

(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.C1.

**C12N 15/09** (2006.01)  
**A61K 39/00** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

F 1

C 12 N 15/00  
A 61 K 39/00  
A 61 P 35/00

Z N A A  
H

テーマコード(参考)

4 B 0 2 4  
4 C 0 8 5

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)  
(86) (22) 出願日 平成16年9月3日 (2004.9.3)  
(85) 翻訳文提出日 平成18年3月6日 (2006.3.6)  
(86) 國際出願番号 PCT/US2004/028751  
(87) 國際公開番号 WO2005/026370  
(87) 國際公開日 平成17年3月24日 (2005.3.24)  
(31) 優先権主張番号 60/500,572  
(32) 優先日 平成15年9月5日 (2003.9.5)  
(33) 優先権主張国 米国(US)  
(31) 優先権主張番号 60/504,007  
(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)

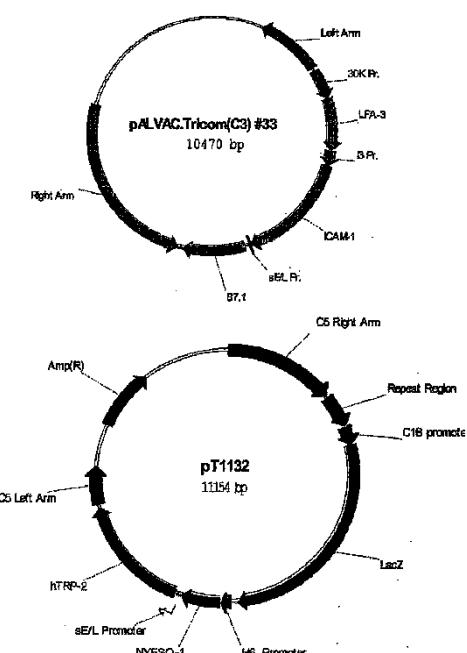
(71) 出願人 506076695  
サノフィ パストゥール リミテッド  
S A N O F I P A S T E U R L I M I  
T E D  
カナダ国 エム2アール 3ティー4 オ  
ンタリオ州 トロント スティールズ ア  
ヴェニュー ウエスト 1755  
(71) 出願人 503044204  
セリオン バイオロジクス  
T h e r i o n B i o l o g i c s  
アメリカ合衆国 マサチューセッツ州 O  
2 1 4 2 ケンブリッジ ロジャーズ ス  
トリート 76  
(74) 代理人 100073184  
弁理士 柳田 征史

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、該免疫原性標的是、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、ポックスウイルス、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、アビポックス、カナリアポックス、ALVAC、ALVAC(2)、鶏痘およびTROVACより成る群から選択されるポ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ポ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、ポックスウイルス、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。 30

**【請求項 9】**

ウイルスベクターは、ワクシニア、NYVAC、アビポックス、カナリアポックス、ALVAC、ALVAC(2)、鶏痘およびTROVACより成る群から選択されるポ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。

**【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ポ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、ポックスウイルス、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、アビポックス、カナリアポックス、ALVAC、ALVAC(2)、鶏痘およびTROVACより成る群から選択されるポ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ポ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ヤ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（IH C）、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て用いることにより、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ができる。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】オフリンガ（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】チャンバライン（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。10

**【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類を組み合わせて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。20

**【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產生、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、抗体產生の増加、抗原に対する親和性が高められた抗体の產生、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。30

**【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大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5,874,56040

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 (ウォルフェル (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-ESO-1 (国際公開第98/14464号 ; 国際公開第99/18206号 ; GenBankアクセスション番号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 (Hellstrom) 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 (ペール (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) (ゴーグラー (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) (ウォルフェル (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) (リッキンソン (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 (デット (Dietz) ら、Biochem.Biophys.Res.Commun.2000, Sep.7;275(3):731-738) ; HIP-55、TGF - 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 (スキヤンラン (Scanlan), M. 「ヒト腫瘍抗原の確認に関する血清学的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 si

10

20

30

40

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；スタークス (Starkes) ら、J.Thorac.Cardiovasc.Surg., 2001, 122(3):518-523；ディアス (Dias) ら、Blood, 2002, 99:2 179-2184）、VEGF受容体（すなわち、VEGF-R、flik-1/KDR；スタークス (Starkes) ら、J.Thorac.Cardiovasc.Surg., 2001, 122(3):518-523）、EPH受容体（すなわち、EPHA2；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）、塩基性纖維芽細胞増殖因子（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-E CGF；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-；ホン (Hong) ら、J.Mol.Med., 2001, 8(2):141-148）、エンドグリソ（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 (Roushati) ら、E.Nature Cancer, 2: 84-90, 2002）、トロンボスボンジン類（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（ツアン (Zhang) ら、Cancer Res., 2001, 61(16):6050-6054）、Wnt（ツアン (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、3、

5、1 1、2 1、5 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、ブ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-メチルブソイドウラシル、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-マンノシリルキューオシン、5'-メトキカルボニル-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、ブソイドウラシル、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。

## 【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。

## 【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ープログラム（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、「高ストリンジエント条件」および「緩和ストリンジエント条件（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「高ストリンジエント条件」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、サンブルック（Sambrook）、フリッシュ（Fritsch）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

10

20

30

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）。「緩和ストリンジエント条件」とは、「高ストリンジエント条件」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。緩和ストリンジエ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エント条件では、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、NaDdS<sub>0.4</sub>（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エンサ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

20

30

40

50

## 【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ки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ки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ки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。

## 【0016】

フランки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ましく、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ки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、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。

## 【0017】

特定の実施態様においては、フランки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

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ки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.U.S.A.,78:1444-1445)；メタロチオネイン遺伝子の制御配列(ブリンスター(Brinster)ら、1982,Nature 296:39-42)；-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.U.S.A.,75:3727-3731)；またはtacプロモーター(デボア(De Boer)ら、1983,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.,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、脾臓の腺房細胞内で活性化されるエラスターーゼI遺伝子制御領域(スイフト(Swift)ら、1984,Cell,38:639-646；オーニツ(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)；脾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-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-1-抗トリプシン遺伝子制御領域(ケルセイ(Kiesel)ら、1987,Genes and Devel.,1:161-171)；骨髄細胞内の-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、1875,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.Onco.,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ки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、エラスターーゼ、アルブミン、-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

10

20

30

40

50

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を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；サンブルック（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）、「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。

#### 【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。

#### 【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。

#### 【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。

#### 【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

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。

## 【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。

【表1】

表I

元の残基	例示的置換	好みの置換
Ala	Val, Leu, Ile	Val
Arg	Lys, Gln, Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser, Ala	Ser
Gin	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro, Ala	Ala
His	Asn, Gin, 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

## 【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、そのような活性に對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

10

20

30

40

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ー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、-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と共に刺激成分 (co-stimulatory component) (例えば、CX C10 (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】

10

融合モチーフは、小胞体などのようなMHCプロセ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ー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)、ショウジョウバエのアンテナペディア遺伝子由来の配列 (シュツツェ (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】

20

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、これらの変異体。

## 【0033】

30

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；チエン (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；ヴルフィング (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 (Avversa) 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

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: 558-565 ; ジャン ( Jang ) ら、 Biochem. Biophys. Res. Commun., 1998, 242: 613-620 ; カワマタ ( Kawamata ), 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 ), 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 ; ベルゾフスキイ ( 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-<sub>α</sub> または IFN-<sub>β</sub> 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

## 【 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<sub>α</sub> ) 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。  
30

## 【 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 ( Sutmuller ) ら、 J. Exp. Med., 2001, 194: 823-832 ) 、抗 CD25 ( ストゥミュラー ( Sutmuller ) 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 ( Sutmuller ) 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もできる。  
40

## 【 0037 】

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- $\alpha$ （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。

