【公報種別】特許法第１７条の２の規定による補正の掲載
【部門区分】第１部門第１区分
【発行日】平成28年4月28日(2016.4.28)

【公表番号】特表2015-513915(P2015-513915A)
【公表日】平成27年5月18日(2015.5.18)
【年通号数】公開・登録公報2015-033
【出願番号】特願2015-504586(P2015-504586)
【国際特許分類】
*Ｃ１２Ｎ　1/21　(2006.01)*
*Ｃ１２Ｎ　15/09　(2006.01)*
*Ａ６１Ｋ　39/145　(2006.01)*
*Ａ６１Ｋ　35/74　(2015.01)*
【ＦＩ】
Ｃ１２Ｎ　1/21　ＺＮＡ
Ｃ１２Ｎ　15/00　Ａ
Ａ６１Ｋ　39/145
Ａ６１Ｋ　35/74　Ａ

【手続補正書】
【提出日】平成28年3月9日(2016.3.9)
【手続補正１】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
ａ．病原体に対する抗原をコードする少なくとも１つの核酸の制御された発現、および
ｂ．前記抗原がサイトゾルに運搬され、かつ前記病原体に対する宿主細胞性免疫を誘導するように、エンドソーム脱出を可能にする、少なくとも１つの変異
が可能である、組換え細菌。
【請求項２】
病原体がインフルエンザウイルスである、請求項１に記載の組換え細菌。
【請求項３】
抗原がインフルエンザウイルスのＮＰである、請求項１に記載の組換え細菌。
【請求項４】
抗原がインフルエンザウイルスの１以上の保存されたＴ細胞エピトープに融合したＮＰである、請求項１に記載の組換え細菌。
【請求項５】
抗原がインフルエンザウイルスのＮＰ１４７－１５５エピトープである、請求項１に記載の組換え細菌。
【請求項６】
病原体が結核菌である、請求項１に記載の組換え細菌。
【請求項７】
抗原が、ＥＳＡＴ－６、ＣＦＰ－１０、Ａｇ８５Ａ、Ａｇ８５Ｂ、Ａｇ８５Ｃ、Ｍｔｂ３９Ａ、ＦＡＰ、Ｔｂ１５．３、ＲｆｐＡおよびＲｆｐＢからなる群から選択される結核菌の抗原である、請求項１に記載の組換え細菌。
【請求項８】
細胞性免疫がエンドソーム脱出により誘導される、請求項１に記載の組換え細菌。

【請求項９】
細胞性免疫がＣＤ８媒介性免疫である、請求項１に記載の組換え細菌。
【請求項１０】
細胞性免疫が病原体の保存されたエピトープに対する、請求項１に記載の組換え細菌。
【請求項１１】
抗原がＴ細胞エピトープを含有すると知られている、請求項１に記載の組換え細菌。
【請求項１２】
請求項１、２または５に記載の組換え細菌を含む、ワクチン組成物。
【請求項１３】
請求項１、２または５に記載の組換え細菌を含む、病原体に対する細胞性免疫応答を誘導するための医薬組成物。
【請求項１４】
請求項１、２または５に記載の組換え細菌を含む、細胞性免疫応答を誘発するための医薬組成物。
【手続補正２】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００２１
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００２１】
【図１５】対象のインフルエンザ株の提案されているＨＡ　Ｔ細胞エピトープのアラインメント。上図：ＴＹＶＳＶＧＴＳＴＬ（配列番号：７２）；Ａ／ＰｕｅｒｔｏＲｉｃｏ／８／１９３４（Ｈ１Ｎ１）－配列番号：６０；Ａ／ＷＳＮ／１９３３（Ｈ１Ｎ１）－配列番号：６１；Ａ／Ｐｅｎｎｓｙｌｖａｎｉａ／１６／２００７（Ｈ１Ｎ１）－配列番号：６２；Ａ／ＶｉｅｔＮａｍ／３０４６／２００４（Ｈ５Ｎ１）－配列番号：６３；Ａ／Ｈａｎｏｉ／０３／２００４（Ｈ５Ｎ１）ＰＡＲＴＩＡＬ－配列番号：６４；Ａ／ＨｏｎｇＫｏｎｇ／４８２／９７（Ｈ５Ｎ１）－配列番号：６５。下図：ＲＴＬＤＦＨＤＳＮＶＫ（配列番号：７４）；Ａ／ＰｕｅｒｔｏＲｉｃｏ／８／１９３４（Ｈ１Ｎ１）－配列番号：６６；Ａ／ＷＳＮ／１９３３（Ｈ１Ｎ１）－配列番号：６７；Ａ／Ｐｅｎｎｓｙｌｖａｎｉａ／１６／２００７（Ｈ１Ｎ１）－配列番号：６８；Ａ／ＶｉｅｔＮａｍ／３０４６／２００４（Ｈ５Ｎ１）－配列番号：６９；Ａ／Ｈａｎｏｉ／０３／２００４（Ｈ５Ｎ１）ＰＡＲＴＩＡＬ－配列番号：７０；Ａ／ＨｏｎｇＫｏｎｇ／４８２／９７（Ｈ５Ｎ１）－配列番号：７１。
【手続補正３】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００２２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００２２】
【図１６】提案されているＨＡ　Ｔ細胞エピトープタグ（Ｏｐｔ－ＨＡ$_{a}$－ＡＡＹ－Ｏｐｔ－ＨＡ$_{b}$）のヌクレオチド（ｎｔ）配列および構造。ＴＹＶＳＶＧＴＳＴＬ（配列番号：７２）；ａｃａｔａｔｇｔｔｔｃｔｇｔｔｇｇｔａｃａｔｃｔａｃａｃｔｇ（配列番号：７３）；ＲＴＬＤＦＨＤＳＮＶＫ（配列番号：７４）；ｃｇｔａｃａｃｔｇｇａｔｔｔｃｃａｔｇａｔｔｃｔａａｃｇｔｔａａａ（配列番号：７５）；ＡＡＹ（配列番号：７６）；ｇｃｇｇｃｇｔａｔ（配列番号：７７）；ａｃａｔａｔｇｔｔｔｃｔｇｔｔｇｇｔａｃｃｔｃｔａｃａｃｔｇｇｃｇｇｃｇｔａｔｃｇｔａｃａｃｔｇｇａｔｔｔｃｃａｔｇａｔｔｃｔａａｃｇｔｔａａａｔａａ（配列番号：７８）。
【手続補正４】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０１１７

【補正方法】変更
【補正の内容】
【０１１７】
いくつかの実施形態では、ベクターはまた、ＤＮＡ核標的配列（ＤＴＳ）を含んでもよい。ＤＴＳの非限定的な例には、ＳＶ４０　ＤＮＡ核標的配列が挙げられ得る。他の実施形態では、ベクターはまた、ＮＦ－κＢおよび／またはＡＰ－２（配列番号１：ＧＧＧＧＡＣＴＴＴＣＣＧＧＧＧＡＣＴＴＴＣＣＴＣＣＣＣＡＣＧＣＧＧＧＧＧＡＣＴＴＴＣＣＧＣＣＡＣＧＧＧＣＧＧＧＧＡＣＴＴＴＣＣＧＧＧＧＡＣＴＴＴＣＣ）などの、転写因子のための人工的な結合部位を含んでもよい。転写因子ＮＦ－κＢは、ほとんど全ての動物細胞種において見られる。サルモネラ感染は、ＮＦ－κＢの発現を速やかに刺激し、かつ、ＮＦ－κＢメンバーのそれらのＤＮＡ結合部位（κＢ部位）への結合アフィニティーは高く、かつＮＦ－κＢ－ＤＮＡ複合体の核への移行は急速（分）である。κＢ部位を備えるプラスミドＤＮＡは、新たに合成されたＮＦ－κＢが細胞質においてプラスミドＤＮＡに結合し、タンパク質核輸入機構（ｉｍｐｏｒｔ　ｍａｃｈｉｎｅｒｙ）によって核にそれを輸送できるようする。導入遺伝子に対するそれらの位置によって、結合部位はまた、遺伝子発現レベルをさらに増大させる転写エンハンサーとして機能することができた。ＳＶ４０　ＤＴＳ、ＮＦ－κＢ、およびＡＰ－２結合配列は、プラスミドＤＮＡの核輸入を促進し、かつ、これはベクター上の遺伝子配列の転写を促進する。
【手続補正５】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２２２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２２２】
ＮＰ遺伝子のコドン最適化。
インフルエンザウイルス株Ａ／ＷＳＮ／３３の核タンパク質（ＮＰ）遺伝子の配列（ＮＣＢＩ，登録番号ＥＵ３３０２０３）が、サルモネラにおける最大発現のためにコドン最適化された。遺伝子配列を商業的にコドン最適化し、かつｐＵＣ－５７にクローニングして、Ｇｅｎｓｃｒｉｐｔ（Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，ＮＪ）によりｐＵＣ－５７－ＮＰ－ＷＳＮを得た。交換されたコドンが表２に表される。平均Ｇ＋Ｃ含量は、コドン最適化後に、非最適化遺伝子に対する４６．６６から５４．５９へ変化した。リボソームの結合およびｍＲＮＡの安定性に影響を与えるステムループ構造は破壊された。大腸菌に関するコドン使用バイアス（ｃｏｄｏｎ　ｕｓａｇｅ　ｂｉａｓ）は、０．５７のコドン適応指数（ｃｏｄｏｎ　ａｄａｐｔａｔｉｏｎ　ｉｎｄｅｘ）から０．９８に増加された。
表２．　Ａ／ＷＳＮ／３３　ＮＰ遺伝子に関する、コドン最適化対オリジナルのヌクレオチド配列およびアミノ酸。Ｏｐｔ＝コドン最適化配列（配列番号２）；Ｏｒｉ＝非コドン最適化オリジナル配列（配列番号３）。

【表２－１】

```
                                                                    45
Opt  ATG GCG ACC AAA GGC ACC AAA CGT AGC TAT GAA CAG ATG GAA ACC

Ori  ATG GCG ACC AAA GGC ACC AAA CGA TCT TAC GAA CAG ATG GAG ACT
      M   A   T   K   G   T   K   R   S   Y   E   Q   M   E   T
     *** *** *** *** *** *** *** **      **  *** *** *** **  **

                                                                    90
Opt GAT GGC GAA CGT CAG AAC GCG ACC GAA ATT CGT GCG AGC GTG GGC

Ori GAT GGA GAA CGC CAG AAT GCC ACT GAA ATC AGA GCA TCT GTC GGA
     D   G   E   R   Q   N   A   T   E   I   R   A   S   V   G
    *** **  *** **  *** **  **  **  *** **   *  **      **  **

                                                                   135
Opt AAA ATG ATT GAT GGC ATT GGC CGT TTT TAT ATT CAG ATG TGC ACC

Ori AAA ATG ATT GAT GGA ATT GGA CGA TTC TAC ATC CAA ATG TGC ACC
     K   M   I   D   G   I   G   R   F   Y   I   Q   M   C   T
    *** *** *** *** **  *** **  **  **  **  **  **  *** *** ***

                                                                   180
Opt GAA CTG AAA CTG AGC GAT TAT GAA GGC CGT CTG ATT CAG AAC AGC

Ori GAA CTT AAA CTC AGT GAT TAT GAG GGA CGG CTG ATT CAG AAC AGC
     E   L   K   L   S   D   Y   E   G   R   L   I   Q   N   S
    *** **  *** **  **  *** *** **  **  **  *** *** *** *** ***

                                                                   225
Opt CTG ACC ATT GAA CGT ATG GTG CTG AGC GCG TTT GAT GAA CGT CGT

Ori TTA ACA ATA GAG AGA ATG GTG CTC TCT GCT TTT GAC GAG AGG AGG
     L   T   I   E   R   M   V   L   S   A   F   D   E   R   R
     *  **  **  **   *  *** *** **      **  *** **  **   *   *

                                                                   270
```

