

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2007-503834

(P2007-503834A)

(43) 公表日 平成19年3月1日(2007.3.1)

(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	4 B O 2 4
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00	4 C O 8 5
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	

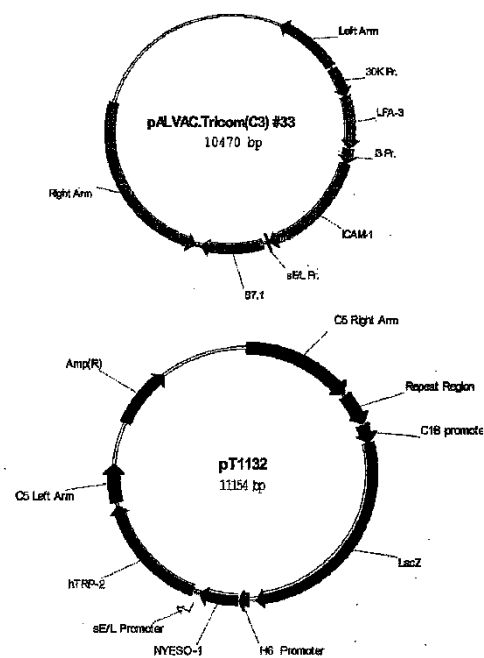
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 45 頁)

(21) 出願番号	特願2006-525474 (P2006-525474)	(71) 出願人	506076695
(86) (22) 出願日	平成16年9月3日 (2004.9.3)		サノフィ パストゥール リミテッド
(85) 翻訳文提出日	平成18年3月6日 (2006.3.6)		SANOFI PASTEUR LIMITED
(86) 国際出願番号	PCT/US2004/028751		カナダ国 エム2アール 3ティー4 オンタリオ州 トロント スティールズ アヴェニュー ウェスト 1755
(87) 国際公開番号	W02005/026370	(71) 出願人	503044204
(87) 国際公開日	平成17年3月24日 (2005.3.24)		セリオン バイオロジクス
(31) 優先権主張番号	60/500,572		Therion Biologics
(32) 優先日	平成15年9月5日 (2003.9.5)		アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O2142 ケンブリッジ ロジャーズ ストリート 76
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100073184
(31) 優先権主張番号	60/504,007		弁理士 柳田 征史
(32) 優先日	平成15年9月18日 (2003.9.18)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 黒色腫用の多抗原ベクター

(57) 【要約】

本発明は、ペプチド、ポリペプチドおよび核酸、ならびに癌の予防および/もしくは治療におけるペプチド、ポリペプチドまたは核酸の使用に関する。より詳細には、本発明は、黒色腫の診断、治療もしくは予防に使用するためのペプチド、ならびにそのようなペプチドをコードする核酸配列に関する。



【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

少なくとも2個の免疫原性標的を共発現させるための発現ベクターであって、該免疫原性標的は、NY-ESO-1、TRP-2、gp100、gp100M、MART抗原MART-1、MAGE抗原MAGE-1およびMAGE-3より成る群から選択されることを特徴とする発現ベクター。

【請求項 2】

プラスミドまたはウイルスベクターであることを特徴とする請求項1記載の発現ベクター。

【請求項 3】

ウイルスベクターは、ボックスウイルス、アデノウイルス、レトロウイルス、ヘルペスウイルス、およびアデノ関連ウイルスより成る群から選択されることを特徴とする請求項2記載の発現ベクター。 10

【請求項 4】

ウイルスベクターは、ワクシニア、NYVAC、アビボックス、カナリアボックス、ALVAC、ALVAC(2)、鶏痘およびTROVACより成る群から選択されるボックスウイルスであることを特徴とする請求項3記載の発現ベクター。

【請求項 5】

ウイルスベクターは、NYVAC、ALVACおよびALVAC(2)より成る群から選択されるボックスウイルスであることを特徴とする請求項4記載の発現ベクター。

【請求項 6】

血管形成関連抗原をコードする核酸配列を少なくとも1個は追有していることを特徴とする請求項1記載の発現ベクター。 20

【請求項 7】

ベクターがプラスミドまたはウイルスベクターであることを特徴とする請求項6記載の発現ベクター。

【請求項 8】

ウイルスベクターは、ボックスウイルス、アデノウイルス、レトロウイルス、ヘルペスウイルス、およびアデノ関連ウイルスより成る群から選択されることを特徴とする請求項7記載の発現ベクター。

【請求項 9】

ウイルスベクターは、ワクシニア、NYVAC、アビボックス、カナリアボックス、ALVAC、ALVAC(2)、鶏痘およびTROVACより成る群から選択されるボックスウイルスであることを特徴とする請求項8記載の発現ベクター。 30

【請求項 10】

ウイルスベクターは、NYVAC、ALVACおよびALVAC(2)より成る群から選択されるボックスウイルスであることを特徴とする請求項9記載の発現ベクター。

【請求項 11】

共刺激成分をコードする核酸配列を少なくとも1つさらに含むことを特徴とする請求項1から6いずれか1項記載の発現ベクター。

【請求項 12】

プラスミドまたはウイルスベクターであることを特徴とする請求項11記載の発現ベクター。 40

【請求項 13】

ウイルスベクターは、ボックスウイルス、アデノウイルス、レトロウイルス、ヘルペスウイルスおよびアデノ関連ウイルスより成る群から選択されることを特徴とする請求項12記載の発現ベクター。

【請求項 14】

ウイルスベクターは、ワクシニア、NYVAC、アビボックス、カナリアボックス、ALVAC、ALVAC(2)、鶏痘およびTROVACより成る群から選択されるボックスウイルスであることを特徴とする請求項13記載の発現ベクター。 50

【請求項 15】

ウイルスベクターは、NYVAC、ALVACおよびALVAC(2)より成る群から選択されるボックスウイルスであることを特徴とする請求項14記載の発現ベクター。

【請求項 16】

共刺激成分がヒトB7.1であることを特徴とする請求項11～15のいずれか1項記載の発現ベクター。

【請求項 17】

薬剤学的に許容されるキャリアー中に含まれる請求項1～16のいずれか1項記載の発現ベクターを含有することを特徴とする組成物。

【請求項 18】

癌の予防または治療法であって、請求項1～16のいずれか1項記載の発現ベクターの宿主への投与を含むことを特徴とする方法。

【請求項 19】

癌の予防または治療法であって、請求項17記載の組成物の宿主への投与を含むことを特徴とする方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、癌の予防および/または治療に使用するための多抗原ベクターに関する。特に、本発明は、黒色腫（メラノーマ）の治療および/または予防に使用するための多抗原ベクターに関する。

【背景技術】

【0002】

ここ数年、腫瘍関連抗原（TAA類）を用いた癌ワクチンの開発件数が急増しているが、これは、高密度マイクロアレイ（high density microarray）、SEREX、免疫組織化学（IHC）、RT-PCR、イン・サイチュー（in situ）ハイブリダイゼーション（ISH）およびレーザー捕獲顕微鏡（laser capture microscopy）などのようないくつかの技術を利用することにより、初期の腫瘍および正常細胞の発現プロファイリングに基づく分子の確認法が長足の進歩を遂げたからである（非特許文献1；非特許文献2；非特許文献3；非特許文献4）。TAA類は、腫瘍細胞によって発現もしくは過剰発現され、一種もしくは数種の腫瘍に特異的である。そのような例としては、例えば、CEA抗原は、結腸直腸癌、乳癌および肺癌で発現される。非特許文献2では、レーザー捕獲顕微解剖およびcDNAマイクロアレイを組み合わせることで、侵襲性および転移性の癌腫において特異的に発現される数種の遺伝子を確認したことを報告している。DNAまたはウイルスなどのようないくつかの輸送系は、ヒトの癌に対する治療用ワクチンに使用することができ（非特許文献5）、免疫応答を誘起することができ、さらに、TAA類に対する免疫寛容を打破することもできる。腫瘍細胞は、T細胞共刺激分子（例えば、B7.1、またはIFN- γ 、IL2などのサイトカイン類、またはGM-CSFなど）をコードする導入遺伝子を挿入することにより、より免疫原性を高めることができる。TAAと、サイトカインもしくは共刺激分子とを共発現させることにより、有効な治療用ワクチンを得ることができる（非特許文献6；非特許文献7；非特許文献8）。

【非特許文献1】ローゼンバーグ（Rosenberg）、Immunity, 1999

【非特許文献2】スグロイ（Sgroi）ら、1999

【非特許文献3】シェーナ（Schena）ら、1995

【非特許文献4】オフリング（Offringa）ら、2000

【非特許文献5】ボネット（Bonnet）ら、2000

【非特許文献6】ホッジ（Hodge）ら、1995

【非特許文献7】ブロンテ（Bronte）ら、1995

【非特許文献8】チャンパーライン（Chamberlain）ら、1996

【発明の開示】

10

20

30

40

50

【発明が解決しようとする課題】**【0003】**

癌の予防および治療を目的として免疫応答を刺激するための有用な試薬および方法が希求されている。本発明は、癌の治療を試みたこれまでの研究がぶつかってきた幾多の困難を克服するような試薬および方法を提供する。

【課題を解決するための手段】**【0004】**

本発明は、患者に投与し、癌を予防および/もしくは治療するための多抗原ベクターを提供する。特に、多抗原ベクターは、1個またはそれ以上の腫瘍抗原(「TA」)をコードしている。多抗原ベクターは、共刺激分子などの免疫刺激因子をもコードしており、および/もしくはアジュバントと共に投与する。

【発明を実施するための最良の形態】**【0005】**

本発明は、癌の治療および/または予防に有用な試薬および方法を提供する。本明細書中に引用している全ての参考文献を参照として取り入れておく。

【0006】

ひとつの実施態様においては、本発明は、1個またはそれ以上の腫瘍抗原(「TA」)に対する免疫応答を誘導または増強することにより、癌を予防および/または治療することに関する。特定の実施態様においては、例えば、1個またはそれ以上のTA類を組み合わせで使用することができる。好ましい実施態様においては、腫瘍抗原をコードする核酸ベクター、または、ペプチドもしくはポリペプチドなどの形態の腫瘍抗原自身を投与した後に、宿主細胞内においてTAが発現することによって免疫応答が得られる。

【0007】

本明細書において使用しているように、「抗原」とは、ポリペプチドなどの分子、またはそれらの一部であり、抗原を投与された宿主内で免疫応答を起こす。免疫応答には、抗原の少なくとも1個のエピトープに結合するような抗体の産生、および/または、抗原のエピトープを発現する細胞に対する細胞性免疫応答の発生が含まれる。応答とは、通常の免疫応答が増強されたものであり、例えば、抗体産生の増加、抗原に対する親和性が高められた抗体の産生、または、細胞性免疫応答の増強(すなわち、免疫反応性T細胞の数または活性が増している)などによって増強される。免疫応答を起こす抗原は、免疫原性である、または免疫原と称される場合がある。本発明においては、「免疫原性標的」として好ましいのはTAである。本発明は、宿主の1個またはそれ以上の免疫原性標的内で発現するための発現ベクターを提供する。

【0008】

TAという語は、腫瘍関連抗原(TAA類)および腫瘍特異的抗原(TSA類)の両者を包含しており、癌様細胞は抗原の供給源である。TAAは、正常細胞上よりも腫瘍細胞表面で多量に発現される抗原であり、あるいは、胎児の発達中に正常細胞上で発現される抗原である。さらに、TAは、TAA類またはTSA類、それらの抗原性フラグメント、およびそれらの抗原性を保持している修飾体を包含する。

【0009】

一般的に、TA類は、発現パターン、機能または遺伝的起源に基づいて5つに分類される: 精巣癌(CT)抗原(すなわち、MAGE、NY-ESO-1);メラノサイト分化抗原(すなわち、Melan A/MART-1、チロシナーゼ、gp100);突然変異抗原(すなわち、MUM-1、p53、CDK-4)、過剰発現した「自己」抗体(すなわち、HER-2/neu、p53);ならびに、ウイルス性抗原(すなわち、HPV、EBV)。本発明の実施にあたって適切なTAは、TAを投与された宿主内において抗腫瘍免疫応答を誘導する、または増強するような任意のTAである。適切なTA類としては次のようなものが挙げられる: gp100類(コックス(Cox)ら、Science, 264:716-719(1994); 米国特許第6,500,919 B1および国際公開第 01/30847号、162番がValであるものを「gp100M」と称する; 米国特許第6,537,560 B1は、162番がPheである); MART-1/Melan A(カワカミ(Kawakami)ら、J. Exp. Med., 180:347-352(1994); 米国特許第5,874,560

10

20

30

40

50

号) ; gp75 (TRP-1) (ワン (Wang) ら、J.Exp.Med., 186:1131-1140(1996)) ; TRP-2 (ワン (Wang) ら、J.Exp.Med., 184:2207(1996)) ; 米国特許第5,831,016号および第6,083,783号) ; チロシナーゼ (ウォルフエル (Wolfel) ら、Eur.J.Immunol., 24:759-764(1994)) ; 国際公開第200175117号 ; 国際公開第200175016号 ; 国際公開第200175007号) ; NY-ES0-1 (国際公開第 98/14464号 ; 国際公開第99/18206号 ; GenBankアクセス番号P78358号 ; 米国特許第5,804,381号) ; 黒色腫プロテオグリカン (ヘルストーム (Hellstorm) ら、J.Immunol., 130:1467-1472(1983)) ; MAGEファミリー抗原 (すなわち、MAGE-1、2、3、4、6、12、51) (ヴァン・デル・ブルッゲン (Van der Bruggen) ら、Science, 254:1643-1647(1991)) ; 米国特許第6,235,525号 ; CN 1319611号) ; BAGEファミリー抗原 (ベール (Boel) ら、Immunity, 2:167-175(1995)) ; GAGEファミリー抗原 (すなわち、GAGE-1、2) (ヴァン・デン・エインデ (Van den Eynde) ら、J.Exp.Med., 182:689-698(1995)) ; 米国特許第6,013,765号) ; RAGEファミリー抗原 (すなわち、RAGE-1) (ゴークラー (Gaugler) ら、Immunogenetics, 44:323-330(1996)) ; 米国特許第5,939,526号) ; N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼ - V (ギロー (Guilloux) ら、J.Exp.Med., 183:1173-1183(1996)) ; p15 (ロビンス (Robbins) ら、J.Immunol., 154:5944-5950(1995)) ; - カテニン (ロビンス (Robbins) ら、J.Exp.Med., 183:1185-1192(1996)) ; MUM-1 (クーリー (Coulie) ら、Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 92:7976-7980(1995)) ; サイクリン依存性キナーゼ - 4 (CDK4) (ウォルフエル (Wolfel) ら、Science, 269:1281-1284(1995)) ; p21-ras (フォッサム (Fossum) ら、Int.J.Cancer, 56:40-45(1994)) ; BCR-abl (ボッキア (Bocchia) ら、Blood, 85:2680-2684(1995)) ; p53 (テオバルド (Theobald) ら、Proc.Natl.Acad.Sci.USA, 92:11993-11997(1995)) ; p185 HER2/neu (erb-B1) (フィスク (Fisk) ら、J.Exp.Med., 181:2109-2117(1995)) ; 上皮増殖因子受容体 (EGFR) (ハリス (Harris) ら、Breast Cancer Res.Treat, 29:1-2(1994)) ; 癌胎児性抗原 (CEA) (クウォン (Kwong) ら、J.Natl.Cancer Inst., 85:982-990(1995)) ; 米国特許第5,756,103号、第5,274,087号、第5,571,710号、第6,071,716号、第5,698,530号、第6,045,802号 ; EP 263933号 ; EP 346710号 ; EP 784483号) ; 腫瘍関連突然変異ムチン (すなわち、MUC-1遺伝子産物) (ジェローム (Jerome) ら、J.Immunol., 151:1654-1662(1993)) ; EBVのEBNA遺伝子産物 (すなわち、EBNA-1) (リックンソン (Rickinson) ら、Cancer Surveys, 13:53-80(1992)) ; ヒトパピローマウイルスのE7、E6タンパク質 (レッシング (Ressing) ら、J.Immunol., 154:5934-5943(1995)) ; 前立腺特異的抗原 (PSA) (シュー (Xue) ら、The Prostate, 30:73-78(1997)) ; 前立腺特異的膜抗原 (PSMA) (イスラエリ (Israeli) ら、Cancer Res., 54:1807-1811(1994)) ; イディオタイプエピトープまたは抗原、例えば、免疫グロブリンイディオタイプまたはT細胞受容体イディオタイプ (チェン (Chen) ら、J.Immunol., 153:4775-4787(1994)) ; KSA (米国特許第5,348,887号) ; キネシン2 (デッツ (Dietz) ら、Biochem.Biophys.Res.Commun.2000, Sep.7; 275(3):731-738) ; HIP-55、TGF- β 1抗アポトーシス因子 (トゥーメイ (Toomey) ら、Br.J.Biomed.Sci., 2001; 58(3):177-183) ; 腫瘍タンパク質D52 (ブリン (Bryne) , J.A. ら、Genomics, 35:523-532(1996)) ; H1FT ; NY-BR-1 (国際公開第01/47959号) ; NY-BR62、NY-BR-75、NY-BR-85、NY-BR-87、NY-BR-96 (スキャンラン (Scanlan) , M. 「ヒト腫瘍抗原の確認に関する血清学および生物情報学的手法 (Sero logic and Bioinformatic Approaches to the Identification of Human Tumor Antigens) 」、癌ワクチン2000 (Cancer Vaccines 2000) より、癌研究所 (Cancer Research Institute) (ニューヨーク州ニューヨーク))、 「野生型」 (すなわち、ゲノムによって正常にコードされているもの、天然に存在するもの)、修飾されているもの、および突然変異型、さらに、それらの他のフラグメントおよび誘導体を含む。これらのTA類のうちの任意のものを単独で、または共免疫プロトコール中で互いに組み合わせて使用することができる。

【0010】

好ましいTA類は、黒色腫細胞に対する免疫応答の誘導に有用である。「黒色腫 (メラノーマ)」という語は、黒色腫類、転移性黒色腫類、メラノサイトもしくはメラノサイト関連母斑細胞由来の黒色腫類、黒色癌、黒色上皮腫、黒色肉腫、イン・サイチュー (in situ) 50

tu) 黒色腫、表在性拡大黒色腫、結節型黒色腫、悪性黒子黒色腫、先端黒子症黒色腫 (acral lentiginous melanoma)、侵襲性黒色腫、および家族性非定型母斑および黒色腫 (FAM-M) 症候群などを含むが、これらに限定されるわけではない。一般的には、黒色腫は、染色体の異常、退行性の成長および発達障害 (degenerative growth and development disorders)、細胞分裂促進剤、紫外線 (UV) 照射、ウイルス感染、遺伝子の組織発現が不適切、遺伝子発現の変化、または発癌性物質などの影響によって生じる。

【0011】

特定の場合においては、TAおよび他の抗原 (例えば、血管形成関連抗原 (angiogenesis-associated antigens、「AA」) など) を用いて患者を共免疫することが有効である。AAは、血管の誘導および/または連続的発達に関与する細胞に関連のある免疫原性分子 (すなわち、ペプチド、ポリペプチド) である。例えば、AAは、血管の基本的構造要素である内皮細胞 (「EC」) 上で発現される。癌が癌である部位においては、AAは、腫瘍を供給している血管の内部または近傍で検出されることが好ましい。患者にAAに対する免疫化を行うことにより、抗AA免疫応答がもたらされ、それによって、腫瘍近傍または内部で起こっている血管形成過程が阻止される、および/または、阻害される。AA類の例としては、例えば、次のようなものが挙げられる：血管内皮増殖因子 (すなわち、VEGF; ベルナルディーニ (Bernardini) ら、J.Urol., 2001, 166(4):1275-1279; スターネス (Starnes) ら、J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 2001, 122(3):518-523; ディアス (Dias) ら、Blood, 2002, 99:2179-2184)、VEGF受容体 (すなわち、VEGF-R、flk-1/KDR; スターネス (Starnes) ら、J. Thorac. Cardiovasc. Surg., 2001, 122(3):518-523)、EPH受容体 (すなわち、EPA2; ゲレティ (Gerety) ら、1999, Cell, 4:403-414); 上皮増殖因子受容体 (すなわち、EGFR; シアルデイロ (Ciardeillo) ら、Clin. Cancer Res., 2001, 7(10):2958-2970)、塩基性繊維芽細胞増殖因子 (すなわち、bFGF; ダヴィッドソン (Davidson) ら、Clin. Exp. Metastasis 2000, 18(6):501-507; プーン (Poon) ら、Am. J. Surg., 2001, 182(3):298-304)、血小板由来細胞増殖因子 (すなわち、PDGF-B)、血小板由来内皮細胞増殖因子 (すなわち、PD-ECGF; ホン (Hong) ら、J. Mol. Med., 2001, 8(2):141-148)、トランスフォーミング増殖因子 (すなわち、TGF- β ; ホン (Hong) ら、J. Mol. Med., 2001, 8(2):141-148)、エンドグリリン (バルザ (Balza) ら、Int. J. Cancer, 2001, 94:579-585)、Idタンパク質 (ベネズラ (Benezra) ら、R. Trends Cardiovasc. Med., 2001, 11(6):237-241)、uPA、uPARおよびマトリックスメタロプロテイナーゼ類 (MMP-2、MMP-9) などのプロテアーゼ類 (ジョノフ (Djonov) ら、J. Pathol., 2001, 195(2):147-155)、NOシンターゼ (Am. J. Ophthalmol., 2001, 132(4):551-556)、アミノペプチダーゼ (ロスハティ (Roushathi) ら、E. Nature Cancer, 2:84-90, 2002)、トロンボスポンジン類 (すなわち、TSP-1、TSP-2; アルヴァレツ (Alvarez) ら、Gynecol. Oncol., 2001, 82(2):273-278; セキ (Seki) ら、Int. J. Oncol., 2001, 19(2):305-310)、k-ras (ツァン (Zhang) ら、Cancer Res., 2001, 61(16):6050-6054)、Wnt (ツァン (Zhang) ら、Cancer Res., 2001, 61(16):6050-6054)、サイクリン依存性キナーゼ類 (CDK類; Drug Resist. Updat., 2000, 3(2):83-88)、微小管類 (タイマー (Timar) ら、2001, Path. Oncol. Res., 7(2):85-94)、熱ショックタンパク質 (すなわち、HSP90; タイマー (Timar) ら、同上)、ヘパリン結合因子 (すなわち、ヘパリナーゼ; ゴージ (Gohji) ら、Int. J. Cancer, 2001, 95(5):295-301)、シンターゼ類 (すなわち、ATPシンターゼ、チミジレートシンターゼ)、コラーゲン受容体インテグリン類 (すなわち、 α 3 β 1、 α 2 β 1、 α 5 β 1)、表面プロテオグリカンNG2、AAC2-1またはAAC2-2など、「野生型」(すなわち、ゲノムによって正常にコードされている、天然に存在するもの)、ならびに、それらの修飾体、突然変異体、ならびにその他のフラグメントおよび誘導体類。これらの標的のうちの任意のものは、単独で、または互いに、もしくはその他の物質と組み合わせることにより、本発明の実施に利用することができる。

【0012】

核酸分子は、1個もしくはそれ以上の免疫原性標的、または、それらのフラグメントもしくは誘導体類 (例えば、ATCCデポジットのDNA挿入体中に含まれているものなど) をコードするヌクレオチド配列を含む、あるいはそのようなヌクレオチド配列から構成されて

10

20

30

40

50

いる。「核酸配列」または「核酸分子」という語は、DNAまたはRNA配列をさす。それらの語は、DNAまたはRNAについて既知の塩基性アナログ類のうちの任意のものから形成されている分子を包含し、そのようなアナログ類としては、例えば、4 - アセチルシトシン、8 - ヒドロキシ - N6 - メチルアデノシン、アジリジニル - シトシン、プソイドイソシトシン、5 - (カルボキシヒドロキシメチル) ウラシル、5 - フルオロウラシル、5 - プロモウラシル、5 - カルボキシメチルアミノメチル - 2 - チオウラシル、5 - カルボキシ - メチルアミノメチルウラシル、ジヒドロウラシル、イノシン、N6 - イソペンテニルアデニン、1 - メチルアデニン、1 - メチルプソイドウラシル、1 - メチルグアニン、1 - メチルイノシン、2 , 2 - ジメチルグアニン、2 - メチルアデニン、2 - メチルグアニン、3 - メチルシトシン、5 - メチルシトシン、N6 - メチルアデニン、7 - メチルグアニン、5 - メチルアミノメチルウラシル、5 - メトキシアミノ - メチル - 2 - チオウラシル、 - D - マンノシルキューオシン、5' - メトキシカルボニル - メチルウラシル、5 - メトキシウラシル、2 - メチルチオ - N6 - イソペンテニルアデニン、ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、ウラシル - 5 - オキシ酢酸、オキシブトキソシン、プソイドウラシル、キューオシン、2 - チオシトシン、5 - メチル - 2 - チオウラシル、2 - チオウラシル、4 - チオウラシル、5 - メチルウラシル、N - ウラシル - 5 - オキシ酢酸メチルエステル、および2,6 - ジアミノプリンなどが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。

10

【0013】

単離された核酸分子とは、次のいずれかひとつを満たすものである：(1) 起源となる細胞から総ての核酸を単離した際に、天然に見出されるタンパク質、脂質、炭水化物またはその他の物質のうちの少なくとも約50%が除去されている；(2) 天然の状態で核酸分子が結合しているポリヌクレオチドに全く結合していないか、または一部にしか結合していない；(3) 天然では結合していないポリヌクレオチドに機能発揮できるように結合している；(4) 天然では、より大きなポリヌクレオチド配列の一部として存在していることはない。好ましくは、本発明に従う単離された核酸は、他の任意の核酸分子、あるいは、天然に見出され、ポリペプチド産生における使用、または、治療、診断、予防もしくは研究のための使用を干渉するようなその他の混在物を実質的に含まない。本明細書において使用しているように、「天然に存在する」または「生来の」または「天然に見出される」という語は、核酸分子、ポリペプチド、宿主細胞などのような生物学的材料に関して使用する場合には、自然界に見出され、人為的に操作されていない材料をさす。

20

30

【0014】

2個もしくはそれ以上の核酸またはアミノ酸配列の同一性は、配列を比較することによって確認する。当該分野において既知であるように、「同一性」とは、核酸またはアミノ酸の配列間の配列相関の程度を意味し、分子を構成している単位(すなわち、ヌクレオチドまたはアミノ酸残基)間のマッチ(match)によって判断する。同一性は、ギャップ配列(もし存在しているならば)を含む2個またはそれ以上の小さな配列間の同一マッチ(identical match)の割合として求めるが、これは、特定の数学モデルまたはコンピュータプログラム(すなわち、アルゴリズム)によって割り振られたものである。核酸配列間の同一性は、核酸配列が相互にハイブリダイズする能力からも求めることができる。ハイブリダイゼーションの過程を定義するにあたっては、「高ストリンジェント条件」および「緩和ストリンジェント条件(moderately stringent condition)」とは、核酸配列が相補的であるような核酸鎖がハイブリダイゼーションすることができる条件をさし、明らかに一致していない核酸のハイブリダイゼーションは排除されることを意味する。ハイブリダイゼーションおよび洗浄に関する「高ストリンジェント条件」の例としては、65 ~ 68 で0.015Mの塩化ナトリウム、0.0015Mのクエン酸ナトリウムを用いる、または、42 で0.015Mの塩化ナトリウム、0.0015Mのクエン酸ナトリウムおよび50%のホルムアミドを用いる、などが挙げられる(例えば、サンプルック(Sambrook)、フリッシュ(Fritsh)およびマニアティス(Maniatis)著、「分子クローニング：実験室マニュアル(Molecular Cloning: A Laboratory Manual)」(第2版、コールドスプリングハーバーラボラトリー(Cold Spring Harbor Laboratory)、1989年)；アンダーソン(Anderson)ら、「核酸ハイブリ

40

50

ダイゼーション：実際法 (Nucleic Acid Hybridisation: A Practical Approach) 第4章 (IRLプレス (IRL Press) 社)などを参照)。「緩和ストリンジェント条件」とは、「高ストリンジェント条件」下で形成されるDNA二本鎖よりも塩基対の不一致の度合いが高い二本鎖を形成する条件をさす。緩和ストリンジェント条件の例としては、50～65 で0.015Mの塩化ナトリウム、0.0015Mのクエン酸ナトリウムを用いる、または、37～50 で0.015Mの塩化ナトリウム、0.0015Mのクエン酸ナトリウムおよび20%のホルムアミドを用いる、などが挙げられる。例えば、50 、0.015Mのナトリウムイオンを用いる緩和ストリンジェント条件では、不一致は約21%まで許容される。ハイブリダイゼーション過程においては、非特異的および/またはバックグラウンドハイブリダイゼーションを低下させることを目的として、ハイブリダイゼーション用および洗浄用緩衝液にその他の物質を加えることができる。そのような物質の例としては、0.1%のウシ血清アルブミン、0.1%のポリビニルピロリドン、0.1%のピロリン酸ナトリウム、0.1%のドデシル硫酸ナトリウム、NaDodS₀₄ (SDS)、フィコール、デンハルト溶液、超音波破碎サケ精子DNA (またはその他の非相補的DNA)、および硫酸デキストランなどが挙げられるが、その他の適切な物質も用いることができる。これらの添加剤の濃度および種類は、ハイブリダイゼーション条件のストリンジェンシーに実質的に影響を及ぼすことなく変更することができる。通常、ハイブリダイゼーション実験は、pH6.8～7.4で行うが、典型的なイオン強度条件、ハイブリダイゼーション速度は、pHとはほぼ無関係である。

10

【0015】

本発明の好ましい実施態様においては、ベクターを用い、免疫原性標的をコードする核酸配列を細胞に転移する。ベクターとは、核酸配列を宿主細胞に転移するために使用する任意の分子である。特定の場合においては、発現ベクターを使用する。発現ベクターとは、宿主細胞の形質転換に適した核酸分子であり、転移された核酸配列の発現を指示および/または制御する核酸配列を含む。発現には、転写、翻訳、およびもしイントロンが存在するならばスプライシングなどの過程が含まれるが、これらに限定されるわけではない。一般的には、発現ベクターは、1個またはそれ以上のフランキング配列を含み、ここで、該配列は、ポリペプチドをコードする異種核酸配列に対して、機能発揮できるように連結されている。フランキング配列は、同種配列 (すなわち、宿主細胞と同じ種および/または系統に由来)、異種配列 (すなわち、宿主細胞の種もしくは系統とは別の種に由来)、ハイブリッド配列 (すなわち、1つ以上の起源を有するフランキング配列の組み合わせ) 、合成配列などを用いることができる。

20

30

【0016】

フランキング配列は、コード配列の複製、転写および/または翻訳に影響を及ぼせることが多く、機能発揮できるようにコード配列に連結されている。本明細書において使用している機能発揮できるように連結されている、とは、機能的関連性を持たせたポリヌクレオチド分子の連結をさす。例えば、プロモーターまたはエンハンサーがコード配列の転写に影響を与えている場合には、それらは機能発揮できるようにコード配列に連結されている。しかしながら、フランキング配列は、正しく機能している限りは、コード配列に隣接している必要はない。従って、例えば、未翻訳の転写された配列が、プロモーター配列とコード配列の間に存在する場合があります、そのような場合にも、プロモーター配列は、機能発揮できるようにコード配列に連結されていると考えることができる。同様に、エンハンサー配列は、コード配列の上流または下流に存在し、配列の転写に影響を与えることができる。

40

【0017】

特定の実施態様においては、フランキング配列は、標的細胞内で高レベルの遺伝子発現を行わせる転写制御配列であることが好ましい。転写制御配列には、例えば、プロモーター、エンハンサー、サイレンサー、レプレッサーエレメントまたはそれらの組み合わせなどが含まれる。転写制御配列は、構成性、組織特異的、細胞型特異的 (すなわち、別の組織または細胞と比較したときに、ひとつの型の組織または細胞内で高レベルの転写を起こさせるような領域)、または制御可能 (すなわち、テトラサイクリンなどの化合物との相

50

相互作用に反応する)である。転写制御領域の起源としては、任意の原核もしくは真核微生物、任意の脊椎もしくは非脊椎生物体、または、任意の植物を用いることができ、細胞内で核酸の転写が起こることにより、該細胞内のフランキング配列の機能が発揮される。本発明の実施にあたっては、多様な転写制御領域を用いることができる。