### 【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（セブティ（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、BELO（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、ビンクリスチン、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、ビンクリスチン、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も使用することができる。

### 【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- $\beta$ ）、サイトカイン類（すなわち、IFN- $\alpha$ 、- $\beta$ 、- $\gamma$ 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

10

20

30

40

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；マスピン；PAI-1などのプラスミノー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、ビンプラスチン、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)、フランボン酢酸、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)、イルソフランジン(irsofladine)、ラジシコール(radicicol)、シクロスボリン、カプトブリル、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の機能または產生を干渉する化合物(すなわち、SU5416またはSU6668(スージエン(Sugen)社、PTK787/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、スタンロスボリン(stanrosporine)誘導体類、ゲニステイン、EMD121974(メルク(Merck)KgaA)タイロホスチン類(tyrophostins)、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(オキシジーン(Oxigene)社)、Eph受容体阻止剤(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)、ベンゾジアゼピン類(benzodiazepines)、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uPA 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、Bativistat、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、例えは

10

20

30

40

50

、「分子クローニング：実験室マニュアル（Molecular Cloning:A Laboratory Manual）」（サンブルック（Sambrook）ら、1989年、コールドスプリングハーバー・ラボラトリーア・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、ゲッデル（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】

10

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產生するためには、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產生されたベクターのビリオンを利用してNIH3T3細胞などの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產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「產生細胞系（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。產生細胞系を操作してウイルスベクターを產生させ、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、本發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】

20

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（Rosenfeld）,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（Prevèc）,L.、1992,Biotechnology,20:363-390）、および動物モデル（ストラットフォード・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（クアンティン（Quantin）,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】

30

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

40

50

8-432；グロリオーソ (Glorioso) ら、1995, Mol. Biotechnol., 4(1):87-99；グロリオーソ (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ポ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ポックスウイルスとしては、ワクシニア、NYVAC、アビポックス、鶏痘、カナリアポックス、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<sup>-</sup>; 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関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リバース、pMPC6H6K3E3およびpC3H6FHVBも、それぞれ、アクセション番号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】

さらに別の有用なポ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ワクチン株からブラーククロー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（ノヴァジエン (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、TOPO (商標) TA cloning (登録商標) キット、PCR2.1 (登録商標) プラスミド誘導体類；インヴィトロジエン (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。細菌由來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 (Lactbacillus)、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。

#### 【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、CaPO<sub>4</sub>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、ここで、脂質部位は14～18個の炭素原子を有しており、特に好ましくは、16～18個の炭素原子を有しており、飽和している。代表的なリン脂質の例としては、卵ホスファチジルコリン、ジパルミトイルホスファチジルコリンおよびジステアロイルホスファチジルコリンなどが挙げられる。

#### 【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11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	モノホスホリルリビド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)
	リポソーム	(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	フロイント不完全アジュバント	(Jensen et al., 1998)
	微小流体エマルジョン	MFS9(Ott et al., 1995) SAF(Allison and Byars, 1992) (Allison, 1999)
	サボニン	QS-21(Kensil, 1996)
合成品	ムラミルペプチド誘導体	Murabutide(Lederer, 1986) Threony-MDP(Allison, 1997)
	非イオン性ブロック共重合体	L121(Allison, 1999)
	ポリfosファゼン(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/ACTIMD(J. Immunol., 168(10):4914-9)

10

20

30

40

## 【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。

## 【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ヤー、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ヤー」または「生理的に許容されるキャリヤー」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し、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。

## 【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ヤ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、ポックスウイルスベクターは、投与量あたり $1 \times 10^6$ 個の感染性粒子を含む組成物として投与することができる。従って、投与用式は多岐にわたるが、標準的な方法を用いて型どおりに決定することができる。

#### 【0057】

プライム - 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、強力な免疫学的応答を誘導することが示されている。本発明の実施にあたっては、様式を多様に組み合わせることが適切である。

#### 【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、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润剤、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リルおよび溶媒としては、水、リング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。

#### 【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。

#### 【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

10

20

30

40

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、乳糖またはデンプンなど）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を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ヤー、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一緒に、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、適切なキャリヤー、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

標準的な技術を行い、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( チエン ( 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( チエン ( 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( チエン ( 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：

## 【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<sup>b</sup>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<sup>b</sup>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<sup>b</sup>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<sup>b</sup>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

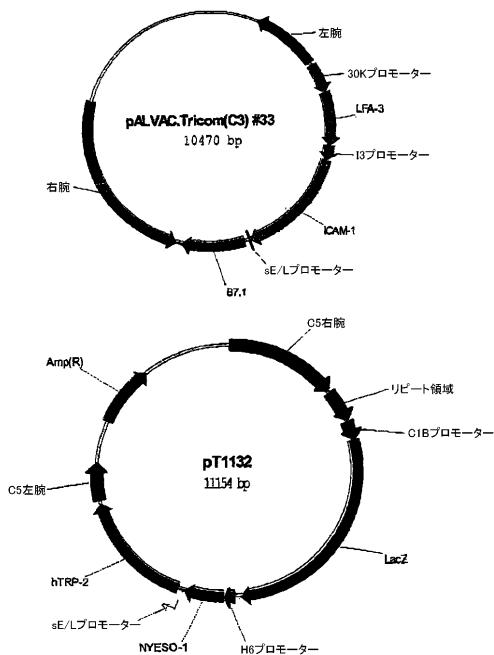
【図4】プラスミドpT3217の図

【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 0GGAATTTGAA AACGGTATAA TTTCGGTAA ATTCCCGTTA ATTTCTGGT  
5 CCTTGTACAT TTSCTGAAAT AAACAAATT TARGGCAAT TTAAAACAA  
AAATCGCTC ATTTTTAAAC CATATGGCGG RANTGGCA RATTCCCTAT  
10 TTATGTCGC TAAANNTTC GTTATCCGG TTATGCCGT TTAGGGATA  
AAATCAAAAC AATAGACCGA TAGAGGTT AGTGTGTTT CAGTTGGA  
15 TTATGGCTAA TTATGTCGC TTATCCGG TGTACACAT TGTACACAT TGTACACAT  
GTTCTCAGGT GATTAATTCG TGCTCCGGG GTCGCGCTT CCGCCGTTT  
20 CGCTCTACGA TGCGCTGGG CCACACTGGG AACCCATCAC CTAAATCAGT  
GGCAGATAGT CCGCGTACG GGTGATCAC TTGGTAGTG GATTAGTC  
25 TTATGGGGT CGAGGTCCG TAAAGCACTA ANTCCGAC TAAAGGGAG  
AAANACCCCA GTCGACGGC ATTTCGGGT TTACCGTGT GATTCCCG  
30 CGCGCTTAA TTATGTCGC TTATCCGG TGTACACAT TGTACACAT TGTACACAT  
GCGGCGGAGA ACCGJAGGA CGCGCGCTGA CGCGCGCTGC AGTGTGAGG  
35 TTGGCTTCTC TTGGCTTCTC CGCGCGGAGA CGCGCGGAGC TTACACATCGC  
40 GNACGGCTGC CGCTAACAC CACACCGGC GCGCTTAAAC CGCGCGTACA  
CAGTCGAGG CGCGATGGG CTTGGCGCG CGCGCAATTAC CGCGCGGAGT  
45 CGCGCGCG CGCGATGGG CTTGGCGCG CGCGCAATTAC CGCGCGGAGT  
CGCGCGCG CGCGATGGG CTTGGCGCG CGCGCAATTAC CGCGCGGAGT  
50 GATCGCTGC CGCGATGGG CTTGGCGCG CGCGCAATTAC CGCGCGGAGT  
CTACGACACG GATTAAGGC AGTGTGAAAT CGACACACTA TAGGGCGCAT  
55 CGACGTTCCG TTATGTCAC CAATTCGGT CCCAAAAAGG TGTGTGTC  
60 TGTAAAGG ACGGCGAGC AATGTGAAAT CGACACACTA TAGGGCGCAT  
ACGATTTTC CGCGCTGC TTATGTCAC CAATTCGGT CCCAAAAAGG TGTGTGTC  
65 GCGATGCGG CGCGCGCG CGCGCGCG CGCGCGCG CGCGCGCG CGCGCGCG  
ACCGCTGG CGCGCGCG CGCGCGCG CGCGCGCG CGCGCGCG CGCGCGCG  
70 Left Arm  
751 CGTATAGCAT ACCGATATA TTATGTCAG TGTAGGTTA CTAAATATA  
GCAATGCGT TGTGATATG AATAGCATTC ATCATCCATA GGATTTTAT  
801 ATTCGATACA GMAATATACG TTGTGAAATCA ATCTGCAAT TTCTCTATTA  
TAACTGATGTT TTATGTCAG TGTAGGTTA AGAGGATAAT  
851 ATTTCTAAG TAAAGACG GATACCCAG TATATAGTAA ATAATCCATA  
TAARAGTTTC ATTTCGCG CTTAGGGATC ATTAATCCTA TATAGGTTA  
901 TCAATATAGT ATGTAATGTTA TGTAACTAA TTTATAGGTA ACTTTTATA  
ACTTTTATA TCAATTACG TATAATGTT ACATTTGTTA ATATATCCTA  
951 ATTCAGGAA GGTAAATTI TACATACTA TATAGGTTA TTACAGTAA  
TTAGGCTCTT CGCTTAAAGA ATGATAGATG ATATCCGATA ATATGCTATA