【表２－２】

```
Opt AAC AAA TAT CTG GAA GAA CAT CCG AGC GCG GGC AAA GAT CCA AAG

Ori AAT AAA TAT CTA GAA GAA CAT CCC AGT GCG GGG AAA GAT CCT AAG
     N   K   Y   L   E   E   H   P   S   A   G   K   D   P   K
    **  *** *** **  *** *** *** **  **  *** **  *** *** **  ***

                                                              315
Opt AAA ACC GGC GGC CCG ATT TAT CGT CGT GTG GAT GGC AAA TGG CGT

Ori AAA ACT GGA GGA CCT ATA TAC AGG AGA GTA GAT GGA AAG TGG AGG
     K   T   G   G   P   I   Y   R   R   V   D   G   K   W   R
    *** **  **  **  **  **  **  *   *   **  *** **  **  *** *

                                                              360
Opt CGT GAA CTG ATT CTG TAT GAT AAA GAA GAA ATT CGT CGT ATT TGG

Ori AGA GAA CTC ATC CTT TAT GAC AAA GAA GAA ATA AGA CGA ATC TGG
     R   E   L   I   L   Y   D   K   E   E   I   R   R   I   W
     *  *** **  **  **  *** **  *** *** *** **   *  **  **  ***

                                                              405
Opt CGT CAG GCG AAC AAC GGC GAT GAT GCG ACC GCG GGC CTG ACC CAC

Ori CGC CAA GCT AAT AAT GGT GAC GAT GCA ACG GCT GGT CTG ACT CAC
     R   Q   A   N   N   G   D   D   A   T   A   G   L   T   H
    **  **  **  **  **  **  **  *** **  **  **  **  *** **  ***

                                                              450
Opt ATG ATG ATT TGG CAT AGC AAC CTG AAC GAT GCG ACC TAT CAG CGT

Ori ATG ATG ATC TGG CAC TCC AAT TTG AAT GAT GCA ACT TAC CAG AGG
     M   M   I   W   H   S   N   L   N   D   A   T   Y   Q   R
    *** *** **  *** **    * **   ** **  *** **  **  **  *** *

                                                              495
Opt ACC CGT GCG CTG GTG CGT ACC GGC ATG GAC CCA CGT ATG TGC AGC

Ori ACA AGA GCT CTT GTT CGC ACA GGA ATG GAT CCC AGG ATG TGC TCA
     T   R   A   L   V   R   T   G   M   D   P   R   M   C   S
    **   *  **  **  **  **  **  **  *** **  **   *  *** ***

                                                              540
```

【表２－３】

```
Opt CTG ATG CAG GGC AGC ACC CTG CCG CGT CGT AGC GGT GCA GCA GGT

Ori CTG ATG CAG GGT TCA ACC CTC CCT AGG AGG TCT GGG GCC GCA GGT
     L   M   Q   G   S   T   L   P   R   R   S   G   A   A   G
    *** *** *** **      *** **  **   *   *      **  **  *** ***

                                                                585
Opt GCA GCA GTG AAA GGC GTG GGT ACG ATG GTG ATG GAA CTG ATT CGT

Ori GCT GCA GTC AAA GGA GTT GGA ACA ATG GTG ATG GAA TTG ATC AGA
     A   A   V   K   G   V   G   T   M   V   M   E   L   I   R
    **  *** **  *** **  **  **  **  *** *** *** ***  ** **   *

                                                                630
Opt ATG ATT AAA CGT GGC ATT AAC GAT CGT AAC TTT TGG CGT GGC GAA

Ori ATG ATC AAA CGT GGG ATC AAT GAT CGG AAC TTC TGG AGG GGT GAG
     M   I   K   R   G   I   N   D   R   N   F   W   R   G   E
    *** **  *** *** **  **  **  *** **  *** **  *** *  **  **

                                                                675
Opt AAC GGC CGT CGT ACC CGT ATT GCG TAT GAA CGT ATG TGC AAC ATT

Ori AAT GGA CGG AGA ACA AGG ATT GCT TAT GAA AGA ATG TGC AAC ATT
     N   G   R   R   T   R   I   A   Y   E   R   M   C   N   I
    **  **  **   *  **   *  *** **  *** ***  *  *** *** *** ***

                                                                720
Opt CTG AAA GGC AAA TTT CAG ACC GCG GCG CAG CGT ACG ATG GTG GAT

Ori CTC AAA GGG AAA TTT CAA ACA GCT GCA CAA AGA ACA ATG GTG GAT
     L   K   G   K   F   Q   T   A   A   Q   R   T   M   V   D
    **  *** **  *** *** **  **  **  **  **   *  **  *** *** ***

                                                                765
Opt CAA GTG CGT GAA AGC CGT AAC CCG GGC AAC GCG GAA TTT GAA GAC

Ori CAA GTG AGA GAG AGC CGG AAT CCA GGA AAT GCT GAG TTC GAA GAT
     Q   V   R   E   S   R   N   P   G   N   A   E   F   E   D
    *** ***  *  **  *** **  **  **  **  **  **  **  **  *** **

                                                                810
```

【表２－４】

```
Opt CTG ATT TTT CTG GCG CGT AGC GCG CTG ATT CTG CGT GGC AGC GTG

Ori CTC ATC TTT TTA GCA CGG TCT GCA CTC ATA TTG AGA GGG TCA GTT
     L   I   F   L   A   R   S   A   L   I   L   R   G   S   V
    **  **  *** *  **  **      **  **  **   **  *  **      **

                                                              855
Opt GCG CAT AAA AGC TGC CTG CCG GCG TGC GTG TAT GGC AGC GCG GTG

Ori GCT CAC AAG TCC TGC CTG CCT GCC TGT GTG TAT GGA TCT GCC GTA
     A   H   K   S   C   L   P   A   C   V   Y   G   S   A   V
    **  **  **    * *** *** **  **  **  *** *** **      **  **

                                                            900
Opt GCG AGC GGC TAT GAT TTT GAA CGT GAA GGC TAT AGC CTG GTG GGC

Ori GCC AGT GGA TAC GAC TTT GAA AGA GAG GGA TAC TCT CTA GTC GGA
     A   S   G   Y   D   F   E   R   E   G   Y   S   L   V   G
    **  **  **  **  **  *** ***  *  **  **  **      **  **  **

                                                            945
Opt ATT GAT CCG TTT CGT CTG CTG CAG AAC AGC CAG GTG TAT AGC CTG

Ori ATA GAC CCT TTC AGA CTG CTT CAA AAC AGC CAA GTA TAC AGC CTA
     I   D   P   F   R   L   L   Q   N   S   Q   V   Y   S   L
    **  **  **  **   *  *** **  **  *** *** **  **  **  *** **

                                                            990
Opt ATT CGT CCG AAC GAA AAC CCG GCG CAT AAA AGC CAG CTG GTG TGG

Ori ATC AGA CCA AAT GAG AAT CCA GCA CAC AAG AGT CAA CTG GTG TGG
     I   R   P   N   E   N   P   A   H   K   S   Q   L   V   W
    **   *  **  **  **  **  **  **  **  **  **  **  *** *** ***

                                                           1035
Opt ATG GCG TGC CAT AGC GCG GCG TTT GAA GAC CTG CGT GTG AGC AGC

Ori ATG GCA TGC CAT TCT GCT GCA TTT GAA GAT CTA AGA GTA TCA AGC
     M   A   C   H   S   A   A   F   E   D   L   R   V   S   S
    *** **  *** ***     **  **  *** *** **  **   *  **      ***

                                                           1080
```

【表２－５】

```
Opt TTT ATT CGT GGC ACC AAA GTG GTG CCG CGT GGC AAA CTG AGC ACC

Ori TTC ATC AGA GGG ACG AAA GTG GTC CCA AGA GGG AAG CTT TCC ACT
     F   I   R   G   T   K   V   V   P   R   G   K   L   S   T
    **  **   *  **  **  *** *** **  **   *  **  **  **    * **

                                                              1125
Opt CGT GGC GTG CAG ATT GCG AGC AAC GAA AAC ATG GAA ACG ATG GAA

Ori AGA GGA GTT CAA ATT GCT TCC AAT GAA AAC ATG GAG ACT ATG GAA
     R   G   V   Q   I   A   S   N   E   N   M   E   T   M   E
     *  **  **  **  *** **    * **  *** *** *** **  **  *** ***

                                                              1170
Opt AGC AGC ACC CTG GAA CTG CGT AGC CGT TAT TGG GCG ATT CGT ACC

Ori TCA AGT ACC CTT GAA CTG AGA AGC AGA TAC TGG GCC ATA AGG ACC
     S   S   T   L   E   L   R   S   R   Y   W   A   I   R   T
        **  *** **  *** ***  *  ***  *  **  *** **  **   *  ***

                                                              1215
Opt CGT AGC GGC GGC AAC ACC AAC CAG CAG CGT GCG AGC AGC GGC CAG

Ori AGA AGT GGA GGG AAC ACC AAT CAA CAG AGG GCT TCC TCG GGC CAA
     R   S   G   G   N   T   N   Q   Q   R   A   S   S   G   Q
     *  **  **  **  *** *** **  **  ***  *  **    *     *** **

                                                              1260
Opt ATT AGC ATT CAG CCG ACC TTT AGC GTG CAG CGT AAC CTG CCG TTT

Ori ATC AGC ATA CAA CCT ACG TTC TCA GTA CAG AGA AAT CTC CCT TTT
     I   S   I   Q   P   T   F   S   V   Q   R   N   L   P   F
    **  *** **  **  **  **  **      **  *** *  **  **  **  ***

                                                              1305
Opt GAT CGT CCG ACC ATT ATG GCG GCG TTT ACC GGC AAC ACC GAA GGC

Ori GAC AGA CCA ACC ATT ATG GCA GCA TTC ACT GGG AAT ACA GAG GGG
     D   R   P   T   I   M   A   A   F   T   G   N   T   E   G
    **   *  **  *** *** *** **  **  **  **  **  **  **  **  **

                                                              1350
```

