染を処置若しくは予防するのに十分な量及び時間で動物に投与することができる。本明細書に記載の抗菌剤は、本明細書に記載の方法のいずれかのために病原体防除組成物に配合され得、特定の例ではそのPMPと結合され得る。一部の例では、病原体防除組成物は、2種以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10又は10種超）の異なる抗菌剤を含む。

【0231】

本明細書で使用されるとき、用語「抗菌剤」は、植物病原菌などの細菌を殺傷するか、又はその成長、増殖、分裂、繁殖若しくは拡大を阻害する物質を指し、殺細菌剤（例えば、消毒剤化合物、防腐剤若しくは抗生物質）又は静菌剤（例えば、化合物若しくは抗生物質）が挙げられる。殺菌抗生物質は、細菌を殺傷するが、静菌抗生物質は、それらの成長又は繁殖を緩徐にするのみである。

【0232】

殺菌剤は、消毒剤、防腐剤若しくは抗生物質を含み得る。最も使用される消毒剤は、以下を含み得る：活性塩素（即ち次亜塩素酸塩（例えば、次亜塩素酸ナトリウム）、クロラミン、ジクロロイソシアヌル酸塩及びトリクロロイソシアヌル酸塩、液体塩素、塩素ジオキシドなど）、活性酸素（過酸化剤、例えば過酸、過硫酸カリウム、過ホウ酸ナトリウム、過炭酸ナトリウム及びウレアパーヒドレート）、ヨウ素（ヨードポビドン（iodopovidone）（ポビドンヨード、Betadine）、ルゴール溶液、ヨウ素チンキ剤、ヨウ化非イオン界面活性剤）、濃縮アルコール（主に、エタノール、1-プロパノール（n-プロパノールとも呼ばれる）及び2-プロパノール（イソプロパノールと呼ばれる）並びにそれらの混合物；さらに、2-フェノキシエタノール並びに1-フェノキシプロパノール及び2-フェノキシプロパノールが使用される）、フェノール物質（例えば、フェノール（炭酸とも呼ばれる）、クレゾール（液体カリウムセッケンと組み合わせてLysolと呼ばれる）、ハロゲン化（塩素化、臭素化）フェノール、例えばヘキサクロロフェン、トリクロサン、トリクロロフェノール、トリブromoフェノール、ペンタクロロフ

10

20

30

40

50

エノール、ジブロモール（D i b r o m o l）及びそれらの塩）、陽イオン界面活性剤、例えばいくつかの四級アンモニウムカチオン（例えば、塩化ベンザルコニウム、臭化セチルトリメチルアンモニウム又は塩化セチルトリメチルアンモニウム、塩化ジデシルジメチルアンモニウム、塩化セチルピリジニウム、塩化ベンゼトニウム）及びその他；非四級化合物、例えばクロルヘキシジン、グルコプロタミン、二塩酸オクテニジンなど）；強力な酸化剤、例えばオゾン及び過マンガン酸溶液；重金属及びその塩、例えばコロイド銀、硝酸銀、塩化水銀、フェニル水銀塩、硫酸銅、酸化銅－塩化銅、水酸化銅、オクタン酸銅、オキシ塩化硫酸銅、硫酸銅、硫酸銅五水和物など。重金属及びそれらの塩は最も毒性が高く、環境に有害な殺菌剤であるため、それらの使用は強く抑圧されるか又は取り消され；さらに、適切に濃縮された強酸（リン酸、硝酸、硫酸、アミド硫酸、トルエンスルホン酸）及びアルカリ（水酸化ナトリウム、水酸化カリウム、水酸化カルシウム）である。防腐剤（即ちヒト又は動物の身体、皮膚、粘膜、創傷などに使用することができる抗菌剤）として、上に挙げた消毒剤のいくつかを、適切な条件（主に、濃度、pH、温度及びヒト／動物に対する毒性）下で使用することができる。中でも、以下のものが重要である：適切に希釈された塩素調製物（即ちデーキン液、pH 7～8に調節された0.5%次亜塩素酸ナトリウム若しくはカリウム溶液又はベンゼンスルホクロラミドナトリウムの0.5～1%溶液（クロラミンB））、いくつかのヨウ素調製物、例えば様々なガレヌス製剤（軟膏、溶液、創傷石膏）中のヨードポビドン、過去にはルゴール液、ウレアパーヒドレート及びpH緩衝0.1～0.25%過酸溶液などの過酸化物、主に皮膚消毒に使用される消毒添加物を含むか若しくは含まないアルコール、ソルビン酸などの弱有機酸、安息香酸、乳酸及びサリチル酸、一部のフェノール酸化合物、例えばヘキサクロロフェン、トリクロサン及びジブロモール（D i b r o m o l）並びに陽イオン活性化合物、例えば0.05～0.5%ベンザルコニウム、0.5～4%クロルヘキシジン、0.1～2%オクテニジン溶液。

【0233】

本明細書に記載される病原体防除組成物は、抗生物質を含み得る。当技術分野で公知の任意の抗生物質を使用することができる。抗生物質は、一般に、その作用機序、化学構造又は活性スペクトルに基づいて分類される。

【0234】

本明細書に記載される抗生物質は、あらゆる細菌機能又は成長プロセスをターゲティングすることができ、静菌性（例えば、細菌の成長を緩徐にするか若しくは予防する）又は殺菌性（例えば、殺菌する）のいずれでもあり得る。一部の例では、抗生物質は、殺菌性抗生物質である。一部の例では、殺菌性抗生物質は、細菌細胞壁をターゲティングするもの（例えば、ペニシリン及びセファロsporin）；細胞膜をターゲティングするもの（例えば、ポリミキシン）；又は実質的な細菌酵素を阻害するもの（例えば、リファマイシン、リピアルマイシン（l i p i a r m y c i n）、キノロン及びスルホンアミド）である。一部の例では、殺菌性抗生物質は、アミノグリコシド（例えば、カスガマイシン）である。一部の例では、抗生物質は、静菌性抗生物質である。一部の例では、静菌性抗生物質は、タンパク質合成をターゲティングする（例えば、マクロライド、リンコサミド及びテトラサイクリン）。本明細書で使用するすることができる別のクラスの抗生物質としては、環状リポペプチド（例えば、ダプトマイシン）、グリシルサイクリン（例えば、チゲサイクリン）、オキサゾリジノン（例えば、リネゾリド）又はリピアルマイシン（例えば、フィダキソマイシン）が挙げられる。抗生物質の例としては、リファンピシン、シプロフロキサシン、ドキシサイクリン、アンピシリン及びポリミキシンBが挙げられる。本明細書に記載の抗生物質は、任意のレベルの標的特異性（例えば、狭又は広スペクトル）を有し得る。一部の例では、抗生物質は、狭スペクトル抗生物質であり、従って、グラム陰性菌又はグラム陽性菌などの特定の種類の細菌をターゲティングする。代わりに、抗生物質は、多様な細菌をターゲティングする広スペクトル抗生物質である。一部の例では、抗生物質は、ドキシソルピシン又はバンコマイシンである。

【0235】

動物の処置に好適な抗生物質の例としては、以下のものが挙げられる：ペニシリン（アモキシシリン、アンピシリン、バカムピシリン、カルベニシリン、クロキサシリン、ジクロキサシリン、フルクロキサシリン、メズロシリン、ナフシリン、オキサシリン、ペニシリンG、クリスチシリン300A、S、ペンチド、ペルマペン、ファイザーペン（Pfizerpen）、ファイザーペン（Pfizerpen）-AS、ウィシリン、ペニシリンV、ピペラシリン、ピバムシリン、ピブメシリナム、チカルシリン）、セファロスポリン（セファセトリル（Cefacetrile）（セファセトリル（cephacetrile））、セファドロキシル（Cefadroxil）（セファドロキシル（cefadroxyl））、セファレキシン（Cefalexin）（セファレキシン（cephalexin））、セファログリシン（Cefaloglycin）（セファログリシン（cephaloglycin））、セファロニウム（Cefalonium）（セファロニウム（cephalonium））、セファロリジン（Cefaloridine）（セファロラジン（cephaloradine））、セファロチン（Cefalotin）（セファロチン（cephalothin））、セファピリン（Cefapirin）（セファピリン（cephapirin））、セファトリジン、セファザフルール、セファゼドン、セファゾリン（Cefazolin）（セファゾリン（cephazolin））、セフラジン（Cefradine）（セフラジン（cephradine））、セフロキサジン、セフテゾール、セファクロル、セファマンドール、セフメタゾール、セフォニシド、セフォテタン、セフォキシチン、セフプロジル（Cefprozil）（セフプロキシル（cefproxil））、セフロキシム、セフゾナム、セフカペン、セフダロキシム、セフジニル、セフジトレン、セファタメト、セフィキシム、セフメノキシム、セフォジジム、セフォタキシム、セフピミゾール、セフポドキシム、セフテラム、セフチチブテン、セフチオフル、セフチオレン、セフチゾキシム、セフトリアキソン、セフォペラゾン、セフタジジム、セフクリジン、セフェピム、セフルブレナム、セフォセリス、セフォゾプラン、セフピロム、セフキノム、セフトビプロール、セフタロリン、セファクロメジン、セファロラム、セファパロール、セフカネル、セフェドロロール、セフェムピドン、セフェトリゾール、セフィビトリル、セフマチレン、セフメピジウム、セフォベシン、セフォキサゾール、セフロチル、セフスミド、セフラセチム、セフチオキシド、併用薬、セフタジム／アビバクタム、セフトロザン／タゾバクタム）、モノバクタム（アズトレオナム）、カルバペネム（イミペネム、イミペネム／シラスタチン、ドリペネム、エルタペネム、メロペネム、メロペネム／バボルバクタム）、マクロライド（アジスロマイシン、エリスロマイシン、クラリスロマイシン、ジリスロマイシン、ロキシスロマイシン、テリスロマイシン）、リンコサミド（クリンダマイシン、リンコマイシン）、ストレプトグラミン（ブリスチナマイシン、キヌプリスチン／ダルフォプリスチン）、アミノグリコシド（アミカシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、ネオマイシン、ネチルマイシン、パロモマイシン、ストレプトマイシン、トブラマイシン）、キノロン（フルメキン、ナリジクス酸、オキシロニン酸、ピロミジン酸、ピペミジン酸、ロソキサシン、第2世代（Second Generation）、シプロフロキサシン、エノキサシン、ロメフロキサシン、ナジフロキサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン、ペフロキサシン、ルフロキサシン、バロフロキサシン、ガチフロキサシン、グレパフロキサシン、レボフロキサシン、モキシフロキサシン、パズフロキサシン、スパルフロキサシン、テマフロキサシン、トスフロキサシン、ベシフロキサシン、デラフロキサシン、クリナフロキサシン、ゲミフロキサシン、プルリフロキサシン、シタフロキサシン、トロバフロキサシン）、スルホンアミド（スルファメチゾール、スルファメトキサゾール、スルフィソキサゾール、トリメトプリム－スルファメトキサゾール）、テトラサイクリン（デメクロサイクリン、ドキシサイクリン、ミノサイクリン、オキシテトラサイクリン、テトラサイクリン、チゲサイクリン）、その他（リポペプチド、フルオロキノロン、リポグリコペプチド、セファロスポリン、マクロサイクリック、クロラムフェニコール、メトロニダゾール、チニダゾール、ニトロフラントイン、グリコペプチド、バンコマイシン、テイコブラニン、リポグリコペプチド、テラバンシン、オキサゾリジノン、リネゾリド、シクロセリン2、リファマイシン

10

20

30

40

50

、リファンピン、リファブチン、リファペンチン、リファラジル、ポリペプチド、バシトラシン、ポリミキシンB、チュバーアクチノマイシン、バイオマイシン、カプレオマイシン)。

【0236】

当業者は、組成物中の各抗生物質の好適な濃度が、抗生物質の有効性、安定性、個別の抗生物質の数、配合及び組成物の適用方法などの要因に応じて変動することを理解するであろう。

【0237】

B. 抗真菌剤

本明細書に記載される病原体防除組成物は、抗真菌剤をさらに含み得る。例えば、本明細書に記載されるような抗生物質を含む病原体防除組成物は、標的動物体内若しくは動物身体上で標的レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の抗真菌剤濃度を達成し；且つ／又は動物の真菌感染を処置若しくは予防するのに十分な量及び時間で動物に投与することができる。本明細書に記載の抗真菌剤は、本明細書に記載の方法のいずれかのために病原体防除組成物に配合され得、特定の例ではそのPMPと結合され得る。一部の例では、病原体防除組成物は、2種以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10又は10種超）の異なる抗真菌剤を含む。

【0238】

本明細書で使用されるとき、用語「殺真菌剤」又は「抗真菌剤」は、動物に対して病原性の真菌などの真菌を殺傷するか、又はその成長、増殖、分裂、繁殖若しくは拡大を阻害する物質を指す。多くの様々な種類の抗真菌剤が商業的に製造されている。抗真菌剤の非限定的な例として、以下のものが挙げられる：アリルアミド（アモロルフィン、ブテナフィン、ナフチフィン、テルビナフィン）、イミダゾール（（ビフォナゾール、ブトコナゾール、クロトリマゾール、エコナゾール、フェンチコナゾール、ケトコナゾール、イソコナゾール、ルリコナゾール、ミコナゾール、オモコナゾール、オキシコナゾール、セルタコナゾール、スルコナゾール、チオコナゾール、テルコナゾール）；トリアゾール（アルバコナゾール、エフィナコナゾール、フルコナゾール、イサブコナゾール、イトラコナゾール、ポサコナゾール、ラブコナゾール、テルコナゾール、ポリコナゾール）、チアゾール（アバフンジン）、ポリエン（アムホテリシンB、ナイスタチン、ナタマイシン、トリコマイシン）、エキノカンジン（アニデュラフンギン、カスポフンギン、ミカフンギン）、その他（トルナフタート、フルシトシン、ブテナフィン、グリセオフルビン、シクロピロクス、硫化セレン、タバポロール）。当業者は、組成物中の各抗真菌剤の好適な濃度が、抗真菌剤の有効性、安定性、個別の抗真菌剤の数、配合及び組成物の適用方法などの要因に応じて変動することを理解するであろう。

【0239】

C. 殺虫剤

本明細書に記載される病原体防除組成物は、殺虫剤をさらに含み得る。例えば、殺虫剤は、動物病原体の昆虫ベクターの適応度を低減させる（例えば、成長を低減するか又は殺傷する）ことができる。本明細書に記載される殺虫剤を含む病原体防除組成物は、（a）昆虫内若しくは昆虫上で標的レベル（例えば、所定又は閾値レベル）の殺虫剤濃度を達成し；且つ（b）昆虫の適応度を低減させるのに十分な量及び時間で昆虫と接触させることができる。一部の例では、殺虫剤は、寄生昆虫の適応度を低減させる（例えば、成長を低減するか又は殺傷する）ことができる。本明細書に記載される殺虫剤を含む病原体防除組成物は、（a）寄生昆虫内若しくは昆虫上で標的レベル（例えば、所定又は閾値レベル）の殺虫剤濃度を達成し；且つ（b）寄生昆虫の適応度を低減させるのに十分な量及び時間で寄生昆虫又はそれに感染した動物と接触させることができる。本明細書に記載の殺虫剤は、本明細書に記載の方法のいずれかのために病原体防除組成物に配合され得、特定の例ではそのPMPと結合され得る。一部の例では、病原体防除組成物は、2種以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10又は10種超）の異なる殺虫剤を含む。

【0240】

本明細書で使用されるとき、用語「殺虫剤」又は「殺虫薬剤」は、動物病原体又は寄生昆虫の昆虫ベクターなどの昆虫を殺傷するか、又はその成長、繁殖、生殖若しくは拡大を阻害する物質を指す。殺虫剤の非限定的な例を表1に示す。好適な殺虫剤のさらに別の非限定的な例として、アザジラクチン、バチルス属 (*Bacillus* spp) 種、ボーベリア属 (*Beauveria*) 種、コドレモン、メタリジウム属 (*Metarhizium*) 種、ペシロマイセス属 (*Paecilomyces*) 種、チューリングエンシス (*turingiensis*) 及びバーティシリウム属 (*Verticillium*) 種などの生物剤、ホルモン又はフェロモン並びに燻蒸剤のように作用機構が不明若しくは不明瞭である有効化合物 (例えば、リン化アルミニウム、臭化メチル及びフッ化スルフルルなど) 及び選択性摂餌阻害剤 (例えば、氷晶石、フロニカミド及びピメトロジンなど) が挙げられる。当業者は、組成物中の各殺虫剤の好適な濃度が、殺虫剤の有効性、安定性、個別の殺虫剤の数、配合及び組成物の適用方法などの要因に応じて変動することを理解するであろう。

【0241】

10

20

30

40

50

表 1. 殺虫剤の例

クラス	化合物
クロロニコチニル/ネオニコチノイド	アセタミプリド、クロチアニジン、ジノテフラン、イミダクロプリド、ニテンピラム、ニチアジン、チアクロプリド、チアメトキサム、イミダクロチズ、(2E)-1-[(2-クロロ-1,3-チアゾール-5-イル)メチル]-3,5-ジメチル-N-ニトロ-1,3,5-トリ-アジナン-2-イミン、アセチルコリンエステラーゼ(AChE) 阻害剤 (例えば、カルバメート及び有機リン酸エステルなど)
カルバメート	アラニカルブ、アルジカルブ、アルドキシカルブ、アリキシカルブ、アミノカルブ、ベンジオカルブ、ベンフラカルブ、ブフェンカルブ、ブタカルブ、ブトカルボキシム、ブトキシカルボキシム、カルバリル、カルボフラン、カルボスルファン、クロエトカルブ、ジメチラン、エチオフェンカルブ、フェノブカルブ、フェノチオカルブ、ホルメタネート、フラチオカルブ、イソプロカルブ、メタム-ナトリウム、メチオカルブ、メトミル、メトカルブ、オキサミル、ホスホカルブ、ピリミカルブ、プロメカルブ、プロボキシル、チオジカルブ、チオフアノクス、トリアザメート、トリメタカルブ、XMC、キシリルカルブ
有機リン酸エステル	アセフェート、アザメチホス、アジホス (-メチル、-エチル)、プロモホス-エチル、プロムフェンピホス(-メチル)、プタチオホス、カズサホス、カルボフェノチオン、クロレトキシホス、クロルフエンピンホス、クロルメホス、クロルピリホス(-メチル/-エチル)、クマホス、シアノフェンホス、シアノホス、デメトン-S-メチル、デメトン-S-メチルスルホン、ジアリホス、ジアジノン、ジクロフェンチオン、ジクロルボス/DDVP、ジクロトホス、ジメトエート、ジメチルピンホス、ジオキサベンゾホス、ジスルホトン、EPN、エチオン、エトプロホス、エトリムホス、ファムフル、フェナミホス、フェントロチオン、フェンスルホチオン、フェンチオン、フルピラゾホス、ホノホス、ホルモチオン、ホスメチラン、ホスチアゼート、ヘプテノホス、ヨードフェンホス、イプロベンホス、イサゾホス、イソフェンホス、O-サリチル酸イソプロピル、イソキサチオン、マラチオン、メカルバム、メタクリホス、メタミドホス、メチダチオン、メピンホス、モノクロトホス、ナレド、オメトエート、オキシデメトン-メチル、パラチオン(-メチル/-エチル)、フェントエート、ホレート、ホサロン、ホスメト、ホスファミドシ、ホスホカルブ、ホキシム、ピリミホス(-メチル/-エチル)、プロフェノホス、プロバホス、プロベタムホス、プロチオホス、プロトエート、ピラクロホス、ピリダフェンチオン、ピリダチオン、キナルホス、セブホス、スルホテブ、スルプロホス、テブピリムホス、テメホス、テルブホス、テトラクロルピンホス、チオメトン、トリアゾホス、トリクロルホン、パミドチオン
ピレスロイド	アクリナトリン、アレトリン(d-シス-トランス、d-トランス)、シペルメトリン(アルファ-, ベータ-, シータ-, ゼータ-), ペルメトリン(シス-, トランス-), ベータ-シフルトリン、ピフェントリン、ピオアレトリン、ピオアレトリン-S-シクロペンチル-異性体、ピオエタノメトリン、ピオベルメトリン、ピオレスメトリン、クロバポルトリン、シス-シペルメトリン、シス-レスメトリン、シス-ベルメトリン、クロシトリン、シクロプロトリン、シフルトリン、シハロトリン、シフェノトリン、DDT、デルタメトリン、エムベントリン(1R-異性体)、エスフェンバレレート、エトフェンプロクス、フェンフルトリン、フェンプロバトリン、フェンピリトリン、フェンバレレート、フルプロシトリネート、フルシトリネート、フルフェンプロクス、フルメトリン、フルバリネート、フブフェンプロクス、ガンマ-シハロトリン、イミプロトリン、カデトリン、ラムダ、シハロトリン、メトフルトリン、フェノトリン(1R-トランス異性体)、パラレトリン、プロフルトリン、プロトリフェンブト、ピレスメトリン、レスメトリン、RU 15525、シラフルオフエン、タウ-フルバリネート、テフルトリン、テラレトリン、テトラメトリン(1R-異性体)、トラロシトリン、トラロメトリン、トランスフルトリン、ZXI 8901、ピレトリン (ピレトルム)

【 0 2 4 2 】

10

20

30

40

50

オキサジアジン	インドキサカルブ、アセチルコリン受容体モジュレータ(例えば、スピノシスなど)
スピノシン	スピノサド
シクロジエン	カムフェクロル、クロルダン、エンドスルファン、ガンマ-HCH、HCH、ヘプタクロル、
有機塩素化合物	リンダン、メトキシクロル
フィプロール	アセトプロール、エチプロール、バニリプロール、フィプロニル
メクチン	アバメクチン、アベルメクチン、エマメクチン、エマメクチン-ベンゾエート、フェノキシカルブ、ヒドロプレン、キノプレン、メトプレン、イベルメクチン、レピメクチン、エポフェノナン、ピリボキシフェン、ミルベメクチン、ミルベマイシン、トリプレン
ジアシルヒドラジン	クロマフェノジド、ハロフェノジド、メトキシフェノジド、テブフェノジド
ベンゾイル尿素	ビストリフルオロン、クロルフルアズロン、ジフルベンズロン、フルアズロン、フルシクロクソロン、フルフェノクソロン、ヘキサフルムロン、ルフエヌロン、ノバルロン、ノビフルムロン、ペンフルオロン、テフルベンズロン、トリフルムロン
オルガノチン	アゾシクロチン、シヘキサチン、フェンブタチンオキシド
ピロール	クロルフェナピル
ジニトロフェノール	ピナバクリル、ジノプトン、ジノカップ、DNOC
METIs	フェンザキン、フェンピロキシメート、ピリミジフェン、ピリダベン、テブフェンピラド、トルフェンピラド、ロテノン、アセキノシル、フルアクリピリム、昆虫の腸壁破壊微生物(例えば、バチルス・チューリンゲンシス(<i>Bacillus thuringiensis</i>)株など)、脂質合成の阻害剤(例えば、テトラノ酸及びテトラミン酸など)
テトラノ酸	スピロジクロフェン、スピロメシフェン、スピロテトラマト
テトラミン酸	シス-3-(2,5-ジメチルフェニル)-8-メトキシ-2-オキソ-1-アザスピロ [4.5]デク-3-エン-4-イルエチルカルボネート(別名: 炭酸, 3-(2,5-ジメチルフェニル)-8-メトキシ-2-オキソ-1-アザスピロ [4.5]デク-3-エン-4-イルエチルエステル; CAS Reg. No.: 382608-10-8)、カルボキサミド(例えば、フロニカミドなど)、オクトパミンアゴニスト(例えば、アミトラズなど)、マグネシウム刺激 ATPase の阻害剤(例えば、プロバルギットなど)、リアノジン受容体アゴニスト(例えば、フタルアミド又はリナキサピルなど)
フタルアミド	N2-[1,1-ジメチル-2-(メチルスルホニル)エチル]-3-ヨード-N1-[2-メチル--4-[1,2,2,2-テトラフルオロ-1-(トリフルオロメチル)エチル]フェニル]-1,2-ベンゼンジ-カルボキサミド(すなわち、フルベンジアミド; CAS reg. No.: 272451-65-7)

10

20

30

【0243】

D. 殺線虫剤

本明細書に記載される病原体防除組成物は、殺線虫剤をさらに含み得る。一部の例では、病原体防除組成物は、2種以上(例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10又は10超)の異なる殺線虫剤を含む。例えば、殺線虫剤は、寄生線虫の適応度を低減させる(例えば、成長を低減するか又は殺傷する)ことができる。本明細書に記載される殺線虫剤を含む病原体防除組成物は、(a) 標的線虫内若しくは線虫上で標的レベル(例えば、所定又は閾値レベル)の殺線虫剤濃度を達成し; 且つ (b) 寄生線虫の適応度を低減させるのに十分な量及び時間で寄生線虫又はそれに感染した動物と接触させることができる。本明細書に記載の殺線虫剤は、本明細書に記載の方法のいずれかのために病原体組成物に配合され得、特定の例ではそのPMPと結合され得る。

40

【0244】

本明細書で使用されるとき、用語「殺線虫剤」又は「殺線虫性薬剤」は、寄生線虫などの線虫を殺傷するか、又はその成長、繁殖、生殖若しくは拡大を阻害する物質を指す。殺線虫剤の非限定的な例を表2に示す。当業者は、組成物中の各殺線虫剤の好適な濃度が、殺線虫剤の有効性、安定性、個別の殺線虫剤の数、配合及び組成物の適用方法などの要因に応じて変動することを理解するであろう。

【0245】

50

表 2. 殺線虫剤の例

燻蒸剤	D-D, 1,3-ジクロロプロペン、二臭化エチレン、1,2-ジブromo-3-クロロプロパン、臭化メチル、クロロピクリン、メタムナトリウム、ダゾメト、イソチオシアン酸メチル(MITC)、テトラチオ炭酸ナトリウム、クロロピクリン、
カルバメート	アルジカルブ、アルドキシカルブ、カルボフラン、オキサミル、クレオトカルブ
有機リン酸エステル	エトプロホス、フェナミホス、カズサホス、ホスチアゼート、フェンスルホチオン、チオナジン、イサゾホス、
生化学物質	DITERA®, CLANDOSAN®, SINCOCIN®

【0246】

E. 抗寄生虫剤

本明細書に記載される病原体防除組成物は、抗寄生虫剤をさらに含み得る。例えば、抗寄生虫剤は、寄生原虫の適応度を低減させる（例えば、成長を低減するか又は殺傷する）ことができる。本明細書に記載される抗寄生虫剤を含む病原体防除組成物は、（a）原虫内若しくは原虫上又はそれに感染した動物で標的レベル（例えば、所定又は閾値レベル）の抗寄生虫剤濃度を達成し；且つ（b）原虫の適応度を低減させるのに十分な量及び時間で原虫と接触させることができる。これは、動物における寄生体の処置又は予防に有用であり得る。例えば、本明細書に記載される抗寄生虫剤を含む病原体防除組成物は、動物体内又は身体上で標的レベル（例えば、所定又は閾値レベル）の抗寄生虫剤濃度を達成し；且つ動物における寄生体（例えば、寄生線虫、寄生昆虫又は原虫）感染を処置又は予防するのに十分な量及び時間で動物に投与することができる。本明細書に記載の抗寄生虫剤は、本明細書に記載の方法のいずれかのために病原体防除組成物に配合され得、特定の例ではそのPMPと結合され得る。一部の例では、病原体防除組成物は、2種以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10又は10種超）の異なる抗寄生虫剤を含む。

【0247】

本明細書で使用されるとき、用語「抗寄生虫剤」又は「抗寄生虫薬剤」は、寄生原虫、寄生線虫若しくは寄生昆虫などの寄生体を殺傷するか、又はその成長、増殖、繁殖若しくは拡大を阻害する物質を指す。抗寄生虫剤の例として、以下のものが挙げられる：駆虫剤（ベフェニウム、ジエチルカルバマジン、イベルメクチン、ニクロサミド、ピペラジン、プラジカンテル、ピランテル、ピルビニウム、ベンジミダゾール、アルベンダゾール、フルベンダゾール、メベンダゾール、チアベンダゾール、レバミゾール、ニタゾキサニド、モノパンテル、エモデプシド、スピロインドール）、殺疥癬虫薬（安息香酸ベンジル、安息香酸ベンジル／ジスルフィラム、リダン、マラチオン、ペルメトリン）、殺シラミ薬（ピペロニルブトキシド／ピレトリン、スピノサド、モキシデクチン）、殺疥癬虫薬（クロタミトン）、抗条虫薬（Anticestodes）（ニクロサミド、プラジカンテル、アルベンダゾール）、抗アメーバ薬（リファンピン、アムホテリシンB）；又は抗原虫薬（メラルソプロール、エルフロルニリン、メトロニダゾール、チニダゾール、ミルテホシン、アルテミシニン）。特定の例では、抗寄生虫剤は、家畜の感染を処置又は予防するために使用され得、例えばレバミゾール、フェンベンダゾール、オクスフェンダゾール、アルベンダゾール、モキシデクチン、エプリノメクチン、ドラメクチン、イベルメクチン又はクロスロンがある。当業者は、組成物中の各抗寄生虫剤の好適な濃度が、抗寄生虫剤の有効性、安定性、個別の抗寄生虫剤の数、配合及び組成物の適用方法などの要因に応じて変動することを理解するであろう。

【0248】

F. 抗ウイルス剤

本明細書に記載される病原体防除組成物は、抗ウイルス剤をさらに含み得る。例えば、本明細書に記載されるような抗ウイルス剤を含む病原体防除組成物は、動物体内若しくは動物身体上で標的レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の抗ウイルス剤濃度を達成し；且つ／又は動物のウイルス感染を処置若しくは予防するのに十分な量及び時間で動物

10

20

30

40

50

に投与することができる。本明細書に記載の抗ウイルス剤は、本明細書に記載の方法のいずれかのために病原体防除組成物に配合され得、特定の例ではそのPMPと結合され得る。一部の例では、病原体防除組成物は、2種以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10又は10種超）の異なる抗ウイルス剤を含む。

【0249】

本明細書で使用されるとき、用語「抗ウイルス剤」又は「殺ウイルス剤」は、動物感染するウイルス病原体などのウイルスを殺傷するか、又はその成長、増殖、繁殖、発生若しくは拡大を阻害する物質を指す。いくつかの薬剤を抗ウイルス剤として使用することができ、そうしたものとして、化学物質又は生物剤（例えば、核酸、例えばdsRNA）がある。本明細書で有用な抗ウイルス剤の例として、以下のものが挙げられる：アバカビル、アシクロビル（Acyclovir）（アシクロビル（Aciclovir））、アデフォビル、アマンタジン、アンブレナビル（アジェネラーゼ（Agenerase））、アンプリジェン（Ampligen）、アルビドール、アタザナビル、アトリプラ、バラビル、シドフォビル、コンビビル、ドルテグラビル、ダルナビル、デラビルジン、ジダノシン、ドコサノール、エドクスジン、エファビレンズ、エムトリシタビン、エンフビリチド、エンテカビル、エコリエベル（Ecoliever）、ファムシクロビル、ホミビルセン、ホスアンブレナビル、ホスカルネット、ホスホネット、融合阻害剤、ガンシクロビル、イバシタビン、イムノビル（Imunovir）、イドクスウリジン、イミキモド、インジナビル、イノシン、インテグララーゼ阻害剤、III型インターフェロン、I型インターフェロン、I型インターフェロン、インターフェロン、ラミブジン、ロピナビル、ロビリド、マラビロク、モロキシジン、メチサゾン、ネルフィナビル、ネビラピン、ネキサビル（Nexavir）、ニタゾキサニド、ヌクレオシド類似体、ノビル（Novir）、オセルタミビル（タミフル（Tamiflu））、ペグインターフェロン α -2a、ペンシクロビル、ペラミビル、プレコナリル、ポドフィロトキシン、ラルテグラビル、リバビリン、リマンタジン、リトナビル、ピラミジン（Pyrimidine）、サキナビル、ソフォスブビル、スタブジン、相乗的増強剤（抗レトロウイルス）、テラプレビル、テノホビル、テノホビルジソプロキシル、チプラナビル、トリフルリジン、トリジビル（Trizivir）、トロマンタジン、ツルバダ（Truvada）、バラシクロビル（バルトレックス（Valtrex））、バルガンシクロビル、ピクリビロク、ピダラビン、ピラミジン（Viramidine）、ザルシタビン、ザナミビル（リレンザ（Relenza））又はジドブジン。当業者は、組成物中の各抗ウイルス剤の好適な濃度が、抗ウイルス剤の有効性、安定性、個別の抗ウイルス剤の数、配合及び組成物の適用方法などの要因に応じて変動することを理解するであろう。

【0250】

G. 忌避剤

本明細書に記載される病原体防除組成物は、忌避剤をさらに含む得る。例えば、忌避剤は、昆虫などの動物病原体のベクターを忌避し得る。本明細書に記載の忌避剤は、本明細書に記載の方法のいずれかのために病原体防除組成物に配合され得、特定の例ではそのPMPと結合され得る。一部の例では、病原体防除組成物は、2種以上（例えば、2、3、4、5、6、7、8、9、10又は10種超）の異なる忌避剤を含む。

【0251】

例えば、本明細書に記載される忌避剤を含む病原体防除組成物は、（a）標的レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の忌避剤濃度を達成し；且つ／又は（b）対照と比較して、動物の付近若しくは近傍の昆虫のレベルを低減させるのに十分な量及び時間で昆虫ベクター又はベクターの生息場所と接触させることができる。代わりに、本明細書に記載される忌避剤を含む病原体防除組成物は、（a）標的レベル（例えば、所定若しくは閾値レベル）の忌避剤濃度を達成し；且つ／又は（b）非処置動物と比較して、動物の付近若しくは近傍の昆虫のレベルを低減させるのに十分な量及び時間で動物と接触させることができる。

【0252】

公知の昆虫忌避剤のいくつかの例として、以下のものが挙げられる：ベンジル；安息香酸ベンジル；2，3，4，5-ビス（ブチル-2-エン）テトラヒドロフルフル（MGK Relellent 11）；ブトキシポリプロピレングリコール；N-ブチルアセタニリド；ノルマル-ブチル-6，6-ジメチル-5，6-ジヒドロ-1，4-ピロン-2-カルボキシレート（Indalone）；アジピン酸ジブチル；フタル酸ジブチル；コハク酸ジ-ノルマル-ブチル（Tabatrex）；N，N-ジメチル-メタートルアミド（DEET）；ジメチルカルベート（dimethyl carbate）（エンド，エンド）-ジメチルビスクロ[2.2.1]ヘプト-5-エン-2，3-ジカルボキシレート）；フタル酸ジメチル；2-エチル-2-ブチル-1，3-プロパンジオール；2-エチル-1，3-ヘキサジオール（Rutgers 612）；ジ-ノルマル-プロピルイソシンコメロネート（MGK Relellent 326）；2-フェニルシクロヘキサノール；p-メンタン-3，8-ジオール及びノルマル-プロピルN，N-ジエチルスクシナメート。他の忌避剤として、シトロネラ油、フタル酸メチル、ノルマル-ブチルメシチルオキシドオキサレート及び2-エチルヘキサジオール-1，3が挙げられる（Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 2nd Ed., Vol. 11: 724-728；及びThe Condensed Chemical Dictionary, 8th Ed., p756を参照されたい）。

【0253】

一部の例では、忌避剤は、合成又は非合成昆虫忌避剤を含む昆虫忌避剤である。合成昆虫忌避剤の例としては、メチルアントラニレート及び他のアントラニレート基剤昆虫忌避剤、ベンズアルデヒド、DEET（N，N-ジエチル-メタートルアミド）、ジメチルカルベート、フタル酸ジメチル、イカリジン（即ちピカリジン、Bayrepel及びKBR 3023）、インダロン（例えば、「6-2-2」混合物（60%フタル酸ジメチル、20%インダロン、20%エチルヘキサジオール）中に使用されるような）、IR3535（3-[N-ブチル-N-アセチル]-アミノプロピオン酸、エチルエステル）、メトフルトリン、ペルメトリン、SS220又はトリシクロデセニルアリルエーテルが挙げられる。天然の昆虫忌避剤の例としては、ビューティーベリー（beautyberry）（カリカルバ（Calliocalpa））葉、カバの木の樹皮、ボクマートル（bog myrtle）（ヤチヤナギ（Myrica Gale））、キャトニップオイル（例えば、ネペタラクトン）、シトロネラオイル、レモンユーカリ（レモンユーカリ（Corymbia citriodora））；例えば、p-メンタン-3，8-ジオール（PMD）の精油、ニームオイル、レモングラス、ティーツリー（Melaleuca alternifolia）の葉由来のティーツリーオイル、タバコ又はそれらのエキスが挙げられる。

【0254】

H. 生物剤

i. ポリペプチド

本明細書に記載される病原体防除組成物（例えば、PMP）は、ポリペプチド、例えば抗菌剤、抗真菌剤、殺虫剤、殺線虫剤、抗寄生虫剤又は殺ウイルス剤であるポリペプチドを含み得る。一部の例では、病原体防除組成物は、病原体内の経路をターゲティングするポリペプチド又はその機能性断片若しくは誘導体を含む。本明細書に記載されるポリペプチドを含む病原体防除組成物は、（a）標的レベル（例えば、所定又は閾値レベル）のポリペプチド濃度を達成し；且つ（b）病原体を低減又は排除するのに十分な量及び時間で病原体又はそのベクターに投与することができる。一部の例では、本明細書に記載されるポリペプチドを含む病原体防除組成物は、（a）動物体内に標的レベル（例えば、所定又は閾値レベル）のポリペプチド濃度を達成し；且つ（b）病原体を低減又は排除するのに十分な量及び時間で病原体による感染を有するか、又はそのリスクがある動物に投与することができる。本明細書に記載のポリペプチドは、本明細書に記載の方法のいずれかのために病原体防除組成物に配合され得、特定の例ではそのPMPと結合され得る。

【0255】

本発明で使用するすることができるポリペプチドの例として、酵素（例えば、代謝リコンビナーゼ、ヘリカーゼ、インテグラーゼ、RNAse、DNAse若しくはユビキチン化タンパク質）、孔形成タンパク質、シグナル伝達リガンド、細胞膜透過ペプチド、転写因子、受容体、抗体、ナノボディ、遺伝子編集タンパク質（例えば、CRISPR-Cas系、TALEN若しくはジンクフィンガー）、リボタンパク質、タンパク質アプタマー又はシャペロンが挙げられ得る。

【0256】

本発明に含まれるポリペプチドは、天然に存在するポリペプチド又は組換えにより作製された変異体を含み得る。一部の例では、ポリペプチドは、その機能性断片又は変異体（例えば、酵素として活性の断片又はその変異体）であり得る。例えば、ポリペプチドは、例えば、特定の領域にわたり又は配列全体にわたり、本明細書に記載されるポリペプチド又は天然に存在するポリペプチドの配列と少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%の同一性を有する本明細書に記載される任意のポリペプチドの機能的に活性な変異体であり得る。一部の例では、ポリペプチドは、目的のタンパク質と少なくとも50%（例えば、少なくとも50%、60%、70%、80%、90%、95%、97%、99%又はそれを超える）同一性を有し得る。

【0257】

本明細書に記載のポリペプチドは、本明細書に記載される使用のいずれかのために組成物に配合することができる。本明細書に開示される組成物は、任意の数又は種類（例えば、クラス）のポリペプチド、例えば少なくとも約1つのポリペプチド、2、3、4、5、10、15、20若しくはそれを超えるポリペプチドを含み得る。組成物中の各ポリペプチドの好適な濃度は、ポリペプチドの有効性、安定性、組成物中の個別のポリペプチドの数、配合及び組成物の適用方法などの要因に応じて変動する。一部の例では、液体組成物中の各ポリペプチドは、約0.1 ng/mL～約100 mg/mLである。一部の例では、固体組成物中の各ポリペプチドは、約0.1 ng/g～約100 mg/gである。

【0258】

ポリペプチドを作製する方法は、当技術分野においてルーティンである。一般的に、Smalès & James (Eds.), *Therapeutic Proteins: Methods and Protocols* (Methods in Molecular Biology), Humana Press (2005); 及び Crommelin, Sindelar & Meibohm (Eds.), *Pharmaceutical Biotechnology: Fundamentals and Applications*, Springer (2013) を参照されたい。

【0259】

ポリペプチドを作製する方法は、植物細胞での発現を含むが、適切なプロモータの制御下、昆虫細胞、酵母、細菌、哺乳動物細胞又は他の細胞を用いて、組換えタンパク質を作製することもできる。哺乳動物発現ベクターは、複製起点などの非転写エレメント、好適なプロモータ及びエンハンサー並びに他の5'若しくは3'フランキング非転写配列及び必要なりボソーム結合部位などの5'若しくは3'非転写配列、ポリアデニル化部位、スプライスドナー及びアクセプター部位並びに終結配列を含み得る。SV40 ウイルスゲノム由来のDNA配列、例えばSV40 起点、早期プロモータ、エンハンサー、スプライス及びポリアデニル化部位を用いて、異種DNA配列の発現に必要な他の遺伝子エレメントを提供することもできる。細菌、真菌、酵母及び哺乳動物細胞宿主と一緒に使用するのに適切なクローニング及び発現ベクターは、Green & Sambrook, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual* (Fourth Edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press (2012) に記載されている。

【0260】

様々な哺乳動物細胞培養系を使用して、組換えポリペプチド薬剤を発現させて、製造することができる。哺乳動物発現系の例としては、CHO細胞、COS細胞、HeLa及びBHK細胞株が挙げられる。タンパク質治療薬生産のための宿主細胞培養の方法は、例えば、Zhou and Kantardjiev (Eds.), *Mammalian Cell Cultures for Biologics Manufacturing (Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology)*, Springer (2014) に記載されている。タンパク質の精製については、Franks, *Protein Biotechnology: Isolation, Characterization, and Stabilization*, Humana Press (2013); 及び Cutler, *Protein Purification Protocols (Methods in Molecular Biology)*, Humana Press (2010) に記載されている。タンパク質治療薬の製剤化については、Meyer (Ed.), *Therapeutic Protein Drug Products: Practical Approaches to formulation in the Laboratory, Manufacturing, and the Clinic*, Woodhead Publishing Series (2012) に記載されている。