1001 Left Arm  
TAATAATATA CTGCAAAAC TGTAGGAGT AAAAGGAA GAACAACTTT  
5 ATTTTTATAT GRACGTTTG TACATCTCA TTTCCTTTT CTGATTTAA  
Left Arm  
1051 TACAAATGTC TTACCAAATG CCGGATGGA AATTTCTAG TAACTGATAA  
ATGTTTACG AAATGTTTTT AGCGGAACT TAACTGATAA AAACATATA  
10 Left Arm  
1101 ATGTTAAAG GTATGAAAT CACAAACGG AAATCGCTA TTCCCAAGTT  
TACATTTTC CTAACTTATA GGTGTTGCG TTACCGCAT AGGGGTCAA  
Left Arm  
1151 GAGAACCGT ATAATAGATA TATTCTGAGA TACCTTATAA  
CTCTTGCGCA TATTATCTAT ATAAGAGATC ATGGTAAATA TGGGATATT  
20 Left Arm  
1201 GGTGAGGT TCCATGATG CCTACTTAA AACTAGAGG APACGACAT  
CGAACATCAA AGGATTTACG CGATGATCT TTGATCTTC TGTATGTA  
Left Arm  
1251 ACTAACGGT CGGAGAGA ACTACTCATC GTATACATC IGGTCTAC  
TGATGCGGT ATGGCTCTCAT TGTAGGAGT CNTATGGG ACAGGATG  
Left Arm  
1301 ATGACACTG ATGGTAAACG CGATGATGAG TGTGGTATAA AGGTTATAA  
TCACTTGACG TACATGATG AGTGGATTT AGTGAACAT ACACCATATA TGTATGTA  
Left Arm  
1351 ACTAATTT ACTGTTGTT TATTCTGAGT ATAATCTATA TGTGTTAAA  
TGATGATAG TGATGATAA ATAAGCTAA TATATGATAT ATCATATTT  
35 Left Arm  
1401 AATTTATTTT GUAATTTAT ATTTATTTAT TGATGTTATA AGGTTATAA  
TTATATATA TATATATAA ATAATGATA AGTCAACAT TTCAATTT  
Left Arm  
1451 CTATATATAT GTATGCTTA TTATGACTT ATTTGAAAG TATGACTAT  
GATATTTATA CATAGAGAA AAATTTGAA TATATCTTC ATACAGATA  
Left Arm  
1501 TCACTTATAT TTGTTTTATA AGCTTAAAT CTACTGATT GTATATAAG  
AGTCAATTA ACAAAATTTT TTGGATTACG GTATGATTA CTATATTAC  
Left Arm  
1551 ATATGCTAT ATATGCTAT ATATGCTAT TGTATGTTAC TGTATGTTA  
TTATGATTA TTATGCTAT ACATCATATA ATTATGTT AGTGTAACT  
Left Arm  
1601 CTATTTAGCT ATAATACCC TAAGGTTAGC GCGCGCACTA GNGGTTGCA  
GTTTATCGA TTATTTGGG ATTCATCGC CGGGCGTGT CTCCATAAGCT

30K Pr.  
1651 CAAACACCA TAAATCCCTT CTCYTCATC CGGCAATTAA ATTCGCTATA  
GTTTGGGTT ATTAAGGGAA GAGAAGTATG CGCGCTTAAAT TAACCGATA  
1701 GATATATAGG AGATGTTGAT GTTACGCGC CTGCTCAAT ACCGATTA  
CTATATTTT TGTAACTCTA CAATGCGA GCGACGTTA TGTGTAAAT  
30K Pr.  
1751 TATCTTATGCT GATATGCTT AAAATGTTACT ATTTGAGTGA CGCGAAATG  
ATAGATAGA CGTATGACG TTTCACATC TAACTCTACTA CGCGCTTATC  
30K Pr.  
1801 CTATATATAGG TATGAAAGG CAGTGTGAT ACCAAGCTGA CTCTTATACA  
GTTCTTACTA ATATGTTCTG CGACACATTA TGTGTGACT GAGGATATG  
30K Pr.  
1851 AAGAGCTCG ATATGAGCTA TATATATAT TGGGATGAA TAAATGCAA  
TTCTGAGAC TATATGAGT CGTATGTTAT ACCCTACTTT ATTAATGTTG  
30K Pr.  
1901 AACAAAGGG CTCAAGCTA TGTACGCTA TTGTGTAAAG AAAACACTAT  
TTGTTCCCG GAGTGTGAT TGTACGAGT AACACATTAA TTTTGTGATA  
30K Pr.  
1951 TAGATTTCTC CACATTTTG TGTATGTTAC ACTACTAAAT TGTAAATAT  
ATCTGAGGG GTTAAATACG ATATGTTG TGTATGATA ACCCTTTATA  
30K Pr.  
2001 GATAGATATA TTATGTTATA ATTAAGATAGA TTTCCTTATAA TCTCTCTAT  
CTATCTTATA ATATACACATA TATTCCTATCT ATAGGATAC AGATGAGTA  
30K Pr.  
2051 TGCATGCTGG GAAATTCAGT CAGCTTCCCG GGCATGGTG CTGGGAGCGA  
ACGTGACRCC CTTAAGCTA CTGCGAGGG CGTACACAC GACCCCTGGCT