【表２－６】

```
Opt CGT ACC AGC GAT ATG CGT ACC GAA ATT ATT CGT CTG ATG GAA AGC

Ori AGA ACA TCT GAC ATG AGA ACC GAA ATC ATA AGG CTG ATG GAA AGT
     R   T   S   D   M   R   T   E   I   I   R   L   M   E   S
     *  **      **  ***  *  *** *** **  **   *  *** *** *** **

                                                            1395
Opt GCG CGT CCG GAA GAT GTG AGC TTT CAG GGC CGT GGC GTG TTT GAA

Ori GCA AGA CCA GAA GAT GTG TCT TTC CAG GGG CGG GGA GTC TTC GAG
     A   R   P   E   D   V   S   F   Q   G   R   G   V   F   E
    **   *  **  *** *** ***     **  *** **  **  **  **  **  **

                                                            1440
Opt CTG AGC GAT GAA AAA GCG ACC AGC CCG ATT GTG CCG AGC TTT GAT

Ori CTC TCG GAC GAA AAG GCA ACG AGC CCG ATC GTG CCC TCC TTT GAC
     L   S   D   E   K   A   T   S   P   I   V   P   S   F   D
    **      **  *** **  **  **  *** *** **  *** **    * *** **

                                                            1485
Opt ATG AGC AAC GAA GGC AGC TAC TTT TTC GGC GAT AAC GCG GAA GAA

Ori ATG AGT AAT GAA GGA TCT TAT TTC TTC GGA GAC AAT GCA GAG GAG
     M   S   N   E   G   S   Y   F   F   G   D   N   A   E   E
    *** **  **  *** **      **  **  *** **  **  **  **  **  **
Opt TAT GAT AAC TAA
Ori TAC GAC AAT TAA
     Y   D   N
    ***  **  **  ***
```

【手続補正６】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２２３
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２２３】
ベクター構築。
本研究で用いられたプライマー対が表３に示される。ｄＮＴＰｓ（ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）とのＰＣＲ反応のためにＶｅｎｔ　ＤＮＡポリメラーゼを用いた。

【表３】

表3.プライマー対配列。

| 配列番号: | プライマー | 配列　5' - 3' |
|---|---|---|
| 5 | TTFP-3 | CG*GAATTC*TTAGCACGGTCTGCACTCAT |
| 6 | TTRP-3 | *CCCGGG*AATTGCTTAATTGTCGTACTCC |
| 7 | TTFCla-5 | GTCGAATGCTGCGCCAGTTGGCGTAG |
| 8 | TTFlag R-6 | CCCCC*ATCGAT*GGACGGATCCCCGGGAATTGCGATGAGATCTTC GAACT |
| 9 | NP-epi 147 | GCAGTGTTGACAAAT*GAATTC*TCCAATTTGAATGATGCAACTTACC AGAGGACAAGAGCTCTTGTTCGCACAGGAAT*GGATCC*CAGGATG TGCATCGATGAC |
| 10 | NP-Epi-F2 | CCG*GAATTC*TCCAATTTGAATGAT |
| 11 | NP-Epi-R3 | TCCC*CCCGGG*AATTGCTTACTATTTATCGTCG. |
| 12 | RDLF-3 | CATG*CCATGG*CGACCAAAGGCACCAAACGA |
| 13 | RDLP-2 | TCCCC*CCCGGG*TTACTATTTATCGTCGTCATCTTTGTAGTCGATAT CATGATCTTTATAATCACCGTCATGGTCTTTGTAGTCATTGTCGTA CTCCTCTGCATTGTCTCCGAA |
| 14 | RDLF-5 | ATG*CCATGG*CGATGGCGACCA |
| 15 | RDLRP-7 | CTATTA*CCATGGG*TTATCATATTCTTCCGCG |
| 16 | codNP hisR1 | CATGCCATGGCTAGTGGTGGTGGTGGTGGTGGTTATCATATTCTT CCGCGTTA |
| 17 | $P_{trc}$-F | ATTCTGAAATGAGCTGTT |
| 18 | $P_{trc-}$R | TCTCATCCGCCAAAACAGCC |

【手続補正７】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２７０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２７０】
免疫実験
ワクチン株χ１１２４６（ｐＹＡ５１２１）、χ１１２４６（ｐＹＡ５１２２）、χ１１２４６（ｐＹＡ５１２６）、χ１１２４６（ｐＹＡ３６８１）、χ１１５０９（ｐＹＡ５１２１）、χ１１５０９（ｐＹＡ５１２２）、χ１１５０９（ｐＹＡ５１２６）、χ１１５０９（ｐＹＡ３６８１）、χ１１２４６（ｐＹＡ　ＳｏｐＥ２$_{1-80}$＋ｕＯｐｔ－ＮＰ）、χ１１２４６（ｐＹＡ　ＳｏｐＥ２$_{1-80}$＋ｕＯｐｔ－ＮＰ＋Ｏｐｔ－ＨＡ$_{a}$－ＡＡＹ－Ｏｐｔ－ＨＡ$_{b}$）、χ１１５０９（ｐＹＡ　ＳｏｐＥ２$_{1-80}$＋ｕＯｐｔ－ＮＰ）、およびχ１１５０９（ｐＹＡ　ＳｏｐＥ２$_{1-80}$＋ｕＯｐｔ－ＮＰ＋Ｏｐｔ－ＨＡ$_{a}$－ＡＡＹ－Ｏｐｔ－ＨＡ$_{b}$）が、実施例１から５のための材料および方法において記載されたように生育され、雌ＢＡＬＢ／ｃマウスを経口免疫するために用いられ得る。インフルエンザウイルスでの負荷への免疫保護は、エンドソームへ脱出できない組換えワクチン株と比べて、エンドソームへ脱出できる制御された遅延細胞溶解を示す株において、優れているだろう。実施例１から５における教示に基づくと、エンドソームからのワクチン脱出による、続いてサイトゾルにおける溶解による、サイトゾルへの、ＮＰに加えてＨＡエピトープ（ｅｐｔｔｏｐｅ）の運搬は、インフルエンザ負荷に対する防御免疫の誘導をさらに増大し得る。ＳｏｐＥ２断片の融合体が、ＣＤ８　Ｔ細胞応答および防御免疫

のレベルをさらに拡大するため、クラスＩ提示のためのプロテオソームへの輸送（ｔｒａｆｆｉｃｉｎｇ）を促進するために、速やかにユビキネート化（ｕｂｉｑｕｉｎａｔｅｄ）されるべきであることもまた、予測される。全体として、細菌、ウイルスおよび寄生虫病原体に対する防御Ｔ細胞免疫応答を誘導することへのこれらのアプローチは、宿主細胞サイトゾルへのＴ３ＳＳによるように、分泌を低減あるいは起こらないようにしさえする、抗原構造的拘束（ｓｔｒｕｃｔｕｒａｌ　ｃｏｎｓｔｒａｉｔ）によって多くの場合制限される、抗原運搬の他の方法よりも優れている。

【表５－１】

表5. プラスミドpYA5121のDNA配列 (配列番号: 19)。

範囲: 1から7320

50
AGATCTAGCC CGCCTAATGA GCGGGCTTTT TTTTAATTCG CAATTCCCCG
100
ATGCATAATG TGCCTGTCAA ATGGACGAAG CAGGGATTCT GCAAACCCTA
150
TGCTACTCCG TCAAGCCGTC AATTGTCTGA TTCGTTACCA ATTATGACAA
200
CTTGACGGCT ACATCATTCA CTTTTTCTTC ACAACCGGCA CGGAACTCGC
250
TCGGGCTGGC CCCGGTGCAT TTTTTAAATA CCCGCGAGAA ATAGAGTTGA
300
TCGTCAAAAC CAACATTGCG ACCGACGGTG GCGATAGGCA TCCGGGTGGT
350
GCTCAAAAGC AGCTTCGCCT GGCTGATACG TTGGTCCTCG CGCCAGCTTA
400
AGACGCTAAT CCCTAACTGC TGGCGGAAAA GATGTGACAG ACGCGACGGC
450
GACAAGCAAA CATGCTGTGC GACGCTGGCG ATATCAAAAT TGCTGTCTGC
500
CAGGTGATCG CTGATGTACT GACAAGCCTC GCGTACCCGA TTATCCATCG
550
GTGGATGGAG CGACTCGTTA ATCGCTTCCA TGCGCCGCAG TAACAATTGC
600
TCAAGCAGAT TTATCGCCAG CAGCTCCGAA TAGCGCCCTT CCCCTTGCCC
650
GGCGTTAATG ATTTGCCCAA ACAGGTCGCT GAAATGCGGC TGGTGCGCTT
700
CATCCGGGCG AAAGAACCCC GTATTGGCAA ATATTGACGG CCAGTTAAGC
750
CATTCATGCC AGTAGGCGCG CGGACGAAAG TAAACCCACT GGTGATACCA
800
TTCGCGAGCC TCCGGATGAC GACCGTAGTG ATGAATCTCT CCTGGCGGGA
850
ACAGCAAAAT ATCACCCGGT CGGCAAACAA ATTCTCGTCC CTGATTTTTC
900
ACCACCCCCT GACCGCGAAT GGTGAGATTG AGAATATAAC CTTTCATTCC
950
CAGCGGTCGG TCGATAAAAA AATCGAGATA ACCGTTGGCC TCAATCGGCG
1000
TTAAACCCGC CACCAGATGG GCATTAAACG AGTATCCCGG CAGCAGGGGA
1050
TCATTTTGCG CTTCAGCCAT ACTTTTCATA CTCCCGCCAT TCAGAGAAGA
1100
AACCAATTGT CCATATTGCA TCAGACATTG CCGTCACTGC GTCTTTTACT
1150
GGCTCTTCTC GCTAACCAAA CCGGTAACCC CGCTTATTAA AAGCATTCTG
1200
TAACAAAGCG GGACCAAAGC CATGACAAAA ACGCGTAACA AAAGTGTCTA
1250
TAATCACGGC AGAAAAGTCC ACATTGATTA TTTGCACGGC GTCACACTTT
1300
GCTATGCCAT AGCATTTTTA TCCATAAGAT TAGCGGATCC TACCTGACGC
1350

【表５－２】

TTTTTATCGC AACTCTCTAC TGTTTCTCCA TACCCGTTTT TTTGGGCTAG
1400
CGAATTCTGA GAACAAACTA AATGGATAAA TTTCGTGTTC AGGGGCCAAC
1450
GAAGCTCCAG GGCGAAGTCA CAATTTCCGG CGCTAAAAAT GCTGCTCTGC
1500
CTATCCTTTT TGCCGCACTA CTGGCGGAAG AACCGGTAGA GATCCAGAAC
1550
GTCCCGAAAC TGAAAGACGT CGATACATCA ATGAAGCTGC TAAGCCAGCT
1600
GGGTGCGAAA GTAGAACGTA ATGGTTCTGT GCATATTGAT GCCCGCGACG
1650
TTAATGTATT CTGCGCACCT TACGATCTGG TTAAAACCAT GCGTGCTTCT
1700
ATCTGGGCGC TGGGGCCGCT GGTAGCGCGC TTTGGTCAGG GGCAAGTTTC
1750
ACTACCTGGC GGTTGTACGA TCGGTGCGCG TCCGGTTGAT CTACACATTT
1800
CTGGCCTCGA ACAATTAGGC GCGACCATCA AACTGGAAGA AGGTTACGTT
1850
AAAGCTTCCG TCGATGGTCG TTTGAAAGGT GCACATATCG TGATGGATAA
1900
AGTCAGCGTT GGCGCAACGG TGACCATCAT GTGTGCTGCA ACCCTGGCGG
1950
AAGGCACCAC GATTATTGAA AACGCAGCGC GTGAACCGGA AATCGTCGAT
2000
ACCGCGAACT TCCTGATTAC GCTGGGTGCG AAAATTAGCG GTCAGGGCAC
2050
CGATCGTATC GTCATCGAAG GTGTGGAACG TTTAGGCGGC GGTGTCTATC
2100
GCGTTCTGCC GGATCGTATC GAAACCGGTA CTTTCCTGGT GGCGGCGGCG
2150
ATTTCTCGCG GCAAAATTAT CTGCCGTAAC GCGCAGCCAG ATACTCTCGA
2200
CGCCGTGCTG GCGAAACTGC GTGACGCTGG AGCGGACATC GAAGTCGGCG
2250
AAGACTGGAT TAGCCTGGAT ATGCATGGCA AACGTCCGAA GGCTGTTAAC
2300
GTACGTACCG CGCCGCATCC GGCATTCCCG ACCGATATGC AGGCCCAGTT
2350
CACGCTGTTG AACCTGGTGG CAGAAGGGAC CGGGTTTATC ACCGAAACGG
2400
TCTTTGAAAA CCGCTTTATG CATGTGCCAG AGCTGAGCCG TATGGGCGCG
2450
CACGCCGAAA TCGAAAGCAA TACCGTTATT TGTCACGGTG TTGAAAAACT
2500
TTCTGGCGCA CAGGTTATGG CAACCGATCT GCGTGCATCA GCAAGCCTGG
2550
TGCTGGCTGG CTGTATTGCG GAAGGGACGA CGGTGGTTGA TCGTATTTAT
2600
CACATCGATC GTGGCTACGA ACGCATTGAA GACAAACTGC GCGCTTTAGG
2650
TGCAAATATT GAGCGTGTGA AAGGCGAATA AGAATTCAGG AAAAAAACGC
2700
TGTGAAAAAT GTTGGTTTTA TCGGCTGGCG CGGAATGGTC GGCTCTGTTC