【0018】

適切な転写制御領域としては、CMVプロモーター(すなわち、CMV-隣接初期プロモーター)；真核生物遺伝子由来のプロモーター(すなわち、エストロゲン誘導性のニワトリ卵白アルブミン遺伝子、インターフェロン遺伝子、糖質コルチコイド誘導性チロシンアミノトランスフェラーゼ遺伝子およびチミジンキナーゼ遺伝子)；主要な初期および後期のアデノウイルスプロモーター；SV40初期プロモーター領域(バーノイスト(Bernoist)およびシャンボン(Chambon)、1981,Nature 290:304-310)；ルイス肉腫ウイルス(RSV)の3'長末端反復に含まれるプロモーター(ヤマモト(Tamamoto)ら、1980,Cell 22:787-797)；単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ(HSV-TK)プロモーター(ワグナー(Wagner)ら、1981,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.,78:1444-1445)；メタロチオネイン遺伝子の制御配列(プリンスター(Brinster)ら、1982,Nature 296:39-42)； γ -ラクタマーゼプロモーターなどの原核生物由来の発現ベクター(ヴィラ-カマロフ(Villa-Kamaroff)ら、1978,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.,75:3727-3731)；またはtacプロモーター(デボーア(De Boer)ら、1983,Proc.Natl.Acad.Sci.USA.,80:21-25)などが挙げられる。組織および/または細胞型特異的転写制御領域としては、例えば、膵臓の腺房細胞内で活性化されるエラスターゼI遺伝子制御領域(スウィフト(Swift)ら、1984,Cell,38:639-646；オーニッツ(Ornitz)ら、1986, Cold Spring Harbor Symp.Quant. Biol.,50:399-409(1986)；マクドナルド(McDonald)ら、1987,Hepatology 7:425-515)；膵臓 細胞内で活性化されるインシュリン遺伝子制御領域(ハナハン(Hanahan)ら、1985,Nature 315:115-22)；リンパ系細胞内で活性化される免疫グロブリン遺伝子制御領域(グロスチェドル(Grosschedl)ら、1984,Cell,38:647-658；アダムス(Adames)ら、1985,Nature 318:533-538；アレキサンダー(Alexander)ら、1987,Mol.Cell.Biol.,7:1436-1444)；精巣、乳房、リンパ系およびマスト細胞内のマウス乳腺腫瘍ウイルス制御領域(レダー(Leder)ら、1986,Cell,45:485-495)；肝臓内のアルブミン遺伝子制御領域(ピンカート(Pinkert)ら、1987,Genes and Devel.,1:268-276)；肝臓内の α -フェトプロテイン遺伝子制御領域(クラムローフ(Krumlauf)ら、1985,Mol.Cell.Biol.,5:1639-1648；ハマー(Hammer)ら、1987,Science,235:53-58)；肝臓内の α -1-抗トリプシン遺伝子制御領域(ケルセイ(Kelley)ら、1987,Genes and Devel.,1:161-171)；骨髄細胞内の α -グロブリン遺伝子制御領域(モグラム(Mogram)ら、1985,Nature,315:338-340；コリアス(Kollias)ら、1986,Cell,46:89-94)；脳内の稀突起神経膠細胞内のミエリン塩基性タンパク質遺伝子制御領域(リードヘッド(Readhead)ら、1987,Cell,48:703-712)；骨格筋内のミオシン軽鎖-2遺伝子制御領域(サニ(Sani)ら、1975,Nature,314:283-286)；視床下部内のゴナドトロピン放出ホルモン遺伝子制御領域(マソン(Mason)ら、1986,Science,234:1372-1378)；および黒色腫細胞内のチロシナーゼプロモーター(ハート(Hart),I., Semin.Oncol.,1996 Feb;23(1)154-158；シダーズ(Siders)ら、Cancer Gene Ther.,1998,Sep.-Oct.;5(5): 281-291)などが挙げられる。光、熱、放射線、テトラサイクリン、もしくは熱ショックタンパク質などのような特定の化合物または条件の存在下において活性化される誘導性プロモーターも用いることができる(例えば、国際公開第00/10612号などを参照)。その他の適切なプロモーターも当該分野において既知である。

【0019】

上述したように、エンハンサーはフランキング配列としても適している。エンハンサーは、DNAのシス作用要素であり、通常、長さは約10~300bpであり、プロモーターに作用して転写を増加させる。一般的に、エンハンサーは、方向および位置とは無関係であり、被制御コード配列の5'および3'末端で確認されている。哺乳類遺伝子から得られるいくつかのエンハンサー配列が知られている(すなわち、グロビン、エラスターゼ、アルブミン、 α -フェトプロテインおよびインスリン)。同様に、SV40エンハンサー、サイトメガロウ

イルス初期プロモーターエンハンサー、ポリオーマエンハンサーおよびアデノウイルスエンハンサーは、真核細胞性プロモーター配列に有用である。エンハンサーは、ベクターに挿入する際に、核酸コード配列の5'位側または3'位側のいずれにも挿入することができるが、一般的には、プロモーターの5'側に挿入する。その他の適切なエンハンサーも当該分野において既知であり、本発明に用いることができる。

【0020】

本発明に使用する試薬の調製に際しては、細胞をトランスフェクトする、または形質転換する必要がある。トランスフェクションとは、細胞によって異質または外来性のDNAが取り込まれることをさし、外来性DNAが細胞膜内に導入された場合に、細胞はトランスフェクトされる。多数のトランスフェクション技術が当該分野において既知である（すなわち、グラハム（Graham）ら、1973, Virology, 52:456；サンプルック（Sambrook）ら、「分子クローニング：実験室マニュアル（Molecular Cloning: A Laboratory Manual）」（第2版、コールドスプリングハーバーラボラトリーズ（Cold Spring Harbor Laboratories）、1989年）；デイヴィス（Davis）ら、「分子生物学の基本法（Basic Methods in Molecular Biology）」（エルセヴィール（Elsevier）社、1986年）；チュウ（Chu）ら、1981, Gene, 13:197）。そのような技術を用い、適切な宿主細胞内に1個またはそれ以上の外来性DNA部位を導入することができる。

10

【0021】

特定の実施態様においては、細胞のトランスフェクションの結果、該細胞が形質転換されることが好ましい。細胞の特性に変化が生じる場合に、細胞が形質転換されると表現し、改変されて新規な核酸を含んでいる状態を形質転換されていると表現する。トランスフェクション後、トランスフェクトされた核酸は、該細胞の染色体内に物理的に組み込まれることによって該細胞の核酸と組換えを起こし、または、複製されることなく、エピソームエレメント（episomal element）として一時的に保持され、あるいは、プラスミドとして独立して複製される。細胞分裂に伴って核酸が複製される場合に、細胞が安定して形質転換されていると表現する。

20

【0022】

本発明に従う発現ベクターは、免疫原性標的のフラグメントをも発現させる。フラグメントには、アミノ末端（リーダー配列あり、またはなし）および／またはカルボキシ末端で切断された配列を含む。フラグメントには、変異体（すなわち、対立遺伝子、スプライスされた遺伝子）、オーソロガス遺伝子、相同遺伝子、ならびに、元の配列と比較した場合に1個もしくはそれ以上のアミノ酸の付加、置換または内部欠失が生じているその他の変異体も含まれる。好ましい実施態様においては、アミノ酸の切断および／または欠失の数は、約1～5個、5～10個、10～20個、20～30個、30～40個、40～50個、またはそれ以上である。そのようなポリペプチドフラグメントは、アミノ末端メチオニン残基を追有することがある。そのようなフラグメントは、例えば、免疫原性標的に対する抗体、または細胞性免疫応答の作出などに利用することができる。

30

【0023】

変異体は、元の配列と比較した場合に、1個もしくはそれ以上の配列の置換、欠失および／または付加を有する配列である。変異体は、天然に存在するものもあれば、人為的に構築されたものもある。そのような変異体は、対応する核酸分子から調製することができる。好ましい実施態様においては、変異体は、1～3個、1～5個、1～10個、1～15個、1～20個、1～25個、1～30個、1～40個、1～50個、もしくは50個以上のアミノ酸の置換、挿入、付加、および／または欠失を有する。

40

【0024】

対立遺伝子変異体とは、微生物または微生物集団の染色体上の与えられた位置を占めている配列の中で、天然に生じ得る数種の別型の中のひとつである。スプライス変異体とは、一次転写のスプライシングによって得られた数種のRNA転写体のうちのひとつから生成されたポリペプチドである。オーソロガス遺伝子とは、他の種と類似の核酸またはポリペプチド配列である。例えば、免疫原性標的のマウス型およびヒト型は、互いにオーソロガ

50

ス遺伝子であると考えられる。配列の誘導体とは、元の配列から派生したもののうちのひとつであり、置換、付加、欠失、もしくは化学的に修飾された変異体を有する。変異体には融合タンパク質も含まれ、ここで、融合タンパク質とは、少なくとも1個の他の配列（異種ペプチドなど）のアミノもしくはカルボキシ末端において、出発材料となる1個もしくはそれ以上の配列（ペプチドなど）が融合したものをさす。

【0025】

「類似性」とは、同一性に関する概念であり、同一マッチ（identical matches）および保存性置換マッチ（conservative substitution matches）を含む相関性の測定を意味する類似性を除く。例えば、2個のポリペプチド配列が、10/20の同一アミノ酸を有し、残りは全て非保存性置換であるならば、同一性および類似性はいずれも50%である。同じ例において、保存性置換がさらに5ヶ所以上ある場合には、同一性は50%であるが、類似性は75%（15/20）である。故に、保存性置換が存在する場合には、2個のポリペプチド間の類似性は、2個のポリペプチド間の同一性よりも高くなる。

10

【0026】

置換は、保存性、非保存性、またはそれらの任意の組み合わせのいずれでもよい。ポリペプチドの配列に対する保存性アミノ酸修飾（およびそれらをコードするヌクレオチドへの対応する修飾）により、元のポリペプチドが有する機能的および化学的特性に類似したそれらを有するポリペプチドが産生される。例えば、「保存性アミノ酸置換」は、ある位置に存在する天然のアミノ酸残基の大きさ、極性、電荷、疎水性もしくは親水性、に対してほとんど、または全く影響を及ぼさず、特に、免疫原性を低下させないような非天然の残基で、該残基を置換することを含む。適切な保存性アミノ酸置換を表Iに示す。

20

【表1】

表I

元の残基	例示的置換	好ましい置換
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gln, Lys, Arg	Arg
Ile	Leu, Val, Met, Ala, Phe, ノルロイシン	Leu
Leu	ノルロイシン, Ile, Val, Met, Ala, Phe	Ile
Lys	Arg, 1,4ジアミノ酪酸, Gln, Asn	Arg
Met	Leu, Phe, Ile	Leu
Phe	Leu, Val, Ile, Ala, Tyr	Leu
Pro	Ala	Gly
Ser	Thr, Ala, Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr, Phe	Tyr
Tyr	Trp, Phe, Thr, Ser	Phe
Val	Ile, Met, Leu, Phe, Ala, ノルロイシン	Leu

30

40

【0027】

当業者であれば、既知の技術を用いて免疫原性標的の適切な変異体を確認することができる。生物学的活性（すなわち、MHC結合、免疫原性）を破壊することなく、変更することができる分子内の適切な領域を判断するためには、当業者であれば、そのような活性に対して重要ではないと考えられている領域を標的にする。例えば、同種または他の種由来であって、類似活性を有する免疫原性標的が既知である場合には、当業者であれば、ある

50

ポリペプチドのアミノ酸配列をそのような類似ポリペプチドと比較する。そのような分析を行うことにより、分子内の保存されている残基および領域を確認することができる。そのような類似免疫原性標的と比較して保存されていない領域における変化は、ポリペプチドの生物学的活性および/または構造に不利な影響を及ぼしてはいないと考えられる。同様に、MHC結合に必要な残基は既知であり、修飾することによって結合性を向上させることができる。しかしながら、多くの場合、MHCへの結合が低下するような修飾は適切ではない。当業者であれば、比較的保存されている領域内においても、活性を保持しながら、天然に存在する残基を化学的に類似しているアミノ酸で置換することができる。故に、生物学的活性または構造に対して重要な領域であっても、免疫原性標的の生物学的活性を破壊することなく、または、構造に悪影響を及ぼすことなく、保存性アミノ酸置換を行うことができる。

10

【0028】

その他の好ましいポリペプチド変異体としては、グリコシル化変異体が挙げられ、これは、元のアミノ酸配列と比較して、グリコシル化部位の数および/または型が変化している。ひとつの実施態様においては、ポリペプチド変異体は、元のアミノ酸配列よりも多数の、または少数のN-結合グリコシル化部位を有する。N-結合グリコシル化部位は、Asn-X-SerまたはAsn-X-Thrという配列を有するという特徴があり、ここで、Xで表されている残基は、プロリン以外の任意のアミノ酸である。この配列を作出することを目的としてアミノ酸残基を置換することにより、N-結合炭化水素鎖が付加するための新規な部位が提供される。別の方法としては、この配列を排除するような置換を行うことにより、既存のN-結合炭化水素鎖を除去する。さらに、1個またはそれ以上のN-結合グリコシル化部位（一般的には、天然に存在する部位）を排除し、かつ、1個またはそれ以上の新規のN-結合部位を作出することにより、N-結合炭化水素鎖を再配列することができる。ペプチドのO-結合グリコシル化に影響を与えるためには、セリンおよび/またはスレオニン残基を修飾する。

20

【0029】

さらなる好ましい変異体としては、システイン変異体が挙げられるが、これは、元のアミノ酸配列セットと比較して、1個またはそれ以上のシステイン残基が欠失または他のアミノ酸（例えば、セリンなど）と置換されている。システイン変異体は、ペプチドまたはポリペプチドが不溶性封入体として単離された後などに、生物学的に活性なコンホメーションに再生される際に有用である。通常、システイン変異体は、天然のタンパク質よりもシステイン残基が少なく、一般的には、偶数個の残基を有しており、対を成していないシステインに由来する相互作用を最小限抑えている。

30

【0030】

別の実施態様においては、ペプチドまたはポリペプチドは、ポリペプチドの精製を補助する、1個またはそれ以上の融合セグメントに接着している。融合体は、ポリペプチド変異体のアミノ末端またはカルボキシ末端のいずれにおいても作出できる。融合体は、リンカーもしくはアダプター分子なしで直接接着することができ、または、リンカーもしくはアダプター分子を介して接着することができる。リンカーもしくはアダプター分子は、1個もしくはそれ以上のアミノ酸残基であり、一般的には、約20～約50個のアミノ酸残基からなっている。リンカーもしくはアダプター分子は、DNA制限エンドヌクレアーゼまたはプロテアーゼ用の解裂部位を有するように設計することもでき、それによって融合部位の分離が可能になる。一旦融合ポリペプチドを構築し、その後、本明細書に記載されている方法に従って誘導体化することもできる。適切な融合セグメントとしては、金属結合ドメイン（例えば、ポリヒスチジンセグメントなど）、免疫グロブリン結合ドメイン（すなわち、プロテインA、プロテインG、T細胞、B細胞、Fc受容体、または補体タンパク質抗体結合ドメイン）、糖結合ドメイン（例えば、マルトース結合ドメインなど）、および/または、「tag」ドメイン（すなわち、 α -ガラクトシダーゼの少なくとも一部、連鎖球菌tagペプチド、T7 tagペプチド、FLAGペプチド、または、モノクローナル抗体などのように、ドメインに結合する化合物を用いて精製することができるその他のドメイン）などが挙げ

40

50

られる。一般的には、このtagは、ペプチドまたはポリペプチドに融合されており、発現に際して、宿主細胞から、目的のポリペプチドの配列をアフィニティー精製するための手段として使用することができる。アフィニティー精製は、例えば、アフィニティーマトリックスとしてtagに対する抗体を用いたカラムクロマトグラフィーによって行うことができる。所望するならば、解裂用のある種のペプチダーゼを使用するなどの多様な手段により、目的のポリペプチドの精製された配列からtagを除去することができる。以下に記載しているように、融合体は、TAと共刺激成分 (co-stimulatory component) (例えば、CXCL10 (IP-10)、CCL7 (MCP-3) またはCCL5 (RANTES) などのようなケモカイン類など) との間でも作成可能である。

【0031】

融合モチーフは、小胞体などのようなMHCプロセッシング区画への免疫原性標的の輸送を増加させる。形質導入配列またはトランスサイトシス配列と称されるこれらの配列の例としては、HIV tat由来の配列 (キム (Kim) ら、1997, J. Immunol., 159:1666を参照)、シヨウジョウバエのアンテナペディア遺伝子由来の配列 (シュッツェ (Schutze) - レデルマイアー (Redelmeier) ら、1996, J. Immunol., 157:650参照)、またはヒトのピリオド-1タンパク質 (hPER1; 特にSRRHHCRSKAKRSRHH) などが挙げられる。

【0032】

さらに、ポリペプチドまたはそれらの変異体は、同種のペプチドもしくはポリペプチドに融合させてホモダイマーを、または、異種のペプチドもしくはポリペプチドに融合させてヘテロダイマーを形成することができる。異種のペプチドおよびポリペプチドとしては、次のようなものが挙げられるが、これらに限定されるわけではない：融合ポリペプチドの検出および/もしくは単離のためのエピトープ；膜貫通受容体タンパク質もしくはそれらの一部 (細胞外ドメイン、または膜貫通および細胞内ドメインなど)；膜貫通受容体タンパク質に結合するリガンドもしくはそれらの一部；触媒活性を有する酵素もしくはそれらの一部；オリゴマー化を促進するポリペプチドもしくはペプチド (ロイシンジッパードメインなど)；安定性を向上させるポリペプチドもしくはペプチド (免疫グロブリン定常領域など)；ペプチドもしくはポリペプチドとは別異の治療活性を有するペプチドもしくはポリペプチド；ならびに/または、それらの変異体。

【0033】

特定の実施態様においては、本発明に従う組成物中では、免疫原性標的をコードする核酸配列と、1個もしくはそれ以上の共刺激成分 (細胞表面タンパク質、サイトカイン類またはケモカイン類など) とを組み合わせることが好ましい。共刺激成分は、ポリペプチドまたはポリペプチドをコードする核酸などとして組成物中に組み込むことができる。適切な共刺激分子としては、例えば、次のようなものが挙げられる：CD28ファミリー (すなわち、CD28、ICOS；ハトロフ (Hutloff) ら、Nature, 1999, 397:263-265；ピーチ (Peach) ら、J. Exp. Med., 1994, 180:2049-2058) に結合するポリペプチド、例えば、CD28結合ポリペプチドB7.1 (CD80；シュワルツ (Schwartz)、1992；チェン (Chen) ら、1992；エリス (Ellis) ら、J. Immunol., 156(8):2700-2709)、B7.2 (CD86；エリス (Ellis) ら、J. Immunol., 156(8):2700-2709)、およびそれらの突然変異体/変異体 (国際公開第00/66162号)；インテグリンファミリー (すなわち、LFA-1 (CD11a/CD18)；セドウィック (Sedwick) ら、J. Immunol., 1999, 162:1367-1375；ヴルフィン (Wuelfing) ら、Science, 1998, 282:2266-2269；ラブ (Lub) ら、Immunol. Today, 1995, 16:479-483) に結合するポリペプチド、ICAMファミリー (すなわち、ICAM-1、-2または-3) を含む；CD2ファミリー (すなわち、CD2、シグナリングリンパ球活性化分子 (CDw150または「SLAM」；アヴァーサ (Aversa) ら、J. Immunol., 1997, 158:4036-4044) に結合するポリペプチド、例えば、CD58 (LFA-3；CD2リガンド；デイヴィス (Davis) ら、Immunol. Today, 1996, 17:177-187) またはSLAMリガンド (サヨズ (Sayos) ら、Nature, 1998, 395:462-469)；熱安定抗原 (HSAまたはCD24；ツォウ (Zhou) ら、Eur. J. Immunol., 1997, 27:2524-2528) に結合するポリペプチド；TNF受容体 (TNFR) ファミリー (すなわち、4-1BB (CD137；ヴィナイ (Vinay) ら、Semin. Immunol., 1998, 10:481-489)、OX40 (CD134；ウェインバーグ (Weinberg) ら、S

10

20

30

40

50

emin.Immunol.,1998,10:471-480; ヒギンス (Higgins) ら、J.Immunol.,1999,162:486-493)、およびCD27 (レンズ (Lens) ら、Semin.Immunol.,1998,10: 491-499))、例えば、4-1BBL (4-1BBリガンド; ヴィナイ (Vinay) ら、Semin.Immunol.,1998,10: 481-489; デベネデッテ (DeBenedette) ら、J.Immunol.,1997,158:551-559)、TNFR関連因子-1 (TRAF-1; 4-1BBリガンド; サオーリ (Saoulli) ら、J.Exp.Med.,1998,187:1849-1862; アーチ (Arch) ら、Mol.Cell Biol.,1998,18:558-565)、TRAF-2 (4-1BBおよびOX40リガンド; サオーリ (Saoulli) ら、J.Exp.Med.,1998,187:1849-1862; オシマ (Oshima) ら、Int.Immunol.,1998,10:517-526; カワマタ (Kawamata) ら、J.Biol.Chem.,1998,273: 5808-5814)、TRAF-3 (4-1BBおよびOX40リガンド; アーチ (Arch) ら、Mol.Cell Biol., 1998,18:58-565; ジャン (Jang) ら、Biochem.Biophys.Res.Comm.,1998,242:613-620; カワマタ (Kawamata) ら、Sら、J.Biol.Chem.,1998,273:5808-5814)、OX40L (OX40リガンド; グラマグリア (Gramaglia) ら、J.Immunol.,1998,161:6510-6517)、TRAF-5 (OX40リガンド; アーチ (Arch) ら、Mol.Cell Biol.,1998,18:558-565; カワマタ (Kawamata) ら、Sら、J.Biol.Chem.,1998,273:5808-5814)、およびCD70 (CD27リガンド; クーデルク (Couderc) ら、Cancer Gene Ther.,5(3):163-175) に結合するポリペプチドなど。CD154 (CD40リガンドまたは「CD40L」; グルナサン (Gurunathan) ら、J.Immunol.,1998,161:4563-4571; シーン (Sene) ら、Hum.Gene Ther.,2001,12:1091-1102) も適している。

10

【0034】

1種またはそれ以上のサイトカイン類も共刺激成分または「アジュバント」に適しており、ポリペプチドとして、または、本発明に従う組成物内に含まれる核酸によってコードされているものとして用いる (パーミアニ (Parmiani) ら、Immunol.Lett.2000 Sep 15;74(1):41-44; ベルゾフスキー (Berzofsky) ら、Nature Immunol.1:209-219)。適切なサイトカイン類としては、例えば、インターロイキン2 (IL-2) (ローゼンバーグ (Rosenberg) ら、Nature Med.,4:321-327(1998))、IL-4、IL-7、IL-12 (パードール (Pardoll) らによる総説,1992; ハリス (Harris) ら、J.Gene Med.,2000,Jul-Aug;2(4):243-249; ラオ (Rao) ら、J.Immunol.,156:3357-3365(1996))、IL-15 (シン (Xin) ら、Vaccine,17:858-866,1999)、IL-16 (クルイクシャンク (Cruikshank) ら、J.Leuk.Biol.,67(6):757-766,2000)、IL-18 (J.Cancer Res.Clin.Oncol.,2001,127(12):718-726)、GM-CSF (CSF; ディシス (Disis) ら、Blood,88:202-210,1996)、腫瘍壊死因子 (TNF-) またはインターフェロン類 (IFN- または IFN- など) などが挙げられる。当該分野において知られているように、その他のサイトカイン類も本発明の実施に適している。

20

30

【0035】

ケモカイン類も、ポリペプチド型または核酸型のいずれも使用することができる。CXCL10 (IP-10) およびCCL7 (MCP-3) を腫瘍自己抗原に融合させた融合タンパク質は、抗腫瘍免疫性を誘導することが示されている (ピラギン (Biragyn) ら、Nature Biotech.,1999,17:253-258)。ケモカイン類であるCCL3 (MIP-1) およびCCL5 (RANTES) (ボイヤー (Boyer) ら、Vaccine,1999,17(Supp.2):S53-S64) も、本発明の実施に使用することができる。その他の適切なケモカイン類も当該分野において既知である。

【0036】

抑制性または負の制御免疫メカニズムが阻止されることにより、免疫応答が増強されることは、当該分野において既知である。例えば、抗CTLA-4 (シュリカント (Shrikant) ら、Immunity,1996,14:145-155; ストゥミュラー (Sutmoller) ら、J.Exp.Med.,2001,194:823-832)、抗CD25 (ストゥミュラー (Sutmoller) ら、同上)、抗CD4 (マツイ (Matsui) ら、J.Immunol.,1999,163:184-193)、融合タンパク質IL13Ra2-Fc (テラベ (Terabe) ら、Nature Immunol.,2000,1:515-520) およびそれらの組み合わせ (すなわち、抗CTLA-4および抗CD25、ストゥミュラー (Sutmoller) ら、同上) を用いて処理することにより、抗腫瘍免疫応答が促進制御されることが示されており、本発明の実施に適している。そのような処理は、本発明に従う免疫原性標的のひとつまたはそれ以上と組み合わせることでもできる。

40

【0037】

50

これらの構成要素の任意のものを単独または他の材料と組み合わせて使用することができる。例えば、CD80、ICAM-1およびLFA-3の組み合わせ（「TRICOM」）は、抗癌免疫応答を強化することが示されている（ホッジ（Hodge）ら、Cancer Res., 59:5800-5807(1999)）。その他の効果的な組み合わせとしては、例えば、IL-12+ GM-CSF（アーラー（Ahler）ら、J. Immunol., 158:3947-3958(1997)；イワサキ（Iwasaki）ら、J. Immunol., 158:4591-4601(1997)）、IL-12+ GM-CSF+ TNF-（アーラー（Ahler）ら、Int. Immunol., 13:897-908(2001)）、CD80+ IL-12（フルエンド（Fruend）ら、Int. J. Cancer, 85:508-517(2000)；ラオ（Rao）ら、同上）、およびCD86+ GM-CSF+ IL-12（イワサキ（Iwasaki）ら、同上）などが挙げられる。当業者であれば、本発明の実施にあたって有用な、さらなる組み合わせについて気付くはずである。さらに、当業者であれば、そのようなメカニズムを調節するために使用する、さらなる物質または方法に気付くはずである。これらの物質および方法、ならびに、当業者において既知のその他のものを本発明の実施に使用することができる。

10

20

30

【0038】

核酸に基づく免疫の効率を向上させるためのさらなる戦略としては、例えば、次のようなものが挙げられる：自己複製ウイルス性レプリコンの使用（カレー（Caley）ら、1999, Vaccine, 17:3124-2135；デュベンスキー（Dubensky）ら、2000, Mol. Med., 6:723-732；ライトナー（Leitner）ら、2000, Cancer Res., 60:51-55）、コドンの最適化（リウ（Liu）ら、2000, Mol. Ther., 1:497-500；デュベンスキー（Dubensky）ら、同上；ハン（Huang）ら、2001, J. Virol., 75:4947-4951）、イン・ビボ（in vivo）エレクトロポレーション（ウィデラ（Widera）ら、2000, J. Immunol., 164:4635-3640）、CpG刺激性モチーフの取込み（グルナサン（Gurunathan）ら、Ann. Rev. Immunol., 2000, 18:927-974；ライトナー（Leitner）ら、同上；チョウ（Cho）ら、J. Immunol., 168(10):4907-4913）、エンドサイト経路またはユビキチン処理経路を標的にする配列（トムソン（Thomson）ら、1998, J. Virol., 72:2246-2252；ヴェルダース（Velders）ら、2001, J. Immunol., 166:5366-5373）、マレック病ウイルス1型VP22配列（J. Virol., 76(6):2676-2682, 2002）、プライム-ブースト法（グルナサン（Gurunathan）ら、同上；スリヴァン（Sullivan）ら、2000, Nature, 408:605-609；ハンケ（Hanke）ら、1998, Vaccine, 16:439-445；アマラ（Amara）ら、2001, Science, 292:69-74）、ならびに、サルモネラ（Salmonella）などのような粘膜輸送ベクター（mucosal delivery vectors）の使用（ダージ（Darji）ら、1997, Cell, 91:765-775；ウー（Woo）ら、2001, Vaccine, 19:2945-2954）など。その他の方法も当該分野において既知であり、そのうちのいくつかを以下に記載する。

【0039】

化学療法剤、放射線、抗血管形成化合物またはその他の物質も、免疫原性標的を使用する癌の治療および/または阻害に利用することができる（セプティ（Sebti）ら、Oncogene, 2000 Dec. 27; 19(56):6566-6573）。例えば、転移性黒色腫の治療に適切な化学療法剤処方としては、BELD（ブレオマイシン、ビンデシン、ロムスチンおよびダカルバジン；ヤング（Young）ら、1985, Cancer, 55:1879-1881）、BOLD（ブレオマイシン、ピンクリスチン、ロムスチン、ダカルバジン；セイグラー（Seigler）ら、1980, Cancer, 46:2346-2348）、DD（ダカルバジン、アクチノマイシン；ホッホスター（Hochster）ら、Cancer Treatment Reports, 69:39-42）、またはPOC（プロカルバジン、ピンクリスチン、ロムスチン；カルモ・ペレイラ（Carmo-Pereira）ら、1984, Cancer Treatment Reports, 68:1211-1214）などが挙げられる。その他の適切な化学療法剤処方也可以使用することができる。

40

【0040】

当該分野において、多数の抗血管形成化合物が知られており、それらは、免疫原性標的ワクチンおよび/または化学療法剤処方との共投与に適している（例えば、タイマー（Timer）ら、2001, Pathology Oncol. Res., 7(2):85-94などを参照）。そのような物質の例呈としては、例えば、増殖因子（すなわち、ANG-2、NK1, 2, 4（HGF）、トランスフォーミング増殖因子（TGF- β ））、サイトカイン類（すなわち、IFN- α 、 β 、 γ などのインターフェロン類、血小板因子4（PF-4）、PR-39）、プロテアーゼ類（すなわち、解裂AT-III

50

、コラーゲンXVIIIフラグメント (Endostatin))、HmwKallikrein-d5プラスミンフラグメント (Angiostatin)、プロトロンビン-F1-2、TSP-1、プロテアーゼ阻害剤 (すなわち、TIMP-1、-2または-3などのメタロプロテアーゼ類の組織阻害剤；マスピリン；PAI-1などのプラスミノゲンアクチベーター-インヒビター；色素上皮由来の因子 (PEDF))、Tumstatin (イレックス (ILEX) 社から市販)、抗体生成物 (すなわち、コラーゲン結合抗体HUIV26、HUI77、XL313；抗VEGF；抗インテグリン (すなわち、Vitaxin (リクシス (Lxsys) 社から市販)))、ならびにグリコシダーゼ類 (すなわちヘパリナーゼ-I、-III) などの生理的物質が挙げられる。抗血管形成能を有することが知られている、もしくは有すると考えられている「化学的」または修飾された生理的物質としては、例えば、ピンブラスチン、タキソール、ケトコナゾール、サリドマイド、ドレスタチン、コンプレスタチンA、ラバマイシン (グバ (Guba) ら、2002, Nature Med., 8:128-135)、CEP-7055 (セファロン (Cephalon) 社から市販)、フラボン酢酸、Bay 12-9566 (バイエル (Bayer) 社)、AG3340 (アゴーロン (Agouron) 社)、CGS27023A (ノバルティス (Novartis) 社)、テトラサイクリン誘導体 (すなわち、COL-3 (コラゲニックス (Collagenix) 社))、Neovastat (アターナ (Aeterna) 社)、BMS-275291 (ブリストル - マイヤーズ - スクイブ (Bristol-Myers Squibb) 社)、低投与量5-FU、低投与量メトトレキセート (MTX)、イルソフラジン (irsofladine)、ラジシコール (radicicol)、シクロスポリン、カプトプリル、セレコキシブ (celecoxib)、D45152-硫化多糖類、陽イオンタンパク質 (Protamine)、陽イオンペプチド - VEGF、Suramin (多硫化ナフチルウレア)、VEGFの機能または産生を干渉する化合物 (すなわち、SU5416またはSU6668 (スージェン (Sugen) 社、P TK787/ZK22584 (ノバルティス (Novartis) 社))、Distamycin A、Angiozymic (リボザイム)、イソフラビノイド類、スタンロスポリン (stanrosporine) 誘導体類、ゲニステイン、EMD121974 (メルク (Merck) KcgaA) タイロホスチン類 (tyrphostins)、イソキノロン類、レチノール酸、カルボキシアミドトリアゾール、TNP-470、オクトレオチド、2-メトキシエストラジオール、アミノステロール類 (すなわち、スクアラミン)、グルタチオンアナログ類 (すなわち、N - アセチル - L - システイン)、コンプレタスタチンA-4 (オキシジェン (Oxigene) 社)、Eph受容体阻害剤 (Nature, 414:933-938, 2001)、Rh-Angiostatin、Rh-Endostatin (国際公開第01/93897号)、サイクリック - RGDペプチド、アキューチンディスインテグリン (accutin-disintegrin)、ベンゾジアゼペン類 (benzodiazepenes)、ヒト型化抗avb3 Ab、Rh-PAI-2、アミロライド、p - アミドベンザミジン、抗uP A ab、抗uPAR Ab、L - フェニルアラニン - N - メチルアミド類 (すなわち、Batimistat、Marimastat)、AG3340およびミノサイクリンなどが挙げられる。その他多くの適切な物質が当該分野において既知であり、本発明の実施にふさわしい。

【0041】

本発明は、癌の治療法として「踏襲的でない」方法と組み合わせて利用することもできる。例えば、最近の報告では、ある種の嫌気性菌を投与することにより、腫瘍の増殖を抑えられることが示されている。ひとつの実験においては、ノーヴィ菌 (Clostridium novyi) を修飾してファージエピソーム上に存在する毒性遺伝子を除去し、直腸結腸腫瘍を有するマウスに投与している (ダン (Dang) ら、P.N.A.S.USA, 98(26):15155-15160, 2001)。化学療法と組み合わせることにより、この処置が、マウス体内で腫瘍の壊死を引き起こすことが示された。本明細書に記載されている物質および方法は、そのような治療法と組み合わせることができる。