## HLFA-3

		hLFA-3		hLFA-3	
2101	5	CACCGGCGGGG GGCCTTGGGGG TCCCGAGCCT GGTCTGGCGG CTGGACTGCT GGGCCCGGCC CGGGACCCCC AGCGTCGCA CCAGACGGAC GACGTGAGCA hLFA-3	2801	TGAGACGAAA AACGACGAG -ACCAAACCTC ATTGTGATGG CTCGACCGGG ACAGCTCTT TTGCTCTGTC TTGGTGAGG TTAACTAACCG AGCTTGCGCC hLFA-3	13 Pr.
2151	10	TTGGTTTCAT CAGCTGTTT TCCCGACAAA TATATGGGT TGTTGATGG ACCCAAGTA GTGCGACAAA AGGGTTGTTT ATATACCAACACATACCC hLFA-3	2851	AATGTTACATT CTAGCTGAGA ACCCGCGATC CGCTCCCGAT CAAATCCTCT TTACATGATA GATTCGATGCT TTGGGGCGTAG GGAGGGTAA GTTAAAGTGA hLFA-3	13 Pr.
2201	15	AAATGTTACCTT TCCATGACCC AGCGAGCTG CCTTTAAGG AGCTCTATG TTACATGAA AGGTACMIGG TTGCTTACAC GGAATTTTC TCCAGGZAC hLFA-3	2901	TGAGACGAAA TAAATAYAAA CGCTCGGGGG TTTCGCGATC CGGAACCTG ACCTGTTCTT ATTATTTTTT GSGCGACCC AAAGGCTTACG GCTTGTAGCA hLFA-3	13 Pr.
2251	20	GNAAAARCRCA ARGGATTAAGA TTGGCAGACT CGGAAATTTCT ATTGAGAC CTTGTGTTG TTGGCTTATTA ACCTGAGA CCTTTAACG CTAGACTC hLFA-3	2951	ACATCATGCA GTGGTTAAC AAARACATT TTATTCCTAA ATTAGAGTAA TGTTAGCTG CACCATTTT TTGGTTGAAA ATATAGGATT TTACTTATT hLFA-3	13 Pr.
2301	25	CTTCTCTCATC TTITAAATAT AGGGTTTAT TAGACACTT GTGAGCTAC GAAGAGTAGA ANAATTTTTA TCCCGAAATTA ACCTGAGACA CAGGCGATCG hLFA-3	3001	GTGAGAGATA AGAGCTTATTTT ATTACAAAGG AGGTTTATTC CCTTTATAA TTATAGTATA TATGTTGTA CCTTAACTTAA TCCAAATTTAG hLFA-3	13 Pr.
2351	30	CTGACGACT ACACATTTACG AGCAAGTGTG AGAGATGATG ATGAAATGGA GAGTGTAGA TTGTTGATG AGGTACGTTA CTGACTACCA TACTTACCT hLFA-3	3051	AATCCCGCGG GTCTATGGCT CGACGAGCGG CGCGCGCGGC CGTGGCGGAC TTAGGGCGCG CGGTACGAG GGTGCGCGGG GCGCGGGCGGC GACGGCGCTG hLFA-3	13 Pr.
2401	35	ATCGCCCAAT ATTACTGATA CCATGAAGT CTTCCTTGTG TGCGTGTGAT TAGCGGTTTA TAATGACTA GGTACTCTA GAAGAAATAA CACGGCTCA hLFA-3	3101	TCGCTGCTCT GCTCGGGGCT CGTTCGCGAG GACCTCGGAA TCCCGAGCA AGGACAGGA CGAGCGCGCA GACAGCGCTT ACGGCGCTG hLFA-3	13 Pr.
2451	40	CTCTICATC TCCCGACACTA ACTTCTGGCT TGACTATGG AGCAATGGA GAGAGGTAG AGGGTGAGT TGAAACGCTA ACTGAGTACCC TTGCTRACTT hLFA-3	3151	TGTTGTCCTC CCTCGAAAGT CATCTCGGCC CGGGGGAGGCT CGGGGCTG AGACGAGGAGG GGGATCTTCA GTAGAGCGGG CGCCCGTCCGA GCACAGACCA hLFA-3	13 Pr.
2501	45	GTGCCAATGG TGATACAGG GCAATTACAGG AGCCCATCGA GACTTATAAT CAGGTAGGT ACTATGTTCT CGTATTTTGTT CGTGTACTCTT CTGAAATTAA hLFA-3	3201	GACATGAGC ACCTCTCTG ACACCGCCAA GTTGTGTTGGC ATGGAGACCC CYTGACTGTC TGGAGGACAC TGGTGGGGTTT CHACAAACCCS TATCTCTGGG hLFA-3	13 Pr.
2551	50	GTACATGAGT GTTTGTCCTA TGGAGCAATG AAAACGTAAC TCAACCGATA CATAGTACCC CRACAGAGT ACCTGCTTAC ATTTCGATTC AGTTGGCTAT hLFA-3	3251	CGTTCGCTRA AAAGGAGTGT CGTTCGCTTG GGAAACACCG AGAGGTTGAT GCAACGATT TTTCCTAAC ACAGGGGGAC CCTTGTGTCG CTTCACACATA hLFA-3	13 Pr.
2601	55	TAATTTTAA GATGAAATG GATCTCAC AAAAATACAA GTTACTCTT ATATTAATTTT CTACCTTTA CTGAGTGTG TTGGTAACT CACATGAGA hLFA-3	3301	GAATGAGCA ATGTCGAAAG AGATAGCCAA CCATGTGCTG ATTCACACTG CTTGACTCTT PACACGTTCT TCTATCGGTI GTGTTACAGCA TAAGTTGAC hLFA-3	13 Pr.
2651	60	AGCAATCCAT TATTTAATC AACATCACAA ATCATTTGAGT CAACCTGAT TGCTGAGGT ATTAATTTATC TTGTGAGTGT TAGTAAACT GTTGGACATA hLFA-3	3351	CGCTGTGTCG CGACGAGAG CTAACACCTT CCTAACCGTG TACTGGACTC GGGGTACCC GTCACTGTC GATTTGGAA GGTGTTGGAC CGTACCTGAG hLFA-3	13 Pr.
2701	65	CCCAAGGAGC GGTCACTTCA GCAAGAGATA TCACTTTAAGA CGAACAGAT GGGTGCTCG CGAACAGT CTCTGCTTAC AGCTGAAATG GCGTCTGTA hLFA-3	3401	CAGAACGGG GGAACCTGCA CCCTCCCTT CTGGACGGG AGTGGCGAAG GTCTTGCCC CCTTGACCGT GGGGGGGG GGACGCTGG TCACCGCTTC hLFA-3	13 Pr.
2751	70	TACGCTTATR TACCAAGT ATTGTGCGTGT ATWGAATGG TATTCGAA ATCGCTTAA ATGTTGATCA TACACAGCA TATACATACC ATAGACCTT hLFA-3	3451	AACTTACCC TACGCTTCA GTTGGAGGGT GGGGCGACCC GGGCACACCT TTGGAGTGGG ATGGAGCTGT CCACCTCCCA CCCCGTGGGG CGGGGTGGA hLFA-3	13 Pr.
3501	75	CAACGGTGTG CTGCTCCCGG GGGAGGAGGA GCTGAARAGGG GAGGACAGCG GTGGCACACG GAGGAGGAC CGCTCTTCTCT CGCTCTGGCG CTGCGTCAC hLFA-3	4201	CAAGCTTATAC ACRAAGACCA GACCGGGGGG CTTCGGNGCC TTGTATGGCC GTGGGAATTTG TTGTTCTGTG CTGGGGCCCTC GAAAGCACAGG ACATACCGGG hLFA-3	13 Pr.
3551	80	TGGGGGAGGC GCGCTGAGCTT AGCAGACCGG TGCTGGCTGAG GAGGAGCAGC ACCCCTCGG CGGAGCTCCAG TCTCTGTCGAC AGCAACACTC CTCTCTAGTG hLFA-3	4251	CGGACTGACG GAGGGGGTAT CGCCGGGAA CTGGACGCTGG CGCGGAAATT GGCTGACTCTT CTCTCTGCTAA CGGGCGCTTAA GACCTGACG GGTCTTCTTA hLFA-3	13 Pr.
3601	85	CATGGAGCCA ATTTCCTGCTG CGGCACTGAA CTGGACCTTGG GCCCCCAAGG GTACCTCTGG TTAAAGAGCA GCGCTGACTT GACCTGAGCG CGGGGGTTCC hLFA-3	4301	CCACGAGACG TCCATGTCG CAGGCTTGGG GGAAACCCATT GCGGGAGGTC GGGTCGCTG AGGTTCACCS GTGCGAACCC CCTTGGGGTA CGGGCGCG hLFA-3	13 Pr.
3651	90	GCTGGAGCTG TTGAGACAA CCTCGGCCCC CCTACCGCTG CAGACCTTG CGACCTCGAC AACCTTCTG CTGAGGAGCTTGG GAGGCTGGAG GTCCTGAAAC hLFA-3	4351	AAAGTGTCTAA AGGGTGGAC TTTCCTACCTG CCTACGGGGG ATTCAGTAC TTCAACAGATT TCCPACCTG AGAAGGTGACG GCGTAGCCCC TTAGTCAG hLFA-3	13 Pr.
3701	95	TCTCTGCAAG GACTCCCGA CAACTTGTCG GCGCCCGGGT CCTAGAGTG AGGAGCGCTG CTGAGGAGGT GTTACAGNT CGGGGGCGCCA GGATCTCAGAC hLFA-3	4401	TGCTACTGCA GTTTCTTGGG GAGCTTACTCT CTGGTGGGGCC AGGGAGACTC ACAGTGTAGCT CTGAGACCTCC GGTCTCTGGA GACAGCGGGG TCTCTGTG hLFA-3	13 Pr.
3751	100	GACACGCGAG GGAACCGGGT CTGTTCCCTG GACGGCGCTGT TCCAGCTGTC CTGTCGCTCC CCTGGACACCA GACAGGGGAC CTGGGGCGACA AGGGTCAGAG hLFA-3	4451	AAAGGGGGATG CACCCCGAGG GTGACCGGTGA ATGGGTGCTC CGGGGGGAT TTCCTCTTCA GTGGGGCGTC CACTGGCACT TACACACAGG GGGGGCCATA hLFA-3	13 Pr.
3801	105	GGGGCGCCGG GTGCGCCCGG CAGCGGGGGA CGCGAGGTTG AACCCAGAG CTCTGGGGCTT CAGGTGGACG GTGACCGCTT GTGCTCAGAC TTGGGGTGTG hLFA-3	4501	GGAGTTCGCA TCTACCTGT CTGAGGAGCC GAGTAACTTAA TGGGACTTG CTCTACAGTT AGTATGAGCA CCAACCTGGG CCTCTGAGT ATTCCGGTGG hLFA-3	13 Pr.
3851	110	TCACTCTTGG CAAAGACATCC TTCTCGGGCCA AGGGCTCAGT CAGTGGAGCC AGTGGATGATCA GTTGTGAGG AAGAGCGCGT TCCGGAGTCA GTCACTACGG hLFA-3	4551	AGGGCTCAGC AGGTACCTCT ATAAACCGCA GGGGAGAGTC AGAAAGATCA TCGGAGCTG CGCAGCTGAGA TATGGGGGGG CCTCTTCTAG TCTCTTATAT hLFA-3	13 Pr.
3901	115	GGAGAGGAGC AGGGCGACCA CGGGCTGAGG TGCGACGAGA TACTGGGGAA CGTGTGGCTG TCCCGTGGGT CGCGACGCTG AGACGGCTAC AGGGACCTT hLFA-3	4601	GRCTACACAA GGCGAAAAAA GGGACCCCA TGGAGACGCA CACACAGCC CTGATGTGT CGGGGTCTT CCTCTGGGGT ACTCTTGCTT GGGGTTGG hLFA-3	SE/L Pr.
3951	120	CCAGACGCGAG GAGACATCCG AGCAAGTGTAC CATCTACACG TTTCGGGGC GTGTCGGCTG CTCTGTGAGG GTCAGCTGAGT GTAGAGTGGC AAAGGGCGCG hLFA-3	4651	AGGCGCCCG GAGCTTACAT GTAGCTTAA AAAGGAATTT TTATTTTTT TGGGGGGAA CTCTGAGCTA CATGAAATT TTACTTTAA AATAAAATAA hLFA-3	SE/L Pr.
4001	125	CCACAGCTAT GTCTGAGGAG CGAGGAGGTG CAGAGGGAGC CGAGGGAGCA GGTGTGACTA AGCTGCTTCG GGTCTTCAAGA GTCTTCCCTG GTCTCCACTG hLFA-3	4701	TTTTGGAAT ATAAATAGC TGGAGCTGAA ATTTCTGCA GGGGGGGG AAAACCTTA TATTCTTATG AGCTTCAGCT TTAAGGAGT CGGGCCCG hLFA-3	hB7.1
4051	130	GGAGAGTGTG AGGGCGACCC TAAAGGCGAGG GTGAGCTGAGA ATGGGGTTC CACTTCACAC TCCGGGGTGG AGCTGGTGTG CACTGAGCT GACGGTACGG hLFA-3	4751	ATGGGACACA CACCGAGGCA GGGACACATC COATCCAGT GTCCACTACT TACCGCTGTG GTGCTCTCTG CCTCTGTGAGT GTGAGGTGTC CAGGTATG hLFA-3	hB7.1
4101	135	AGCCACGCC CGCGAGCTTC TCCGGCTCTG CAACCGTGA GGTGGCGGC TGGGGTGGGT GAGCCGGGCTT CGCGGGTCA GAGGAGCTTC CGGGGGGGT hLFA-3	4801	CAATTTCTT CAGCTCTTGT TGCTGGCTG TTCTTCTGA TTCTGTTGAG GTAAAGATA GTGGAGACAC AGGACGAGAC AGAAAGAGTG AGAACAGTC hLFA-3	hB7.1
4151	140	AGGACAGCGG CGCGAGCTTC TCCGGCTCTG CAACCGTGA GGTGGCGGC TGTCTGGGG CGCGGGGGT CGCGGGTCA GAGGAGCTTC CGGGGGGG hLFA-3	4851	GTGTTTACCA CCTGACRAGG GAGTGGAGAC GGTGAGCTG CACATGAGCT GCACTGAGGAGG CCTCTGTTTC TCAACGCTTGC hLFA-3	hB7.1