10

【0261】

一部の例では、病原体防除組成物は、抗体又はその抗原結合断片を含む。例えば、本明細書に記載される薬剤は、病原体の1要素の活動及び／若しくは機能を遮断又は増強する抗体であり得る。抗体は、病原体中のポリペプチド（例えば、酵素若しくは細胞受容体）のアンタゴニスト又はアゴニストとして作用し得る。病原体の標的抗原に対する抗体の作製及び使用は、当技術分野において公知である。例えば、抗体操作、変性オリゴヌクレオチドの使用、5'-RACE、ファージディスプレイ及び突然変異誘発；抗体試験及び特性決定；抗体薬物動態及び薬物力学；抗体精製及び保存；並びにスクリーニング及び標識技法を含む、組換え抗体を作製する方法については、以下を参照されたい：Zhiqian An (Ed.), *Therapeutic Monoclonal Antibodies: From Bench to Clinic*, 1st Edition, Wiley, 2009、さらには Greenfield (Ed.), *Antibodies: A Laboratory Manual*, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2013。

20

30

【0262】

本明細書に記載の病原体防除組成物は、バクテリオシンを含み得る。一部の例では、バクテリオシンは、シュードモナス属 (*Pseudomonas*)、ストレプトミセス属 (*Streptomyces*)、バチルス属 (*Bacillus*)、スタフィロコッカス属 (*Staphylococcus*) 又は乳酸菌 (LAB、例えばラクトコッカス・ラクチス (*Lactococcus lactis*)) などのグラム陽性細菌によって天然に生産される。一部の例では、バクテリオシンは、ハフニア・アルベイ (*Hafnia alvei*)、シトロバクター・フロインディ (*Citrobacter freundii*)、クレブシエラ・オキシトカ (*Klebsiella oxytoca*)、クレブシエラ・ニューモニエ (*Klebsiella pneumonia*)、エンテロバクター・クロアカ (*Enterobacter cloacae*)、セラチア・プリミチウム (*Serratia plymthicum*)、キサントモナス・カンペストリス (*Xanthomonas campestris*)、エルウィニア・カロトボラ (*Erwinia carotovora*)、ラルストニア・ソラナセアルム (*Ralstonia solanacearum*) 又は大腸菌 (*Escherichia coli*) などのグラム陰性細菌によって天然に生産される。例示的バクテリオシンとしては、限定はされないが、クラスI~IV LAB抗生物質 (ランチビオティックなど)、コリシン、ミクロシン及びピオシンが挙げられる。

40

50

【0263】

本明細書に記載の病原体防除組成物は、抗菌ペプチド（AMP）を含み得る。微生物を阻害するのに好適な任意のAMPを使用することができる。AMPは、様々な群の分子であり、これらは、そのアミノ酸の組成及び構造に基づいて亜群に分けられる。AMPは、天然にAMPを産生する任意の生物に由来するか又はそれらから産生され、そうしたもののとして、植物由来（例えば、コブシン）、昆虫由来（例えば、マストパラン、ポネラトキシシン、セクロピン、モリシン、メリッテン）、カエル由来（例えば、マガイニン、デルマセプチン、アウレイン）及び哺乳動物由来（例えば、カテリシジン、デフェンシン及びプロテグリン）のAMPが挙げられる。

【0264】

ii. 核酸

本明細書に記載される組成物及び方法において多数の核酸が有用である。本明細書に開示される組成物は、任意の数又は種類（例えば、クラス）の核酸（例えば、DNA分子又はRNA分子、例えばmRNA、ガイドRNA（gRNA）若しくは阻害性RNA分子（例えば、siRNA、shRNA若しくはmiRNA）又はハイブリッドDNA-RNA分子）、例えば少なくとも約1クラス又は変異体の核酸、2、3、4、5、10、15、20若しくはそれを超えるクラス又は変異体の核酸を含み得る。組成物中の各核酸の好適な濃度は、核酸の有効性、安定性、個別の核酸の数、配合、組成物の適用方法などの要因に応じて変動する。本発明で有用な核酸の例として、ダイサー基質低分子干渉RNA（dsiRNA）、アンチセンスRNA、低分子干渉RNA（siRNA）、低分子ヘアピン（shRNA）、マイクロRNA（miRNA）、（非対称干渉RNA）aiRNA、ペプチド核酸（PNA）、モルホリノ、ロックド核酸（LNA）、piwi干渉RNA（piRNA）、リボザイム、デオキシリボザイム（DNAzyme）、アプタマー（DNA、RNA）、環状RNA（circRNA）、ガイドRNA（gRNA）又はDNA分子を含む。

【0265】

本明細書に記載される核酸を含む病原体防除組成物は、（a）標的レベル（例えば、所定又は閾値レベル）の核酸濃度を達成し；且つ（b）病原体を低減又は排除するのに十分な量及び時間で病原体又はそのベクターと接触させることができる。一部の例では、本明細書に記載される核酸を含む病原体防除組成物は、（a）標的レベル（例えば、所定又は閾値レベル）の核酸濃度を達成し；且つ（b）病原体を低減又は排除するのに十分な量及び時間で、病原体による感染を有するか又はそのリスクがある動物に投与することができる。本明細書に記載の核酸は、本明細書に記載の方法のいずれかのために病原体防除組成物に配合され得、特定の例ではそのPMPと結合され得る。

【0266】

（a）ポリペプチドをコードする核酸

一部の例では、病原体防除組成物は、ポリペプチドをコードする核酸を含む。ポリペプチドをコードする核酸は、約10～約50,000ヌクレオチド（nt）、約25～約100nt、約50～約150nt、約100～約200nt、約150～約250nt、約200～約300nt、約250～約350nt、約300～約500nt、約10～約1000nt、約50～約1000nt、約100～約1000nt、約1000～約2000nt、約2000～約3000nt、約3000～約4000nt、約4000～約5000nt、約5000～約6000nt、約6000～約7000nt、約7000～約8000nt、約8000～約9000nt、約9000～約10,000nt、約10,000～約15,000nt、約10,000～約20,000nt、約10,000～約25,000nt、約10,000～約30,000nt、約10,000～約40,000nt、約10,000～約45,000nt、約10,000～約50,000nt又はこれらの間の任意の範囲の長さを有し得る。

【0267】

病原体防除組成物は、目的の核酸配列の機能的に活性の変異体も含み得る。一部の例で

は、核酸の変異体は、例えば、目的の核酸の配列と、指定領域にわたって又は配列全体にわたって少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%の同一性を有する。一部の例では、本発明は、本明細書に記載される通りの核酸変異体によりコードされる機能的に活性のポリペプチドを含む。一部の例では、核酸変異体によりコードされる機能的に活性のポリペプチドは、例えば、目的のポリペプチドの配列又は天然由来のポリペプチド配列と、指定領域にわたって又はアミノ酸配列全体にわたって少なくとも70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%又は99%の同一性を有する。

【0268】

タンパク質をコードする核酸を発現させるいくつかの方法は、適切なプロモータの制御下において、昆虫、酵母、植物、細菌又は他の細胞をはじめとする細胞における発現を含み得る。発現ベクターは、複製起点などの非転写エレメント、好適なプロモータ及びエンハンサー並びに他の5'若しくは3'フランキング非転写配列及び必要なりボソーム結合部位などの5'若しくは3'非転写配列、ポリアデニル化部位、スプライスドナー及びアクセプター部位並びに終結配列を含み得る。SV40ウイルスゲノム由来のDNA配列、例えばSV40起点、早期プロモータ、エンハンサー、スプライス及びポリアデニル化部位を用いて、異種DNA配列の発現に必要な他の遺伝子エレメントを提供することもできる。細菌、真菌、酵母及び哺乳動物細胞宿主と一緒に使用するのに適切なクローニング及び発現ベクターは、Green et al., Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Fourth Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012に記載されている。

【0269】

組換え方法を用いた遺伝子修飾は、当技術分野で公知である。所望の遺伝子をコードする核酸配列は、当技術分野で公知の組換え方法を用いて、例えば遺伝子を発現する細胞からのライブラリのスクリーニング、それを含むことが分かっているベクターからのその遺伝子の誘導又は標準技術を用いた、それを含む細胞及び組織からの直接単離などによって取得することができる。代わりに、目的の遺伝子をクローニングではなく、合成により作製することもできる。

【0270】

天然又は合成核酸の発現は、典型的に、目的の遺伝子をコードする核酸をプロモータと作動可能に連結して、構築物を発現ベクターに組み込むことにより、達成される。発現ベクターは、細菌内での複製及び組込みに好適であり得る。発現ベクターは、真核生物内での複製及び発現にも好適であり得る。典型的なクローニングベクターは、転写及び翻訳ターミネータ、開始配列並びに所望の核酸配列の発現に有用なプロモータを含む。

【0271】

さらなるプロモータエレメント、例えばエンハンサーが、転写開始の頻度を調節する。典型的に、これらは、開始部位の30～110塩基対(bp)上流に位置するが、近年、いくつかのプロモータは、開始部位の下流にも機能的エレメントを含むことが判明している。プロモータエレメント同士の間隔は、多くの場合、柔軟であり、エレメントが互いに対して反転又は移動した場合も、プロモータ機能は保存される。チミジンキナーゼ(tk)プロモータの場合、プロモータエレメント同士の間隔は、活性が低減し始めるまで最大50bpに増加することができる。プロモータに応じて、個別のエレメントは、転写を活性化するために、共同又は独立のいずれかで機能し得ると思われる。

【0272】

好適なプロモータの一例は、前初期サイトメガロウイルス(CMV)プロモータ配列である。このプロモータ配列は、そこに作動可能に連結した任意のポリヌクレオチド配列の

高レベルの発現を駆動することができる強力な構成的プロモータ配列である。好適なプロモータの別の例は、伸長成長因子-1 α (EF-1 α) である。しかし、他の構成的プロモータ配列を使用することもでき、限定はされないが、シミアンウイルス40 (SV40) 初期プロモータ、マウス乳腺腫瘍ウイルス (MMTV)、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 長末端反復 (LTR) プロモータ、MoMuLVプロモータ、トリ白血病ウイルスプロモータ、エプスタイン・バー (Epstein-Barr) ウイルス前初期プロモータ、ラウス肉腫ウイルスプロモータ並びにヒト遺伝子プロモータ、例えば、限定はされないが、アクチンプロモータ、ミオシンプロモータ、ヘモグロビンプロモータ及びクレアチンキナーゼプロモータが挙げられる。

【0273】

代わりに、プロモータは、誘導性プロモータであり得る。誘導性プロモータの使用は、そのような発現が要望される場合、それが作動可能に連結されたポリヌクレオチド配列の発現をオンにするか、又は発現が求められない場合には発現をオフにすることができる分子スイッチを提供する。誘導性プロモータの例として、限定はされないが、メタロチオニンプロモータ、グルココルチコイドプロモータ、プロゲステロンプロモータ及びテトラサイクリンプロモータが挙げられる。

【0274】

導入しようとする発現ベクターは、ウイルスベクターを介してトランスフェクト又は感染させようとする細胞の個体群からの発現細胞の同定及び選択を促進するために、選択性マーカー遺伝子若しくはリポータ遺伝子のいずれか又はその両方を含有し得る。他の態様では、選択性マーカーをDNAの個別の部分に担持させて、同時トランスフェクション法に使用し得る。宿主細胞での発現を可能にするために、選択性マーカー及びリポータ遺伝子の両方を適切な調節配列とフランキングさせ得る。有用な選択性マーカーとして、例えばneoなどの抗生物質耐性遺伝子がある。

【0275】

潜在的に形質転換された細胞を同定するため及び調節配列の機能性を評価するために、リポータ遺伝子を用いることができる。一般に、リポータ遺伝子は、レシピエント供給源に存在しないか、又はそれにより発現される遺伝子であり、何らかの容易に検出可能な特性、例えば酵素活性によって発現が呈示されるポリペプチドをコードする。リポータ遺伝子の発現は、DNAをレシピエント細胞に導入した後、好適な時点でアッセイする。好適なリポータ遺伝子は、ルシフェラーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、分泌アルカリホスファターゼ又は緑色蛍光タンパク質遺伝子をコードする遺伝子を含み得る (例えば、Uiet al., F E B S L e t t e r s 479: 79-82, 2000)。好適な発現系は、よく知られており、公知の技術を用いて調製することができるか又は市販のものを取得し得る。一般に、リポータ遺伝子の最高レベルの発現を示す最小5'フランキング領域を有する構築物は、プロモータとして同定される。こうしたプロモータ領域は、リポータ遺伝子に連結することができ、プロモータ駆動転写を調節する能力について薬剤を評価するために使用することができる。

【0276】

一部の例では、生物を遺伝子修飾して、1つ以上のタンパク質の発現を改変することができる。1つ以上のタンパク質の発現は、特定の時点、例えば生物の発育又は分化状態について改変することができる。一例では、本発明は、1つ以上のタンパク質、例えば活性、構造又は機能の発現に影響するタンパク質の発現を改変するための組成物を含む。1つ以上のタンパク質の発現を特定の位置に限定することも又は生物全体に広げることができる。

【0277】

(b) 合成mRNA

病原体防除組成物は、合成mRNA分子、例えばポリペプチドをコードする合成mRNA分子を含み得る。合成mRNA分子は、例えば、化学的に修飾することができる。mRNA分子は、例えば、化学的に合成するか又はインビトロで転写することができる。mR

10

20

30

40

50

NA分子は、プラスミド、例えばウイルスベクター、細菌ベクター又は真核生物発現ベクターに配置することができる。一部の例では、mRNA分子は、トランスフェクション、エレクトロポレーション又は形質導入（例えば、アデノウイルス若しくはレンチウイルス形質導入）により、細胞に送達することができる。

【0278】

一部の例では、本明細書に記載される目的の修飾RNA薬剤は、修飾ヌクレオシド又はヌクレオチドを有する。こうした修飾は、公知であり、例えば国際公開第2012/019168号パンフレットに記載されている。さらなる修飾は、例えば国際公開第2015/038892号パンフレット；同第2015/038892号パンフレット；同第2015/089511号パンフレット；同第2015/196130号パンフレット；同第2015/196118号パンフレット及び同第2015/196128 A2号パンフレットに記載されている。

10

【0279】

一部の例では、目的のポリペプチドをコードする修飾RNAは、1つ以上の末端修飾、例えば5'キャップ構造及び／又はポリAテール（例えば、100～200ヌクレオチド長）を有する。5'キャップ構造は、Cap0、Cap1、ARCA、イノシン、Nメチルグアノシン、2'フルオログアノシン、7-デアザグアノシン、8-オキソグアノシン、2-アミノグアノシン、LNA-グアノシン及び2-アジドグアノシンからなる群から選択され得る。一部のケースでは、修飾RNAは、少なくとも1つのコザック（Kozak）配列を含む5'UTRと、3'UTRとを含有する。こうした修飾は、公知であり、例えば国際公開第2012/135805号パンフレット及び同第2013/052523号パンフレットに記載される。さらなる末端修飾は、例えば、国際公開第2014/164253号パンフレット及び同第2016/011306号パンフレット、国際公開第2012/045075号パンフレット及び同第2014/093924号パンフレットに記載されている。少なくとも1つの化学修飾を含み得るキャップRNA分子（例えば、修飾mRNA）を合成するためのキメラ酵素は、国際公開第2014/028429号パンフレットに記載されている。

20

【0280】

一部の例では、修飾mRNAを環状化又はコンカテマー化して、ポリA結合タンパク質と5'末端結合タンパク質との相互作用を補助する翻訳コンピテント分子を作製することができる。環状化又はコンカテマー化のメカニズムは、少なくとも3つの異なる経路：1）化学、2）酵素、及び3）リボザイム触媒を通して起こり得る。新たに形成される5'-3'-結合は、分子内又は分子間のいずれでもあり得る。こうした修飾は、国際公開第2013/151736号パンフレットに記載されている。

30

【0281】

修飾RNAを作製及び精製する方法は、当技術分野で公知である。例えば、修飾RNAは、インビトロ転写（IVT）酵素合成のみを用いて作製される。IVTポリヌクレオチドを作製する方法は、当技術分野で公知であり、国際公開第2013/151666号パンフレット、同第2013/151668号パンフレット、同第2013/151663号パンフレット、同第2013/151669号パンフレット、同第2013/151670号パンフレット、同第2013/151664号パンフレット、同第2013/151665号パンフレット、同第2013/151671号パンフレット、同第2013/151672号パンフレット、同第2013/151667号パンフレット及び同第2013/151736 S号パンフレットに記載されている。精製方法には、複数のチミジン若しくはその誘導体及び／又は複数のウラシル若しくはその誘導体（ポリT/U）に連結させた表面とサンプルを、RNA転写物が表面に結合するような条件下で接触させた後、表面から精製RNA転写物を溶出させることにより、ポリAテールを含むRNA転写物を精製する方法（国際公開第2014/152031号パンフレット）；スケラブルな方法で10,000ヌクレオチド長までの長いRNAの分離を可能にするイオン（例えば、アニオン）交換クロマトグラフィーを用いる方法（国際公開第2014/144767

40

50

号パンフレット) ; 並びに修飾mRNAサンプルをDNAse処理に付す方法 (国際公開第2014/152030号パンフレット) を含む。

【0282】

修飾RNAの製剤は公知であり、例えば国際公開第2013/090648号パンフレットに記載されている。例えば、製剤は、限定はされないが、ナノ粒子、ポリ乳酸・グリコール酸共重合体 (PLGA) ミクロスフェア、リポドイド、リポプレクス、リポソーム、ポリマー、炭水化物 (単糖を含む)、カチオン性脂質、フィブリンゲル、フィブリンハイドロゲル、フィブリングルー、フィブリンシーラント、フィブリノーゲン、トロンビン、急速排出脂質ナノ粒子 (reLNP) 及びこれらの組合せであり得る。

【0283】

ヒトの疾患、抗体、ウイルス及び様々なインビボ環境の分野におけるポリペプチドをコードする修飾RNAは、公知であり、例えば国際公開第2013/151666号パンフレット、同第2013/151668号パンフレット、同第2013/151663号パンフレット、同第2013/151669号パンフレット、同第2013/151670号パンフレット、同第2013/151664号パンフレット、同第2013/151665号パンフレット、同第2013/151736号パンフレットの表6 ; 国際公開第2013/151672号パンフレットの表6及び表7 ; 国際公開第2013/151671号パンフレットの表6、表178及び表179 ; 国際公開第2013/151667号パンフレットの表6、表185及び表186に開示されている。前述のいずれかは、IVTポリヌクレオチド、キメラポリヌクレオチド又は環状ポリヌクレオチドとして合成され得、それぞれ1つ以上の修飾ヌクレオチド又は末端修飾を含み得る。

【0284】

(c) 阻害性RNA

一部の例では、病原体防除組成物は、阻害性RNA分子、例えばRNA干渉 (RNAi) 経路を介して作用する阻害性RNA分子を含む。一部の例では、阻害性RNA分子は、病原体又はそのベクターにおける遺伝子発現のレベルを低減させる。一部の例では、阻害性RNA分子は、病原体又はそのベクターにおけるタンパク質のレベルを低減させる。一部の例では、阻害性RNA分子は、病原体遺伝子の発現を阻害する。一部の例では、阻害性RNA分子は、病原体のベクターにおける遺伝子の発現を阻害する。例えば、阻害性RNA分子は、病原体の1遺伝子をターゲティングする低分子干渉RNA、低分子ヘアピンRNA及び/又はマイクロRNAを含み得る。特定のRNA分子は、RNA干渉 (RNAi) の生物学的プロセスを介して遺伝子発現を阻害することができる。RNAi分子は、典型的に、15~50塩基対 (例えば、約18~25塩基対) を含むRNA又はRNA様構築物を含み、細胞内の発現された標的遺伝子中のコード配列と同一 (相補的) であるか又はほぼ同一 (実質的に相補的) なヌクレオ塩基配列を有する。RNAi分子としては、限定はされないが、ダイサー基質低分子干渉RNA (dsRNA)、低分子干渉RNA (siRNA)、二本鎖RNA (dsRNA)、低分子ヘアピンRNA (shRNA)、部分二重鎖 (meroduplex)、ダイサー基質及び多価RNA干渉 (米国特許第8,084,599号明細書、同第8,349,809号明細書、同第8,513,207号明細書及び同第9,200,276号明細書) が挙げられる。shRNAは、RNAiを介して標的遺伝子の発現を低減するヘアピンターンを含むRNA分子である。shRNAは、例えば、トランスフェクション、エレクトロポレーション又は形質導入により)、プラスミド、例えばウイルス若しくは細菌ベクターの形態で細胞に送達することができる。マイクロRNAは、典型的に、約22ヌクレオチド長を有するノンコーディングRNA分子である。miRNAは、mRNA分子上の標的部位に結合し、例えばmRNAの切断、mRNAの不安定化又はmRNAの翻訳の阻害を引き起こすことにより、mRNAを抑制する。一部の例では、阻害性RNA分子は、機能の負調節因子のレベル及び/又は活性を低減させる。他の例では、阻害性RNA分子は、機能の正調節因子のレベル及び/又は活性を低減させる。阻害性RNA分子は、例えば、化学的に合成するか又はインビトロで転写することができる。

【0285】

一部の例では、核酸は、DNA、RNA又はPNAである。一部の例では、RNAは、阻害性RNAである。一部の例では、阻害性RNAは、病原体における遺伝子発現を阻害する。一部の例では、核酸は、mRNA、修飾mRNA又は病原体において酵素（例えば、代謝リコンビナーゼ、ヘリカーゼ、インテグラーゼ、RNAse、DNAse又はユビキチン化タンパク質）の発現を増大するDNA分子、孔形成タンパク質、シグナル伝達リガンド、細胞膜透過ペプチド、転写因子、受容体、抗体、ナノボディ、遺伝子編集タンパク質（例えば、CRISPR-Cas系、TALEN若しくはジンクフィンガー）、リボタンパク質、タンパク質アプタマー又はシャペロンである。一部の例では、核酸は、mRNA、修飾mRNA又は酵素（例えば、代謝酵素、リコンビナーゼ酵素、ヘリカーゼ酵素、インテグラーゼ酵素、RNAse酵素、DNAse酵素又はユビキチン化タンパク質）の発現を増大するDNA分子、孔形成タンパク質、シグナル伝達リガンド、細胞膜透過ペプチド、転写因子、受容体、抗体、ナノボディ、遺伝子編集タンパク質（例えば、CRISPR-Cas系、TALEN若しくはジンクフィンガー）、リボタンパク質、タンパク質アプタマー又はシャペロンである。一部の例では、病原体における発現の増大は、参照レベル（例えば、非処置病原体における発現）に対して約5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%若しくは100%超の発現増大である。一部の例では、病原体における発現の増大は、参照レベル（非処置病原体における発現）に対して約2倍、約4倍、約5倍、約10倍、約20倍、約25倍、約50倍、約75倍又は約100倍以上の発現増大である。

10

20

【0286】

一部の例では、核酸は、アンチセンスRNA、siRNA、shRNA、miRNA、aiRNA、PNA、モルホリノ、LNA、piRNA、リボザイム、DNAzyme、アプタマー（DNA、RNA）、circRNA、gRNA又は病原体において酵素（代謝酵素、リコンビナーゼ酵素、ヘリカーゼ酵素、インテグラーゼ酵素、RNAse酵素、DNAse酵素、ポリメラーゼ酵素、ユビキチン化タンパク質、スーパーオキシド管理酵素若しくはエネルギー生産酵素）の発現を低減するDNA分子（例えば、アンチセンスポリヌクレオチド）、転写因子、分泌タンパク質、構造因子（アクチン、キネシン若しくはチューブリン）、リボタンパク質、タンパク質アプタマー、シャペロン、受容体、シグナル伝達リガンド又は輸送因子である。一部の例では、病原体における発現の低減は、参照レベル（非処置病原体における発現）に対して約5%、10%、15%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%、100%若しくは100%超の発現低減である。一部の例では、病原体における発現の低減は、参照レベル（例えば、非処置病原体における発現）に対して約2倍、約4倍、約5倍、約10倍、約20倍、約25倍、約50倍、約75倍又は約100倍以上の発現低減である。

30

【0287】

RNAi分子は、標的遺伝子の全部又は断片と実質的に相補的であるか又は完全に相補的な配列を含む。RNAi分子は、イントロンとエキソンとの間の境界における配列を補足して、転写のためにmRNAへの特定の遺伝子の新しく生成されたRNA転写物の成熟を阻止し得る。特定の遺伝子と相補的なRNAi分子は、標的遺伝子のmRNAとハイブリダイズして、その翻訳を阻止することができる。アンチセンス分子は、DNA、RNA又はその誘導体若しくはハイブリッドであり得る。こうした誘導体分子の例として、限定はされないが、ペプチド核酸（PNA）及びデオキシリボ核酸グアニジン（DNG）又はリボ核酸グアニジン（RNG）などのホスホロチオエートベースの分子が挙げられる。

40

【0288】

RNAi分子は、インビトロで合成された直ちに使用可能なRNAとして又は転写時にRNAi分子を産生する細胞にトランスフェクトされたアンチセンス遺伝子として提供することができる。mRNAとのハイブリダイゼーションにより、RNAse Hによるハイブリダイズ分子の分解及び／又は翻訳複合体の形成の阻害が起こる。いずれによっても、起源遺伝子の産物の生産ができなくなる。

50

【0289】

目的の転写物にハイブリダイズするRNAi分子の長さは、約10ヌクレオチド、約15～30ヌクレオチド又は約15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30ヌクレオチド若しくはそれを超える長さであり得る。標的転写物に対するアンチセンス配列の同一性の程度は、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%又は少なくとも95であり得る。

【0290】

RNAi分子は、オーバーハング、即ち典型的に不對の突出したヌクレオチドも含み得、これらは、本明細書で定義するセンス鎖対及びアンチセンス鎖対のコア配列によって通常形成される二重螺旋構造に直接関与しない。RNAi分子は、センス鎖及びアンチセンス鎖の各々とは独立に、約1～5塩基の3'及び／又は5'オーバーハングを含有し得る。一部の例では、センス鎖及びアンチセンス鎖の両方が、3'及び5'オーバーハングを含有する。一部の例では、一方の鎖塩基の1つ以上の3'オーバーハングヌクレオチドは、他方の鎖の1つ以上の5'オーバーハングヌクレオチドと対合する。他の例では、一方の鎖塩基の1つ以上の3'オーバーハングヌクレオチドは、他方の鎖の1つ以上の5'オーバーハングヌクレオチドと対合しない。RNAi分子のセンス及びアンチセンス鎖は、同数のヌクレオチド塩基を含んでも又は含まなくてもよい。アンチセンス及びセンス鎖は、5'末端のみが平滑末端を有するか、3'末端のみが平滑末端を有するか、5'及び3'末端の両方が平滑末端であるか、又は5'及び3'末端のいずれも平滑末端ではないデュプレックスを形成し得る。別の例では、オーバーハング中の1つ以上のヌクレオチドは、チオリン酸エステル、ホスホロチオエート、デオキシヌクレオチド逆位(3'-3'結合)ヌクレオチドを含むか、又は修飾リボヌクレオチド若しくはデオキシヌクレオチドである。

【0291】

低分子干渉RNA(sRNA)分子は、標的mRNAの約15～約25の連続的ヌクレオチドと同一のヌクレオチド配列を含む。一部の例では、sRNA配列は、ジヌクレオチドAAで開始し、約30～70%(約30～60%、約40～60%又は約45～55%)のGC含量を含み、例えば標準的BLAST検索により決定される通り、それを導入しようとするゲノム中の標的以外のいずれのヌクレオチド配列に対しても高い同一性パーセンテージを含まない。

【0292】

sRNA及びshRNAは、内在性マイクロRNA(miRNA)遺伝子のプロセッシング経路における中間体と類似している(Bartel, Cell 116:281-297, 2004)。一部の例では、sRNAは、miRNAとして機能することができ、逆も同様である(Zeng et al., Mol. Cell 9:1327-1333, 2002; Doench et al., Genes Dev. 17:438-442, 2003)。外性sRNAは、sRNAに対してシード相補性を有するmRNAを下方制御する(Birmingham et al., Nat. Methods 3:199-204, 2006)。3'UTR内の複数の標的部位は、より強力な下方制御をもたらす(Doench et al., Genes Dev. 17:438-442, 2003)。

【0293】

既知の有効なsRNA配列及び同種結合部位も関連文献に詳細に記載されている。RNAi分子は、容易に設計され、当技術分野において公知の技術により作製される。加えて、有効且つ特異的な配列モチーフを見出す機会を高める計算ツールもある(Pei et al., Nat. Methods 3(9):670-676, 2006; Reynolds et al., Nat. Biotechnol. 22(3):326-330, 2004; Khvorova et al., Nat. Struct. Biol. 10(9):708-712, 2003; Schwarz et al., Cell 115(2):199-208, 2003; Ui-Tei et al., Nucleic Acids Res. 32(3):936-948, 2004; Heale et al., Nucleic Acids Res. 33(3):e30, 2005; Chalk et al., B

iochem. Biophys. Res. Commun. 319 (1) : 264-274, 2004; 及び *Amarzguioui et al., Biochem. Biophys. Res. Commun.* 316 (4) : 1050-1058, 2004)。

【0294】

RNAi分子は、遺伝子によりコードされるRNAの発現を調節する。複数の遺伝子が、互いにある程度の配列相同性を共有できることから、一部の例では、RNAi分子は、十分な配列相同性を有する遺伝子のクラスを標的とするように設計することができる。一部の例では、RNAi分子は、異なる遺伝子標的の間で共有されるか、又は特定の遺伝子標的についてユニークな配列に対して相補性を有する配列を含み得る。一部の例では、RNAi分子は、いくつかの遺伝子同士で相同性を有するRNA配列の保存領域を標的とし、それにより遺伝子ファミリー内のいくつかの遺伝子（例えば、異なる遺伝子アイソフォーム、スプライス変異体、突然変異遺伝子など）を標的とするように設計することができる。一部の例では、RNAi分子は、単一の遺伝子の特定のRNA配列に対してユニークな配列を標的とするように設計することができる。

10

【0295】

阻害性RNA分子は、例えば、修飾ヌクレオチド、例えば2'-フルオロ、2'-オームチル、2'-デオキシ、アンロックド核酸、2'-ヒドロキシ、ホスホロチオエート、2'-チオウリジン、4'-チオウリジン、2'-デオキシウリジンを含有するように修飾することができる。理論に拘束されるわけではないが、こうした修飾は、ヌクレアーゼ抵抗性及び/又は血清安定性を増大し得るか、又は免疫原性を低減させ得ると考えられる。

20

【0296】

一部の例では、RNAi分子は、生理的に不安定な結合又はリンカーを介して送達ポリマーに連結される。生理的に不安定なリンカーは、それが特定の生理的条件下で存在するとき、化学変換（例えば、切断）を被るように選択される（例えば、ジスルフィド結合は、細胞質の還元的環境で切断される）。生理的に不安定な結合の切断によるポリマーからの分子の放出は、活動のために適切な細胞構成要素とその分子の相互作用を促進する。

【0297】

RNAi分子-ポリマーコンジュゲートは、ポリマーと分子を共有結合させることによって形成され得る。ポリマーは、それが反応性基Aを含有するように重合又は修飾される。RNAi分子は、それが反応性基Bを含有するようにも重合又は修飾される。反応性基A及びBは、当技術分野で公知の方法を用いて、それらが可逆的共有結合を介して連結され得るように選択される。

30

【0298】

RNAi分子とポリマーの共役は、過剰のポリマーの存在下で実施することができる。RNAi分子とポリマーは、共役の間に反対電荷となり得るため、過剰ポリマーの存在により、コンジュゲートの凝集を低減又は排除することができる。代わりに、ポリカチオンなどの過剰の担体ポリマーを使用することもできる。過剰ポリマーは、コンジュゲートの投与前に共役ポリマーから除去することができる。代わりに、過剰ポリマーは、コンジュゲートと一緒に同時投与することもできる。

【0299】

母昆虫への二本鎖RNA (dsRNA) の注入により、胚形成中のそれらの子孫の遺伝子発現を効率的に抑制する。例えば、*Khila et al., PLoS Genet.* 5 (7) : e1000583, 2009; 及び *Liu et al., Development* 131 (7) : 1515-1527, 2004を参照されたい。*Matsuura et al. (PNAS 112 (30) : 9376-9381, 2015)* は、Ubxの抑制により、バクテリオサイト及びバクテリオサイトの共生体局在化が排除されることを明らかにしている。

40

【0300】

リボザイム、RNAse P、siRNA及びmiRNAなどのノンコーディングRNAに基づく阻害剤の作製及び使用も、例えば、*Sioud, RNA Therapeut*

50

ics: Function, Design, and Delivery (Methods in Molecular Biology). Humana Press (2010)に記載されているように、当技術分野で公知である。

【0301】

(d) 遺伝子編集

本明細書に記載の病原体防除組成物は、遺伝子編集系の1要素を含み得る。例えば、薬剤は、病原体における1遺伝子に改変（例えば、挿入、欠失（例えば、ノックアウト）、転座、反転、単一点突然変異又は他の突然変異）を導入することができる。例示的な遺伝子編集系として、亜鉛フィンガーヌクレアーゼ（ZFN）、転写アクチベータ様エフェクターベースのヌクレアーゼ（TALEN）及びクラスター化され規則的に間隔を置いた短鎖回文配列反復（CRISPR）系が挙げられる。ZFN、TALEN及びCRISPRに基づく方法は、例えば、Gaj et al., Trends Biotechnol. 31 (7): 397-405, 2013に記載されている。

【0302】

典型的なCRISPR/Cas系では、一本鎖若しくは二本鎖DNA配列を標的とする配列特異的、ノンコーディングガイドRNAにより、エンドヌクレアーゼは、標的ヌクレオチド配列（例えば、配列編集しようとするゲノム内の部位）に向けられる。3つのクラス（I~III）のCRISPR系が同定されている。クラスII CRISPR系は、単一のCasエンドヌクレアーゼ（複数のCasタンパク質ではなく）を使用する。1つのクラスII CRISPR系は、Cas9などのII型Casエンドヌクレアーゼ、CRISPR RNA (crRNA) 及びトランス-活性化型crRNA (tracrRNA) を含む。crRNAは、ガイドRNA、即ち典型的には標的DNA配列に対応する約20ヌクレオチドRNA配列を含有する。crRNAは、tracrRNAに結合する領域も含んで、RNase IIIにより切断される部分的二本鎖構造を形成し、crRNA/tracrRNAハイブリッドをもたらす。RNAは、Casタンパク質を指令して、スペーサ配列に応じて、特定のDNA/RNA配列を抑制するガイドの役割を果たす。例えば、Horvath et al., Science 327: 167-170, 2010; Makarova et al., Biology Direct 1: 7, 2006; Pennisi, Science 341: 833-836, 2013を参照されたい。標的DNA配列は、一般に、所与のCasエンドヌクレアーゼに対して特異的なプロトスペーサ隣接モチーフ（PAM）に隣接していなければならないが；PAM配列は、所与のゲノム全体を通して出現する。種々の原核生物種から同定されたCRISPRエンドヌクレアーゼは、ユニークなPAM配列要件を有し；PAM配列の例として、5'-NGG（配列番号78）（化膿レンサ球菌（Streptococcus pyogenes））、5'-NNAGAA（配列番号79）（ストレプトコッカス・サーモフィラス（Streptococcus thermophilus）CRISPR1）、5'-NGGNG（配列番号80）（ストレプトコッカス・サーモフィラス（Streptococcus thermophilus）CRISPR3）及び5'-NNNGATT（配列番号81）（髄膜炎菌（Neisseria meningitidis））が挙げられる。いくつかのエンドヌクレアーゼ、例えばCas9エンドヌクレアーゼは、グリッチP（の5'側）AM部位、例えば5'-NGG（配列番号78）と結合して、PAM部位から3ヌクレオチド上流の位置で標的DNAの平滑末端切断を実施する。別のクラスII CRISPR系は、V型エンドヌクレアーゼCpf1を含み、これは、Cas9より小さく；例として、AsCpf1（アシダミノコッカス属（Acidaminococcus）種由来）及びLbCpf1（ラクノスピラ科種（Lachnospiraceae sp.）由来）が挙げられる。Cpf1結合CRISPRアレイは、tracrRNAの要件なしに成熟型crRNAにプロセッシングされ；言い換えれば、Cpf1系は、標的DNA配列を切断するために、Cpf1ヌクレアーゼ及びcrRNAのみを必要とする。Cpf1エンドヌクレアーゼは、トリッチPAM部位、例えば5'-TTNと結合している。Cpf1は、5'-CTA PAMモチーフも認識する。Cpf1は、4'-若しくは5'-ヌクレオチド5'オ

10

20

30

40

50

オーバーハングを含むオフセット又はスタグガード二本鎖切断を導入することによりDNAを切断し、例えばコーディング鎖のPAM部位（の3'側）から18ヌクレオチド下流及び相補鎖のPAM部位から23ヌクレオチド下流に位置する5-ヌクレオチドオフセット又はスタグガード切断で標的DNAを切断し、こうしたオフセット切断から生じる5-ヌクレオチドオーバーハングは、相同組換えによるDNA挿入により、平滑末端切断DNAでの挿入によるものよりも正確なゲノム編集を可能にする。例えば、Zetsche et al., Cell 163:759-771, 2015を参照されたい。

【0303】

遺伝子編集の目的で、所望の標的DNA配列に対応する1つ又は複数のガイドRNA配列を含有するように、CRISPRアレイを設計することができる；例えば、Cong et al., Science 339:819-823, 2013; Ran et al., Nature Protocols 8:2281-2308, 2013を参照されたい。Cas9によりDNA切断を起こすためには、gRNA配列の少なくとも約16又は17ヌクレオチドが必要であり；Cpf1の場合、検出可能なDNA切断を実施するために、gRNA配列の少なくとも約16ヌクレオチドが必要である。実際に、ガイドRNA配列は、概して、17~24ヌクレオチド（例えば、19、20若しくは21ヌクレオチド）の長さで、標的とされる遺伝子又は核酸配列との相補性とを有するように設計される。カスタムgRNA作製装置及びアルゴリズムは、有効なガイドRNAの設計に使用するために市販されている。遺伝子編集は、キメラシングルスガイドRNA（sgRNA）、即ち天然のcrRNA-tracrRNA複合体を模倣し、tracrRNA（ヌクレアーゼとの結合のため）と少なくとも1つのcrRNA（編集の標的とされる配列にヌクレアーゼを誘導するため）との両方を含有する操作（合成）単一RNA分子を用いても達成されている。また、化学修飾sgRNAも、ゲノム編集に有効であることが実証されており；例えば、Hendel et al., Nature Biotechnol. 985-991, 2015を参照されたい。

【0304】

野生型Cas9は、gRNAが標的とする特定のDNA配列で二本鎖切断（DSB）を生成するが、修飾された機能性を有するいくつかのCRISPRエンドヌクレアーゼが利用可能であり、例えば：Cas9のニッカーゼバージョンは、一本鎖切断のみを生成し；触媒能のないCas9（dCas9）は、標的DNAを切断しないが、立体障害によって転写を妨害する。dCas9は、エフェクターとさらに融合させて、標的遺伝子の発現を抑制（CRISPRi）又は活性化（CRISPRa）することもできる。例えば、Cas9を転写リプレッサ（例えば、KRABドメイン）又は転写アクチベータ（例えば、dCas9-VP64融合）と融合させることができる。FokIヌクレアーゼと融合した触媒能のないCas9（dCas9）（dCas9-FokI）を用いて、2つのgRNAと相同性の標的配列でDSBを生成することができる。例えば、Addgeneリポジトリ（Addgene, 75 Sidney St., Suite 550A, Cambridge, MA 02139; addgene.org/crispr/）に開示され、そこから一般に入手可能な多数のCRISPR/Cas9プラスミドを参照されたい。各々が個別のガイドRNAにより指令される2つの個別の二本鎖切断を導入するダブルニッカーゼCas9は、Ran et al., Cell 154:1380-1389, 2013により、より正確なゲノム編集を達成するものとして記載されている。

【0305】

真核生物の遺伝子を編集するためのCRISPR技術は、米国特許出願公開第2016/0138008 A1号明細書及び同第2015/0344912 A1号明細書並びに米国特許第8,697,359号明細書、同第8,771,945号明細書、同第8,945,839号明細書、同第8,999,641号明細書、同第8,993,233号明細書、同第8,895,308号明細書、同第8,865,406号明細書、同第8,889,418号明細書、同第8,871,445号明細書、同第8,889,356号明細書、同第8,932,814号明細書、同第8,795,965号明細書及び同第8,

10

20

30

40

50

906, 616号明細書に開示されている。Cpf1エンドヌクレアーゼ及び対応するガイドRNA並びにPAM部位は、米国特許出願公開第2016/0208243 A1号明細書に開示されている。

【0306】

一部の例では、所望のゲノム修飾は、相同組換えを含み、この場合、RNA誘導ヌクレアーゼ及びガイドRNAにより、標的ヌクレオチド配列に1つ以上の二本鎖DNA切断が生成された後、相同組換え機構を用いた切断の修復（相同組換え修復）が起こる。こうした例では、二本鎖切断において挿入又はノックインしようとする所望のヌクレオチド配列をコードするドナーテンプレートが、細胞又は対象に提供され；好適なテンプレートの例として、一本鎖DNAテンプレート及び二本鎖DNAテンプレート（例えば、本明細書に記載のポリペプチドに連結される）が挙げられる。一般に、約50ヌクレオチド未満の領域にわたってヌクレオチド変更をコードするドナーテンプレートは、一本鎖DNAの形態で提供され；より大きいドナーテンプレート（例えば、100ヌクレオチド超）は、多くの場合、二本鎖DNAプラスミドとして提供される。一部の例では、ドナーテンプレートは、所望の相同組換え修復を達成するのに十分であるが、所与の期間後（例えば、1つ以上の細胞分裂周期後）、細胞又は対象において持続しない量で細胞又は対象に供給される。一部の例では、ドナーテンプレートは、少なくとも1つ、少なくとも5つ、少なくとも10、少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50又はそれを超えるヌクレオチドだけ標的ヌクレオチド配列と異なるコアヌクレオチド配列（例えば、相同的内在性ゲノム領域）を有する。このコア配列は、標的ヌクレオチド配列と高い配列同一性の相同性アーム又は領域によってフランキングされ；一部の例では、高い配列同一性の領域は、コア配列の両側に少なくとも10、少なくとも50、少なくとも100、少なくとも150、少なくとも200、少なくとも300、少なくとも400、少なくとも500、少なくとも600、少なくとも750又は少なくとも1000ヌクレオチドを含む。ドナーテンプレートが一本鎖DNAの形態である一部の例では、コア配列は、コア配列の両側で、少なくとも10、少なくとも20、少なくとも30、少なくとも40、少なくとも50、少なくとも60、少なくとも70、少なくとも80又は少なくとも100ヌクレオチドを含む相同性アームによりフランキングされる。ドナーテンプレートが二本鎖DNAの形態である一部の例では、コア配列は、コア配列の両側で、少なくとも500、少なくとも600、少なくとも700、少なくとも800、少なくとも900又は少なくとも1000ヌクレオチドを含む相同性アームによりフランキングされる。一例では、ダブルニッカーゼCas9を用いて、2つの個別の二本鎖切断を細胞又は対象の標的ヌクレオチド配列に導入した（Ran et al., Cell 154:1380-1389, 2013を参照されたい）後、ドナーテンプレートの送達が行われる。