【表５－３】

2750
TCATGCAACG CATGGTAGAG GAGCGCGATT TCGACGCTAT TCGCCCTGTT
2800
TTCTTTTCTA CCTCCCAGTT TGGACAGGCG GCGCCCACCT TCGGCGACAC
2850
CTCCACCGGC ACGCTACAGG ACGCTTTTGA TCTGGATGCG CTAAAAGCGC
2900
TCGATATCAT CGTGACCTGC CAGGGCGGCG ATTATACCAA CGAAATTTAT
2950
CCAAAGCTGC GCGAAAGCGG ATGGCAGGGT TACTGGATTG ATGCGGCTTC
3000
TACGCTGCGC ATGAAAGATG ATGCCATTAT TATTCTCGAC CCGGTCAACC
3050
AGGACGTGAT TACCGACGGC CTGAACAATG GCGTGAAGAC CTTTGTGGGC
3100
GGTAACTGTA CCGTTAGCCT GATGTTGATG TCGCTGGGCG GTCTCTTTGC
3150
CCATAATCTC GTTGACTGGG TATCCGTCGC GACCTATCAG GCCGCCTCCG
3200
GCGGCGGCGC GCGCCATATG CGCGAGCTGT TAACCCAGAT GGGTCAGTTG
3250
TATGGCCATG TCGCCGATGA ACTGGCGACG CCGTCTTCCG CAATTCTTGA
3300
TATTGAACGC AAAGTTACGG CATTGACCCG CAGCGGCGAG CTGCCGGTTG
3350
ATAACTTTGG CGTACCGCTG GCGGGAAGCC TGATCCCCTG GATCGACAAA
3400
CAGCTCGATA ACGGCCAGAG CCGCGAAGAG TGGAAAGGCC AGGCGGAAAC
3450
CAACAAGATT CTCAATACTG CCTCTGTGAT TCCGGTTGAT GGTTTGTGTG
3500
TGCGCGTCGG CGCGCTGCGC TGTCACAGCC AGGCGTTCAC CATCAAGCTG
3550
AAAAAAGAGG TATCCATTCC GACGGTGGAA GAACTGCTGG CGGCACATAA
3600
TCCGTGGGCG AAAGTGGTGC CGAACGATCG TGATATCACT ATGCGCGAAT
3650
TAACCCCGGC GGCGGTGACC GGCACGTTGA CTACGCCGGT TGGTCGTCTG
3700
CGTAAGCTGA ACATGGGGCC AGAGTTCTTG TCGGCGTTTA CCGTAGGCGA
3750
CCAGTTGTTA TGGGGCGCCG CCGAGCCGCT GCGTCGAATG CTGCGCCAGT
3800
TGGCGTAGTC TAGCTGCACG ATACCGTCGA CTTGTACATA GACTCGCTCC
3850
GAAATTAAAG AACACTTAAA TTATCTACTA AAGGAATCTT TAGTCAAGTT
3900
TATTTAAGAT GACTTAACTA TGAATACACA ATTGATGGGT GAGCGTAGGA
3950
GCATGCTTAT GCGAAAGGCC ATCCTGACGG ATGGCCTTTT TGGATCTTCC
4000
GGAAGACCTT CCATTCTGAA ATGAGCTGTT GACAATTAAT CATCCGGCTC
4050
GTATAATGTG TGGAATTGTG AGCGGATAAC AATTTCACAC AGGAAACAGA
4100

【表５－４】

CCATGGCGAC CAAAGGCACC AAACGTAGCT ATGAACAGAT GGAAACCGAT
4150
GGCGAACGTC AGAACGCGAC CGAAATTCGT GCGAGCGTGG GCAAAATGAT
4200
TGATGGCATT GGCCGTTTTT ATATTCAGAT GTGCACCGAA CTGAAACTGA
4250
GCGATTATGA AGGCCGTCTG ATTCAGAACA GCCTGACCAT TGAACGTATG
4300
GTGCTGAGCG CGTTTGATGA ACGTCGTAAC AAATATCTGG AAGAACATCC
4350
GAGCGCGGGC AAAGATCCAA AGAAAACCGG CGGCCCGATT TATCGTCGTG
4400
TGGATGGCAA ATGGCGTCGT GAACTGATTC TGTATGATAA AGAAGAAATT
4450
CGTCGTATTT GGCGTCAGGC GAACAACGGC GATGATGCGA CCGCGGGCCT
4500
GACCCACATG ATGATTTGGC ATAGCAACCT GAACGATGCG ACCTATCAGC
4550
GTACCCGTGC GCTGGTGCGT ACCGGCATGG ACCCACGTAT GTGCAGCCTG
4600
ATGCAGGGCA GCACCCTGCC GCGTCGTAGC GGTGCAGCAG GTGCAGCAGT
4650
GAAAGGCGTG GGTACGATGG TGATGGAACT GATTCGTATG ATTAAACGTG
4700
GCATTAACGA TCGTAACTTT TGGCGTGGCG AAAACGGCCG TCGTACCCGT
4750
ATTGCGTATG AACGTATGTG CAACATTCTG AAAGGCAAAT TTCAGACCGC
4800
GGCGCAGCGT ACGATGGTGG ATCAAGTGCG TGAAAGCCGT AACCCGGGCA
4850
ACGCGGAATT TGAAGACCTG ATTTTTCTGG CGCGTAGCGC GCTGATTCTG
4900
CGTGGCAGCG TGGCGCATAA AAGCTGCCTG CCGGCGTGCG TGTATGGCCC
4950
GGCGGTGGCG AGCGGCTATG ATTTTGAACG TGAAGGCTAT AGCCTGGTGG
5000
GCATTGATCC GTTTCGTCTG CTGCAGAACA GCCAGGTGTA TAGCCTGATT
5050
CGTCCGAACG AAAACCCGGC GCATAAAAGC CAGCTGGTGT GGATGGCGTG
5100
CCATAGCGCG GCGTTTGAAG ACCTGCGTGT GAGCAGCTTT ATTCGTGGCA
5150
CCAAAGTGGT GCCGCGTGGC AAACTGAGCA CCCGTGGCGT GCAGATTGCG
5200
AGCAACGAAA ACATGGAAAC GATGGAAAGC AGCACCCTGG AACTGCGTAG
5250
CCGTTATTGG GCGATTCGTA CCCGTAGCGG CGGCAACACC AACCAGCAGC
5300
GTGCGAGCAG CGGCCAGATT AGCATTCAGC CGACCTTTAG CGTGCAGCGT
5350
AACCTGCCGT TTGATCGTCC GACCATTATG GCGGCGTTTA CCGGCAACAC
5400
CGAAGGCCGT ACCAGCGATA TGCGTACCGA AATTATTCGT CTGATGGAAA
5450
GCGCGCGTCC GGAAGATGTG AGCTTTCAGG GCCGTGGCGT GTTTGAACTG

【表５－５】

```
5500
AGCGATGAAA AAGCGACCAG CCCGATTGTG CCGAGCTTTG ATATGAGCAA
5550
CGAAGGCAGC TACTTTTTCG GCGATAACGC GGAAGAATAT GATAACTAAG
5600
ACCCATGGGA ATTCGCAATT CCCGGGGATC CGTCGACCTG CAGCCAAGCT
5650
CCCAAGCTTG GCTGTTTTGG CGGATGAGAG AAGATTTTCA GCCTGATACA
5700
GATTAAATCA GAACGCAGAA GCGGTCTGAT AAAACAGAAT TTGCCTGGCG
5750
GCAGTAGCGC GGTGGTCCCA CCTGACCCCA TGCCGAACTC AGAAGTGAAA
5800
CGCCGTAGCG CCGATGGTAG TGTGGGGTCT CCCCATGCGA GAGTAGGGAA
5850
CTGCCAGGCA TCAAATAAAA CGAAAGGCTC AGTCGAAAGA CTGGGCCTTT
5900
CGTTTTATCT GTTGTTTGTC GGTGAACGCT CTCCTGAGTA GGACAAATCC
5950
GCCGGGAGCG GATTTGAACG TTGCGAAGCA ACGGCCCGGA GGGTGGCGGG
6000
CAGGACGCCC GCCATAAACT GCCAGGCATC AAATTAAGCA GAAGGCCATC
6050
CTGACGGATG GCCTTTTTGC GTTTCTACAA ACTCTTTTGT TTATTTTTCT
6100
AAATACATTC AAATATGTAT CCGCTCATGA GACAATAACC CTGATAAATG
6150
CTTCAATAAT GGAAGATCTT CCAACATCAC AGGTAAACAG AAACGTCGGG
6200
TCGATCGGGA AATTCTTTCC CGGACGGCGC GGGGTTGGGC AAGCCGCAGG
6250
CGCGTCAGTG CTTTTAGCGG GTGTCGGGGC GCAGCCATGA CCCAGTCACG
6300
TAGCGATAGC GGAGTGTATA CTGGCTTAAC TATGCGGCAT CAGAGCAGAT
6350
TGTACTGAGA GTGCACCATA TGCGGTGTGA AATACCGCAC AGATGCGTAA
6400
GGAGAAAATA CCGCATCAGG CGCTCTTCCG CTTCCTCGCT CACTGACTCG
6450
CTGCGCTCGG TCGTTCGGCT GCGGCGAGCG GTATCAGCTC ACTCAAAGGC
6500
GGTAATACGG TTATCCACAG AATCAGGGGA TAACGCAGGA AAGAACATGT
6550
GAGCAAAAGG CCAGCAAAAG GCCAGGAACC GTAAAAAGGC CGCGTTGCTG
6600
GCGTTTTTCC ATAGGCTCCG CCCCCCTGAC GAGCATCACA AAAATCGACG
6650
CTCAAGTCAG AGGTGGCGAA ACCCGACAGG ACTATAAAGA TACCAGGCGT
6700
TTCCCCCTGG AAGCTCCCTC GTGCGCTCTC CTGTTCCGAC CCTGCCGCTT
6750
ACCGGATACC TGTCCGCCTT TCTCCCTTCG GGAAGCGTGG CGCTTTCTCA
6800
TAGCTCACGC TGTAGGTATC TCAGTTCGGT GTAGGTCGTT CGCTCCAAGC
6850
```