	HB7_1	HB7_1
4901	GCTGCGAATG TTTCGTGAGA AGACGCTGGCA GAAACTCCGA TOTACTGCC CCNGTGTAC AAAGGAACT TCTGACGCT GTTGAGGCT AGGTGACGGT hb7_1	5601 GGTGACCCCCC FCDTAAAGG CTTTCTAGGT TTTRGTTTAGG GGCTSCAGGA CACATCGGGG ACATTTTC GAAAGATCCA AAACAAATNC CGCACSTCC 5 5651 ATTCCTCGAG GGATCCGGAT TTTTATGACT AGTTAATCCA ATAAGAACCA TAAGGAGCTC CTIAGGGCTA AAAATACGTA TCATTAGTT TATTTCGCT Right Arm
4951	AAGAGGAGAC AAATAGTGTC TGACTATAGT GCTCTGGAGA ATGAGATAAT TTTCCTCTTC TTTCACACG ACTGATRACTA CAGACCTCTA TACTTATATA hb7_1	5701 TAACAGCGATP TGCTTGGCTA TCGTTACAAA ATGGCAGGA TTTTGTGTA ATGTTGGATA AGGAAACGGT AGGGAGTTT TTACGCTCTT AAAACACAT Right Arm
5001	GGCCCGAATG CAGRACCGG ACCAACCTTG ATAATACATA TARCCPCTCC COGGGGCTAT GTTCTTGGCC TGTAGAAGAC UATGGAGGAT AGTCGAGGG hb7_1	5751 ACTAAGGCAC ATATCTGCGA ATGAAAAAAA TAGTAGAAG AGATACTTT TGATTCGGGTT ATGAGACGGT TACTTTTTT ATCATCTTTC CTATGATCAA Right Arm
5051	ATYGGATGATCC TGGCTTGCG CCCATCTGAC GAGGSCACAT AGCAGTTGT TAACACTAGG ACCCGAGACG GGGTAGACTG CTCCCGTGTG TGCTCTACA hb7_1	5801 TAATGGGGATT AGATCTTAA GGTAGGGGG ATTTAGTAAAG CGGGCAGCT ATTACCTCTA TCTACANTO AGGGGACCC TTATATACATT GACCGCTGAG Right Arm
5101	TGTTCTGAG TAGTAAAGG AGCGTTCAGA CGGGGACACG CTGGCTGAG ACGAGACTTC ATACCTTTTC TGCGAAAGTT CGCCCTCTG GACCGACTTC hb7_1	5851 GTTAACTTTT AGCGACCTTG GTTATGATCTC GATGTTACAG ATTATATAA CAATGAAATA TGCGCAGATC CAATCTATGA CTACAACTTC ATTATATAA Right Arm
5151	GGACGTTGG AGCTGAAAGT GACTCTCTTA CACCTAGATA ATCTGACTTT ACTGCTAGG TGCTTTTC TGCGAAAGTT CGCCCTCTG GACCGACTTC hb7_1	5901 TGTTACGATAA ATATACGTA CAGGAGCTGA TATTTCCTCT CTTAACTTC ACATGTTGTT TTATACACTT GTCCTACACT ATAAAAAGGA GTTATTTGAG Right Arm
5201	GAATTCCTAA CTTCATAATA TAGAAGGATA ATTTGCTCA CTCCTGGGG CTTTAAGGTT GAAGATTATA ATCTCTCCAT TARACGAGTA GGAGACCTCC hb7_1	5951 TTGGAATGGC AAATAGTACGTA CAAATGTTATA GATTGAAAAA TTTCAAAAG AACTCTACGTT TTATACACTT GTTACACTAT CTAACTTTT AAAGTTTTTC Right Arm
5251	TTTCCAGAG CCTCACTCT CGCGCTGGG AAATGGAGA GAATTAATG AAAGGCTTC GGAGTGGAGG GGGACACCT TTACCTCTA CTTAACTAC hb7_1	6001 CAATTAACGAG ATCAAGATT AGCACGATTT TCTADAGCT GTAAAGAGA GTTTATGAGC TACGTTGATCAG TGTCTGATTA AGATATTCGA CTTTCTCT Right Arm
5301	CCATCAACAC AACAGTTTCG CAAAGCTGGT AAACCTGAGT CTATCTGGTT GGTAGTGTG TTGCTCAAAGC GTTCTGGAGC TTIGCTCGG JATAGCGAA hb7_1	6051 GAGGGTTTT CCUGACAGTA AGCGCTCTAA GACGTTGGGA GCGGAAGGAT CTACACARAA GGAGTCTGAT TCGGAGGTT TGTCACACCT CGCTTTCTCA Right Arm
5351	AGCACAAAC TGAGTTCTA TAGAGACACG ACCACAGCT TCTATCTCT TGCTGCTGG ACCTAAAGGT ATACCTGTTG TTGGTGTGAG ACAGACAGA hb7_1	6101 GCGCTGTAGT ATGAACTTG GAGGTATCTG AGTAACTTGG AGCCCCAGA CGCGACACATCA ATACCTTACG CTCCATAGAC TACTGAATC TCGGGATTCT Right Arm
5401	CATCAAGT GGCACTTAA GAGTGAATCA GACCTTCACG TGGATACAA GTAGTGTATA CTCTGAAATTG ATACCTTGT CTGGAGGTG ACTTGTGTT hb7_1	6151 ATGGTCTGG TGTARTGCGG AGCGCTCTGG AAGGAGCTGT TTGGTGAAT TTACAAAGACG ACTTACGCA TGGGACAGC TTCTCTGCA AACCCTATA Right Arm
5451	CCAAAGCAGG GCATTTTCTG GATACTCTG CCCTCTCTG GGGCTTACCC GGTTCTGTT CTGTAARAGGCT CTATGGGG AGGGTAGGAC CGCGTATGG hb7_1	6201 CACAGTAGAT ATATGGTGGG ATCTCTCACAT AGACAGTAGA TATGTTAAGG GTGTCATCTA TTAGGACCTT TAGGAGGTT TGTCATCTCCTT ATACAAATTCC Right Arm
5501	TTTACCTGG TAATTAATGTT ATGGATAA TGCTGCTGTG CCTACTGCTT AAATGGAGTC ATTTACCTTA AAACCTATG AGGAGGGCT GTGAGGAGAA hb7_1	6251 AGGAGGATGT CGAAAACAGA AAACGCTAA TGGAACGGAT STCGAAGTT TCCCTGCTACA GCTTTTGTGTT TTGGGGATT ACCTCACGTA CAGGTCAAA Right Arm
5551	TGCCCGAACCGC TGCAAGAGGA GAAGGGAGGA TGAGGAGTT AGRAAGGAA ACGGGGTGGC AGCGTCTCT TGTCCTCTCCT ATCTCTACG CTCTCCCTT	55 Right Arm