【0307】

一部の例では、組成物は、gRNAと標的ヌクレアーゼ、例えばCas9、例えば野生型Cas9、ニッカーゼCas9（例えば、Cas9D10A）、不活性型Cas9（dCas9）、eSpCas9、Cpf1、C2C1若しくはC2C3又はこうしたヌクレアーゼをコードする核酸を含む。ヌクレアーゼ及びgRNAの選択は、標的突然変異が、ヌクレオチドの欠失、置換又は付加、例えば標的配列へのヌクレオチドの欠失、置換又は付加であるかどうかによって決定される。（1つ以上の）エフェクタードメインの全部又は一部（例えば、生物学的に活性の部分）とテザリングした触媒能のないエンドヌクレアーゼ、例えば不活性型Cas9（dCas9、例えばD10A；H840A）の融合により、キメラタンパク質を作出し、これをポリペプチドと連結させて、1つ以上のRNA配列（sgRNA）により組成物を特定のDNA部位に誘導して、1つ以上の標的核酸配列の活性及び／又は発現を調節することができる。

【0308】

複数の例では、薬剤は、遺伝子編集の目的でCRISPR系に使用するガイドRNA（gRNA）を含む。一部の例では、薬剤は、ジンクフィンガーヌクレアーゼ（ZFN）又は病原体における1遺伝子の核酸配列（例えば、DNA配列）をターゲティング（例えば

10

20

30

40

50

、切断)するZFNをコードするmRNAを含む。一部の例では、薬剤は、TALEN又は病原体における1遺伝子の核酸配列(例えば、DNA配列)をターゲティング(例えば、切断)するTALENをコードするmRNAを含む。

【0309】

例えば、CRISPR系にgRNAを使用して、病原体における遺伝子の改変を操作することができる。他の例では、ZFN及び／又はTALENを用いて、病原体における遺伝子の改変を操作することができる。例示的な改変として、挿入、欠失(例えば、ノックアウト)、転座、反転、単一点突然変異又は他の突然変異が挙げられる。改変は、細胞の遺伝子に例えばインビトロ、エクスピボ又はインビボで導入することができる。一部の例では、改変は、病原体における遺伝子のレベル及び／又は活性を増大する。他の例では、改変は、病原体における遺伝子のレベル及び／又は活性を低減させる(例えば、ノックダウン若しくはノックアウトする)。また別の例では、改変は病原体における遺伝子の欠陥(例えば、欠陥を引き起こす突然変異)を修正する。

10

【0310】

一部の例では、CRISPR系を用いて、病原体における標的遺伝子を編集する(例えば、塩基対を付加するか又は欠失させる)。他の例では、CRISPR系を用いて、未成熟終止コドンを導入し、例えばこれにより標的遺伝子の発現を低減する。また別の例では、CRISPR系を用いて、例えばRNA干渉と同様に、可逆的方法で標的遺伝子をオフにする。一部の例では、CRISPR系を用いて、Casを遺伝子のプロモータに向け、これによりRNAポリメラーゼを立体的に遮断する。

20

【0311】

一部の例では、CRISPR系は、例えば、米国特許出願公開第20140068797号明細書、Cong, Science 339:819-823, 2013; Tsai, Nature Biotechnol. 32:6569-576, 2014; 米国特許第8,871,445号明細書; 同第8,865,406号明細書; 同第8,795,965号明細書; 同第8,771,945号明細書; 及び同第8,697,359号明細書に記載される技術を用いて、病原体における遺伝子を編集するように生成することができる。

【0312】

一部の例では、CRISPR干渉(CRISPRi)技術は、病原体の特定の遺伝子の転写抑制のために使用することができる。CRISPRiの場合、操作Cas9タンパク質(例えば、ヌクレアーゼ-ヌルdCas9又はdCas9融合タンパク質、例えばdCas9-KRAB若しくはdCas9-SID4X融合物)を配列特異的ガイドRNA(sgRNA)と対合させることができる。Cas9-gRNA複合体は、RNAポリメラーゼを遮断することができ、それにより、転写伸長を妨害する。この複合体は、転写因子結合を妨害することにより、転写開始も遮断することができる。CRISPRi法は、最小オフターゲット効果を固有に有し、且つマルチプレクサブル(multiplexable)であり、例えば同時に2つ以上の遺伝子を抑制することができる(例えば、複数のgRNAを用いて)。また、CRISPRi方法は、可逆的遺伝子抑制も可能にする。

30

【0313】

一部の例では、病原体の遺伝子の転写活性化のために、CRISPR媒介性遺伝子活性化(CRISPRa)を用いることができる。CRISPRa技術では、dCas9融合タンパク質が、転写アクチベータを動員する。例えば、dCas9をVP64又はp65活性化ドメイン(p65D)などのポリペプチド(例えば、活性化ドメイン)と融合させ、sgRNA(例えば、単一のsgRNA又は複数のsgRNA)と一緒に用いて、病原体の1つ又は複数の遺伝子を活性化することができる。複数のsgRNAを用いることにより、複数のアクチベータを動員することができ、これは、活性化効率を高め得る。様々な活性化ドメイン及び単一又は複数の活性化ドメインを使用することができる。アクチベータを動員するためにdCas9を操作する以外に、sgRNAも、アクチベータを動員するように操作することができる。例えば、RNAアプタマーをsgRNAに組み込むこ

40

50

とにより、VP64などのタンパク質（例えば、活性化ドメイン）を導入することができる。一部の例では、転写活性化のために相乗的活性化メディエータ（SAM）系を用いることができる。SAMでは、MS2アプタマーをsgRNAに付加する。MS2は、p65AD及びヒートショック因子1（HSF1）と融合したMS2コートタンパク質（MCP）を動員する。

【0314】

CRISPRi及びCRISPRa技術について、さらに詳細には、Dominguez et al., Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 17:5-15, 2016（参照により本明細書に組み込まれる）に記載されている。加えて、Dominguez et al., に記載されているように、dCas9媒介性のエピジェネティクス修飾並びに同時活性化及びCRISPR系による抑制を用いて、病原体における遺伝子を調節することができる。

【0315】

iii. 小分子

一部の例では、病原体防除組成物は、小分子、例えば生体小分子を含む。本明細書に記載される方法及び組成物において多数の小分子剤が有用である。

【0316】

小分子としては、限定されないが、低分子ペプチド、ペプチド模倣薬（例えば、ペプチド）、アミノ酸、アミノ酸類似体、合成ポリヌクレオチド、ポリヌクレオチド類似体、ヌクレオチド、ヌクレオチド類似体、一般に、1モル当たり約5,000グラム未満の分子量を有する有機及び無機化合物（ヘテロ有機及び有機金属化合物を含む）、例えば1モル当たり約2,000グラム未満の分子量を有する有機及び無機化合物、例えば1モル当たり約1,000グラム未満の分子量を有する有機及び無機化合物、例えば1モル当たり約500グラム未満の分子量を有する有機及び無機化合物並びにこうした化合物の塩、エステル及び他の薬学的に許容可能な形態を含む。

【0317】

本明細書に記載される小分子は、本明細書に記載の病原体防除組成物又はその関連方法のいずれかのために、組成物に配合するか又はPMPと結合させることができる。本明細書に開示される組成物は、任意の数又は種類（例えば、クラス）の小分子、例えば少なくとも約1つの、2、3、4、5、10、15、20若しくはそれを超える小分子を含み得る。組成物中の各小分子の好適な濃度は、小分子の有効性、安定性、個別の小分子の数、配合及び組成物の適用方法などの要因に応じて変動する。組成物が少なくとも2種類の小分子を含有する一部の例では、各種小分子の濃度は、同じであるか又は異なり得る。

【0318】

本明細書に記載の小分子を含む病原体防除組成物は、（a）病原体又はそのベクター内部又は上で標的レベル（例えば、所定又は閾値レベル）の小分子濃度を達成し；且つ（b）病原体の適応度を低減させるのに十分な量及び時間で病原体又はそのベクターと接触させることができる。

【0319】

一部の例では、本明細書に記載の小分子を含む病原体防除組成物は、（a）動物体内で標的レベル（例えば、所定又は閾値レベル）の小分子濃度を達成し；且つ（b）病原体を低減又は排除するのに十分な量及び時間で、病原体による感染を有するか又はそのリスクがある動物に投与することができる。

【0320】

一部の例では、本明細書に記載される組成物及び方法の病原体防除組成物は、二次代謝物を含む。二次代謝物は、生物により産生される有機分子に由来する。二次代謝物は、（i）細菌、真菌、アメーバ、植物、昆虫及び大型動物に対して使用される競合物質として；（ii）金属輸送剤として；（iii）微生物と植物、昆虫及び高等動物との間の共生用物質として；（iv）性ホルモンとして；並びに（v）分化エフェクターとして作用し得る。

【0321】

本明細書で使用される二次代謝物は、二次代謝物の任意の既知群からの代謝物を含み得る。例えば、二次代謝物は、次の群に分類することができる：アルカロイド、テルペノイド、フラボノイド、グリコシド、天然フェノール（例えば、ゴシポール酢酸）、エナール（例えば、トランス-シンナムアルデヒド）、フェナジン、ピフェノール及びジベンゾフラン、ポリケチド、脂肪酸シスターゼペプチド、非リボソームペプチド、リボソームにより合成されて、翻訳後修飾されたペプチド、ポリフェノール、多糖（例えば、キトサン）及びバイオポリマー。二次代謝物の詳細な論評については、例えば、Vining, Annu. Rev. Microbiol. 44:395-427, 1990を参照されたい。

【0322】

VI. キット

本発明は、動物病原体に起因する疾患の防除、予防若しくは処置又はそうした病原体のベクターの防除のためのキットも提供し、このキットは、本明細書に記載の病原体防除組成物を有する容器を含む。キットは、本発明の方法に従って感染を防除、予防又は処置するための病原体防除組成物を適用又は送達する（例えば、動物、動物病原体又は動物病原体のベクターに）ための教材をさらに含み得る。当業者は、本発明の方法で病原体防除組成物を適用する上での説明が任意の形態の説明であり得ることを理解するであろう。こうした指示として、限定されないが、文書教材（例えば、ラベル、冊子、パンフレット）、口述教材（例えば、カセットテープ若しくはCD）又はビデオ教材（例えば、ビデオテープ若しくはDVD）が挙げられる。

【実施例】

【0323】

以下は、本発明の方法の例である。上に提供した概説を考慮して、他の様々な実施形態が実施され得ることが理解される。

【0324】

実施例1：植物からの植物メッセンジャーパックの単離

この実施例は、葉アポプラスト、種子アポプラスト、根、果実、野菜、花粉、師管液、木部樹液及び植物細胞培地を含め、様々な植物起源からの粗植物メッセンジャーパック（PMP）の単離を説明する。

【0325】

実験計画：

a) シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) 葉のアポプラストからのPMP単離

シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) (シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* Cl-0)) 種子を50%漂白剤で表面滅菌した後、0.8%寒土を含有する0.53ムラシゲスクーグ培地上に平板培養する。これらの種子を4℃で2日間春化処置した後、短日条件（明期9h、22℃、150 $\mu\text{E m}^{-2}$ ）に移す。1週間後、苗をPro-Mix PGXに移す。植物を4~6週間成長させた後、収穫する。

【0326】

Rutter and InnesによりPlant Physiol. 173 (1): 728-741, 2017に記載されているように、4~6週齢のシロイヌナズナ (*Arabidopsis*) ロゼットのアポプラスト洗浄液からPMPを単離する。手短には、全ロゼットを根から収穫し、小胞単離バッファー（20mM MES、2mM CaCl_2 及び0.1 M NaCl、pH6）と一緒に真空浸潤する。浸潤した植物を注意深くブロットして、余剰の液体を除去し、30mLシリンジ内に導入してから、50mL円錐チューブにおいて2℃で20分間遠心分離することにより、EVを含有するアポプラスト細胞外液を収集する。次に、アポプラスト細胞外液を0.85 μm フィルタで濾過することにより、大きい粒子を除去した後、実施例2に記載するように、PMPを精製する。

【0327】

b) ヒマワリ種子のアポプラストからのPMP単離

インタクトなヒマワリ種子（ヒマワリ（*H. annuus* L.）に水を2時間吸収させ、皮を剥いで、果皮を除去した後、Regente et al, F E B S L e t t e r s . 5 8 3 : 3 3 6 3 - 3 3 6 6 , 2 0 0 9 から改変した修正真空浸潤-遠心分離手順によりアポプラスト細胞外液を抽出する。手短には、種子を小胞単離バッファ（20 mM M E S , 2 mM C a C l 2 及び 0.1 M N a C l , pH 6）に浸潤させてから、3回の10秒の真空パルスに付し、30秒間隔の45 k P a の圧力により分離する。浸潤した種子を回収し、濾紙上で乾燥させ、フリットガラス濾過器に配置し、4℃、400 g で20分間遠心分離する。アポプラスト細胞外液を回収し、0.85 μm フィルタで濾過することにより、大きい粒子を除去した後、実施例2に記載するように、PMPを精製する。

10

【0328】

c) 根生姜からのPMP単離

新鮮な生姜（ショウガ（*Zingiber officinale*））根茎根を現地の供給者から購入し、PBSで3回洗浄する。計200グラムの洗浄済の根をミキサー（Osterizer 12速ブレンダー）により最大速で10分間（ブレンド1分毎に1分の休止）粉砕した後、Zhuang et al., J Extracellular Vesicles. 4 (1): 28713, 2015に記載されているように、PMPを単離する。手短には、生姜汁を1,000 g で10分、3,000 g で20分及び10,000 g で40分と順次遠心分離することにより、PMP含有上清から大きい粒子を除去する。実施例2に記載のように、PMPを精製する。

20

【0329】

d) グレープフルーツ果汁からのPMP単離

新鮮なグレープフルーツ（グレープフルーツ（*Citrus x paradisi*））を現地の供給者から購入し、その皮を除去し、Wang et al., Molecular Therapy. 22 (3): 522-534, 2014に記載されているように（若干の修正を加えた）、果実を手で圧搾するか、又はミキサー（Osterizer 12速ブレンダー）により最大速で10分間（ブレンド1分毎に1分の休止）粉砕することにより、果汁を収集する。手短には、果汁/果汁パルプを1,000 g で10分、3,000 g で20分及び10,000 g で40分と順次遠心分離することにより、PMP含有上清から大きい粒子を除去する。実施例2に記載のように、PMPを精製する。

30

【0330】

e) ブロッコリーヘッドからのPMP単離

ブロッコリー（ブロッコリー（*Brassica oleracea* var. *italica*））PMPは、以前記載されている（Deng et al., Molecular Therapy, 25 (7): 1641-1654, 2017）ように単離する。手短には、新鮮なブロッコリーを現地の供給者から購入し、PBSで3回洗浄してから、ミキサー（Osterizer 12速ブレンダー）により最大速で10分間（ブレンド1分毎に1分の休止）粉砕する。次に、ブロッコリー汁を1,000 g で10分、3,000 g で20分及び10,000 g で40分と順次遠心分離することにより、PMP含有上清から大きい粒子を除去する。実施例2に記載のように、PMPを精製する。

40

【0331】

f) オリーブ花粉からのPMP単離

オリーブ（オリーブ（*Olea europaea*））花粉PMPは、Prado et al., Molecular Plant. 7 (3): 573-577, 2014に以前記載されているように単離する。手短には、オリーブ花粉（0.1 g）を室温の加湿チャンバー内で30分間水和した後、20 ml の発芽培地：10%ショ糖、0.03% Ca (NO₃)₂、0.01% KNO₃、0.02% MgSO₄ 及び 0.03% H₃BO₃ を含有するペトリ皿（直径15 cm）に移す。花粉を30℃の暗所において16 h 発芽させる。花粉粒は、チューブが花粉粒の直径より長くなったときに初めて発芽したとみなされる。PMPを含有する培地を収集し、遠心分離による0.85 μm フィルタでの2回の連続濾

50

過によって花粉残屑を除去する。実施例2に記載のように、PMPを精製する。

【0332】

g) シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) 師管液からのPMP単離

シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) (シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana* Col-0)) 種子を50%漂白剤で表面滅菌した後、0.8%寒天を含有する0.53μラシゲスクーグ培地上に平板培養する。これらの種子を4℃で2日間春化処置した後、短日条件(明期9h、22℃、150μEm⁻²)に移す。1週間後、苗をPro-Mix PGXに移す。植物を4~6週間成長させた後、収穫する。

【0333】

Tetyuk et al. により、Jove. 80, 2013に記載されているように、4~6週齢のシロイヌナズナ (*Arabidopsis*) ロゼット葉からの師管液を収集する。手短には、葉柄の基部から葉を切断し、重ねてから、創傷の封止を防ぐために、20mM K₂-EDTAを含有する反応チューブ内に暗所で1時間配置する。葉を容器から穏やかに取り出し、蒸留水で入念に洗浄し、全てのEDTAを除去して、清浄なチューブ内に配置した後、暗所において師管液を5~8時間かけて収集する。葉を廃棄し、師管液を0.85μmフィルタで濾過して、大きい粒子を除去してから、実施例2に記載するように、PMPを精製する。

【0334】

h) トマト植物木部樹液からのPMP単離

トマト (トマト (*Solanum lycopersicum*)) 種子をSunshine Mix (Sun Gro Horticulture, Agawam, MA) などの有機質土壌の入った単一ポットに植え、22℃~28℃の温室内に維持する。発芽から約2週間後、即ち2本葉期 (two true-leaf stage) に、90%砂及び10%有機物ミックスを含む滅菌砂質土を充填したポット (直径10cm、深さ17cm) に苗を個別に移植する。22℃~28℃の温室内に植物を4週間維持する。

【0335】

Kohlen et Al., Plant Physiology. 155 (2): 721-734, 2011に記載されているように、4週齢のトマト植物からの木部樹液を収集する。手短には、トマト植物の胚軸から上を切断し、プラスチックリングを茎の周りに取り付ける。切断から90分にわたって蓄積する木部樹液を収集する。木部樹液を0.85μmフィルタで濾過して、大きい粒子を除去してから、実施例2に記載するように、PMPを精製する。

【0336】

i) タバコBY-2細胞培地からのPMP単離

30g/Lショ糖、2.0mg/Lのリン酸二水素カリウム、0.1g/Lのミオイノシトール、0.2mg/Lの2,4-ジクロロフェノキシ酢酸及び1mg/LのチアミンHClを補充したMS塩 (Duchefa, Haarlem, Netherlands, #M0221) を含むMS (Murashige and Skoog, 1962) BY-2培地 (pH5.8) 中で、180rpmのシェーカに載せ、タバコBY-2 (タバコ (*Nicotiana tabacum* L cv.) ブライトイエロー2) 細胞を26℃の暗所において培養する。7日齢細胞培養物の5% (v/v) を100mLの新鮮な液体培地に移すことにより、BY-2細胞を毎週二次培養する。72~96時間後、BY-2培地を収集し、4℃、300gで10分間遠心分離することにより、細胞を除去する。PMPを含有する上清を収集し、0.85μmフィルタでの濾過により、残屑を除去する。実施例2に記載するように、PMPを精製する。

【0337】

実施例2: 精製植物メッセンジャーパック (PMP) の生成

この実施例は、サイズ排除クロマトグラフィー、密度勾配 (イオジキサノール若しくはショ糖) と組み合わせて限外濾過及び沈殿又はサイズ排除クロマトグラフィーによる凝集体の除去を用いた、実施例1に記載の粗PMP画分から精製PMPの生成を説明する。

【0338】

実験計画：

a) サイズ排除クロマトグラフィーと組み合わせて限外濾過を用いた精製グレープフルーツPMPの生成

100-kDA分子量カットオフ(MWCO) Amiconスピンフィルタ(Merck Millipore)を用いて、実施例1aからの粗グレープフルーツPMP画分を濃縮する。次に、濃縮した粗PMP溶液をPURE-EVサイズ排除クロマトグラフィーカラム(HansaBioMed Life Sciences Ltd)にロードし、製造者の指示に従って単離する。精製済PMP含有画分を、溶出後プールする。任意選択で、100-kDA MWCO Amiconスピンフィルタを用いて又はタンジェンシャルフロー濾過(TFF)により、PMPをさらに濃縮することもできる。実施例3に記載のように、精製PMPを分析する。

【0339】

b) イオジキサノール勾配を用いた精製シロイヌナズナ(Arabidopsis)アポプラストPMPの生成

実施例1aに記載のように、粗シロイヌナズナ(Arabidopsis)葉アポプラストPMPを単離し、Rutter and Innes, Plant Physiol. 173(1):728-741, 2017に記載されているように、イオジキサノール勾配を使用することにより、PMPを精製する。不連続イオジキサノール勾配(OptiPrep; Sigma-Aldrich)を調製するために、小胞単離バッファー(VIB; 20mM MES、2mM CaCl₂及び0.1 M NaCl、pH6)で水性60% OptiPrepストック溶液を希釈することにより、40%(v/v)、20%(v/v)及び5%(v/v)イオジキサノールの溶液を作製する。勾配は、3mLの40%溶液、3mLの20%溶液、3mLの10%溶液、2mLの5%溶液を積層することにより形成する。実施例1aからの粗アポプラストPMP溶液を4℃、40,000gで60分間遠心分離する。ペレットを0.5mLのVIBに再懸濁させてから、勾配の上部に重ねる。4℃、100,000gで17h遠心分離を実施する。勾配の上部の最初の4.5mLを廃棄した後、アポプラストPMPを含有する0.7mLの3容量を収集し、VIBを用いて3.5mLにして、4℃、100,000gで60分間遠心分離する。ペレットを3.5mLのVIBで洗浄した後、同じ遠心分離条件を用いて再ペレット化する。実施例3に記載の通り、次の分析のために精製PMPペレットを合わせる。

【0340】

c) ショ糖勾配を用いた精製グレープフルーツPMPの生成

実施例1dに記載のように粗グレープフルーツ果汁PMPを単離し、150,000gで90分間遠心分離した後、記載されている(Muet AL., Molecular Nutrition & Food Research. 58(7):1561-1573, 2014)ように、PMP含有ペレットを1mLのPBSに再懸濁させる。再懸濁させたペレットをショ糖ステップ勾配(8%/15%/30%/45%/60%)に移し、150,000gで120分間遠心分離して、精製PMPを生成する。30%/45%界面から精製グレープフルーツPMPを収集し、後に実施例3に記載のように分析する。

【0341】

d) グレープフルーツPMPからの凝集体の除去

実施例1dに記載の通り生成したグレープフルーツPMP又は実施例2a~cからの精製PMPからタンパク質凝集体を除去するために、追加的な精製ステップを加えることができる。生成したPMP溶液を様々なpHに通過させて、溶液中にタンパク質凝集体を沈殿させる。pHは、水酸化ナトリウム又は塩酸の添加により3、5、7、9若しくは11に調節する。校正pHプローブを用いてpHを測定する。溶液が指定のpHに達したら、濾過して粒子を除去する。代わりに、単離したPMP溶液をPolymine-P又はPraestol 2640などの荷電ポリマーの添加により凝結させることもできる。手短には、1L当たり2~5gのPolymine-P又はPraestol 2640を溶液

10

20

30

40

50

に添加し、インペラで混合する。次に、溶液を濾過して、粒子を除去する。代わりに、塩濃度を高めることにより、凝集体を可溶化する。NaClを、1mol/Lに達するまでPMP溶液に添加する。次に、溶液を濾過して、PMPを精製する。代わりに、温度を上昇させることにより、凝集体を可溶化する。単離したPMP混合物を、50℃の均質温度に達するまで混合しながら5分加熱する。次に、PMP混合物を濾過して、PMPを単離する。代わりに、PMP溶液からの可溶性混入物は、標準的方法に従うサイズ排除クロマトグラフィーカラムにより分離するが、その場合、PMPは、第1画分に溶出するのに対して、タンパク質及びリボ核タンパク質及び一部のリポタンパク質は、遅れて溶出される。タンパク質凝集体除去の効率は、BCA/Bradfordタンパク質定量により、タンパク質凝集体の除去前及び後のタンパク質濃度を測定し、比較することにより決定される。生成したPMPは、実施例3に記載のように分析する。

10

【0342】

実施例3：植物メッセンジャーパックの特性決定

この実施例は、実施例1又は実施例2に記載の通りに生成されたPMPの特性決定を説明する。

【0343】

実験計画：

a) PMP濃度の決定

PMP粒子濃度は、Malvern NanoSightを用いるナノ粒子追跡分析（Nanoparticle Tracking Analysis）（NTA）又はiZon qNanoを用いる調整可能抵抗パルスセンシング（TRPS）により、製造者の指示に従って決定する。精製PMPのタンパク質濃度は、DCタンパク質アッセイ（Bio-Rad）の使用により決定する。精製PMPの脂質濃度は、Rutter and InnesによりPlant Physiol. 173（1）：728-741，2017に記載のように、DiOC6（ICN Biomedicals）などの蛍光親油性色素を用いて決定する。手短には、実施例2からの精製PMPペレットをMESバッファー（20mM MES、pH6）で希釈した100mlの10mM DiOC6（ICN Biomedicals）並びに1%植物プロテアーゼ阻害剤カクテル（Sigma-Aldrich）及び2mM 2,29-ジピリジルジスルフィドに再懸濁させる。再懸濁PMPを37℃で10分間インキュベートし、3mLのMESバッファーで洗浄し、再ペレット化し（4℃で、400,000g、60分）、新鮮なMESバッファーに再懸濁させる。DiOC6蛍光強度を485nm励起及び535nm発光で測定する。

20

30

【0344】

b) PMPの生物物理学的及び分子特性決定

Wu et Al., Analyst. 140（2）：386-406，2015のプロトコルに従い、JEOL 1010透過型電子顕微鏡での電子及び低温電子顕微鏡法によりPMPを特性決定する。Malvern Zetasizer又はiZon qNanoを用い、製造者の指示に従ってPMPのサイズ及びゼータ電位も測定する。クロロホルム抽出を用いて、PMPから脂質を単離し、Xiao et al. Plant Cell. 22（10）：3193-3205，2010に説明されているように、LC-MS/MSで特性決定する。グリコシルイノシトールホスホリルセラミド（GIPC）脂質を抽出し、Cacas et al., Plant Physiology. 170：367-384，2016に記載のように精製した後、前述したようにLC-MS/MSにより解析する。Thermo Fisher製のQuant-Itキットを用いて、指示に従い、全RNA、DNA及びタンパク質を特性決定する。Rutter and Innes, Plant Physiol. 173（1）：728-741，2017に記載のプロトコルに従い、PMPのタンパク質をLC-MS/MSにより特性決定する。トリゾール（Trizol）を用いて、RNA及びDNAを抽出し、Illumina製のRibo-Zero Plantキット及びNextera Mate Pair Library Prep Kitを用いて、TruSeq Total RNAを含むライブラリに調製した

40

50

後、製造者の指示に従い、Illumina MiSeqでシーケンシングする。

【0345】

実施例4：植物メッセンジャーパック安定性の特性決定

この実施例は、様々な保存及び生理学的条件下でのPMPの安定性の測定を実証する。

【0346】

実験計画：

実施例1及び2に記載通りに生成したPMPを様々な条件に付す。水、5%ショ糖若しくはPBSにPMPを懸濁させ、-20℃、4℃、20℃及び37℃で1、7、30及び180日間放置する。また、PMPを水に懸濁させ、ロータリエバポレータ装置を用いて乾燥させ、4℃、20℃及び37℃で1、7及び30並びに180日間放置する。また、PMPを水又は5%ショ糖溶液に懸濁させ、液体窒素で急速冷凍後、凍結乾燥させた。1、7、30及び180日後、乾燥及び凍結乾燥PMPを水に再懸濁させる。0℃を超える温度での条件を含む3つの先行実験物は、模擬屋外UV条件での十分な安全性を決定するために、人工太陽光シミュレータにも曝露する。さらには、1単位のトリプシンが添加された若しくは添加されていないpH1、3、5、7及び9の緩衝溶液又は他の人工胃液中で37℃、40℃、45℃、50℃及び55℃の温度に1、6及び24時間PMPを曝露する。

【0347】

これら各々の処理後、PMPを20℃に戻し、pH7.4に中和した後、実施例3に記載の方法の一部又は全部を用いて特性決定する。

【0348】

実施例5：植物メッセンジャーパックによる真菌の処理

この実施例は、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) ロゼットから産生されるPMPが病原真菌の適応度を低減させる能力を実証する。この実施例では、酵母サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) をモデル病原真菌として使用する。

【0349】

カンジダ属 (*Candida*) 種のような病原真菌は、世界的な日和見真菌感染の主要原因であり、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) (「パン用イースト」としても知られる) は、ほとんどが偶発的消化性片利共生生物であると考えられている。しかし、1990年以降、侵襲性感染の病原物質としてのその関与に関する報告が増えている。病原真菌による感染は、主として既存の抗真菌薬の効果が限定されているために、一般的に高い罹患率及び致死率を伴う。

【0350】

治療計画：

シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) アポプラストPMP溶液には、10mLのPBS中0 (陰性対照)、1、10又は50、100及び250 µgの実施例1aからのPMPタンパク質/mLを配合した。

【0351】

実験計画：

a) 親油性膜色素によるアポプラストPMPの標識

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) アポプラストPMPを単離し、実施例1～2に記載の通りに精製した後、PKH26 (Sigma) で、製造者の指示に従い (一部変更して) 標識する。手短には、1mLの希釈物C又はPKH26キット中の50mgのアポプラストPMPを2mLの1mMPKH26と混合し、37℃で5分インキュベートする。1mLの1%BSAの添加により標識を停止する。150,000gで90分間の遠心分離により全ての非標識色素を洗い流し、標識PMPペレットを滅菌水に再懸濁させる。

【0352】

b) サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*)

) によるアポプラストPMPの取込み

サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) は、ATCC (#9763) から取得し、これを製造者の指示に従い、酵母エキスペプトンデキストロースブロス (YPD) において30℃で維持する。S. セレビシエ (*S. cerevisiae*) によるPMPの取込みを決定するために、酵母細胞を選択培地中で0.4~0.6のOD₆₀₀まで増殖させ、0 (陰性対照)、1、10、50、100又は250 µg/mlのPKH26標識アポプラスト由来PMPと一緒にスライドガラス上で直接インキュベートする。PBS対照以外に、S. セレビシエ (*S. cerevisiae*) 細胞をPKH26色素 (最終濃度5 µg/ml) の存在下でインキュベートする。室温で5分、30分及び1hのインキュベーション後、高解像度蛍光顕微鏡で画像を取得する。細胞質中に赤色のPMPが観察されるか、又は酵母細胞の細胞質が、PKH26色素による細胞膜の排他的染色に対して赤く変化すれば、アポプラスト由来PMPは、酵母により取り込まれている。PMP取込みを評価するために、PMP処理細胞とPBS及びPKH26色素単独対照との間において、膜のみの染色に対して、赤色細胞質/細胞質中の赤色PMPを有する酵母細胞のパーセンテージを比較する。

【0353】

c) シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) アポプラストPMP溶液によるインビトロでのS. セレビシエ (*S. cerevisiae*) の処理

酵母細胞の適応度に対するシロイヌナズナ (*Arabidopsis*) アポプラストPMP処理の効果を決定するために、変更を加えた薬剤感受性試験を実施する。S. セレビシエ (*S. cerevisiae*) 細胞 (10⁵細胞/ml) を溶融YPD寒天 (約40℃) と混合し、ペトリ皿に注ぎ込む。寒天の凝固後、5 µlの0 (PBS、陰性対照)、1、10又は50、100及び250 µgのPMPタンパク質/mlの溶液をプレートにスポッティングする。プレートを30℃でインキュベートし、2及び3日後に阻害ゾーン (濃い円) を評点する。

【0354】

さらに、酵母増殖に対するPMPの効果を評価するために、スポット試験を実施する。S. セレビシエ (*S. cerevisiae*) 細胞をYPD培地上で一晩培養する。次に、細胞を0.1のOD₆₀₀まで通常の塩水中に懸濁させる (A₆₀₀)。各酵母培養物の5倍連続希釈物の5マイクロリットルをPMPの非存在下 (PBS対照) 及び1、10、50、100又は250 µg PMPタンパク質/mlの存在下でYPDプレート上にスポッティングする。30℃で48hにわたるプレートのインキュベーション後、増殖の差を記録する。

【0355】

PBS対照とPMP処理真菌細胞との間で阻害ゾーン及び増殖の差を比較することにより、真菌適応度に対するシロイヌナズナ (*Arabidopsis*) アポプラストPMPの全体的効果を決定する。

【0356】

実施例6：植物メッセンジャーパックによる細菌の処理

この実施例は、シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) ロゼットからの精製アポプラストPMPが、細菌により取り込まれ、且つ病原菌である大腸菌 (*Escherichia coli*) の適応度を低減させる能力を実証する。この実施例では、大腸菌 (*E. coli*) をモデル病原菌として使用する。

【0357】

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、サルモネラ属 (*Salmonella*) 及び大腸菌 (*E. coli*) などの病原菌によりトリガーされるヒト及び動物疾患は、既存の抗真菌薬の効果が限定されており、且つそれらに対する耐性が増大しているため、相当の罹患率及び致死率を招く。

【0358】

治療計画：

10

20

30

40

50

シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) アポブラストPMP溶液には、10mlの滅菌水中0 (陰性対照)、1、10、50、100又は250 μg のPMPタンパク質/mlを配合する。

【0359】

a) 親油性膜色素によるアポブラストPMPの標識

シロイヌナズナ (*Arabidopsis thaliana*) アポブラストPMPは、実施例1～2に記載の通りに生成したPMPであり、これらをPKH26 (Sigma) で製造者の指示に従って (一部変更して) 標識する。手短には、1mlの希釈物Cで50mgのPMPを希釈し、2mlの1mM PKH26と混合し、37℃で5分インキュベートする。1mlの1% BSAの添加により標識を停止する。150,000gで90分間の遠心分離により非標識色素を全て洗い流し、標識PMPペレットを滅菌水に再懸濁させた後、実施例3に記載の通り分析する。

【0360】

b) 大腸菌 (*E. coli*) によるアポブラストPMPの取込み

大腸菌 (*E. coli*) は、ATCC (#25922) から取得し、これを製造者の指示に従って37℃においてトリプチケースソイ寒天培地/ブロス上で増殖させる。大腸菌 (*E. coli*) によるPMP取込みを決定するために、1mlの一晩細菌懸濁液10ulを0 (陰性対照)、1、10、50、100又は250 μg /mlのPKH26標識アポブラスト由来PMPと一緒にスライドガラス上で直接インキュベートする。水対照以外に、大腸菌 (*E. coli*) をPKH26色素 (最終濃度5 μg /ml) の存在下でインキュベートする。室温で5分、30分及び1hのインキュベーション後、高解像度蛍光顕微鏡で画像を取得する。細菌の細胞質が、PKH26色素による細胞膜の排他的染色に対して赤く変化すれば、アポブラストPMPは、細菌により取り込まれている。PMP取込みを判定するために、PBS及びPKH26色素単独による対照処理と比較して、赤色の細胞質を有するPKH26-PMP処理細菌のパーセンテージを比較する。

【0361】

c) シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) アポブラストPMP溶液によるインビトロでの大腸菌 (*E. coli*) の処理

シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) アポブラストPMPが大腸菌 (*E. coli*) の増殖に作用する能力は、変更を加えた標準的ディスク拡散感受性法を用いて決定する。手短には、非選択性培地上での一晩増殖 (16～24hのインキュベーション) からいくつかの形態学的に類似するコロニーを、滅菌ループ又は綿棒を用いて選択した後、コロニーを滅菌塩水 (水中0.85% NaCl w/v) 中にMcFarland 0.5標準の密度 (約 $1 \sim 2 \times 10^8$ CFU/mlに相当) まで懸濁させることにより、大腸菌 (*E. coli*) 接種材料懸濁液を調製する。滅菌綿棒を接種材料懸濁液に浸漬し、綿棒から余剰の液体を除去した後、綿棒で3方向に塗布することにより、細菌を寒天プレートの表面全体に均一に広げることにより、ミュラー-ヒントン寒天培地プレート (直径150mm) に大腸菌 (*E. coli*) 懸濁液を接種する。次に、3ulの水 (陰性対照)、1、10、50、100又は250 μg のPMPタンパク質/mlをプレートにスポッティングし、乾燥させる。プレートを35℃で16～18時間インキュベートし、撮影した後、スキャンする。スポッティングした領域周囲の溶解ゾーン (細菌が存在しない領域) の直径を測定する。対照 (水) 及びPMP処理溶解ゾーンを比較して、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) アポブラストPMPの殺菌効果を決定する。

【0362】

実施例7: PMPによる寄生昆虫の処理

この実施例は、根生姜などの植物から産生されたPMPの溶液でそれらを処理することにより、トコジラミなどの寄生昆虫を殺傷するか又はその適応度を低減させる能力を実証する。この実施例では、トコジラミを寄生昆虫のモデル生物として使用する。

【0363】

トコジラミ (キメクス・レクツラリウス (*Cimex lectularius*)) は

、吸血性の外部寄生虫であり、世界的に重要な新興の公衆衛生有害生物である。有効な残留殺虫剤が利用できないこと及びトコジラミ個体群のピレスロイド殺虫剤に対する耐性増大は、有効且つ環境因子的に安全な処理オプションの開発に正当な根拠を与えるものである。

【0364】

治療計画：

根生姜PMP溶液に10mlのPBS中の0（陰性対照）、1、10、50、100及び250 µg PMPタンパク質/mlを配合する。

【0365】

実験計画：

a) トコジラミ（キメクス・レクツラリウス（*Cimex lectularius*））の培養

キメクス・レクツラリウス（*Cimex lectularius*）は、Sierra Research Laboratories（Modesto, CA）から取得する。トコジラミコロニーを、段ボール製隠れ場所を含むガラス製ケージ内に維持し、25℃及び40～45%（周囲）湿度の12:12光周期で維持する。脱線維ウサギ血液（Hemostat Laboratories, Dixon, CA）を含有するパラフィルム膜給餌器で毎週1回コロニーに血液を給餌する。

【0366】

b) 根生姜PMP溶液によるキメクス・レクツラリウス（*Cimex lectularius*）の処理

実施例1に記載のように根生姜PMPを単離し、トコジラミ生存率、繁殖力及び発生に対するPMP処理の効果を決定する。処理前に、4日間血液を給餌していない0～2週齢のトコジラミ成虫を単離し、ガラス製ジャー内に配置して、2日間交配させる。雄を選別して取り出し、雌トコジラミは、一緒に収容される10～15匹の実験コホートに分ける。雌トコジラミは、最終濃度0（PBS、陰性対照）、1、10、50、100又は250 µg PMPタンパク質/mlを添加した脱線維ウサギ血液をそれらに十分に膨張するまで給餌することによって処理する。PMP処理後、産卵に好適な基質（Advantec MFS, Inc., Dublin, CA）を提供する滅菌パッドを含むペトリ皿内において10～15匹のトコジラミのコホートを25℃及び40～45%（周囲）湿度で維持する。生存率アッセイのために、10日間毎日死んだ虫を計数、記録した後、それらのケージから除去し、PBS対照と比較して、PMP処理トコジラミの平均生存率を計算する。

【0367】

その後、上に示す通りに、PMP添加血液を10日間毎日トコジラミに給餌した後、トコジラミを新しいペトリ皿に移す。十分な孵化時間を確保するために、卵を含むペトリ皿を生育チャンバー内で2週間維持する。産卵された卵は、16倍率の双眼実体顕微鏡下で観察し、給餌期間毎に雌トコジラミが産卵した卵の平均数を30日にわたって計算し、卵から出る幼虫の平均数を評価し、トコジラミの平均生存率を計算する。根生姜PMP処理コホートをPBS処理対照コホートと比較することにより、トコジラミの生存率、繁殖力及び発育に対する根生姜PMPの効果を決定する。

【0368】

実施例8：PMPによる寄生線虫の処理

この実施例は、根生姜などの植物から産生されたPMPの溶液でそれらを処理することにより、ヘリグモソモイデス・ポリギルス（*Heligmosomoides polygyrus*）などの寄生線虫を殺傷するか又はその適応度を低減させる能力を実証する。

【0369】

慢性蠕虫感染は、依然として甚大な世界規模の健康問題であり、ヒト及び家畜の両方で高い罹患率の原因となっている。最も優勢な寄生蠕虫の多くは、それらの固有宿主種と共進化すると共に、密接に適応していることから、実験室内で研究するのは困難である。この実施例では、天然のネズミ寄生体である、モデル病原体蠕虫H. ポリギルス（*H. po*

10

20

30

40

50

lygyrus) を使用して、その適応度に対する根生姜 PMP の効果を証明する。

【0370】

治療計画：

根生姜 PMP 溶液に 10 ml の滅菌水中の 0 (陰性対照)、1、10、50、100 又は 250 µg PMP タンパク質 / ml (実施例 1a) を配合する。

【0371】

実験計画：

a) 寄生線虫ヘリグモソモイデス・ポリギルス (*Heligmosomoides polygyrus*) の培養

H. ポリギルス (*H. polygyrus*) の培養は、Keiser et al., *Parasites & Vectors*. 9 (1) : 376, 2016 に記載のように実施する。4 週齢の雌 NMRI マウス及び H. ポリギルス (*H. polygyrus*) L3 は、現地の供給者から購入する。雌 NMRI マウスを 80 匹の H. ポリギルス (*H. polygyrus*) L3 線虫に経口感染させる。感染した糞から、H. ポリギルス (*H. polygyrus*) 卵を取得する。

【0372】

b) 根生姜 PMP 溶液による H. ポリギルス (*H. polygyrus*) のインビトロでの処理

卵の孵化に対する根生姜 PMP 溶液の殺線虫活性を評価するために、感染したマウスの糞から、H. ポリギルス (*H. polygyrus*) 卵を取得し、洗浄した後、0 (陰性対照)、1、10、50、100 又は 250 µg 根生姜 PMP タンパク質 / ml を含有する溶液に 30 分、1 時間又は 2 時間浸漬する。次に、卵を 24 °C の暗所内の寒天上に 14 日間配置し、6 日後から孵化した L3 幼虫の数を記録する。PMP 処理有り及びなしで孵化した H. ポリギルス (*H. polygyrus*) のパーセンテージを比較することにより、卵の孵化に対する根生姜 PMP の効果を決定する。