【表５－６】

```
TGGGCTGTGT GCACGAACCC CCCGTTCAGC CCGACCGCTG CGCCTTATCC
6900
GGTAACTATC GTCTTGAGTC CAACCCGGTA AGACACGACT TATCGCCACT
6950
GGCAGCAGCC ACTGGTAACA GGATTAGCAG AGCGAGGTAT GTAGGCGGTG
7000
CTACAGAGTT CTTGAAGTGG TGGCCTAACT ACGGCTACAC TAGAAGGACA
7050
GTATTTGGTA TCTGCGCTCT GCTGAAGCCA GTTACCTTCG GAAAAAGAGT
7100
TGGTAGCTCT TGATCCGGCA AACAAACCAC CGCTGGTAGC GGTGGTTTTT
7150
TTGTTTGCAA GCAGCAGATT ACGCGCAGAA AAAAAGGATC TCAAGAAGAT
7200
CCTTTGATCT TTTCTACGGG GTCTGACGCT CAGTGGAACG AAAACTCACG
7250
TTAAGGGATT TTGGTCATGA GATTATCAAA AAGGATCTTC ACCTAGATCC
7300
TTTTAAATTA AAAATGAAGT TTTAAATCAA TCTAAAGTAT ATATGAGTAA
ACTTGGTCTG ACAGTCTAGA
```

【表６－１】

表6. プラスミドpYA5122のDNA配列（配列番号：20）。

```
範囲：1から7320
50
AGATCTAGCC CGCCTAATGA GCGGGCTTTT TTTTAATTCG CAATTCCCCG
100
ATGCATAATG TGCCTGTCAA ATGGACGAAG CAGGGATTCT GCAAACCCTA
150
TGCTACTCCG TCAAGCCGTC AATTGTCTGA TTCGTTACCA ATTATGACAA
200
CTTGACGGCT ACATCATTCA CTTTTTCTTC ACAACCGGCA CGGAACTCGC
250
TCGGGCTGGC CCCGGTGCAT TTTTTAAATA CCCGCGAGAA ATAGAGTTGA
300
TCGTCAAAAC CAACATTGCG ACCGACGGTG GCGATAGGCA TCCGGGTGGT
350
GCTCAAAAGC AGCTTCGCCT GGCTGATACG TTGGTCCTCG CGCCAGCTTA
400
AGACGCTAAT CCCTAACTGC TGGCGGAAAA GATGTGACAG ACGCGACGGC
450
GACAAGCAAA CATGCTGTGC GACGCTGGCG ATATCAAAAT TGCTGTCTGC
500
CAGGTGATCG CTGATGTACT GACAAGCCTC GCGTACCCGA TTATCCATCG
550
GTGGATGGAG CGACTCGTTA ATCGCTTCCA TGCGCCGCAG TAACAATTGC
600
TCAAGCAGAT TTATCGCCAG CAGCTCCGAA TAGCGCCCTT CCCCTTGCCC
650
GGCGTTAATG ATTTGCCCAA ACAGGTCGCT GAAATGCGGC TGGTGCGCTT
700
CATCCGGGCG AAAGAACCCC GTATTGGCAA ATATTGACGG CCAGTTAAGC
750
CATTCATGCC AGTAGGCGCG CGGACGAAAG TAAACCCACT GGTGATACCA
```

【表６－２】

800
TTCGCGAGCC TCCGGATGAC GACCGTAGTG ATGAATCTCT CCTGGCGGGA
850
ACAGCAAAAT ATCACCCGGT CGGCAAACAA ATTCTCGTCC CTGATTTTTC
900
ACCACCCCCT GACCGCGAAT GGTGAGATTG AGAATATAAC CTTTCATTCC
950
CAGCGGTCGG TCGATAAAAA AATCGAGATA ACCGTTGGCC TCAATCGGCG
1000
TTAAACCCGC CACCAGATGG GCATTAAACG AGTATCCCGG CAGCAGGGGA
1050
TCATTTTGCG CTTCAGCCAT ACTTTTCATA CTCCCGCCAT TCAGAGAAGA
1100
AACCAATTGT CCATATTGCA TCAGACATTG CCGTCACTGC GTCTTTTACT
1150
GGCTCTTCTC GCTAACCAAA CCGGTAACCC CGCTTATTAA AAGCATTCTG
1200
TAACAAAGCG GGACCAAAGC CATGACAAAA ACGCGTAACA AAAGTGTCTA
1250
TAATCACGGC AGAAAAGTCC ACATTGATTA TTTGCACGGC GTCACACTTT
1300
GCTATGCCAT AGCATTTTTA TCCATAAGAT TAGCGGATCC TACCTGACGC
1350
TTTTTATCGC AACTCTCTAC TGTTTCTCCA TACCCGTTTT TTTGGGCTAG
1400
CGAATTCTGA GAACAAACTA AATGGATAAA TTTCGTGTTC AGGGGCCAAC
1450
GAAGCTCCAG GGCGAAGTCA CAATTTCCGG CGCTAAAAAT GCTGCTCTGC
1500
CTATCCTTTT TGCCGCACTA CTGGCGGAAG AACCGGTAGA GATCCAGAAC
1550
GTCCCGAAAC TGAAAGACGT CGATACATCA ATGAAGCTGC TAAGCCAGCT
1600
GGGTGCGAAA GTAGAACGTA ATGGTTCTGT GCATATTGAT GCCCGCGACG
1650
TTAATGTATT CTGCGCACCT TACGATCTGG TTAAAACCAT GCGTGCTTCT
1700
ATCTGGGCGC TGGGGCCGCT GGTAGCGCGC TTTGGTCAGG GGCAAGTTTC
1750
ACTACCTGGC GGTTGTACGA TCGGTGCGCG TCCGGTTGAT CTACACATTT
1800
CTGGCCTCGA ACAATTAGGC GCGACCATCA AACTGGAAGA AGGTTACGTT
1850
AAAGCTTCCG TCGATGGTCG TTTGAAAGGT GCACATATCG TGATGGATAA
1900
AGTCAGCGTT GGCGCAACGG TGACCATCAT GTGTGCTGCA ACCCTGGCGG
1950
AAGGCACCAC GATTATTGAA AACGCAGCGC GTGAACCGGA AATCGTCGAT
2000
ACCGCGAACT TCCTGATTAC GCTGGGTGCG AAAATTAGCG GTCAGGGCAC
2050
CGATCGTATC GTCATCGAAG GTGTGGAACG TTTAGGCGGC GGTGTCTATC
2100
GCGTTCTGCC GGATCGTATC GAAACCGGTA CTTTCCTGGT GGCGGCGGCG
2150

【表６－３】

ATTTCTCGCG GCAAAATTAT CTGCCGTAAC GCGCAGCCAG ATACTCTCGA
2200
CGCCGTGCTG GCGAAACTGC GTGACGCTGG AGCGGACATC GAAGTCGGCG
2250
AAGACTGGAT TAGCCTGGAT ATGCATGGCA AACGTCCGAA GGCTGTTAAC
2300
GTACGTACCG CGCCGCATCC GGCATTCCCG ACCGATATGC AGGCCCAGTT
2350
CACGCTGTTG AACCTGGTGG CAGAAGGGAC CGGGTTTATC ACCGAAACGG
2400
TCTTTGAAAA CCGCTTTATG CATGTGCCAG AGCTGAGCCG TATGGGCGCG
2450
CACGCCGAAA TCGAAAGCAA TACCGTTATT TGTCACGGTG TTGAAAAACT
2500
TTCTGGCGCA CAGGTTATGG CAACCGATCT GCGTGCATCA GCAAGCCTGG
2550
TGCTGGCTGG CTGTATTGCG GAAGGGACGA CGGTGGTTGA TCGTATTTAT
2600
CACATCGATC GTGGCTACGA ACGCATTGAA GACAAACTGC GCGCTTTAGG
2650
TGCAAATATT GAGCGTGTGA AAGGCGAATA AGAATTCAGG AAAAAAACGC
2700
TGTGAAAAAT GTTGGTTTTA TCGGCTGGCG CGGAATGGTC GGCTCTGTTC
2750
TCATGCAACG CATGGTAGAG GAGCGCGATT TCGACGCTAT TCGCCCTGTT
2800
TTCTTTTCTA CCTCCCAGTT TGGACAGGCG GCGCCCACCT TCGGCGACAC
2850
CTCCACCGGC ACGCTACAGG ACGCTTTTGA TCTGGATGCG CTAAAAGCGC
2900
TCGATATCAT CGTGACCTGC CAGGGCGGCG ATTATACCAA CGAAATTTAT
2950
CCAAAGCTGC GCGAAAGCGG ATGGCAGGGT TACTGGATTG ATGCGGCTTC
3000
TACGCTGCGC ATGAAAGATG ATGCCATTAT TATTCTCGAC CCGGTCAACC
3050
AGGACGTGAT TACCGACGGC CTGAACAATG GCGTGAAGAC CTTTGTGGGC
3100
GGTAACTGTA CCGTTAGCCT GATGTTGATG TCGCTGGGCG GTCTCTTTGC
3150
CCATAATCTC GTTGACTGGG TATCCGTCGC GACCTATCAG GCCGCCTCCG
3200
GCGGCGGCGC GCGCCATATG CGCGAGCTGT TAACCCAGAT GGGTCAGTTG
3250
TATGGCCATG TCGCCGATGA ACTGGCGACG CCGTCTTCCG CAATTCTTGA
3300
TATTGAACGC AAAGTTACGG CATTGACCCG CAGCGGCGAG CTGCCGGTTG
3350
ATAACTTTGG CGTACCGCTG GCGGGAAGCC TGATCCCCTG GATCGACAAA
3400
CAGCTCGATA ACGGCCAGAG CCGCGAAGAG TGGAAAGGCC AGGCGGAAAC
3450
CAACAAGATT CTCAATACTG CCTCTGTGAT TCCGGTTGAT GGTTTGTGTG
3500
TGCGCGTCGG CGCGCTGCGC TGTCACAGCC AGGCGTTCAC CATCAAGCTG