【0042】

免疫原性標的をコードする核酸は、可能ないくつかの技術のうちの任意のものを用いて投与することができる。宿主に核酸を導入する際に首尾よく使用されているウイルス性ベクターとしては、レトロウイルス、アデノウイルス、アデノ関連ウイルス (AAV)、ヘルペスウイルス、およびポックスウイルスなどが挙げられる。そのようなウイルス性ベクターの多くは当該分野において入手可能であることは、当該分野においては自明である。本発明に従うベクターは、当業者によって広く実施されている標準的な組み換え技術を利用して構築することができる。そのような技術は、一般的な分子生物学の参考文献、例えば

、「分子クローニング：実験室マニュアル (Molecular Cloning: A Laboratory Manual)」(サンプルック (Sambrook) ら、1989年、コールドスプリングハーバー・ラボラトリー・プレス (Cold Spring Harbor Laboratory Press) 社)、 「遺伝子発現技術 (Gene Expression Technology)」(酵素学における方法論 (Methods in Enzymology)、185巻、グッデル (Goeddel) ら編、1991年、アカデミック・プレス (Academic Press) 社、カリフォルニア州サンディエゴ)、および「PCRプロトコール：方法論および応用への指針 (PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications)」(イニス (Innis) ら、1990年、アカデミック・プレス (Academic Press) 社、カリフォルニア州サンディエゴ) などが挙げられる。

【0043】

好ましいレトロウイルスベクターは、レンチウイルス由来のもの、ならびに、マウスもしくはトリレトロウイルス由来のものである。適切なレトロウイルスの例としては、例えば、モロニーマウス白血病ウイルス (MoMuLV)、ハーヴェイマウス肉腫ウイルス (HaMuSV)、マウス乳癌ウイルス (MuMTV) SIV、BIV、HIVおよびラウス肉腫ウイルス (RSV) などが挙げられる。多くのレトロウイルスベクターは、複数の外来性核酸配列を取り込むことができる。組み換えレトロウイルスは欠損性であるので、感染性のベクター粒子を産生するためには、補助が必要である。このような補助は、例えば、レトロウイルス構造遺伝子をコードするヘルパー細胞系などから供給することができる。適切なヘルパー細胞系としては、2、PA317およびPA12などが挙げられる。そのような細胞系を用いて産生されたベクターのピリオンを利用してNIH3T3細胞などのような組織細胞系に感染させ、大量のキメラレトロウイルスピリオンを産生させることができる。レトロウイルスベクターは、従来から行われている方法 (すなわち、注射)、または、標的細胞の近傍に「産生細胞系 (producer cell line)」を埋め込むこと (カルヴァー (Culver), K. ら、1994, Hum. Gene Ther., 5(3):343-379; カルヴァー (Culver), K. ら、Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol., 59:685-690; オールドフィールド (Oldfield), E., 1993, Hum. Gene Ther. 4(1):39-69) によって投与することができる。産生細胞系を操作してウイルスベクターを産生させ、標的細胞の近傍にウイルス粒子を放出させる。放出されたウイルス粒子の一部が標的細胞と接触し、これらの細胞に感染することにより、本発明に従う核酸が標的細胞に送達される。標的細胞の感染に続いて、ベクターの核酸の発現が起こる。

【0044】

アデノウイルスベクターは、真核細胞への遺伝子導入 (ローゼンフィールド (Rosenfield), M. ら、1991, Science, 252(5004):431-434; クリスタル (Crystal), R. ら、1994, Nat. Genet., 8(1):42-51)、真核細胞性遺伝子の発現実験 (レヴレロ (Levrero), M. ら、1991, Gene, 101(2):195-202)、ワクチン開発 (グラハム (Graham), F. およびプレヴェック (Prevec), L., 1992, Biotechnology, 20:363-390)、および動物モデル (ストラトフォード・ペリカデット (Stratford-Perricaudet), L. ら、Bone Marrow Transplant., 9(Suppl.1):151-152; リッチ (Rich), D., 1993, Hum. Gene Ther., 4(4):461-476 ら、) に対して特に有用であることが示されている。イン・ビボ (in vivo) の別異の組織に組換えAdを投与するための実験的経路としては、気管内点滴注入 (ローゼンフィールド (Rosenfield), M. ら、1992, Cell, 68(1):143-155)、筋肉内注射 (クァンティン (Quentin), B., ら、1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89(7):2581-2584)、末梢静脈内注射 (ハーツ (Herz), J. およびゲラード (Gerard), R., 1993, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90(7):2812-2816)、および脳への定位固定植付け (ル・ガル・ラ・サール (Le Gal La Salle), G. ら、1993, Science, 259(5097):988-990) などが挙げられる。

【0045】

アデノ関連ウイルス (AAV) は、高い感染性、宿主範囲の広さ、および宿主細胞ゲノムへの特異的インテグレーションを示す (ハーモナット (Hermonat), P. ら、1984, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 81(20):6466-6470)。さらに、単純ヘルペスウイルス I (HSV-I) は、興味をそそられるもうひとつのベクター系であるが、向神経特性を有することから、神経系への使用に特に適している (ゲラー (Geller), A. ら、1991, Trends Neurosci., 14(10):42

10

20

30

40

50

8-432; グロリオソ (Glorioso) ら、1995, Mol. Biotechnol., 4(1):87-99; グロリオソ (Glorioso) ら、1995, Annu. Rev. Microbiol., 49:675-710)。

【0046】

もうひとつの有用な発現ベクターはボックスウイルスである (スミス (Smith) ら、1983, Gene, 25(1):21-28; モス (Moss) ら、1992, Biotechnology, 20:345-362; モス (Moss) ら、1992, Curr. Top. Microbiol. Immunol., 158:25-38; モス (Moss) ら、1991, Science, 252:1662-1667)。有用であることが示されているボックスウイルスとしては、ワクシニア、NYVAC、アピボックス、鶏痘、カナリアボックス、ALVAC、およびALVAC(2)などが挙げられる。

【0047】

NYVAC (vP866) は、既知または推定ビルレンス因子をコードするゲノム中の6個の非必須領域を欠失させたワクシニアウイルスのコペンハーゲンワクチン株由来である (例えば、米国特許第5,364,773号および第5,494,807号参照)。欠失位置は、外来遺伝子挿入用の受入位置として操作されている。欠失領域は、チミジンキナーゼ遺伝子 (TK⁻; J2R); 出血性領域 (u; B13R + B14R); A型封入体領域 (ATI; A26L); 赤血球凝集素遺伝子 (HA; A56R); 宿主域遺伝子領域 (C7L-K1L); およびリボヌクレオチドレダクターゼの大サブユニット (I4L) である。NYVACは、遺伝子操作されたワクシニアウイルスであり、ビルレンスと宿主域に關与する遺伝子産物をコードする18個のオープンリーディングフレームフレームを特異的に欠損させることによって生成されたものである。NYVACは、TA類の発現に有用であることが示されている (例えば、米国特許第6,265,189号などを参照)。NYVAC (vP866)、vP994、vCP205、vCP1433、placZH6H4Lリバー、pMPC6H6K3E3およびpC3H6FHVBも、それぞれ、アクセッション番号VR-2559、VR-2558、VR-2557、VR-2556、ATCC-97913、ATCC-97912およびATCC-97914として、ブダペスト協定に基づいてATCCに寄託されている。

【0048】

本発明の実施においては、ALVACに基づく組換えウイルス (すなわち、ALVAC-1およびALVAC-2) も使用に適している (例えば、米国特許第5,756,103号などを参照)。ALVAC(2)は、ワクシニアプロモーターの制御下にワクシニアのE3LおよびK3L遺伝子を有する以外はALVAC(1)と同一である (米国特許第6,130,066号; ビアッティ (Beattie) ら、1995a, 1995b, 1991; チャン (Chang) ら、1992; ダヴィース (Davies) ら、1993)。ALVAC(1) およびALVAC(2)は、TA類などの外来性DNA配列の発現に有用であることが示されている (タータグリア (Tartaglia) ら、1993a, b; 米国特許第5,833,975号)。ALVACは、ATCCアクセッション番号VR-2547として、ブダペスト協定に基づき、アメリカンタイプカルチャーコレクション (American Type Culture Collection; ATCC) (アメリカ合衆国バージニア州マナサス、大学通り10801番地、郵便番号20110-2209) に寄託されている。

【0049】

さらに別の有用なボックスウイルスベクターは、TROVACである。TROVACとは、弱毒鶏痘であり、鶏痘ウイルスのFP-1ワクチン株からプラーククロニングによって単離して得られ、1日齢のヒナへのワクチン接種が認められている。TROVACも同様に、アクセッション番号2553として、ブダペスト協定に基づいてATCCに寄託されている。

【0050】

「非ウイルス性」プラスミドも本発明の実施に適している。好ましいプラスミドベクターは、細菌、昆虫および/または哺乳類宿主細胞に適合するものである。そのようなベクターとしては、例えば、PCR-II、pCR3、およびpcDNA3.1 (インヴィトロジェン (Invitrogen) 社、カリフォルニア州サンディエゴ)、pBSII (ストラタジーン (Stratagene) 社、カリフォルニア州ラホーヤ)、pET15 (ノヴァジェン (Novagen) 社、ウィスコンシン州マディソン)、pGEX (ファルマシア・バイオテク (Pharmacia Biotech) 社、ニュージャージー州ピスカタウェイ)、pEGFP-N2 (クロンテック (Clontech) 社、カリフォルニア州パロアルト)、pETL (BlueBacII; インヴィトロジェン (Invitrogen) 社)、pDSR-alpha (国際公開第90/14363号)、およびpFastBacDual (ギブコ - BRL (Gibco-BRL) 社、ニューヨーク州グランドアイランド)、ならびにBluescript (登録商標) プラスミド誘導体類

10

20

30

40

50

(COLE-1に基づく多コピーファージミド；ストラタジーン・クローニングシステムズ(Stratagene Cloning Systems)社、カリフォルニア州ラホーヤ)、Taq-増幅PCR産物をクローニングするように設計されたPCRクローニングプラスミド類(例えば、TOP0(商標)TA cloning(登録商標)キット、PCR2.1(登録商標)プラスミド誘導體類；インヴィトロジェン(Invitrogen)社、カリフォルニア州カールスバッド)などが挙げられる。細菌由来のベクターも本発明に使用することができる。そのようなベクターとしては、例えば、シゲラ属(Shigella)、サルモネラ属(Salmonella)、ビブリオ・コレレ(Vibrio cholerae)、乳酸桿菌属(Lactobacillus)、カルメット・ゲラン菌(Bacille calmette guerin: BCG)および連鎖球菌(Streptococcus)などが挙げられる(例えば、国際公開第88/6626号、国際公開第90/0594号、国際公開第91/13157号、国際公開第92/1796号および国際公開第92/21376号を参照)。その他多数の非ウイルス性プラスミド発現ベクターおよび発現系が当該分野において知られており、本発明に使用することができる。

10

【0051】

適切な核酸送達技術としては、DNA-リガンドコンプレックス、アデノウイルス-リガンド-DNAコンプレックス、DNAの直接注入、CaPO₄沈殿法、遺伝子銃(gene gun)技術、エレクトロポレーション(電気穿孔)、およびコロイド分散系などが挙げられる。コロイド分散系には、巨大分子コンプレックス、ナノカプセル、マイクロスフェア、ビーズ、ならびに、水中油型エマルション、ミセル、混合ミセルおよびリポソームなどの脂質に基づく系などが挙げられる。本発明の好ましいコロイド系はリポソームであり、これは、人工膜を有する小胞であって、イン・ビトロ(in vitro)およびイン・ビボ(in vivo)での送達ビヒクルとして有用である。リポソームは、RNA、DNAおよびそのままの形のビリオンを水性の内部に封入することができ、生物学的に活性な形で細胞に送達することができる(フラレイ(Fraley)ら、1981, Trends Biochem. Sci., 6:77)。通常、リポソームの組成は、リン脂質の組み合わせであり、特に、相遷移温度が高いリン脂質と、ステロイド類、特にコレステロールとを組み合わせる。その他のリン脂質、またはその他の脂質も用いることができる。リポソームの物理的特性は、pH、イオン強度および二価陽イオンの存在によって決まる。リポソーム生成に有用な脂質の例としては、ホスファチジルグリセロール、ホスファチジルコリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルエタノールアミンなどのホスファチジル化合物、スフィンゴ脂質類、セレブロシド類およびガングリオシド類などが挙げられる。特に有用なものはジアシルホスファチジルグリセロール類であり、こ

20

30

【0052】

免疫原性標的は、1種またはそれ以上のアジュバントと組み合わせて投与し、免疫応答を促進することができる。アジュバントの例を下の表IIに示す。

【表 2】

表II
免疫アジュバントのタイプ

アジュバントのタイプ	一般的例示	特定の例示／参考文献
ゲルタイプ	水酸化／リン酸アルミニウム (「アルミニウムアジュバント」)	(Aggerbeck and Heron, 1995)
	リン酸カルシウム	(Reijveld, 1986)
細菌性	ムラミルジペプチド(MDP)	(Chedid et al., 1986)
	細菌外毒素	コレラトキシン(CT)、大腸菌の不安定な毒素(LT) (Freytag and Clements, 1999)
	内毒素ベースのアジュバント	モノホスホリルリポドA (MPL) (Ulrich and Myers, 1995)
	他の細菌性アジュバント	CpGオリゴヌクレオチド (Corral and Petray, 2000)、 BCG配列(Krieg, et al. Nature, 374: 576)、破傷風毒素(Rice, et al. J. Immunol., 2001, 167: 1558-1565)
粒子状	生分解性高分子ミクロスフェア	(Gupta et al., 1998)
	免疫刺激複合体 (ISCOMs)	(Morein and Bengtsson, 1999)
	リボソーム	(Wassef et al., 1994)
油-エマルジョン および 界面活性剤 ベースの アジュバント	フロインド不完全アジュバント	(Jensen et al., 1998)
	微小流体エマルジョン	MF59 (Ott et al., 1995) SAF (Allison and Byars, 1992) (Allison, 1999)
	サポニン	QS-21 (Kensil, 1996)
合成品	ムラミルペプチド誘導体	Murabutide (Lodderer, 1986) Threony-MDP (Allison, 1997)
	非イオン性ブロック共重合体	LI21 (Allison, 1999)
	ポリフォスフェン (polyphosphazene: PCPP)	(Payne et al., 1995)
	合成ポリヌクレオチド	ポリA:U、ポリI:C (Johnson, 1994)
	サリドマイド誘導体	CC-4047/ACTIMID (J. Immunol., 168(10):4914-9)

10

20

【0053】

本発明に従う組成物の宿主への投与は、当業者において既知である多様な技術のうちの任意のものをを用いて行うことができる。組成物は、製剤学で従来から行われている方法に従って加工することにより、ヒトおよびその他の哺乳類を含む患者に投与するための薬剤（すなわち、「医薬組成物」）にする。好ましくは、医薬組成物は、DNA、ウイルスベクター粒子、ポリペプチドもしくはペプチドなどの所与量を含む投与単位様式にする。ヒトまたはその他の哺乳類への適切な日投与量は、患者の状態およびその他の因子によって大きく異なるが、常套法を用いて決定することができる。

30

【0054】

医薬組成物は、従来から用いられており、薬剤学的に許容されるキャリアー、アジュバント、およびビヒクルを含む投与単位製剤として、経口、非経口、吸入スプレー、経肛門、結節内、または局所に投与することができる。本明細書において使用している「薬剤学的に許容されるキャリアー」または「生理的に許容されるキャリアー」とは、医薬組成物としての核酸、ポリペプチドもしくはペプチドの送達を完遂させる、または促進させるのに適した1種もしくはそれ以上の材料をさす。「医薬組成物」とは、治療有効量の核酸またはポリペプチドを含む組成物である。「有効量」および「治療有効量」とは、有効な免疫応答を誘起する、または増強させるために使用する核酸もしくはポリペプチドの量をさす。本発明に従う組成物は、宿主内において抗腫瘍免疫応答の誘導または増強をもたらす、それによって、腫瘍の発達から宿主を保護し、ならびに／または現存する腫瘍を身体から排除する。

40

【0055】

経口投与用には、医薬組成物は、カプセル、錠剤、懸濁液、または液体などを含むいく

50

つかの剤型のうちの任意のものにすることができる。液体は、生理食塩水、デキストロース、または水を含む適切なキャリアーを用いた組成物として、注射によって投与することができる。本明細書において使用している非経口とは、皮下、静脈内、筋肉内、胸骨内、灌流または腹膜内投与などを含む。薬物の直腸投与用の坐剤は、カカオ脂およびポリエチレングリコール類（常温では固体だが、直腸温度では液体であるようなもの）などの適切な非刺激性賦形剤と薬物を混合することによって調製することができる。

【0056】

本発明に従う組成物を用いて宿主もしくはその他の対象の疾患または疾病を治療するための免疫化用投与方式は、疾患の型、年齢、体重、性別、患者の医学的状態、状態の重篤度、投与経路および使用する特定の化合物を含む多様な因子に基づいて決まる。例えば、

10

【0057】

ブライム - ブースト法（国際公開第01/30382号）も用いることができ、このとき、標的免疫原は、最初に、ある型で感作段階の投与を行い、続いて、増強段階においては、別の型で投与を行う。感作および増強段階での標的免疫原の型は異なっている。例えば、感作段階で核酸を用いた場合には、増強段階ではペプチドとして投与する。同様に、感作段階で組換えウイルスのひとつの型（すなわち、ALVAC）を用いた場合には、増強段階では、ウイルスの別の型（すなわち、NYVAC）を用いる。この感作 - 増強投与法は、強力な免疫

20

【0058】

本発明に従う組成物は、単一の活性な薬物として投与することができるが、1種もしくはそれ以上の組成物または物質（すなわち、その他の免疫学的標的、共刺激分子、アジュバント）と組み合わせて用いることもできる。組み合わせとして投与する場合には、個々の構成成分は、同時もしくは別の時間に投与する別の組成物として製剤化するか、または、ひとつの組成物として混合することができる。

【0059】

水性または油性の滅菌注射用懸濁液などのような注射用製剤は、適切な分散もしくは湿潤剤、ならびに懸濁剤を用い、既知の方法に従って調製することができる。注射用製剤は、非毒性非経口用希釈剤もしくは溶媒を用いた滅菌注射用溶液または懸濁液にすることもできる。使用可能な適切なビヒクルおよび溶媒としては、水、リンゲル液および塩化ナトリウム等張液などが挙げられる。例えば、ポックスウイルスなどのウイルスベクターは、0.4%のNaCl中で調製する。さらに、滅菌した固定油も、溶媒または懸濁剤として従来から使用されている。そのような用途には、合成モノ - またはジ - グリセリド類を含む任意の商標の固定油を用いることができる。またさらに、オレイン酸などの脂肪酸類も注射剤の調製に使用される。

30

【0060】

局所投与用には、適切な局所投与量の組成物を一日1~4回、好ましくは2~3回投与する。投与量は、投与を行わない日をはさんで隔日投与することもできる。適切な組成物は、製剤の重量に対して0.001~10重量%、例えば、1~2重量%を含有しているが、10重量%までであり、好ましくは5重量%以下であり、より好ましくは、製剤の0.1~1%である。局所投与に適した製剤としては、皮膚を通過する浸透に適した液体もしくは半液体製剤（例えば、塗布剤、ローション剤、軟膏、クリームまたはパスタ剤など）、ならびに、目、耳、もしくは鼻への投与に適した滴剤などが挙げられる。

40

【0061】

医薬組成物は、固体（顆粒、粉末または坐剤を含む）に調製することもできる。医薬組成物は、滅菌などの従来から行われている薬剤学的操作に供することができ、および/または、保存料、安定剤、湿潤剤、乳化剤、緩衝液などのような従来から使用されているア

50

ジュバントを用いることができる。経口投与用の固体投与剤型としては、カプセル、錠剤、丸剤、粉末および顆粒などが挙げられる。そのような固体投与剤型においては、活性化化合物は、少なくとも1種の不活性希釈剤（例えば、ショ糖、乳糖またはでんぷんなど）と事前に混合することができる。そのような投与剤型には、通常行われているように、不活性希釈剤以外の追加物質、例えば、ステアリン酸マグネシウムなどのような滑沢剤なども加えることができる。カプセル、錠剤、丸剤の場合には、投与剤型に緩衝剤を含む。さらに、錠剤および丸剤には腸溶コーティングを施すことができる。経口投与用の液体投与剤型としては、薬剤学的に許容されるエマルション、溶液、懸濁液、シロップ、および、エリキシルなどが挙げられ、当該分野において一般的に使用される不活性希釈剤（水など）を含む。そのような組成物には、湿潤剤、甘味料、香味料および香料などのようなアジュバントを用いることもできる。

10

【0062】

本発明に従う核酸またはポリペプチドを含む医薬組成物は、いくつかの剤型のうちの任意の型にすることができ、いくつかの投与経路のうちの任意の経路で投与することができる。好ましい実施態様においては、組成物を非経口経路（経皮、筋肉内または皮下）で投与し、宿主内で免疫応答を誘導させる。別の方法としては、リンパ節（節内）または腫瘍塊（すなわち、腫瘍内投与）の内部に直接投与する。例えば、0、7および14日目に皮下投与を行う。TA類を含む組成物を用いた免疫に適した方法は当該分野において既知であり、p53（ホルスタイン（Hollstein）ら、1991）、p21-ras（アルモグエラ（Almoguera）ら、1988）、HER-2（フェンドリー（Fendly）ら、1990）、黒色腫関連抗原（MAGE-1；MAGE-2）（ヴァン・デル・ブルッゲン（van der Bruggen）ら、1991）、p97（フー（Hu）ら、1988）、黒色腫関連抗原E（国際公開第99/30737号）および癌胎児性抗原（CEA）（カントール（Kantor）ら、1993；フィッシュバイン（Fishbein）ら、1992；カウフマン（Kaufman）ら、1991）などについて示されている。

20

【0063】

投与可能な組成物の好ましい実施態様としては、例えば、懸濁液、シロップもしくはエリキシルなどのような液体製剤中に核酸またはポリペプチドを含有しているものなどが挙げられる。注射可能な製剤の好ましい例としては、非経口、皮下、皮内、筋肉内もしくは静脈内投与に適した核酸またはポリペプチド、例えば、滅菌懸濁液またはエマルションなどが挙げられる。例えば、組換えポックスウイルスは、滅菌水、生理食塩水、グルコースなどのような適切なキャリアー、希釈剤または賦形剤と予め混合することができる。組成物は、等張性生理食塩水緩衝液などで用時調製する凍結乾燥製剤として提供することもできる。さらに、組成物は、その他の抗悪性新生物剤、抗腫瘍剤もしくは抗癌剤および/または、抗悪性新生物剤、抗腫瘍剤もしくは抗癌剤の副作用を軽減または緩和するような物質と同時に、あるいは続けて投与することができる。

30

【0064】

本発明に従う組成物を含むキットも提供される。キットには、適切なキャリアー、希釈剤または賦形剤を入れた別容器を含む。キットには、同時あるいは順次投与用の、抗悪性新生物剤、抗腫瘍剤もしくは抗癌剤および/または、抗悪性新生物剤、抗腫瘍剤もしくは抗癌剤の副作用を軽減または緩和するような物質を追加することもできる。さらに、キットには、構成成分の混合もしくは調合、ならびに/または投与のための説明書を加えることができる。

40

【0065】

具体例を示した以下の実施例を読むことにより、本発明およびその多数の利点がよりよく理解できるものと思われる。

【実施例】

【0066】

実施例1：多抗原構築体vT416の構築

標準的な技術を用い、ALVACベクター内に発現ベクターvT416（ALVAC-NY-ES0-1/Trp-2-LFA-3/ICAM-1/B7.1-E3L/K3L）を構築した。NY-ES0-1、Trp-2、LFA-3、ICAM-1、B7.1、vvE3

50

LおよびvvK3LをコードするDNA配列をALVACゲノム内の様々な遺伝子座に挿入した。NY-ESO-1(チェン(Chen)ら、1997,PNAS,94:1914)およびTRP-2(ワン(Wang)ら、1996,J.Exp.Med.,184:2207)をコードするDNA配列は、C5遺伝子座に挿入した。LFA-3(ワルナー(Wallner)ら、(1987)J.Exp.Med.,166:923-932)、ICAM-1(スタントン(Staunton)ら、(1988)Cell,52:925-933)およびB7.1(チェン(Chen)ら、(1992)Cell,71:1093-1102)をコードするDNA配列は、C3遺伝子座に挿入した。LFA-3、ICAM-1およびB7.1は、TRICOMという名称で知られている発現カセットを形成する。vvE3L(チャン(Chang)ら、1992,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,89:4825-4829)およびvvK3L(ビーティー(Beattie)ら、1991,Virology,183:419-422)をコードするDNA配列は、C6遺伝子座に挿入した。使用したプロモーターは次の通りである：

10

【表3】

表III

DNA配列	プロモーター
E3L	ワクシニアE3L
K3L	ワクシニアH6
LFA-3	ワクシニア30K
ICAM-1	ワクシニアI3
B7.1	sE/L
NY-ESO-1	ワクシニアH6
TRP-2	sE/L

20

【0067】

プロモーターsE/Lについては、チャクラバーティ(Chakrabarti)らによる記載がある(Bio Techniques,23:1094-1097,1997)。使用したドナープラスミドを以下に示す：

【表4】

表IV

プラスミド	大きさ(bp)	ベクター	抗生物質耐性遺伝子
pMPC6H6K3E3	-	pBS-SK	Amp
pALVAC.Tricom(C3)#33	10,470	pBS-SK	Amp
pT1132	11,154	pBS-SK	Amp

30

【0068】

ALVACドナープラスミドpT1132に NY-ESO-1およびTRP-2のDNA配列を挿入した。次に、標準的な技術を用い、このドナープラスミドをpALVAC.Tricom(C3)#33と共に用いることにより、これらの遺伝子を発現するALVAC-TRICOM組換え体を作出した。プラスミドpALVAC.Tricom(C3)#33およびpT1132を図1に示す。pALVAC.Tricom(C3)#33およびpT1132のDNA配列を図2および図3にそれぞれ示す。

40

【0069】

実施例2：多抗原構築体vT419の構築

標準的な技術を用い、ALVACベクター内に発現ベクターvT419(ALVAC-gp100M/Mart-1/Mage-1,3ミニジーン-LFA-3/ICAM-1/B7.1-E3L/K3L)を構築した。gp100M/MART-1/MAGE-1,3ミニジーン、LFA-3、ICAM-1、B7.1、vvE3LおよびvvK3LをコードするDNA配列は、ALVACゲノム内の多様な遺伝子座に挿入した。gp100M/MART-1/MAGE-1,3ミニジーンはC5遺伝子座に挿入した。LFA-3(ワルナー(Wallner)ら、(1987)J.Exp.Med.,166:923-932)、ICAM-1(スタントン(Staunton)ら、(1988)Cell,52:925-933)およびB7.1(チェン(Chen)ら、(1992)Cell,71:1093-1102)をコードするDNA配列は、C3遺伝子座に挿入した。LFA-3、ICAM

50

-1およびB7.1は、TRICOMという名称で知られている発現カセットを形成する。vvE3L (チャン (Chang) ら、1992, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89:4825-4829) およびvvK3L (ビーティ (Beattie) ら、1991, Virology, 183:419-422) をコードするDNA配列は、C6遺伝子座に挿入した。使用したプロモーターは次の通りである：

【表 5】

表V

遺伝子	プロモーター
E3L	ワクシニアE3L
K3L	ワクシニアH6
LFA-3	ワクシニア30K
ICAM-1	ワクシニアI3
B7.1	sE/L
gp100(M)	ワクシニアH6
Mart-1	ワクシニア42K

10

【0070】

プロモーターsE/Lについては、チャクラバーティ (Chakrabarti) らによる記載がある (Bio Techniques, 23:1094-1097, 1997)。使用したドナープラスミドを以下に示す：

【表 6】

表VI

プラスミド	大きさ(bp)	ベクター	抗生物質耐性遺伝子
PMPC6H6K3E3	-	pBS-SK	Amp
pALVAC.Tricom(C3) #33	10,470	pBS-SK	Amp
pT3217	11,465	pBS-SK	Amp

20

【0071】

gp100(M)、Mart-1およびMage-1,3ミニジーンは、ALVAC C5ドナープラスミドpT3217に挿入した。次に、標準的な技術を用い、このドナープラスミドをpALVAC.Tricom(C3)#33と共に用いることにより、これらの遺伝子を発現するALVAC-TRICOM組換え体を作出した。このドナープラスミドをC5遺伝子座に挿入した。プラスミドpALVAC.Tricom(C3)#33を図1および2に示す。pT3217プラスミドを図4に示す。pT3217のDNA配列を図5に示す。

30

【0072】

実施例3：多抗原ベクターの免疫学的評価

第1回目の動物実験の結果から、ワクチンを2回に分けて接種した場合には、4種類の抗原のうちの3種類 (Mart-1、NY-ESO-1およびgp100) に対しては、高い免疫学的応答を示す傾向が示唆された。しかしながら、これらの差異は、統計的に有意ではなかった。詳細に説明すると、HLA-A2/K^bトランスジェニックマウス (一群5匹) に対し、vT419 (ALVAC(2)-gp100M/MART-1/MAGE-1/3ミニジーン/TRICOM) およびvT416 (ALVAC(2)-TRP-2/NY-ESO-1/TRICOM) を組み合わせて一ヶ所に、または別々に皮下に注射することによって免疫した。対照マウスは、元のALVAC(2)を用いて免疫した。マウスには、3週間間隔で3回ワクチン接種を行い、最終接種の3週間後に、ペプチドを用いてイン・ビトロ (in vitro) で再刺激を行ってから、IFN-gELISPOTおよびCTLアッセイによって各個体のT細胞応答を分析した。対照マウスと比較すると、多抗原ベクターをワクチン接種したマウス (2ヶ所) は、MART-1に対しては、統計的に有意なELISPOT応答を示した。gp100MおよびNY-ESO-1に対するIFN-

40

応答も検出されたが、これらの応答は、応答にばらつきがあったことと、試験に用いた培養数が少なかったことから、統計的に有意ではなかった。TRP-2抗原に対するELISPOT応答は試験を行った全群で上昇していた (対照群を含む) が、これはおそらく、主要ペプチ

50

ドであるA2 - 制限TRP-2ペプチド (180~188) がH-2K^bと交差反応をし、イン・ビトロ (in vitro) での培養後に感受性マウスにおいて、アビジチーの低いT細胞応答を誘導したためと考えられ、故に、統計的に有意ではなかった。興味深いことに、一般的に、vT416とvT419との混合物を注射されたマウスにおけるELISPOT応答は、各ウイルスを別々に接種されたマウスよりも低かったが、これらの差異は統計的に有意ではなかった。CTLデータは、強力な抗gp100応答および境界線上の抗MART-1応答を除いてはほぼ否定的であり、例外の2例は、いずれもvT416とvT419を別々に (2ヶ所に) 投与したマウスで生じたものである。全体的に、前向きなデータが得られたこれらの結果から、多抗原ベクターは、MART-1に対して応答を惹起できることが確認され、さらに、抗gp100および抗NY-ESO-1応答を誘起できることが示唆された。

10

【0073】

黒色腫多抗原であるALVAC組換え体を用いた、さらに2種類の前臨床動物試験が終了している。これらの試験においては、HLA-A2/K^bトランスジェニックマウス (一群5匹) に、vT419 (ALVAC(2)-gp100M/MART-1/MAGE-1/3ミニジーン/TRICOM) およびvT416 (ALVAC(2)-TRP-2/NY-ESO-1/TRICOM) を組み合わせて一度に、または別々に皮下に注射することによって免疫した。対照マウスには元のALVAC(2)を用いて免疫した。ワクチン接種後、ペプチドを用いてイン・ビトロ (in vitro) で再刺激を行った後、IFN- ELISPOTアッセイにより、個々のマウスにおけるT細胞応答を評価した。先に実施した多抗原を用いた実験 (免疫原性が高められるというデータが得られた) とは異なり、最近の2つの実験では、対照免疫マウスにおけるバックグラウンド応答が高かったことから、決定的なデータが得られなかった。故に、全体的な結果は確定できないと判断した。

20

【0074】

多抗原構築体の免疫原性を確認すること、および最初の実験から得られた結果を再現することを目的として、別の前臨床動物実験を行った。HLA-A2/K^bトランスジェニックマウス (一群10匹) に、vT419 (ALVAC(2)-gp100M/MART-1/MAGE-1/3ミニジーン/TRICOM) およびvT416 (ALVAC(2)-TRP-2/NY-ESO-1/TRICOM) を別々に皮下に注射することによって免疫した。対照マウスには元のALVAC(2)を用いて免疫した。gp100、Mart-1およびTRP-2に対しては、統計的に有意な ELISPOT応答が検出され、NY-ESO-1に対しても若干の応答が観察された (これは統計的に有意であるか否かの境界線であった)。

30

【0075】

本発明の好ましい実施態様について記載してきたが、当業者であれば、変形および変更が可能であることは自明である。従って、本発明の範囲に含まれるそのような全ての等価な変形は、請求項に包含されている。