【0373】

c) 根生姜 PMP 溶液による H. ポリギルス (*H. polygyrus*) L3 幼虫のインビトロでの処理

H. ポリギルス (*H. polygyrus*) L3 幼虫に対する PMP 溶液の殺線虫活性を評価するために、感染したマウスの糞から、H. ポリギルス (*H. polygyrus*) 卵を取得し、寒天上に配置すると、24 °C の暗所内で 9 日後に L3 幼虫が孵化する。PMP 処理のために、40 匹の L3 幼虫を 96 ウェルプレートの各ウェルに配置する。0.63 µg / ml のアムホテリシン B、500 U / ml のペニシリン、500 µg / ml のストレプトマイシン並びに 0 (陰性対照)、1、10、50、100 又は 250 µg PMP タンパク質 / ml を添加した RPMI 1640 培地 100 µl の存在下で蠕虫をインキュベートする。各処理を 2 回反復して試験する。100 µM レバミソール (Sigma-Aldrich) とインキュベートした蠕虫を陽性対照として使用する。プレートを室温で 72 h 維持する。L3 の適応度に対する PMP 処理の効果を評価するために、ウェル毎の L3 幼虫の総数を計数し、100 µl の熱湯 (約 80 °C) で刺激した後に動いている幼虫を記録する。PMP 処理と陽性及び陰性対照との間において、動いている L3 幼虫の相対パーセンテージを比較して、根生姜 PMP の殺幼体線虫効果を決定する。

【0374】

d) 根生姜 PMP 溶液による H. ポリギルス (*H. polygyrus*) 成虫のインビトロでの処理

雌 NMRI マウスを 80 匹の H. ポリギルス (*H. polygyrus*) に経口感染させる。感染から 2 週間後、マウスを解剖し、3 匹の成体蠕虫を 24 ウェルプレートの各ウェルに配置する。蠕虫を培地及び 0 (陰性対照)、1、10、50、100 又は 250 µg 根生姜 PMP タンパク質 / ml と一緒にインキュベートする。各処理を 3 回反復して試験する。培地のみ及び 50 µM レバミソールとインキュベートした成体蠕虫は、それぞれ陰性対照及び陽性対照として使用する。蠕虫を 37 °C 及び 5 % CO₂ のインキュベータ内

10

20

30

40

50

に72h維持した後、3（活動）～0（動かない）までの生存性等級を用いて、顕微鏡で評価する。PMP処理と陽性及び陰性対照との間において、H.ポリギルス（*H. polygyrus*）成虫の平均生存性スコアを比較することにより、根生姜PMPの殺成体線虫効果を決定する。

【0375】

e) マウス内の根生姜PMP溶液によるH.ポリギルス（*H. polygyrus*）のインビボでの処理

根生姜PMP処理のインビボでの殺線虫効果を試験するために、NMRIマウスを80匹のH.ポリギルス（*H. polygyrus*）L3に経口感染させる。感染から14日後、用量10、100、300若しくは400mg PMPタンパク質/kgの試験薬剤又はレバミソール対照でマウスを経口処理する。4～6匹の非処置マウスを対照として使用する。処理から10日後、動物をCO₂法により死なせ、消化管を採取する。腸を切断し、成体蠕虫を収集し、計数する。陽性及び陰性対照処理マウスコホートに対して、PMP処理コホートの成体蠕虫の平均数を比較することにより、経口投与した根生姜PMPの殺線虫活性を決定する。

【0376】

実施例9：PMPによる寄生原虫の処理

この実施例は、根生姜などの植物から産生されたPMPの溶液で処理することにより、腔トリコモナス（*Trichomonas vaginalis*）などの寄生原虫を殺傷するか又はその適応度を低減させる能力を実証する。この実施例では、腔トリコモナス（*T. vaginalis*）をモデル寄生原虫として使用する。

【0377】

腔トリコモナス（*Trichomonas vaginalis*）は、世界的に最も一般的な非ウイルス性の性感染症（STD）の1つである。前鞭毛及び波動膜を用いて運動性であるこの嫌気性原虫は、控え目に見積もって世界で推定1億8千万人の女性に感染し、これは、米国で毎年6百万人が感染していることを示す。メトロニダゾールファミリーの古典的な薬剤に対する寄生虫の耐性の増大を考慮して、新規の非関連薬剤に対する必要性が高まっている。

【0378】

治療計画：

根生姜PMP溶液に10mlの滅菌水中の0（陰性対照）、1、10、50、100又は250µg PMPタンパク質/mlを配合する。

【0379】

実験計画：

a) 寄生原虫腔トリコモナス（*T. vaginalis*）の培養

腔トリコモナス（*Trichomonas vaginalis*）は、ATCC（#50167）から取得し、製造者の指示に従い、且つTiwarti et al., Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 62（3）：526－534, 2008に記載のように培養する。15mLのネジ式栓付きガラスチューブ中、37℃の10% FCS、ビタミン混合物及び100U/mLのペニシリン/ストレプトグラミンを添加した標準TYI-S33培地（pH6.8）中で原虫を増殖させる。培地は、常用の方法において48hで濃度 2×10^7 細胞/mLを達成する。培養物維持のために、1チューブ当たり 1×10^4 細胞の接種材料を使用する。

【0380】

b) 根生姜PMP溶液による腔トリコモナス（*T. vaginalis*）の処理

根生姜PMPは、実施例1に記載のように生成する。腔トリコモナス（*T. vaginalis*）適応度に対する根生姜PMPの効果を決定するために、以前記載されている（Tiwarti et al., Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 62（3）：526－534, 2008）ように、薬物感受性アッセイを実施する。手短には、37℃の24ウェルプレート内のTYI-S33培地中

で、0（滅菌水、陰性対照）、1、10又は50、100及び250 μg PMPタンパク質/ mL 又は陽性対照としての1～12 mM メトロニダゾール（Sigma-Aldrich）の存在下、1 mL 当たり 5×10^3 個のトリコモナス（*Trichomonas*）栄養体をインキュベートする。20倍率の顕微鏡下、3 hから48 hまで間の様々な時間間隔で生存性について細胞を調べる。膣トリコモナス（*T. vaginalis*）の生存性は、トリパンブルー排除アッセイにより決定する。血球計数板を用いて、細胞を計数する。全ての細胞の死滅が判明したPMP溶液の最小濃度をその最小阻止濃度（MIC）とみなす。MICを確認するために、実験を3回繰り返す。膣トリコモナス（*T. vaginalis*）適応度に対する根生姜PMPの効果は、陰性及び陽性対照に対して、PMP処理の平均MICを比較することにより決定する。

10

【0381】

実施例10：低分子核酸をロードした植物メッセンジャーパックによる真菌の処理

この実施例は、PMP脂質を単離し、低分子核酸を含有する小胞にそれらを合成することにより、低分子核酸を送達するPMPの能力を実証する。この実施例では、病原真菌であるカンジダ・アルビカンズ（*Candida albicans*）の病原性因子をノックダウンするために、低分子二本鎖RNA（dsRNA）ロードPMPを使用する。また、低分子核酸ロードPMPが、様々なプロセッシング及び環境条件にわたって安定しており、それらの活性を保持することも実証する。この実施例では、dsRNAをモデル核酸として使用し、カンジダ・アルビカンズ（*Candida albicans*）をモデル病原真菌として使用する。

20

【0382】

カンジダ属（*Candida*）種は、世界的に日和見真菌感染の主な原因であり、カンジダ・アルビカンズ（*Candida albicans*）は、現在、3番目から4番目の一般的な院内感染である、カンジダ症の最も一般的な病原体である。これらの感染は、一般に、主として既存の抗菌薬の効果が限定的であるために、高い罹患率及び致死率を伴う。*C. albicans* の場合、酵母及びフィラメント形態からバイオフィーム形成への形態形成変換は、2つの重要な生物学的プロセスを呈示し、これらは、この真菌の生物学と密接に関連し、またカンジダ症の発症中に重要な役割を果たす。

【0383】

治療用量：

dsRNAをロードしたPMPを、滅菌水中0、50、500又は1000 nM の有効なsiRNA用量の当量を送達する濃度まで水に配合した。

30

【0384】

実験プロトコル：

a) 単離したグレープフルーツPMP脂質からのEFG1 dsRNAロードグレープフルーツPMPの合成

Wang et al., Nature Comm., 4:1867, 2013から変更を加えたプロトコルに従って低分子核酸をPMPにロードする。手短には、実施例1～2に記載の通り、グレープフルーツから、精製PMPを生成し、Xiao et al., Plant Cell, 22(10):3193-3205, 2010から改変して、グレープフルーツPMP脂質を単離する。手短には、3.75 mL の2:1 (v/v) MeOH:CHCl₃をPBS中の1 mL のPMPに添加し、ボルテックスする。CHCl₃ (1.25 mL) 及びddH₂O (1.25 mL) を順次添加し、ボルテックスする。次に、混合物をガラスチューブ内において22°C、2,000 r.p.m. で10分遠心分離して、混合物を2相（水相及び有機相）に分離する。有機相の収集のために、水相からガラスピペットを弱い正圧で挿入し、底の相（有機相）を吸引して、新しいガラスチューブ内に注入する。有機相サンプルをアリコートに分け、窒素下（2 psi）加熱することにより乾燥させる。

40

【0385】

Moazeni et al., Mycopathologia. 174(3):177

50

ー185, 2012に記載されている配列: アンチセンス: 5' ACAUUGAGCAAU
UUGGUUC-3' 及びセンス: 5' -GAACCAAUUGCUCAAUGU-3' 並
びにスクランブルsiRNA対照5' -AUAUGCGCAACAUGACA-3' は、
IDTから取得する。記載されている (Moazeni et al., Mycopath
ologia. 174 (3): 177-185, 2012) 通りのアニーリングバッファ
ー (30mM HEPES-KOH pH 7.4、100mM KCl、2mM MgCl₂ 及び50mM NH₄ Ac) 中でセンス/アンチセンスアニーリングを実施して、si
RNA二重螺旋 (dsRNA) を実施する。dsRNAロードPMPは、脂質と低分子核
酸を混合し、これらを乾燥させて薄膜を形成することにより、標的及び対照siRNAの
両方から合成する。この膜をPBSに分散させ、超音波処理して、ロードされたりポソーム
製剤を形成する。実施例2に記載のショ糖勾配を用いて、PMPを精製し、使用前に、
超遠心分離により洗浄して、非結合核酸を除去する。実施例3の方法を用いて、両サンプ
ルの小部分を特性決定し、Quant-It RiboGreen RNAアッセイキット
を用いて、RNA含量を測定し、実施例4に記載のようにそれらの安定性を試験する。

【0386】

実施例10aからのsiRNAロードPMPを用いて、真菌遮断効率を決定するために
、滅菌水中0、50、500及び1000nMの有効siRNA用量を含むPMP溶液で
カンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*) を処理する。*C. アルビ*
カンス (C. albicans) 野生型株 (ATCC#14053) を酵母抽出物ペプト
ン/デキストロース (YPD) 培地プレート上で培養し、37℃で24hインキュベート
した後、使用まで4℃で維持する。EFG1 dsRNAロードPMPによる処理の効果
及び効率をスクランブル及び陰性対照と比較する。

【0387】

b) 真菌バイオフィルムを低減するためのEFG1 siRNAロードグレープフルーツ
PMPによるカンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*) の処理

C. アルビカンス (C. albicans) バイオフィルム形成に対するsiRNAロ
ードPMPの効果を測定するために、150mLフラスコ内において20mLの酵母ペプ
トンデキストロース (YPD) (1% [wt/vol] 酵母エキス、2% [wt/vol]
] ペプトン、2% [wt/vol] デキストロース) 液体培地に*C. アルビカンス (C.*
albicans) の一晚培養物を接種し、30℃のオービタルシェーカー内でインキュベ
ートする。これらの条件下、*C. アルビカンス (C. albicans)* は、出芽酵母と
して成長する。Pierce et Al., Pathog Dis. Apr; 70 (3)
: 423-431, 2014により記載される通り、96ウェルマイクロタイタープレ
ートモデルを用いて、バイオフィルムを形成する。手短には、一晚YPD培養物から細胞を
採取し、洗浄後、L-グルタミン (*Cellgro*) を添加したRPMI-1640中に
再懸濁させてから、最終濃度 1.0×10^6 細胞/mLで、165mMモルホリンプロパ
ンスルホン酸 (MOPS) で緩衝化する。市販の滅菌済みポリスチレン平底96ウェルマ
イクロタイタープレート (*Corning Incorporated, Corning*
, NY) 上で*C. アルビカンス (C. albicans)* バイオフィルムを形成する。1
ウェル当たり250ulの 1.0×10^6 細胞/mLの*C. アルビカンス (C. alb*
icans) 細胞を分配し、EFG1 siRNAロードPMP又はスクラブル対照を最
終濃度0 (水、陰性対照)、50、500又は1000nMまで添加する。処理を3回反
復して実施し、プレートを37℃で24hインキュベートする。バイオフィルム形成後、
ウェルを2回洗浄して、非付着細胞を除去し、光学顕微鏡法により視覚化した後、2、3
-ビス (2-メトキシ-4-ニトロ-5-スルホフェニル) -2H-テトラゾリウム
-5-カルボキサニリド (XTT, *Sigma*) の還元に基づく半定量的比色分析法を用
いて処理する。(PMPの非存在下で) 形成された対照バイオフィルムのODを任意で1
00%に設定し、対照との比較で吸光度の減少率によりsiRNAロードPMPの阻害効
果を決定した。対照ウェルの平均と比較したバイオフィルム阻害率としてデータを計算す
る。

10

20

30

40

50

【0388】

EFG1発現の変化を定量するために、*C. アルビカンス* (*C. albicans*) のEFG1mRNAのレベルを定量的リアルタイムRT-PCRにより測定する。Fisher BioReagents (商標) SurePrep (商標) Plant/Fungi Total RNA Purification Kit (Fisher scientific, Waltham, MA) を用いて全RNAを抽出し、SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen Carlsbad, CA) を用いたcDNA合成後、定量的RT-PCR定量を実施する。合成EFG1-dsRNAの処理後、*C. アルビカンス* (*C. albicans*) において、EFG1 (XM_709104.1) 及びハウスキーピング遺伝子 β アクチンACT1 (XM_717232.1) を決定し、以下のプライマー：EFG1-Fw: TGC CAATAATGTGTCGGTTG、EFG1-Rev: CCCATCTCTTCTA CCACGTGTC、ACT1-Fw: ACGGTATTGTTTCCAACCTGGG CG、ACT1-Rev: TGGAGCTTCGGTCAACAAACTGG (Moazen et Al., Mycopathologia. 174 (3): 177-185, 2012) を用いて、スクランブル対照を測定する。次のプロトコル：95℃で3分の変性、95℃で20秒、61℃で20秒及び72℃で15秒の40回反復に従う3回の技術的反復で、SsoAdvanced (商標) Universal SYBR (登録商標) Green Supermix (BioRad) を用いて、RT-qPCRを実施する。

10

【0389】

EFG1の存在量を植物由来PCR産物のACT1存在量に対して正規化して、ノックダウン効率を決定するが、これは、 $\Delta\Delta Ct$ 値を算出し、陰性PBS対照の正規化真菌増殖をds-RNAロードPMP処理サンプルの正規化真菌増殖と比較することにより決定される。

20

【0390】

c) 真菌適応度を低減するためのEFG1 siRNAロードグレープフルーツPMPによるカンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*) の処理

真菌増殖に対するEFG1 siRNAロードPMPの効果を評価するために、Beaumont et Al., Cell Death and Disease. 4 (5): e619, 2013により記載されている通り、寒天に埋め込んだ酵母を用いたPMP活性アッセイを実施した。グルコース (2%, w/v) を含有する最小培地の一晩培養物を10mMトリス-HCl (pH8.0)、1mM EDTA (TE) で2回洗浄した後、TEに再懸濁させる。OD600を測定してから、これを用いて、ガラクトースを含有する7.5mlの最小培地に 5×10^7 コロニー形成単位の酵母を導入し、これを37℃まで平衡させる。各酵母懸濁液を、ガラクトース (2%, w/v) を含有する7.5mlの最小培地寒天 (50℃まで事前に平衡させる) と混合し、反転によって速やかに混合した後、15mlのガラクトース含有最小培地寒天を含む、事前に作製した10cmプレート上に注ぎ込む。プレートを1時間にわたって室温で静置する。5マイクロリットルのEFG1 siRNAロードPMP又は0 (水、陰性対照)、50、500若しくは1000nMのスクラブル対照を、埋め込まれた酵母を含むプレート上にピペットで移し、室温で乾燥させて、30℃で3日間インキュベートした後、撮影する。濃い円は、PMP媒介による酵母増殖の抑制を明らかにする。

30

40

【0391】

実施例11：ペプチド核酸ロードPMPによる昆虫の処理

この実施例は、トコジラミ (キメクス・レクツラリウス (*Cimex lectularius*)) のvATPase-Eをノックダウンすることにより昆虫の適応度を低減させる目的でPMPにペプチド核酸構築物をロードすることを実証するものであり、これは、siRNAにより、生存及び生殖に作用することが実証されている (Basnet and Kambale, Journal of Medical Entomology, 55 (3): 540-546. 2018)。この実施例は、PNAロードPMPが多様な処

50

理及び環境条件にわたって安定しており、且つその活性を保持することも実証する。この実施例では、PNAをモデルタンパク質として使用し、キメクス・レクツラリウス (*Cimex lectularius*) をモデル病原昆虫として使用する。

【0392】

治療用量：

RNAをロードしたPMPを、滅菌水中0、0.1、1、5又は10 μ Mの有効PNA用量の当量を送達する濃度まで水に配合した。

【0393】

実験プロトコル：

a) ペプチド核酸によるグレープフルーツPMPのローディング

キメクス・レクツラリウス (*Cimex lectularius*) vATPase-E (NCBI GenBank accession #LOC106667865) に対するPNAを適切な供給業者により設計及び合成させる。グレープフルーツ由来のPMPを実施例1に従って単離する。PMPを、PBS中PNAを含む溶液に導入する。次に、Wang et al, Nature Comm., 4:1867, 2013からのプロトコルに従って溶液を超音波処理して、PMPにポレーション及び拡散を誘導する。代わりに、Haney et al., J Contr. Rel., 207:18-30, 2015からのプロトコルに従って溶液を脂質エキストルードに通過させることもできる。代わりに、Wahlgren et al, Nucl. Acids. Res. 40(17):e130, 2012からのプロトコルに従ってこれらをエレクトロポレートし得る。1時間後、ショ糖勾配を用いて、PMPを精製してから、使用前に、実施例2に記載の通り超遠心分離により洗浄して、非結合核酸を除去する。

【0394】

実施例3に記載の方法を用いて、サイズ、ゼータ電位及び粒子計数を測定し、実施例4に記載のようにそれらの安定性を試験する。Nikraves et al, Mol. Ther., 15(8):1537-1542, 2007に記載のプロトコルに従う電気泳動ゲルシフトアッセイを用いて、PMP中のPNAを定量する。手短には、PNAに対するアンチセンスDNAを、デタージェントで処理したPNA-PMPと混合して、PNAを放出する。PNA-DNA混合物をゲル上に泳動させ、ssDNA色素で視覚化する。次に、蛍光イメージングにより二重螺旋を定量する。ロード及び非ロードPMPを比較して、ロード効率を決定する。

【0395】

b) 昆虫の適応度を低減させるためのvATPase-E PNAロードグレープフルーツPMPによるキメクス・レクツラリウス (*Cimex lectularius*) の処理
上で同定されたvATPase-E PNAをロードしたPMP及びスクランブルPNA対照を、前述した方法に従ってPMPにロードする。キメクス・レクツラリウス (*Cimex lectularius*) は、Sierra Research Laboratories (Modesto, CA) から取得する。トコジラミコロニーを、段ボール製隠れ場所を含むガラス製ケージ内に維持し、25℃及び40~45% (周囲) 湿度の12:12光周期で維持する。脱線維ウサギ血液 (Hemostat Laboratories, Dixon, CA) を含有するパラフィルム膜給餌器で毎週1回コロニーに血液を給餌する。

【0396】

PNAロードPMP処理前に、4日間血液を給餌していない0~2週齢のトコジラミ成虫を単離し、ガラス製ジャー内に配置して、2日間交配させる。雄を選別して取り出し、雌トコジラミは、一緒に収容される10~15匹の実験コホートに分ける。雌トコジラミを、最終濃度0、0.1、1、5若しくは10 μ MのvATPase-E PNAロードPMP又は0、0.1、1、5若しくは10 μ MのスクランブルPNAロードPMPを添加した脱線維ウサギ血液を、15分にわたってそれらに十分に膨張するまで給餌することにより処理する。脱線維ウサギ血液のみを給餌したトコジラミを給餌実験の対照として使

用する。PNAロードPMP処理後、産卵に好適な基質（Advantec MFS, Inc., Dublin, CA）を提供する滅菌パッドを含むペトリ皿内において10～15匹のトコジラミのコホートを25℃及び40～45%（周囲）湿度で維持する。生存率アッセイのために、10日間毎日死んだ虫を計数、記録した後、それらのケージから除去し、スクランブルPNAロードPMP及び水対照と比較して、vATPase-E PNAロードPMPトコジラミの平均生存率を計算する。

【0397】

その後、PNAロードPMPを添加した血液を10日間毎日トコジラミに給餌した後、トコジラミを新しいペトリ皿に移す。十分な孵化時間を確保するために、卵を含むペトリ皿を生育チャンバー内で2週間維持する。産卵された卵は、16倍率の双眼実体顕微鏡下で観察し、給餌期間毎に雌トコジラミが産卵した卵の平均数を30日にわたって計算し、卵から出る幼虫の平均数を評価し、トコジラミの平均生存率を計算する。vATPase-E PNA PMP処理コホートを、スクランブルPNAロードPMP及びPBS処理対照コホートと比較することにより、トコジラミ生存率、繁殖力及び発生に対する根生姜PMPの効果を決定する。

【0398】

処理から3及び30日後、処理毎に3匹のトコジラミを液体窒素でスナップ冷凍した後、-80℃で保存して、リアルタイム定量的PCR RT-qPCRによりPNA vATPase-E mRNAノックダウンを評価する。RNeasy Mini Kit (Qiagen) を用いて全RNAを抽出し、SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen Carlsbad, CA) を用いてcDNAを合成する。以前報告されたプライマー：v-ATPase-E-フォワード：AGGTCGCGCTTGTCCAAAAC、v-ATPase-E-リバース：GCTTTTAGTCTCGCCTGGTTC及びハウスキーピング遺伝子rpl8-フォワード：AGGCACGGTTACATCAAAGG、rpl8-リバース：TCGGGAGCAATGAAGAGTTC (Basnet and Kamble, Journal of Medical Entomology, 55 (3) : 540-546, 2018) を用い、SsoAdvanced (商標) Universal SYBR (登録商標) Green Supermix (BioRad) を使用してRT-qPCRを実施する。v-ATPase-Eの存在量をリボソームタンパク質L8存在量に対して正規化し、 $\Delta\Delta Ct$ 値を算出し、v-ATPase-E PNAロードPMP処理サンプル中の正規化したv-ATPase-E発現をスクランブルPNAロードPMP処理対照と比較することにより、相対v-ATPase-Eノックダウン効率を決定する。

【0399】

実施例12：小分子ロードPMPによる細菌の処理

この実施例は、大腸菌（E. coli）の適応度を低減させる目的でPMPに小分子、この実施形態ではストレプトマイシンをロードする方法を実証するものである。この実施例は、小分子ロードPMPが多様な処理及び環境条件にわたって安定しており、且つその活性を保持することも実証する。この実施例では、ストレプトマイシンをモデル小分子として使用し、大腸菌（E. coli）をモデル病原菌として使用する。

【0400】

治療用量：

小分子をロードしたPMPを、0、2.5、10、50又は200mg/mlの有効なストレプトマイシン硫酸塩用量の当量を送達する濃度まで水に配合した。

【0401】

a) ストレプトマイシンによるグレープフルーツPMPのローディング

PMPを前述の通り生成し、可溶化ストレプトマイシンを含むPBS溶液に導入する。Sun et al., Mol Ther. Sep; 18 (9) : 1606-14, 2010に記載のプロトコルに従って溶液を22℃で1時間放置する。代わりに、Wang et al., Nature Comm., 4 : 1867, 2013からのプロトコルに従って溶

液を超音波処理して、ポレーション及び拡散をエキソソーム中に誘導する。代わりに、Haney et al., J. Contr. Rel., 207:18-30, 2015からのプロトコルに従って溶液を脂質エキストルードに通過させることもできる。代わりに、Wahlgren et al., Nucl. Acids. Res. 40(17):e130, 2012からのプロトコルに従ってこれらをエレクトロポレートし得る。1時間後、ショ糖勾配を用いて、ロードPMPを精製してから、実施例2に記載の通り超遠心分離により洗浄して、使用前に非結合小分子を除去する。実施例3に記載の方法を用いて、サイズ及びゼータ電位について、ストレプトマイシンロードPMPを特性決定する。少量のPMPは、ストレプトマイシン含量であり、標準曲線を用いた195nmで、UV-Visを用いて評価する。手短には、目的とする様々な濃度のストレプトマイシンのストック溶液を作製し、100マイクロリットルの溶液を平底の透明96ウェルプレート内に導入する。UV-Vプレートリーダーを用いて、195nmでの吸光度を測定する。また、サンプルをプレートに載せ、回帰を用いて、その濃度が標準に一致し得るかを決定する。不十分な高さの濃度の場合、Kurosawa et al., J. Chromatogr., 343:379-385, 1985からのプロトコルを用いて、HPLCによりストレプトマイシン含量を測定する。ストレプトマイシンロードPMP安定性は、実施例4に記載のように試験する。

【0402】

b) 細菌の適応度を低減させるためのストレプトマイシンロードグレープフルーツPMPによる大腸菌(E. coli)の処理

大腸菌(E. coli)は、ATCC(#25922)から取得し、製造者の指示に従い、37℃でトリプチケースソイ寒天/ブロス上で増殖させる。有効濃度のストレプトマイシン、PMP及びストレプトマイシンロードPMPを、変更を加えた標準的ディスク拡散感受性法に従い、大腸菌(E. coli)の増殖を阻止する能力について試験する。

【0403】

非選択性培地上で一晩増殖したもの(16~24hのインキュベーション)からいくつかの形態学的に類似するコロニーを、滅菌ループ又は綿棒を用いて選択した後、McFarland 0.5標準の密度(約 $1 \sim 2 \times 10^8$ CFU/mlに相当)までコロニーを滅菌塩水(水中0.85% NaCl w/v)に懸濁させることにより、大腸菌(E. coli)接種材料懸濁液を調製する。滅菌綿棒を接種材料懸濁液に浸漬し、綿棒から余剰の液体を除去した後、綿棒で3方向に塗布することにより、細菌を寒天プレートの表面全体に均一に広げることにより、ミュラー-ヒントン寒天培地プレート(直径150mm)に大腸菌(E. coli)懸濁液を接種する。次に、3ulのPBS(陰性対照)、0(PMP対照)、2.5、10、50、100又は200mg/mlの有効用量のストレプトマイシンロードPMP並びに200mg/mlのストレプトマイシン単独(+対照)をプレートにスポッティングし、乾燥させる。プレートを35℃で16~18時間インキュベートし、撮影した後、スキャンする。スポッティングした領域周囲の溶解ゾーン(細菌が存在しない領域)の直径を測定する。対照(PBS)、ストレプトマイシン、PMP及びストレプトマイシンロードPMP処理溶解ゾーンを比較して、殺菌効果を決定する。

【0404】

実施例13: タンパク質/ペプチドロード植物メッセンジャーパックによる線虫の処理

この実施例は、寄生線虫の適応度を低減させる目的でペプチド構築物をPMPにロードすることを実証する。この実施例は、GFPをロードしたPMPが、C.エレガンス(C. elegans)の消化管に取り込まれることを実証し、またペプチドロードPMPが、多様な処理及び環境条件にわたって安定しており、且つその活性を保持することも実証する。この実施例では、GFPをモデルペプチドとして使用し、C.エレガンス(C. elegans)をモデル線虫として使用する。

【0405】

治療用量:

GFPをロードしたPMPを、PMPにロードされた0(非ロードPMP対照)、10

、100又は1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のGFPタンパク質を送達する濃度まで水に配合した。

【0406】

実験プロトコル：

a) タンパク質又はペプチドによるグレープフルーツPMPのローディング

PMPは、実施例1に従ってグレープフルーツ果汁から生成する。緑色蛍光タンパク質は商業的に合成されており、これをPBSに溶解させる。PBS中タンパク質を含む溶液にPMPを導入する。タンパク質又はペプチドが不溶性であれば、それが可溶性になるまでpHを調節する。タンパク質又はペプチドが、依然として不溶性であれば、不溶性タンパク質又はペプチドを使用する。次に、Wang et al, Molecular Therapy. 22 (3) : 522-534, 2014からのプロトコルに従って溶液を超音波処理して、エキソソーム中にポレーション及び拡散を誘導する。代わりに、Haney et al, J Contr. Rel., 207:18-30, 2015に従って溶液を脂質エキストルーダに通過させることもできる。代わりに、Wahlgren et al, Nucl. Acids. Res. 40 (17) : e130, 2012からのプロトコルに従ってPMPをエレクトロポレートし得る。1時間後、ショ糖勾配を用いて、PMPを精製してから、非結合タンパク質を除去するために、使用前に実施例1に記載のように超遠心分離により洗浄する。PMP由来リボソームを実施例3に記載のように特定決定し、実施例4に記載のようにそれらの安定性を試験する。ウエスタンブロット又は蛍光により、PMPのGFP封入を測定する。

【0407】

b) 線虫へのモデルタンパク質の送達

C.エレガンス (C. elegans) 野生型N2ブリistol (Bristol) 株 (C.エレガンス (C. elegans) Genomics Center) は、線虫増殖培地 (NGM) 寒天プレート (3 g/L NaCl, 17 g/Lの寒天、2.5 g/Lのペントン、5 mg/Lのコレステロール、25 mM KH_2PO_4 (pH 6.0)、1 mM CaCl_2 、1 mM MgSO_4) 上の大腸菌 (Escherichia coli) (菌株OP50) 菌叢上に、L1からL4期まで維持する。

【0408】

1日齢C.エレガンス (C. elegans) を新しいプレートに移し、Conte et al., Curr. Protoc. Mol. Bio., 109:26.3.1-30 2015に記載の給餌プロトコルに従って0 (非ロードPMP対照)、10、100又は1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のGFPロードPMPを給餌する。次に、緑色蛍光のための蛍光顕微鏡を用いることにより、非ロードPMP処理及び滅菌水対照と比較して、消化管内のGFPロードPMP取込みについて蠕虫を検査する。

【0409】

実施例14：超遠心分離及びショ糖勾配精製を用いたブレンド果汁からのPMP生成

この実施例は、果実をブレンドし、残屑を除去するための連続的遠心分離、粗PMPをペレット化するための超遠心分離の組合せを用い、さらにはPMP精製のためのショ糖密度勾配を用いることにより、PMPを果実から生成することができることを実証する。この実施例では、グレープフルーツをモデル果実として使用した。

【0410】

a) 超遠心分離及びショ糖密度勾配精製によるグレープフルーツPMPの生成

ブレンド、超遠心分離及びショ糖勾配精製を用いたグレープフルーツPMP生成のためのワークフローを図1Aに示す。1個のレッドグレープフルーツを現地のWhole Foods Market (登録商標) から購入し、アルベド、フラベド及びセグメント膜を除去して、砂じょうを収集し、これらを、最大速のブレンダを10分使用してホモジナイズした。100 mLの果汁をPBSで5倍希釈した後、1000 $\times g$ で10分、3000 $\times g$ で20分及び10,000 $\times g$ で40分間の遠心分離に付すことにより、大きい残屑を除去した。28 mLの清澄化した果汁を、S50-ST (4 $\times$ 7 mL) スイニングバケットロータを用い、4℃において、150,000 $\times g$ のSorvall (商標) MX

120 Plus Micro-Ultracentrifugeで90分間超遠心分離して、粗PMPペレットを取得し、これをPBS pH7.4に再懸濁させた。次に、ショ糖勾配をトリス-HCl pH7.2中に調製し、粗PMPをショ糖勾配（上から下に：8、15、30、45及び60%ショ糖）の上部に重ねてから、S50-ST（4×7mL）スイングバケットロータを用い、4℃、150,000×gで120分間の超遠心分離によりスピンドウンした。1mLの画分を収集し、PMPを30～45%界面で単離した。PBSを用いて、4℃、150,000×gで120分間の超遠心分離により、画分を洗浄し、ペレットを最小量のPBSに溶解させた。

【0411】

TS-400カートリッジ（図1B）を用い、Spectradyne nCS1（商標）粒径分析装置を使用して、PMP濃度（ 1×10^9 PMP/mL）及びメジアンPMP粒径（121.8 nm）を決定した。Malvern Zetasizer Ultraを用いてゼータ電位を測定したところ、 $-11.5 + / - 0.357$ mVであった。

10

【0412】

この実施例は、ショ糖勾配精製法と組み合わせた超遠心分離を用いて、グレープフルーツPMPを単離することができることを実証する。しかし、この方法は、全てのPMP生成ステップ及び最終PMP溶液中においてサンプルの著しいゲル化を誘導した。

【0413】

実施例15：超遠心分離及びショ糖勾配精製を用いたメッシュ圧搾果汁からのPMP生成
この実施例は、より穏やかな搾汁法（メッシュストレイナ）を使用することによりPMP生成工程中に細胞壁及び細胞膜混入物を減少させることができることを実証する。この実施例では、グレープフルーツをモデル果実として使用した。

20

【0414】

a) 穏やかな搾汁により、グレープフルーツPMPからのPMP生成中のゲル化を低減する
実施例14に記載の通りにレッドグレープフルーツから砂じょうを単離した。PMP生成中のゲル化を低減するために、破壊的ブレンド法を用いるのではなく、茶漉しメッシュに砂じょうを軽く押し付けて、果汁を収集し、細胞壁及び細胞膜混入物を低減した。分画遠心分離後、果汁は、ブレンドの使用後よりも清澄になり、ショ糖密度勾配遠心分離後に30～45%インターセクションで1つの純粋PMP含有ショ糖バンドを観察した（図2）。全体としてPMP生成中及び後のゲル化は少なかった。

30

【0415】

本発明者らのデータは、穏やかな搾汁ステップを使用すると、ブレンドを含む方法に比べ、PMP生成中の混入物に起因するゲル化が低減することを証明している。

【0416】

実施例16：超遠心分離及びサイズ排除クロマトグラフィーを用いたPMP生成

この実施例は、超遠心分離（UC）及びサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）の使用による果実からのPMPの生成を記載する。この実施例では、グレープフルーツをモデル果実として使用する。

【0417】

a) UC及びSECを用いたグレープフルーツPMPの生成

40

実施例14aに記載の通りにレッドグレープフルーツから砂じょうを単離し、茶漉しメッシュに軽く押し付けて、28mLの果汁を収集した。UC及びSECを用いるグレープフルーツPMP生成のワークフローを図3Aに描く。手短には、果汁を、1000×gで10分、3000×gで20分及び10,000×gで40分の分画遠心分離に付すことにより、大きい残屑を除去した。28mLの清澄化した果汁を、S50-ST（4×7mL）スイングバケットロータを用い、4℃において、100,000×gのSorvall（商標）MX 120 Plus Micro-Ultracentrifugeで60分間超遠心分離して、粗PMPペレットを取得し、これをMESバッファー（20mM MES、NaCl、pH6）に再懸濁させた。ペレットをMESバッファーで2回洗浄した後、最終ペレットを1mLのPBS、pH7.4に再懸濁させた。次に、サイズ排除ク

50

ロマトグラフィーを用いて、PMP含有画分を溶出した。製造者により提供される濃度及び粒径標準を用いて、PMP粒径及び濃度を決定するために、NanoFCMを用いたナノフローサイトメトリーによりSEC溶出画分を分析した。さらに、どの画分にPMPが溶出されているかを識別するために、SEC画分について、280nmでの吸光度（SpectraMax（登録商標））及びタンパク質濃度（Pierce（商標）BCA assay, ThermoFisher）を決定した（図3B～3D）。PMP含有画分として、SEC画分2～4を識別した。早期及び後期溶出画分の分析から、SEC画分3が、主要PMP含有画分であることがわかり、濃度は、 2.83×10^{11} PMP/mL（全粒子の57.2%が、50～120nm粒度範囲にある）、メジアン径は、 $83.6 \text{ nm} + / - 14.2 \text{ nm}$ （SD）であった。後期溶出画分8～13は、NanoFCMにより示される通り、非常に低い濃度の粒子を有したが、これらの画分には、BCA分析によりタンパク質混入物が検出された。

10

【0418】

本発明者らのデータは、TFF及びSECを使用して、後期溶出混入物から精製PMPを単離することができること並びに本実施例で使用した分析方法の組合せにより、後期溶出混入物からPMP画分を識別することができることを証明している。

【0419】

実施例17：混入物を低減するためにEDTA／透析と組み合わせてタンジェンシャルフロー濾過及びサイズ排除クロマトグラフィーを用いたスケール化PMP生成

この実施例は、ペクチン高分子の形成を低減するためのEDTAインキュベーション及び混入物を低減するための一晚の透析と組み合わせて、タンジェンシャルフロー濾過（TFF）及びサイズ排除クロマトグラフィー（SEC）を用いることによる、果実からのPMPのスケール化生成（scaled production）を説明する。この実施例では、グレープフルーツをモデル果実として使用する。

20

【0420】

a) TFF及びSECを用いたグレープフルーツPMPの生成

レッドグレープフルーツを現地のWhole Foods Market（登録商標）から購入し、果汁絞り機で1000mlの果汁を単離した。TFF及びSECを用いたグレープフルーツPMPの生成のためのワークフローを図4Aに描く。果汁を、 $1000 \times g$ で10分、 $3000 \times g$ で20分及び10,000×gで40分の分画遠心分離に付すことにより、大きい残屑を除去した。清澄化したグレープフルーツ果汁を、TFF（孔径5nm）を用いて、2mL（100×）まで1回濃縮及び洗浄した。次に、サイズ排除クロマトグラフィーを使用して、PMP含有画分を溶出した。製造者により提供される濃度及び粒径標準を用いて、PMP濃度を決定するために、NanoFCMを用いたナノフローサイトメトリーによりSEC溶出画分を分析した。さらに、どの画分にPMPが溶出されているかを識別するために、SEC画分について、タンパク質濃度（Pierce（商標）BCA assay, ThermoFisher）を決定した。1リットルの果汁（100倍濃縮）からのスケール化生成では、BCAアッセイにより後期SEC画分中にやはり濃縮された多量の混入物を検出することができる（図4B、上方パネル）。全体の合計PMP収量（図4B、下方パネル）は、単回グレープフルーツ単離と比較して、スケール化生成の方が低かったが、これは、PMPの喪失を示し得る。

30

40

【0421】

b) EDTAインキュベーション及び透析による混入物の低減

レッドグレープフルーツを現地のWhole Foods Market（登録商標）から購入し、果汁絞り機を用いて800mlの果汁を単離した。果汁を、 $1000 \times g$ で10分、 $3000 \times g$ で20分及び10,000×gで40分の分画遠心分離に付すことにより、大きい残屑を除去した後、 $1 \mu\text{m}$ 及び $0.45 \mu\text{m}$ フィルタで濾過して、大きい粒子を除去した。清澄化したグレープフルーツ果汁を、各々125mlの果汁を含有する4つの異なる処理群に分割した。処理群1は、実施例17aに記載のように処理し、最終濃度 $63 \times$ まで濃縮及び洗浄（PBS）し、SECに付した。TFF前に鉄をキレート化す

50

ると共に、ペクチン高分子の形成を低減するために、475mlの果汁を、最終濃度50mM EDTA、pH7.15と一緒にRTで1.5hrインキュベートした。その後、果汁を3つの処理群に分け、これらをPBS（カルシウム／マグネシウムを含まない）pH7.4、MES pH6又はトリspH8.6洗浄液のいずれかと一緒に最終果汁濃度63×までTFF濃縮に付した。次に、300kDa膜を用い、同じ洗浄バッファー中で、サンプルを4℃で一晩透析した後、SECに付した。280nmの吸光度（図4C）及びBCAタンパク質分析（これは糖及びペクチンの存在に対して感受性である）（図4D）により示されるように、TFF単独の対照の後期溶出画分中の高い混入物ピークと比較して、EDTAインキュベーション後に一晩透析すると、混入物を大幅に低減した。使用した透析バッファー（カルシウム／マグネシウムを含まないPBS pH7.4、MES pH6、トリspH8.6）に差はなかった。

10

【0422】

本発明者らのデータは、EDTAインキュベーション及びそれに続く透析は、同時精製した混入物の量を低減し、スケール化PMP生成を促進することを示している。

【0423】

実施例18：PMP安定性

この実施例は、PMPが、様々な環境条件で安定していることを実証する。この実施例では、グレープフルーツ及びレモンPMPをモデルPMPとして使用する。

【0424】

a) SECと組み合わせてTFFを用いるグレープフルーツPMPの生成

20

レッドオーガニックグレープフルーツ（Florida）は、現地のWhole Foods Market（登録商標）から取得した。PMP生成のワークフローを図5Aに描く。果汁絞り機を用いて1リットルのグレープフルーツ果汁を収集した後、3000×gで20分、続いて10,000×gで40分遠心分離することにより、大きい残屑を除去した。次に、500mM EDTA pH8.6を最終濃度50mM EDTA、pH7まで添加し、カルシウムをキレート化すると共に、ペクチン高分子の形成を防止するために、溶液を30分間インキュベートした。続いて、果汁を11µm、1µm及び0.45µmフィルタに通して大きい粒子を除去した。濾過した果汁をタンジェンシャルフロー濾過（TFF）（孔径5nm）により400ml（2.5×）まで濃縮及び洗浄（500mlのPBS）した後、300kDa透析膜を用いてPBS pH7.4中で一晩透析して（1回の培地交換を含む）、混入物を除去した。その後、透析した果汁をTFFにより50mlの最終濃度（20×）まで濃縮した。次に、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、PMP含有画分を溶出し、これを、280nmでの吸光度（SpectraMax（登録商標））及びタンパク質濃度アッセイ（Pierce（商標）BCA assay, ThermoFisher）により分析して、PMP含有画分と、混入物を含有する後期画分を確認した（図5B及び5C）。SEC画分4～6は、精製PMPを含有しており（画分8～14は、混入物を含有した）、これらを一緒にプールして、0.8µm、0.45µm及び0.22µmシリンジフィルタを用いた連続濾過により濾過滅菌した。製造者によって提供される濃度及び粒径標準を用い、NanoFCMにより、合わせた滅菌PMP含有画分の最終PMP濃度（ 1.32×10^{11} PMP/mL）及びメジアンPMP粒径（71.9nm+/-14.5nm）を決定した。