【表６－４】

```
3550
AAAAAAGAGG TATCCATTCC GACGGTGGAA GAACTGCTGG CGGCACATAA
3600
TCCGTGGGCG AAAGTGGTGC CGAACGATCG TGATATCACT ATGCGCGAAT
3650
TAACCCCGGC GGCGGTGACC GGCACGTTGA CTACGCCGGT TGGTCGTCTG
3700
CGTAAGCTGA ACATGGGGCC AGAGTTCTTG TCGGCGTTTA CCGTAGGCGA
3750
CCAGTTGTTA TGGGGCGCCG CCGAGCCGCT GCGTCGAATG CTGCGCCAGT
3800
TGGCGTAGTC TAGCTGCACG ATACCGTCGA CTTGTACATA GACTCGCTCC
3850
GAAATTAAAG AACACTTAAA TTATCTACTA AAGGAATCTT TAGTCAAGTT
3900
TATTTAAGAT GACTTAACTA TGAATACACA ATTGATGGGT GAGCGTAGGA
3950
GCATGCTTAT GCGAAAGGCC ATCCTGACGG ATGGCCTTTT TGGATCTTCC
4000
GGAAGACCTT CCATTCTGAA ATGAGCTGTT GACAATTAAT CATCCGGCTC
4050
GTATAATGTG TGGAATTGTG AGCGGATAAC AATTTCACAC AGGAAACAGA
4100
CCATGGCGAC CAAAGGCACC AAACGTAGCT ATGAACAGAT GGAAACCGAT
4150
GGCGAACGTC AGAACGCGAC CGAAATTCGT GCGAGCGTGG GCAAAATGAT
4200
TGATGGCATT GGCCGTTTTT ATATTCAGAT GTGCACCGAA CTGAAACTGA
4250
GCGATTATGA AGGCCGTCTG ATTCAGAACA GCCTGACCAT TGAACGTATG
4300
GTGCTGAGCG CGTTTGATGA ACGTCGTAAC AAATATCTGG AAGAACATCC
4350
GAGCGCGGGC AAAGATCCAA AGAAAACCGG CGGCCCGATT TATCGTCGTG
4400
TGGATGGCAA ATGGCGTCGT GAACTGATTC TGTATGATAA AGAAGAAATT
4450
CGTCGTATTT GGCGTCAGGC GAACAACGGC GATGATGCGA CCGCGGGCCT
4500
GACCCACATG ATGATTTGGC ATAGCAACCT GAACGATGCG ACCTATCAGC
4550
GTACCCGTGC GCTGGTGCGT ACCGGCATGG ACCCACGTAT GTGCAGCCTG
4600
ATGCAGGGCA GCACCCTGCC GCGTCGTAGC GGTGCAGCAG GTGCAGCAGT
4650
GAAAGGCGTG GGTACGATGG TGATGGAACT GATTCGTATG ATTAAACGTG
4700
GCATTAACGA TCGTAACTTT TGGCGTGGCG AAAACGGCCG TCGTACCCGT
4750
ATTGCGTATG AACGTATGTG CAACATTCTG AAAGGCAAAT TTCAGACCGC
4800
GGCGCAGCGT ACGATGGTGG ATCAAGTGCG TGAAAGCCGT AACCCGGGCA
4850
ACGCGGAATT TGAAGACCTG ATTTTTCTGG CGCGTAGCGC GCTGATTCTG
4900
```

【表６－５】

CGTGGCAGCG TGGCGCATAA AAGCTGCCTG CCGGCGTGCG TGTATGGCCC
4950
GGCGGTGGCG AGCGGCTATG ATTTTGAACG TGAAGGCTAT AGCCTGGTGG
5000
GCATTGATCC GTTTCGTCTG CTGCAGAACA GCCAGGTGTA TAGCCTGATT
5050
CGTCCGAACG AAAACCCGGC GCATAAAAGC CAGCTGGTGT GGATGGCGTG
5100
CCATAGCGCG GCGTTTGAAG ACCTGCGTGT GAGCAGCTTT ATTCGTGGCA
5150
CCAAAGTGGT GCCGCGTGGC AAACTGAGCA CCCGTGGCGT GCAGATTGCG
5200
AGCAACGAAA ACATGGAAAC GATGGAAAGC AGCACCCTGG AACTGCGTAG
5250
CCGTTATTGG GCGATTCGTA CCCGTAGCGG CGGCAACACC AACCAGCAGC
5300
GTGCGAGCAG CGGCCAGATT AGCATTCAGC CGACCTTTAG CGTGCAGCGT
5350
AACCTGCCGT TTGATCGTCC GACCATTATG GCGGCGTTTA CCGGCAACAC
5400
CGAAGGCCGT ACCAGCGATA TGCGTACCGA AATTATTCGT CTGATGGAAA
5450
GCGCGCGTCC GGAAGATGTG AGCTTTCAGG GCCGTGGCGT GTTTGAACTG
5500
AGCGATGAAA AAGCGACCAG CCCGATTGTG CCGAGCTTTG ATATGAGCAA
5550
CGAAGGCAGC TACTTTTTCG GCGATAACGC GGAAGAATAT GATAACTAAG
5600
ACCCATGGGA ATTCGCAATT CCCGGGGATC CGTCGACCTG CAGCCAAGCT
5650
CCCAAGCTTG GCTGTTTTGG CGGATGAGAG AAGATTTTCA GCCTGATACA
5700
GATTAAATCA GAACGCAGAA GCGGTCTGAT AAAACAGAAT TTGCCTGGCG
5750
GCAGTAGCGC GGTGGTCCCA CCTGACCCCA TGCCGAACTC AGAAGTGAAA
5800
CGCCGTAGCG CCGATGGTAG TGTGGGGTCT CCCCATGCGA GAGTAGGGAA
5850
CTGCCAGGCA TCAAATAAAA CGAAAGGCTC AGTCGAAAGA CTGGGCCTTT
5900
CGTTTTATCT GTTGTTTGTC GGTGAACGCT CTCCTGAGTA GGACAAATCC
5950
GCCGGGAGCG GATTTGAACG TTGCGAAGCA ACGGCCCGGA GGGTGGCGGG
6000
CAGGACGCCC GCCATAAACT GCCAGGCATC AAATTAAGCA GAAGGCCATC
6050
CTGACGGATG GCCTTTTTGC GTTTCTACAA ACTCTTTTGT TTATTTTTCT
6100
AAATACATTC AAATATGTAT CCGCTCATGA GACAATAACC CTGATAAATG
6150
CTTCAATAAT GGAAGATCTT CCAACATCAC AGGTAAACAG AAACGTCGGG
6200
TCGATCGGGA AATTCTTTCC CGGACGGCGC GGGGTTGGGC AAGCCGCAGG
6250
CGCGTCAGTG CTTTTAGCGG GTGTCGGGGC GCAGCCATGA CCCAGTCACG

【表６－６】

6300
TAGCGATAGC GGAGTGTATA CTGGCTTAAC TATGCGGCAT CAGAGCAGAT
6350
TGTACTGAGA GTGCACCATA TGCGGTGTGA AATACCGCAC AGATGCGTAA
6400
GGAGAAAATA CCGCATCAGG CGCTCTTCCG CTTCCTCGCT CACTGACTCG
6450
CTGCGCTCGG TCGTTCGGCT GCGGCGAGCG GTATCAGCTC ACTCAAAGGC
6500
GGTAATACGG TTATCCACAG AATCAGGGGA TAACGCAGGA AAGAACATGT
6550
GAGCAAAAGG CCAGCAAAAG GCCAGGAACC GTAAAAAGGC CGCGTTGCTG
6600
GCGTTTTTCC ATAGGCTCCG CCCCCCTGAC GAGCATCACA AAAATCGACG
6650
CTCAAGTCAG AGGTGGCGAA ACCCGACAGG ACTATAAAGA TACCAGGCGT
6700
TTCCCCCTGG AAGCTCCCTC GTGCGCTCTC CTGTTCCGAC CCTGCCGCTT
6750
ACCGGATACC TGTCCGCCTT TCTCCCTTCG GGAAGCGTGG CGCTTTCTCA
6800
TAGCTCACGC TGTAGGTATC TCAGTTCGGT GTAGGTCGTT CGCTCCAAGC
6850
TGGGCTGTGT GCACGAACCC CCCGTTCAGC CCGACCGCTG CGCCTTATCC
6900
GGTAACTATC GTCTTGAGTC CAACCCGGTA AGACACGACT TATCGCCACT
6950
GGCAGCAGCC ACTGGTAACA GGATTAGCAG AGCGAGGTAT GTAGGCGGTG
7000
CTACAGAGTT CTTGAAGTGG TGGCCTAACT ACGGCTACAC TAGAAGGACA
7050
GTATTTGGTA TCTGCGCTCT GCTGAAGCCA GTTACCTTCG GAAAAAGAGT
7100
TGGTAGCTCT TGATCCGGCA AACAAACCAC CGCTGGTAGC GGTGGTTTTT
7150
TTGTTTGCAA GCAGCAGATT ACGCGCAGAA AAAAAGGATC TCAAGAAGAT
7200
CCTTTGATCT TTTCTACGGG GTCTGACGCT CAGTGGAACG AAAACTCACG
7250
TTAAGGGATT TTGGTCATGA GATTATCAAA AAGGATCTTC ACCTAGATCC
7300
TTTTAAATTA AAAATGAAGT TTTAAATCAA TCTAAAGTAT ATATGAGTAA
ACTTGGTCTG ACAGTCTAGA

【表７－１】

表7. プラスミドpYA5126のDNA配列 (配列番号: 21)。

範囲: 1から7392
50
AGATCTAGCC CGCCTAATGA GCGGGCTTTT TTTTAATTCG CAATTCCCCG
100
ATGCATAATG TGCCTGTCAA ATGGACGAAG CAGGGATTCT GCAAACCCTA
150
TGCTACTCCG TCAAGCCGTC AATTGTCTGA TTCGTTACCA ATTATGACAA
200

【表７－２】

CTTGACGGCT ACATCATTCA CTTTTTCTTC ACAACCGGCA CGGAACTCGC
250
TCGGGCTGGC CCCGGTGCAT TTTTTAAATA CCCGCGAGAA ATAGAGTTGA
300
TCGTCAAAAC CAACATTGCG ACCGACGGTG GCGATAGGCA TCCGGGTGGT
350
GCTCAAAAGC AGCTTCGCCT GGCTGATACG TTGGTCCTCG CGCCAGCTTA
400
AGACGCTAAT CCCTAACTGC TGGCGGAAAA GATGTGACAG ACGCGACGGC
450
GACAAGCAAA CATGCTGTGC GACGCTGGCG ATATCAAAAT TGCTGTCTGC
500
CAGGTGATCG CTGATGTACT GACAAGCCTC GCGTACCCGA TTATCCATCG
550
GTGGATGGAG CGACTCGTTA ATCGCTTCCA TGCGCCGCAG TAACAATTGC
600
TCAAGCAGAT TTATCGCCAG CAGCTCCGAA TAGCGCCCTT CCCCTTGCCC
650
GGCGTTAATG ATTTGCCCAA ACAGGTCGCT GAAATGCGGC TGGTGCGCTT
700
CATCCGGGCG AAAGAACCCC GTATTGGCAA ATATTGACGG CCAGTTAAGC
750
CATTCATGCC AGTAGGCGCG CGGACGAAAG TAAACCCACT GGTGATACCA
800
TTCGCGAGCC TCCGGATGAC GACCGTAGTG ATGAATCTCT CCTGGCGGGA
850
ACAGCAAAAT ATCACCCGGT CGGCAAACAA ATTCTCGTCC CTGATTTTTC
900
ACCACCCCCT GACCGCGAAT GGTGAGATTG AGAATATAAC CTTTCATTCC
950
CAGCGGTCGG TCGATAAAAA AATCGAGATA ACCGTTGGCC TCAATCGGCG
1000
TTAAACCCGC CACCAGATGG GCATTAAACG AGTATCCCGG CAGCAGGGGA
1050
TCATTTTGCG CTTCAGCCAT ACTTTTCATA CTCCCGCCAT TCAGAGAAGA
1100
AACCAATTGT CCATATTGCA TCAGACATTG CCGTCACTGC GTCTTTTACT
1150
GGCTCTTCTC GCTAACCAAA CCGGTAACCC CGCTTATTAA AAGCATTCTG
1200
TAACAAAGCG GGACCAAAGC CATGACAAAA ACGCGTAACA AAAGTGTCTA
1250
TAATCACGGC AGAAAAGTCC ACATTGATTA TTTGCACGGC GTCACACTTT
1300
GCTATGCCAT AGCATTTTTA TCCATAAGAT TAGCGGATCC TACCTGACGC
1350
TTTTTATCGC AACTCTCTAC TGTTTCTCCA TACCCGTTTT TTTGGGCTAG
1400
CGAATTCTGA GAACAAACTA AATGGATAAA TTTCGTGTTC AGGGGCCAAC
1450
GAAGCTCCAG GGCGAAGTCA CAATTTCCGG CGCTAAAAAT GCTGCTCTGC
1500
CTATCCTTTT TGCCGCACTA CTGGCGGAAG AACCGGTAGA GATCCAGAAC
1550
GTCCCGAAAC TGAAAGACGT CGATACATCA ATGAAGCTGC TAAGCCAGCT