	HB7_1	HB7_1
6301	AGGGGCCAGG AATTCAGT CCTAGATGCG TAAATATAG TAACTCTATA TCCCACGTC TTTCATGTCG AGATCTTACG ATAATATTC ATAGATCAT Right Arm	7001 TTAGGATTT TTGAGATAAT AGTATAAATAA TTAGATAAG TTTTATTTTG AATCTCTATAA CAATCTATAA TCATCTATTTT ACCTCTATTC AATCTAAATAC Right Arm
6351	TTTGGTTATAA TTATTAATAA ATGATCTATAA TAAACAAAATAA TAAATACAT AAACCTATTTT AATTAACCTTA TCTATTTAAAT ATTTCTTATA Right Arm	7051 CAAATACGATG ATCTCTATAA GCGCTTTAA AAATATGCTTA GTTACGTTAT GTTTCTGTCAG TAGGTTATTTT COOGGATTGTT TTATTAACAT CAATCTATA Right Arm
6401	GTAATACGTT TTATTAAGGA TAAATAGAGC ATAAATATCTG ATAGATATA CTATTCGCAA AAATATCTT ATTTCATCTC TTATTAAGGA TTATCTATA Right Arm	7101 ATATGGGTTA CTTATTAATC ACGGAGTGGCC TATAAAGGAA CAGAGTGGT TTATCGCAAT GAAATTTGTT TCGCTTACGG ATATTTGCTT GTCTCTAC Right Arm
6451	AAATCTCTAT TACCAAAATG GAGTATAGGG AGACCTATAA ATGAGCTGCA TTAGGAGTA ATGCGCTTCA CTATCTCTC TCTGTAATTT TACTTGTGCT Right Arm	7151 TAGTAAACACG CCCCATTCTG CATTCTGGTA TTATAGAGG AAAAGATATA ATTCATTTTG GGGGAAATGTA CTAAAGGCTTA ATTAACCTTC TTTCVACAT Right Arm
6501	TAAGCTATA AGGTTAGGG ATATAATTTT AGTAAAGGTGTT ATACTCTAA ATTCTGAAAT TCCATCTCTC TTATTTAAAT TCATCTCTA TATGAAATT Right Arm	7201 ACAGACACTTC TTGTTAAACG AGGGAGCTGT ATAAACGTTA TAGAGTACG TGCTGGAAG AGCATTTAGA TCTCTGCTTA TATTTCGATT ATCTACTGAC Right Arm
6551	AACTGAAATAA CAAATACGTTA CAAAGCTCTT GTTTAAAGCC TTACGTTATG TTATCTGCA TTATCTGTA GTCAGCAGAA CATAAACTCG Right Arm	7251 TAATGGGCTG CGCTTACGTTT ACGGCTCTTC ACGGTACGCT ATTCGAAACCA ATACCGGCTCA GGGGATGTTA TGCGGACAAAG TGCTTCTGCTA TAGCTTCTT Right Arm
6601	GTAGATTTT CAGTATAGA ATGGTTAAAAT TTATTTACTG AACACGGGC CACTCTATAA GACTCTATCTC TTACCTCTT ATATAGTACG TTGCTGCAAG Right Arm	7301 CAAAGCTCTT TTAGGAGGA CGGAGTCTTC TTATCTGCTA TAAATAGGAT GTTCCTCTAA AAATCTCTCTC ATCAAGATG AGTTAGACCA ATATAGCTA Right Arm
6651	CGTATTTTTT AATCTCTCTC TCAAAAGGCT GCGTAGTTAG GCTTAAGAAAT TTATCTCTT TAGGAGGAGA ATGTTTGTG CGTACAACT Right Arm	7351 ATAGATACCG TTCTAACTTA AGCGCTGTGCA TTCTAAACCA AAACCTATGTT TTCTATAGGCTT AGGTTTATAA TGCGACAGCT AGATTTTTGTT TTGGATATA Right Arm
6701	ATATACAGTA AGTCTGCTAA CTACTCTATG ATTCCTGGGG TGACATAGAA TTATGAGCTT TTACGTTATTG GTGAGGTTACG TAAAGCGGG ACTATCTCT Right Arm	7401 AAATCTCTTA CTGAGCTCTC CGACGCTACG AGATCTGTTA GGTAGTGTAA TTGGAAATAT GACTCTGCTG CATGCTCTGTT TTGCAACCT CTTAATCTAT Right Arm
6751	CAGATACATG CTGGAAAGC TCCGGTATGTT ATTCCTGATG ATGAGACAA GCTTAAGTA GACCTCTTACG AGGAATATAA TAAGACATA TTCTCTGTT Right Arm	7451 AACATGTTAT TCTACATGCT ATAGAGATGAG AGATGTTAAAT TATATGAGAT TTGTCACATA AGGTGATCTGA TATCTCTACTC TTCTCTATAA ATATAGCTA Right Arm
6801	TAAGCTCTTA ACTCTGATG TATTTAAAAA AGGCTCTTATG TGTAGAGAT ATTCTGCTATG TGTCTCTATAA ATGATTTTTT TCCACCTTA ACATCTCTC Right Arm	7501 GGCTCTTCTT TATATGCTGTT CTGAGCTAACG GTCCTATCTG CCGCTAGATA ATATACCCAC AGTACCTCTG CAGTACATTTG CAGTATCTAG TATTTCTCAA Right Arm
6851	TCTCTCTAA TTATCTAGATG CTACTCTGTT ATGAGATATG TGAGTATG AGAAGGTTTT ATTAATGCTA CTGAGCATAC TATCTCTATG ACTACTCTAC Right Arm	7551 CACCTCTCTA TACATGCTGAG TTACTCTGCTAT GAAACAGAA TTTGTTAAAC GTTGGGGAGT AGTGACCTCTC ATGCGCTATA CTTTGTGTTT AAACAAATTG Right Arm
6901	TATATAGCTT TTATGAGTTT TCTCTCTGTT ATGAGCTGTT AGGCTCTCT ATATTTCTATA ATATCTCTAA ATGATCTCTA GAAATTTTTG TTGAGCTT Right Arm	7601 TTGTACTGCA CGACGGCTGC TACGTTAAATG CTAAAGCTTA GTTATCTGCA AGATGAACT GGTGCCCCAGA ATGGCTTACG TTGTTGATTG CAAVAGACT Right Arm
6951	TTTGAAACT CCCTTACATT AGCTTATATAA GTATAGAGAT ATGTTTTAA AAAATCTGAA GCGCAATGTA TGCGTTATTG CTATCTCTCTA TTCTCTATAA Right Arm	7651 AATATCTCTT TACATCTAAAGC TATGTTCTCTC ATAGTTTTAATAAATAA TTATGAGGAA ATGTTATCTC ATGACCTAGTA TTATGAGATA TATTTATTT Right Arm
55	Right Arm	55 Right Arm