30

40

【0425】

b) SECと組み合わせてTFFを用いるレモンPMPの生成

レモンは、現地のWhole Foods Market（登録商標）から取得した。果汁絞り機を用いて1リットルのレモン果汁を収集した後、3000gで20分、続いて10,000gで40分遠心分離することにより、大きい残屑を除去した。次に、500mM EDTA pH8.6を最終濃度50mM EDTA、pH7まで添加し、カルシウムをキレート化すると共に、ペクチン高分子の形成を防止するために、溶液を30分間インキュベートした。続いて、果汁をコーヒーフィルタ、1µm及び0.45µmフィルタに通して大きい粒子を除去した。濾過した果汁をタンジェンシャルフロー濾過（TFF）（

50

孔径5 nm)により400 mL (2.5×濃縮)まで濃縮した後、300 kDa透析膜を用いてPBS pH7.4中で一晚透析して、混入物を除去した。その後、透析した果汁をTFFにより、50 mLの最終濃度(20×)までさらに濃縮した。次に、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、PMP含有画分を溶出し、これを、280 nmでの吸光度(SpectraMax (登録商標))及びタンパク質濃度アッセイ(Pierce (商標) BCA assay, ThermoFisher)により分析して、PMP含有画分及び混入物を含有する後期画分を確認した(図5D及び5E)。SEC画分4~6は、精製PMPを含有しており(画分8~14は、混入物を含有した)、これらを一緒にプールして、0.8 µm、0.45 µm及び0.22 µmシリンジフィルタを用いた連続濾過により濾過滅菌した。製造者によって提供される濃度及び粒径標準を用い、NanoFCMにより、合わせた滅菌PMP含有画分の最終PMP濃度(2.7×10^{11} PMP/mL)及びメジアンPMP粒径(70.7 nm+/-15.8 nm)を決定した。

【0426】

c) 4℃でのグレープフルーツ及びレモンPMPの安定性

実施例18a及び18bに記載のように、グレープフルーツ及びレモンPMPを生成した。NanoFCMを用いた、サンプル中の総PMPの濃度(PMP/mL)の経時的測定により、PMPの安定性を評価した。安定性試験は、4℃の暗所において46日間実施した。PMPのアリコートは4℃で保存し、所定の日にNanoFCMにより分析した。サンプル中の総PMPの濃度を分析した(図5H)。46日の実験の開始及び終了点の間のレモン及びグレープフルーツPMPの相対測定PMP濃度は、それぞれ119%及び107%であった。本発明者らのデータは、PMPが4℃で少なくとも46日間にわたって安定していることを示している。

【0427】

d) レモンPMPの凍結融解安定性

PMPの凍結融解安定性を決定するために、現地のWhole Foods Market (登録商標)で購入した有機レモンからレモンPMPを生成した。果汁絞り機を用いて1リットルのレモン果汁を収集した後、3000 gで20分、続いて10,000 gで40分遠心分離することにより、大きい残屑を除去した。次に、500 mM EDTA pH8.6を最終濃度50 mM EDTA、pH7.5まで添加し、カルシウムをキレートすると共に、ペクチン高分子の形成を防止するために、30分間インキュベートした。続いて、果汁を11 µm、1 µm及び0.45 µmフィルタに通して大きい粒子を除去した。濾過した果汁をタンジェンシャルフロー濾過(TFF)により400 mLの最終濃度(2.5×濃縮)まで濃縮すると共に400 mLのPBS、pH7.4で洗浄した後、300 kDa透析膜を用いてPBS pH7.4中で一晚透析して、混入物を除去した。その後、透析した果汁をTFFにより、60 mLの最終濃度(約17×)までさらに濃縮した。次に、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、PMP含有画分を溶出し、これを、280 nmでの吸光度(SpectraMax (登録商標))及びタンパク質濃度アッセイ(Pierce (商標) BCA assay, ThermoFisher)により分析して、PMP含有画分と、混入物を含有する後期画分を確認した。SEC画分4~6は、精製PMPを含有しており(画分8~14は、混入物を含有した)、これらを一緒にプールして、0.8 µm、0.45 µm及び0.22 µmシリンジフィルタを用いた連続濾過により濾過滅菌した。製造者によって提供される濃度及び粒径標準を用いて、NanoFCMにより、合わせた滅菌PMP含有画分の最終PMP濃度(6.92×10^{12} PMP/mL)を決定した。

【0428】

レモンPMPを-20℃又は-80℃で1週間凍結し、室温で解凍した後、NanoFCMにより濃度を測定した(図5I)。データは、レモンPMPが、-20℃又は-80℃で1週間の保存後、1回の凍結融解サイクル後に安定していることを示している。

【0429】

実施例19：植物細胞培地からのPMP生成

この実施例は、植物細胞培地からPMPを生成することができることを実証する。この実施例では、ゼア・マيس (Zea mays) ブラック・メキシカン・スイート (Black Mexican sweet) (BMS) 細胞株をモデル植物細胞株として使用する。

【0430】

a) ゼア・マيس (Zea mays) BMS細胞株PMPの生成

ゼア・マيس (Zea mays) ブラック・メキシカン・スイート (Black Mexican sweet) (BMS) 細胞株をABRCから購入し、24℃で、4.3 g/Lのムラシゲスクーグ塩基塩混合物 (Sigma M5524)、2%ショ糖 (S0389, Millipore Sigma)、1×MSビタミン溶液 (M3900, Millipore Sigma)、2mg/Lの2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (D7299, Millipore Sigma) 及び250 µg/LのチアミンHCL (V-014, Millipore Sigma) を含有するムラシゲスクーグ塩基培地 pH 5.8 中で、攪拌 (110 rpm) しながら増殖させ、7日おきに、20%容積/容積で継代培養した。

【0431】

継代から3日後、160 mlのBMS細胞を収集し、500×gで5分スピンドウンして、細胞を除去し、続いて10,000×gでスピンドウンして、大きい残屑を除去した。培地を0.45 µmフィルタに通して大きい粒子を除去し、濾過した培地をTFF (孔径5 nm) により4 mL (40×) まで濃縮及び洗浄 (100 mL MESバッファー、20 mM MES、100 mM NaCl, pH 6) した。次に、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、PMP含有画分を溶出し、これを、280 nmでの吸光度 (SpectraMax (登録商標)) 及びタンパク質濃度アッセイ (Pierce (商標) BCA assay, ThermoFisher) により分析して、PMP含有画分と、混入物を含有する後期画分を確認した (図6A~6C)。SEC画分4~6は、精製PMPを含有しており (画分9~13は、混入物を含有した)、これらを一緒にプールした。製造者によって提供される濃度及び粒径標準を用い、NanoFCMにより、合わせたPMP含有画分の最終PMP濃度 (2.84×10^{10} PMP/mL) 及びメジアンPMP粒径 (63.2 nm+/-12.3 nm SD) を決定した。

【0432】

これらのデータは、植物液体培地からPMPを単離、精製及び濃縮することができることを示している。

【0433】

実施例20：細菌及び真菌によるPMPの取込み

この実施例は、細菌及び真菌と結合し、且つそれらに取り込まれるPMPの能力を実証する。この実施例では、グレープフルーツ及びレモンPMPをモデルPMPとして使用し、大腸菌 (Escherichia coli) 及び緑膿菌 (Pseudomonas aeruginosa) をモデル病原菌として使用し、サッカロミセス・セレビシエ (Saccharomyces cerevisiae) をモデル病原真菌として使用する。

【0434】

a) DyLight 800 NHS Esterによるグレープフルーツ及びレモンの標識

グレープフルーツ及びレモンPMPは、実施例18a及び18bに記載のように生成した。DyLight 800 NHS Ester (Life Technologies、#46421) 共有結合膜色素 (DyL800) でPMPを標識した。手短には、DyL800をDMSOに最終濃度10 mg/mLまで溶解させてから、200 µLのPMPを5 µLの色素と混合し、室温のシェーカー上で1 hインキュベートした。4℃、100,000×gで1 hrの超遠心分離により、標識PMPを2~3回洗浄した後、ペレットを1.5 mLのUltraPure水で再懸濁させた。潜在的な色素凝集体の存在を照査するために、PMPの代わりに200 µLのUltraPure水を添加して、同じ手順に従い、色素単独の対照サンプルを調製した。最終DyL800標識PMPペレット及びD

y L 8 0 0 色素単独対照を最小量のUltraPure水に再懸濁させ、NanoFCMにより特性決定した。グレープフルーツDy L 8 0 0 標識PMPの最終濃度は、 4.44×10^{12} PMP/mlで、メジアンDy L 8 0 0 - PMP粒径は、 $72.6 \text{ nm} + / - 14.6 \text{ nm}$ (図7A) であり、レモンDy L 8 0 0 標識PMPの最終濃度は、 5.18×10^{12} PMP/mlで、平均Dy L 8 0 0 - PMP粒径は、 $68.5 \text{ nm} + / - 14 \text{ nm}$ (図7B) であった。

【0435】

b. 酵母によるDy L 8 0 0 標識グレープフルーツ及びレモンPMPの取込み

サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) (ATCC、#9763) を酵母エキスペプトンデキストロースブロス (YPD) 上で増殖させ、 30°C で維持した。酵母によりPMPが取り込まれ得るか否かを決定するために、新鮮な5mlの酵母培養物を 30°C で一晚増殖させ、細胞を $1500 \times g$ で5分ペレット化した後、10mlの水に再懸濁させた。酵母細胞を10mlの水で1回洗浄し、10mlの水に再懸濁させ、振盪しながら 30°C で2hインキュベートすることにより、細胞を栄養飢餓にした。次に、95ulの酵母細胞を5ulの水 (陰性対照)、Dy L 8 0 0 色素単独対照 (色素凝集体対照) 又はDy L 8 0 0 - PMPのいずれかと、1.5mlチューブ内に最終濃度 5×10^{10} Dy L 8 0 0 - PMP/mlまで混合した。サンプルを振盪しながら 30°C で2hインキュベートした。次に、処理した細胞を1mlの洗浄バッファー (0.5%トリトンX-100を補充した水) で洗浄し、5分インキュベートした後、 $1500 \times g$ で5分スピンドウンした。上清を除去し、酵母細胞をさらに3回洗浄して、細胞により取り込まれていないPMPを除去し、最後に水でデタージェントを除去した。酵母細胞を100ulの水に再懸濁させ、透明底の96ウェルプレートに移し、800nm励起での相対蛍光強度 (A.U.) をOdyssey (登録商標) CLx scanner (Li-Cor) で測定した。

【0436】

酵母によるDy L 8 0 0 - PMP取込みを評価するために、サンプルをDy L 8 0 0 色素単独対照に対して正規化し、グレープフルーツ及びレモンDy L 8 0 0 - PMP相対蛍光強度を比較した。本発明者らのデータは、サッカロミセス・セレビシエ (*Saccharomyces cerevisiae*) がPMPを取り込むことを示し、レモン及びグレープフルーツDy L 8 0 0 - PMPの間に取込みの差は見られなかった (図7C)。

【0437】

c) 細菌によるDy L 8 0 0 標識グレープフルーツ及びレモンPMPの取込み

細菌及び酵母株を供給者の指示の通りに維持した：大腸菌 (*E. coli*) (Ec、ATCC、#25922) は、 37°C においてトリプチケースソイ寒天培地/ブロス上で増殖させ、及び緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) (Pa, ATCC) は、 37°C において50mg/mlのリファンピシンを含むトリプチックソイ寒天培地/ブロス上で増殖させた。

【0438】

細菌によってPMPが取り込まれ得るか否かを決定するために、新鮮な5mlの細菌培養物を一晚で増殖させ、細胞を $3000 \times g$ で5分ペレット化した後、5mlの10mM MgCl_2 に再懸濁させ、5mlの10mM MgCl_2 で1回洗浄してから、5mlの10mM MgCl_2 に再懸濁させた。インキュベータを約200rpmで振盪しながら 37°C (Ec) 又は 30°C (Pa) で2hインキュベートすることにより、細胞を栄養飢餓にした。OC600を測定して、細胞密度を約 10×10^9 CFU/mlに調節した。次に、95ulの細菌細胞を5ulの水 (陰性対照)、Dy L 8 0 0 色素単独対照 (色素凝集体対照) 又はDy L 8 0 0 - PMPのいずれかと、1.5mlチューブ内に最終濃度 5×10^{10} Dy L 8 0 0 - PMP/mlにおいて混合した。サンプルを振盪しながら 30°C で2hインキュベートした。次に、処理した細胞を1mlの洗浄バッファー (0.5%トリトンX-100を含む10mM MgCl_2) で洗浄し、5分インキュベートした後、 $3000 \times g$ で5分スピンドウンした。上清を除去し、酵母細胞をさらに3回洗浄して

、細胞により取り込まれていないPMPを除去し、1mlの10mM $MgCl_2$ でもう1回デタージェントを除去した。細菌細胞を100ulの10mM $MgCl_2$ に再懸濁させ、透明底の96ウェルプレートに移し、800nm励起での相対蛍光強度(A.U.)をOdyssey(登録商標)CLx scanner(Li-Cor)で測定した。
【0439】

細菌によるDyL800-PMP取込みを評価するために、サンプルをDyL800色素単独対照に対して正規化し、グレープフルーツ及びレモンDyL800-PMP相対蛍光強度を比較した。本発明者らのデータは、試験した全ての細菌種がPMPを取り込むことを示す(図7C)。一般に、レモンPMPが優先的に取り込まれた(グレープフルーツPMPより高いシグナル強度)。大腸菌(*E. coli*)及び緑膿菌(*P. aeruginosa*)が、最も高いDyL800-PMP取込みを示した。

10

【0440】

実施例21：昆虫細胞によるPMP取込み

この実施例は、昆虫細胞と結合し、それによって取り込まれるPMPの能力を実証する。この実施例では、sf9ツマジロクサヨトウ(*Spodoptera frugiperda*) (昆虫)細胞及びS2キイロショウジョウバエ(*Drosophila melanogaster*) (昆虫)細胞株をモデル昆虫細胞として使用し、レモンPMPをモデルPMPとして使用する。

【0441】

a) レモンPMPの生成

20

現地のWhole Foods Market(登録商標)からレモンを取得した。果汁絞り機を用いてレモン果汁(3.3L)を収集した後、NaOHでpHをpH4に調節し、0.5U/mlのペクチナーゼ(Sigma, 17389)と一緒にインキュベートして、ペクチン混入物を除去した。攪拌しながら、果汁を室温で1時間インキュベートし、4℃で一晩保存した後、3000gで20分、続いて10,000gで40分遠心分離することにより、大きい残屑を除去した。次に、カルシウムをキレート化すると共に、ペクチン高分子の形成を防止するために、処理果汁を、最終濃度50mM EDTA、pH7.5まで500mM EDTA pH8.6と一緒に室温で30分インキュベートした。続いて、EDTA処理果汁を11µm、1µm及び0.45µmフィルタに通して大きい粒子を除去した。濾過した果汁を洗浄し(TFF工程中、300mlのPBS)、タンジェンシャルフロー濾過(TFF)により総体積1350mlまで2×濃縮した後、300kDa透析膜を用いて一晩透析した。続いて、透析した果汁をさらに洗浄し(TFF工程中、500mlのPMS)、TFFにより、160mlの最終濃度(約20×)まで濃縮した。次に、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、PMP含有画分を溶出し、280nmでの吸光度(SpectraMax(登録商標))を分析して、混入物を含有する後期溶出画分からのPMP含有画分を決定する。精製PMPを含有するSEC画分4~7と一緒にプールして、0.85µm、0.4µm及び0.22µmシリンジフィルタを用いた連続濾過により濾過滅菌し、40,000×gで1.5hrにわたりPMPをペレット化することによりさらに濃縮し、最後にペレットをUltraclean水に再懸濁させる。製造者によって提供される濃度及び粒径標準を用いて、ナノフローサイトメトリー(NanoFCM)により、最終PMP濃度(1.53×10^{13} PMP/ml)及びメジアンPMP粒径($72.4 \text{ nm} + / - 19.8 \text{ nm SD}$) (図8A)を決定し、Pierce(商標)BCAアッセイ(ThermoFisher)によりPMPタンパク質濃度(12.317 mg/ml)を決定した。

30

40

【0442】

b) Alexa Fluor 488 NHS EsterによるレモンPMPの標識

レモンPMPをAlexa Fluor 488 NHS Ester(Life Technologies、共有結合膜色素(AF488))で標識した。手短には、AF488を最終濃度10mg/mlまでDMSOに溶解させ、200µlのPMP(1.53×10^{13} PMP/ml)を5µlの色素と混合し、室温において、シェーカー上で1hイン

50

キュベートした後、4℃で1hrの100,000×gの超遠心分離により、標識PMPを2～3回洗浄した後、ペレットを1.5mlのUltraPure水に再懸濁させた。潜在的な色素凝集体の存在を照査するために、PMPの代わりに200ulのUltraPure水を添加して、同じ手順に従い、色素単独の対照サンプルを調製した。最終AF488標識PMPペレット及びAF488色素単独対照を最小量のUltraPure水に再懸濁させ、NanoFCMにより特性決定した。AF488標識PMPの最終濃度は、 1.33×10^{13} PMP/mlで、メジアンAF488-PMP粒径は、 $72.1 \text{ nm} + / - 15.9 \text{ nm SD}$ であり、99%の標識効率が達成された（図8B）。

【0443】

c) レモンAF488-PMPによる昆虫細胞の処理

実施例21a及び21bに記載のように、レモンPMPを生成及び標識した。sf9ツマジロクサヨトウ (*Spodoptera frugiperda*) 細胞株をThermoFisher Scientific (#B82501) から取得し、10%熱不活性化ウシ胎仔血清を補充したTNM-FH昆虫培地 (Sigma Aldrich, T1032) に維持した。S2キイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) 細胞株は、ATCC (#CRL-1963) から取得し、10%熱不活性化ウシ胎仔血清を補充したシュナイダー昆虫培地 (Schneider's *Drosophila* medium) に維持した。両細胞株を26℃で増殖させた。PMP処理のために、2mlの完全培地の入った24ウェルプレート内の滅菌0.01%ポリ-L-リシン塗布ガラスカバースリップ上にS2/Sf9細胞を50%密集において接種し、一晩かけてカバースリップに接着させた。次に、10ulのAF488色素単独（色素凝集物対照）、レモンPMP（PMP単独対照）又はAF488-PMPを添加することにより細胞を処理して、サンプルを2回反復して調製し、これらを26℃で2hインキュベートした。最終濃度は、1ウェル当たり 1.33×10^{11} PMP/AF488-PMPであった。次に、細胞を1mlのPBSで2回洗浄し、PBS中の4%ホルムアルデヒドで15分固定した。続いて、細胞をPBS+0.02%トリトンX-100で15分間透過処理した後、核を1:1000 DAPI溶液で30分染色した。細胞をPBSで1回洗浄してから、光退色を低減するために、カバースリップをProLong (商標) Gold Antifade (ThermoFisher Scientific) と一緒にスライドガラスに載せた。樹脂を一晩配置し、100×対物レンズを用いるOlympus落射蛍光顕微鏡で細胞を検査し、0.25umインクリメントで10umのZ-stackイメージを撮影した。S2キイロショウジョウバエ (*D. melanogaster*) 及びS9L、フルギペルダ (*L. frugiperda*) 細胞の双方について類似の結果が得られた。AF488色素単独対照及びPMP単独対照には緑色蛍光輝点は観察されなかったが、AF488-PMPで処理した昆虫細胞のほぼ全てが、昆虫細胞内に緑色蛍光輝点を示した。エンドソームコンパートメント上に複数の明るく、より大きい輝点の徴候を有する細胞質に強いシグナルがあった。488チャンネル内のDAPIの漏れ込み (bleed through) のために、核内のAF488-PMPの存在を評価することは不可能であった。sf9細胞の場合、試験細胞の94.4% (n=38) が緑色蛍光輝点を示したが、これは、対照サンプルであるAF488色素単独 (n=68) 又はPMP単独 (n=42) 対照には観察されなかった。

【0444】

本発明者らのデータは、PMPが、昆虫細胞膜と結合することができ、且つ昆虫細胞により効率的に取り込まれ得ることを示している。

【0445】

実施例22：小分子によるPMPのローディング

この実施例は、様々なPMP供給源及び封入方法を用いて、薬剤を送達する目的でモデル小分子をPMPにロードすることを実証する。この実施例では、ドキシソルピシンをモデル小分子として使用し、レモン及びグレープフルーツPMPをモデルPMPとして使用する。

【0446】

本発明者らは、ドキソルビシンをPMPに効率的にロードすることができること及びロードPMPが4℃で少なくとも8週間にわたって安定していることを証明する。

【0447】

a) SECと組み合わせてTFFを用いるグレープフルーツPMPの生成

ホワイトグレープフルーツ (Florida) は、現地のWhole Foods Market (登録商標) から取得した。果汁絞り機を用いて1リットルのグレープフルーツ果汁を収集した後、3000×gで20分、続いて10,000×gで40分遠心分離することにより、大きい残屑を除去した。次に、500mM EDTA pH8.6を最終濃度50mM EDTA、pH7まで添加し、カルシウムをキレート化すると共に、ペクチン高分子の形成を防止するために、30分間インキュベートした。続いて、果汁をコーヒーフィルタ並びに1μm及び0.45μmフィルタに通して大きい粒子を除去した。濾過した果汁をタンジェンシャルフロー濾過 (TFF、孔径5nm) により400mlまで濃縮した後、300kDa透析膜を用いてPBS pH7.4中で一晚透析して、混入物を除去した。その後、透析した果汁をTFFにより、50mlの最終濃度 (20×) までさらに濃縮した。次に、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、PMP含有画分を溶出し、これを、280nm吸光度 (SpectraMax (登録商標)) により分析して、PMP含有画分と、混入物を含有する後期画分を確認した (図9A)。精製PMPを含有するSEC画分4~6を一緒にプールして、1.5hrの40,000×gでPMPをペレット化し、Ultracapture水にペレットを再懸濁させることによりさらに濃縮した。製造者によって提供される濃度及び粒径標準を用いて、NanoFCMにより、最終PMP濃度 (6.34×10^{12} PMP/ml) 及びメジアンPMP粒径 (63.7nm+/-11.5nm (SD)) を決定した (図9B及び9C)。

【0448】

b) SECと組み合わせてTFFを用いるレモンPMPの生成

レモンは、現地のWhole Foods Market (登録商標) から取得した。果汁絞り機を用いて1リットルのレモン果汁を収集した後、3000gで20分、続いて10,000gで40分遠心分離することにより、大きい残屑を除去した。次に、500mM EDTA pH8.6を最終濃度50mM EDTA、pH7まで添加し、カルシウムをキレート化し、ペクチン高分子の形成を防止するために、30分間インキュベートした。続いて、果汁をコーヒーフィルタ、1μm及び0.45μmフィルタに通して大きい粒子を除去した。濾過した果汁をタンジェンシャルフロー濾過 (TFF、孔径5nm) により400mlまで濃縮した後、300kDa透析膜を用いてPBS pH7.4中で一晚透析して、混入物を除去した。その後、透析した果汁をTFFにより、50mlの最終濃度 (20×) までさらに濃縮した。次に、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、PMP含有画分を溶出し、これを、280nmでの吸光度 (SpectraMax (登録商標)) により分析して、PMP含有画分と、混入物を含有する後期画分を確認した (図9D)。精製PMPを含有するSEC画分4~6を一緒にプールして、40,000×gでPMPを1.5hrペレット化し、Ultracapture水にペレットを再懸濁させることによりさらに濃縮した。製造者によって提供される濃度及び粒径標準を用いて、NanoFCMにより、最終PMP濃度 (7.42×10^{12} PMP/ml) 及びメジアンPMP粒径 (68nm+/-17.5nm (SD)) を決定した (図9E及び9F)。

【0449】

c) レモン及びグレープフルーツPMPへのドキソルビシンのパッシブローディング

ドキソルビシン (DOX) をロードするために、グレープフルーツ (実施例22a) 及びレモン (実施例22b) PMPを使用した。ドキソルビシン (DOX, Sigma PHR1789) のストック溶液を、Ultracapture水 (Ultracapture (商標) DNase/RNase-Free Distilled Water, ThermoFisher, 10977023) 中10mg/mLの濃度で調製し、濾過滅菌 (0.22μm) した後、4℃で保存した。0.5mLのPMPを0.25mLのDOX溶液と混合し

10

20

30

40

50

た。混合物中の最終DOX濃度は、 3.3 mg/mL であった。グレープフルーツ（GF）PMPの初期粒子濃度は、 $9.8 \times 10^{12} \text{ PMP/mL}$ であり、レモン（LM）PMPについて $1.8 \times 10^{13} \text{ PMP/mL}$ であった。暗所において、混合物を 25°C 、 100 rpm で4時間攪拌した。次に、混合物をUltra pure水で3.3倍希釈し（混合物中のDOXの最終濃度は 1 mg/mL ）、2つの等量部分（パッシブローディングのための 1.25 mL と、アクティブローディングのための 1.25 mL ）に分割した（実施例22d）。両方のサンプルを暗所において、 25°C 、 100 rpm でさらに23hインキュベートした。ステップは全て、滅菌条件下で実施した。

【0450】

DOXのパッシブローディングのために、非ロード又は結合の弱いDOXを除去するためにサンプルを超遠心分離により精製した。混合物を6つの等量部分（各々 200 uL ）に分割し、滅菌水（ 1.3 mL ）を添加した。 1.5 mL 超遠心機用チューブ内でサンプルをスピンドウン（ $40,000 \times g$ 、 1.5 h 、 4°C ）した。PMP-DOXペレットを滅菌水に再懸濁させてから、2回スピンドウンした。サンプルを 4°C で3日間維持した。使用前に、DOXロードPMPを超遠心分離（ $40,000 \times g$ 、 1.5 h 、 4°C ）によりもう1回洗浄した。最終ペレットを滅菌Ultra pure水に再懸濁させた後、後の使用まで 4°C で保存した。PMP中のDOXの濃度は、SpectraMax分光光度計（ $E_x/E_m = 485/550 \text{ nm}$ ）により決定し、粒子の総数の濃度は、ナノフローサイトメトリー（NanoFCM）により決定した。

【0451】

d) レモン及びグレープフルーツPMPへのドキシソルビシンのアクティブローディング
ドキシソルビシン（DOX）のローディングのために、グレープフルーツ（実施例22a）及びレモン（実施例22b）PMPを使用した。ドキシソルビシン（DOX, Sigma PHR1789）のストック溶液を、Ultra pure水（ThermoFisher, 10977023）中 10 mg/mL の濃度で調製し、滅菌（ 0.22 um ）した後、 4°C で保存した。 0.5 mL のPMPを 0.25 mL のDOX溶液と混合した。混合物中の最終DOX濃度は、 3.3 mg/mL であった。グレープフルーツ（GF）PMPの初期粒子濃度は、 $9.8 \times 10^{12} \text{ PMP/mL}$ であり、レモン（LM）PMPについて $1.8 \times 10^{13} \text{ PMP/mL}$ であった。暗所において、混合物を 25°C 、 100 rpm で4時間攪拌した。次に、混合物をUltra pure水で3.3倍希釈し（混合物中のDOXの最終濃度は 1 mg/mL であった）、2つの等量部分（パッシブローディング（実施例22c）のための 1.25 mL と、アクティブローディングのための 1.25 mL ）に分割した。両方のサンプルを暗所において、 25°C 、 100 rpm でさらに23hインキュベートした。全てのステップを滅菌条件下で実施した。

【0452】

25°C で1日のインキュベーション後、混合物を 4°C で4日間維持した。次に、混合物を 42°C の超音波浴（Branson 2800）で30分超音波処理し、ボルテックスした後、もう1回20分超音波処理した。次に、混合物を滅菌水で2倍に希釈し、Avanti Mini Extruder（Avanti Lipids）を用いて押し出した。脂質二重層の数及び全体の粒径を低減するために、漸減方式：グレープフルーツ（GF）PMPの場合、 800 nm 、 400 nm 及び 200 nm ；及びレモン（LM）PMPの場合、 800 nm 、 400 nm で、DOXロードPMPを押し出した。非ロード又は結合の弱いDOXを除去するために、サンプルを超遠心分離アプローチにより洗浄した。具体的には、サンプル（ 1.5 mL ）を滅菌Ultra pure水（計 6.5 mL ）で希釈し、 7 mL 超遠心機用チューブにおいて、 4°C 、 $40,000 \times g$ で1h、2回スピンドウンした。最終ペレットを滅菌Ultra pure水に再懸濁させた後、後の使用まで 4°C で保存した。

【0453】

e) パッシブ及びアクティブローディングにより調製されたDOXロードPMPのロード能力の決定

PMPにおけるDOXのロード能力を評価するために、SpectraMax（登録商標）分光光度計を用いた蛍光強度測定（ $E_x/E_m = 485/550\text{ nm}$ ）により、DOX濃度を評価した。0～83.3 $\mu\text{g/mL}$ の遊離DOXの較正曲線を使用した。DOXロードPMP及びDOX複合体（ π - π スタッキング）を解離するために、蛍光測定前に、サンプル及び標準を1% SDSと一緒に37℃で30分間インキュベートした。ロード能力（1000粒子当たりのpg DOX）は、DOXの濃度（pg/mL）をPMPの総濃度（PMP/mL）で割った商として計算した（図9G）。パッシブロードされたPMPのロード能力は、1000PMPについて0.55 pg DOX（GF PMP-DOX）及び0.25 pg DOX（LM PMP-DOX）であった。アクティブロードされたPMPのロード能力は、1000PMPにつき、0.23 pg DOX（GF PMP-DOX）及び0.27 pg DOX（LM PMP-DOX）であった。

10

【0454】

f) ドキソルビシンロードグレープフルーツ及びレモンPMPの安定性

DOXロードPMPの安定性は、NanoFCMを用いて、サンプル中の総PMPの濃度（PMP/mL）の経時的測定により評価した。安定性試験を4℃の暗所で8週間実施した。PMP-DOXのアリコートに4℃で保存し、所定の日 NanoFCMにより分析した。PMP-DOXの粒径は、有意に変化しなかった。従って、パッシブロードGF PMPの場合、平均粒径の範囲は、2ヶ月にわたって70～80 nmであった。サンプル中の総PMPの濃度を分析した（図9H）。パッシブロードGF PMPの濃度範囲は、4℃で8週間にわたり、 $2.06 \times 10^{11} \sim 3.06 \times 10^{11}$ PMP/mLであり、アクティブロードGF PMPについて $5.55 \times 10^{11} \sim 9.97 \times 10^{11}$ PMP/mLであり、パッシブロードLM PMPについて $8.52 \times 10^{11} \sim 1.76 \times 10^{12}$ PMP/mLであった。本発明者らのデータは、DOXロードPMPが、4℃で8週間にわたって安定していることを示す。

20

【0455】

実施例23：小分子ロードPMPによる細菌及び真菌の処理

この実施例は、病原菌及び病原真菌の適応度を低減させる目的で小分子をロードし得るPMPの能力を実証する。この実施例では、グレープフルーツPMPをモデルPMPとして使用し、大腸菌（*E. coli*）及び緑膿菌（*P. aeruginosa*）をモデル病原菌として使用し、酵母*S. cerevisiae*（*S. cerevisiae*）をモデル病原真菌として使用し、ドキソルビシンをモデル小分子として使用する。ドキソルビシンは、ストレプトマイセス・ペウセティウス var. カエシウス（*Streptomyces peucetius* var. *caesius*）の培養物から単離した細胞傷害性アントラサイクリン抗生物質である。ドキソルビシンは、インターカレーションによりDNAと相互作用し、DNA複製及びRNA転写の両方を阻害する。ドキソルビシンは、抗生物質活性を有することが明らかにされている（Westman et al., Chem Biol, 19(10):1255-1264, 2012）。

30

【0456】

a) SECと組み合わせてTFFを用いるグレープフルーツPMPの生成

レッドオーガニックグレープフルーツは、現地のWhole Foods Market（登録商標）から取得した。PMP生成のワークフローの概要を図10Aに記載する。果汁絞り機を用いて4リットルのグレープフルーツ果汁を収集し、NaOHでpH4にpH調節し、1U/mLのペクチナーゼ（Sigma, 17389）と一緒にインキュベートして、ペクチン混入物を除去した後、3,000gで20分、続いて10,000gで40分遠心分離することにより、大きい残屑を除去した。次に、カルシウムをキレート化し、ペクチン高分子の形成を防止するために、処理した果汁を500mM EDTA pH8.6（最終濃度50mM EDTA、pH7.7まで）と一緒に30分間インキュベートした。続いて、EDTA処理した果汁を11 μm 、1 μm 及び0.45 μm フィルタに通して大きい粒子を除去した。濾過した果汁を、300kDa TFFを用いるタンジェンシャルフロー濾過（TFF）により洗浄及び濃縮した。果汁を5×濃縮した後、PBSを

40

50

用いた6容量交換洗浄を実施し、最終濃度198mL(20×)までさらに濾過した。次に、サイズ排除クロマトグラフィーを用いて、PMP含有画分を溶出し、これを、280nmでの吸光度(SpectraMax(登録商標))及びタンパク質濃度(Pierce(商標)BCA assay, ThermoFisher)により分析して、PMP含有画分と、混入物を含有する後期画分を確認した(図10B及び10C)。SEC画分3~7は、精製PMPを含有しており(画分9~12は、混入物を含有した)、これらを一緒にプールして、0.8µm、0.45µm及び0.22µmシリンジフィルタを用いた連続濾過により濾過滅菌した後、PMPを40,000×gで1.5hrにわたってペレット化し、4mLのUltraPure(商標)DNase/RNase-Free Distilled Water(ThermoFisher, 10977023)にペレットを再懸濁させることにより、さらに濃縮した。製造者によって提供される濃度及び粒径標準を用い、NanoFCMにより、最終PMP濃度(7.56×10^{12} PMP/mL)及び平均PMP粒径($70.3 \text{ nm} + / - 12.4 \text{ nm SD}$)を決定した(図10D及び10E)。生成されたグレープフルーツPMPは、ドキシソルビシンをロードするために使用した。

【0457】

b) グレープフルーツPMPへのドキシソルビシンのローディング

実施例23aで生成したグレープフルーツPMPをドキシソルビシン(DOX)のローディングに使用した。ドキシソルビシン(Sigma PHR1789)のストック溶液を、UltraPure水中10mg/mLの濃度で調製し、濾過滅菌(0.22µm)した。滅菌グレープフルーツPMP(粒子濃度 7.56×10^{12} PMP/mLで3mL)を1.29mLのDOX溶液と混合した。混合物中の最終DOX濃度は、3mg/mLであった。40℃まで昇温させながら、混合物を超音波浴(Branson 2800)で20分超音波処理した後、超音波のない浴中でさらに15分維持した。暗所において混合物を24℃、100rpmで4時間攪拌した。次に、混合物を、Avanti Mini Extruder(Avanti Lipids)を用いて押し出した。脂質二重層の数及び全体の粒径を低減するために、漸減方式:800nm、400nm及び200nmで、DOXロードPMPを押し出した。押し出したサンプルを、TCフード内において、0.8µm及び0.45µmフィルタ(Millipore、直径13mm)に順次通過させることにより、濾過滅菌した。非ロード又は結合の弱いDOXを除去するために、超遠心分離アプローチを用いて、サンプルを精製した。具体的には、1.5mL超遠心機用チューブにおいて、100,000×g、4℃で1hスピンドウンした。上清をさらなる分析のために収集し、4℃で保存した。ペレットを滅菌水に再懸濁させ、同じ条件下で超遠心分離させた。このステップを4回繰り返した。最終ペレットを滅菌UltraPure水に再懸濁させた後、次の使用まで4℃で保存した。

【0458】

次に、粒子の濃度及びPMPのロード能力を決定した。NanoFCMを用いて、サンプル中のPMPの総数(4.76×10^{12} PMP/mL)及びメジアン粒径($72.8 \text{ nm} + / - 21 \text{ nm SD}$)を決定した。SpectraMax(登録商標)分光光度計を用いた蛍光強度測定($E_{x}/E_{m} = 485/550 \text{ nm}$)により、DOX濃度を評価した。0~50µg/mLの遊離DOXの較正曲線を滅菌水中で作製した。DOXロードPMP及びDOX複合体(π - π スタッキング)を解離するために、蛍光測定前に、サンプル及び標準を1%SDSと一緒に37℃で45分間インキュベートした。ロード能力(1000粒子当たりのpg DOX)は、DOXの濃度(pg/mL)をPMPの総数(PMP/mL)で割った商として計算した。PMP-DOXロード能力は、1000PMPにつき1.2pg DOXであった。しかし、ロード効率(PMPの総数に対するDOXロードPMPの%)は、DOX蛍光スペクトルをNanoFCMで検出することができなかったため、評価できなかったことに留意すべきである。

【0459】

本発明者らの結果は、PMPが、小分子を効率的にロードすることができることを示し

ている。

【0460】

c) D o x ロードグレープフルーツ P M P による細菌及び酵母の処理

P M P が、細胞傷害性薬剤を送達することができることを立証するために、いくつかの微生物種を実施例 2 3 b からのドキソルビシンロードグレープフルーツ P M P (P M P - D O X) で処理した。

【0461】

供給者により指示される通りに、細菌及び酵母株を維持した：大腸菌 (E . c o l i) (A T C C 、 # 2 5 9 2 2) は、37℃においてトリプチケースソイ寒天培地／ブロス上で増殖させ、緑膿菌 (P s e u d o m o n a s a e r u g i n o s a) (A T C C) は、37℃において50mg／mlのリファンピシンを含むトリプチックソイ寒天培地／ブロス上で増殖させ、及びサッカロミセス・セレビスエ (S a c c h a r o m y c e s c e r e v i s i a e) (A T C C 、 # 9 7 6 3) は、酵母エキスペプトンデキストロースブロス (Y P D) 上で増殖させ、30℃で維持した。処理前に新鮮な1日培養物を一晩増殖させ、使用前の培地でOD (600nm) を0.1ODに調節し、細菌／酵母を処理のための96ウェルプレートに移した (サンプルを2回反復して調製、100μl／ウェル)。細菌／酵母を0 (陰性対照)、5μM、10μM、25μM、50μM及び100μMの有効DOX濃度までのU l t r a p u r e 水中の50μlのPMP-DOX溶液 (1ウェル当たりの最終体積は、150μlであった) で処理した。プレートをアルミニウムホイルで被覆し、37℃ (大腸菌 (E . c o l i) 、緑膿菌 (P . a e r u g i n o s a)) 又は30℃ (S . セレビスエ (S . c e r e v i s i a e)) でインキュベートし、220rpmで撹拌した。

【0462】

600nmでのキネティック吸光度測定をS p e c t r a M a x (登録商標) 分光光度計で実施して、t=0h、t=2h、t=3h、t=4.5h、t=16h (大腸菌 (E . c o l i) 、緑膿菌 (P . a e r u g i n o s a)) 又はt=0.5h、t=1.5h、t=2.5h、t=3.5h、t=4h、t=16h (S . セレビスエ (S . c e r e v i s i a e)) において培養物のODをモニターした。ドキソルビシンは、高DOX濃度で600nm吸光度に一部が漏れ込む (b l e e d i n t o) 広域蛍光スペクトルを有することから、処理用量毎の全てのOD値をまず、その用量の最初の時点 (大腸菌 (E . c o l i) 、緑膿菌 (P . a e r u g i n o s a) についてt=0、S . セレビスエ (S . c e r e v i s i a e) についてt=0.5) のODに対して正規化した。各処理群内において、様々な細菌及び酵母株に対するPMP-DOX処理の細胞傷害作用を比較するために、非処置対照 (100%に設定) と比較して、相対ODを決定した。試験した全ての微生物種は、変動する程度の、PMP-DOXにより誘導される細胞傷害性を示し (図10F~10I)、これは、S . セレビスエ (S . c e r e v i s i a e) を除き、用量依存性であった。S . セレビスエ (S . c e r e v i s i a e) は、PMP-DOXに対して最も感受性が高く、処理から2.5hr後に細胞傷害性応答を示し、処理から16時間後には、試験した最も低い有効用量 (5μM) でIC50に達し、これは、このシリーズで試験した他の全ての微生物に対し10倍超感受性が高い。処理から3時間後、大腸菌 (E . c o l i) は、100μMについてのみIC50に達した。緑膿菌 (P . a e r u g i n o s a) は、PMP-DOXに対して最も感受性が低く、50及び100μMの有効DOX用量で37%の最大増殖低減を示した。本発明者らは、遊離ドキソルビシンも試験し、同じ用量を用いて、細胞傷害性は、PMP-DOX送達よりも早期に誘導されることを見出した。これは、小さいドキソルビシン分子が、脂質膜PMPと比較して、単細胞生物中に容易に拡散することを示しており、脂質膜PMPは、そのカーゴを放出するために、微生物の細胞壁を通過して、原形質膜と直接結合するか、又は細胞内取込み後にエンドソーム膜を介して、標的細胞膜と融合する必要がある。

【0463】

本発明者らのデータは、小分子をロードしたPMPが、多様な細菌及び酵母の適応度に

マイナスの影響を与え得ることを示している。

【0464】

実施例24：タンパク質ロードPMPによる微生物の処理

この実施例は、PMPにタンパク質を外因的にロードすることができ、PMPが、そのカーゴを分解から保護すると共に、PMPが、その機能性カーゴを生物に送達することができることを実証する。この実施例では、グレープフルーツPMPをモデルPMPとして使用し、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 細菌をモデル生物として使用し、ルシフェラーゼタンパク質をモデルタンパク質として使用する。

【0465】

タンパク質及びペプチドベースの薬剤は、抵抗性であるか、又は処理しにくい多様な病原菌及び病原真菌の適応度に影響を与える大きい可能性を有するが、そうした薬剤の不安定性及び製剤化の課題のために、それらの普及は成功していない。