【表７－３】

1600
GGGTGCGAAA GTAGAACGTA ATGGTTCTGT GCATATTGAT GCCCGCGACG
1650
TTAATGTATT CTGCGCACCT TACGATCTGG TTAAAACCAT GCGTGCTTCT
1700
ATCTGGGCGC TGGGGCCGCT GGTAGCGCGC TTTGGTCAGG GGCAAGTTTC
1750
ACTACCTGGC GGTTGTACGA TCGGTGCGCG TCCGGTTGAT CTACACATTT
1800
CTGGCCTCGA ACAATTAGGC GCGACCATCA AACTGGAAGA AGGTTACGTT
1850
AAAGCTTCCG TCGATGGTCG TTTGAAAGGT GCACATATCG TGATGGATAA
1900
AGTCAGCGTT GGCGCAACGG TGACCATCAT GTGTGCTGCA ACCCTGGCGG
1950
AAGGCACCAC GATTATTGAA AACGCAGCGC GTGAACCGGA AATCGTCGAT
2000
ACCGCGAACT TCCTGATTAC GCTGGGTGCG AAAATTAGCG GTCAGGGCAC
2050
CGATCGTATC GTCATCGAAG GTGTGGAACG TTTAGGCGGC GGTGTCTATC
2100
GCGTTCTGCC GGATCGTATC GAAACCGGTA CTTTCCTGGT GGCGGCGGCG
2150
ATTTCTCGCG GCAAAATTAT CTGCCGTAAC GCGCAGCCAG ATACTCTCGA
2200
CGCCGTGCTG GCGAAACTGC GTGACGCTGG AGCGGACATC GAAGTCGGCG
2250
AAGACTGGAT TAGCCTGGAT ATGCATGGCA AACGTCCGAA GGCTGTTAAC
2300
GTACGTACCG CGCCGCATCC GGCATTCCCG ACCGATATGC AGGCCCAGTT
2350
CACGCTGTTG AACCTGGTGG CAGAAGGGAC CGGGTTTATC ACCGAAACGG
2400
TCTTTGAAAA CCGCTTTATG CATGTGCCAG AGCTGAGCCG TATGGGCGCG
2450
CACGCCGAAA TCGAAAGCAA TACCGTTATT TGTCACGGTG TTGAAAAACT
2500
TTCTGGCGCA CAGGTTATGG CAACCGATCT GCGTGCATCA GCAAGCCTGG
2550
TGCTGGCTGG CTGTATTGCG GAAGGGACGA CGGTGGTTGA TCGTATTTAT
2600
CACATCGATC GTGGCTACGA ACGCATTGAA GACAAACTGC GCGCTTTAGG
2650
TGCAAATATT GAGCGTGTGA AAGGCGAATA AGAATTCAGG AAAAAAACGC
2700
TGTGAAAAAT GTTGGTTTTA TCGGCTGGCG CGGAATGGTC GGCTCTGTTC
2750
TCATGCAACG CATGGTAGAG GAGCGCGATT TCGACGCTAT TCGCCCTGTT
2800
TTCTTTTCTA CCTCCCAGTT TGGACAGGCG GCGCCCACCT TCGGCGACAC
2850
CTCCACCGGC ACGCTACAGG ACGCTTTTGA TCTGGATGCG CTAAAAGCGC
2900
TCGATATCAT CGTGACCTGC CAGGGCGGCG ATTATACCAA CGAAATTTAT
2950

【表７－４】

CCAAAGCTGC GCGAAAGCGG ATGGCAGGGT TACTGGATTG ATGCGGCTTC
3000
TACGCTGCGC ATGAAAGATG ATGCCATTAT TATTCTCGAC CCGGTCAACC
3050
AGGACGTGAT TACCGACGGC CTGAACAATG GCGTGAAGAC CTTTGTGGGC
3100
GGTAACTGTA CCGTTAGCCT GATGTTGATG TCGCTGGGCG GTCTCTTTGC
3150
CCATAATCTC GTTGACTGGG TATCCGTCGC GACCTATCAG GCCGCCTCCG
3200
GCGGCGGCGC GCGCCATATG CGCGAGCTGT TAACCCAGAT GGGTCAGTTG
3250
TATGGCCATG TCGCCGATGA ACTGGCGACG CCGTCTTCCG CAATTCTTGA
3300
TATTGAACGC AAAGTTACGG CATTGACCCG CAGCGGCGAG CTGCCGGTTG
3350
ATAACTTTGG CGTACCGCTG GCGGGAAGCC TGATCCCCTG GATCGACAAA
3400
CAGCTCGATA ACGGCCAGAG CCGCGAAGAG TGGAAAGGCC AGGCGGAAAC
3450
CAACAAGATT CTCAATACTG CCTCTGTGAT TCCGGTTGAT GGTTTGTGTG
3500
TGCGCGTCGG CGCGCTGCGC TGTCACAGCC AGGCGTTCAC CATCAAGCTG
3550
AAAAAAGAGG TATCCATTCC GACGGTGGAA GAACTGCTGG CGGCACATAA
3600
TCCGTGGGCG AAAGTGGTGC CGAACGATCG TGATATCACT ATGCGCGAAT
3650
TAACCCCGGC GGCGGTGACC GGCACGTTGA CTACGCCGGT TGGTCGTCTG
3700
CGTAAGCTGA ACATGGGGCC AGAGTTCTTG TCGGCGTTTA CCGTAGGCGA
3750
CCAGTTGTTA TGGGGCGCCG CCGAGCCGCT GCGTCGAATG CTGCGCCAGT
3800
TGGCGTAGTC TAGCTGCACG ATACCGTCGA CTTGTACATA GACTCGCTCC
3850
GAAATTAAAG AACACTTAAA TTATCTACTA AAGGAATCTT TAGTCAAGTT
3900
TATTTAAGAT GACTTAACTA TGAATACACA ATTGATGGGT GAGCGTAGGA
3950
GCATGCTTAT GCGAAAGGCC ATCCTGACGG ATGGCCTTTT TGGATCTTCC
4000
GGAAGACCTT CCATTCTGAA ATGAGCTGTT GACAATTAAT CATCCGGCTC
4050
GTATAATGTG TGGAATTGTG AGCGGATAAC AATTTCACAC AGGAAACAGA
4100
CCATGGCGAC CAAAGGCACC AAACGTAGCT ATGAACAGAT GGAAACCGAT
4150
GGCGAACGTC AGAACGCGAC CGAAATTCGT GCGAGCGTGG GCAAAATGAT
4200
TGATGGCATT GGCCGTTTTT ATATTCAGAT GTGCACCGAA CTGAAACTGA
4250
GCGATTATGA AGGCCGTCTG ATTCAGAACA GCCTGACCAT TGAACGTATG
4300
GTGCTGAGCG CGTTTGATGA ACGTCGTAAC AAATATCTGG AAGAACATCC

【表７－５】

```
4350
GAGCGCGGGC AAAGATCCAA AGAAAACCGG CGGCCCGATT TATCGTCGTG
4400
TGGATGGCAA ATGGCGTCGT GAACTGATTC TGTATGATAA AGAAGAAATT
4450
CGTCGTATTT GGCGTCAGGC GAACAACGGC GATGATGCGA CCGCGGGCCT
4500
GACCCACATG ATGATTTGGC ATAGCAACCT GAACGATGCG ACCTATCAGC
4550
GTACCCGTGC GCTGGTGCGT ACCGGCATGG ACCCACGTAT GTGCAGCCTG
4600
ATGCAGGGCA GCACCCTGCC GCGTCGTAGC GGTGCAGCAG GTGCAGCAGT
4650
GAAAGGCGTG GGTACGATGG TGATGGAACT GATTCGTATG ATTAAACGTG
4700
GCATTAACGA TCGTAACTTT TGGCGTGGCG AAAACGGCCG TCGTACCCGT
4750
ATTGCGTATG AACGTATGTG CAACATTCTG AAAGGCAAAT TTCAGACCGC
4800
GGCGCAGCGT ACGATGGTGG ATCAAGTGCG TGAAAGCCGT AACCCGGGCA
4850
ACGCGGAATT TGAAGACCTG ATTTTTCTGG CGCGTAGCGC GCTGATTCTG
4900
CGTGGCAGCG TGGCGCATAA AAGCTGCCTG CCGGCGTGCG TGTATGGCCC
4950
GGCGGTGGCG AGCGGCTATG ATTTTGAACG TGAAGGCTAT AGCCTGGTGG
5000
GCATTGATCC GTTTCGTCTG CTGCAGAACA GCCAGGTGTA TAGCCTGATT
5050
CGTCCGAACG AAAACCCGGC GCATAAAAGC CAGCTGGTGT GGATGGCGTG
5100
CCATAGCGCG GCGTTTGAAG ACCTGCGTGT GAGCAGCTTT ATTCGTGGCA
5150
CCAAAGTGGT GCCGCGTGGC AAACTGAGCA CCCGTGGCGT GCAGATTGCG
5200
AGCAACGAAA ACATGGAAAC GATGGAAAGC AGCACCCTGG AACTGCGTAG
5250
CCGTTATTGG GCGATTCGTA CCCGTAGCGG CGGCAACACC AACCAGCAGC
5300
GTGCGAGCAG CGGCCAGATT AGCATTCAGC CGACCTTTAG CGTGCAGCGT
5350
AACCTGCCGT TTGATCGTCC GACCATTATG GCGGCGTTTA CCGGCAACAC
5400
CGAAGGCCGT ACCAGCGATA TGCGTACCGA AATTATTCGT CTGATGGAAA
5450
GCGCGCGTCC GGAAGATGTG AGCTTTCAGG GCCGTGGCGT GTTTGAACTG
5500
AGCGATGAAA AAGCGACCAG CCCGATTGTG CCGAGCTTTG ATATGAGCAA
5550
CGAAGGCAGC TACTTTTTCG GCGATAACGC GGAAGAATAT GATAACACAT
5600
ATGTTTCTGT TGGTACCTCT ACACTGGCGG CGTATCGTAC ACTGGATTTC
5650
CATGATTCTA ACGTTAAATA AGACCCATGG GAATTCGCAA TTCCCGGGGA
5700
```