【図面の簡単な説明】

【0076】

【図1】 プラスミドpALVAC.Tricom(#33)およびpT1132の図

【図2】 プラスミドpALVAC.Tricom(#33)のDNA配列

【図3】 ドナープラスミドpT1132のDNA配列

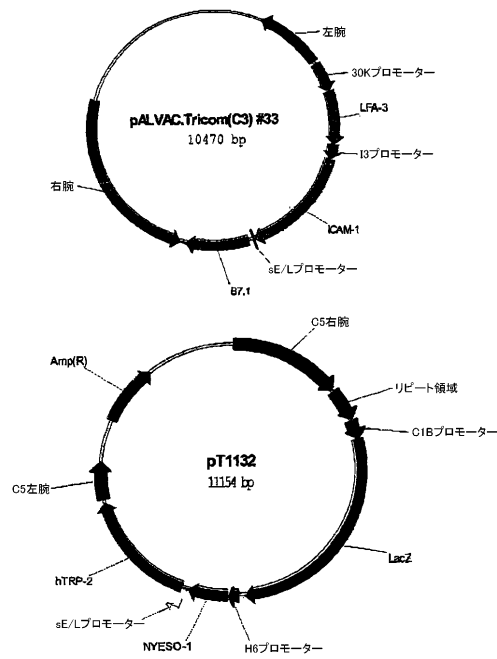
【図4】 プラスミドpT3217の図

【図5】 ドナープラスミドpT3217のDNA配列

40

【図6】 NY-ESO-1、TRP-2、gp100、gp100M、MART-1、MAGE-1、MAGE-3、B7.1、LFA-3およびICAM-1タンパク質のアミノ酸配列 (図6Dにおいて*は同一アミノ酸残基を示す; 図6Jにおいて成熟配列は28番目の残基 (q) から始まる)

【 図 1 】



【 図 2 】

FIGURE 2

DNA Sequence of pALVAC.Tricom(C3) #33

1 GGAAATGTA AACGTTAATA TTTTGTAAA ATTGCGGTTA AATTTTGT
5 CCTTAAACAT TTGCAATTAT AAACAATTT TAAGCGCAAT TTAAGACAA
51 AAATGAGCTC ATTTTATAC CATTAGGCGG AATGCGGCA AATCGCTTAT
TTTAGTCGAG TAAATATTT GTATACGCGG TTAGCGGTTA TTAGGGAATA
101 AAATCAAAAG AATAGACGGA GATAGGGTTG AGTGTGTTT CAGTTTGGAA
TTAGTTTTC TTATCTGGCT CTATCCCAAC TCACACAAAG GTCAAAACCT
151 CAGAGTCCA CTATTAAAGA ACCTGGAATC CACAGCTCAA GGGCGAATAA
GTCTCGAGT GATATTTCT TCGACCTGAG GTTGCAGTTT CCGCTTTT
201 CCGTCTATCA GGGCGATGCG CCACTAGCTG AACCTACACC CTAATCAAT
GGCAGATAGT CCGCGTACCG GGTGATGAC TTGTTAGTGG GATTAGTTCA
251 TTTTGGGGGT CGAGGTGCGG TAAGCAGCTA ATTGCGAAC CTAAGGGGAG
JAAAGCCCA GTCACAGCG ATTCTGAT TTAGCTTGG GATTCTGTC
301 CCGCGGATT AGAGCTTGC GGGGAAGCC GCGACGCTG GCGAGAAGG
GGGGGTAAA TCTGAACTG CCGCTTGGG CCGTTTGCAG CGCTCTTCC
351 AAGGAGAGA AGGAAAGGA GGGGCGCTA GGGCGTGGC AAGCTAGCG
TTGCTTTCT TCGTTTCTT CCGCGGAT CCGGAGACC TTGATCGG
401 GTCACGCTG GGTAAACAC CACACCGCC GCGTTAATG CCGCGTACA
CAGTGGAGC CGCATTTGGT GTGTTGGGG CCGGAAATAC GCGGCAATG
451 GGGCGCTGG CCGCATTCG CATTAGCTT GCGCACTGT TGGGAGGCG
CGGCGGAGC GGGTAAAGC GTAGTCCGA CCGTTGACA ACCTTTCCG
501 GATCGTGGG GCGCTCTTG CTATTAGCC AGCTGGGAA AGGCGGATG
CTAGCGACG CCGGAGAAC GATTAAGGG TGAAGCGCT TCCCGTACA
551 GTTCAAGCG GATTAAATG GGTAAAGCA GGGTTTCCG AGTCAAGCG
CGGCTGCG CTATTGAC CAGTGGCT CCGAAAGG TCACTGCTG
601 TGTAAAGC ACGGCACTG AATTGTATA GAGTCACTA TAGGCGAAT
AACATTTTG TCGCGGTAC TTAACATAT GCTAGTGTAT ATCGCGCTA
651 TGGTACCG GCGCGGTG AATGCACTG TTAGTGTGT AGTCACTAA
ACCATGGG CCGGCGAGC TGTAGCTAAC AATCAAGCA TTAGTCAAT

Left Arm

701 GGTATAGCAT ACGATATAT TTATCTAG TATAGTAT CCTAAATAA
GCAATCTGA TGTCTATAT AATAGCAT ACCATCTAA GATTTTAT

Left Arm

751 ATCTGATACA GATATAGC TTGTAAACA ATTGAGCAT TTCTCTATT
TAGACTATG CTATTATGA ACATTTAGT TAAGTGTAA AAGAGATAA

Left Arm

801 TCAATATAT GATTATACA CAGGCTGCG TTATTTTGT TTACGATAG
AGTACTATA CTATATATG TCGCAGACG AATAAAAC AATGCTATCA

Left Arm

851 ATTTCTAAG TAAAGGAG GATTCCTAG TATAATGAA ATATCCATA
TAAGATTTC ATTTCTGCG CTAGGATC ATATATCTT TATTAGTAT

Left Arm

901 TGAATAAT AGTAACTAC AATTTCTTAA TGTAACTA TTATAGGTA
ACTTTTATA TCAATACAT TATAAGAT ACAATGTAT AATATCCAT

Left Arm

951 AATCCAGAA GGTAACTTT TGTAACTA TATAGCTTA TTACGTTAT
TTAGTCTCT CCAATTAAT ATGATAGAT AATGCGAAT AATGCTATA

30K Pr.

1651 CAACACCAA TATTTCTCT CTCTCACT CCGGCACTAA ATTTGGTATA
GTCTGCTGT ATTAAGGGA GAGAGTAGT GCTGTATAT TAACCATAT

30K Pr.

1701 GATATTAAG ACATGAGAT GTTACAGCT CAGTCAAT ACGACATTA
CTATATTC TATATCTA CAGTCTGCA GACAGTAGT TCGTGTAT

30K Pr.

1751 TATCTATCT CTAATCTGG AATAGTACT ATTGATGAT GCGGAAATG
ATGATAGCA CATTAGAGC TTATACATA TACCTACTA CCGTGTATG

30K Pr.

1801 CTAAATGAT TATAGAAAG CAGTGTGAT ACGATCTGA CTCTATACA
GATCTACTA ATATCTTTC GACAGCTTA TTTTCACTG GAGTATGT

30K Pr.

1851 AAGATCTG ATATAGTAA GATATATA TTGATGAA TATATAGAA
TTTCTAGAG TATATAGAT CTATATAT AATCTATT ATATATGTT

30K Pr.

1901 AATCAAGGA CTAGACTCA TGTACGCTA TTGTGTAAG AAAACATAT
TTGTCTCT GAGTCTGAT AATGCACT AATGAGAT TTTTGTAT

30K Pr.

1951 TAGTCTTCC CAGATTTTG TTACATTA CTAATCAAT TGTAAATAT
ATCTAGGG GTGTAAAG AATGTAAG TATGTATAT AATTTTAA

30K Pr.

2001 GATAGATAA TATGTGAT ATAGATAGA TTCTATTG TCTTACTAT
CTATCTAT AATAGATA TATCTATCT AAGAGTAC AAGATAGTA

30K Pr.

hLEA-3

2051 TGATCTGG GAATTCAGT CAGCTTCCG GCGATGGTG CTGGAGGGA
AGTAGACCC CTAACTCTA GTGAGGCG COSTAACAC GACCTTCTG

Left Arm

1001 TAAAAATATA CTTCACAAA TGTAGAGAT AAAAAGAAA GAACATAAT
ATTTTATAT GAGCGTTGT ACATCTTCA TTTTCTTT CTGATTAAT

Left Arm

1051 TACAAAGTGC TTACACAAA TCCCAATGGA AATTACTTAG TATGATATA
ATGTTCAAG AATGGTTTT AGGTTACTT TTATGATC ATAGATATAT

Left Arm

1101 ATGTATAAAG GTATGATAT CACAAAGCG AATCGGCTA TTCCCAAGT
TACATATTC CATACTATA GTTTTGTG TTAGCGAT AAGGTTCAA

Left Arm

1151 GAGAAAGGT ATATAGATA TATTTCTAGA TACCAATAT AACCTTATA
CTCTTGCCA TATTATCTAT ATAAAGATCT ATGGTAATTA TTGGATATAT

Left Arm

1201 GCTTGAGCTT TCCATATATG CCACTAAGA AACTAGAAG ATACATACAT
CGAAGTCAA AGGATATAT GAGATATCT TTGTATCTTC TATGATATGA

Left Arm

1251 ACTAAGCCA TACGAGATA ACTACATC GTATACTAC TGTGCTAAC
TGATGCGGT ATGCTCTCAT TATGAGTAG CATATTGATG ACAAAGATG

Left Arm

1301 AGTACAGCT ATGTTATAC TCACTTTGA TTGGGTATA ATGTATAAT
TCACTGTGAC TACATATATG AGTAAAGT ACACATAT TACATATAT

Left Arm

1351 ACTATATAC ACTGTATTT TATTTAGT ATATACATA TATGATATA
TGATATATG TGACATATA ATAAAGTCAA TATATGAT ATCATATTT

Left Arm

1401 AATTAATTT GTATATAT ATATTATAT TCACTGAGA AAGTAAATA
TTATATATA CATATTATA TATATATA AGTACATCT TTCAATTTAT

Left Arm

1451 CTATAAATA GTATCTCTA TTTATACAT ACTAGTAAG TATGATAT
GATATTATA CATAGAGAT AATATIGAA TATCATTT ATACATGATA

Left Arm

1501 TCAGTTATAT TGTTTTAAA AGCTAATG CTACTAGAT GATATAAAG
AGTCAATATA ACAAATAT TTGATTTAC GATGATCTAA CTATATTTAC

Left Arm

1551 AATAGTAAT AATTAGTAA TGTAGTATC TATATTAAC TCAGATTGA
TTATACATA TTTATCAT ATACATATG ATTATATG AGTAAACT

Left Arm

30K Pr.

1601 CTATATGCT ATAAAGCC TAGGTAGC GCGGCACTA GAGGTTTGA
GATATAGA TATTTTGGG ATTCAATCG CCGGCTGAT CTCTAAGCT

hLFA-3

2101 CGCGGGGCGG GCGCTGGGGG TCGTCAGCTG GGTCTGCTG CTGCACTGCT
GCGCGCGCGG CCGGACCGCC ASGAGTGGCA CAGAGCGGAC GAGCTGAGCA
hLFA-3

5 2151 TTGGTTTCAT CAGCTGTGTT TCCGACAAAC TATATGGTGT TGTGTATGGG
AACCAAGTA GTGACAAA AGGGTTGTTT ATATACACA ACACATACC
hLFA-3

10 2201 AATGTACTT TCGATGAC AGCATATGCT CTTTAAAG AGGTCTATG
TTACATTGA AGGTATGCT TCGTTTACG GGAATTTTC TCGAGTACG
hLFA-3

15 2251 GAAAAACCA AAGGTAAAG TTCCAGACT GGAATTTTC GATTCAGAG
CTTTTTGCT TTCTATTTT AGCTCTTGA CTTTAAAG CTTAAGTCT
hLFA-3

20 2301 CTCTTCATC TTATAAAT AGGTTTATT TAGACACTGT GTGAGGTAGC
GAAGAGTAG AATATTTTA TCCCAATATA ATCTGTGACA CAGTCCATCG
hLFA-3

25 2351 CTCACTATC ACACCTTAC ATCATGATG GAAGATGAT ATGAATGGA
GAGTATAGA TGTGATGCT TACATCTTA CTTTACTCA TACTTTACT
hLFA-3

30 2401 ATGCGCAAT ATTACTATA CAGTAACTT CTTCTTTAT GTGCTTACT
TAGGGTTTA TATGCTAT GTACTCTAA GAAGAAATA CAGCACTCA
hLFA-3

35 2451 CTTCTCATC TCCCACTA ACTTGTGAT TGACTAATG AAGATTGAA
GAGAGTAG AGGTGTGAT TGACAGATA ACTGATTAAC TTGCTAACT
hLFA-3

40 2501 GTCCAATGA TGTACAGA GCTTACAG AGCATCGAG GACTTATAT
CAGTTAGCT AGTATGCT CTATCTGCT TCGTATGCT CTGATATTA
hLFA-3

45 2551 GTACTCTGG GATTTCTTA TGAGCAATG TAAAGTAA TCAACAGTA
CATGATAGC CTAGAGAT ACTCTTTAC ATTGTATG AGTTGTAT
hLFA-3

50 2601 TATATTATA GATGAATG GATCTTAC AAAAATACA GTGTACTTT
ATAAATAT CTACCTTTA CTAGAGCTG TTTTATGT CATAGAGA
hLFA-3

55 2651 AGCAATAT TATTTATAC AACATCA ATCATTTGA CACCTGAT
TGTATAGTA ATAAATAT TGTATGAT TATATATAT GTTGACATA
hLFA-3

30 2701 CCGAGACAG GTCTCTTCA GACACAGATA TGCACTTATA CCACTACAT
GGTCTCTCG CAGTAACT CTCTCTTAT AGCTTATAT GGTATGTA
hLFA-3

55 2751 TACAGATAT TACACATGT ATGTGCTGT ATATGATGG TATCTGAA
ATCTCATTA ATGTTATCA TACACAGA TATCTTAGC ATAGACTTT

hLFA-3 13 Pe.

2801 TGTACAGAA AACACAGAC AACCAACTCC AATTGATTGG CTGACCGGG
ACACTGTCT TTGCTCTCT TTGTTGAGG TTAACATAAC GAGTGTGACC
13 Pe.

5 2851 AATGTACTAT CTACATAGA AACCCGATC GGTCCCATTT CAATTCAT
TTACATGATA GATCATGCT TTGCGGTAG CGAGGATTA GTATATGTA
13 Pe.

10 2901 TGGACAGGA TAAATATAA CCAGTGTGG TTGCGATTC GGAATCTGT
ACCTGTCTCT ATTTTATTT GTGACCAAC AAACGCTAG GCTTTAGACA
13 Pe.

15 2951 ACATATGCA GTGGTAAAC AAAACATTT TTATCTCAA ATGAGATAAA
TGTATAGCT CACCAATTT TTTTGTAAA ATATAGATT TACTTATTT
13 Pe.

20 3001 GTGAAATAT ATATCATTT ATTAACAATG AATATATTT AGTTTATAC
CACTTTTATA TATAGTATA TATGTTTCA TGTATATAA TCGAATTAG
13 Pe.

25 3051 AATCCGCGG GCTATGGCT CAGACAGCC CGCGCGCGG CTGCGCGAC
TTAGGGCGC CGATACGAG GGTCTCGGG CGCGCGCGG GACGGCGGT
hLFA-3

30 3101 TGTGTCTCT GCTCGGGCT CTGTCCAGG GACTGTGAA TCGCAGACA
AGGACAGA CAGCGCGGA GACAAGGCT CTGACGCTT ACGGTCTGT
hLFA-3

35 3151 TGTGTCTCT CTTCAAAAT CATCTGCC CGGGAGGCT CGTGTCTGT
AGACAGGG GAGTTTCA GTAGAGGG GCGCTCGGA GGCACAGCA
hLFA-3

40 3201 GATGTGAGC ACTCTCTGT ACCAGCCAA GTTGTGGG ATAGAGGCC
CTTACCTGT TGTAGAGAC TGTCTGGT CAACACCGG TATCTCTGG
hLFA-3

45 3251 CTTGTCTAA AAGGAGTGT CTCTGCTG GGAACACCG GAAGTGTAT
GCAAGGAT TTCTCTAC GAGAGCGG CTTGTGCG CTTCTACATA
hLFA-3

50 3301 GATGTGAGC ATGTGAGGA AGATAGCCA CCAATGTGT ATTCAGCT
CTGACTGT TACAGCTCT TCTATGGT GTTACAGGA TAAGTTAG
hLFA-3

55 3351 CCGTGTGGC CAGTACAG CTAACACTT CTTACCGT TACTGAGCT
GGAGTACC GTCACTGT GATTTTGA GAGTGGAC ATGACCTAG
hLFA-3

3401 CAGAGCGGT GAACTGGA CCGCTCTCT CTTGCGAGC AGTGGGAG
GTCTTGCA CTTGAGCT GGGAGGGA GAACTGCG TACCGCTC
hLFA-3

3451 AACCTTACC TACGCTGCA GTTGAGGT GGGGAGCC GGGCACT
TTGGAATGG ATGAGAGT CCACTGCA CCGGTGGG CCGGTGGA

hICAM

3501 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

5 3551 TGGAGATC CCGTAGAG ACACACCGG TCGTGTGGG GAGAGATAC
ACCGCTCGG GCGATCGAG TGTGTGGCT ACACACCTC CTCTGTAGT
hICAM

10 3601 CATGAGACA ATTTCTGT CCGACCTGGA CTGACCTCT GCGCCAGAG
GTACTGTGT TAAAGAGAC GCGCTGACT GAGTGTAGG CCGGGTTCT
hICAM

15 3651 CTGAGATAT TTTGAGGA CTTCTGCGG CTACACCTC CAGACTTGT
CGACTGTAC AATCTGTGT GAGAGCGGG GATGTGAG CTCTGGAGC
hICAM

20 3701 TCTGTGAGC GATCTGCA CACTGTGTA GCGCGGGT CTTAGAGGT
AGGAGGTCT CTGAGGGGT GTTGAAGAT CCGGGGCTA GATCTGAGC
hICAM

25 3751 GACAGGAT GAGCGCTCT CTCTCTGCT GAGGGCTGT TCCCATCT
CTGTGCTCT CTTGAGCA GAGAGGGG CTGCGGCA AGGTCTAGC
hICAM

30 3801 GAGAGGAG GTGAGCTG CAGTGGGT CTGAGCTCT AACCGAGC
CCTCGGCT CAGGTGAG GTGAGCTCT GATCTGAG TCGGGTGT
hICAM

35 3851 TCACTATG CAGACTCT TCTGCGCA AGGCTCAT GATGTGAGC
AGTGTATAC GTTCTGAG AAGAGCGGT TCGAGCTA GTCTACATG
hICAM

40 3901 GCGAGAGC AGAGCTCA CCGCTGAG TGTGATTA TACTGGAA
GTCTCTGT TCGGTGCT CCGCTGAG ACAGCTAT ATGAGCTCT
hICAM

45 3951 CCGAGAGC AGAGCTCA CCGCTGAG TGTGATTA TACTGGAA
GTCTCTGT TCGGTGCT CCGCTGAG ACAGCTAT ATGAGCTCT
hICAM

4001 CCACTGAT TGTGAGC CAGTGGGT CTGAGCTCT AACCGAGC
GTGAGCTA AGCTGCTCT GATCTGAG GTTCTGAG CACTGATCT
hICAM

4051 GTGAGGTG AGGCGCTC TGTGAGC GAGAGCTGT ATGAGGTCT
CACTTACAT TCGGTGAG ATCTGAGT CACTGAGT TACCTGAG
hICAM

50 4101 AGCGAGCA CTGAGCTG CAGTGGGT CTGAGCTCT AACCGAGC
TGGGTGCT GAGCTGCT CCGGTGAG GAGAGCTCT CCGGTGCT
hICAM

55 4151 AGGAGAGC CCGAGCTC TGTGAGC GAGAGCTGT ATGAGGTCT
TCTGTGCT CCGGTGAG AGGAGAGC GTTGTGAG CAGCTGCT
hICAM

hICAM

4201 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

5 4251 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

10 4301 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

15 4351 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

20 4401 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

25 4451 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

30 4501 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

35 4551 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

40 4601 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

4651 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

4701 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

4751 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

4801 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

4851 CAGCTTATAC ACAGAGCA GAGCGGGAG CTTCTGTCT TGTATGGCC
GTGAGATG TGTCTGTGT CTGGGCTCT GAGAGCAGG ACATAGCGG
hICAM

hb7.1		hb7.1	
4901	GGTCAAGT TTTCTGTA AGAGTGGCA CAAGTGGCA TCTACTGGCA CCAGTGTAC AAAGACACT TCTGACCGT GTTAGCGGT AGATGACCGT hb7.1	5601	GTGTACGCC TGATTAAGG CTTCTAGGT TTTGTTTGG GGTCTGAGG CAAGTGGCG ACATATTTT GAAGATGCA AAAGACACT CCGAGTCTT ATTCCTGAG GATCCCGAT TTTATGACT AGTATATCA ATAAAGACA TAAGGAGTCT CTAAGGCTA AAATATCTA TCAATAGTT TATTTTGT hb7.1
4951	AAAGAGAG AAATGTCG TCAATATAT GTCTGAGAC ATGAATATAT TTTCTCTTC TTTTACACG ACTGATCTA CAGACTCTG TACTATATA hb7.1	5701	TACAAGCTAT TCTCTGCTA TCGTACAAA ATGGCAGAA TTTCTGTAA ATGTCGATA ACGAAGCAT AGCAATGTT TACGTCCTT AAACACATT hb7.1
5001	GGCCGAGTA CAGGACCGG ACCATCTTG ATATCACTAA TAACCTCCG CGGGCTCAT GTTCTGGCC TGTAAAGAC GTTAGAGAT ATTGAGAGG hb7.1	5751	ACTAGGAC ATACTGCGA ATGAAGAAA TACTGTAAG GATCATATT TGATCGGTG TAGACCGGT TACTTTTTT ATCATCTTC CTATGATAA hb7.1
5051	ATTTGATCG TGGCTGCGG CCACTGAC GAGGACACAT ACGATGTGT TACACTAGG ACCGAGACG GGTGACTG CTCCGCTGA TGTACACAA hb7.1	5801	TATGGGATT AGATGTTAG GTTCTGGG ATATAGTAA CTGGGCACT ATTACCTAA TCAACATTC CAGGAACCC TATATCATT GACCCGTGA hb7.1
5101	TGTTCTGAG TATGAAAG AGCTTTCAA GCGGAGACG CTGGCTGAG ACAGACTTC ATACTTTTC TCGAAGATT GCGCTTGTG GACGACTTC hb7.1	5851	GTAACTTTT ACGAGTTAG GTTACACTT GATGTTACG ATTAATATA CAATGAAA TCGTCAATC CAATCTAGA CTCAATGTC TAATATAT hb7.1
5151	TGAGTTATC AGTCAAGCT GACTTCCCA CACATGAT ATCTGATTT ACTCAATAG TCAATTTCA CAGAGGAT GTGATCTAA TAGACTGAA hb7.1	5901	TGTTACATA AAATACAGA CAGATCTGA TATTTTCTT CATAPACTC ACATGTTAT TTTATGACT GTCTACACT ATAAAGGA GTATATTGAG hb7.1
5201	GAATTCGAA CTCTATAT TAGAGATA ATTTGCTCA CCTCTGGAG CTTAAGGTT GAAGTATTA ACTTCTAT TAACGAGTT GGAGACCTC hb7.1	5951	TGGATAGC AAATATGAG CATCTGATA GATTGAAA TTTCAAAAG AACCTTATG TTTATCTA GTTACACTT TCAACTTTT AAGTTTTTC hb7.1
5251	TTTTCCAGG CTTCACTCT CTTGGTTGA AAATGAGAA GAATTAATG AAAGGCTCT GAGTGGAGA GAGCAACTT TTTACTCTT CTTAATTAC hb7.1	6001	CAATTAAGT ATCAAGATT ACAGCTAT TCTATAGCT GTAAAGAGA GTTTATGAC TACTTCTAA TGTCTGATA AGATATGAA CATTCTCT hb7.1
5301	CCATCAACG AACATTTTC CAGATCTCG AAATGAGCT CTATGCTGT GATGTTGTT TGTCAAGG CTCTGAGG ATGACTGTA GATAGACAA hb7.1	6051	GATGTTTTT CCTCAGATA AGCTCTTAA ACAGTTGGA GCGAAGGAT CTACAGAAA GAGTCTCAT TCGGAGATT TGTCAACCT GCTTTCTTA hb7.1
5351	ACAGCAACG TGAATTTCA TATGACACC AACACAGCT TCAATGCTT TGTGCTTGT ACCTAAATG ATACTGTTG TGTGCTGTA AGTACAGAA hb7.1	6101	GGCTGTAGT TATGAACTA GAGTATCTG ATGACTTAG AGCCCTAGA CGCGACATA ATACTTTCG CTCAATAGC TACTTAATC TCGGATCTT hb7.1
5401	CATCAAGTAT GGCATTTAA GATGATCTA GACTTCACG TGAATACAA GTATCTATA CTTGTAATY CTCACTATG CTGAGAGTG ACCTTATGT hb7.1	6151	ATGTTCTCG TGAATGCGT ACCCTGTCG AAGGAGCTT TGTGATAT TTACAGACG ACTTACGCA TCGGACAGC TCTCTGATA AACCTATA hb7.1
5451	CCAGCAGA GATTTTTCG GATACCTCG TCCATCTCG GGCATTACC GTTGCTTCT GGTAAAGA CTATGAGG AGGTAGGAC CCGTAAATG hb7.1	6201	CACAGTAT ATCTCTGGA ATCTCTCAT AACAGTGA TATGTAAGG GTGCTCTA TTAGGACCT TAGGAGTGA TGTCTATCT ATACATTC hb7.1
5501	TAACTCAG TAAATGAT TTTGCTGTA TCGTCTGGA CTTACTGCT AATAGATC ATTTACTTA AAGACATAT AGCGAGCT GATAGCGAA hb7.1	6251	AGGAGATG CGAAACAG AACGCTTAA TGAAGTCA GTCCAGTTT TCTGTACA GTTTTGTG TTTGCGGAT ACCTCACTT AACCTATA hb7.1
5551	TGCCCCAGC TGCAGAGA CAGAGGAAA TGAAGATG AGAAGGAAA ACGGGTTGC AGCTCTCTT CTCTCTCTT ACTCTTAC TCTTCTTT hb7.1		Right Arm
6301	AGGGGCCAG AAATACAAG TCTAGTAGG TATTATAGT TATCTAGTA TCCCCTGTC TTTATGTTCA AGATCTTAC ATATATTTC ATAGATCAT hb7.1	7001	TTAGGATAT GTAGATAT AGTATATA TAGATANA TTTATTTTG AATCTATA CAATCTATA TCAATATT ACTTATTTT AAATAAAG hb7.1
6351	TTGGTATA TTTATTAAT AGTATATA TAACATAAA TAAATACAT AAACATATT AAATACATA TCAATATT ATGTTTAT TATTATGTA hb7.1	7051	CATAACAGT ATCTATAAA GGCATTTAA AAATATGTA GTTAGATAT GTATTTGCA TAGATATT CTGTAATTT TATTAACAT CAATCTATA hb7.1
6401	GATACGGTT TTTATAGAA TAAATAGAG ATATATCAT AATGATAT CTATGGCAA AAATATCTT ATTTATCTT TATTATGTA TACTATATA hb7.1	7101	AATAGGTTA CTATATAAT CAGGAGTGC TATAAGAA CAGATGAT TTATGCAAT GAATATTAG TCGCTCAGG ATATTGCTT GTCTACTAA hb7.1
6451	AAATCTCAT TACAGAAAT GAGTATGGA AGCTTATTA ATGACTGCA TTATAGATA ATGGCTTTA CTCAATCTT TCTGAATAT TACTTGAGT hb7.1	7151	TAGTAAAG CCAATACAT CATTGCTAA TTAATAGAG AAAGATGTA ATCATTTTG GGTAAATGA GTAGCAAT AATATCTTC TTTCTACAT hb7.1
6501	TAACTATA AGGATAGAG ATATTAAT TATAGGAT ATACTTAAA ATTGATAT TCAATATCT TATTTTAA TCAATCTAA TATGATTT hb7.1	7201	ACAGACTTC TGTAAATCT AGGAGTGT ATAACTGTA TATGATCTG TGTGTAAG ACATATTGA TCTGACTA TATTGCAAT ATCTACTGAC hb7.1
6551	AATGCAATA CAATACGTA AAATACAT CAACTCTTT GTATTAGCC TTAGTTTAT GTTATGAT TATATAGTA GTTCAAGAA CATAATCG hb7.1	7251	TATGGCAGT CCTTACAT AGCTGTTTC AGTACAGT ATCGAAGCA ATACCGTCA GGTAAATGA TCGACAGAG TGTATTGTA TACTTTGTT hb7.1
6601	GTAGTATT CTGATAGA AATGTAATA TTTATCTAG AACAGTGC CAATCATAA GACTATATCT TACCAATTT AATATATCT TGTGCAAG hb7.1	7301	CAAGACACT TTTAGAAA GATCTAATG TTAATGTTG TAATATCAT GTTTCTGTA AATCTTTCT CTAATATAG AATACAGCA ATTAATAGA hb7.1
6651	CGATATTTA AAATGAAA ATCTCTCTT TCAAAAGCT GGTAGTTAG GCTAATAAT TTTACATTT TAGGAGAGA AGTATTTGA GATCAATC hb7.1	7351	ATAGATACG TTTAAATAT AGCTGTTGA TCTAAAGCA AAATATAGT TTCTATGCG AGATTATTA TCGACAGGT AGTTTGTG TTTGATCTA hb7.1
6701	ATATACAGA AATGCTAAA CTACTATAG ATTCTGGGC TGACATAGA TATTATGCT TTAAGATT GATGATATC TAAGACCGG ACTGATCTT hb7.1	7401	AAACTTATA CTGAGTACG GTACTGATC AAGTTGTA GATTATGTA TTGATATG GACTTACG CATGATATG TTTCAACAT CTAATCTAT hb7.1
6751	CAGATACAT CTGAAATAG TCGTATAT ATTTCTGAT ATAGAACAA GTCTATGTA GACTTTTAT AGGCAATATA TAAGACATA TATCTGTT hb7.1	7451	AACATGTTA TCAATAGT ATAGAAATG AATATATTA TATACTGAT TTGACATA AGTATGTA TATCTTACT TTTATATAT ATATGACTA hb7.1
6801	TAGTCTATA ACTAGATAT TATTAAGAA AGGTTTAT TGTATAGAT ATTCAGTAT TATCTATA ATAAATTTT TCAACATA ACATATCTA hb7.1	7501	GCGATCTAT TATAGGTTG CTATGTAAC GTCTATAAC ATAAAGTTT CCTGATAA ATATACACG GATGATTTG CAGATTTAG TATTTCCAA hb7.1
6851	TCTTTCTAA TTAATAGAT GTACTGATG ATAGATATC TGAATATAT AGAAATTT AATATGTA CATGACATG TATCTATAG ACTACTATC hb7.1	7551	CATCTCTTA TACATGCGG TTAGTTCTAT GAAACAGAA TTTGTAAAC GTAGGAGAT ATGACGCT ATACAGATA CTTTGTCTT AAACATTTG hb7.1
6901	TATAAATAT TTAATAGTT TAAATATG CTAAATATC AAACAGAAA ATATTTATA AATATCTAA ATTAATCTA GAATATATG TTTGATCTT hb7.1	7601	TCTTACTGA CAGGTTGCT TATGTAATG CTAAAGCTA GTTATCTGA AGATGACT GTGCGACA ATGATTTAC GATTTGAT CAATAGACT hb7.1
6951	TTTTGAAC CTGTACAT AGCTATAAA GTAAAGAT ATAGATTTA AAACTTTGA GCGATGTA TCGATATT CTATCTTA TATTAATTT hb7.1	7651	AATATCTCT TACATAAGC TATGTTCT ATAGATTTA ATAAATATA TTATGAGA ATGATTTG ATACATGA TTAACAAAT TATTAATTT hb7.1
	Right Arm		Right Arm

Right Arm
7701 ATTACTTTTA TCTTATATAG CGCACTATAT TCTCTAAAT AATCAAGGTA
TAATGAAAT ASATATATTC GCGTATATT AGAGATTTA TTATGCGCAT

Right Arm
7751 ATACGCTCT AACTTGTCTT AGCTTTTATG ATGACAAGAT AGTATATTAT
TATCGGAGA TTGAACAAA TCGAATAATC TACTGTCTTA TCGATATATC

Right Arm
7801 ATAAATCTTA AATGATGCT AGAATATCT AAAATCTCT AAATAGCTAA
TATATATAT TTACTATACA TCTTATAGA TTTTATAGAC TTATATGAT

Right Arm
7851 TTCAGAGGT TTTATAGTAA ACATGGAACA TATTAACAGT AATAAAGAC
AAGTCTTCCA AATAATCAIT TGTACCTTGT ATATTTGTCA TTATTTCTG

Right Arm
7901 TACTATCTAT AAAAGATCA TCGAATAAG AACTAGATGT TATAACACAT
ATGATAGATA TTTTCTATAG AGCTTTTCT TGTATCTACA ATATTTGTGA

Right Arm
7951 ATAAAGTAA ATCTATATA TCTTTTAACT ATCTTCTCT ACAATAACAT
TATTTCAAT TATGATATAT AAGAAATTA TGAAGAAGAC TGTATTTGTA

Right Arm
8001 AGATCTTATG GTAAAGTCTT TACTATATCT TAGAGTTAAT AAGATACCTG
TCTAGATAC CATTCTAGAG ATGATATAGS ATCTAAATTA TCTATAGSC