【0466】

a) グレープフルーツPMPへのルシフェラーゼタンパク質のローディング

グレープフルーツPMPは、実施例10aに記載したように生成した。ルシフェラーゼ (Luc) タンパク質は、LSBio (cat. no. LS-G5533-150) から購入し、最終濃度300 µg/mLまでPBS、pH7.4に溶解させた。濾過滅菌したPMPに、Rachael W. Sirianni and Bahareh Behkam (eds.), Targeted Drug Delivery: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 1831から改変したプロトコルを用いて、エレクトロポレーションによりルシフェラーゼタンパク質をロードした。PMP単独 (PMP対照)、ルシフェラーゼタンパク質単独 (タンパク質対照) 又はPMP+ルシフェラーゼタンパク質 (タンパク質ロードPMP) を4.8×エレクトロポレーションバッファー (UltraPure水中100% Optiprep (Sigma, D1556)) と混合して、反応混合物中で最終21% Optiprep濃度を得た (表3を参照されたい)。最終PMP-Lucペレットは水で希釈したため、Optiprepの代わりにUltraPure水とルシフェラーゼタンパク質を混合することにより、タンパク質対照を調製した (タンパク質対照)。サンプルを冷却キュベット内に移し、0.400 kV、125 µF (0.125 mF)、Biorad GenePulser (登録商標) を用いて2つのパルス (4~10 ms) を有する抵抗低100 Ω~高600 Ωで、エレクトロポレートした。反応物を氷上に10分配置し、予め氷冷した1.5 mL超遠心機用チューブに移した。PMPを含有する全てのサンプルを、1.4 mLの超純水の添加により3回洗浄した後、超遠心分離 (4℃、100,000×gで1.5 h) を実施した。最終ペレットを最小量のUltraPure水 (50 µL) に再懸濁させ、使用まで4℃で維持した。エレクトロポレーション後、ルシフェラーゼタンパク質のみを含むサンプルは遠心分離により洗浄せずに、使用まで4℃で保存した。

【0467】

PMPロード能力を決定するために、1マイクロリットルのルシフェラーゼロードPMP (PMP-Luc) と、1マイクロリットルの非ロードPMPを使用した。PMPにロードされたルシフェラーゼタンパク質の量を決定するために、ルシフェラーゼタンパク質 (LSBio, LS-G5533-150) 標準曲線を作製した (10、30、100、300及び1000 ng)。ONE-Glo (商標) ルシフェラーゼアッセイキット (Promega, E6110) を使用し、SpectraMax (登録商標) 分光光度計を用いて発光を測定して、全てのサンプル及び標準のルシフェラーゼ活性を検定した。PMPにロードされたルシフェラーゼタンパク質の量は、ルシフェラーゼタンパク質 (LSBio, LS-G5533-150) の標準曲線を用いて決定し、非ロードPMPサンプル中の発光に対して正規化した。ロード能力 (1E+9粒子当たりのngルシフェラーゼタンパク質) は、ルシフェラーゼタンパク質濃度 (ng) をロードPMP (PMP-Luc) の数で割った商として計算した。PMP-Lucロード能力は、2.76 ngルシフェ

10

20

30

40

50

ラーゼタンパク質／ 1×10^9 PMPであった。

【0468】

本発明者らの結果は、PMPが、封入後に活性を保持するモデルタンパク質でロードされ得ることを示している。

【0469】

表 3. エレクトロポレーションを用いるルシフェラーゼタンパク質ロード計画

	ルシフェラーゼ PMP (タンパク質ロード PMP)	ルシフェラーゼ (タンパク質対照)	PMP (PMP 対照)
ルシフェラーゼタンパク質 (300 µg/mL (µL))	25	25	0
Optiprep 100% (µL)	14.7	0	14.7
UltraPure 水 (µL)	10.3	45	35.3
PMP GF (PMP ストック 濃度= 7.56×10^{12} PMP/mL)	20	0	20
最終体積	70	70	70

注: 25 µL のルシフェラーゼは、7.5 µg のルシフェラーゼタンパク質に相当する。

【0470】

b) ルシフェラーゼタンパク質ロードグレースフルーツPMPによる緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) の処理

緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) (ATCC) は、供給者の指示に従い、50 µg/mL のリファンピシンを補充したトリブチックソイブロスで30 °Cにおいて一晚増殖させた。3,000 × g で5分間の遠心分離により、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) (総量5 mL) を収集した。細胞を10 mL の10 mM MgCl₂ で2回洗浄した後、5 mL の10 mM MgCl₂ に再懸濁させた。OD600を測定し、0.5に調節した。

【0471】

処理は、3 ng のPMP-Luc (Ultrapur 水で希釈)、3 ng の遊離ルシフェラーゼタンパク質 (タンパク質単独対照; Ultrapur 水で希釈) 又はUltrapur 水 (陰性対照) のいずれかを補充した50 µL の再懸濁緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) 細胞を含有する1.5 mL エッペンドルフチューブ中で2回反復して実施した。Ultrapur 水を75 µL まで全てのサンプルに添加した。サンプルを混合し、室温で2 h インキュベートした後、アルミホイルで被覆した。次に、サンプルを6,000 × g で5分遠心分離した後、70 µL の上清を回収し、ルシフェラーゼ検出のために取っておいた。続いて、0.5 % トリトン X-100 を含有する500 µL の10 mM MgCl₂ で細菌ペレットを3回洗浄して、取り込まれていないPMPを除去/バーストした。1 mL の10 mM MgCl₂ による最終洗浄を実施して、残留トリトン X-100 を除去した。970 µL の上清を除去した (30 µL 洗浄バッファー中にペレットを残して) 後、20 µL の10 mM MgCl₂ 及び25 µL のUltrapur 水を添加して、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) ペレットを再懸濁させた。ONE-Glo (商標) ルシフェラーゼアッセイキット (Promega, E6110) を用いて、製造者の指示に従い、ルシフェラーゼタンパク質を測定した。サンプル (細菌ペレット及び上清サンプル) を10分間インキュベートした後、SpectraMax (登録商標) 分光光度計で発光を測定した。

【0472】

ルシフェラーゼタンパク質ロードグレースフルーツPMPで処理した緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) は、遊離ルシフェラーゼタンパク質単独又はUltrapur 水対照 (陰性対照) による処理に対して19.3 倍高いルシフェラーゼ

発現を有し、これは、PMPがそのタンパク質カーゴを細菌中に効率的に送達し得ることを示している（図11）。さらに、上清及び細菌ペレット中の両方で遊離ルシフェラーゼタンパク質レベルは非常に低いため、PMPは、ルシフェラーゼタンパク質を分解から保護すると思われる。処理用量が3 ngのルシフェラーゼタンパク質であったことを考慮し、ルシフェラーゼタンパク質標準曲線に基づき、水中で2時間のRTインキュベーション後の上清又は細菌ペレット中の遊離ルシフェラーゼタンパク質は、 < 0.1 ngのルシフェラーゼタンパク質に相当し、これは、タンパク質分解を示している。

【0473】

本発明者らのデータは、PMPが、タンパク質カーゴを生物に送達することができること並びにPMPは、そのカーゴを環境による分解から保護し得ることを示している。

【0474】

他の実施形態

本発明の一部の実施形態は、以下の番号のパラグラフに含まれる。

1. 複数のPMPを含む病原体防除組成物であって、複数のPMPの各々は、異種病原体防除剤を含み、組成物は、農業若しくは獣医学対象動物病原体又はそれらのベクターへの送達のために製剤化される、病原体防除組成物。

2. 異種病原体防除剤は、抗菌剤、抗真菌剤、殺ウイルス剤、抗ウイルス剤、殺虫剤、殺線虫剤、抗寄生虫剤又は昆虫忌避剤である、パラグラフ1に記載の病原体防除組成物。

3. 抗菌剤は、ドキシソルピシンである、パラグラフ2に記載の病原体防除組成物。

4. 抗菌剤は、抗生物質である、パラグラフ2に記載の病原体防除組成物。

5. 抗生物質は、バンコマイシンである、パラグラフ4に記載の病原体防除組成物。

6. 抗生物質は、ペニシリン、セファロスポリン、モノバクタム、カルバペネム、マクロライド、アミノグリコシド、キノロン、スルホンアミド、テトラサイクリン、グリコペプチド、リポグリコペプチド、オキサゾリジノン、リファマイシン、ツベルアクチノマイシン、クロラムフェニコール、メトロニダゾール、チニダゾール、ニトロフラントイン、テイコプラニン、テラバンシン、リネゾリド、シクロセリン2、バシトラシン、ポリミキシンB、バイオマイシン又はカブレオマイシンである、パラグラフ4に記載の病原体防除組成物。

7. 抗真菌剤は、アリルアミン、イミダゾール、トリアゾール、チアゾール、ポリエン又はエキノカンジンである、パラグラフ2に記載の病原体防除組成物。

8. 殺虫剤は、クロロニコチニル、ネオニコチノイド、カルバメート、有機リン酸エステル、ピレトロイド、オキサジアジン、スピノシン、シクロジエン、有機塩素、フィプロール、メクチン、ジアシルヒドラジン、ベンゾイル尿素、有機スズ、ピロール、ジニトロテルペノール、METI、テトロン酸、テトラミン酸又はフタルアミドである、パラグラフ2に記載の病原体防除組成物。

9. 異種病原体防除剤は、小分子、核酸又はポリペプチドである、パラグラフ1に記載の病原体防除組成物。

10. 小分子は、抗生物質又は二次代謝物である、パラグラフ9に記載の病原体防除組成物。

11. 核酸は、阻害性RNAである、パラグラフ9に記載の病原体防除組成物。

12. 異種病原体防除剤は、複数のPMPの各々によって封入される、パラグラフ1～11のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

13. 異種病原体防除剤は、複数のPMPの各々の表面に埋め込まれる、パラグラフ1～11のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

14. 異種病原体防除剤は、複数のPMPの各々の表面に共役される、パラグラフ1～11のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

15. 複数のPMPの各々は、追加的な病原体防除剤をさらに含む、パラグラフ1～14のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

16. 病原体は、細菌、真菌、寄生昆虫、寄生線虫又は寄生原虫である、パラグラフ1～15のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

10

20

30

40

50

17. 細菌は、シュードモナス属 (*Pseudomonas*) 種、エスキリキア属 (*Escherichia*) 種、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus*) 種、肺炎球菌 (*Pneumococcus*) 種、シゲラ属 (*Shigella*) 種、サルモネラ属 (*Salmonella*) 種又はカンピロバクター属 (*Campylobacter*) 種である、パラグラフ16に記載の病原体防除組成物。

18. シュードモナス属 (*Pseudomonas*) 種は、緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) である、パラグラフ17に記載の病原体防除組成物。

19. エスキリキア属 (*Escherichia*) 種は、大腸菌 (*Escherichia coli*) である、パラグラフ17に記載の病原体防除組成物。

20. 真菌は、サッカロミセス属 (*Saccharomyces*) 種又はカンジダ属 (*Candida*) 種である、パラグラフ16に記載の病原体防除組成物。

10

21. 寄生昆虫は、キメクス属 (*Cimex*) 種である、パラグラフ16に記載の病原体防除組成物。

22. 寄生線虫は、ヘリグモソモイデス属 (*Heligmosomoides*) 種である、パラグラフ16に記載の病原体防除組成物。

23. 寄生原虫は、トリコモナス属 (*Trichomonas*) 種である、パラグラフ16に記載の病原体防除組成物。

24. ベクターは、昆虫である、パラグラフ1に記載の病原体防除組成物。

25. ベクターは、蚊、マダニ、ダニ又はシラミである、パラグラフ24に記載の病原体防除組成物。

20

26. 室温で少なくとも1日間にわたって安定しており、且つ／又は4℃で少なくとも1週間にわたって安定している、パラグラフ1～25のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

27. PMPは、4℃で少なくとも24時間、48時間、7日間又は30日間にわたって安定している、パラグラフ1～26のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

28. PMPは、少なくとも20℃、24℃又は37℃の温度で安定している、パラグラフ27に記載の病原体防除組成物。

29. 組成物中の複数のPMPは、動物病原体の適応度を低減させるのに有効な濃度である、パラグラフ1～23又は26～28のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

30. 組成物中の複数のPMPは、動物病原体ベクターの適応度を低減させるのに有効な濃度である、パラグラフ1～15又は24～28のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

30

31. 組成物中の複数のPMPは、病原体に感染した動物の感染を処置するのに有効な濃度である、パラグラフ1～23又は26～30のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

32. 組成物中の複数のPMPは、病原体への感染のリスクがある動物において感染を予防するのに有効な濃度である、パラグラフ1～23又は26～30のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

33. 組成物中の複数のPMPは、少なくとも0.01ng、0.1ng、1ng、2ng、3ng、4ng、5ng、10ng、50ng、100ng、250ng、500ng、750ng、1μg、10μg、50μg、100μg又は250μg PMPタンパク質／mlの濃度である、パラグラフ1～32のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

40

34. 農業的に許容可能な担体を含む、パラグラフ1～33のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

35. 薬学的に許容可能な担体を含む、パラグラフ1～34のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

36. PMPを安定化するために製剤化される、パラグラフ1～35のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

37. 液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル又は気体組成物として製剤化される、パラグラフ1～36のいずれか1つに記載の病原体防除組成物。

38. 少なくとも5%のPMPを含む、パラグラフ1～37のいずれか1つに記載の病原

50

体防除組成物。

39. 複数のPMPを含む病原体防除組成物であって、PMPは、

(a) 植物又はその部分から初期サンプルを提供するステップであって、植物又はその部分は、EVを含む、ステップ；

(b) 初期サンプルから粗PMP画分を単離するステップであって、粗PMP画分は、初期サンプル中のレベルに対して、植物又はその部分からの少なくとも1つの混入物又は不要な成分の低減したレベルを有する、ステップ；

(c) 粗PMP画分を精製し、それにより複数の純粋なPMPを生成するステップであって、複数の純粋なPMPは、粗EV画分中のレベルに対して、植物又はその部分からの少なくとも1つの混入物又は不要な成分の低減したレベルを有する、ステップ；

(d) ステップ(c)の複数の純粋なPMPに病原体防除薬剤をロードするステップ；及び

(e) ステップ(d)のPMPを農業若しくは獣医学対象動物病原体又はそのベクターへの送達のために製剤化するステップ

を含むプロセスによって植物から単離される、病原体防除組成物。

40. パラグラフ1～39のいずれか1つに記載の病原体防除組成物を含む動物病原体。

41. パラグラフ1～40のいずれか1つに記載の病原体防除組成物を含む動物病原体ベクター。

42. 動物に病原体防除組成物を送達する方法であって、パラグラフ1～39のいずれか1つに記載の組成物を動物に投与するステップを含む方法。

43. 感染の処置を、それを必要とする動物において行う方法であって、有効量の、パラグラフ1～39のいずれか1つに記載の組成物を動物に投与するステップを含む方法。

44. 感染を、そのリスクがある動物において予防する方法であって、有効量の、パラグラフ1～39のいずれか1つに記載の組成物を動物に投与するステップを含み、非処置動物に対して動物の感染の可能性を低減させる方法。

45. 感染は、病原体によって引き起こされ、且つ病原体は、細菌、真菌、ウイルス、寄生昆虫、寄生線虫又は寄生原虫である、パラグラフ42～44のいずれか1つに記載の方法。

46. 細菌は、シュードモナス属 (*Pseudomonas*) 種、エスケリキア属 (*Escherichia*) 種、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus*) 種、肺炎球菌 (*Pneumococcus*) 種、シゲラ属 (*Shigella*) 種、サルモネラ属 (*Salmonella*) 種又はカンピロバクター属 (*Campylobacter*) 種である、パラグラフ45に記載の方法。

47. 真菌は、サッカロミセス属 (*Saccharomyces*) 種又はカンジダ属 (*Candida*) 種である、パラグラフ45に記載の方法。

48. 寄生昆虫は、キメクス属 (*Cimex*) 種である、45に記載の方法。

49. 寄生線虫は、ヘリグモソモイデス属 (*Heligmosomoides*) 種である、パラグラフ45に記載の方法。

50. 寄生原虫は、トリコモナス属 (*Trichomonas*) 種である、パラグラフ45に記載の方法。

51. 病原体防除組成物は、動物に経口、静脈内又は皮下投与される、パラグラフ42～50のいずれか1つに記載の方法。

52. 病原体防除組成物を病原体に送達する方法であって、病原体を、パラグラフ1～39のいずれか1つに記載の組成物と接触させるステップを含む方法。

53. 病原体の適応度を低減させる方法であって、パラグラフ1～39のいずれか1つに記載の組成物を病原体に送達するステップを含み、非処置病原体に対して病原体の適応度を低減させる方法。

54. 病原体が成長、生息、繁殖、摂食又は寄生する少なくとも1つの生息場所に組成物を送達するステップを含む、パラグラフ52又は53に記載の方法。

55. 組成物は、病原体による摂取のための病原体摂食可能組成物として送達される、パラグラフ52～54のいずれか1つに記載の方法。

10

20

30

40

50

56. 病原体は、細菌、真菌、寄生昆虫、寄生線虫又は寄生原虫である、パラグラフ52～55のいずれか1つに記載の方法。

57. 細菌は、シュードモナス属 (*Pseudomonas*) 種、エスキリア属 (*Escherichia*) 種、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus*) 種、肺炎球菌 (*Pneumococcus*) 種、シゲラ属 (*Shigella*) 種、サルモネラ属 (*Salmonella*) 種又はカンピロバクター属 (*Campylobacter*) 種である、パラグラフ56に記載の方法。

58. 真菌は、サッカロミセス属 (*Saccharomyces*) 種又はカンジダ属 (*Candida*) 種である、パラグラフ56に記載の方法。

59. 寄生昆虫は、キメクス属 (*Cimex*) 種である、56に記載の方法。

10

60. 寄生線虫は、ヘリグモソモイデス属 (*Heligmosomoides*) 種である、パラグラフ56に記載の方法。

61. 寄生原虫は、トリコモナス属 (*Trichomonas*) 種である、パラグラフ56に記載の方法。

62. 組成物は、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル又は気体として送達される、パラグラフ52～61のいずれか1つに記載の方法。

63. 動物病原体ベクターの適応度を低減させる方法であって、有効量の、パラグラフ1～39のいずれか1つに記載の組成物をベクターに送達するステップを含み、非処置ベクターに対してベクターの適応度を低減させる方法。

64. ベクターが成長、生息、繁殖、摂食又は寄生する少なくとも1つの生息場所に組成物を送達するステップを含む、パラグラフ63に記載の方法。

20

65. 組成物は、ベクターによる摂取のための摂食可能組成物として送達される、パラグラフ63又は64に記載の方法。

66. ベクターは、昆虫である、パラグラフ63～65のいずれか1つに記載の方法。

67. 昆虫は、蚊、マダニ、ダニ又はシラミである、パラグラフ66に記載の方法。

68. 組成物は、液体、固体、エアゾール、ペースト、ゲル又は気体として送達される、パラグラフ63～67のいずれか1つに記載の方法。

69. 真菌感染を有する動物を処置する方法であって、有効量の、複数のPMPを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含む方法。

70. 真菌感染を有する動物を処置する方法であって、有効量の、複数のPMPを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含み、複数のPMPは、抗真菌剤を含む、方法。

30

71. 抗真菌剤は、真菌感染を引き起こす真菌の遺伝子の発現を阻害する核酸である、パラグラフ70に記載の方法。

72. 遺伝子は、フィラメント成長促進タンパク質 (EFG1) である、パラグラフ71に記載の方法。

73. 真菌感染は、カンジダ・アルビカンス (*Candida albicans*) によって引き起こされる、パラグラフ70～72のいずれか1つに記載の方法。

74. 組成物は、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) 由来のPMPを含む、パラグラフ70～73のいずれか1つに記載の方法。

40

75. 真菌感染を低減するか又は実質的に排除する、パラグラフ70～74のいずれか1つに記載の方法。

76. 細菌感染を有する動物を処置する方法であって、有効量の、複数のPMPを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含む方法。

77. 細菌感染を有する動物を処置する方法であって、有効量の、複数のPMPを含む病原体防除組成物を動物に投与するステップを含み、複数のPMPは、抗菌剤を含む、方法。

78. 抗菌剤は、アムホテリシンBである、パラグラフ77に記載の方法。

79. 細菌は、シュードモナス属 (*Pseudomonas*) 種、エスキリア属 (*Escherichia*) 種、ストレプトコッカス属 (*Streptococcus*) 種、肺炎球菌 (*Pneumococcus*) 種、シゲラ属 (*Shigella*) 種、サルモネラ

50

属 (*Salmonella*) 種又はカンピロバクター属 (*Campylobacter*) 種である、パラグラフ 77 又は 78 に記載の方法。

80. 組成物は、シロイヌナズナ (*Arabidopsis*) 由来の PMP を含む、パラグラフ 77 ~ 79 のいずれか 1 つに記載の方法。

81. 細菌感染を低減するか又は実質的に排除する、パラグラフ 77 ~ 80 のいずれか 1 つに記載の方法。

82. 動物は、獣医学対象動物又は家畜動物である、パラグラフ 69 ~ 81 のいずれか 1 つに記載の方法。

83. 寄生昆虫の適応度を低減させる方法であって、複数の PMP を含む病原体防除組成物を寄生昆虫に送達するステップを含む方法。

10

84. 寄生昆虫の適応度を低減させる方法であって、複数の PMP を含む病原体防除組成物を寄生昆虫に送達するステップを含み、複数の PMP は、殺虫剤を含む、方法。

85. 殺虫剤は、ペプチド核酸である、パラグラフ 84 に記載の方法。

86. 寄生昆虫は、トコジラミである、パラグラフ 83 ~ 85 のいずれか 1 つに記載の方法。

87. 非処置寄生昆虫に対して寄生昆虫の適応度を低減させる、パラグラフ 83 ~ 86 のいずれか 1 つに記載の方法。

88. 寄生線虫の適応度を低減させる方法であって、複数の PMP を含む病原体防除組成物を寄生線虫に送達するステップを含む方法。

89. 寄生線虫の適応度を低減させる方法であって、複数の PMP を含む病原体防除組成物を寄生線虫に送達するステップを含み、複数の PMP は、殺線虫剤を含む、方法。

20

90. 寄生線虫は、ヘリグモソモイデス・ポリギルス (*Heligmosomoides polygyrus*) である、パラグラフ 88 又は 89 に記載の方法。

91. 非処置寄生線虫に対して寄生線虫の適応度を低減させる、パラグラフ 88 ~ 90 のいずれか 1 つに記載の方法。

92. 寄生原虫の適応度を低減させる方法であって、複数の PMP を含む病原体防除組成物を寄生原虫に送達するステップを含む方法。

93. 寄生原虫の適応度を低減させる方法であって、複数の PMP を含む病原体防除組成物を寄生原虫に送達するステップを含み、複数の PMP は、抗寄生虫剤を含む、方法。

94. 寄生原虫は、膾トリコモナス (*T. vaginalis*) である、パラグラフ 92 又は 93 に記載の方法。

30

95. 非処置寄生原虫に対して寄生原虫の適応度を低減させる、パラグラフ 92 ~ 94 のいずれか 1 つに記載の方法。

96. 動物病原体の昆虫ベクターの適応度を低減させる方法であって、複数の PMP を含む病原体防除組成物をベクターに送達するステップを含む方法。

97. 動物病原体の昆虫ベクターの適応度を低減させる方法であって、複数の PMP を含む病原体防除組成物をベクターに送達するステップを含み、複数の PMP は、殺虫剤を含む、方法。

98. 非処置ベクターに対してベクターの適応度を低減させる、パラグラフ 96 又は 97 に記載の方法。

40

99. 昆虫は、蚊、マダニ、ダニ又はシラミである、パラグラフ 96 ~ 98 のいずれか 1 つに記載の方法。

【0475】

前述の本発明は、理解を明確にするために説明及び例としてある程度詳細に記載されているが、そうした記載及び例が本発明の範囲を限定するものと解釈されるべきではない。本明細書に引用される全ての特許及び科学文献の開示は、全体として参照により明示的に援用される。

【0476】

他の実施形態は、発明の特許請求の範囲に含まれる。

【0477】

50

付録

表 1: 植物 EV-マーカ		
種の例	アクセッション番号	タンパク質名
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	C0LGG8	推定(Probable) LRR 受容体様セリン/トレオニン-タンパク質キナーゼ Atlg53430 (EC 2.7.11.1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	F4HQT8	未同定タンパク質
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	F4HWU0	タンパク質キナーゼ スーパーファミリータンパク質
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	F4I082	二官能阻害因子/脂質輸送タンパク質/種子貯蔵 2S アルブミン スーパーファミリータンパク質
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	F4I3M3	テトラトリコペプチド反復ドメイン含有タンパク質を含むキナーゼ
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	F4IB62	ロイシンリッチ反復 タンパク質キナーゼ ファミリータンパク質
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O03042	リブローズ二リン酸カルボキシラーゼラージチェーン (RuBisCO 大サブユニット) (EC 4.1.1.39)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O03986	ヒートショックタンパク質 90-4 (AtHSP90.4) (AtHsp90-4) (ヒートショックタンパク質 81-4) (Hsp81-4)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O04023	タンパク質 SRC2 ホモログ (AtSRC2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O04309	ジャカリン関連レクチン 35 (JA-応答性タンパク質 1) (ミロシナーゼ結合タンパク質様 At3g16470)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O04314	PYK10 結合タンパク質 1 (ジャカリン関連レクチン 30) (ジャスモン酸誘導タンパク質)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O04922	推定(Probable) グルタチオンペルオキシダーゼ 2 (EC 1.11.1.9)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O22126	ファクシリン様アラビノガラクトナンタンパク質 8 (AtAGP8)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O23179	パタチン様タンパク質 1 (AtPLP1) (EC 3.1.1.-) (パタチン関連ホスホリパーゼ A II ガンマ) (pPLAIIg) (ホスホリパーゼ A IVA) (AtPLAIVA)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O23207	推定(Probable) NAD(P)H デヒドロゲナーゼ (キノン) FQR1 様 2 (EC 1.6.5.2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O23255	アデノシルホモシステイナーゼ 1 (アドヒカーゼ (AdoHcyase) 1) (EC 3.3.1.1) (タンパク質 EMBRYO DEFECTIVE 1395) (タンパク質 HOMOLOGY-依存性 GENE SILENCING 1) (S-アデノシル-L-ホモシステインヒドラーゼ 1) (SAH ヒドラーゼ 1)

【 0 4 7 8 】

10

20

30

40

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O23482	オリゴペプチドトランスポータ 3 (AtOPT3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O23654	V 型プロトン ATPase 触媒サブユニット A (V-ATPase サブユニット A) (EC 3.6.3.14) (V-ATPase 69 kDa サブユニット) (液胞型 H(+)-ATPase サブユニット A) (液胞型プロトンポンプ サブユニットアルファ)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O48788	推定(Probable) 不活性受容体キナーゼ At2g26730
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O48963	フォトトロピン 1 (EC 2.7.11.1) (非フォトトロピン胚軸タンパク質 1) (根屈光性タンパク質 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O49195	栄養貯蔵タンパク質 1
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O50008	5-メチルテトラヒドロプテロイルトリグルタメート--ホモシステインメチルトランスフェラーゼ 1 (EC 2.1.1.14) (コバラミン依存性メチオニンシンターゼ 1) (AtMS1) (ビタミン-B12 依存性メチオニンシンターゼ 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O64696	推定未同定タンパク質 At2g34510
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O65572	カロテノイド 9,10(9',10')-切断ジオキシゲナーゼ 1 (EC 1.14.99.n4) (AtCCD1) (ネオキサンチン切断酵素 NC1) (AtNCED1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O65660	PLAT ドメイン含有タンパク質 1 (AtPLAT1) (PLAT ドメインタンパク質 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O65719	熱ショック 70 kDa タンパク質 3 (熱ショックコグネイト 70 kDa タンパク質 3) (熱ショックコグネイトタンパク質 70-3) (AtHsc70-3) (ヒートショックタンパク質 70-3) (AtHsp70-3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O80517	ウクラシアニン-2 (青銅結合タンパク質 II) (BCB II) (フィトシアニン 2) (ウクラシアニン-II)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O80576	At2g44060 (後期胚形成過剰タンパク質, 2 群) (後期胚形成過剰タンパク質に類似)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O80725	ABCトランスポータ B ファミリーメンバー 4 (ABCトランスポータ ABCB.4) (AtABCB4) (多剤耐性タンパク質 4) (P-糖タンパク質 4)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O80837	レモリン (DNA-結合タンパク質)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O80852	グルタチオン S-トランスフェラーゼ F9 (AtGSTF9) (EC 2.5.1.18) (AtGSTF7) (GST クラス-phi メンバー 9)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O80858	発現タンパク質 (推定 未同定タンパク質 At2g30930) (推定 未同定タンパク質 At2g30930; F7F1.14)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O80939	L 型レクチンドメイン含有 受容体キナーゼ IV.1 (シロイヌナズナ(<i>Arabidopsis thaliana</i>)レクチン受容体キナーゼ) (AthlecRK-e) (LecRK-IV.1) (EC 2.7.11.1) (レクチン受容体キナーゼ 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O80948	ジャカリン関連レクチン 23 (ミロシナーゼ-結合タンパク質様 At2g39330)

10

20

30

【 0 4 7 9 】

40

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	O82628	V 型プロトン ATPase サブユニット G1 (V-ATPase サブユニット G1) (液胞型 H(+)-ATPase サブユニット G アイソフォーム 1) (液胞型プロトンポンプ サブユニット G1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P10795	リブローズビスリン酸カルボキシラーゼスモールチェーン 1A, 葉緑体 (RuBisCO スモールサブユニット 1A) (EC 4.1.1.39)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P10896	リブローズビスリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ アクチベータ, 葉緑体 (RA) (RuBisCO アクチベータ)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P17094	60S リボソームタンパク質 L3-1 (タンパク質 EMBRYO DEFECTIVE 2207)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P19456	ATPase 2, 細胞膜型 (EC 3.6.3.6) (プロトンポンプ 2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P20649	ATPase 1, 細胞膜型 (EC 3.6.3.6) (プロトンポンプ 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P22953	RNA ポリメラーゼ II 転写サブユニット 37e の推定(Probable) メディエータ (熱ショック 70 kDa タンパク質 1) (熱ショックコグネイト 70 kDa タンパク質 1) (熱ショックコグネイトタンパク質 70-1) (AtHsc70-1) (ヒートショックタンパク質 70-1) (AtHsp70-1) (タンパク質 EARLY-RESPONSIVE TO DEHYDRATION 2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P23586	糖輸送タンパク質 1 (グルコーストランスポータ) (ヘキソーストランスポータ 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P24636	チューブリン β -4 鎖 (β -4-チューブリン)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P25696	二官能エノラーゼ 2/転写アクチベータ (EC 4.2.1.11) (2-ホスホ-D-グリセリン酸ヒドロリアーゼ 2) (2-ホスホグリセリン酸デヒドラターゼ 2) (浸透圧応答遺伝子 1 の低発現(LOW EXPRESSION OF OSMOTICALLY RESPONSIVE GENES 1))
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P25856	グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ GAP1, 葉緑体 (EC 1.2.1.13) (NADP-依存性グリセルアルデヒドリン酸デヒドロゲナーゼ A サブユニット 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P28186	Ras 関連タンパク質 RAB1c (AtRAB1c) (Ras 関連タンパク質 Ara-3) (Ras 関連タンパク質 Rab8A) (AtRab8A)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P30302	アクアポリン PIP2-3 (細胞膜局在型タンパク質 2-3) (AtPIP2;3) (細胞膜局在型タンパク質 2c) (PIP2c) (RD28-PIP) (TMP2C) (水ストレス誘導性液胞膜型タンパク質) (WSI-TIP) [アクアポリン PIP2-3 に切断, N-末端処理]
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P31414	ピロリン酸活性化液胞膜 プロトンポンプ 1 (EC 3.6.1.1) (ピロリン酸活性化無機ピロホスファターゼ 1) (H(+)-PPase 1) (液胞プロトンピロホスファターゼ 1) (液胞プロトンピロホスファターゼ 3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P32961	ニトリラーゼ 1 (EC 3.5.5.1)

【 0 4 8 0 】

10

20

30

40

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P38666	60S リボソームタンパク質 L24-2 (タンパク質 SHORT VALVE 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P39207	ヌクレオシド二リン酸キナーゼ 1 (EC 2.7.4.6) (ヌクレオシド二リン酸キナーゼ I) (NDK I) (NDP キナーゼ I) (NDPK I)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P42643	14-3-3 様タンパク質 GF14 カイ(chi)(一般調節因子 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P42737	β カルボニックアンヒドラーゼ 2, 葉緑体 (AtbCA2) (AtbetaCA2) (EC 4.2.1.1) (β 炭酸脱水酵素 2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P42759	デヒドリン ERD10 (低温誘導性タンパク質 LTI45)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P42761	グルタチオン S-トランスフェラーゼ F10 (AtGSTF10) (EC 2.5.1.18) (AtGSTF4) (GST クラス-phi メンバー 10) (タンパク質 EARLY RESPONSE TO DEHYDRATION13)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P42763	デヒドリン ERD14
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P42791	60S リボソームタンパク質 L18-2
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P43286	アクアポリン PIP2-1 (細胞膜局在型タンパク質 2-1) (AtPIP2;1) (細胞膜局在型タンパク質 2a) (PIP2a) [アクアポリン PIP2-1 に切断, N-末端処理]
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P46286	60S リボソームタンパク質 L8-1 (60S リボソームタンパク質 L2) (タンパク質 EMBRYO DEFECTIVE 2296)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P46422	グルタチオン S-トランスフェラーゼ F2 (AtGSTF2) (EC 2.5.1.18) (24 kDa オークシン結合タンパク質) (AtPM24) (GST クラス-phi メンバー 2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P47998	システインシンターゼ 1 (EC 2.5.1.47) (At.OAS.5-8) (β -置換 Ala シンターゼ 1;1) (ARAtH-Bsas1;1) (CSase A) (AtCS-A) (Cys-3A) (O-アセチルセリン (チオール)-リアーゼ 1) (OAS-TL A) (O-アセチルセリン スルフヒドリラーゼ) (タンパク質 ONSET OF LEAF DEATH 3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P48347	14-3-3 様タンパク質 GF14 イプシロン(epsilon)(一般調節因子 10)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P48491	トリオースリン酸イソメラーゼ, 細胞質ゾル (TIM) (トリオースリン酸イソメラーゼ) (EC 5.3.1.1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P50318	ホスホグリセリン酸キナーゼ 2, 葉緑体 (EC 2.7.2.3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P53492	アクチン-7 (アクチン-2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P54144	アンモニアトランスポーター 1 メンバー 1 (AtAMT1;1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P92963	Ras-関連タンパク質 RABB1c (AtRABB1c) (Ras-関連タンパク質 Rab2A) (AtRab2A)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P93004	アクアポリン PIP2-7 (細胞膜局在型タンパク質 2-7) (AtPIP2;7) (細胞膜局在型タンパク質 3) (塩ストレス誘導性主要内在性タンパク質) [アクアポリン PIP2-7 に切断, N-末端処理]

10

20

30

40

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P93025	フォトトロピン-2 (EC 2.7.11.1) (葉緑体逃避タンパク質 1 欠失) (非屈光性胚軸 1-様タンパク質 1) (AtKin7) (NPH1-様タンパク質 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	P93819	リンゴ酸デヒドロゲナーゼ 1, 細胞質 (EC 1.1.1.37) (細胞質ゾル NAD-依存性リンゴ酸デヒドロゲナーゼ 1) (cNAD-MDH1) (細胞質ゾルリンゴ酸デヒドロゲナーゼ 1) (細胞質ゾル MDH1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q03250	グリシンリッチ RNA-結合タンパク質 7 (AtGR-RBP7) (AtRBG7) (グリシンリッチタンパク質 7) (AtGRP7) (タンパク質 COLD, CIRCADIAN RHYTHM, AND RNA BINDING 2) (タンパク質 CCR2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q05431	L-アスコルビン酸ペルオキシダーゼ 1, 細胞質ゾル (AP) (AtAPx01) (EC 1.11.1.11)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q06611	アクアポリン PIP1-2 (AtPIP1;2) (細胞膜局在型タンパク質 1b) (PIP1b) (膜貫通タンパク質 A) (AtH2) (TMP-A)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q07488	青銅タンパク質 (青銅-結合タンパク質) (AtBCB) (フィトシアニン 1) (ステラシアニン)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q0WLB5	クラスリン重鎖 2
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q0WNI6	クラスリン重鎖 1
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q1ECE0	小胞結合タンパク質 4-1 (Plant VAP ホモログ 4-1) (AtPVA41) (タンパク質 MEMBRANE-ASSOCIATED MANNITOL-INDUCED) (AtMAMI) (VAMP 結合タンパク質 4-1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q38882	ホスホリパーゼ Dα1 (AtPLDα1) (PLDα1) (EC 3.1.4.4) (コリンホスファターゼ 1) (PLDα) (ホスファチジルコリン-加水分解ホスホリパーゼ D 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q38900	ペプチジル-プロリルシス-トランスイソメラーゼ CYP19-1 (PPIase CYP19-1) (EC 5.2.1.8) (19 kDa 1 のシクロフィリン) (ロタマーゼシクロフィリン-3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q39033	ホスホイノシチド ホスホリパーゼ C 2 (EC 3.1.4.11) (ホスホイノシチド ホスホリパーゼ PLC2) (AtPLC2) (PI-PLC2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q39085	Δ (24)-ステロールレダクターゼ (EC 1.3.1.72) (細胞伸長タンパク質 DIMINUTO) (細胞伸長タンパク質 Dwarf1) (タンパク質 CABBAGE1) (タンパク質 ENHANCED VERY-LOW-FLUENCE RESPONSE 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q39228	糖輸送タンパク質 4 (ヘキソーストランスポータ 4)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q39241	チオレドキシン H5 (AtTrxh5) (タンパク質 LOCUS OF INSENSITIVITY TO VICTORIN 1) (チオレドキシン 5) (AtTRX5)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q39258	V-型プロトン ATPase サブユニット E1 (V-ATPase サブユニット E1) (タンパク質 EMBRYO DEFECTIVE 2448) (液胞型 H(+)-ATPase サブユニット E アイソフォーム 1) (液胞型プロトンポンプ サブユニット E1)

10

20

30

40

【 0 4 8 2 】

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q42112	60S 酸性リボソームタンパク質 P0-2
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q42403	チオレドキシン H3 (AtTrxh3) (チオレドキシン 3) (AtTRX3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q42479	カルシウム依存性タンパク質キナーゼ 3 (EC 2.7.11.1) (カルシウム依存性タンパク質キナーゼ アイソフォーム CDPK6) (AtCDPK6)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q42547	カタラーゼ-3 (EC 1.11.1.6)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q56WH1	チューブリン α -3 鎖
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q56WK6	パτεリン-1
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q56X75	CASP-様タンパク質 4D2 (AtCASPL4D2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q56ZI2	パテリン-2
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q7Y208	グリセロホスホジエステルホスホジエステラーゼ GDPDL1 (EC 3.1.4.46) (グリセロホスホジエステルホスホジエステラーゼ様 1) (ATGDPDL1) (グリセロホスホジエステラーゼ様 3) (タンパク質 SHV3-LIKE 2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q84VZ5	未同定 GPI-アンカータンパク質 At5g19240
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q84WU7	真核生物アスパルチルプロテアーゼファミリータンパク質 (推定 未同定タンパク質 At3g51330)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8GUL8	未同定 GPI-アンカータンパク質 At5g19230
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8GYA4	システインリッチ受容体様 タンパク質キナーゼ 10 (システインリッチ RLK10) (EC 2.7.11.-) (受容体様タンパク質キナーゼ 4)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8GYN5	RPM1-相互作用タンパク質 4
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8GZ99	At5g49760 (ロイシンリッチ反復 タンパク質キナーゼ ファミリータンパク質) (ロイシンリッチ反復 受容体様 タンパク質キナーゼ) (推定 受容体タンパク質キナーゼ)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8L636	ナトリウム・カルシウム交換輸送体 NCL (Na(+)/Ca(2+)-交換タンパク質 NCL) (タンパク質 NCX-様) (AtNCL)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8L7S1	AtIg45200 (AtIg45200/AtIg45200) (トリアシルグリセロールリパーゼ様 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8LAA6	推定(Probable) アクアポリン PIP1-5 (AtPIP1;5) (細胞膜局在型タンパク質 1d) (PIP1d)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8LCP6	エンドスクレアーゼ 10 (EC 3.2.1.4) (Endo-1,4- β グルカナーゼ 10)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8RWV0	トランスケトラーゼ-1, 葉緑体 (TK) (EC 2.2.1.1)

10

20

30

【 0 4 8 3 】

40

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8S8Q6	テトラスパニン-8
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8VZG8	MDIS1-相互作用受容体様 キナーゼ 2 (AtMIK2) (推定 (Probable) LRR 受容体様 セリン/トレオニン-タンパク質キナーゼ At4g08850) (EC 2.7.11.1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8VZU2	シンタキシン-132 (AtSYP132)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8W4E2	V-型プロトン ATPase サブユニット B3 (V-ATPase サブユニット B3) (液胞 H(+)-ATPase サブユニット B アイソフォーム 3) (液胞型プロトンポンプ サブユニット B3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q8W4S4	V-型プロトン ATPase サブユニット a3 (V-ATPase サブユニット a3) (V-型プロトン ATPase 95 kDa サブユニット a アイソフォーム 3) (V-ATPase 95 kDa アイソフォーム a3) (液胞 H(+)-ATPase サブユニット a アイソフォーム 3) (液胞型プロトンポンプサブユニット a3) (液胞型プロトン輸送 ATPase 95 kDa サブユニット a アイソフォーム 3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q93VG5	40S リボソームタンパク質 S8-1
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q93XY5	テトラスパニン-18 (TOM2A 相同タンパク質 2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q93YS4	ABCトランスポーター G ファミリーメンバー 22 (ABCトランスポーター ABCG.22) (AtABCG22) (白色-褐色複合体ホモログタンパク質 23) (AtWBC23)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q93Z08	グルカンエンド-1,3-β-グルコシダーゼ 6 (EC 3.2.1.39) ((1->3)- β-グルカンエンドヒドロラーゼ 6) ((1->3)- β-グルカナーゼ 6) (β-1,3-エンドヌクレアーゼ 6) (β-1,3-グルカナーゼ 6)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q940M8	3-オキソ-5-α-ステロイド 4-デヒドロゲナーゼ (DUF1295) (At1g73650/F25P22 7)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q944A7	推定(Probable) セリン/トレオニン-タンパク質キナーゼ At4g35230 (EC 2.7.11.1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q944G5	タンパク質 NRT1/ PTR FAMILY 2.10 (AtNPF2.10) (タンパク質 GLUCOSINOLATE トランスポーター-1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q94AZ2	糖輸送タンパク質 13 (ヘキソーストランスポーター 13) (snf4 欠失タンパク質 1 の多コピーサブレッサー)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q94BT2	根培養物中のオーキシン誘導性(Auxin-induced in root cultures)タンパク質 12
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q94CE4	β カルボニックアンヒドラーゼ 4 (AtbCA4) (AtbetaCA4) (EC 4.2.1.1) (β 炭酸脱水酵素 4)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q94KI8	2 孔チャネルタンパク質 1 (カルシウムチャネルタンパク質 1) (AtCCH1) (脂肪酸酸化上方制御タンパク質 2) (電位依存性カルシウムチャネルタンパク質 TPC1) (AtTPC1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q96262	細胞膜結合カチオン結合タンパク質 1 (AtPCAP1) (微小管不安定化タンパク質 25)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9C5Y0	ホスホリパーゼ D Δ (AtPLΔ) (PLDΔ) (EC 3.1.4.4)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9C7F7	非特異的脂質輸送タンパク質 GPI-固定 1 (AtLTPG-1) (タンパク質 LTP-GPI-ANCHORED 1)