Right Arm  
7701 ATTACTTCTTA TCTCTTATACG CCGCTCTTAA TCTCTTCTAAAT ATACAGCGTA  
TAATGAATAAT AGBAAATTCG GCGTGAWATT AAAGAGATTTA TTATGCCAT  
5 Right Arm  
7751 ATACGGCTCTA AACTCTTGTG AGCTTCTTAG ATGACAGAGT AGCTTCTTAG  
TATGGGGAAT TTAAACACAA TGAGAAAATC TACTCTTCTCA TCGATTAATC  
10 Right Arm  
7801 ATATATCTCA AATATGAGGT AGAATATCTC AAAAATCCG AAATACGTTA  
TATATAGAT TTATACCA TCTTATAGA TTCTTACGC TTATCGATT  
Right Arm  
7851 TTACAGAGGT TTATACCA AATATGAGGT AAATACGTTA AAATACGTT  
AGCTTCTCA AAATACCA TTACGTTCTA AGTACCTTCTA TTATCTTC  
15 Right Arm  
7901 TACTATCTCA AATATGAGGT AGCCTTCTAG TCGATTAATC ATATGAGTTA  
ATATGAGAT TTCTTCTTAG AGCTTCTCA TTACGTTCTA ATATGAGTTA  
20 Right Arm  
7951 ATATATCTCA ATCTTATACG TATATGAGGT AAATACGTTA  
TATTTCAAT TAGAGATAAT TAGAGAGAAC TGTATTTGTA  
25 Right Arm  
8001 AGATCTTATC GTAAAGTCG VAACTATCTC TAGAGTTAT AAGATACCTG  
TCTAGATATC CATTCAGC ATGATTAGTC ATTCGATTTA TCTCTTGAC  
30 Right Arm  
8051 CATGATAG AGTATACAGG GAACTTACAC GAAATATCTA ATCATAGT  
TTCATATTCG ATATATCTC CTAAATTTAG TCTTTTTATC TACTATGCA  
Right Arm  
8101 TTCTATAGC ATACGATCTA AGTAAAGCT GTAAAGAGG GAAAGATCT  
AAATCTCTG TTACGTTCTA TTATTTGCA CTTTCTCTA CTTCTTCTA  
35 Right Arm  
8151 AGGATATATA GGAGTTGATC CTATGATATC CRACATATA ATAATGGAAC  
TCTTCTTATC CCATCCATCA GAAATCTTATA TTCTTCTTATC TTATCTCTG  
40 Right Arm  
8201 TATATGAGT TATGATATC CTACGACGCTG TTCTTACCCA  
ATATGAGAT TTACATATAT ATAGACACAT ATGGTGTCAC BACATTTGG  
45 Right Arm  
8251 GTAGTATAAA GAGCTCCAGC TTCTTCTTCC TTATAGTGG GTATTTCCG  
CATGATATTC CTGGAGGTC AAAACAGGG AATTCACCTC CTTTAAAGG  
50 Right Arm  
8301 AGCTTGGCGT ATACATGTC ATAGCTGTTT CCTGAGGGA ATTGTTATCC  
TCCAAACCCG TTATGACAG TATCGACAAA GGACACACTT TAACTATAGS  
8351 GCTCATATTA CCNACACACA TAGAGCCCGE AAGCTATAGG TGTAGAGCT  
CGAGCTGTTA GGTTGTTGTT ATCTCGGCC TTCTGTTATC ACATTTGCGA  
8401 GGGGTGCTTA ATGGTGACG TAATCTCACAT TAATGCGTT CGCTCTACTG  
CCCCACGSGT TACTCTACG ATGGATGTTA ATTAACGCAAA CGGGAGTAC  
8451 CGGGCTTCC AGTGGGGAA CCGTGGCTGTTA ATGGATGTTA ATGGATGTTG  
55