Right Arm
8051 CATGTATAG TATATATAGS GAATTAATAC GGAATAATTA ATCATTAGCT
GTACATATC ATATATATC CTATATATG CTTTATATAT TATTAATGTA

Right Arm
8101 TTTCTATAGC ATGACTAAT AGTTAAAGCT GTAAAGAGTA GTAAAGATCT
AAGTATCTG TATCTGATTA TCAATTTGTA CTTTCTCTCT CATCTTAGA

Right Arm
8151 AGGATATATA GGTAGGTATC CTATAGATAT CAACATATA ATAAAGAAC
TCTTATATAT CATACATAGS GATATCTATA CTTTGTATAT TATTAATCTG

Right Arm
8201 TATTAAGTAA TATAGATTA CATTCTGTGA TACGACGCT TTGATACCA
ATAATTAAT ATTACTAAT GTAAAGCAAT ATGATGTGAC AACAATGAGT

Right Arm
8251 GTACTATATA GACTCTACAG TTTTCTTCT TTTAGTACAGS GTAAATCCG
CATCATATTT CTGAGAGTGC AAAACAAGGS AATTAACCTCC CAATTAAGGC

Right Arm
8301 AGCTTGTCT AATCTGTGCT ATAGCTTTT CCGTGTGGA ATGTATATC
TGAACGCTA TTATGACAGC TATGACACAA GAGACACATT TAACATATAG

8351 GCTCACAATT CCACACACAA TATGACGCGG AAGCATTAAG TGTAAAGCCT
CGAGTGTAA GTGTGTGTG ATGCTGCGGC TGTGTTATCT ACATTTCGGA
GGGTGTCTTA ATGATGAGC TACTACTACT TACTGTCTCT GCGTCTACTG
CCGACGSGAT TACTCTACTG ATGATGTGTA ATTAAGCATA CGGAGAGAC
CCGCTTTCC AGTGGGAAA CCGTCTGTC CAGCTGCAAT AATGATCCG

8501 GGGGAAAGG TCAGGCTTTT GGACAGCAG GTGAGCTTAA TTACTTAGC
CCAAGCGGG GGGAGAGGG GTTTGGTAT TGGGCGTCT TCGCTTCTCT

8551 GCTTCTACTA CTGCTGTGCG TGGGTGCTTC GGTGTGGCG AGCGATATCA
GCTATGATAT GAGCAGCGC AGCAGCAGS CCGACGCGC TCGCATAGT
GCTCATCTAA AGCGGTATAT AGGTATATCC ACAGATATAG GGAATATAGC
CGATGAGTIT TCGGCAATTA TCGAATAGG TGTCTATCT CCTATATGCG

8601 AGAAAGAAC ATGTAGSCTA AAGGCGAGCA AAGGCGAGG AACGCTAATA
TCTCTTCTTG TACATCTGTT TCGGTCTGCT TTCTCTCTCT TTGCTATTT
TCCGCGGCAA CGACCGAAA AAGTATCCG AAGCGGGGG ACTCTCTGTA
CACAAAATC GAGCTCTAG TCGAGGTGGS GGAACCGCG CAGGACTATA
GTGTTTCTG CTGAGTCTT ATCTCTACG GTTCTGCTCT GTCGATAT

8751 AAGATACCG GCGTTCGCC CTGGAAGCTC CTTGTGCGC TCTCTGTCT
TCTATGCTC GCGAAGGGG GACTTCTAG GAGACCGCG AGAGGACAG
CGACCTTCCG GTTATACGGA TACTCTGCG CTTTCTCTCC TTGCGAAGC
CTGAGAGGG GATATGCGCT ATGACAGCG GGAATAGGS AAGCTTCTG

8801 GTGGGCTTT CTATACCTC AGCTGTAGG TATCTCATCT CGGTATAGT
CACGCGAAA GATATCGAG TCGACATCC ATAGATCTCA GCGATATCCA
CGTTCCTCC AGCTTGGCT GTGTGACGA ACCCGCGTT CAGCGAGCC
GGAAGGGG TCGACCGCA CACATGCT TGGGGGAAA GTGGGCTGCG

8901 GCTGCGCTT ATCGGTAAC TATCTCTTG AGTCCAGCC GGTATAGCAC
CGAGCGGAA TAGCGATTG ATAGCAGAC TCGATCTCT CGATCTCTG
GACTATCTCG CACTTGGCT AGCTTCTGCG CCGCTCTCT CAGCGAGCG
CTGATAGGS GTGAGCTGCG TCGTACACA TTGCTCATAT GCTGCTCTC

9001 GTATGAGCG GTGCTGAGC AGTCTTGA GGTGCTGCT TACTATAGCT
CATATCTCG CCAGATGCT TCAAGACTT CACACCGGA TTGATGCGGA
ACATAGAGS GAGATATTT GTATCTGCG CTCTGCTAA CGAGTATAC
TGTCTTCTG GTGATCTAA CAGTACAGC GAGACACTT CUGTCAATG

9101 TTGGAAGAA GAGTGTGTA CTCTGATCC GCGAACAATA CACCGTCTG
AAGCTTTTT CTCAACCATC GAGACTAGG CGTCTTCTT GTGGCGAGC
TACGCTGCT TTTTGTGTT CGAGCAGCA GATTACGCG AGAAAAAG
ATCGACACA AAAACAAA CTTGCTGCT CTATCTCATAT GCTTTTCTC
GATCTAAGA AGATCTCTG ATCTTTCTA CGGGCTCTGA GCTCTGCTG

9151 CTAGATCTC TCTAGGAAC TAGAAGAT GCGCCAGCT GCGATCACC
ACCGAAGCT TATATATAG GATTTGCTG ATGAGATAT CAAGAAGAT
TGTCTTCTG GTGATCTCT CTAAGCCG TACTCTAATA GTTTTCTCTA
CTTCACTAG ATCTCTTTTA ATTAAGATG AAGTTTAAA TCAATCTAA
GAAGTGATC TAGAAGAT TATTTTTT TCTAAATTT AGTTATGATT

9201 GTATATAGA GTAACTTGS TCTGACAGT ACCAATGCT AATCAGTAG
CTATATCT CATTGAC AGACTGTCA TGTATAGAA TATGATCTC
CGACTATCT CAGCATCTG TCTATTTGT TCAACCATAG TTGCTGCTG
CTGATAGA GTGCTAGC AGATAAGCA ATAGATATC AACGACTAC
CCGCTCTG TATATATCTA GATATAGGA GGGCTTACA TCTGCGCCA
GAGCGCAC ATCATATAT GCTAGGCT CCGAAGCT AGACGGGT

9301 GTGCTCAAT GATACGCGA GACCGAGCT CACGCGCTC AGATTATCA
CAGCGCTTA CTATGCGCT CTGGTCTGA GTGGCGAGG TCTAATATG
CGATATAC AGCAGCGCG AAGGCGGAG CGAGAGATG GTCTCTCAC
CTATATAG TGTGTGCTG TGTGTGCTG GGTCTCTAC GAGAGCTTG
TTATCTGCG CCATCAAGT CATTATTTA TTGCGGAAA GCTAGATTA
AATAGGCGG AGTATAGTCA GATAATTA AACGCGCTT CGATCTATT
GTATGCTCG AGTATATAG TTGCGAGCT TTGTGCTAT TGTATAGAGC
CATAGAGGS CATATATCA AGCGCTCT ACAGAGGTA ACGATCTCTC
ATGCTGTCT CAGCTCTCT GTTCTGATG GTTCTATCA CCGCTCTC
TAGACCCACA GTGGAGAGC CAACATATC CAGATAGT CGAGGCGAG

8851 CCAACGATCA AGGCGAGTAA CATGATCCG CATGTTGTC AAAAAGGCG
GGTGTGAT TCGCTCAAT GTACTAGGS GTACACAGS TTTTTCGCG

8901 TTAGTCTCTT GGTCTCTCG ATCTGTGTA GAGTAAAT GTGCGAGG
AATGAGGA CCGAGGAGC TAGCAACAT CTTCATTAA CCGGTCTAC
TATCACTCA TGTATATCG AGACTGAT ATCTCTCTTA CTGCTATCC
AATATGAT ACCAATACG TGTGAGCTA TTAGAGAT GACATACCG
ATCGTAAAG TCTTTTCTG TACTGTGTA GTACTCAC AAGTCACTCT
TGTGATCT AGGAAAGC ATGACACT CTTGATGTT TCGATAGA
GAGATATG TATGCGGCA CCGATGCT CTGCGCGG CTAATACCG
CTCTATCAC ATAGCGCGT GGTCTACGA GAGCGGCG CAGTATGCG
GATATAGCG CCGCATATG CAGACATTA AAGTGTCTA TCAATTGAAA
CTATATGCG CCGGTATAT GTCTGAAA TTTCAAGCT AGTAACTTT
AGCTTCTCG GGGGAAAAC TCTCAGAT CTATCGCTG TTGAGATCA
TGCAGAGCG CCGGTCTTG AGATTTCTC GATGCGAG AACTGTAGT
GTGATGTA ACCACTGCT GACCCACT GATCTCAC ATCTTTTACT
CACTACTAT TCGGTGAGC CCGGTGTA CTGAGTCT TAGAAGTA
TTACAGCG TTTCTGGGT AGCAAAACA GGAAGCAGA ATGCGGAAA
AAGTGTGCG AAGACCGAC TGTCTTTCT CTTTCTCTT TACGCGTCT
AAGAGGATA AGGCGAGC GGAATGTTG AATACATA CTCTCTCTT
TTCTCTTAT TCGCTCTCT CTTTACAG TTATGATAT GAGAGGAA
TTCAATATA TGAAGCAT TATCAGGTT ATCTCTCAT GAGCGGATC
AAGTATAT AACTCTGTA ATAGTCCAA TACAGAGTA GTGCTGATG
AATTTGAT GTATTAGA AAAAACAATA ATAGGCTCT CCGCACAT
TATATCTA CATATCTT TTTATTTGT TATCCAG GCGCTGTA
TCCCGAAA GTGCCACTG AGGGCTTT CAGGTGAC

【 3 】

FIGURE 3: Donor plasmid p132

C5 Right Arm
1 TGAATGTAA ATGTATATC TTGATGAG CATATATAT GATTTGAAA
ACTTAAAT TCAATATGA AACTTATCT GATATATTA CTGACCTTT
C5 Right Arm
51 AATATCTAT TTAAGAGG GATTCATTA CTACAAATC TATGCGATA
TATAGGTA AATTTCTT CAGATATAT GATGTTTGG ATGCTGATTT
C5 Right Arm
101 TATGTAATC AGCTTATC TTACAGCG TTAATATA CAAATATAA
AATCATGA TCGATATAG AATGCTGCG AATTTATAT GTGTTTNTT
C5 Right Arm
151 CATATTTT TATATATTA ACAAATATC AATCATAT AATATATAA
GATTAATA CATATGAT TTTTATGTA TTTTATTT TATATTTT
C5 Right Arm
201 GGAATGTA TATGATAT ATTTTATG GGAATGAGT TATATATTA
CTTATAT TATGATTA TAAATAGT CTTTCCCA ATTATATAT
C5 Right Arm
251 TATGATATC AATCTATC TATATATC TACTTTTAC AATATATTT
ATAGTGTCA TATATATG AATATATC ATGAGATAT TATATATTA
C5 Right Arm
301 TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
C5 Right Arm
351 TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
C5 Right Arm
401 TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
C5 Right Arm
451 TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
C5 Right Arm
501 TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
C5 Right Arm
551 TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
C5 Right Arm
601 TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
TATGATATC TATGATAT TATATATC TATATATC TATATATTA
C5 Right Arm

C5 Right Arm		C5 Right Arm	
651	AGATTACTAT AATCTTTTG TATCTATTA TTCCGTAAAC TATATTAAC TCTAATGATA TTGAAAAAC AATGAAATAT AAGGCATTG ATATATATAG C5 Right Arm	1301	GAATATTTGA AATATGAGC ACATCTCTA AAAAAATAA AATGTCAGA CTTATAACT TTATACATG TGATGAAAT TTTTITAT TACAGAGCT C5 Right Arm
701	ATGAGAAAA TGAAAAAGT TGAAGCTGT TCGAGGCGG TTGTGAAAA TACTTCTTT ACTTTTTCAT AATCTGACA AGTGTGCGC AACAACTTT C5 Right Arm	1351	ACTGGAAAA ATTGATCTG CCGCTGTAA TTCTGGTAG AAAAAAGTG TGACCTTTT TACTAGAAC GGTCACAT AAGTACCAT TTTTCTTAC C5 Right Arm
751	CAACAAATAT ATACATTCA GATGCTTAC ATATAGCTT GTAGGCTAT GTGTGTTTA TATGTAAGT CTACCGAGT TATATGAGA CACTCGATA C5 Right Arm	1401	CTCAGCTAC TTTTCAACA AGAGGAGAT GTAACTACA TCTTTGAAG GAGTCGATG AAGATGCTT TCTGTCTA CATTGATGT AGAACTTTC C5 Right Arm
801	CATGATAAT GACATGAT CTCTAATAG GTTTTGGAC AATGATTCG GTACTATTA CTGTACCTA GAGTTTATC CAARACCTG TTACCTAGC C5 Right Arm	1451	AATGAAAA TCATATAGT TTTTGAAT GATTAAAGA AGTACTCTG TTACTTTT AGTATGAC AAAACTTAA CTAACTTCT TCAATGAGC C5 Right Arm
851	ACCTAACAC GGRATAGCT ACTCTAAT CTCTCTTGA AATGGCTGA TGGATTTGT CTTTATACA TGAATGTTA GAGGAACT TTACCGACAT C5 Right Arm	1501	AGCACAAA GAGTAGCTG AATGGTACT CTCAAGATA CGTACTAT TCTGTGTTT CTCAATGAC TTCAACATG GAGTTTCTT TCAATGAGC C5 Right Arm
901	ATGTCAGA ATACGAGGC TATAAAAATC TTGATGAGT ATGAGCTAA TACAACTCT TATGCTGCT ATATTTTAG AACTACTCA TACCTGATT C5 Right Arm	1551	TAGCTATAA AAGATCGGC CGCTCTAGA CTAGTGAAT GGTCTCTTA ATGATATT TTCTAGCGC GCGATGCTT GATCAGCTAG CCGAAGAA Repeat Region
951	ACCTGAGT ACTGATGCA CAATCTCTG TCTGATGAT GCGGTGTTG TGGATCAA TGAATCTCT GTTGAAGAC AGAGCTACTA CGCACACT C5 Right Arm	1601	TTCTATCTT AAAAGTGAA AATAAATAA AAGTCTCTG AAGGTGTGT AAGATGAA TTTTCTACT TTATTATGT TTCCAAGAC Repeat Region
1001	GAGAGACTA CAATAGCTG AAGATCTGT TGAAGATAA CTATGTAAC CTGCTGAT GTTTATGAC TTCTAGACA ACTCTTAT GATATCTTG C5 Right Arm	1651	TAAATGAAA CGAGAAATA ATCAATAAT ATTCTATAT CGCATATCC ATTTACTTT CGCTCTTAT TAGTATTA TAAATATA GCGTATAGG Repeat Region
1051	AATGTTCTT ACAGCGAGG CTTACTCTT TTGTGTTTG CAGCTTACT TACAGAAA TGTGCTCTT GATGAGGA AGCAAAACC GTGAAATGA C5 Right Arm	1701	GTAACTTGT TATGCTACG CGATCCCGC AGCATGAGC GCGAAGCG CAATCAAC ATAGCATGCG CTAGAGGAGC TCGTATGCT CAGCTTCCG Repeat Region
1101	TACAAAGTT AATTTGTTA AACTCTTAT GCTCATTCG CGGATGTAG ATTGTTCAA TTAACACTT TGAAGATA CGAGTAAGC CGCTTACT C5 Right Arm	1751	GGGACACAG GGTTCGAGC GCGATGCTG ATGCGCAGC AGGCTCTGC CGCTGCTCC CCAAGCTGC CGCTAGAC TACGCGTCC TCGGAGCG Repeat Region
1151	ATATTTCAA CAGGATGCT TTAATCTCT TCAATATAG CGTATCAAT TATAAGTT GTGCTCTCT AATGAGGA AGTATATCG GATATGTTA C5 Right Arm	1801	ATCTGATG GCCAGGGGG CAATGCTGC GCGCAGAGC AGCGAGTGC TAGAGCTAG CGGTCTCCG GTAGCAACG CGGCTCTCT TCGCGCAG Repeat Region
1201	AAAAATTTA CAATGTTAT ACTCTTATG ACAAAGTGC CTGATCTGA TTTTAAAT GTTACCAAT TGAAGTAC TTGTTTCCG GACTATGCT C5 Right Arm	1851	CAGCGCGCG AGAGTCTCC GCGCGAGG GCGACAGG GCTCTGCGG GTGCGCGCG TCTCGAGGG CGCGCTCTC CGGTGTCTC GCGAGCGCG Repeat Region
1251	CTTGCTGAT AACATGCTG GTACTCTTT AATGATGCT GTACATCTG GAGAGCTA TTGATCTTA CATGAGGAA TTCTAGCA CATGTAGAC C5 Right Arm	1901	CAGAGGAGG CGCGCGCGG GTCTGATG GCGCGCGG CTGAGAGCT GCGCTCTCC GCGCGCGCG CAGCGCTCT CCGCGCGCG AAGTCTGCG Repeat Region
1301	AGATGATCT GAGATGCGG GCGCAGGGG CCGGAGAGC GCTCTCTGA TTACTTACA CTCTAGCGC CGGTCTCCG GCGCTCTCG GCGAGAACT C5 Right Arm	1951	AGATGATCT GAGATGCGG GCGCAGGGG CCGGAGAGC GCTCTCTGA TTACTTACA CTCTAGCGC CGGTCTCCG GCGCTCTCG GCGAGAACT C5 Right Arm
Repeat Region		LacZ	
2001	GTCTACCTC GCGATGCTT TCGGACAGC CATAGCTTGA TATGAAATC CAGATGGAG CGGTACGAA AGCGCTGCG GTATGACTT ATAGCTTAG CIB promoter	2701	AATGTTGAT AAGCTGCGT ACAGGAGGC GAGACGGA TATTTTGA TTACTTACA TTCTAGCGC TGTCTTCCG GTCTGCGCT AATAAACT LacZ
2051	TAGGCGGATC CACTGATCT AGAGATAT TATTAAAGT AATCTAAGT ATCCCTGAT GATGACAGA TCTCTAGTA ATAAATGCA TTTGATTAC CIB promoter	2751	TGCGTTAAT TCGCGTTTC ATCTGCTGT GAGCGGCGG TGGTCTGTT ACCGCATGT AGCGGCAAG TAGACACAC GTTGGCGCG ACCACGCA LacZ
2101	GAAAGCTAT TTACAGTAC ATAGCTGTT TTTCTGAAAT CAATGATTC CTTTGATA AATGCTCAT TATGACAGA AAGACCTTA GTTATCAG CIB promoter	2801	AAGCGAGGA CAGTCTGTT CGCTGATAT TTGACCTGAG GCGATTTTA TGCGGCTCT GTACCAACG GCGAGCTTA AACTGATCT GCGTAAAT LacZ
2151	TGATTTGAG GATTTTACA ATACATAAT GACAGCTTA ACTGTAATA ACTAAACTC CTAAATAGT TATGTTATA CTGTAGCAT TGACATTTT CIB promoter	2851	CGCGCGGAG AAGACGCGT CGCGGATG GTCTGCTGT GAGTGAAGG GCGCGGCTC TTTTGGGGA GCGCATAC CAGCGAGCA CTTACTGCC LacZ
2201	AAGAAAGCA ACAATATCA TGGCTAACA TTTTATAT ATTTGATGA TTCTTCTGT TGTATAGT ACCGATGTT AAAAAATA TAAACATCT CIB promoter	2901	CAGTATCTG AAGATGAG ATATGCGG GATGCGGCG ATTTTCTGT GTCAATAGC CTCTATGTC TATACAGCG CTACTCGCG TAAAGGAC LacZ
2251	TGCAATGCT TCTTATGCT TCTTATTA AAGTAAAT GTTAAATTA ACATATCAC AAGATGCA AAGATTAAT TTCAATACA CAATCTAT CIB promoter	2951	AGTCTGCTT GCTGATATA CGCATACA AATACGGA TTTCTATGT TGACAGCAA CAGCTATTT GCTGATGCT TTTATGCTT AAGATACA LacZ
2301	AATGAGTAA TTGATGCGC CATGATGCG GAATTCAGT GCGCTGCTT TTACTCATT AACTAGGGG GTAGTACG CTAAATGAC CCGAGACAA LacZ	3001	GCACTGCTT TTAATGATA TTTCAGCGC GCTGATGCT AGCTGATGT CGTGAAGA AATATGACT AAGTGGCG CAGATGAC TCGATCTCA LacZ
2351	TACAGCTGC TGAATGGA AACCTGCGG TTACCAACT TATGCGCTT ATGTTGAGC ACTGACCTT TTGACGCGC AATGCGTTA ATTACGGA LacZ	3051	TGAGATGCT GCGAGTCTG GTGATGCTT ACAGGTAACA GTTCTTTAT AGCTACAGC CGCTGATG CACTGATGA TGCCATGCT CAAGAAATA LacZ
2401	GCAGCATAC CCGCTTTCG CAGCTGCGT AATAGGAG AGCGCGGAC CGTGTGATG GGGGAAAGC GTGACAGCA TTATGCTTC TCGGCGGT LacZ	3101	GCGAGGCTA AAGCAGCTC GCGAGGGA CCGCGCTTT CCGCGTGA CGTCTCAT TTGCTCAG CGCTGCGCT GCGCGGAA GCGCGACT LacZ
2451	CGATGCGCT TCGACAGT TCGGAGCTT GAATGCGGA TGGCGCTTG GCTAGCGGA AGGTTGCTA ACGGTGCGA CTACCGCTT ACCGGAAC LacZ	3151	ATTATGATG AGCTGCTG TTATGCGAT CCGCTCAC TACGCTGAA TAAATGATC TCGACACAC AATAGGCTA GCGCATGCT ATGACAGTT LacZ
2501	CTGCTTTC GGCACAGA GCGGTGCGG AAGGTGCT GAGTGGAT GGACAAAGC CGTGTCTT GCGACGCGC TTGACGGA CTTCAAGCTA LacZ	3201	CGTGAAGAC CGAACTGT GAGCGGGA AATCCCGAT CTCTGCTGT GAGCTTTTG GCTTTTACA CCGTGGCT TTAGGCTTA GAGATGAC LacZ
2551	CTTCTGAGG CGATATGCT GGTGCTGCC TGAATGCG AGATGAGG GAAGACTCT GCGATGACA GCGAGGCG AGTTTACCG TCTAGTGC LacZ	3251	CGTGTGTTA ACTGACAC GCGAGGGA CCGTATGA AGCAGAGCC GCGCAACT TGAATGCTG CGCTGCTGT GCGATGCT TCGTCTCG LacZ
2601	TTAGATGCG CCAATATCA CAAAGTCTG CTATGCAAT ACGTCAAT AATGATCG GGTATGCT GTTGCAGT GATAGGTA TGGCATTAG LacZ	3301	TGAGATGCT GTTCTGGA GTTGGATG GAAATGCT TGTCTGCT AGCTACAG CAGAGGCT CAGAGGCT AATGAGCT CTTTACAG ACGAGCA LacZ
2651	CGCGCTTGT TCGACAGG AATGAGCG GTTGTACT GCTGATAT GCGCAAGCA AGGCTGCT TTAGCTGCC CAACATGAG CAGTGTAA C5 Right Arm	3351	GAGCGGAG CCGTGTGTA TCGAGGCT TAACGCTAC GAGCTCAT CTTGGCTGT GCGAGGCT AAGTCTGCA ATTGCGAGT CTGCTAGTAC C5 Right Arm

		LacZ				LacZ	
5	3401	CTCTGACGAG	TCAGGTCATG	GATGAGACGA	CGATGTGCGA	GGATATCTCG	ATCGGCGCTG
		GAGAGCTGAC	ATCCACATGT	CTACCTGCTCT	GCTACACGAT	CGTATAGGAC	LacZ
10	3451	CTGATGAGAC	AGAACACAT	TAAGCGGCTG	CGCTGTTGCG	ATTATCGGAA	GACTACTCTG
		TCTTTGTTGA	ATTGCGGCGC	GAGACAGCGG	TAAATAGGCT	LacZ	
15	3501	CCATCGGCTG	TGATACACCG	TATGCGACCG	CTACGGGCTG	TATGTGTGCG	GTAGGCGGAC
		ACGATGTGCG	AGCGGCTGCG	GATGCGGCGC	ATACACACCC	LacZ	
20	3551	ATGAGGCCAA	TATTGAACG	CACGGGATGCG	TGCGATGAAA	TGCTCTGACC	TACTGTGGTT
		ATATCTTTGG	GTGCGCTACG	ACGGTACTCT	AGCAGACTGG	LacZ	
25	3601	GATGATCCGC	CGTGGCTACC	GCGATGACCG	GACGCGGTAA	CGGAAATGGT	CTATAGGCGG
		CGACGATGCG	CGCTACTCTG	CTTGCGCAT	CGCGTTACCA	LacZ	
30	3651	GCACGCGGAT	CGTAATACCG	CGATGTGAT	CACTGTGCTG	CTGGGGAATG	CGTGGGCTTA
		CGTGGGCTTA	CGTATAGTGG	CGTACACGTA	GACGCGGCGG	GAACCGCTTAC	LacZ
35	3701	AATGAGGCCA	CGCGCTTAAT	CACGACGCGC	TGATGCTGCG	GATCAAACTC	TATGTGCGGT
		CGCGGCTTA	GTCTCTGCGG	CAATAGCGAC	CTAGTTTAGA	LacZ	
40	3751	GTGATGCTTT	CGCGCGCGGT	GCATGATGAA	GCGCGGCGAG	CGGACACCGC	CACCTAGGAA
		GCGCGGCGAA	GCGCGGCGCA	GTCTACTCTT	CGCGGCGCTC	GGCTGTGGTG	LacZ
45	3801	GGCACCGGAT	ATTATTTGCG	CGATGTACCG	GCGCGTGGAT	GAAGACCGAC	CGCGTGGCTA
		TATATAGGCG	GTCTACTGCG	CGCGGCGCTA	CTTCTGTGCG	LacZ	
50	3851	CGTTCGCGCG	TGTGCGGAAA	TGTGCTACCA	AAAAATGGCT	TTCGCTACCT	GGAAGGCGCG
		ACGCGGCTTT	ACGATGATGT	TTTTTACGGA	AAGCGATGGA	LacZ	
55	3901	GGAGACGCGC	GCGCGCTGAT	CGTTTGGGAA	TACGCGCGCG	CGATGGGTAA	CGTCTGCGCG
		CGCGCGGCTA	GGAGACGCTT	ATGCGGGTGC	GCTACCGCTT	LacZ	
60	3951	CAGCTTGGCG	GGTTTGGCTA	AATATGCGCA	GCGCTTTCGT	CAGTATCCCG	GTGAGACGCG
		CGGAGACGCG	CGGAGCGGAT	TATGAGCGGT	CGCGAAGCGA	GTGATAGGGG	LacZ
65	4001	GTATACGAGG	CGCGTCTGCT	TGCGGATGCG	TGATGACGCT	GCTGATTAAT	CAATGTGCGG
		CGCGGATGCG	CGCGGATGCG	ACGCTGCGCG	ACGATGACG	CGGATTAAT	LacZ
70	4051	TATGATGAAA	ACGCGACCGC	GTGCTGCGCT	TACGCGGCTG	ATTTTGGCGA	ATGATCTCTT
		TGCGGCTGCG	CGCGGATGCG	ATGCGCGCGC	TAAACCGCT	LacZ	
75	4101	TACGCGGAGC	GATGCGGAGT	TCTGTATGAA	CGGCTGTGCT	TTCGCGGACC	ATCGGCGCTG
		ATCGGCGCTG	CTAGCGGCTA	AGCATACTCT	GCGAGACCGG	AAACGCGGCG	LacZ
80	4151	GCACGCGGCA	TCCAGCGCTG	ACGAGAGCAA	ACACACGAGA	GCAGTTTTTC	CGTGGCGGCT
		CGTGGCGGCT	AGGTCGCGCG	TGCTTCTGTT	TTGTGTGCTG	CGTCAAAAAG	LacZ
85	4201	CAGTTCTGCT	TATCGGCGCA	AACCATCGAA	GTGACGACCG	AATACCTGTT	GTACAGGCAA
		ATAGGCGGCT	TTGATGCTG	TTGATGCTG	TTATGATGCT	TTATGATGCT	LacZ
90	4251	CGCTCATGCG	GATACGAGCG	TCTGTGACGT	GATGTGCGCG	CTGATGCTGA	GGCAGTATCG
		CTATTGCTG	AGGACGTGAC	CTACACCGCG	GACCTACCAT	LacZ	
95	4301	AGCGCGTGGC	AGCGCGTGA	GTGCTCTGCG	ATGTGCTGCT	ACAGGCTTAA	TGCGGAGCGG
		TGCGGAGCGG	TGCGGAGCTT	CACGAGACCG	TACAGGAGCG	TGTTCTCATTT	LacZ
100	4351	CAGTTGATTT	ACTGCGCTGA	ACTACGCGAG	CGGAGAGCGG	CGGCGCAACT	GTCACTAAC
		TTGAGCGGCT	TGATGCGGCT	GCGCTCTGCG	GCGCGGCTGA	LacZ	
105	4401	GTGCTGACA	GTACGCGTAG	TGCAACCGAA	CGGAGCGCGA	TGCTCAGAGG	GACCGAGTGT
		CATGCGCATC	ACGTTGCTTT	GCGTGGCTGT	ACGATGCTTC	ACGATGCTTC	LacZ
110	4451	CGCGGACAT	CAGCGCGTGG	CAGCGTGGCG	GTCTGCGGGA	AAACCTCAGT	GGCGCGGCTA
		GTGCGGAGCG	GTGCTGCGCG	GCGGAGACCG	GCGGAGCGCG	TTTGGAGTCA	LacZ
115	4501	GTGACGCTCC	CGCGCGGCTG	CGCGCGGCTG	CGCGCTCTGA	CGACGCGCGA	CGCTGCGGCG
		CGCTGCGGCG	GGCGGCGGCG	GGCGGCGGCG	GGCGGCGGCG	GGCGGCGGCG	LacZ
120	4551	AATGATTTT	TGATGCGAGC	TGGGTAATTA	CGTTGCGGCA	TTTAAACCGC	TTACTTAAAT
		TTACTTAAAT	ACGATGCGCG	ACGCTTATTT	CGCATCGGTT	AAATTTGGGG	LacZ
125	4601	AGTCAAGCTT	TCTTTCACAG	ATGTGGGATT	CGGATGAGAA	ACACCTGCTG	TGATGCGGCG
		TGATGCGGCG	AGAAAGGTGT	TGATGCGGCG	CGGATGAGAA	CGGATGAGAA	LacZ
130	4651	ACGCGGCTGC	GGATGCGGCT	CACCGGCGCA	CGGCTGAGTA	ACGATGAGTA	TGCGGAGCGG
		TGCGGAGCGG	CGGATGAGTA	GTGCGGAGCG	GGCGGCGGCG	GGCGGCGGCG	LacZ
135	4701	CGTAAATGAA	CGGACCGCGA	TTGACCGTAA	CGGCTGAGTA	CGGCTGAGTA	CGGCTGAGTA
		CGGCTGAGTA	CGGCTGAGTA	CGGCTGAGTA	CGGCTGAGTA	CGGCTGAGTA	LacZ
140	4751	AGCGCGGCGG	CGATGAGCGG	CGGAGAGCGG	CGGCTGAGTA	CGGCTGAGTA	TGCGGAGCGG
		TGCGGAGCGG	CGGAGAGCGG	CGGCTGAGTA	CGGCTGAGTA	CGGCTGAGTA	LacZ
145	4801	GATACACTTG	CTGATGCGGT	GCTGATGAGC	ACCGCTGCGG	CGTGGCGGCA	CTATGTGAGC
		GACTATGAGC	GACTATGAGC	CGATGATGCG	TGCGGAGCGG	GGCGGCTGCT	LacZ
150	4851	TCAGGCGGAA	ACCTTATTTA	TACGCGGAAA	AACCTTATTTA	ATTGATGCTA	AGTCCGCTTT
		TGATGAGTAA	AGTCCGCTTT	TGATGAGTAA	AGTCCGCTTT	TGATGAGTAA	LacZ
155	4901	GTGCTGAAAT	GGGATGAGC	GTGATGCTG	AGTGGCGGCG	CGATGAGCGG	CACGAGTTTA
		CGGATGAGC	CGGATGAGC	CGATGAGCGG	CGATGAGCGG	CGATGAGCGG	LacZ
160	4951	CATCGCGGCG	GGATGAGCGT	GATGCGGCGG	CTGCGGCGCG	TAGCAGAGCG	GTAGCGCGCG
		CGTACGCGCG	CTGACGCGCG	GACGCGCGCG	ATGCGTCTCG	LacZ	
165	5001	GCTAACTGCG	CTGCGGAGCG	GGCGGAGCGG	AACTATGCGG	GACGCGGCTA	CCATTGAGCG
		GAGCGGAGCG	CGGCGGCTTT	TTTATGAGCG	CTGCGGAGCG	CTGCGGAGCG	LacZ
170	5051	CTGCGGCGCG	TTTATGCGCG	TGGGATGCTG	CACTGCGGCG	CATGATGAGC	GACGCGGCGG
		AACTATGCGG	AACTATGCGG	AACTATGCGG	AACTATGCGG	AACTATGCGG	LacZ
175	5101	CGGATGCTCT	TGCGGAGCGA	AAAGCGGCTG	CGGCGGCGCG	CGCGGAGGAT	GGCATGCGAG
		AGGCGGCGCT	TTTGGCGAGC	GCGAGCGGCT	GCGCGGCTTA	LacZ	
180	5151	GAATTAAGCG	CGGATGAGCG	GGCGGCGGCG	CTTCACTGCG	AACATGAGCG	CTTAATAGCG
		GGGATGAGCG	CGGCGGCGCT	GAGGCTGAGG	TGATGAGCGG	LacZ	
185	5201	GGTACAGTCA	ACGAGCAATTG	ATGGAACCGA	GCGATGCGCG	ATCTGCTGCA	CGATGAGCGT
		TGCTGAGTAC	TACCTTTGCT	CGTATGCGCG	TAGAGAGCGT	LacZ	
190	5251	CGCGGAGGCG	GCGATGCGCT	GATATGCGCG	GGTTTGCATA	TGGGATGAGG	GCGGCTTCTC
		CGTATGCGCG	CGTATGCGCG	CGTATGCGCG	CGTATGCGCG	CGTATGCGCG	LacZ
195	5301	TGCGGAGGCG	TCTGAGGCGC	CGTATGCGCG	GCGGATGCGG	CAGTGTAGCG	ACCGTCTGCT
		AGGAGCTGCG	GCGATGAGCG	CGGCTTATAG	GTCGACTGCG	LacZ	
200	5351	CGGCTGCGTA	CGATTAACCG	TGCTGCTGCT	GTCAAAAATA	ATAATAGCGG	GGCGAGCGAT
		GGCGAGCGAT	GGCGAGCGAT	GGCGAGCGAT	GGCGAGCGAT	GGCGAGCGAT	LacZ
205	5401	GGCGAGGCGG	ATCGGAGCGT	TATGCGAGAT	CACTTGCATA	TGAGCTTAT	CGCTGCGCGG
		TGAGCTTAT	TGAGCTTAT	TGAGCTTAT	TGAGCTTAT	TGAGCTTAT	LacZ
210	5451	CGTACCGCTC	GACGCTATCG	ATAAGCTCTA	GTGCGGCTTT	CTTATTTCTA	GCTATGCGCG
		CGTACCGCTC	CGTACCGCTC	CGTACCGCTC	CGTACCGCTC	CGTACCGCTC	LacZ
215	5501	TACTTAAATA	GTGAAATATA	ATACAAAGGT	TCTTGGGCTG	TGTTTAAAT	ATGATTTTTT
		CACITTTTTT	TATGTTTCCA	AGAACTTCCA	ACACATTTTA	H6 Promoter	
220	5551	TGAAGCGGAG	AAATATATCT	AAATATATCT	AAATATATCT	AAATATATCT	AACTTGTGTA
		AACTTGTGTA	AACTTGTGTA	AACTTGTGTA	AACTTGTGTA	AACTTGTGTA	LacZ
225	5601	GTGTTATGCG	TACCGCGCGG	GGCGGAGCGG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG
		CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	LacZ
230	5651	GGGCTGCGAG	GGGCGGAGCG	GATGCGGCGG	GAGGCGGCTG	CATCTGCTGCT	CGGCGGAGCG
		CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	LacZ
235	5701	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG
		GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	LacZ
240	5751	CAGAGCTGCG	CGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG
		GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	LacZ
245	5801	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG
		GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	LacZ
250	5851	TGAGATGCGG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG
		GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	LacZ
255	5901	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG
		CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	LacZ
260	5951	TGCGGAGCGG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG
		GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	LacZ
265	6001	TTCACTGCTG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG
		CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	LacZ
270	6051	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG
		CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	LacZ
275	6101	TGATGCTGAT	CAGCGGAGCG	TTTCTGCGCG	TGTTTTTGGC	TGAGCTTCTC	CGGCGGAGCG
		CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	CGGCGGAGCG	LacZ
280	6151	TGAGGCGGAG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG
		GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	GGGCGGAGCG	LacZ