10

20

30

40

【 0 4 8 4 】

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9C821	プロリンリッチ受容体様 タンパク質キナーゼ PERK15 (EC 2.7.11.1) (プロリンリッチエクステンシン様受容体キナーゼ 15) (AtPERK15)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9C8G5	CSC1 様タンパク質 ERD4 (タンパク質 EARLY-RESPONSIVE TO DEHYDRATION STRESS 4)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9C9C5	60S リボソームタンパク質 L6-3
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9CAR7	過敏誘導性応答タンパク質 2 (AtHIR2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9FFH6	ファシクリン様アラビノガラクトナンタンパク質 13
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9FGT8	温度誘導性リボカリン-1 (AtTIL1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9FJ62	グリセロホスホジエステルのホスホジエステラーゼ GDPDL4 (EC 3.1.4.46) (グリセロホスホジエステルのホスホジエステラーゼ様 4) (ATGDPDL4) (グリセロホスホジエステラーゼ様 1) (タンパク質 SHV3-LIKE 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9FK68	Ras-関連タンパク質 RABA1c (AtRABA1c)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9FKS8	リシンヒスチジントランスポータ 1
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9FM65	ファシクリン様アラビノガラクトナンタンパク質 1
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9FNH6	NDR1/HIN1 様タンパク質 3
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9FRL3	糖トランスポータ ERD6 様 6
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9FWR4	グルタチオン S-トランスフェラーゼ DHAR1, ミトコンドリア (EC 2.5.1.18) (クロロド細胞内チャネルホモログ 1) (CLIC ホモログ 1) (グルタチオン-依存性デヒドロアスコルビン酸レダクターゼ 1) (AtDHAR1) (GSH-依存性デヒドロアスコルビン酸レダクターゼ 1) (mtDHAR)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9FX54	グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ GAPC2, 細胞質ゾル (EC 1.2.1.12) (NAD-依存性グリセルアルデヒドリン酸デヒドロゲナーゼ C サブユニット 2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LE22	推定(Probable) カルシウム結合タンパク質 CML27 (カルモジュリン-様タンパク質 27)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LEX1	At3g61050 (CaLB タンパク質(カルシウム依存性脂質結合 (CaLBドメイン) ファミリータンパク質)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LF79	カルシウム輸送 ATPase 8, 細胞膜型 (EC 3.6.3.8) (Ca(2+)-ATPase アイソフォーム 8)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LJG3	GDSL エステラーゼ/リパーゼ ESM1 (EC 3.1.1.-) (細胞外リパーゼ ESM1) (タンパク質 EPITHIOSPECIFIER MODIFIER 1) (AtESM1)

10

20

30

【 0 4 8 5 】

40

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LJI5	V-型プロトン ATPase サブユニット d1 (V-ATPase サブユニット d1) (液胞型 H(+)-ATPase サブユニット d アイソフォーム 1) (液胞型プロトンポンプ サブユニット d1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LME4	推定(Probable) タンパク質ホスファターゼ 2C 9 (AtPP2C09) (EC 3.1.3.16) (フィトクロム結合タンパク質ホスファターゼ 2C) (PAPP2C)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LNP3	At1g17620/F11A6_23 (FIL3.32) (後期胚形成過剰 (LEA) ヒドロキシプロリンリッチ糖タンパク質ファミリー) (推定 未同定 タンパク質 At1g17620)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LNW1	Ras-関連タンパク質 RABA2b (AtRABA2b)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LQU2	タンパク質 PLANT CADMIUM RESISTANCE 1 (AtPCR1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LQU4	タンパク質 PLANT CADMIUM RESISTANCE 2 (AtPCR2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LR30	グルタミン酸-グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ 1 (AtGGT2) (EC 2.6.1.4) (アラニンアミノトランスフェラーゼ GGT1) (EC 2.6.1.2) (アラニン-グリオキシル酸アミノトランスフェラーゼ GGT1) (EC 2.6.1.44) (アラニン-2-オキソグルタル酸アミノトランスフェラーゼ 1) (EC 2.6.1.-)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LSI9	不活性 LRR 受容体様 セリン/トレオニン-タンパク質キナーゼ BIR2 (タンパク質 BAK1-相互作用受容体様 KINASE 2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LSQ5	NAD(P)H デヒドロゲナーゼ (キノン) FQR1 (EC 1.6.5.2) (プロボドキシン様キノンレダクターゼ 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LUT0	タンパク質キナーゼ スーパーファミリータンパク質 (推定 未同定タンパク質 At3g17410) (セリン/トレオニン タンパク質キナーゼ-様タンパク質)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LV48	プロリンリッチ受容体様 タンパク質キナーゼ PERK1 (EC 2.7.11.1) (プロリンリッチエクステンシン様 受容体キナーゼ 1) (AtPERK1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LX65	V-型プロトン ATPase サブユニット H (V-ATPase サブユニット H) (液胞型 H(+)-ATPase サブユニット H) (液胞型プロトンポンプ サブユニット H)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9LYG3	NADP 依存性リンゴ酸酵素 2 (AtNADP-ME2) (NADP-リンゴ酸酵素 2) (EC 1.1.1.40)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9M088	グルカンエンド-1,3-β-グルコシダーゼ 5 (EC 3.2.1.39) ((1->3)- β-グルカンエンドヒドラターゼ 5) ((1->3)- β-グルカナナーゼ 5) (β-1,3-エンドグルカナナーゼ 5)(β-1,3-グルカナナーゼ 5)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9M2D8	未同定タンパク質 At3g61260

10

20

30

【 0 4 8 6 】

40

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9M386	後期胚形成過剰 (LEA) ヒドロキシプロリンリッチ 糖タンパク質ファミリー (推定 未同定タンパク質 At3g54200) (推定 未同定タンパク質 F24B22.160)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9M390	タンパク質 NRT1/ PTR FAMILY 8.1 (AtNPF8.1) (ペプチドトランスポーター PTR1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9M5P2	分泌キャリア結合膜タンパク質 3 (AtSC3) (分泌キャリア膜タンパク質 3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9M8T0	推定(Probable) 不活性受容体キナーゼ At3g02880
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SDS7	V-型プロトン ATPase サブユニット C (V-ATPase サブユニット C) (液胞型 H(+)-ATPase サブユニット C) (液胞型プロトンポンプ サブユニット C)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SEL6	小胞輸送 v-SNARE 11 (AtVTI11) (タンパク質 SHOOT GRAVITROPISM 4) (小胞可溶性 NSF 付着タンパク質受容体 VTI1a) (AtVTI1a) (小胞輸送 v-SNARE タンパク質 VTI1a)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SF29	シンタキシン-71 (AtSYP71)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SF85	アデノシンキナーゼ 1 (AK 1) (EC 2.7.1.20) (アデノシン 5'-ホスホトランスフェラーゼ 1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SIE7	PLATドメイン含有タンパク質 2 (AtPLAT2) (PLATドメインタンパク質 2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SIM4	60S リボソームタンパク質 L14-1
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SIU8	推定(Probable) タンパク質ホスファターゼ 2C 20 (AtPP2C20) (EC 3.1.3.16) (AtPPC3;1.2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SJ81	ファシクリン様アラビノガラクトンタンパク質 7
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SKB2	ロイシンリッチ反復受容体様 セリン/トレオニン/チロシン-タンパク質キナーゼ SOBIR1 (EC 2.7.10.1) (EC 2.7.11.1) (タンパク質 EVERSHED) (タンパク質 SUPPRESSOR OF BIR1-1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SKR2	シナプトタグミン-1 (NTMC2T1.1) (シナプトタグミン A)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SLF7	60S 酸性リボソームタンパク質 P2-2
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SPE6	α -可溶性 NSF 付着タンパク質 2 (α -SNAP2) (N-エチルマレイミド感受性因子 付着タンパク質 α 2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SRH6	過敏誘導性応答タンパク質 3 (AtHIR3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SRY5	グルタチオン S-トランスフェラーゼ F7 (EC 2.5.1.18) (AtGSTF8) (GST クラス-phi メンバー 7) (グルタチオン S-トランスフェラーゼ 11)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SRZ6	細胞質ゾルイソクエン酸デヒドロゲナーゼ [NADP] (EC 1.1.1.42)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SSK5	MLP-様タンパク質 43
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SU13	ファシクリン様アラビノガラクトンタンパク質 2
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SU40	モノ銅オキシダーゼ様タンパク質 SKU5 (歪んだ根)

10

20

30

40

【 0 4 8 7 】

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SUR6	シスチンリアーゼ COR13 (EC 4.4.1.35) (タンパク質 CORONATINE INDUCED 3) (タンパク質 JASMONIC ACID RESPONSIVE 2) (チロシニアミトランスフェラーゼ COR13)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SVC2	シンタキシン-122 (AtSYP122) (Synt4)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SVF0	推定 未同定タンパク質 AT4g38350 (推定 未同定タンパク質 F22I13.120)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SW40	主要促進因子スーパーファミリータンパク質 (推定 未同定タンパク質 AT4g34950) (推定 未同定タンパク質 T11I11.190)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SYT0	アネキシン D1 (AnnAt1) (アネキシン A1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SZ11	グリセロホスホジエステルホスホジエステラーゼ GDPDL3 (EC 3.1.4.46) (グリセロホスホジエステルホスホジエステラーゼ様 3) (ATGDPDL3) (グリセロホスホジエステラーゼ様 2) (タンパク質 MUTANT ROOT HAIR 5) (タンパク質 SHAVEN 3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SZN1	V-型プロトン ATPase サブユニット B2 (V-ATPase サブユニット B2) (液胞型 H(+)-ATPase サブユニット B アイソフォーム 2) (液胞型プロトンポンプ サブユニット B2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SZP6	AT4g38690/F20M13_250 (PLC 様ホスホジエステラーゼスーパーファミリータンパク質) (推定 未同定タンパク質 AT4g38690) (推定 未同定タンパク質 F20M13.250)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9SZR1	カルシウム輸送 ATPase 10, 細胞膜型 (EC 3.6.3.8) (Ca(2+)-ATPase アイソフォーム 10)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9T053	ホスホリパーゼ D γ 1 (AtPLD γ 1) (PLD γ 1) (EC 3.1.4.4) (コリンホスファターゼ) (レクチナーゼ D) (リポホスホジエステラーゼ II)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9T076	初期ノジュリン様タンパク質 2 (フィトシアニン様タンパク質)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9T0A0	長鎖アシル CoA 合成酵素 4 (EC 6.2.1.3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9T0G4	推定 未同定タンパク質 AT4g10060 (推定 未同定タンパク質 T5L19.190)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9XEE2	アネキシン D2 (AnnAt2)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9XGM1	V-型プロトン ATPase サブユニット D (V-ATPase サブユニット D) (液胞型 H(+)-ATPase サブユニット D) (液胞型プロトンポンプ サブユニット D)

10

20

30

【 0 4 8 8 】

40

50

シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9XI93	Atlg13930/F16A14.27 (F16A14.14) (F7A19.2 タンパク質) (オレオシン-B3-様タンパク質)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9XIE2	ABCトランスポーター G ファミリーメンバー 36 (ABCトランスポーター ABCG.36) (AtABCG36) (多剤耐性タンパク質 8) (タンパク質 PENETRATION 3)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9ZPZ4	推定 未同定タンパク質 (推定 未同定タンパク質 Atlg09310) (T31J12.3 タンパク質)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9ZQX4	V-型プロトン ATPase サブユニット F (V-ATPase サブユニット F) (V-ATPase 14 kDa サブユニット) (液胞型 H(+)-ATPase サブユニット F) (液胞型プロトンポンプ サブユニット F)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9ZSA2	カルシウム依存性タンパク質キナーゼ 21 (EC 2.7.11.1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9ZSD4	シンタキシン-121 (AtSYP121) (シンタキシン-関連タンパク質 At-Syr1)
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9ZV07	推定(Probable) アクアポリン PIP2-6 (細胞膜局在型タンパク質 2-6) (AtPIP2;6) (細胞膜局在型タンパク質 2e) (PIP2e) [推定(Probable) アクアポリン PIP2-6 に切断, N-末端処理]
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9ZVF3	MLP-様タンパク質 328
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9ZWA8	ファシクリン様アラビノガラクトナンタンパク質 9
シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	Q9ZSD4	SYR1, シンタキシン 関連タンパク質 1, 別名 SYP121, PENETRATION1/PEN1 (タンパク質 PENETRATION 1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	A1ECK0	推定 グルタレドキシシン
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	A9YVC9	ピロリン酸塩--フルクトース 6-リン酸 1-ホスホトランスフェラーゼ サブユニット β(PFP) (EC 2.7.1.90) (6-ホスホフルクトキナーゼ, ピロリン酸塩依存性) (PPi-PFK) (ピロリン酸塩依存性 6-ホスホフルクトース-1-キナーゼ)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	B2YGY1	グルコシルトランスフェラーゼ (EC 2.4.1.-)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	B6DZD3	グルタチオン S-トランスフェラーゼ タウ 2 (グルタチオントランスフェラーゼ タウ 2)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	C3VIC2	翻訳伸長因子
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	C8CPS0	インボーチンサブユニット α
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	D3JWB5	フラバノン 3-ヒドロキシラーゼ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	E0ADY2	推定 コーヒー酸 O-メチルトランスフェラーゼ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	E5DK62	ATP シンターゼサブユニット α(断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	E9M5S3	推定 L-ガラクトース-1-リン酸ホスファターゼ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	F1CGQ9	ヒートショックタンパク質 90
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	F8WL79	アミノペプチダーゼ (EC 3.4.11.-)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	F8WL86	ヒートショックタンパク質

【 0 4 8 9 】

10

20

30

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	K9JG59	アブシシン酸ストレス成熟関連タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q000W4	Fe(III)-キレートレダクターゼ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q39538	ヒートショックタンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q5UEN6	推定 シグナル認識粒子タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q8GV08	デヒドリン
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q8L893	細胞質β-グルコースホスホグルコムターゼ (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q8S990	ポリガラクトツロナーゼ阻害タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q8W3U6	ポリガラクトツロナーゼ阻害因子タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q93XL8	デヒドリン COR15
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q941Q1	非共生型ヘモグロビンクラス 1
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q9MBF3	グリシンリッチ RNA-結合タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q9SP55	V-型プロトン ATPase サブユニット G (V-ATPase サブユニット G) (液胞型プロトンポンプ サブユニット G)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q9THJ8	リブローズニリン酸カルボキシラーゼラージチェーン (EC 4.1.1.39) (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q9ZST2	ピロリン酸塩--フルクトース 6-リン酸 1-ホスホトランスフェラーゼ サブユニット α(PFP) (6-ホスホフルクトキナーゼ, ピロリン酸塩依存性) (PPI-PFK) (ピロリン酸塩依存性 6-ホスホフルクトース-1-キナーゼ)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	Q9ZWH6	ポリガラクトツロナーゼ阻害因子
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	S5DXI9	ヌクレオカプシドタンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	S5NFC6	GTP シクロヒドラーゼ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RG42	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RGP4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RHN8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RJ07	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RJK9	アデノシルホモシステイナーゼ (EC 3.3.1.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RJM1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RJX1	40S リボソームタンパク質 S6
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RLB2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RMX8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RNA5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RP81	グルコシルトランスフェラーゼ (EC 2.4.1.-)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RPZ5	アデニルリシクラーゼ結合タンパク質

【 0 4 9 0 】

10

20

30

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RTN9	ヒストン H4
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RUZ4	ホスホセリンアミノトランスフェラーゼ (EC 2.6.1.52)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RVF6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RXD4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RXG2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RYA0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RYE3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RYH3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RYX8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RZ12	コートマー サブユニット β'
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RZ89	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RZE3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RZF3	1,2-ジヒドロキシ-3-ケト-5-メチルチオペンテンジオキシゲナーゼ (EC 1.13.11.54) (アシレズクトンジオキシゲナーゼ (Fe(2+)-要求)) (ARD) (Fe-ARD)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RZM7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4RZX6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S1V0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S2B6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S2N1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S2S5	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S346	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S3T8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S409	シアン酸ヒドラターゼ (シアナーゼ) (EC 4.2.1.104) (シアン酸ヒドロラーゼ) (シアン酸リアーゼ)

10

20

【 0 4 9 1 】

30

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S4E4	ヒストン H2B
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S4F6	フラビン含有モノオキシゲナーゼ (EC 1.-.-.-)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S4J1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S4K9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S535	プロテアソームサブユニット α 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S5A8	イソクエン酸デヒドロゲナーゼ [NADP] (EC 1.1.1.42)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S5G8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S5I6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S5N4	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S5Q3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S5X8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S5Y1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S6P4	カルシウム輸送 ATPase (EC 3.6.3.8)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S6W0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S6W7	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S6Y4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S773	リボソームタンパク質 L19
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S7U0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S7U5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S7W4	ビルビン酸キナーゼ (EC 2.7.1.40)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S885	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S8T3	ベチジル-プロピル シス-トランスイソメラーゼ (PPIase) (EC 5.2.1.8)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S920	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S999	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S9G5	ホスホグリセリン酸キナーゼ (EC 2.7.2.3)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4S9Q6	β -アミラーゼ (EC 3.2.1.2)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SA44	セリントレオニン-タンパク質ホスファターゼ (EC 3.1.3.16)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SAE0	α -1,4 グルカンホスホリラーゼ (EC 2.4.1.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SAF6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SAI9	真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット M (eIF3m)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SAJ5	リボソームタンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SAR3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SB37	未同定タンパク質

10

20

30

【 0 4 9 2 】

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SBI0	伸長因子 1- α
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SBI8	D-3-ホスホグリセリン酸デヒドロゲナーゼ (EC 1.1.1.95)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SBL9	ポリアデニレート結合タンパク質 (PABP)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SBR1	S-ホルミルグルタチオンヒドrolラーゼ (EC 3.1.2.12)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SBR6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SCG7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SCJ2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SCQ6	ペチジル-プロピル シス-トランスイソメラーゼ (PPIase) (EC 5.2.1.8)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SDJ8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SE41	タンパク質 DETOXIFICATION (多剤・毒性化合物排出タンパク質)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SE90	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SED1	コハク酸デヒドロゲナーゼ [ユビキノ] フラボタンパク質サブユニット, ミトコンドリア (EC 1.3.5.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SEI1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SEN9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SEX8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SF31	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SF69	40S リボソームタンパク質 S24
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SF76	システインシンターゼ (EC 2.5.1.47)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SFK3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SFL4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SFW2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SGC9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SGJ4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SGN4	未同定タンパク質

10

20

【 0 4 9 3 】

30

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SGV6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SGV7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SHH1	細胞膜 ATPase (EC 3.6.3.6) (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SHI2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SHJ3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SI86	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SI88	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SIA2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SIC1	ホスホリパーゼ D (EC 3.1.4.4)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SJ14	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SJ48	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SJ69	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SJD9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SJS7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SJT5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SKA2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SKG4	グルコース-6-リン酸イソメラーゼ (EC 5.3.1.9)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SKJ1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SL90	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SLC6	プロテアソームサブユニット β 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SLI7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SLQ6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SMD8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SMN7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SMV5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SN00	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SNA9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SNC1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SNC4	アコニット酸ヒドラターゼ (アコチナーゼ) (EC 4.2.1.3)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SNZ3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SP86	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SPM1	40S リボソームタンパク質 S12
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SPW4	40S リボソームタンパク質 S4

【 0 4 9 4 】

10

20

30

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SQ71	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SQ89	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SQ92	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SQC7	ペロオキシダーゼ (EC 1.11.1.7)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SQG3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SR15	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SRN3	膜貫通 9 スーパーファミリーメンバー
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SS09	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SS11	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SS50	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SSB6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SSB8	プロテアソームサブユニット α 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SSL7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SSQ1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SST6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SSW9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SSX5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SU82	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SUD3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SUL7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SUP3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SUT4	UDP-グルコース 6-デヒドロゲナーゼ (EC 1.1.1.22)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SUY5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SV60	セリン/トレオニン-タンパク質ホスファターゼ (EC 3.1.3.16)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SV61	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SVI5	プロテアソームサブユニット α 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SVI6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SW04	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SWD9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SWJ0	40S リボソームタンパク質 S3a
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SWQ9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SWR9	未同定タンパク質

10

20

30

【 0 4 9 5 】

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SWU9	フルクトース-ビスリン酸アルドラーゼ (EC 4.1.2.13)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SX11	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SX99	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SXC7	プロテアソームサブユニット α 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SXQ5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SXB1	β -アダプチン様タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SXY9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SY74	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SY90	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SY93	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SYH9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SYK6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SZ03	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SZ73	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SZI9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4SZX7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T057	リボソームタンパク質 L15
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T0V5	真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット A (eIF3a) (真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット 10)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T0Y1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T1Q6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T1U7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T2D9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T2M6	チューブリン β 鎖
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T3G2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T3P3	6-ホスホグルコン酸デヒドロゲナーゼ, 脱炭酸 (EC 1.1.1.44)

【 0 4 9 6 】

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T3V9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T3Y6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T4H3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T4I7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T4M7	スーパーオキシドジムスターゼ [Cu-Zn] (EC 1.15.1.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T539	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T541	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T576	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T5E1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T5I3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T5W7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T6T5	60S 酸性リボソームタンパク質 P0
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T722	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T785	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T7E2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T7I7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T7N0	プロテアソームサブユニット β 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T7N4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T7T2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T7W5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T825	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T846	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T8E9	S-アシルトランスフェラーゼ (EC 2.3.1.225) (パルミトイルトランスフェラーゼ)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T8G2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T8G9	コリスミ酸シンターゼ (EC 4.2.3.5)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T8Y6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T8Y8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T939	カルボキシペプチダーゼ (EC 3.4.16.-)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T957	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T998	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T9B9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4T9Y7	未同定タンパク質

【 0 4 9 7 】

10

20

30

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TA70	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TAF6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TB09	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TB32	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TB89	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TBN7	ホスホイノシチド ホスホリパーゼ C (EC 3.1.4.11)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TBQ3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TBS4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TBU3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TCA6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TCL3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TCS5	ペクチン酸リアーゼ (EC 4.2.2.2)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TD99	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TDB5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TDI2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TDY3	セリントレオニン-タンパク質キナーゼ (EC 2.7.11.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TE72	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TE95	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TEC0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TED8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TES4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TEY9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TF24	プロテアソームサブユニット α 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TF52	ウリカーゼ (EC 1.7.3.3) (尿酸オキシダーゼ)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TFV8	カタラーゼ (EC 1.11.1.6)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TGU1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TH28	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TH78	レティキュロン様タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4THM9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TIU2	リブローズ-リン酸 3-エピメラゼ (EC 5.1.3.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TIW6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TIY6	未同定タンパク質

10

20

30

【 0 4 9 8 】

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TIZ5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TJ75	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TJC3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TJQ9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TK29	NEDD8 活性化酵素 E1 調節サブユニット
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TL04	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TLL5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TLP6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TM00	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TM19	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TMB7	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TMD1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TMD6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TMV4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TN30	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TN38	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TNY8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TP87	カルボニックアンヒドラーゼ (EC 4.2.1.1) (炭酸脱水酵素)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TPM1	ホモセリンデヒドロゲナーゼ (HDH) (EC 1.1.1.3)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TQB6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TQM7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TQR2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TQV9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TS21	プロテアソームサブユニット β 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TS28	アネキシン
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TSD8	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TSF8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TSI9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TT89	未同定タンパク質

【 0 4 9 9 】

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TTA0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TTR8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TTV4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TTZ7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TU54	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TVB6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TVG1	真核生物翻訳開始因子 5A (eIF-5A)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TVJ4	プロフィリン
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TVM6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TVM9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TVP7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TVT8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TW14	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TWG9	T-コンプレックスタンパク質 1 サブユニットΔ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TWU1	推定(Probable) 二官能メチルチオリブローズ-1-リン酸デヒドラターゼ/エノラーゼ-ホスファターゼ E1 [以下を含む: エノラーゼ-ホスファターゼ E1 (EC 3.1.3.77) (2,3-ジケト-5-メチルチオ-1-ホスホペンタンホスファターゼ); メチルチオリブローズ-1-リン酸デヒドラターゼ (MTRu-1-P デヒドラターゼ) (EC 4.2.1.109)]
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TWX8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TXH0	グルタミン酸デカルボキシラーゼ (EC 4.1.1.15)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TXK9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TXU9	チアミンチアゾールシンターゼ, 葉緑体 (チアゾール生合成酵素)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TY40	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TYJ6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TYP5	60S リボソームタンパク質 L13
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TYP6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TYR6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TYZ8	チューブリン α 鎖
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TZ91	グアノシンヌクレオチド二リン酸解離阻害因子

10

20

30

【 0 5 0 0 】

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TZA8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TZJ1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TZK5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TZP2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TZX8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TZU3	マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ (EC 2.7.11.24)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TZU5	ジヒドロリボイルデヒドロゲナーゼ (EC 1.8.1.4)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4TZZ0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U003	真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット K (eIF3k) (eIF-3 p25)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U068	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U088	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U0J7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U133	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U1A8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U1K1	キシロースイソメラーゼ (EC 5.3.1.5)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U1M1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U1V0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U1X7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U1X9	プロテアソームサブユニット β 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U251	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U283	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U2E4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U2F7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U2H8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U2L0	リンゴ酸デヒドロゲナーゼ (EC 1.1.1.37)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U2L2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U2W4	V-型プロトン ATPase サブユニット C
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U3L2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U3W8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U412	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U4K2	未同定タンパク質

10

20

30

【 0 5 0 1 】

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U4M4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U4N5	真核生物翻訳開始因子 6 (eIF-6)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U4S9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U4X3	セリンヒドロキシメチルトランスフェラーゼ (EC 2.1.2.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U4Z9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U500	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U5B0	真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット E (eIF3e) (真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット 6)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U5B8	グルタチオンペルオキシダーゼ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U5R5	クエン酸シンターゼ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U5Y8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U6I5	ATP シンターゼ サブユニット β (EC 3.6.3.14)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U6Q8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U706	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U717	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U726	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U729	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U734	セリン/トレオニン-タンパク質ホスファターゼ (EC 3.1.3.16)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U7G7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U7H5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U7R1	カリウムトランスポータ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U7R7	マイトジェン活性化タンパク質キナーゼ (EC 2.7.11.24)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U833	リンゴ酸酵素
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U840	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U8C3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U8J1	3-ホスホキシミ酸 1-カルボキシビニルトランスフェラーゼ (EC 2.5.1.19)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U8J8	T-コンプレックスタンパク質 1 サブユニット γ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U995	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U999	未同定タンパク質

10

20

30

【 0 5 0 2 】

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U9C7	真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット D (eIF3d) (真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット 7) (eIF-3-ゼータ)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U9G8	プロリンイミノペプチダーゼ (EC 3.4.11.5)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4U9L1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UA63	フィトクロム
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UAC8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UAR4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UB30	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UBK8	V-型プロトン ATPase サブユニット a
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UBL3	コートマーサブユニット α
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UBL5	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UBM0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UBZ8	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (EC 2.6.1.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UC72	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UC97	β -グルコシダーゼ (EC 3.2.1.21)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UCE2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UCT9	アセチル-CoA シンテターゼ (EC 6.2.1.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UCZ1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UE34	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UE78	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UER3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UET6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UEZ6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UFD0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UFG8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UFK1	未同定タンパク質

10

20

【 0 5 0 3 】

30

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UG68	真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット I (eIF3i)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UGB0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UGH4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UGL9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UGQ0	ユビキチニルヒドラーゼ 1 (EC 3.4.19.12)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UH00	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UH48	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UH77	プロテアソームサブユニット α 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UHD8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UHD9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UHF1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UHZ5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UI07	40S リボソームタンパク質 S8
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UI34	真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット L (eIF3l)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UIF1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UIN5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UIX8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UJ12	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UJ42	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UJ63	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UJB7	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UJC4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UJX0	ホスホトランスフェラーゼ (EC 2.7.1.-)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UJY5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UK18	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UK52	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UKM9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UKS4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UKV6	40S リボソームタンパク質 SA
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UL30	ピロリン酸塩--フルクトース 6-リン酸 1-ホスホトランスフェラーゼ サブユニット β (PEP) (EC 2.7.1.90) (6-ホスホフルクトキナーゼ, ピロリン酸塩依存性) (PPi-PFK) (ピロリン酸塩依存性 6-ホスホフルクトース-1-キナーゼ)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UL39	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4ULH9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4ULL2	未同定タンパク質

10

20

30

【 0 5 0 4 】

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4ULS0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UMU7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UN36	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UNT5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UNW1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UP89	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UPE4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UPF7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UPK0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UPX5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UQ58	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UQF6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UR21	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UR80	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4URK3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4URT3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4US96	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4USQ8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UT16	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UTC6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UTC8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UTP6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UTY0	プロテアソームサブユニット α 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UU96	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UUB6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UUJ9	アミノペプチダーゼ (EC 3.4.11.-)

10

20

【 0 5 0 5 】

30

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UUK6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UV09	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UV83	リシン--tRNA リガーゼ (EC 6.1.1.6) (リシル-tRNA シンターゼ)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UVJ5	ジアシルグリセロールキナーゼ (DAG キナーゼ) (EC 2.7.1.107)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UW03	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UW04	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UWR1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UWV8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4UX36	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V003	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V0J0	40S リボソームタンパク質 S26
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V1P8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V4V0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V5T8	ユビキチンフォールド修飾因子 1
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V600	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V622	アルデヒドデヒドロゲナーゼ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V6W1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V6Z2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V738	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V8H5	液胞タンパク質分類関連タンパク質 35
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V9P6	真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット F (eIF3f) (eIF-3-イブシロン)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V9V7	クラスリン重鎖
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4V9X3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VAA3	スーパーオキシドジムスターゼ (EC 1.15.1.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VAF3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VBQ0	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VCL1	プロテアソームサブユニット β 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VCZ9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VDK1	ペプチジルプロピルイソメラーゼ (EC 5.2.1.8)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VEA1	未同定タンパク質

10

20

30

【 0 5 0 6 】

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VEB3	アラニン--tRNA リガーゼ (EC 6.1.1.7) (アラニル-tRNA シンテターゼ) (AlaRS)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VEE3	グルタミンシンテターゼ (EC 6.3.1.2)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VFM3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VFN5	プロテアソームサブユニット β 型 (EC 3.4.25.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VGD6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VGL9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VHI6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VIP4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VJT4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VK14	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VKI5	タンパク質-L-イノアスパラギン酸 O-メチルトランスフェラーゼ (EC 2.1.1.77)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VKP2	グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ (EC 1.2.1.-)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VL73	アシル CoA オキシダーゼ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VLL7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VN43	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VQH3	メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (EC 1.5.1.20)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VTC9	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VTT4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VTY7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VU14	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VU32	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VUK6	S-(ヒドロキシメチル)グルタチオン デヒドロゲナーゼ (EC 1.1.1.284)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VVR8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VXE2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VY37	ホスホマンノムターゼ (EC 5.4.2.8)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VYC0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VYV1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VZ80	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4VZJ7	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W2P2	α -マンノシダーゼ (EC 3.2.1.-)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W2Z9	クロライドチャネルタンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W378	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W4G3	未同定タンパク質

【 0 5 0 7 】

10

20

30

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W5F1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W5N8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W5U2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W6G1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W730	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W7J4	Obg 様 ATPase 1
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W7L5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W8C5	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W8C9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W8D3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W951	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W9F6	60S リボソームタンパク質 L18a
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W9G2	未同定タンパク質 (断片)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W9L3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4W9Y8	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WAP9	コートマー サブユニット β (β -コートタンパク質)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WBK6	シトクロム b-c1 複合体サブユニット 7
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WC15	リンゴ酸酵素
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WC19	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WC74	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WC86	セリン/トレオニン-タンパク質ホスファターゼ 2A 55 kDa 調節サブユニット B
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WCS4	GTP 結合核タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WD80	アスパラギン酸アミノトランスフェラーゼ (EC 2.6.1.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WDK0	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WDK3	ATP-依存性 6-ホスホフルクトキナーゼ (ATP-PFK) (ホスホフルクトキナーゼ) (EC 2.7.1.11) (ホスホヘキソキナーゼ)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WE00	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WEE3	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WEN2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WG97	オートファジー関連タンパク質

10

20

30

【 0 5 0 8 】

40

50

レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WGV2	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WGW5	ウリジスキナーゼ (EC 2.7.1.48)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WHD4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WHF8	スクロースシンターゼ (EC 2.4.1.13)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WHK2	ペクチンステラーゼ (EC 3.1.1.11)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WHQ4	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WHT6	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WJ93	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WJA9	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V4WJB1	未同定タンパク質
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	V9HXG3	タンパク質ジスルフィドイソメラーゼ (EC 5.3.4.1)
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	W8Q8K1	推定 無機ピロホスファターゼ
レモン(<i>Citrus lemon</i>)	W8QJL0	推定 イソペンテニルピロリン酸イソメラーゼ
ブドウ(<i>Grape</i>)	アクセッション番号	同定タンパク質
ブドウ(<i>Grape</i>)	A5C5K3 (+2)	アデノシルホモシステイナーゼ
ブドウ(<i>Grape</i>)	Q9M6B5	アルコールデヒドロゲナーゼ 6
ブドウ(<i>Grape</i>)	A3FA65 (+1)	アクアポリン PIP1;3
ブドウ(<i>Grape</i>)	Q0MX13 (+2)	アクアポリン PIP2;2
ブドウ(<i>Grape</i>)	A3FA69 (+4)	アクアポリン PIP2;4
ブドウ(<i>Grape</i>)	A5AFS1 (+2)	伸長因子 1- α
ブドウ(<i>Grape</i>)	UPI0001985702	伸長因子 2
ブドウ(<i>Grape</i>)	D7T227	エノラーゼ
ブドウ(<i>Grape</i>)	D7TJ12	エノラーゼ
ブドウ(<i>Grape</i>)	A5B118 (+1)	フルクトース-ビスリン酸アルドラーゼ
ブドウ(<i>Grape</i>)	E0CQ39	グルコース-6-リン酸イソメラーゼ
ブドウ(<i>Grape</i>)	D7TW04	グルタチオンペルオキシダーゼ
ブドウ(<i>Grape</i>)	A1YW90 (+3)	グルタチオン S-トランスフェラーゼ
ブドウ(<i>Grape</i>)	A5BEW0	ヒストン H4

10

20

30

【 0 5 0 9 】

40

50

ブドウ(Grape)	UPI00015C9A6 A	HSC70-1 (熱ショックコグネイト 70 kDa タンパク質 1); ATP 結合アイソフォーム 1
ブドウ(Grape)	D7FBC0 (+1)	リンゴ酸デヒドロゲナーゼ
ブドウ(Grape)	D7TBH4	リンゴ酸酵素
ブドウ(Grape)	A5ATB7 (+1)	メチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素
ブドウ(Grape)	A5JPK7 (+1)	モノデヒドロアスコルビン酸レダクターゼ
ブドウ(Grape)	A5AKD8	ペチジル-プロピル シス-トランスイソメラーゼ
ブドウ(Grape)	A5BQN6	ペチジル-プロピル シス-トランスイソメラーゼ
ブドウ(Grape)	A5CAF6	ホスホグリセリン酸キナーゼ
ブドウ(Grape)	Q09VU3 (+1)	ホスホリパーゼ D
ブドウ(Grape)	D7SK33	ホスホリラーゼ
ブドウ(Grape)	A5AQ89	プロフィリン
ブドウ(Grape)	C5DB50 (+2)	推定 2,3-ビスホスホグリセリン酸依存性ホスホグリセリン酸 ムターゼ
ブドウ(Grape)	D7TIZ5	ビルビン酸キナーゼ
ブドウ(Grape)	A5BV65	トリオースリン酸イソメラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	G8Z362 (+1)	(E)- β -ファルネセンシンターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q5CD81	(E)- β -オシメンシンターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	D0UZK1 (+2)	1,2 ラムノシルトランスフェラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	A7ISD3	1,6-ラムノシルトランスフェラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q80H98	280 kDa タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q15GA4 (+2)	286 kDa ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	D7NHW9	2-ホスホ-D-グリセリン酸ヒドラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	D0EAL9	349 kDa ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q9DTG5	349-kDa ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	O22297	酸性セルラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8H986	酸性クラス I キチナーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	D3GQL0	アコニット酸ヒドラターゼ 1
グレープフルーツ (Grapefruit)	K7N8A0	アクチン
グレープフルーツ (Grapefruit)	A8W8Y0	アルコールアシルトランスフェラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q84V85	アレンオキシドシンターゼ

10

20

30

40

【 0 5 1 0 】

50

グレープフルーツ (Grapefruit)	F8WL79	アミノペプチダーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q09MG5	アポシクロム f
グレープフルーツ (Grapefruit)	J7EIR8	アスコルビン酸ベルオキシダーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	B9VRH6	アスコルビン酸ベルオキシダーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	G9I820	オーキシン応答因子
グレープフルーツ (Grapefruit)	J7ICW8	β -アミラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8L5Q9	β -ガラクトシダーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	A7BG60	β -ピネンシンターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	C0KLD1	β -チューブリン
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q91QZ1	カプシドタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q3SAK9	カプシドタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	D2U833	カチオン-クロライド共輸送体
グレープフルーツ (Grapefruit)	C3VPJ0 (+3)	カルコンシンターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	D5LM39	クロライドチャネルタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q9M4U0	ケイ皮酸 4-ヒドロキシラーゼ CYP73
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q39627	シトリン
グレープフルーツ (Grapefruit)	G2XKD3	コートタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q3L2I6	コートタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	D5FV16	CRT/DRE 結合因子
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8H6S5	CTV.2
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8H6Q8	CTV.20
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8H6Q7	CTV.22
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q1I1D7	シクロム P450
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q7Y045	デヒドリン
グレープフルーツ (Grapefruit)	F8WLD2	DNA 除去修復タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q09MI8	DNA-指向性 RNA ポリメラーゼ サブユニット β "
グレープフルーツ (Grapefruit)	D2WKC9	エチレン応答 1
グレープフルーツ (Grapefruit)	D2WKD2	エチレン応答センサ 1
グレープフルーツ (Grapefruit)	D7PVG7	エチレン非感受性 3 様 1 タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	G3CHK8	真核生物翻訳開始因子 3 サブユニット E
グレープフルーツ (Grapefruit)	A9NJG4 (+3)	脂肪酸ヒドロベルオキシドリアーゼ

【 0 5 1 1 】

10

20

30

40

50

グレープフルーツ (Grapefruit)	B8Y9B5	F-ボックスファミリータンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q000W4	Fe(III)-キレートレダクターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q6Q3H4	フルクトキナーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	F8WL95	Gag-ポリポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8L5K4	γ -テルビネンシンターゼ, 葉緑体
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q9SP43	グルコース-1-リン酸アデニリルトランスフェラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q3HM93	グルタチオン S-トランスフェラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	D0VEW6	GRAS ファミリー転写因子
グレープフルーツ (Grapefruit)	F8WL87	ヒートショックタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	H9NHK0	Hsp90
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8H6R4	Jp18
グレープフルーツ (Grapefruit)	G3CHK6	ロイシンリッチ反復 ファミリータンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	B2YGX9 (+1)	リモノイド UDP-グルコシルトランスフェラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q05KK0	MADS-ボックスタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	F8WLB4	機械感受性イオンチャネルドメイン含有タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q5CD82	モノテルペンシンターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	F8WLC4	MYB 転写因子
グレープフルーツ (Grapefruit)	A5YWA9	NAC ドメインタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q09MC9	NAD(P)H-キノンオキシドレダクターゼサブユニット 5, 葉緑体
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8H6R9	NBS-LRR 型病害抵抗性タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8H6S0	NBS-LRR 型病害抵抗性タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8H6R6	NBS-LRR 型病害抵抗性タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	J9WR93	pla
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q1X8V8	P23
グレープフルーツ (Grapefruit)	E7DSS0 (+4)	P23
グレープフルーツ (Grapefruit)	G0Z9I6	p27

10

20

30

40

【 0 5 1 2 】

50

グレープフルーツ (Grapefruit)	I3XHN0	p33
グレープフルーツ (Grapefruit)	B8YDL3	p33 タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	B9VB22	p33 タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	P87587	P346
グレープフルーツ (Grapefruit)	B9VB56	p349 タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	I3RWW7	p349 タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	B9VB20	p349 タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q9WID7	p349 タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q2XP16	P353
グレープフルーツ (Grapefruit)	O04886 (+1)	ペクチンステラーゼ 1
グレープフルーツ (Grapefruit)	F8WL74	ペチジル-プロピル シス-トランスイソメラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q0ZA67	ペロオキシダーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	FICT41	ホスホエノールビルビン酸カルボキシラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	BIPBV7 (+2)	フィトエンシンターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q9ZWQ8	色素体-脂質結合タンパク質, 葉緑体
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q94FM1	ポリポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q94FM0	ポリポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	G9I825	ポリ C-結合タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	O64460 (+7)	ポリガラクトツロナーゼ阻害因子
グレープフルーツ (Grapefruit)	I3XHM8	ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	C0STR9	ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	H6U1F0	ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	B8QHP8	ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	I3V6C0	ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	C0STS0	ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	K0FGH5	ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q3HWZ1	ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	F8WLA5	PPR 含有タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q06652 (+1)	推定(Probable) リン脂質ヒドロペルオキシド グルタチオン ペロオキシダーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	P84177	プロフィリン
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q09MB4	タンパク質 ycf2