【表７－６】

TCCGTCGACC TGCAGCCAAG CTCCCAAGCT TGGCTGTTTT GGCGGATGAG
5750
AGAAGATTTT CAGCCTGATA CAGATTAAAT CAGAACGCAG AAGCGGTCTG
5800
ATAAAACAGA ATTTGCCTGG CGGCAGTAGC GCGGTGGTCC CACCTGACCC
5850
CATGCCGAAC TCAGAAGTGA AACGCCGTAG CGCCGATGGT AGTGTGGGGT
5900
CTCCCCATGC GAGAGTAGGG AACTGCCAGG CATCAAATAA AACGAAAGGC
5950
TCAGTCGAAA GACTGGGCCT TTCGTTTTAT CTGTTGTTTG TCGGTGAACG
6000
CTCTCCTGAG TAGGACAAAT CCGCCGGGAG CGGATTTGAA CGTTGCGAAG
6050
CAACGGCCCG GAGGGTGGCG GGCAGGACGC CCGCCATAAA CTGCCAGGCA
6100
TCAAATTAAG CAGAAGGCCA TCCTGACGGA TGGCCTTTTT GCGTTTCTAC
6150
AAACTCTTTT GTTTATTTTT CTAAATACAT TCAAATATGT ATCCGCTCAT
6200
GAGACAATAA CCCTGATAAA TGCTTCAATA ATGGAAGATC TTCCAACATC
6250
ACAGGTAAAC AGAAACGTCG GGTCGATCGG GAAATTCTTT CCCGGACGGC
6300
GCGGGGTTGG GCAAGCCGCA GGCGCGTCAG TGCTTTTAGC GGGTGTCGGG
6350
GCGCAGCCAT GACCCAGTCA CGTAGCGATA GCGGAGTGTA TACTGGCTTA
6400
ACTATGCGGC ATCAGAGCAG ATTGTACTGA GAGTGCACCA TATGCGGTGT
6450
GAAATACCGC ACAGATGCGT AAGGAGAAAA TACCGCATCA GGCGCTCTTC
6500
CGCTTCCTCG CTCACTGACT CGCTGCGCTC GGTCGTTCGG CTGCGGCGAG
6550
CGGTATCAGC TCACTCAAAG GCGGTAATAC GGTTATCCAC AGAATCAGGG
6600
GATAACGCAG GAAAGAACAT GTGAGCAAAA GGCCAGCAAA AGGCCAGGAA
6650
CCGTAAAAAG GCCGCGTTGC TGGCGTTTTT CCATAGGCTC CGCCCCCCTG
6700
ACGAGCATCA CAAAAATCGA CGCTCAAGTC AGAGGTGGCG AAACCCGACA
6750
GGACTATAAA GATACCAGGC GTTTCCCCCT GGAAGCTCCC TCGTGCGCTC
6800
TCCTGTTCCG ACCCTGCCGC TTACCGGATA CCTGTCCGCC TTTCTCCCTT
6850
CGGGAAGCGT GGCGCTTTCT CATAGCTCAC GCTGTAGGTA TCTCAGTTCG
6900
GTGTAGGTCG TTCGCTCCAA GCTGGGCTGT GTGCACGAAC CCCCCGTTCA
6950
GCCCGACCGC TGCGCCTTAT CCGGTAACTA TCGTCTTGAG TCCAACCCGG
7000
TAAGACACGA CTTATCGCCA CTGGCAGCAG CCACTGGTAA CAGGATTAGC
7050
AGAGCGAGGT ATGTAGGCGG TGCTACAGAG TTCTTGAAGT GGTGGCCTAA

【表７－７】

```
7100
CTACGGCTAC ACTAGAAGGA CAGTATTTGG TATCTGCGCT CTGCTGAAGC
7150
CAGTTACCTT CGGAAAAAGA GTTGGTAGCT CTTGATCCGG CAAACAAACC
7200
ACCGCTGGTA GCGGTGGTTT TTTTGTTTGC AAGCAGCAGA TTACGCGCAG
7250
AAAAAAAGGA TCTCAAGAAG ATCCTTTGAT CTTTTCTACG GGGTCTGACG
7300
CTCAGTGGAA CGAAAACTCA CGTTAAGGGA TTTTGGTCAT GAGATTATCA
7350
AAAAGGATCT TCACCTAGAT CCTTTTAAAT TAAAAATGAA GTTTTAAATC
AATCTAAAGT ATATATGAGT AAACTTGGTC TGACAGTCTA GA
```

実施例６のための参考文献

【化７】


49. Ashraf S, Kong W, Wang S, Yang J, & Curtiss R, III (2011). Protective cellular responses elicited by vaccination with influenza nucleoprotein delivered by a live recombinant attenuated *Salmonella* vaccine. *Vaccine* 29(23):3990-4002.

50. Velders MP, *et al.* (2001). Defined flanking spacers and enhanced proteolysis is essential for eradication of established tumors by an epitope string DNA vaccine. *J Immunol* 166(9):5366-5373.

51. Bakshi CS, *et al.* (2000). Identification of SopE2, a *Salmonella* secreted protein which is highly homologous to SopE and involved in bacterial invasion of epithelial cells. *J Bacteriol* 182(8):2341-2344.

52. Kubori T & Galan JE (2003). Temporal regulation of *Salmonella* virulence effector function by proteasome-dependent protein degradation. *Cell* 115(3):333-342.

53. Joly E & Hudrisier D (2003). What is trogocytosis and what is its purpose? *Nat Immunol* 4(9):815.

54. Daubeuf S, Puaux AL, Joly E, & Hudrisier D (2006). A simple trogocytosis-based method to detect, quantify, characterize and purify antigen-specific live lymphocytes by flow cytometry, via their capture of membrane fragments from antigen-presenting cells. *Nat Protoc* 1(6):2536-2542.


【手続補正８】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】０２８０
【補正方法】変更
【補正の内容】
【０２８０】
ベクター構築

本研究で用いられたプラスミドを構築するために用いられたプライマー対が表９に示される。ｄＮＴＰｓ（ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）とのＰＣＲ反応のためにＶｅｎｔ　ＤＮＡポリメラーゼを用いた。

【表９－１】

| **表 9. プライマー対配列** | | **配列番号:** |
|---|---|---|
| プライマー | 配列 (5’ →3’) | |
| ***fbpA* (Rv3804c)のクローニング** | | |
| 85A-F1c | GCCGGGTCTAGAGCCTGCAGTCTG | 22 |
| 85A-R1 | CTAGATGTTGTGAATTCTCGGAGCTAGGCGCCCT | 23 |
| | | |
| ***fbpA* の最適化** | | |
| 85A-F1 | CCGCGGGGGCATTTTCTCGTCCGGGCCTGCCGGTGGAGTAC | 24 |
| 85A-R1B | GTACTCCACCGGCAGGCCCGGACGAGAAAATGCCCCCGCGG | 25 |
| 85A-F2 | CAATTCCAAAGCGGTGGTGCCAACTCGCCGGCCCTGTACCTGC | 26 |
| 85A-R2 | GCAGGTACAGGGCCGGCGAGTTGGCACCACCGCTTTGGAATTG | 27 |
| 85A-F3 | GTCTAGCTTCTACTCCGACTGGTACCAGCCGGCCTGCGGCAAG | 28 |
| 85A-R3 | CTTGCCGCAGGCCGGCTGGTACCAGTCGGAGTAGAAGCTAGAC | 29 |
| 85A-F4 | CTGCAGGCCAACCGTCACGTCAAGCCGACCGGTAGCGCCGTCG | 30 |
| 85A-R4 | CGACGGCGCTACCGGTCGGCTTGACGTGACGGTTGGCCTGCAG | 31 |
| 85A-F5 | CGCTGGCGATCTATCACCCGCAGCAGTTCGTCTACGCG | 32 |
| 85A-R5 | CGCGTAGACGAACTGCTGCGGGTGATAGATCGCCAGCG | 33 |
| 85A-F6 | CTACGCGGGTGCGATGTCGGGCCTGCTGGACCCGTCCCAGGCG | 34 |
| 85A-R6 | CGCCTGGGACGGGTCCAGCAGGCCCGACATCGCACCCGCGTAG | 35 |
| 85A-F7 | GCTGGACCCGTCCCAGGCGATGGGTCCGACCCTGATCGGCCTG | 36 |
| 85A-R7 | CAGGCCGATCAGGGTCGGACCCATCGCCTGGGACGGGTCCAGC | 37 |

【表９－２】

| | |
|---|---|
| 85A-F8 CGCAACGACCCGCTGCTGAACGTCGGTAAGCTGATCGCCAAC | 38 |
| 85A-R8 GTTGGCGATCAGCTTACCGACGTTCAGCAGCGGGTCGTTGCG | 39 |
| 85A-F9 CAAGTTCCTCGAGGGCTTCGTGCGTACCAGCAACATCAAGTTC | 40 |
| 85A-R9 GAACTTGATGTTGCTGGTACGCACGAAGCCCTCGAGGAACTTG | 41 |
| 85A-F10 CAACGCTATGAAGCCGGACCTGCAACGTGCACTGGGTGCCAC | 42 |
| 85A-R10 GTGGCACCCAGTGCACGTTGCAGGTCCGGCTTCATAGCGTTG | 43 |
| 85A-F11 GGGTGCCACGCCGAACACCGGTCCGGCGCCGCAGGGCGCCTAG | 44 |
| 85A-R11<br>CTAGGCGCCCTGCGGCGCCGGACCGGTGTTCGGCGTGGCACCC | 45 |
| | |
| **pYA3941 の構築** | |
| 85Am(93)-F1 GCACGGCGACCGCGGAATTCTTTCTCGTCCGGGCCTG | 46 |
| 85Am(20)-R1 GGTTCCAAAGATTTCTCGGTCGACGGCGCCCTGCGGCGCCG | 47 |
| | |
| **pYA4890 の構築** | |
| SopE(N)-F1 AAGGATCACCATGGGGACAAAAATAACTTTATCTCCCCAG | 48 |
| E2C(XN)-R1 TTCTCTCACCCGGGAAAACAGCGCGGCCGCGCCTATCAGAAG | 49 |
| a85a(Nt)-F1 GAATTGTGAGCGGCCGCCAATTTCACACAGGAAACAG | 50 |
| ECA(X)-R1 CTGAAAATCTTCTCTCACCCGGGAAAACAGCCAAGC | 51 |
| | |
| **OmpC シグナル配列** | |
| PSOC-F1<br>CATGGGGAAAGTTAAAGTACTGTCCCTCCTGGTACCAGCTCTGCTGGTGGC<br>GGGCGCAGCGAATGCGGCTGAATTCCTGCAGCCAAGCTTCCCGGGT | 52 |
| PSOC-R1<br>AGCTACCCGGGAAGCTTGGCTGCAGGAATTCAGCCGCATTCGCTGCGCCC<br>GCCACCAGCAGAGCTGGTACCAGGAGGGACAGTACTTTAACTTTCCC | 53 |
| | |
| **pYA3814 構築** | |
| 85A-F2m GACCGCGAGATCTTTTTCTCGTCCGGGCTTG | 54 |

【表９－３】

| | |
|---|---|
| | |
| **pYA3816 構築** | |
| Mtb39A-F2 GATCGATGGATATCACCTATGGTGGATTTCGGC | 55 |
| Mtb39A-R2 CCAAGCTTCGATATCCTAGCCGGCC | 56 |
| | |
| **pYA4683 構築** | |
| SopE2-F2 GCATACCATGGTAAAAGGATGGTGACTAACATAACACTATCC | 57 |
| Mtb39A-R3 CCAAGCTTCCTGCAGCTAGCCGGCC | 58 |
| | |
| **pYA4856 構築** | |
| Mtb39A-F3 CCACGAGAAATAGGGCCATGGAATGGTGGATTTCGG | 59 |