sE/h Promoter
 6201 TAGCAAAAT TGAATTTTA TTTTITTTT TTGGAATATA AATAAGCTCG
 5 ATCGTTTTTA ACTTTAAAT AAAAAAAA AACCTATAT TTATCGAGC
 hTRP-2
 sE/L Promoter
 6251 AAGCTGAGC CATGAGCCCC CTTTGGGGG GTTTCIGCT CAGTGTCTG
 10 TTGAGCTCG GTACTGGGG GAACACCCC CAAAGAGCA GTCAAGGAC
 hTRP-2
 6301 GGCTGAAA TCTGTCCAGG AGCCAGGGT CAGTTCGCC GAGTGTGCT
 15 CGAGTTTTT AGGAGGCTC TGGGTGCCA GTCAAGGGG CTGAGAGTA
 hTRP-2
 6351 GAGGTGGAC AGCTTAGTA ACAGAGAGT GTGCCACGC CTGGGTGCG
 20 CTGACCTCG TGGATCACT TGTCTTCAC GAGGGTGGG GACCCAGTC
 hTRP-2
 6401 AGTGGGCAA TGTGTGTGC TGTGACAG AGCGGGGCA GTGACAGAG
 25 TCAGCGGTT ACAGAGAGC AGATCTGTC GGGCCCGGT CAGTGTCTC
 hTRP-2
 6451 GTGGAGCGC ACACAGAGC CTGAGTGGT CCTATATCT TAGGAAGCA
 30 CAGCTGGC TGTGTTCGG GAGCTGACA GGGATGAGG ATGCTTTGT
 hTRP-2
 6501 GATGAGGCT GAGTGTGGC CAGGAAGTT CTTCACCGG AGCTGCAAT
 35 CTAATGACA CTGAGAGCG GTCTTTTAA GAGGTGGCG TGAAGTTCA
 hTRP-2
 6551 GACAGGAAA CTTCGCCGC TAAATATG GAGATGCAA GTTGTGCTG
 40 GGTGTCTTT GAGCGGCGC ATATTAACG CTCTGAGTT CAAGCGAGC
 hTRP-2
 6601 AGCGTCCCA ACTGCGGCG GAGAAACCA CAGATGATC GCGAGAGCT
 45 TGGCAGGTT TACGCTGCG CTCTTTTGT GGTCTGATG CCGTCTGTA
 hTRP-2
 6651 CTTTCTGTT AGTCTCGAG AAGAGAGCA GTTCTGGGC GCTTGAATC
 50 GGTAGAGAC TCGAGATCC TTCTCTGCT CAGAGAGCG GGAATCTAG
 hTRP-2
 6701 TCGAGAGAA GAGATGACG CCGATGACA TGTATGACC ACAGAGTGG
 55 AGCGTTCTT CTCTATGTT GGGGTAGTG ACTAGAGTG TGTGTGAGC
 hTRP-2
 6751 CTGGGCTGC TTGGGCCCA TGGAGCCGC CCGAGTTTG CCAAGTGAG
 60 GACCGGAGC AACCGGGTT ACTGTGCTC GGGCTCAGC GTTGTGCTC
 hTRP-2
 6801 TTTTATGAT TCTCTGCTG GCTCTATTA TTATCTGTT AGAGATGAT
 65 ACAAATCTA AGAGAGACA CCGAGTATC GTTCTATTA TCTCTATTA
 hTRP-2

hTRP-2
 7351 CTTTACTGAT GCATCTTTC ATGAGTGGT GAAAGATTT AATCTCTCG
 5 GAATGACTA CGGTAGAAC TACTGACTA CTTTCTAAA TTAGAGGAC
 hTRP-2
 7601 CAGATGCTG GCTCTAGAG CTGGCCCTA TTGTGACAA TCGATGTAC
 10 GTCTAGGAC CGAGTCTCT GAGCGGATG AACAGTGTG AGCTATCAT
 hTRP-2
 7651 AACATGGTT CTCTCTGCC TCCAGTACT AATGAGAAC TCTTTTAA
 15 TTGACCAAG GAAAGAGGG AGCTGACTA TTACTCTTG AGAAATATG
 hTRP-2
 7701 CTGAGACAA CTGGGTACA GCTATGCTT GATGACGCA GTTTCAGTT
 20 GAGTGTGTT GAGCGATGT GATACGCTA GCTAGAGGT CAAAGTCAAC
 hTRP-2
 7751 AAGAACTCC AGTGTGCCC AACATCTCT TAGTATCAT GGAAGACAG
 25 TCTTTGAGG TCCAGCGGG TGTGAGACA ATCATGATA CCGTGTGAC
 hTRP-2
 7801 GTGGCTTGG TTGGTCTGT GGTGCTGTT GCTTTCTTC AATATAGAG
 30 CACGAAAGC AACGAGACA GACAGACAC GAAAGAGAG TTATATCTC
 hTRP-2
 7851 ACTTGGAAA GATATACAC CCTATGGA GACATTTTA AGAGAGCAA
 35 TGAAGCTTT CTTATATGT GGGATACCT CTGTGTAAT TCTGTCTCT
 hTRP-2
 7901 GATACACAG AGAGGCTAG TTTTAAAT AGCAATCTC TAGAATCAT
 40 CTATGTGTT TCTGCGATC AAAAAATTA TTGATAGAG ATCTAGATA
 hTRP-2
 7951 CCGGGGTTT TATGACTAG TAACTAGCG CGTATATAA GATCTAAAT
 45 GGGCCCAAA ATACTGATCA ATTAGCGCG GGAATATTT CTAGATTTA
 hTRP-2
 8001 GGAATATTC TAAATATGA AAAAAAGTA CATATGAGC AACCGGTAG
 50 CGTATTAAG ATTTATATC TTTTCTTAT GTATGATCG TTGCGAATC
 hTRP-2
 8051 TATATTTAC ATGAGGATT AACGCTCTT ACCGTCTAT GTTATTTAT
 55 ATATAAATG TTACTCTTA TTGAGATA TGGCAGATA CAATAACTA
 hTRP-2
 8101 TCAGATGAT TTTTAAAAA GAAAGTATG GAATAGAAA ACTTTATGA
 60 AGTCTACTC AAAATCTTT CTTTCAATA CTATATCTT TGAATTAAT
 hTRP-2
 8151 AGATGAGAT GAGAGAGAT ATATGTTG TAAATCTGT TTAGATGAG
 65 TACTATCTA CTGCTGATC TAAATACAC ATTTAGAAA AATCTACTC
 hTRP-2
 8201 AGATGAGC GCTAAGAT ATATGTTA CAAGATATA GTCTATCTA
 70 TCTACTGCG GATTTCTAT TGAATCAAT GTTCTATAT CAGATATAT

hTRP-2
 6851 TATTAGGCC AGGACGCCC TACAGGCCA TAGATTCTC ACATCAAGA
 5 ATATCTGCG TCTGCGGGG AGTCCGGGT ATCTAAGAG TGTGTTCT
 hTRP-2
 6901 CTGCAATTT TTACTGGCA CGGTACCAT TGTGTGTC TGAAGAGAA
 10 GAGCTTAAAC AATGAGCTG GGCATGATA ACAGAGAGC ACCTTTCTC
 hTRP-2
 6951 TCTGAGGCA CTGTFGCA ATGAGTCTT TGTGTGTC TGTGAGACT
 15 AGAGTGTCT TACTAGCTG TACTAGAAA AGCAAGCGG ATGACTTCA
 hTRP-2
 7001 TTGCACTGG GAGAGAGAG TGTGATGCT GTACAGACA GCTTTTGGG
 20 AACGTTGACC CTCTGCTC ACATACACA CATCTGCT GACAAAGCC
 hTRP-2
 7051 GACGAGGAC CAGAGATCC GACTGTGAT AGTGGACT CAGATTTCT
 25 CTGCTGCTG GTCTGCTAG CTGAGATTA TCACTGTA GTCTTAGG
 hTRP-2
 7101 CAGCTGGA ACTGTGCTG ATGCTGTGA GGTACAC CAGCTGCTA
 30 GTGACCTCT TGACAGAC TATGAGACT AGTATGCT GTGAGACT
 hTRP-2
 7151 CTTTGTGCA TGGAGCTAT GAGCTTTC TGAAGAAA TCAATGGA
 35 GGAACAGTT AACTTGAATA CTTCAGAC ACTCTTTT AGTTTACT
 hTRP-2
 7201 AGAAACAGA TGAATGCTC AACTTAAA GGTATGAG ATGCTGCTC
 40 TCTTGTGCT ACTTAAAGG TTGGAATTT CTGTATGCTC TAAGGAGAG
 hTRP-2
 7251 TGTCAAGAG TTGAGATC CTGAGTCTC AGCTGACT ACCTGACT
 45 AGAGTCTTC AACTGTAG GAGGAGAA GTCTTGA TGAAGTCA
 hTRP-2
 7301 TCAGAGATC TTGGAGGG TTGATAGAG CAGATGGG AGCTTGTCT
 50 AGTCTTAGC AACCTTCC AACTATTC GTCTACCTG AGACTTAA
 hTRP-2
 7351 CAGTATGAT GCTTCTATA TTGTTTAT TCTGTCTGA ACAGGACAA
 55 GTTACTACT CAGATGAT AAGAGATA AGAGAGCT TGGCTGTT
 hTRP-2
 7401 CGTTTGGCA CATCAGGCG CCAATGATC CATCTGCTG GTGATTTCT
 60 GCGAAGCGT TGAATGCG GTTACTAGG GTGAGAGC CACTAAGAT
 hTRP-2
 7451 ATGTTTCTT TTACATGCT ACAGAGACA TCTGTGACA TGAAGAAA
 65 TAGCAACGA AATGTTAGA TGTGTTGT AGAGATCT ACATTTCT
 hTRP-2
 7501 GAGAGAGCA CAGAGACT CCGTCTCTC CATGCTGCG TCTTCTAT
 70 CTCTTCTCT GGTCTGTA GGAAGGAG GTACAGAC AGAGTAGAG

CS Left Arm
 8251 CTATGGGCA CTGTGAG AGGTATAG ATAGTGAAA TGTGTTAGA
 5 GATTAAGCT GAGACGCTC TTCCATATCA TATCACTTT ACACAAATC
 hTRP-2
 8301 TTATGATTA GAAAGACAA ATAAATGCA TCCATATCA AAGTATCTC
 10 AATCATATA CTTTTGGT TATTAGCT AGGTATAG TTCCATAGAG
 hTRP-2
 8351 CTTTGACAT AATTCTATC ATTCAGTT TAGATATCT TTATATAT
 15 GAAAGCTGA TAAAGTGA TAGGATCAA ACTTATGAA AAGATATA
 hTRP-2
 8401 TGTTTACAG CTGAGAGCA AAAAATATA TGAATATAG AAGTATAT
 20 AACAAATGC GATCTGCT TTTTATAT AGTATATAT TTCTATACA
 hTRP-2
 8451 TACTCTGCT AATAGATGA AATGATGA GTCTGACT GAGCCAGCC
 25 ATTGAGAGA TTATCTACT TTAATCTAT CAGACATGA CTTGCTGCT
 hTRP-2
 8501 TTGCACTGG CCGTCTTT ACAGCTGCT GATGTGAAA ACCCTGGCT
 30 AAGCTGATC GAGAGCAA TGTGAGCA CTGAGCTTT TGGAGAGCA
 hTRP-2
 8551 TACCAACTT AATGCGCTG CAGACATCC CCGTTTCCG AGCTGGCTA
 35 ATGGTTGAA TTAGGAGAC GTCTGTAGG GGAAGAGG TCGAGCAT
 hTRP-2
 8601 ATAGAGAGA GCGCCGACC GATGCTCT CCAACATTT GCGAGAGCT
 40 TATCTTCT CCGCTGCTG CTAGGGGA GGTGTGCA CCGCTGAGC
 hTRP-2
 8651 AATGCGAAT GCGCTGAT GGTATATTT CTCTTACCG ATCTGTGCG
 45 TTACGCTTA CCGGAGCTA CCGATATA GAGATGCG TAGACAGCC
 hTRP-2
 8701 TATTTGAC CCGATAGCT CAGCTTGG TACAATGCT TGTATGCG
 50 ATAGATGCT GCTATACA CCGAGCTC ATGTAGAG AGATCAAGC
 hTRP-2
 8751 CATATTAAG CAGAGGCA CAGCGGCA CAGCGGCA CCGCGCTGA
 55 GTATCAATC GTGCGGCT GTGGCGGTT CTGGGACT GCGCGGACT
 hTRP-2
 8801 GCGCTGCT TGTGCGCG ATCCGTTAC AGCAAGCTG TGAACCTCT
 60 GCGCAAGC AGCGAGGCG TGGAGAGG TCTGTGAG ACTGAGAG
 hTRP-2
 8851 CCGGAGCTC ATGTGACA GCTTTTCC GTATCAGC AAACGGGGA
 65 GCGCTGAG TACAGATCT CCAAGATGG CATATGCG TTTGCGGCT
 hTRP-2
 8901 GAGAGAGG CCGTGTGA CCGCTATT TATGATGA TGTATGATA
 70 TGTCTTCC GAGACTAT CCGATATA ATATCAAT AGATGATAT
 hTRP-2
 8951 ATATGTTT CTAGAGCT AGTGGGCT TTGCGGGA ATGTGCGGG
 75 TATACAAA GATCTGAG TCCAGCTGA AAGCGGCT TACAGCGCC
 hTRP-2
 9001 TATGATGA TGTATAT TGTAAATG TGAATATG TACCTCTCA
 80 TTGGGATA ACAAAGAAA AGATATCT AGTTTATG ATAGAGAG
 hTRP-2
 9051 TGAAGATA ACCGTGATA ATGCTCAT ATATGAAA AAGAGAGT
 85 ACTCTTAT TGGAGTAT TACAGATA TATAACTT TCTCTTCA
 hTRP-2
 9101 ATAGATATC AATTTTCC GTGCGGCT ATCTCTTT TTGCGGAT
 90 TACTATAG TTGTAAGC ACAGCGGGA TAGGAGAAA AACCGGTA
 hTRP-2
 9151 TTGCTTCT GTTTTCTC ACCAGAAC GCTGTGAA GTAAAGAT
 95 AACGAGGA CAAAGAGG TGGTCTTG CAGACACT TTTCTTAC
 hTRP-2
 9201 CTGAGATCA GTGGGTCA GAGTGGGT ACATGACT GATCTCAC
 100 GATCTTAGT CAGCCAGT GCTACAGCA TGTAGTGA CTAAGATG

Amp (R)

9251 AGCGGTAAAG TCCTTGAGAG TTTTGGCCCG GAGAAAGCTT TTCCAAATGAT
 TCGCCATCTT AGGAACCTCT AAGAGCGGG CTCCTTGCAA AAGGTGCTGA
 5 Amp (R)

9301 GAGCACTTTT AAGTTCTGCG TATGTGGGCG GGTATTATCC GGTATTGACG
 CTCGTGAAA TTTGAGAGG ATACACCGCG CCATATAGAG GCATTAATCG
 10 Amp (R)

9351 CCGGCGAAGA GCAACTCGGT CGCGCGATAC ACTATTCTCA GAATGACTTG
 GCGCCGTCTT CTTTGAGCA GCGGCGATAG TGATTAAGGT CTTAATGAG
 15 Amp (R)

9401 GTTGAAGTACT CACCACTGAC AGAAAGCAT CTATCGGATG GCATGACAGT
 CAACTCATGA GTGGTCAGTG TCTTTTGGTA GAATGCTTAC CTAATCTGCA
 20 Amp (R)

9451 AAGAGATTA TGCAGTCTG CCATTAACCA? GAGTGTATAC ACTGCGGCCA
 TTCTCTTAAT AGTTCAGAG GGTATTGGTA CTACTATTG TGAAGCGCGT
 25 Amp (R)

9501 ACTTACTTCT GACAACGAC GAGAGCGCA AGGAGCTAAC CGCTTTTGTG
 TGAATAGAGA CTCTTGCTAG CTCCTGCGCT TCTGCTATG GCGAAAGAAC
 30 Amp (R)

9551 CACACATGCG GGGATCATGT AACTCGCTTT GATGCTGGG AACCGGAGCT
 GTGTTTACOC CCGTATGAC TTGAGCGGAA CTACACACCT TTGGCTCGGA
 35 Amp (R)

9601 GAATGAGGCC ATACCAAGC ACAGAGGTGA CACCAAGATG CTTGTAGCAA
 CTTACTTGGG TATGTTTGG TGTCTGCACT GTGGTGTAC GAGCATGCTT
 40 Amp (R)

9651 TGGCAACAC GTTGCAGAA CTATTAACGT GCGACATPCT TACTCTAGCT
 ACCGTTGTTG CAGCGGTTT GATATTTGAC CGCTTATGTA ATGAGTCGA
 45 Amp (R)

9701 TCCCGGACAC ATTATATAGA CTGAGGCGAG GCGGATTAAG TTGACAGGCC
 AGCGCGCTTG TAAATATCT GACCTACCTC CGCTTATTTC AAGCTCTCGG
 50 Amp (R)

9751 ACTTCTGCGC TCGCGCTCT CCGCTGCTTC GTTTATTCCT GATTAATCTG
 TGAAGACCGG AGCGGGAGAG GCGGACCGAC CAATATAGCA GTATTATGAC
 55 Amp (R)

9801 GAGCGGTGAC GCGGTGCTCT CCGGTATCTA TTGAGGACCT GCGGCGGAT
 CTGCGCACTC CGCAACGAGA GCGGCAATAGT AAGCTGCTGA CCGCGCTCTA
 60 Amp (R)

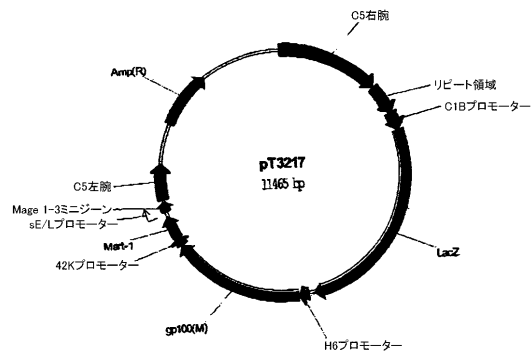
9851 GGTAAAGCCT CCGGTATCTC APTATCTAC AGGAGGCGC TCACTGATTA
 CCATTGCGGA GCGCATAGCA TCAATAGATG TGCCTGCGCT CAGTCCGTTG
 65 Amp (R)

9901 TATGATAGCA CAGATATGAC AGATGCTGCA GATAGGCGC TCACTGATTA
 ATACCTACTT GCTTTATCTG CTAAGAGACT CTATTCAGCG AGTGACTAAT

Amp (R)

9951 ACATTTGATA ACTGTCAGAC CAGGTTTACT CATATATACT TTAGATTGAT
 TGTAAACAT TGACAGCTCG GTTCAAAATGA GATATATGA AATCTACTTA
 10001 TTAATAATTC ATTTTAAAT TAAAGATGAT TAGGTAGAA TCCTTTTGA
 AATTTGAG TAAATATTA ATTTCCTAG ATCCACTTCT AGGAATAACT
 10051 TATCTCATG ACRAAAATC CTATAGCTGA GTTTTGTG CACTGAGCT
 ATTAGATAC TGTTTTAGG GATTCGACT CAAAAGCAG GTGACTCGCA
 10101 CAGACCCGCT AGAAGATAT AAGGATCTT CTGATGATC TTTTCTCTG
 10151 GTCTGGGCA CTCTTCTAG TTCTCTABA GACTCTAGG AAAAAAGAC
 CCGTAACTC GTCTCTGCA AAAAAAAA CACCGCTAC CAGCGGTGT
 10201 GCGCTAGA CAGCAAGCT TGTCTTTT GTTGGGATG GTCCGCCCA
 TTTTCTGCG GATCAGAGC TACCACTCT TTTTGGAGG GTAACGGCT
 10251 AACAAAGGC CTAGTCTCG ATGCTTGA GAAGGCTTC CATTAAGCGA
 TCGAGAGC GCGATACCA AATCTGTCC TTCTAGTGA GCGTATGA
 10301 AGTCTCTCG CGTCTATGT TTAGACAGG AAGATACAT GCGATCAAT
 GGCACCACT TCAAGAACTC TTAGACAGC CTAATACAC TCGTCTGCT
 10351 CCGGTGTGA AGTCTTGG ACATCTGCG GATCTATGG AGCGAGAGA
 AATCGTGA CAGTGTGCT CTCGCTGCG CATTAGTGC TGTCTTACG
 10401 TTAGACAAAT GCTACCGAG CAGCTTACG GCTATTGAG ACAGATGCG
 GGTGGACTC AAGACGATG TTAGCGATA AGGCGAGCG GTGCGGCTGA
 10451 CCAACCTGAG TTCTGCTATC AATGCGCTAT TCGCGTTCG CAGCGGACT
 ACGCGGCTT CCGTACACA GCGCACTTC GAGCGACAC CTATAGCGA
 10501 TCGCCCGAA GCGCTGTCT CCGGTGAGC CCGCTGTCT GATGTGCTG
 10551 ACTGAGTAC CTACAGCTG AGCTATAGA AAGCGCGAC CTTCCGAGG
 TCACTCTAG GATCTGAGC TCGATCTCT TTCCGCTGC GAGGCGCTC
 10601 CAGAGAGCC CAGAGGATA CCGTATGCT CAGCGGTGC ACGAGGAG
 CCGTCTTCC CCGTCTGATA GCGCTTTCG GTTCCAGGC TTGTCTCTC
 10651 CCAAGAGG AGCTTCCAG GCGAAAGCC TGTATCTTT ATAGTCTCT
 GGTGTCTCC TCGAGGCTC CCGTTTGGG ACATAGAAA TATAGGACA
 10701 GCGAGAGCC CAGAGGATA CCGTATGCT CAGCGGTGC ACGAGGAG
 GCGGCGGAG CCGTATGATA AAGCGGAGC ACGCGGCTT TTTAGGCTC
 10751 TGAATCTGT GATAACGTA TTACGCTCT TGAATGAGT GATACGCTC
 10801 ACTAGACAC CTATGCTATC AATGCGGTA ACTCTCTCA CTATGCGAG
 10851 CCGGCTTCC CAGCTGTGA TCGAGGCTG ATTTTGTG TCGTCTGAG
 CCGGCTGCG TTGCTGCTC GCGTGTGCA CTCACTGCT CTTGCTCTT
 10901 GAGCGGCAA TACGCAACCT CCGTCTGCG GCGGTGTGC CGATTCTAT
 10951 ATGACCTG CAGCAGCT TTCTGCTG GAGAGGCG CCGCTACTAT
 TACGTGAGC GTGCTGCA AAGGCTGAC CTTTCCGCG TCACTGCTG
 11001 ACGCAATTA TGTGATTA CTCACTATC AAGCAACCA GCTTTTAC
 11051 TGTGTAAT ACATCAATC GATGATGTA TCGGTGGGT CCGAATGAG
 TTTATGCT CCGCTGTA GTTGTGCA ATTTGAGCT GATACATTA
 11101 AATACGAG CCGAGCATA CACACACT TAACTCTG CTATTGTAA
 TCAACAGA AACAGCTAT ACATGATTA GATTTGAT TCGCGCGCA
 11151 AGTGTGCT TTGTGATG TGAATGAT GCTTAACCTA ACGCGGCGT
 ATCTTAG

【図 4】



【図 5】

FIGURE 5
DNA Sequence of donor plasmid pT3217

C5 Right Arm

5 1 TGAATGTTAA ATGTTATAC TTGATGAGG CTAATAATTA GCATTGGAAA
 ACTTAACATT TACAAATGA AACTACTCTG GATATTATTA CGTACCTTT
 10 51 AATAATCCAT TTAAGAAAG GATTCAAATA CTACAAACCT TAAGCGATTA
 TATTAGGTA ATTTCTTTC CTAGTATTAT GATGTTTGG ATTCGCTATT
 15 101 TATGTTAACT AAGCTATTTC TTACAGAGC TTTAATATA CACAAATAAA
 ATGATATGA TTGAAATGAG AHTGCTGCG AATTTATAT GTGTTATTT
 20 151 CATATATTT GTACAACTTA ACAATTAATC AAGACATAAA ATATACATTA
 GTATTAATA CATATTGAT TGTATTAGA TTTTATATT TATTTATTT
 25 201 GGAATGTAA TATCGTAAAT ATTTACTCA GGAATGGGT TAAATATTTA
 CTTTACATT ATAGCATTA TAAATGAGT CTTTACCCA ATTTATTAAT
 30 251 TATCAGGCT ATACTATAC TGTATGTA TACTCTTAC AATTAATTA
 ATAGGACA TATAGTATG ACAAATGAT ATGAGATG TTAATGATA
 35 301 ACGATATGC AAGAGATAT AAGATTAGT ATTATAGA ATTGTGAT
 TGTATATAG TTCTATATA TCTATAGA TAAATCTCT TATAGAGTA
 40 351 GATATGAG TACATATG TCGAATAGC TATTGCGAT CATTACATA
 CTATTAACC ATCGGTATC ACTATTAGC ATTTAGGCTA GCAATGATT
 45 401 ATGATGAG AAGATGAT TCGACAGT TACTTAATA GTTCAAAA
 TATGTAAC TTCTACCTA AACTGCTAC ATTGATATT CAGCTTTT
 50 451 TGTATATA CAGATCTA TCGAATAGT GATACAGT TATATTATC
 ACAAATTA GTGCAAGAT AGCTTTTAT CTTATGCTA ATATATATG
 55 501 TGTATGAG GATATGTA AAGATCTC GCAATATG TAAAGATA
 TTTTATGTA CCAACTATT TGTATAGA CTTATAGC ATTTTACT
 551 TCTATAGC CTAACAT TATATCTT ATTTTGGG AATATAGT

C5 Right Arm

601 CGACATCGT TATCTCTCC ATGTTTATG TATGTTTTC AGATATTATG
GCTGTAGCAG ATTAAGAGG TACAAATAG ATACACAAAG TCATATATAC
C5 Right Arm

651 AGATTACTAT AATCTTTTTC TATCTTATA TTCCGTAAAC TATATTATC
TCTAATGATA TTGAAAGAC ATAGGATAT ATAGGATTTG ATATAATAG
C5 Right Arm