10

20

30

40

【 0 5 1 3 】

50

グレープフルーツ (Grapefruit)	A8C183	PSI 反応中心サブユニット II
グレープフルーツ (Grapefruit)	A5JVP6	推定 2b タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	D0EFM2	推定 真核生物翻訳開始因子 1
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q18L98	推定 gag-ポリポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	B5AM19	推定 移動タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	A1ECK5	推定 多ストレス応答性ジンクフィンガータンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	B5AMJ0	推定 レプリカーゼポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	I7CYN5	推定 RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8RVR2	推定 テルペンシンターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	B5TE89	推定 未同定タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q8JVF3	推定 未同定タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	F8WLB0	推定 未同定タンパク質 ORF43
グレープフルーツ (Grapefruit)	A5JVP4	推定 ウイルスレプリカーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	M1JAW3	レプリカーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	H6VXK8	レプリカーゼ ポリタンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	J9UF50 (+1)	レプリカーゼタンパク質 1a
グレープフルーツ (Grapefruit)	J9RV45	レプリカーゼタンパク質 2a
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q5EGG5	レプリカーゼ結合タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	G9I823	RNA 認識モチーフタンパク質 1
グレープフルーツ (Grapefruit)	J7EPC0	RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q6DN67	RNA-指向性 RNA ポリメラーゼ L
グレープフルーツ (Grapefruit)	A9CQM4	SEPALLATA1 ホモログ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q9SLS2	スクロースシンターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q9SLV8 (+1)	スクロースシンターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q38JC1	温度誘導性リボカリン
グレープフルーツ (Grapefruit)	D0ELH6	テトラトリコペプチドドメイン含有 チオレドキシン
グレープフルーツ (Grapefruit)	D2KU75	ソーマチン様タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	C3VIC2	翻訳伸長因子
グレープフルーツ (Grapefruit)	D5LY07	ユビキチン/リボソーム融合タンパク質

10

20

30

40

【 0 5 1 4 】

50

グレープフルーツ (Grapefruit)	C6KI43	UDP-グルコシルトランスフェラーゼ ファミリー1 タンパク質
グレープフルーツ (Grapefruit)	A0FKR1	液胞クエン酸/H ⁺ 共輸送体
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q944C8	液胞インペルターゼ
グレープフルーツ (Grapefruit)	Q9MB46	V-型プロトン ATPase サブユニット E
グレープフルーツ (Grapefruit)	F8WL82	WD-40 反復ファミリータンパク質
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr03g 0080391	Hsp90
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr13g 0408351	Hsp90
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr13g 0408441	Hsp90
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr14g 0462551	Hsp90
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr02g 0044471	Hsp70
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr02g 0044481	Hsp70
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr05g 0132631	Hsp70
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr05g 0134631	Hsp70
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr05g 0134801	Hsp70
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr10g 0299441	グルタチオン S-トランスフェラーゼ
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr16g 0516291	グルタチオン S-トランスフェラーゼ
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr03g 0091431	乳酸/リンゴ酸デヒドロゲナーゼ
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr13g 0421951	乳酸/リンゴ酸デヒドロゲナーゼ
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr10g 0304821	乳酸/リンゴ酸デヒドロゲナーゼ
ヒマワリ(Helianthus annuus)	HanXRQChr12g 0373491	乳酸/リンゴ酸デヒドロゲナーゼ

10

20

30

【 0 5 1 5 】

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr01g 0031071	低分子 GTPase スーパーファミリー, Rab 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr01g 0031091	低分子 GTPase スーパーファミリー, Rab 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr02g 0050791	低分子 GTPase スーパーファミリー, Rab 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0353711	低分子 GTPase スーパーファミリー, Rab 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0402771	低分子 GTPase スーパーファミリー, Rab 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr07g 0190171	イソクエン酸/イソプロピルリンゴ酸デヒドロゲナーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0532251	イソクエン酸/イソプロピルリンゴ酸デヒドロゲナーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0079131	ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0495261	ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0388931	ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr14g 0442731	ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0482381	UTP--グルコース-1-リン酸ウリジリルトランスフェラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0532261	UTP--グルコース-1-リン酸ウリジリルトランスフェラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0135591	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr06g 0178921	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr08g 0237071	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0337991	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0407921	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0145191	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr07g 0187021	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr07g 0189811	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0253681	チューブリン

【 0 5 1 6 】

10

20

30

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0288911	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0322631	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0367231	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0386681	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0393261	チューブリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0371591	ユビキチン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0383641	ユビキチン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0569881	ユビキチン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr06g 0171511	光化学系 II HCF136, 安定性/アセンブリ因子
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0544921	光化学系 II HCF136, 安定性/アセンブリ因子
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0526461	プロテアソーム B 型サブユニット
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0565551	プロテアソーム B 型サブユニット
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0149801	プロテアソーム B 型サブユニット
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0241421	プロテアソーム B 型サブユニット
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0353161	プロテアソーム B 型サブユニット
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0506311	プロテイナーゼ阻害剤ファミリー I3 (Kunitz)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0506331	プロテイナーゼ阻害剤ファミリー I3 (Kunitz)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0265401	メタロペプチダーゼ (M10 ファミリー)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0265411	メタロペプチダーゼ (M10 ファミリー)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0154561	ATPase, AAA 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr08g 0235061	ATPase, AAA 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0273921	ATPase, AAA 型

10

20

30

【 0 5 1 7 】

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0498881	ATPase, AAA 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr02g 0058711	オキソ酸デヒドロゲナーゼアシルトランスフェラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr08g 0214191	オキソ酸デヒドロゲナーゼアシルトランスフェラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr08g 0208631	低分子 GTPase スーパーファミリー, SAR1 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0331441	低分子 GTPase スーパーファミリー, SAR1 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0371571	低分子 GTPase スーパーファミリー, SAR1 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0383571	低分子 GTPase スーパーファミリー, SAR1 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr14g 0446771	低分子 GTPase スーパーファミリー, SAR1 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0539461	低分子 GTPase スーパーファミリー, SAR1 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0548271	低分子 GTPase スーパーファミリー, SAR1 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0569871	低分子 GTPase スーパーファミリー, SAR1 型
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0311201	ATPase, V1 複合体, サブユニット A
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0359711	ATPase, V1 複合体, サブユニット A
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr04g 0124671	フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr06g 0176631	フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQCPg05 79861	光化学系 II PsbD/D2, 反応中心

10

20

【 0 5 1 8 】

30

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr00c0439g0574731	光化学系 II PsbD/D2, 反応中心
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr04g0099321	光化学系 II PsbD/D2, 反応中心
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr08g0210231	光化学系 II PsbD/D2, 反応中心
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g0326671	光化学系 II PsbD/D2, 反応中心
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g0549121	光化学系 II PsbD/D2, 反応中心
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQCPg0579731	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr00c0126g0571821	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr00c0165g0572191	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr00c0368g0574171	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr00c0454g0574931	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr00c0524g0575441	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr00c0572g0575941	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g0257281	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g0326571	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g0327051	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g0503941	光化学系 II タンパク質 D1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQCPg0580061	光化学系 II シトクロム b559

10

20

【 0 5 1 9 】

30

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr01g 0020331	光化学系 II シトクロム b559
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0283581	光化学系 II シトクロム b559
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0284271	光化学系 II シトクロム b559
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0289291	光化学系 II シトクロム b559
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0318171	光化学系 II シトクロム b559
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0326851	光化学系 II シトクロム b559
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0529011	光化学系 II シトクロム b559
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr08g 0219051	クロロフィル A-B 結合タンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0370841	クロロフィル A-B 結合タンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr02g 0053151	クロロフィル A-B 結合タンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr02g 0053161	クロロフィル A-B 結合タンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQCPg05 80051	シトクロム f
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr01g 0020341	シトクロム f
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0283571	シトクロム f
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0284261	シトクロム f
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0289281	シトクロム f
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0318181	シトクロム f
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0326841	シトクロム f

【 0 5 2 0 】

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0497521	シトクロム f
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr06g 0163851	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0252071	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0374041	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr04g 0128141	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0163131	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0076971	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0159851	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0159971	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0324631	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0408051	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0089331	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0419951	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0497041	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0499761	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr04g 0106961	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr06g 0175811	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr04g 0122771	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0245691	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0520021	リボソームタンパク質

【 0 5 2 1 】

10

20

30

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0060471	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr14g 0429531	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr06g 0171911	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0479091	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0479101	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0543641	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0543661	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr04g 0105831	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0258341	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0287141	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0463911	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0076171	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0159291	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0407551	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0380701	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0477271	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0545211	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0570741	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0570761	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr02g 0044021	リボソームタンパク質

10

20

30

【 0 5 2 2 】

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0152871	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr01g 0012781	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr08g 0230861	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0391831	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0337791	二官能トリプシン/ α -アミラーゼ阻害剤
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0312371	2-オキソ酸デヒドロゲナーゼ アシルトランスフェラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0276191	酸性ホスファターゼ (クラス B)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0142271	アルドース-1-エピメラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr14g 0439791	α -D-ホスホヘキソムターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0251071	α -L-フルクトシダーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0147371	アネキシン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0247561	Asp プロテアーゼ (ペプチダーゼファミリーA1)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0409681	ベルベリンブリッジ酵素 (S)-レチクリン:酸素オキシドレダクターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0295971	β -ヒドロキシアシル(アシル-キャリア-タンパク質) デヒドラターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0412571	炭水化物エステラーゼファミリー 13 - CE13 (ペクチンアシルエステラーゼ - PAE)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0360101	炭水化物エステラーゼファミリー 8 - CE8 (ペクチンメチルエステラーゼ - PME)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr01g 0019231	カルボニックアンヒドラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr02g 0036611	細胞レチナルデヒド結合/ α -トコフェロール輸送
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0313581	シェペロニン Cpn60
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0251791	クラスリン

10

20

30

【 0 5 2 3 】

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0329811	クロロフィル A-B 結合タンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0398861	コバラミン (ビタミン B12)-依存性メチオニンシンターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0298981	シクロフィリン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr04g 0103281	Cys プロテアーゼ (パパインファミリー)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0268361	シトクロム P450
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0535591	形成性操作タンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0065901	エクспанシン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0336761	発現タンパク質 (クビンドメイン, 種子貯蔵タンパク質ドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0280931	発現タンパク質 (クビンドメイン, 種子貯蔵タンパク質ドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0288971	発現タンパク質 (クビンドメイン, 種子貯蔵タンパク質ドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0380361	発現タンパク質 (クビンドメイン, 種子貯蔵タンパク質ドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0254381	発現タンパク質 (クビンドメイン, 種子貯蔵タンパク質ドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr04g 0112711	発現タンパク質 (クビンドメイン, 種子貯蔵タンパク質ドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr07g 0196131	発現タンパク質 (クビンドメイン, 種子貯蔵タンパク質ドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0301281	発現タンパク質 (クビンドメイン, 種子貯蔵タンパク質ドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0301931	発現タンパク質 (クビンドメイン, 種子貯蔵タンパク質ドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0404461	発現タンパク質 (クビンドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr01g 0015821	発現タンパク質 (DUF642)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0065301	発現タンパク質 (Gnk2-相同ドメイン, イチョウ種子の抗真菌性タンパク質)

【 0 5 2 4 】

10

20

30

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0068311	発現タンパク質 (LRRドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0291371	発現タンパク質 (LRRドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0075061	ファンクリン様アラビノガラクタンタンパク質 (FLA)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr08g 0221961	フェリチン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0257521	FMN-依存性デヒドロゲナーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr14g 0441641	フルクトース-ビスリン酸アルドラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0312621	ジェルミン(germin)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0244271	グルコース-メタノール-コリンオキシドレダクターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0061571	グルタミン酸シンターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0144801	グリセルアルデヒド 3-リン酸デヒドロゲナーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0550211	グリセロホスホリルジエステルホスホジステラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr06g 0175391	グリコシドヒドロラーゼファミリー 16 - GH16 (エンドキシロガ ルカントランスフェラーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0351571	グリコシドヒドロラーゼファミリー 17 - GH17 (β -1,3-グルコシ ダーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0141461	グリコシドヒドロラーゼファミリー 18 - GH18
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0276721	グリコシドヒドロラーゼファミリー 19 - GH19
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr02g 0046191	グリコシドヒドロラーゼファミリー 2 - GH2
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0524981	グリコシドヒドロラーゼファミリー 20 - GH20 (N-アセチル- β - グルコサミニダーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0322851	グリコシドヒドロラーゼファミリー 27 - GH27 (α -ガラクトシダー ゼ/メリビアーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0293191	グリコシドヒドロラーゼファミリー 3 - GH3

10

20

30

【 0 5 2 5 】

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0511881	グリコシドヒドロラーゼファミリー 31 - GH31 (α -キシロシダーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr14g 0461441	グリコシドヒドロラーゼファミリー 32 - GH32 (液胞インベルターゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0423671	グリコシドヒドロラーゼファミリー 35 - GH35 (β -ガラクトシダーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0319301	グリコシドヒドロラーゼファミリー 35 - GH35 (β -ガラクトシダーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr09g 0256531	グリコシドヒドロラーゼファミリー 38 - GH38 (α -マンノシダーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0320901	グリコシドヒドロラーゼファミリー 5 - GH5 (glucan-1,3- β グルコシダーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0130491	グリコシドヒドロラーゼファミリー 51 - GH51 (α -アラビノフラノシダーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0314191	グリコシドヒドロラーゼファミリー 79 - GH79 (エンド- β -グルクロニダーゼ/ヘパラーゼ)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0397411	シロイヌナズナ(<i>A. thaliana</i>) PMR5 と相同性 (うどんこ病 (Powdery Mildew) 抵抗性) (炭水化物アシル化)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr14g 0444681	阻害剤ファミリー I3 (Kunitz-P ファミリー)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr14g 0445181	乳酸/リンゴ酸デヒドロゲナーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0564111	レクチン (D-マンノース)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr17g 0558861	レクチン (PAN-2ドメイン)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr02g 0039251	リパーゼアシルヒドロラーゼ (GDSL ファミリー)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr01g 0000161	脂質輸送タンパク質/トリプシン- α アミラーゼ阻害剤
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr02g 0047121	マンノース結合レクチン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0303361	ミトコンドリアキャリアタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0489551	マルチ銅オキシダーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0135581	中性/アルカリ非ライソゾームセラミダーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr01g 0017621	ヌクレオシド二リン酸キナーゼ

10

20

30

【 0 5 2 6 】

40

50

ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0295991	ペロオキシダーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0398251	ペルオキシレドキシシン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0333171	リン酸誘導性 (phi) タンパク質 1
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0060421	ホスホジステラーゼ/ヌクレオチドピロホスファターゼ/リン酸トランスフェラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0078011	ホスホフルクトキナーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr13g 0408831	ホスホグリセリン酸キナーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr10g 0286701	ホスホグリセリン酸ムターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr06g 0171591	光化学系 II PsbP, 酸素発生複合体
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr14g 0434951	色素体-脂質結合タンパク質/フィブリン保存ドメイン
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr05g 0146621	プラストシアニン (青銅結合タンパク質)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0330251	ポリフェノールオキシダーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr04g 0094541	プロテアソーム A 型 サブユニット
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0081271	プロテアソーム B 型サブユニット
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0356851	紫色酸性ホスファターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0485781	ビリドキサルリン酸依存性トランスフェラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0336791	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0330521	リボソームタンパク質
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr11g 0326801	リブローズビスリン酸カルボキシラーゼ, 大サブユニット
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0523951	リブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼ低分子サブユニット
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr01g 0022151	S-アデノシル-L-ホモシステインヒドロラーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr14g 0454811	S-アデノシルメチオニンシンテターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr04g 0109991	SCP 様細胞外タンパク質 (PR-1)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr03g 0072241	Ser カルボキシペプチダーゼ (ペプチダーゼファミリー S10)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr12g 0377221	Ser プロテアーゼ (サブチリシン) (ペプチダーゼファミリー S8)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr02g 0055581	スーパーオキシドジムスターゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr15g 0493261	ソーマチン (PR5)
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr16g 0532531	トランスケトララーゼ
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr07g 0197421	翻訳伸長因子 EFTu/EF1A
ヒマワリ(<i>Helianthus annuus</i>)	HanXRQChr06g 0173951	翻訳制御腫瘍タンパク質

10

20

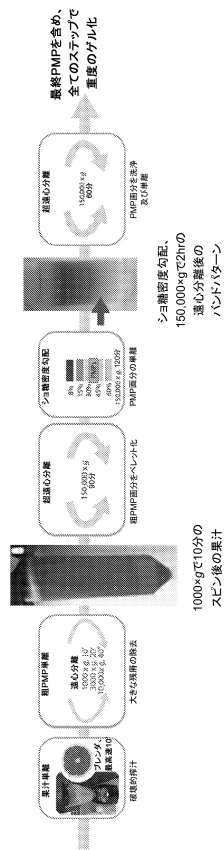
30

40

50

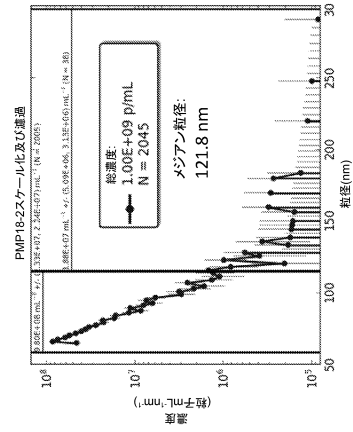
【図面】
【図 1 A】

図 1A



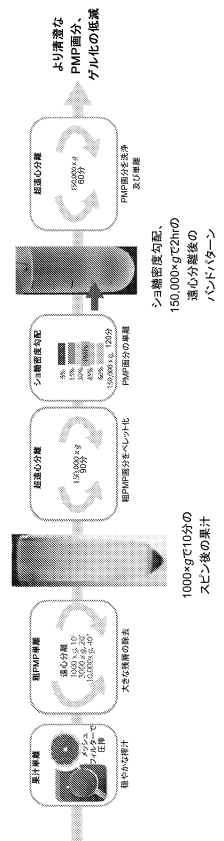
【図 1 B】

図 1B



【図 2】

図 2



【図 3 A】

図 3A



10

20

30

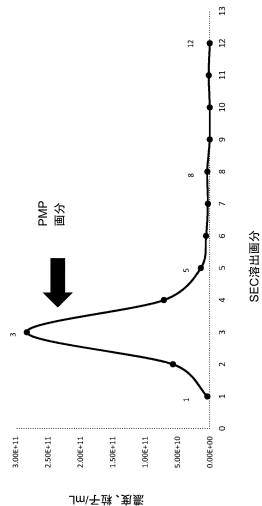
40

50

【図 3 B】

図 3B

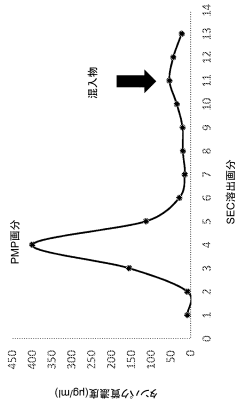
溶出されたSEC画分中の
粒子濃度 (NanoFCM)



【図 3 D】

図 3D

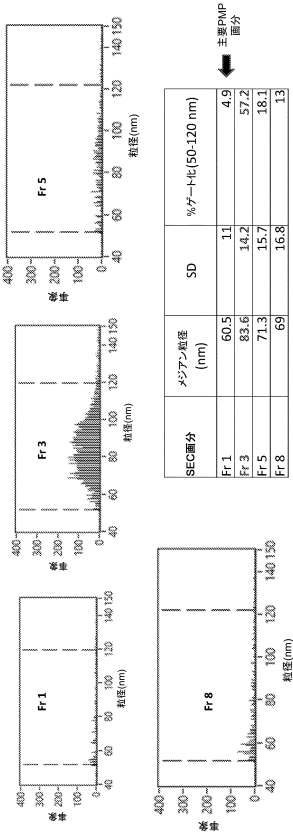
溶出されたSEC画分中の
タンパク質濃度 (μg/ml) (BCAアッセイ)



【図 3 C】

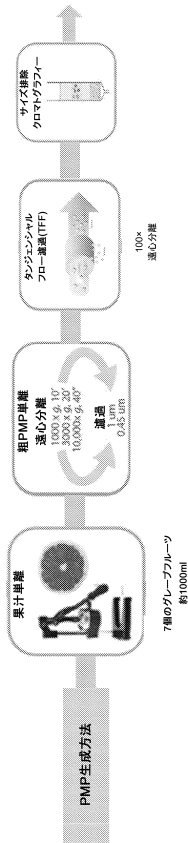
図 3C

SEC画分当たりの粒度分布及び
平均粒度 (nm)
(NanoFCM)

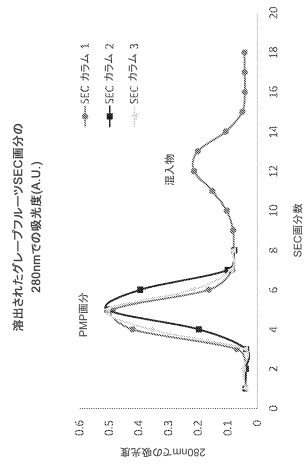


【図 4 A】

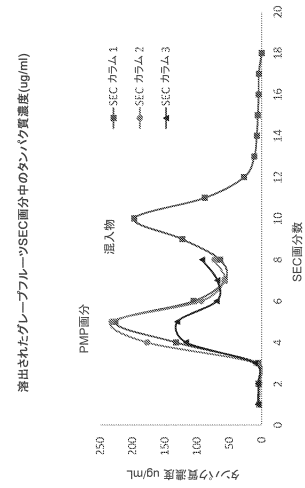
図 4A



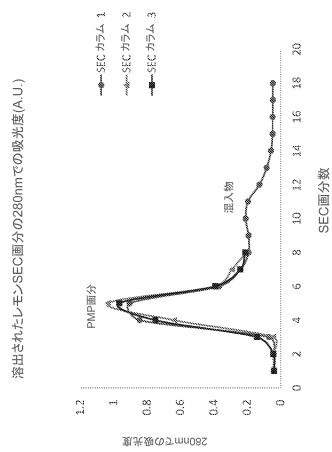
【図 5 B】



【図 5 C】



【図 5 D】



【図 5 E】

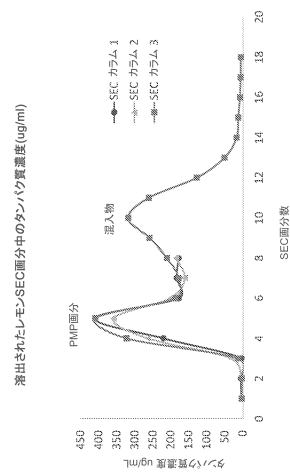


図 5D

図 5E

10

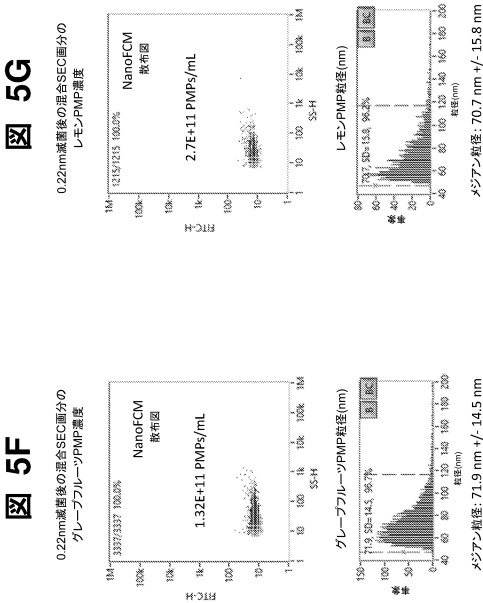
20

30

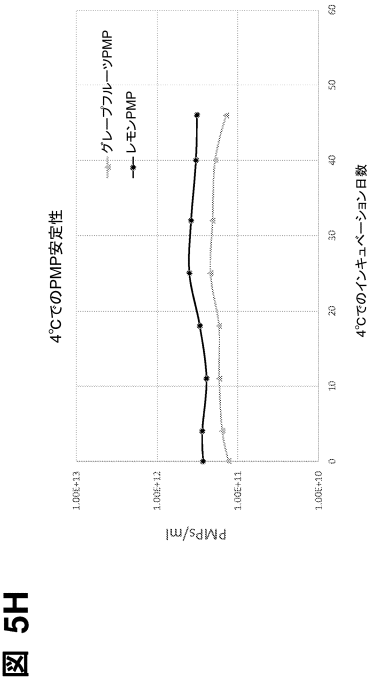
40

50

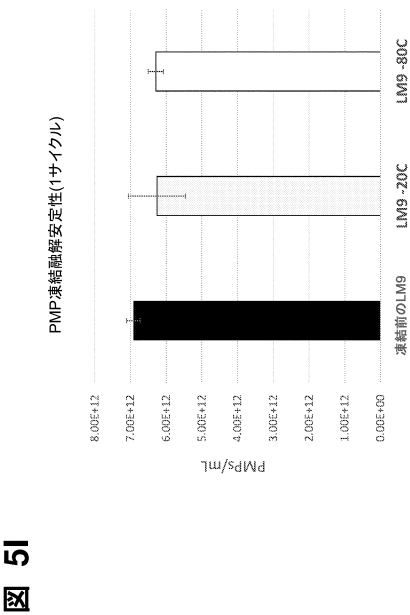
【図 5 F - 5 G】



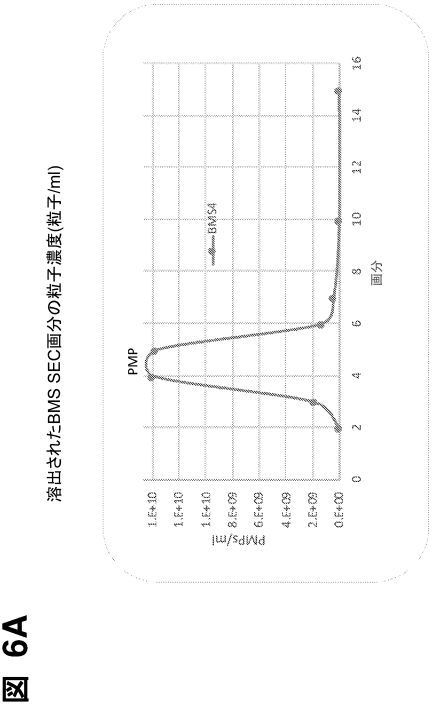
【図 5 H】



【図 5 I】



【図 6 A】



【図 6 B】

溶出されたBMS SEC画分の
280nmでの吸光度(A.U.)

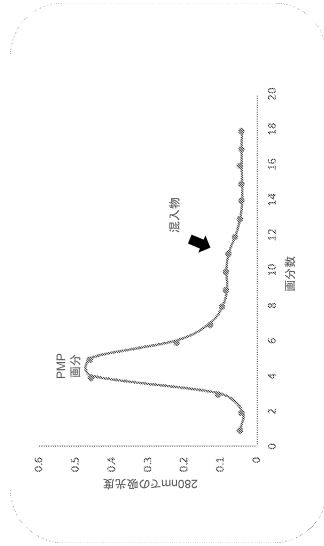


図 6B

【図 6 C】

溶出されたBMS SEC画分の
タンパク質濃度(粒子/ml)

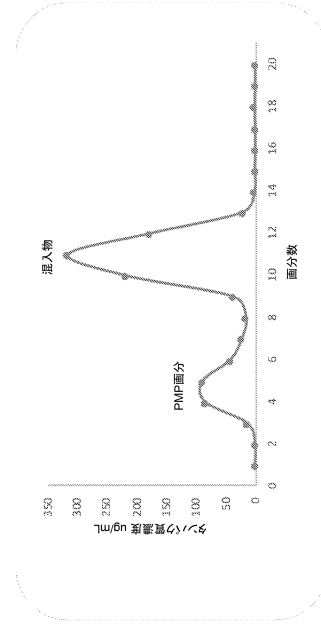


図 6C

【図 6 D】

混合SEC画分のBMS PMP濃度

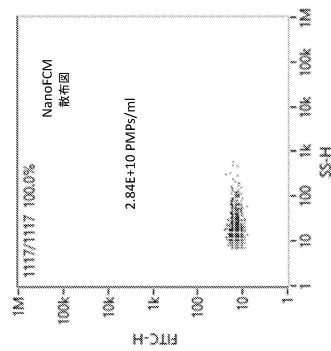
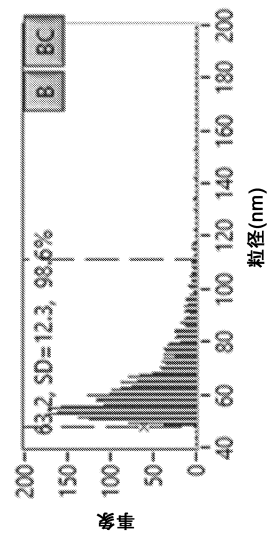


図 6D

【図 6 E】

BMS PMP粒径



メジアン粒径: 63.2 nm +/- 12.3 nm SD

図 6E

10

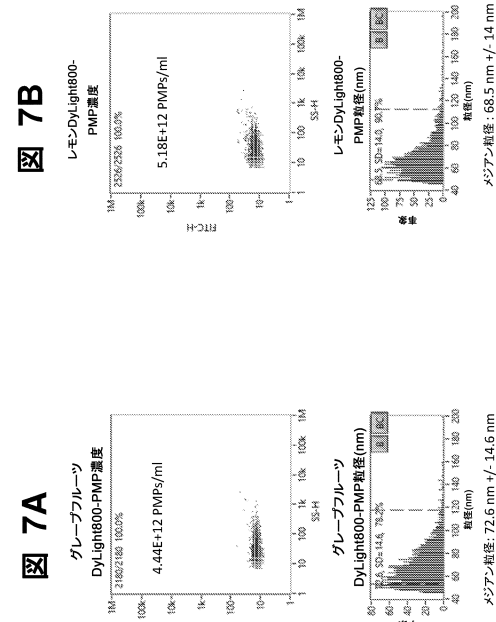
20

30

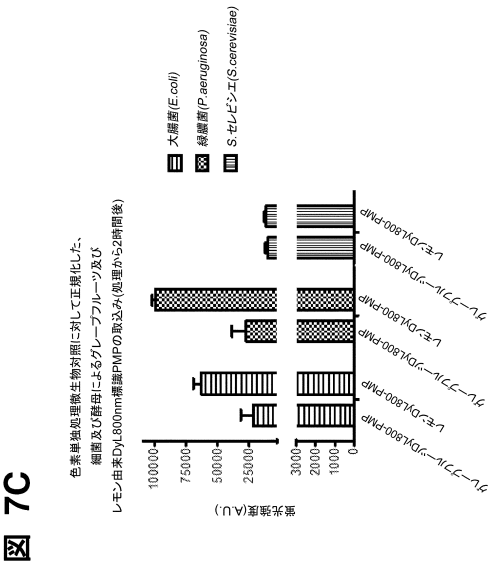
40

50

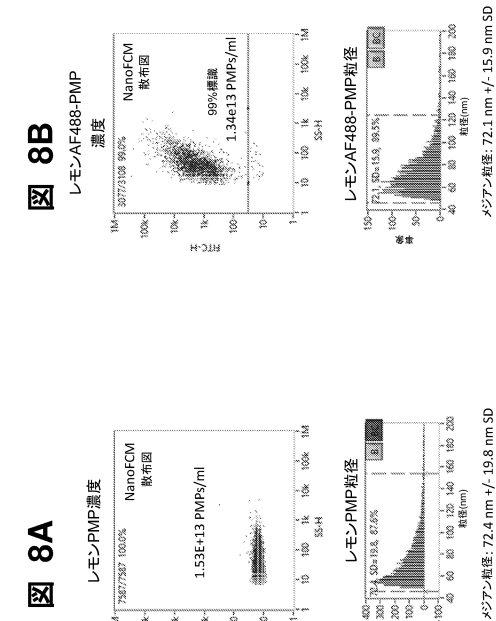
【図 0 7 A - 7 B】



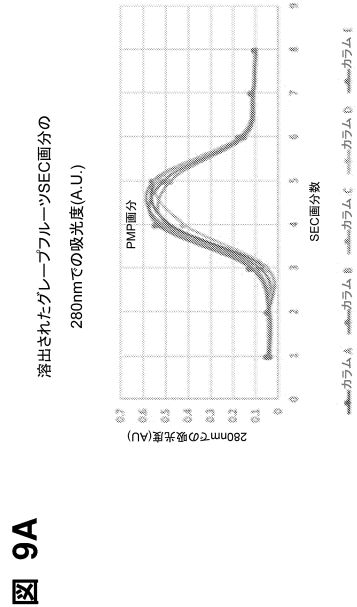
【図 7 C】



【図 0 8 A - 8 B】



【図 9 A】



10

20

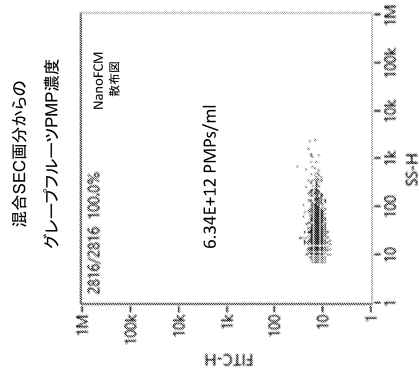
30

40

50

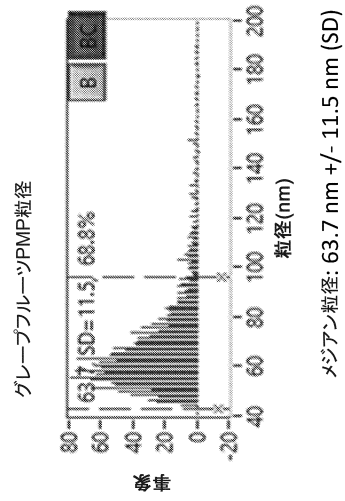
【図 9 B】

図 9B



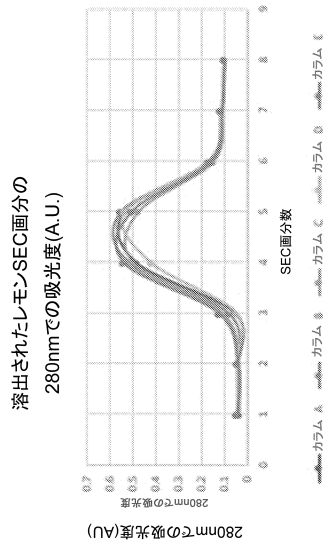
【図 9 C】

図 9C



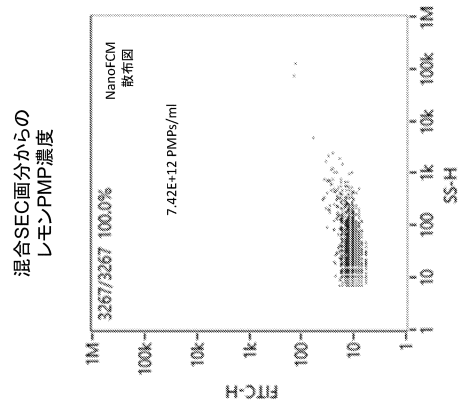
【図 9 D】

図 9D



【図 9 E】

図 9E



10

20

30

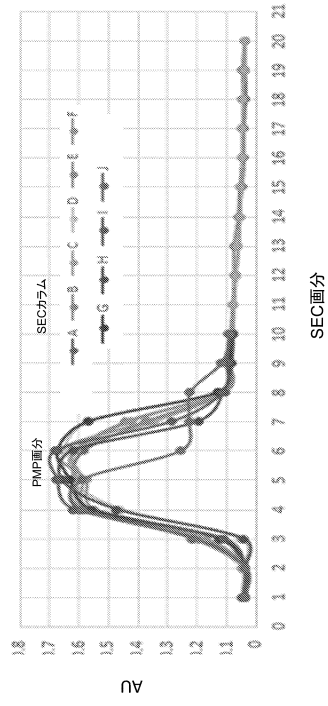
40

50

【図 1 0 B】

図 10B

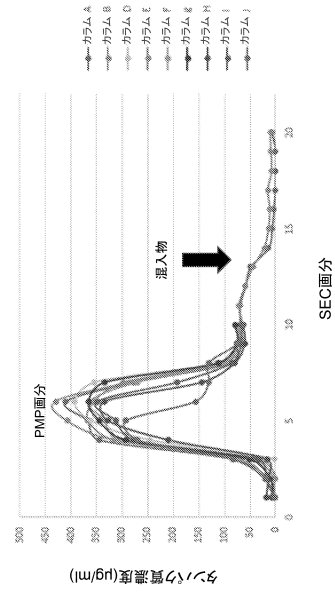
9つの異なるSECカラム(A~J)の溶出SEC画分の
280nmでの吸光度(A.U.)



【図 1 0 C】

図 10C

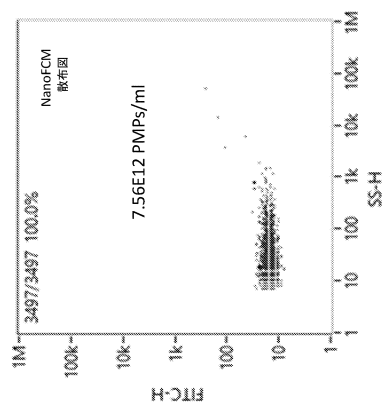
9つの異なるSECカラム(A~J)の
溶出SEC画分のタンパク質濃度(μg/ml)



【図 1 0 D】

図 10D

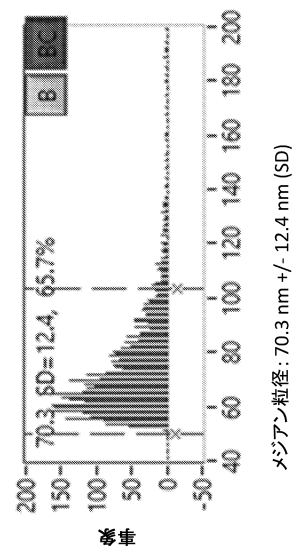
混合SEC画分のPMP濃度



【図 1 0 E】

図 10E

混合SEC画分中のPMP粒径



10

20

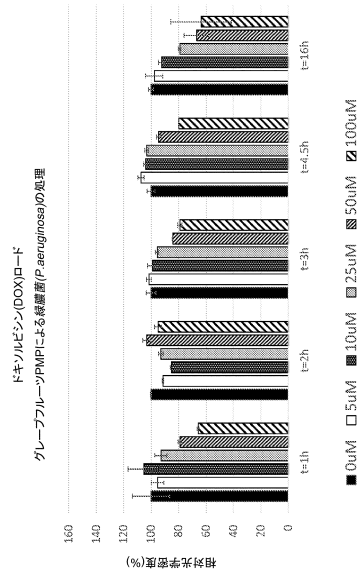
30

40

50

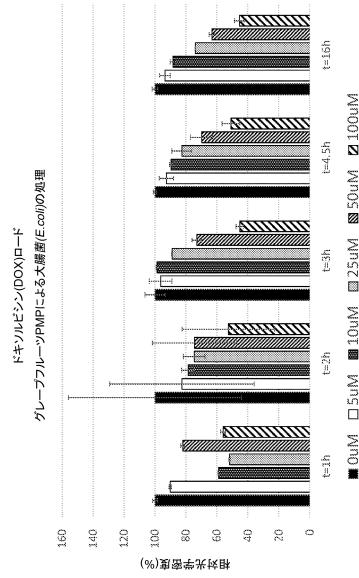
【図 10 F】

図 10F



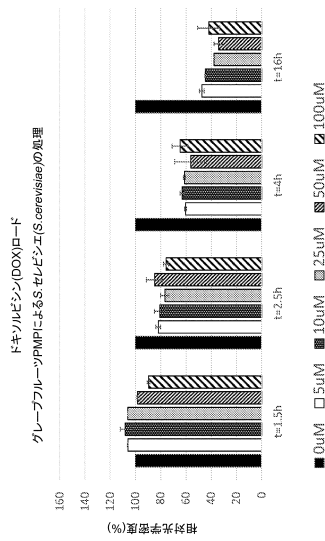
【図 10 G】

図 10G



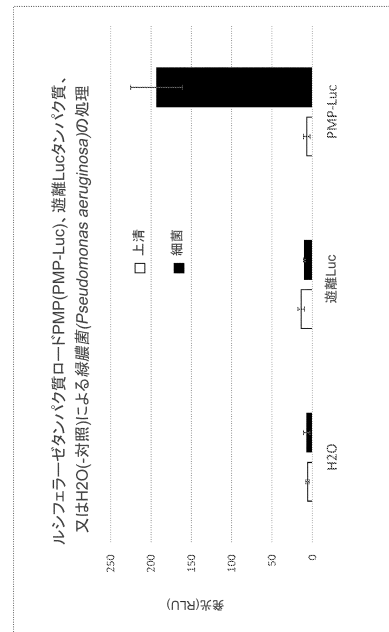
【図 10 H】

図 10H



【図 11】

図 11



10

20

30

40

50

【配列表】
0007599412000001.app

10

20

30

40

50

フロントページの続き

(51)国際特許分類

F I

A 6 1 K 31/7036(2006.01)

A 6 1 K 31/7036

A 6 1 P 31/04 (2006.01)

A 6 1 P 31/04 1 7 1

セッツ, ボストン, マウント ヴァーノン ストリート 150

(72)発明者

タム, ホク ハイ

アメリカ合衆国 02460 マサチューセッツ, ニュートン, エディンボロ テラス 12, ユニット 1

(72)発明者

マルティネス, イグナシオ

アメリカ合衆国 02421 マサチューセッツ, レキシントン, ムーン ヒル ロード 36

(72)発明者

ヌコロバ, ナターシャ ウラジーミロヴナ

アメリカ合衆国 02139 マサチューセッツ, ケンブリッジ, シドニー ストリート 264

(72)発明者

シュバイツァー, シモン

アメリカ合衆国 02125 マサチューセッツ, ボストン, マウント ヴァーノン ストリート 375, アpartment 329

(72)発明者

カバニージャス, ダニエル ガルシア

アメリカ合衆国 02215 マサチューセッツ, ボストン, パーク ドライブ 117, アpartment 37

審査官 一宮 里枝

(56)参考文献

特表2002-535268 (JP, A)

米国特許出願公開第2017/0035700 (US, A1)

国際公開第2010/147094 (WO, A1)

特表2021-523944 (JP, A)

特開昭60-069002 (JP, A)

米国特許出願公開第2014/0194288 (US, A1)

米国特許出願公開第2008/0287662 (US, A1)

米国特許出願公開第2016/0270400 (US, A1)

米国特許第05958463 (US, A)

米国特許第04241046 (US, A)

国際公開第2017/180783 (WO, A1)

中国特許出願公開第103479682 (CN, A)

(58)調査した分野 (Int.Cl., DB名)

A 0 1 N

A 0 1 P

CAplus/REGISTRY (STN)