701 ATGAAGAAA TGAAGAGTA TGAAGCTGT TCACAGGCG TTGTTGAAA
TACTTCTTT ACTTTTTCAT ATCTTCGCA AGTGTGCGC AACACCTTT
C5 Right Arm

751 CAACAAATAT ATACATCAA GATGGCTTAC ATATACGCT GTAGGCTAT
GTGTGTTAA TATGTAAGT CTACCGATG TATATGAGA CACTCGATA
C5 Right Arm

801 CATGGATAT GACATGAT CTCTAATAG GTTTTGGAC AATGATTCG
GTACCTATTA CTGTACGTA GAGATTATG CAAGAACGT TACCTAAGC
C5 Right Arm

851 AOCCTAACG GGAATATGT ACTTACAT CTCTCTTGA AATGGCTGA
TGGGATGTG COTTAACCA TGAATGTGA GAGGGAAC TACCGACAT
C5 Right Arm

901 ATGTTCAAG ATACGAGCG TATAAATAT TTGATGAGT ATGAGCTAA
TACAGTTCT TATGGCTCG GTATTTTGA AACTATCA TACTCGATT
C5 Right Arm

951 AOCCTAGAT ACTGAATGA CAATCTCTG TCTGATGAT GGGGTGTGA
TGGACATCA TGCTTACGT GTTGAAGAC AGAGTACTA GCGACACAT
C5 Right Arm

1001 GAGACGATA CAAGATAGT AAGATCTGT TGAAGTATA CTATGTAAC
CTCTGCTAT GTTTTATAC TTCTTAGCA ACTCTTAT TATACATTTG
C5 Right Arm

1051 AATGTTCTTT ACAGCGAGG CTTACTCTT TTGTGTTGG CAGCTTACT
TTACAGAAA TGTGCTCTC GAATGAGA AACACAAAC GTGGAATGA
C5 Right Arm

1101 TAAACAAAT AATTTGTTA AACTCTATG GGTCTATCG GGGGATGAG
ATTGTTTCA TTAACCAAT TTGAGATTA CCGATGAC GCGCTATCT
C5 Right Arm

1151 ATATTCAA CAAGATGCG TTAATCTCT TACATATAG CATTCAAT
TATAAGTTT GTGCTAGC AATGAGAG ATGATATCG CATATGTTA
C5 Right Arm

1201 AAAAAATTA CATGTTTAA ACTCTATG AACAGAGTG CTGATGCTA
TTTTTAAT GTTACCAAT TGAAGTATG TTGTTTCCG GACTATGAT
C5 Right Arm

1251 CTGCTGAT AATATGGAT GTATCTCTT AATGATGCT GTACAACTG
GACAGCCTA TTGATCCTA CATGAGAAA TTACTAGCA CATGTTAGC

Repeat Region C1B promoter

2001 GCGAGTACT ATCTTAGAG GATCATTTT TACGTAAAC TAAATGAAA
CGCTTATGA TCAAGATCT CTAGTATTA ATGCAATTT ATTACTTT
C1B promoter

2051 AGCTATTAC AGTACATAC GGTGTTTTG TGGATCAA TGTCTGAT
TGGATTAAT TCGATGATG CACAAAGAG ACCTAGATT ACTAGACTA
C1B promoter

2101 TTGAGGAT TTATCATAC AATATGACA GTGCTAATG GTAAAGAAA
AATCTCTTA AATAGTTAT TTATCTATG CAGGATGAC CATTTTCTT
C1B promoter

2151 AAGCAAGAA TTATCATGCG TACAAATTT TATTTATTT GTATATAGA
TCTGTTGTT ATATGATCG ATTTGTAATA ATATATATA CATCATAGT
C1B promoter

2201 TGGGCTCT TACGTTCTT TATTTAATG TAAATGTTA AGTATTAAT
ATCAGAGAA ATGCAAGAA ATAAATTTA ATTACAAAT TCTAATTTAC
C1B promoter

2251 GAGTATTCG ATCCCTATC GATGGGATG TCACTGAGC TCGTTTACA
CTCATTAAC TAGGGGATG CTACCCCTA AGTACGCGC AGCAAAATG
LacZ

2301 AGCTGTGAC TGGGAATC CTGCGTTAC CCACTTAAT GCGTTGCG
TGCAGACTG AOCCTTTTG GACGCGAATG GGTGTAAT GCGGAAGTC
LacZ

2351 CACATCCCT TTTCGAGC TGGGTAATA GCGAAGAGC CCGACAGAT
GTGTAGGGG AAGCGGTG ACCCGATTA CCGTCTCGG GCGGTGCTA
LacZ

2401 GCGCTTCC ACAGTTCG CAGCTGATG GCGATAGCG GCTTTCGCT
GCGGAGGG TTGTACAGC CTGCGACTA CCGCTTACG CGAAGCGAC
LacZ

2451 GTTCCGCA CAGAAAGCG TGGCGAAG CTGGCTGGG TCGATCTTC
CAAGGCGGT GGTCTTCG CAGCGCTTC GACGACCTC AGGTAGAG
LacZ

2501 CTGAGCGCA TACGCTGCT GTCCCTCAA ATGCGAGAT GCGGCTGC
GACTCGGCT ATGACAGAG CAGGGGATG TGACGCTCA GTSOCAAATG
LacZ

2551 GAGCGGCA TCTACACAA TGGGATTAAT CCAATATAG TCAATCCCG
CTACGCGGT AGATGCTGT GATCTGATA GGTATATGC AGTATAGCG
LacZ

2601 GTGTCTCC AGGAGATC GAGCGGTGT TTAAGCTTC ACATTTATG
CAACAGGG TGGCTTTAG GCTGCCAC AATGAGGAG TGTAAATATC
LacZ

2651 TGTAGTAC TGGCTGAG GAGCGGCA GCGGATAT TTGATAGC
AATCTATTC GACGATGC CTTCGGTGT GCGTTAATA AATACAGC

C5 Right Arm

1301 GAAATATGA AATATGAGC ACATCTATTA AAAAAATA AATGCGAGA
CTTATATCT TTATACAGC TGTGAGAT TTCTTTAT TTACAGTCT
C5 Right Arm

1351 ACTGGAAAA ATGATCTTG CAGCTGTAA TCAATGATG AAGAAAGTG
TGACCTTTT TACTAGAGC GGTGAGAT AGTATGATG TTCTTTCG
C5 Right Arm

1401 CTACGCTAC TTTCACAAA AGGACAGAT GTAACTACA TCTTTAAG
GATCGGTAG AATGTTGTT TCTCTGCTA CATTGATG AGAATCTTC
C5 Right Arm

1451 AATGAAAA TCAATGCTG TTGGAATG GATTAAAGA AGTACTCTG
TTACCTTTT AGTATGAG AAAAACTAA CTAATCTCT TCAATGAGC
C5 Right Arm

1501 AGACAAAA GAGGTACGT AGTGTACT CTCAAGATA CAGTACTAT
TCTGTGTTT CTGATGAG TCAACATGA GATTTTCA GACTGATTA
Repeat Region

1551 TAGCTATAA AAGGATCGG TTCTTTATC TATCTTAA AAGTAAAT
ATGATATTT TTCTAGCGC AAGAAATAG ATATGATTT TACATTTTA
Repeat Region

1601 AATACAAAG GTTCTGAGG GTTGTGTTA ATGAAAGCG AGAATATCT
TTATGTTTC CAGAGACTC CAGACATTT TGGTTTGGC TCTTTATG
Repeat Region

1651 ATAAATAT TCAATGAGC GATATCGGT AAGTTGAT CATACTCTG
TATTAATA AGTATAGCG CTATAGGCA TTCAAGATA GATATAGC
Repeat Region

1701 AGCCCCACC ATGATCTGG TGTAAAG AGCTCTCTT CATTTGGCT
TGGGGGTG TACATAGCG ACATTTTC TACGAGAA GTAAACGAG
Repeat Region

1751 TGAATGTCG TTGCTGCT GTGGGGCTA CAAGATACC CAGAAACAG
ACTATCGCG AACCAAGCA CACCGCAT GTTTCATG GTCTTGTG
Repeat Region

1801 GACTGCTTG GTGCTCAG GCACTAGAG ACACAGCTT GGAACGCG
CTGAGGAGC CAGAGCTG CTGTGATCT TGGTTTGGC TCTTTATG
Repeat Region

1851 GCTGATCCA GAGTGAGAG AGCCCGAG ACTTGAATC TGAAGAGTG
GAGTATGCT CTACCTGTC TTGCGGCTG TGAATGAGC AACTCTCC
Repeat Region

1901 GTCAAGTTC GTCAAGCTG AGTATGATG GCGCTACAT GATGTGCTA
CACTTCAAG GAGATCTCG TCAATGATG CCGATGTA GTATACAGT
Repeat Region

1951 AATGCTCTT TCTCTATCG CTGAGCTC CCGAGAGCG AAGAGTAT
TTGAGGAG AGATATAGC GACTTGAAG GAGCTTGG TTCTCTAA

LacZ

2701 GTTATCTCG GTTTCATCT GTGCTGAGC GGGGCTGG TGGTTAGCG
CAATGAGCG GCAAGTGA CACAGGTT GCGGAGCC AGCAATGCC
LacZ

2751 CAGGAGACT GGTTCGCT GTGATTTGA COTGAGGCA TTTTACGCG
GCTCTGCA CAAACGCG GACTTAACT GAGCTCGGT AAAATGCG
LacZ

2801 CCGGAGAAA CCGCTCGG GTGATGTCG TGGCTGAG TACGCGAGT
GGCTCTTT GCGGAGCG CACTACAGC AGCGACTC ACTGCGCTA
LacZ

2851 TATCTGAAG ATCAGATAT GTGGGAGT AGCGCATTT TCGCTAGCT
ATAGACTTC TAGTCTATA CAGCGCTAT TCGCGTAA AGGACTGCA
LacZ

2901 CTGCTGCTG CATAAAGCA CTACCAAT CAGGATTC CATGTTGCA
GAGCAAGAC GTATTTGCT CATGTTTGA TGTCTAAG GTACAGCT
LacZ

2951 CTGCTTAA TGAATGTT AGCGGCTG TACTGAGC TGAATGAG
GAGCGAAT ACTACTAAG TGGGCGAG ATGACTCG ACTTCACT
LacZ

3001 ATGTGAGCG AGTGTGCTA CTACCTAGC GTACAGTT CTATTGCA
TACAGCGCG TCAAGCAT GATGATGC CATTTGCA AATATACCT
LacZ

3051 GGTGAAAG CAGGTGCGA GCGGAGCG GCTTTGCG GTGAAATTA
CCACTTTG GTCCAGGT GCGGCGCG CGAAGCGC CCACTTAAT
LacZ

3101 TCGATAGCG TGTGTGTTA GCGATGCG TCACTAGC TGTAACTG
AGCTATGCG ACCACATA CCGCTAGC AGTGTATCG AGACTTCAG
LacZ

3151 GAAACCGA AACTGTGAG GCGGAAAT CCGATCTCT ATCTGCGGT
CTTTTGGCT TTGACACTC GCGCTTAG GCTTAGGA TAGCAGCG
LacZ

3201 GGTGAACTG CAGACGCGC AGCGAGCT GATGAGCA GAGGCTGCG
CCACTTAC GTGTGCGCG TGGCTGGA CTAATCTCT CTTCGAGCG
LacZ

3251 ATGTGCTTT CCGGAGTG CCGATTGAA ATGCTGCT GCTGTGAG
TACAGCGAA GCGCTGCG GCTATCTT TACAGAGCA CAGGACTG
LacZ

3301 GCGAGCGGT TGTGATTC AGGCTTAC CCGAGAGC ATCATCTCT
CGCTTGGCA AGGATAGC TCGGATG GAGTGTGCT TGTAGAGGA
LacZ

3351 GATGCTGAG GTATGATG AGCAAGAT GGTGAGAT ATCTGCTGA
CGTACACT CAGTACTAT TGTGCTCA CAGTCTTA TAGGAGACT

3401 TGAAGCAGAA CAACTTTAAC GCGTGTGGCT GTTCGATTA TCGCAACAT
 ACTTGTCTTT GTTGAATTTG CCGACACGGG CAGAGGTAAAT AGGCTTGGTA
 LacZ
 3451 CCGCTGTGGT ACACGCTGTG CAGCGCTAC GCGCTGTATG TGGTGATGA
 GCGGACACCA TGTGGGACAC GCTTGGGATG CCGGACATAC ACCACCTACT
 LacZ
 3501 AGCAATATT GAACCCAGC GATATGGTCC ATGATATGCT CTGACGATG
 TGGTTATTA CTTTGGGCTG CAGTACAGGG TACTTATGCA GACTGGCTAC
 LacZ
 3551 ATCCGCGCTG GCTACGCGCG ATGAGCGAAC GCGTAAAGCG AATGTGCGAG
 TAGGCGGACG CGATTGGCCG TACTTGTCTG GCAATGGCG TTACACGCTC
 LacZ
 3601 CCGATGCTGA ATCAACCGAG TGTGATCATC TGGTGGCTGG GGAATGAATC
 GCGCTAGCAT TAGTGGGCTC GACTATGATG ACCAGCGAOC CTTTACTTAG
 LacZ
 3651 AGSCACGCGC GCTAATCAGC AGCGCTGTGA TGGTGGATC AATCTGTGCG
 TCGGTGGCGG CGATTAGTGC TGGCGGACAT AGGACGATG TTTAGACAGC
 LacZ
 3701 ATCTTCCCGC CCGGTGTGAG TATGAAGCGC GCGGACGCGA CACCAAGCGC
 TAGGAAGCGC GCGGACGCTC ATACTTCCGC CCGCTGGCTG GTGGTGGCGG
 LacZ
 3751 ACAGATATTA TTTGCGGAT GTACGCGCGC GTGGATGAAG ACCAGCCCTT
 TGGCTATMAT AAGCGGCTCA CTGCGCGCGC CACCTACTTC TGGTGGGAA
 LacZ
 3801 CCGGCTGTG CCGAATAGCT CCAATCAAAA ATGGCTTTGG CTACTGGAG
 GCGCGACAC GGCCTTACCA GGTGATTTTT TACCGAAGC GATGGACCTC
 LacZ
 3851 AGACGCGGCC GCTGATCTTT TGGGAATAGC CCGAGGATG GGTAAACAGT
 TCTGGCGGCG GCACTAGGAA ACCTTATATG GCGTGGCTCA CCAATTTGCA
 LacZ
 3901 CTTGGCGGTT TGGTAAATA CTGGAGCGCG TTTGCTGAGT ATCCGCGCTT
 TAGCGGCAAC AGCGATTATT GACGCTCCGC AAGACGCTCA TAGGGGCAAA
 LacZ
 3951 ACAGGCGCGC TCGCTGTGGG ACTGGGTGGA TCACTGCTGT ATTAAATATG
 TGTGCGCGCG AAGCAGACCC TGACCCACCT AGTACGACAC TAATTTATAC
 LacZ
 4001 ATGAAGAGCG CACCGCGTGG TCGGCTTACG GCGGTGATTT TGGCGATAG
 TACTTTTGGC GTTGGGACCC AGCGGATGCG CCGGCTAATA ACCGCTATGC
 LacZ
 4051 CCGACGATCT GCGAGTCTGC TATGAAGGCT GTGGTCTTTG CCGACGCGAC
 GCGTGTGATG CGGTCAAGAC ATACTTGGCA GACGAGAAC GCGTGGCGTG

4801 GGGAAACCTT TATTATACG CCGGAAACCT TACCGGATG ATGGTATGG
 CCGTTTGGGA ATAAATAGTC GCGCTTTTGG ATGGCTTAC TACCATCAAC
 LacZ
 4851 TCAATGGGCG ATTAACGCTG AGTTTGAATG GCGAGCGAT ACACGCAATC
 AGTTTACGCG TATGGCAAC TACAATTTCA CCGCTGGCTA TGTGGGCTAG
 LacZ
 4901 CCGCGGCGAT TGGCTCAAC TCGGACGCTG GCGAGTACG AGAGCGGTA
 GCGGCGGCTA ACCGATCTG ACCTGTGAGC GCGTCACTG TCGCGCCAT
 LacZ
 4951 AACTGCTGCG GATTAGGCGC CAGAGAAAC TATCGCGAAC GCGTATCTGC
 TTGACCGGCG CTAAATCCGCG GGTCTTTTGG ATAGCGCTGC CCGAATAGCG
 LacZ
 5001 CCGCTGTCTT GACGCTGGG ATCTGCGATT GTACAGATAT TATACCGCT
 GCGGACAAA CTGGCGACCC TAGCTGCAAA CAGTGTATAC ATATGGGCA
 LacZ
 5051 ACGTCTTCCG GAGCGAAGAC GGTCTGGCT GCGGACGCG CCAATTAAT
 TCGAGAGGCG CTGGCTTTTG CAGAGCGGA GCGCGTGGC GCTTAATCTA
 LacZ
 5101 TATGCGCAC ACCAGTGGCG GCGGACCTTC CAGTCAACA TCGAGCGGTA
 ATACCGGCTG TGTGACGCG CCGCTGTGAG GTCAAGTTGT AGTGGCCAT
 LacZ
 5151 CAGTCAAGC CAAATTGATG AAGCAGGCA TTGCGATCT GTGACGCGG
 GTGATGTCT GTTAATCTAC TTTGTGCTGT AAGCGTAGA CGAGTGGCG
 LacZ
 5201 GAAGAGCAC ATGGCTGAAT ATCGAGGCTT TCCATATGG GATTGTGGC
 CTTCTCGGTG TACCGACTTA TAGCTGCAAA AGGTATACCC CTAACAGCG
 LacZ
 5251 GACGACTCTT GAGCGCGTGC AGPATCGCG GATTCGAGC TGAGCGCGCG
 CTGCTAGGAG CTTGCGGCG TATAGCGCG CTTAAGTGTG ACTCGCGCC
 LacZ
 5301 TCGTACCAT TACCATGTTG TCTGTGTCA AAAATATTA TAACCGGGCA
 AGCGATGCTA ATGGTCAACC AGACCAAGT TTTTATTAAT ATGGCCCGCT
 GCGGCGATCG GAGGCTATTC GCGATCAAT TCGATATCA GTTATGAT
 CCGGCTAGG CCGCTAGTAG CTTTATGTA AGGTATGTT CCGATAGCTA
 H6 Promoter
 5401 ACGTGTGCG TCGAGCTGAG AATGATCCG GGTGTGTGTA TCTATACCT
 TGGAGCTGCG AGCTGATGCT TTAGCTAGG CCGAGGATAT AAGATAGAA
 H6 Promoter
 5451 AAAAAAGTA AATAATATC AAGCTCTGAG AGGCTGTGCT TAAATAGAA
 TTTTTCACCT TTATTAATAT TCCAGAAC TCCAGACAA ATTAACTTT

4101 GCGCATOCA GCGTGTGCG AAGCAACCA CAGGACGAG TTTTTCAGT
 CCGCTAGGCT CCGGATGCGC TCGCTTTTGT GAGCTGTGTC AAGATAGCA
 LacZ
 4151 TCGCTTTATC CCGGCAACCC ATCGATGCTG CAGGAGATA CCGTGTGCTG
 AGGCAATATG CCGCTTTTGG TACCTTCACT GGTGCTTAT GCGTAGGCA
 LacZ
 4201 CATAGCGATA ACAGGCTCTT GCGCTGATG GTGGGCTGAG ATGATAGCG
 GTATGCTAT TCGTCAAGGA CCGCTGATG CAGCGGAGC TACTATGCG
 LacZ
 4251 GCGTGCAGC GGTGAAGCTC CTCTGATGCT GCGTCAAAA GGTAAACAGT
 CCGCGCTTGC CCACTTACGC GAGCTTACA GCGAGGTGTT CATTGTGCTA
 LacZ
 4301 TGTATGACT GCGTGAATC CCGGACGCGC AGAGCGCGCG GCAATCTGCG
 ACTAATGTA CCGCTGATG GCGTGGCGC TCGCGGCGC CTTGAGAGC
 LacZ
 4351 CTCACAGTAC GGTATGCTA ACGGACGCGC ACGGATGCT CAGAGCGCG
 GATGTCTATG CCGATCACTG TCGCTTGGCG TCGGCTAGCA GTCTTGGCG
 LacZ
 4401 GCGATCAGC GCGTGTGCG AGTGGCTCTT GCGGAAAC CTAAGTGTGA
 CCGTATCTGC CCGGCTGCG TCGGCGAG CCGCTTTTGT GATGCACT
 LacZ
 4451 CCGTCCCGCG CCGGTCCGAC GCGATCCGCG ATCTGACCC CAGGAGATG
 GCGGCGCGCG GCGCAAGGTC CCGTGGCGG TGAATGCTG GTGCTTTAC
 LacZ
 4501 GATTITTTGA TCGAGCTGCG TATAGCGCT TGGCAATTTA ACCGCGATC
 CTAAGAGCT AGCTGACCC ATATGCGCA ACCGTAAAT TGGCGTCA
 LacZ
 4551 AGGCTTTCTT TACAGATGCT GATTTGCGA TAAAGACAA CTGCTGACCG
 TCGGAAGAA AGTGTCTACA CCGTACGCT ATTTTGTGTT GAGCTGCG
 LacZ
 4601 CCGTCCCGCA TCACTTACCC CCGTACGCGC TGGATAGCT TGAATGCTG
 GCGAGCGCTT AGTCACTGCT CCGTGGCGG ACTTATGCT GTACGCGCT
 LacZ
 4651 AGTGAAGCGA CCGCATTTGA CCGTACGCGC TGGGTGAGC GCGTGAAGCG
 TCACTTCTGT GCGGCTACT GCGTGGCGC ACCAGCTGCT GCGCTTCCG
 LacZ
 4701 GCGGCGCAT TACAGCGCG AAGCAGCGCT GTTCAAGTGC ACCGAGATA
 CCGCGCGTA ATGTGCGCG TCGGCTGCG CAGAGTACG TCGGCTGAT
 LacZ
 4751 CACTGTCTGA TCGGCTGCTG ATTAAGACCG CTCAGCGGT GCGAGCATCAG
 GTGACGAGCT AGCGAGGAG TATGCTGCG GAGTGGCGC CCGTGTATC

H6 Promoter
 5501 GCGAGAAATA ATCAATATAT ATTCTATTAT CCGGATATCC GTTAACTTGT
 CCGCTTTTAT TAGTATTTAA TAAAGATAA GCGTATAGC CAATTCAAC
 H6 Promoter
 gp100 (M)
 5551 TATGCTATTC TCGAGCGGCC ACCATGATG TGGTGTGAAA AGATGCGCTT
 ATAGCATTAG ACCTGCGGCG TGGTACCTAG ACCAGATTT TCTTAGGAA
 gp100 (M)
 5601 CTTCAATTTG CTGTGATAGG TCGTGTGCTG GCGTGGGCG CTAACAAATG
 GAAGTAACCC GACATATCC AGCAAGCAG CAGACACCCC GATGTTTCA
 gp100 (M)
 5651 ACCGAGAAC CAGGCTGCG TGGTGTGCTG AAGGCACTC AGAACCAAG
 TGGTCTTTG GTCTGACCG AAGCAGAGG TTGCTGTAG TCTGTGTTTC
 gp100 (M)
 5701 CTTGGAACAG CCGATGCTAT CCGAGTGGGA CAGAGGCGA GAGCTGTAC
 GAGCTTCTG CCGTCACTA GGTCTCACT GCTTCTGGGT CTTGCACTG
 gp100 (M)
 5751 TCGTGAAGAG GTGGTCAAGT GTGCTGAGG GTAGTATG ATGGGCGTAC
 AGGACTCTG CACCATTTCA CAGGAGTTC CAGTATTA TACCGGATG
 gp100 (M)
 5801 ACTGATGCT GCAATGCTT CTTCTCTAT TCGCTGAGC TTCCCTGGAA
 TGACTAACA CGTTAAGGA GAAGAGATA ACGGACTTG AAGGACCTT
 gp100 (M)
 5851 GCGAAAGGT ATTCCAGAT GCGCAGGTTA TCGGCTGCA CAATACCATC
 CCGTTTCCA TAACGCTCTA CCGCTCAAT AGAGCCAGT GTTATGTAG
 gp100 (M)
 5901 ATCAATGGA CCGAGTGTG GCGAGGAGC CCGTGTATC CCGAGGAAAC
 TAGTTACCT CCGTCAAC CCGTCTGTC GTTACATAG GGTCTTTT
 gp100 (M)
 5951 TGACGATGCC TGAATCTTC CCGTGTGCG ACCTTGCGCA TCTGGCTTT
 ACTGTAAGC AGTAGAGAG GACTACACCC TGGAGCGGT AGGACGAGAA
 gp100 (M)
 6001 GGTCTGAGA GAGAGCTTT GTTATGCTG GAGAGCTTC GCGCAATAC
 CAGAGCTTT CTTCTGAAA CAATACAGA CTTCTGAGC CCGCTTATG
 gp100 (M)
 6051 TGGCAATTC TAGGGGCGC AGTGTGCGG CTGAGCTTG GAGAGGAG
 ACCGTTAAG ATCCCGCGG TCAAGACCC GAGCTGTAC CTTGCTGCT
 gp100 (M)
 6101 GCGATGCTG GCGACACCA CAGTGAAGT GACTGTCTC CATCGCGCG
 CCGTACAGC CCGTGTGCTT CTACCTTCA CTGACAGATG GTAGCGGCC
 gp100 (M)
 6151 GATCCGCGAG CATGTCCTT CTTGCTATT CAGCTGAGC CTTACCAT
 CTAGGCGCTT GATACAGGA GAAGAGTAA GGTGAGTGC GAAGTGTAA

gp100 (M)

6201 ATGGACACAGG TGCCTTTTCG DGTGAGCGTG TCCAGATTGC GGGGCTTGGA
TACCTGTGTC AGGAGAGAG SCATCTCCAC AGGGTCACAG CCGGAGACCT

6251 TGGAGGGAAC AAGCACTTCC TGAGAAATCA GCTCTGACG TTTCGCTCC
ACCTCCCTTG TTCTGTAGG ACCTTTTATG CGAGAGCTGG AAGCGGAGGG

6301 AGCTCCATGA CCCCAGTGG TATCTGGCTG AAGCTGACCT CTCTACACCC
TGGAGTACT GGGGTACCG ATAGACCCAG TTGTACTGGA GAGGATGTGG

6351 TGGAGCTTTG GAGACAGTAG TGAGACCTTG ATCTCTGGG CACTTGTGGT
ACCTGTAAAC CTCTGTCTTC ACCTTGGGAC TAGAGAGGCC GTGACACCA

6401 CACTCATACT TACCTGGAGC CTGGCCCACT CACTGTTGAG GTGGCTCTGC
GTGGTATGTA ATGGAGCTCG GAGCGGTGCA GTGACAGTC CACAGAGAG

6451 AGGCTGGCAT TCTCTCAAC TCTGTGGCT CTTCCCGCAT TCAGGACAC
TCGGAGGTA AGAGAGTGG AGACACACCA GAGGGGTGCA AGGTCCCTGG

6501 ACAGATGGG ACAGGCCAC TCAGAGGCGT COTACACCA CAGCTAGCCA
TGTCTACCG TGTCCGCTG ACCTCTCGG GATGTGGT GTGACCGGT

6551 AGTGCTTACT ACAGAGTTG TGGTACTAC ACTTGTGAG GCGCAACTG
TCAGAGTGA TGTCTTAC ACCATGTATG TGAGACAGTC CGGGTGTAC

6601 CAGAGCCTTC TGAGACACA TCTGTGAGG TGCCACACAC TGAGTACATA
GTCTGGGAG ACCTTGTGT AGACAGTCTC AGGGTGTGT ACTTACATAT

6651 AGCATTCAC CTGTGAGAT GCGACTCTCA GAGAGACAG GTAGACACC
TGTGAGCTG GAGAGTCTA GCGTGTACTG CTCTGTGTC CATACTGTGG

6701 TGGAGTGGG CAGATTTGAG AGGTATGAG TACACACTG SCAGAGTGT
ACTCTTCAAG GTGTAAAGTC TCCAGTACCG AAGGTGTAG CGTCTTACA

6751 CACTCCAGA GGTCAAGAT ATGACACTG CAGAGGTATC ATGTGTGGT
GTGAGTCTC CGATGTCCA TACTGTGAC GTCTCCATAG TTAACACAC

6801 CTTTCTGGA CACAGCTCG ACAGTACCA ACTACAGAT GGTGGAGAG
GAGAGCTCT GTGTGACG TGTCAATGT TATGTCTCA CCGACCTTG

6851 CAGACTTGA GAGTATGAG TCCCTGAGC TGAGAGTCTC GTTGTGAGT
GTGTGATCT CTGATGTAT AGGAGCTCGG ACTTCAAGT CTAGCTCGA

gp100 (M)

6901 CAATCATGTC TACGGAATCT ATTACAGGCT CCGTGGGCC CCGTGGAT
GTGTATACAG ATGCTTTCA TATGTCCA GGAACCGGG GAGACACCTA

6951 GTGTAGACCA CTTAAAGGT GTGTAGAGA CAGTCCGCC TGGATGTGT
CCATGTGCT GGAATTCGA CCACTTCTCT GTTACAGGGG ACCTAACACA

7001 TCTGTATGCA TATGTGTCT TTCTGTGAC CCGTGGCAT GTACAGGTA
AGACATAGCT ATACAGGA AAGGCACTG GAGCTCTTA CAGTCCCAT

7051 TTGAAAGTC CGAGTCTCG CAGCTGTGCT CCGTGGTGA GGGAGTGA
AACTTCAAG GCTCTAGAG CTGCGACAG GAGGCGCAT CCGCTAGCT

7101 TTGTAGCTA CTGTGTCTC CCAGGCGGG CTGCGACAG AAGCTGTAT
AACTGAGCT GACACAGAG GTTCCGCCG GAGGCTTCC TTGCAAGTA

7151 GAGATCTCA TCCGAGGCT GCCAGCCCC TCGCCAGGG CAGAGGCTG
CCTCTAGAT AGCGTCCA CCGTGGGGG ACAGGTCGC GACAGGCTG

7201 CTGTGCTAC CAGCCGAGC TCCGAGCTGG TTCTGACCA GATGAGAG
GACACAGTG GTGCGTGGG ACCTGTGAC AAGAGTGTG CTATGACTC

7251 GGTGCTCGG GACATATCT CTTCAATGT TCTGTGGCT ATCCAGAC
CCAGCGAGC CCGTATGAC GAGGTACAG AGAGACAGC ATCGGTTGT

7301 CCGGCACTG GTACAGACC AGCTTATCAT GCTGTGTCA GAGAGAGCC
GAGCGTAC CAGTGTGGG TGAATAGTA CAGACAGT CTCTGTGG

7351 TTGGGCACT TCCGCTGAT GTGGCATCT TGTGTGTGT GATGCTGTG
AACCGTCCA AGCGAGTAG CACCGTAGA AGACACACA CTAGGAGAC

7401 GTCTGTGAT CTGTGATA TGGGCGAGA CTATGAGG AGAGCTCTC
CAGAGAGTA GAGACTATAT ATCCGCTCT GATACTTCS TTCTGAGAG

7451 GGTACCCAG TTGCACATA GAGAGTGA CTGCTGTGT CTACCGCCA
GATGGGGCT AAGGTGTAT CCGTGTGAT GACCGAGA GATGGGCT

7501 TCTGTGCTC TGTGCAAT GTTGAGACA GCGCTCTCT CAGTGGGAG
AGAGAGCAG AACAGGTAA CCACTTCTG GGGGAGAGA GTACCGCTC

7551 CAGGTCTAT TTTTATCTA GTTCAAAA ATATAAATG TTAACATCT
GTGACATA AAAATAGAT CAGTTTTT TATATTACT AAGTATAGA

42K promoter

7601 GATAGAAAA AATTTATG CGAGATATG ATATATTTT GGAATTTCA
CTATCTTTT TTAATATAC CCGTCTATAC TATATATAA CCGTAAAGT

7651 AATTGAAAT ATATATATC ATATATATC TGAGACACA TGCCAGAGA
TAACTTTTA TATATATG TATATATG ATCTGTGGT ACGTCTCT

7701 AGATGCTAC TTCTATCTG GTTACCCAAA GAGGGGACG GAGCCTCT
TCTAGAGTG AAGTAGATC CAGTGGGCT CTTCGCGTG CCGTGTAGA

7751 ACACAGGCG TGAGAGGCG GCTGGATCG GCATCTGAC AGTATCTCG
TGTGTGCGC ACTTCTCGG CAGCCTAGC CGTAGAGTG TCACTAGAC

7801 GAGTCTTAC TGTCTATCG CTGTGTGAT TGTAGAGC GAAATGATA
CCTCAGATG ACGATAGCG GACACACATA ACATCTCTG CTTAACAT

7851 CAGAGCTTG ATGATATAA GTCTCATG TGGCACTGA TGTGCTTAA
GTCTGGGAC TACATATTT CAGAGTACA ACGGTAGT ACAGGAT

7901 CAGAGATG CCGACAGAA GGGTTGAT ATCGGGACG CAAATGTCT
GTCTCTAC GGGTGTCTT CCGAAGTAG TAGCCCTGT GTTACAGA

7951 CTTACAGGA AAACTGTGA ACCTGTGGT CCGATGCT CACTGCTTA
GAGTCTCT TTTTACACT TGACACCAA GGTACAGG GTGACAGAT

8001 TGAGAACTC TGTGAGAG AGTCAACAC ACCTTATTA CTTAATCTA
ACTCTTGA AGAGCTCTG TCACTGTGG TGAATAGT GGAATAGAT

8051 GAGTGAAC CAGGATCG AAAATGAA ATTTATTTT TTTTITGG
CTCAGCTGA GTCCTGAG TTTTAACT TAAATATAA AAAAAAAC

42K promoter

8101 ANATATAA ATGAGTCTC TCAAGTGTG CTTTGGCAT GAGGTAGAG
TATATATAT TACTTACA ACCTGAGCA GAGCGGTAA CTGACCTC

8151 AAGGAGCC CAGCGGCG TCTATCTC TTGACAGT CCGTGTCTC
TTCTGTGG GTGCGGCG AGGATAGG AAGGTGAG GATGAGAG

8201 TCTATGAG GATATAGC TAAAGAGT GAGCGGCG CCGCTTCTA
AGATATAC GTATATCG ATTTTTCAG GAGGTGAG CCGTATAG

Mage 1-3 minigene C5 Left Arm

8251 CTAGTTTTA TCCCGGTTT TTATGAGTG TTATCAGG CCGCTATAA
GATCAAAAT AGGCGGAAA ATACTGATC AATAGAGG GCGGATAT

8301 AGATCTAAA TGTATATTT CTAAATATG AAAAATAAT ACATCTATG
TGTATATTT ACGTATATA GATTATATC TTTTITTTA TGTATATC

8351 CAGCGGTTA GTATATTTA CAGTGTGAT TACCTCTTA TACCTCTTA
GTGCGGAT CATATATA GTTACTCTA ATTCGAGAT ACGGAGAT

8401 TGTATATGA TGTAGATAG GTTATAGA ACGATATGA TGTATATGA
ACAAATATC ATGTATATA CAAATCTT TCTTCAATA ACTTATCT

8451 ACCTTATAG AAGATAGGA TCGAGGATC GATTATCTT GTATATCT
TTGAATATC TTCTACTCT ACTGCTCTA CTAAATACA CATTAAGA

8501 TTTATAGA GAGATAGAG CCGTAAATA TACTATGTT ACATATATA
AAATCTACT CTCTACTGC CCGATTAT ATGATACAA TGTTCATAT

8551 AGCTATAT ACTAATGAG ACTGTGCTA GAGGTATAG TATATATGA
TCAGATGA GATTATAGG TGAACAGTT CTTCATATC ATATCATTT

8601 ATGTGTATG ATATATATA TGAATAACA ATATATATC ATCAATAT
TACACATC TATATATAT ACTTTTGT TATATATG TATATATGA

8651 AAGGTATCT CTTTCTACA TATTTATC TATTTATG TTTATATCT
TTTCTAGA GAAACAGT ATTAAGTAG ATAGATCA AATCTATGA

8701 TTTATATA TTTGTATCA CTTGAGAGC AAAAATAT ATCAATATA
AAGTATAT AACAATAT GAGCTTCT TTTTATTA TATATATAT

8751 GAGATATG TTATCTCTC TATATATG AATGATAG ACTTCTATC
CTTATATC AATGAGAG ATATATCT TTAATATC TCAAGATG

8801 TCGAGCAGC TTGGGACTG GCGTGTCTT TACAGCTCG TACGAGGA
ACGTGTGCT GAGCTGAC CCGGAGCAA ATGTGAGC ACTGAGCTC

8851 AAGCTGAGG TTACCGACT TATCGCTCT CAGAGATCT CCGCTTGG
TTGGAGCG AATGGTATG ATTAGCGGA CCGTGTGAG GGGGAGCG

8901 CAGTGTGCT AAGAGAGG AGGCGGAG CAGTGTCT TCCAGATG
GTGAGCGA TTATGCTTC TCGGAGGCT GTAGCGGA AGGTGTGA

8951 TCGGAGCT GAGTGTGGA TGGGCTGTA TGTGATTT TCTCTTAC
AGGCTGGA CTTCAGCTT ACGGAGGCT AGGCTATA AAGAGATG

9001 CAGTGTGCT CAGTGTGGA TCGGAGGCT TCGGAGGCT GAGAGATG
GTGAGAGC CAGTATGTT GCGTATAG AGTATAGT CATTTATG

9051 CTCTGATGCC GCATAGTTAA GCGACCCCGG ACACCGGCCA ACACCGCGTG
GAGACTACGG COTATCAATT CGGTCGGGGC TGTGGGCGGT TGTGGCGGAC
9101 ACGCGCCCTG ACGGCTTGT CTGCTCCCGG CATCGCGTTA CAGCAAGGT
TGGCGGGGAC TGGCGGGAACA GACGAGGCGC GTAGGCGAAT GTCTTTTCTA
5 9151 GTGACCGCTT CCGGAGGATG CAGGTGTGAG AGTTTTCGTA CATTATAC
CACTGGCAGA GCGCTCGAC GTACACAGTC TCCAAAGTGG CGATAGTGG
9201 GAAAGCGCGG AGAGGAAAGG CGCTGTGAT AGCCTATTTT TTATAGTTTA
CTTGGCGGCG TCTGTTTTCT CGGAGCACTA TCGGATATAA AATATCCAT
9251 ATGTCAATAT AATAGAGTTT TCTTAGACTT CAGTGCGGAC TTCTGCGGA
TACAGTACTA TTATACCA AGAATCTGCA GTCCACCGTG AAAAGCCGCT
10 9301 AATGCGCGG GAACCGCTAT TTGTTTATTT TCTATAATAC ATTCAAAAT
TTACAGCGGC CTGCGGATTA AACAAATAAA AGAATTATAG TAAGTTTATA
9351 GTATCGGCT ATGAGCAAT ACCTGTGTA ATGCTTCGTA TAAATATGA
CATAGCGGAG TACTCTGTTA TTGGGACTAT TTACGAGTTT ATTATACTT
Amp (R)
9401 AAAGGAGAG TATGATGAT CACATTTCCC GTGTGCGCTT TATTCCTTT
TTTCTCTCT ATACTCAAA GTTTAAAGG CACAGCGGGA ATAGGGAAA
Amp (R)
20 9451 TTTGGGGAT TTTGGCTTCG TGTTTTGTCT CAACCGGAAA CGTGTGTGA
AAAGCGGCTA AAAGCGGAGG ACAAAGCA GTGGTCTTT GCGACCACTT
Amp (R)
25 9501 AGTAAAGAT CCGTAGATAT ACTGGGTGCG AGAGTGGGT TACATCGAAC
TCATTTTCTA CGACTCTAG TCAACCCAGG TGTCTACCCA ATGATCTTG
Amp (R)
30 9551 TGGATCTGAA CAGCGGTAAG AKCTTTGGA GTTTGGCGG CAGAAAGCT
ACCTAGAGTT GTCGCTATC TAGCAACTCT CAAGAAGCGG GTTCTTTGCA
Amp (R)
35 9601 TTTCCATGA TGAGCACTTT TAAAGTTCG CTATGTGGGG CGGTATTATG
AAGGTTTACT ACTCGTAAAT ATTTCAGAG CATACACCGG GCGAATATAG
Amp (R)
40 9651 CCGTATTCAG GCGGCGCAG AGCACTCGG TCGCGGCTA CACTATTCTC
GGCTATAGTG GCGCGCTTCT TCGTTGAGCG AGCGGCTAT GTGATAAGG
Amp (R)
45 9701 AGATGACTT GGTGATGAT TCACAGTCA CAGAAAGCA TCTTACGAGT
TCTTACTGAA CCAATCTATG AGTGTCTAGT GCTTTTCTCT AGAATCGCTA
Amp (R)
50 9751 GGCATGACG TAGAGGATTT ATGCACTGCT GCCATACCA TGAGTATAA
CGTACTGTC ATTCTTTAA TACGTACCA CGGTATTGGT ACTCATATT
Amp (R)
9801 CACTCGCGCC AACTTACTCT TGACACAGAT CCGAGGACCG AAGGAGCTAA
GTGACGCGCG TGAATGAG ACTGTCTAGT GCTTCTGCG TTCTGCTAT
Amp (R)
9851 CCGCTTTTT GCACACATG GGGGATCAT TAATGCGCT TGATGTTGG
GGCGAAAAA CGTGTGTAT CCCATGATAC ATTAGCGGGA ACTAGCAACC
55

10901 GRACAGGAGA GCGCAGAGG GAGCTTCCAG GGGGAAAAGC CTGGTATCTT
CTTGTCTCTT CCGCTGCTCC CTCGAGGTC CCGCTTTGCG GACCATAGAA
TATAGTCTGG TCGGCTTTCC CCACTCTGGA CTGAGCGGTC GATTTTGTG
10951 ATATCGAGC AGCGGAGAG GTTGAGACT GACTCGCG CTAAAGAC
ATGCTGTGCA GGGGCGCGGA GCGTATGAAA AAAGCCAGCG AAGCGCGGT
5 TACGAGCAGT CCGCGCGCTT CGATACCTT TTTGCGGTGG TTTGCGCGGA
TTTACGCTT CCGGCGCTT TGTGCGCTT TTTCTGAGT GTTCTTCTT
11051 AATATGAAA GCGCGGAAA AGCTCGGGA ACGACTGTA CAGAAAGGA
GCTTATGCC CTGATCTCTG GATATACCTT ATTACGCTT TTAGTGAGC
10 OSCATAGGG GACTAAGCA CTAATGCGA TAATGGGGA AACTCACTGG
TATACGCTT CCGCGCGCG GACGAGGGA GCGGAGCGAG TCACTGAGCG
11151 ACTATGCGA CCGCGCGCTT CTGCTGCTT CCGCTGCTT AGTATCTG
11201 ASGAGGCGA AGAGCGCGCA ATACGCAAC CCGCTCTCC CCGCGCTTG
TCTTCTGCT TCTGCGGCT TATGCTTTT GCGGAGGAG GCGCGCAACC
15 CCGATCATT AATGCACTT CCGGAGGAG TTTGCGACT GGAAGCGGG
CGATATGTA TTAGCTGCA CTGCTCTCC AAGGCGTA CTTTCTCC
11301 CAGTAGGCG AAGCGAATTA ATGAGCTTA GCTACTCAT TAGGCACCCC
GTACTGCGC TTGCGTAAAT TACATCAAT CAGTATGTA ATCGGTGGG
11351 ASCTTTTACA CTTATGCTT CCGCTGCGA TGTGTGCGG AATGCTGAGC
20 TCGATGAT GAAATGGA GCGGAGCT ACGACATCT TTACACTG
GGATACAAAT TTACAGGAG AAGCACTAT GACATGAT ACAGATTGA
11401 CTTATGTTA AAGTGTGCT TTTGCGTA CTGCTACTAA TCTTAACTT
11451 TTGCGCGCG AATTCACGC CCGGCTTAG

FIGURE 6A
NY-ESO-1

Met Gln Ala Glu Gly Arg Gly Thr Gly Gly Ser Thr Gly Asp Ala Asp
Gly Pro Gly Gly Pro Gly Ile Pro Asp Gly Pro Gly Gly Asn Ala Gly
5 Gly Pro Gly Glu Ala Gly Ala Thr Gly Gly Arg Gly Pro Arg Gly Ala
Gly Ala Ala Arg Ala Ser Gly Pro Gly Gly Gly Ala Pro Arg Gly Pro
His Gly Gly Ala Ala Ser Gly Leu Asn Gly Cys Cys Arg Cys Gly Ala
Arg Gly Pro Glu Ser Arg Leu Leu Glu Phe Tyr Leu Ala Met Pro Phe
Ala Thr Pro Met Glu Ala Glu Leu Ala Arg Arg Ser Leu Ala Gln Asp
10 Ala Pro Pro Leu Pro Val Pro Gly Val Leu Leu Lys Glu Phe Thr Val
Ser Gly Asn Ile Leu Thr Ile Arg Leu Thr Ala Ala Asp His Arg Gln
Leu Gln Leu Ser Ile Ser Ser Cys Leu Gln Leu Ser Leu Met Met
Trp Ile Thr Gln Cys Phe Leu Pro Val Phe Leu Ala Gln Pro Pro Ser
15 Gly Gln Arg Arg

Amp (R)
9901 GAACCGGAGC TGAATGAGC CATACCAAC GACGAGCGTG ACACCAAGAT
CTTGCGCTCG ACTTACTCTG STAGTGTG CTGCTGCGAC TGTGGTCTA
Amp (R)
9951 GCGTGTAGCA ATGCGACAAA CTTTGCGCAA ACTATTACT GCGAATCTAC
CGGACTCTGT TACGCTTGTG GACAGCGGTT TGAATATTGA CCGTATTATG
Amp (R)
10001 TTACTCTAGC TTCCGCGAAA CATTATAGT ACTGATGGA GCGGATATAA
AATGAGTCTG AAGCGCTTGT TCGCTATATC TGACCTACTT CCGCTATT
Amp (R)
10051 GTTGCGAGC CACTTCTGCG CTGCGGCTCT CCGGCTGCTT GGTATTGCG
CAACGCTCTG GTGAGACCG GACGCGGAAA GCGCGACGA CCAATATAG
Amp (R)
10101 TGAATATCT GAGCGCGGTG ACGTGGGTCT TCGCGTATC ATTGACGAC
ACTATTAGA CTTGCGCCAC TCGCACCGAG AGCGGCAATG TGTGCTGCG
Amp (R)
10151 TGGGCGCAGA TGTATAGCC TCGCGTATG TATGTTCTA CACGAGCGG
ACCGCGCTCT ACATCTGCG AGCGCATAG ATCATAGAT GTGCTGCGCC
Amp (R)
10201 AGTACGCGA CTTATGATG ACGAATAGA CAGATGCTG AGATGATCG
TCTATCGCT GATACCTACT TCGTTATCT GTATAGCGG TCTATCGG
Amp (R)
10251 CTCATGATT AAGCATGCT AACTGTGCA CCAAGTTTAC TCAATATAC
GAGTACTATA TGTATACCA TTAGAGTCT GGTCTAATG AATATATG
10301 TTAGATGTA TTAAATCTT CATTTTTAA TTAAGAGAT CTAGTGAGG
AATCATACT AATTTTGA GTAAATTA AATTTCTA GATCAGTAC
10351 ATCTTTTGT ATATCTGAT GACCAAAATC CTTTACGCT AGTTTCTGT
TGAAGAAC TATTAGATG CTGCTTTAG GATATGCG TCAAGACAA
10401 CCACTGAGCG TCGACCGCG TAGAAGAT CAAAGATCT TCTTATGATC
GGTACTGCG AGCTCGGGC ATCTTTCTA GTTCTTAGA AGACTCTAG
10451 CTTTCTTCT CCGCGTATC TCGCTGCTG AACAATAA ACCACGCTA
GAGAAAGA CCGCATAG ACACGAGCG TTTGTTTTT TGTGCGAT
10501 CCGAGGCTG TTTGTTGCG GATCAGAG CTACCACTC TTTTCTGAA
GTTGCGCAC AACAAGCG CTTAGTCTC GATGTTGAG AAAAGGCTT
10551 GGTACTGCG TTGAGGAG CCGAGATAC AATATCTG CTCTAGCT
CGATGAGC AATGCTCT CCGCTATG TTTATGAG GAGATGAG
45 AGCGTATCT AGGCGCAC TTAAGACT CTGTAGACC GCTACATAC
TGGCATCA TCGGCTGCT AGTTCTTGA GACATGCT CCGATATG
10651 CTGCTCTG TATCTGCTT ACGATGCT GCTGCGAGT GCGATAGTC
GAGGAGAG ATTAGAGA TGTATAGCA CCGCGCTAC CCGATGAG
10701 GTCTCTTAC GGGTGTGCT CAGAGATA GTACCGAT AAGCGCAGC
CAGAGATG CCAAGCTGA GTTCTGCTA CAAAGGCTA TTTGCGGTG
10751 GGTGCGGCT AAGCGGCT TGTGCGAG AGCGGCTT GAGCGAGCG
CGAGCGAG TTTGCGGCA AGGAGGCT TCGGCTGCA CCGCTGCTG
10801 AACTACAG AACTGAGTA CTTACAGCT GAGCTATGA AAGCGCAC
TGTATGCG TTACTCTAT GATATGCA CTGATCTT TTTGCGGTG
10851 GCTTCCGGA GGGAGAGG CCGACAGTA TCGGTAGC GCGAGGCTG
CGAGGCGCT CCGCTCTTC CCGTCTAT AGCGATCT CCGTCTGCG

【 6 C 】

FIGURE 6C
TRP-2

Met Ser Pro Leu Trp Trp Gly Phe Leu Leu Ser Cys Leu Gly Cys Lys Ile
Leu Pro Gly Ala Gln Gly Gln Phe Pro Arg Val Cys Met Thr Val Asp Ser
5 Leu Val Asn Lys Glu Cys Cys Pro Arg Leu Gly Ala Glu Ser Ala Asn Val
Cys Gly Ser Gln Gln Gly Arg Gly Gln Cys Thr Glu Val Arg Ala Asp Thr
Arg Pro Trp Ser Gly Pro Tyr Ile Leu Arg Asn Gln Asp Asp Arg Glu Leu
Trp Pro Arg Lys Phe Phe His Arg Thr Cys Lys Cys Thr Gly Asn Phe Ala
Gly Tyr Asn Cys Gly Asp Cys Lys Phe Gly Trp Thr Gly Pro Asn Cys Glu
10 Arg Lys Lys Pro Pro Val Ile Arg Gln Asn Ile His Ser Leu Ser Pro Gln
Glu Arg Glu Gln Phe Leu Gly Ala Leu Asp Leu Ala Lys Lys Arg Val His
Pro Asp Tyr Val Ile Thr Thr Gln His Trp Leu Gly Leu Leu Gly Pro Asn
Gly Thr Gln Pro Gln Phe Ala Asn Cys Ser Val Tyr Asp Phe Phe Val Trp
Leu His Tyr Tyr Ser Val Arg Asp Thr Leu Leu Gly Pro Gly Arg Pro Tyr
15 Arg Ala Ile Asp Phe Ser His Gln Gly Pro Ala Phe Val Thr Trp His Arg
Tyr His Leu Leu Cys Leu Glu Arg Asp Leu Gln Arg Leu Ile Gly Asn Glu
Ser Phe Ala Leu Pro Tyr Trp Asn Phe Ala Thr Gly Arg Asn Glu Cys Asp
Val Cys Thr Asp Gln Leu Phe Gly Ala Ala Arg Pro Asp Asp Pro Thr Leu
Ile Ser Arg Asn Ser Arg Phe Ser Ser Trp Glu Thr Val Cys Asp Ser Leu
20 Asp Asp Tyr Asn His Leu Val Thr Leu Cys Asn Gly Thr Tyr Glu Gly Leu
Leu Arg Arg Asn Gln Met Gly Arg Asn Met Lys Leu Pro Thr Leu Lys
Asp Ile Arg Asp Cys Leu Ser Leu Gln Lys Phe Asp Asn Pro Phe Phe
Gln Asn Ser Thr Phe Ser Phe Arg Asn Ala Leu Glu Gly Phe Asp Lys Ala
Asp Gly Thr Leu Asp Ser Gln Val Met Ser Leu His Asn Leu Val His Ser
25 Phe Leu Asn Gly Thr Asn Ala Leu Pro His Ser Ala Ala Asn Asp Pro Ile
Phe Val Val Leu His Ser Phe Thr Asp Ala Ile Phe Asp Glu Trp Met Lys
Arg Phe Asn Pro Pro Ala Asp Ala Trp Pro Gln Glu Leu Ala Pro Ile Gly
His Asn Arg Met Tyr Asn Met Val Pro Phe Phe Pro Val Thr Asn Glu
Glu Leu Phe Leu Thr Ser Asp Gln Leu Gly Tyr Ser Tyr Ala Ile Asp Leu
30 Pro Val Ser Val Glu Glu Thr Pro Gly Trp Pro Thr Thr Leu Leu Val Val
Met Gly Thr Leu Val Ala Leu Val Gly Leu Phe Val Leu Leu Ala Phe Leu
Gln Tyr Arg Arg Leu Arg Lys Gly Tyr Thr Pro Leu Met Glu Thr His Leu
Ser Ser Lys Arg Tyr Thr Glu Glu Ala

【 6 A 】

【 6 D 】

FIGURE 6D

gp100 and gp100M

1 MDL VIKRCLMLLA VIGALLAVGA TKVFNQDNL GVSRLRTKA WNRQLYPWT
2 *****
5 1 EAGRLDWRG QGVSLKNSND GPVILIGANAS PSIALNPPGS QKVLDPGVVI WNNYTIINGS
2 *****
10 1 QVNGSQPVYP QSTDDACIFP DGGPCPSGWN SKRSPFYVW KTWQYVQEL GGPUSGLSIC
2 *****
15 1 TGRAMLGTHY MEVTVYHRRG SRSYVPLANS SRAFTITDQV PFSVSVSLR ALDGGNKHFL
2 *****
16 1 RNQPLTFALQ LHDPSGYLAS ADLSYTWDFG DSGSLISRA LVVHTYLEP GPVTAQVVLQ
2 *****
20 1 ARLPITSQGS SPVPGTTDGH RPTAPAPNTT AGQVPTEVW GTTPGQAPTA EPSGTTISVOW
2 *****
21 1 PTEVISTAP WNPATASSTG MTENVPVSE VMCTILAMNS TPATGHTER EVSIVLSGT
2 *****
25 1 TAAQVTTTET VETARELPI PEPEGPDASS IMSTESITGS LGPILDTAT LRLVKRQVPL
2 *****
30 1 DCVLYRYGSF SVTIDIVQGI ESASILQAVP SGEQDAFELT VSCQGLPKE ACMEISSPGC
2 *****
31 1 QPPAQRLQOP VLESPACQIV LQGLKGGSG TYCLNVSILAD TNSLAVVSTQ LIMPQGEAGL
2 *****
35 1 GQVPLVIGIL LVLMANVLAS LIYRRIRMGQ DFTVQPLHNS SSHWLALPRI FCSCHIGENS
2 *****
36 1 PLLSQQVZ *****
40 Key
*-Identical amino acid residue
1-gp100
2-gp100M

【 6 E 】

FIGURE 6E

MART-1

Met Pro Arg Glu Asp Ala His Phe Ile Tyr Gly Tyr Pro
Lys Lys Gly His Gly His Ser Tyr Thr Thr Ala Glu Glu
5 Ala Ala Gly Ile Gly Ile Leu Thr Val Ile Leu Gly Val
Leu Leu Leu Ile Gly Cys Trp Tyr Cys Arg Arg Arg Asn
Gly Tyr Arg Ala Leu Met Asp Lys Ser Leu His Val Gly
Thr Gln Cys Ala Leu Thr Arg Arg Cys Pro Gln Glu Gly
Phe Asp His Arg Asp Ser Lys Val Ser Leu Gln Glu Lys
10 Asn Cys Glu Pro Val Val Pro Asn Ala Pro Pro Ala Tyr
Glu Lys Leu Ser Ala Glu Gln Ser Pro Pro Pro Tyr Ser
Pro

【 6 J 】

FIGURE 6J

ICAM-1*

mapssrpai pallvligal fppgnagts vpskvilpr ggsylvitcat scdqpkllgi
etplpkell lpgnnkvye lanvgedagp mcysncpddg staktfityr wtpervelap
lpwqpvqkn ltkrcqvegq aprantvrd lrgekelkre pavgepavv ttvlvrdh
ganfscrtel dirpvglelf entspypqil tfvipatppq lvsprvlewd tqtvtvcseld
glfpvseagv hlalqdqrln ptvtvgndsf sakasavata edegtqrlic avilngsqe
tiqvtiysf papnvlitkp evsegtevtv kceahprakv tlngvpaqpl gpraqlilka
tpedngsrafs csatlevagq lllhknqtrel rvlygpride xdcpgnwtwp ensqgtbmcc
awgnpapeik cikdgtfplp igeavtvtrd legtylczar atgegtrev tvnvlspzye
ivlitvvaas vimtagtlat ylynqrkik kyzlqgaqg tpmxptqtat pp

*mature sequence begins at residue 28 (q)

【 6 F 】

FIGURE 6F

MAGE-1

Met Ser Asp Asn Lys Lys Pro Asp Lys Ala His Ser Gly Ser Gly Gly
Asp Gly Asp Gly Asn Arg Cys Asn Leu Leu His Arg Tyr Ser Leu Glu
Glu Ile Leu Pro Tyr Leu Gly Trp Leu Val Phe Ala Val Val Thr Thr
Ser Phe Leu Ala Leu Gln Met Phe Ile Asp Ala Leu Tyr Glu Glu Gln
Tyr Glu Arg Asp Val Ala Trp Ile Ala Arg Gln Ser Lys Arg Met Ser
Ser Val Asp Glu Asp Glu Asp Asp Glu Asp Asp Glu Asp Tyr Tyr
Asp Asp Glu Asp Asp Asp Asp Ala Phe Tyr Asp Asp Glu Asp Asp
Glu Glu Glu Glu Leu Glu Asn Leu Met Asp Asp Glu Ser Glu Asp Glu
Ala Glu Glu Glu Met Ser Val Glu Met Gly Ala Gly Ala Glu Glu Met
Gly Ala Gly Ala Asn Cys Ala Cys Val Pro Gly His His Leu Arg Lys
Asn Glu Val Lys Cys Arg Met Ile Tyr Phe Phe His Asp Pro Asn Phe
Leu Val Ser Ile Pro Val Asn Pro Lys Glu Gln Met Glu Cys Arg Cys
Glu Asn Ala Asp Glu Glu Val Ala Met Glu Glu Glu Glu Glu Glu
Glu Glu Glu Glu Glu Glu Met Gly Asn Pro Asp Gly Phe Ser Pro

【 6 G 】

FIGURE 6G

MAGE-3

mplegsqhce kpeeglearg ealgvgage patesgeas sstivevtl gvpaseaspd
ppqspqgass lpttmnyplw sqsyedsnq eesgptdfpd lesefgaals kkvaelrvhfl
ilkysarepvt tkaemlgsvv gnwyffpvi fskassalql vfgielmevd pighlyifat
ciglisydgil qdnqimpkag lliivlaiaa regdcapcek aweelslev fegredsily
dpkkiltghf vqenyleyrq vpsdpacye flwgprialve tsykvvlhnm vkisgpphis
yplihewlir egee

【 6 H 】

FIGURE 6H

B7.1

nghtrrqgts psckpylnff qlvlaglash fcsqgihvhtk evkevatlsc ghnvsvaela
qriyvgqek kmvltmsgd aniwpeyknr tiffdtmnlv lvilalrpsd egtyecvulk
yekdsfkreh laevtlsvka dfptpslsdf eiptenlrri acatagfppe phlswlengc
elnainttvs qdpetelyav sskldfmmt nhsmcliky ghilrvnqfn wnttkqehfp
dnllpwait llsvngifvi coltycfapr crerrnrerl resrvp

【 6 I 】

FIGURE 6I

LFA-3

mvagsdegra lgvlsvcll hofgyfscfs qgiygvvyn vtchpsanvp lkevlkkqk
dkvaelsense ffrassfknr vyldtvegsl tiynltasse deymespnri edtmkffly
leslpeptit caltngsiev qcmipchyns hrglimyswd cmegckrns tslyfkmend
lpqkiqctls nplnttssi ilttoipssg hsrhryalip iplavittci vlymgilkc
drkpdrtan

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US2004/028751												
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 A61K39/00 A61K48/00 A61P35/00 C12N15/863														
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC														
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 A61K C12N														
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched														
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS, EMBASE														
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT <table border="1"> <thead> <tr> <th>Category *</th> <th>Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages</th> <th>Relevant to claim No.</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>P,X</td> <td>WO 03/095642 A (AVENTIS PASTEUR, LTD; TARTAGLIA, JAMES; TINE, JOHN, A; MOINGEON, PHILI) 20 November 2003 (2003-11-20) page 5, line 24 - page 6, line 27 page 17, line 3 - page 18, line 21 page 31; table III</td> <td>1-19</td> </tr> <tr> <td>P,X</td> <td>WO 03/080800 A (AVENTIS PASTEUR, INC; BERINSTEIN, NEIL; LOVITT, COREY; PARRINGTON, MAR) 2 October 2003 (2003-10-02) page 7, last paragraph page 19 - page 20 page 26, last paragraph - page 27, paragraph 1; examples 1-3</td> <td>1-19</td> </tr> <tr> <td colspan="3" style="text-align: center;">-/-</td> </tr> </tbody> </table>			Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.	P,X	WO 03/095642 A (AVENTIS PASTEUR, LTD; TARTAGLIA, JAMES; TINE, JOHN, A; MOINGEON, PHILI) 20 November 2003 (2003-11-20) page 5, line 24 - page 6, line 27 page 17, line 3 - page 18, line 21 page 31; table III	1-19	P,X	WO 03/080800 A (AVENTIS PASTEUR, INC; BERINSTEIN, NEIL; LOVITT, COREY; PARRINGTON, MAR) 2 October 2003 (2003-10-02) page 7, last paragraph page 19 - page 20 page 26, last paragraph - page 27, paragraph 1; examples 1-3	1-19	-/-		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.												
P,X	WO 03/095642 A (AVENTIS PASTEUR, LTD; TARTAGLIA, JAMES; TINE, JOHN, A; MOINGEON, PHILI) 20 November 2003 (2003-11-20) page 5, line 24 - page 6, line 27 page 17, line 3 - page 18, line 21 page 31; table III	1-19												
P,X	WO 03/080800 A (AVENTIS PASTEUR, INC; BERINSTEIN, NEIL; LOVITT, COREY; PARRINGTON, MAR) 2 October 2003 (2003-10-02) page 7, last paragraph page 19 - page 20 page 26, last paragraph - page 27, paragraph 1; examples 1-3	1-19												
-/-														
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.														
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "B" document member of the same patent family														
Date of the actual completion of the international search 1 April 2005		Date of mailing of the international search report 14/04/2005												
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Guarinos Vifials, E												

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		
		Int. Application No PCT/US2004/028751
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	ZAJAC P ET AL: "Phase I/II clinical trial of a nonreplicative vaccinia virus expressing multiple HLA-A0201-restricted tumor-associated epitopes and costimulatory molecules in metastatic melanoma patients." HUMAN GENE THERAPY, vol. 14, no. 16, 1 November 2003 (2003-11-01), pages 1497-1510, XP002322835 ISSN: 1043-0342 the whole document	1-5, 11-19
P,X	KARANIKAS VAIOS ET AL: "Monoclonal anti-MAGE-3 CTL responses in melanoma patients displaying tumor regression after vaccination with a recombinant canarypox virus." JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 171, no. 9, 1 November 2003 (2003-11-01), pages 4898-4904, XP002322836 ISSN: 0022-1767 the whole document	1-5, 17-19
X	WO 03/016342 A (AVENTIS PASTEUR LIMITED; EMTAGE, PETER, C., R; KARUNAKARAN, LIZA; PEDY) 27 February 2003 (2003-02-27) page 4, line 3 - page 10, line 21 page 23, line 3 - page 25, line 2 page 31, line 1 - line 16	1-19
X	TARTAGLIA J ET AL: "Therapeutic vaccines against melanoma and colorectal cancer" VACCINE, BUTTERWORTH SCIENTIFIC. GUILDFORD, GB, vol. 19, no. 17-19, 21 March 2001 (2001-03-21), pages 2571-2575, XP004231082 ISSN: 0264-410X the whole document	1-5, 11-19
X	OERTLI DANIEL ET AL: "Rapid induction of specific cytotoxic T lymphocytes against melanoma-associated antigens by a recombinant vaccinia virus vector expressing multiple immunodominant epitopes and costimulatory molecules in vivo" HUMAN GENE THERAPY, vol. 13, no. 4, 1 March 2002 (2002-03-01), pages 569-575, XP002322837 ISSN: 1043-0342 the whole document	1-5, 11-19
-/--		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US2004/028751

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	<p>HALUSKA FRANK G ET AL: "Immunologic gene therapy: A phase I/II trial utilizing autologous dendritic cells transduced with gp100- and Melan A/MART-1-encoding adenoviruses in advanced melanoma" BLOOD, vol. 98, no. 11 Part 1, 16 November 2001 (2001-11-16), pages 694a-695a, XP009045800 & 43RD ANNUAL MEETING OF THE AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, PART 1; ORLANDO, FLORIDA, USA; DECEMBER 07-11, 2001 ISSN: 0006-4971 the whole document</p>	1-3, 17-19
X	<p>XIANG R ET AL: "An autologous oral DNA vaccine protects against murine melanoma" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, NATIONAL ACADEMY OF SCIENCE. WASHINGTON, US, vol. 97, no. 10, 9 May 2000 (2000-05-09), pages 5492-5497, XP002963882 ISSN: 0027-8424 the whole document</p>	1,2, 17-19
X	<p>WO 00/34494 A (THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA REPRESENTED BY THE SECR) 15 June 2000 (2000-06-15) page 26, line 2 page 34, line 1 - line 12</p>	1-5, 11-19
X	<p>WO 96/11279 A (THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA, RE) 18 April 1996 (1996-04-18) page 7, line 12 - line 35 page 20, line 30 - page 21, line 7</p>	1-5, 11-19
X	<p>SPAGNOLI GIULIO C ET AL: "Cytotoxic T-cell induction in metastatic melanoma patients undergoing recombinant vaccinia virus-based immuno-gene therapy." RECENT RESULTS IN CANCER RESEARCH. FORTSCHRITTE DER KREBSFORSCHUNG. PROGRES DANS LES RECHERCHES SUR LE CANCER. 2002, vol. 160, 2002, pages 195-201, XP001205630 ISSN: 0080-0015 the whole document</p>	1-4, 11-14, 16-19
	-/-	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No. PCT/US2004/028751
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TSAO H ET AL: "Hypopigmentation associated with an adenovirus-mediated gp100/MART-1-transduced dendritic cell vaccine for metastatic melanoma" ARCHIVES OF DERMATOLOGY 2002 UNITED STATES, vol. 138, no. 6, 2002, pages 799-802, XP009045828 ISSN: 0003-987X the whole document	1-3, 17-19

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2004/028751**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 18 and 19 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US2004/028751

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 03095642	A	20-11-2003	AU 2003229429 A1 WO 03095642 A2	11-11-2003 20-11-2003
WO 03080800	A	02-10-2003	AU 2003228339 A1 WO 03080800 A2	08-10-2003 02-10-2003
WO 03016342	A	27-02-2003	WO 03016342 A2 US 2003113919 A1	27-02-2003 19-06-2003
WO 0034494	A	15-06-2000	AU 774076 B2 AU 1621800 A CA 2354024 A1 EP 1137792 A1 JP 2002531133 T WO 0034494 A1 US 2004019195 A1	17-06-2004 26-06-2000 15-06-2000 04-10-2001 24-09-2002 15-06-2000 29-01-2004
WO 9611279	A	18-04-1996	AU 712714 B2 AU 3998295 A CA 2201592 A1 EP 0789774 A2 WO 9611279 A2	11-11-1999 02-05-1996 18-04-1996 20-08-1997 18-04-1996

フロントページの続き

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

(74)代理人 100090468

弁理士 佐久間 剛

(72)発明者 ベリンスタイン, ニール

カナダ国 エム2アール 3ティー4 オンタリオ州 トロント スティールズ アヴェニュー
ウェスト 1755 アヴェンティス パストゥール リミテッド

(72)発明者 タータグリア, ジム

カナダ国 エム2アール 3ティー4 オンタリオ州 トロント スティールズ アヴェニュー
ウェスト 1755 アヴェンティス パストゥール リミテッド

(72)発明者 パーリントン, マーク

カナダ国 エム2アール 3ティー4 オンタリオ州 トロント スティールズ アヴェニュー
ウェスト 1755 アヴェンティス パストゥール リミテッド

(72)発明者 パニカリ, デニス

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02142-1119 ケンブリッジ ロジャース スト
リート 76

(72)発明者 グリッツ, リンダ

アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 02142-1119 ケンブリッジ ロジャース スト
リート 76

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA36 CA02 DA03 EA02 EA04 HA17

4C085 AA03 BA51 BA65 BA78 BA85 BB11 EE03 FF24 GG01 GG08