GGGGCGAAAGG TCAGCGCCCTT GGACAGCACG GTCGNGCTAA TTACTTACCC  
CCAGCGCCGG GGGAGAGCGG GTTGGCGTTT TGGCGGCTCTT TCCGCTTCTT  
8551 GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
8601 GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
CGAGTGAGTT TCCGCATTA TCCGCATTA TCCGCATTA TCCGCATTA  
8651 AGGAAAGACG ATGTGAGCA TGGCCATCA AAAGGGCCCGE AACCTTAAAG  
TCCTTCTCTG TACACTCTT TCCCGGCTGT TTTCGGCTGT TTGGCGATT  
10 Right Arm  
8701 TCCGCTCTG GGGCGCTGT TGGCGCTGT TTGGCGCTGT TTGGCGATT  
TGGCGCTGT TGGCGCTGT TTGGCGCTGT TTGGCGATT  
8751 CACAAATATC GCGCTCTC TGGAGGTTG GCGAAACCCG GCGCTCTC  
GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
8801 AGATACCCG GCGCTCTC TGGAGGTTG GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
15 Right Arm  
8851 GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
8901 GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
8951 GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
9001 GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
9051 GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
9101 GTAGTGAGG CGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
9151 ACATACAGACG GACAGATTT GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
30 Right Arm  
9201 TTGGATCTTC CTGTCATTA AATAGACGG GAGACGACTT CGGTCAATGG  
AGTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
9251 ATGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
9301 GATGCAAGGAA AGATCTCTA CGCTGATGAA GCGCTCTC GCGCTCTC  
9351 CTAGATCTTC TTCTAGAACG TAGAAAGAT GCGCTCTC GCGCTCTC  
9401 TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
9451 GCGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
9501 GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
9551 CCCGGCTGTTG TAGAAATCA CGTAGGGGA GCGCTCTC GCGCTCTC  
9601 GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC GCGCTCTC  
9651 GCGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
50 Right Arm  
9701 TTATTCGCCC TTCTATCAGT CTATTAATATG TTGGCGGGAA GTTAAAGTAA  
AAATAGGGCC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
9751 GCGCTCTC AGTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
9801 ATGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
55

## 【図3】

FIGURE 3: Donor plasmid p1132

C5 Right Arm  
5 1 TGAATGTTAAT ATGTTATAC TTGGATGAGG CTATTAATATG GCGATGAA  
ACTTACATC TACATTAATG TAAATGATTTTATG GATATTTATA CGATACCTTT  
C5 Right Arm  
51 ATTAATCCAT TTAAGGAAA GATTCATTAATC CTACAAACCC TAAAGGATTA  
TAAATGAGGTT ATTTCTTC CTAAAGTTAT GATGTTTTATG ATTCGCTATT  
C5 Right Arm  
10 101 TAAATGATTC TAAATGAGGTT ATTTCTTC CTAAAGTTAT GATGTTTTATG ATTCGCTATT  
C5 Right Arm  
15 101 TAAATGATTC TAAATGAGGTT ATTTCTTC CTAAAGTTAT GATGTTTTATG ATTCGCTATT  
C5 Right Arm  
15 10201 TAAATGATTC TAAATGAGGTT ATTTCTTC CTAAAGTTAT GATGTTTTATG ATTCGCTATT  
C5 Right Arm  
10251 TAAATGATTC TAAATGAGGTT ATTTCTTC CTAAAGTTAT GATGTTTTATG ATTCGCTATT  
C5 Right Arm  
10301 TAAATGATTC TAAATGAGGTT ATTTCTTC CTAAAGTTAT GATGTTTTATG ATTCGCTATT  
C5 Right Arm  
10351 TAAATGATTC TAAATGAGGTT ATTTCTTC CTAAAGTTAT GATGTTTTATG ATTCGCTATT  
C5 Right Arm  
10401 TAAATGATTC TAAATGAGGTT ATTTCTTC CTAAAGTTAT GATGTTTTATG ATTCGCTATT  
C5 Right Arm  
25 10451 TAAATGATTC TAAATGAGGTT ATTTCTTC CTAAAGTTAT GATGTTTTATG ATTCGCTATT  
C5 Right Arm  
25 251 TATCCAGCTT ATATCTATAC TTATATGTTA TACTCTTCTA TAACTTACTT  
ATAGTGCTATC TATAGATGTTA AGCTATTTAT ATGGAAATG TTATATGTTA  
C5 Right Arm  
30 301 ACCATATGTTA AGAGATATA AGATTTACG ATTTAGAGC ATCTTGCTATC  
TGTCTTACATC TTCTTCTATC TTCTTCTATC TAAATTCCTT TAAACAGCTA  
C5 Right Arm  
35 351 GCGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
C5 Right Arm  
40 401 ATGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
C5 Right Arm  
45 451 TTGTAAATTA CACGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
ACAATTTATC GCGCTCTC AGGCTCTC TCTATGGCTA ATATAGAGTT  
C5 Right Arm  
45 501 AAAATCTCA GCGCTCTC AGAGATCTTC SCATATCTCA TAAAGAGTAA  
TTTTATGTTG CGACCTCTC TCTATGGCTA CGCTTATGCTC ATTTCTCT  
C5 Right Arm  
50 551 AGATTTCTG GATTTGTTA ATATAGAGCTA TAAAGAGTAA TTATATCTCA  
TCTATGGCTA TTAAACATC TGTATCTGTT ATTTCTCTG TTATATCTG  
C5 Right Arm  
55 601 CGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC TTGGATCTTC  
CTCTGAGGAA ATTAAGAGG TCAAAATATC ATACAGAAAG TCTTATATC

C5 Right Arm

5 651 AGTGTACTAT ARACTTTTG DACTACTATA TCCCGTAAC TATATTAATC  
ICTATAGATA TTGAAAAAAC AAGTGAAT AAGGCATTTG ATATAATTAG  
C5 Right Arm

701 ATGGAGAAA TAGAAAAGTA TAGAACCTGT TOAGAGCGG TGTTGAAA  
TACTCTTTT ACTTTCATC ATCTTCGACA AGTGTCTGCC ARACACTTT  
C5 Right Arm

10 751 CARAARANTT ARACATUCA GAGGCGTAC ATATACGCTT GFGAGCTAT  
GTGTTTTA TAGTGAATT CTACCGAATG TAPATGCGA CACTCGGATA  
C5 Right Arm

15 801 CAAGATGAT GCNATGCAAT CTCATAATG GTTTGGAC ATAGGATTC  
TGACTCTTA CGTTACGTA GNAGTATTC CARAAACCTA TTACCTAGC  
C5 Right Arm

20 851 ACCCTAACAC GGAAATATGGT ACTCTTACAT CTCCCTCTGA ATAGGCTGA  
TGGSATGNG CCTTACATACCA TGTGAGTTGA GAGGAGACTT TTACCGACAT  
C5 Right Arm

25 901 ATGTCAGA ATACCGAGG TATAAAAATC TTGATGAGG ATGGAGCTAA  
TACGAGTCTT TGTGCTTGA ATGAGGAGG RACTACTCA TACCTGATT  
C5 Right Arm

30 951 ACCGTGAGTT ACTGAAATGCA CAACTTTC TCCTGATGATG GCGGTGTTGA  
TGAGCATCA-TGCTTACCA GTVAGAGAC AGACACTAC CCOCACRAC  
C5 Right Arm

1001 GAGAGGACTA CAAAMALAGS DAAGTGTG TGTGAGATAA CTATGAAAC  
CTCTGCTGTT GTTTATCAC TTCTTAGACG ACTTCTTAT GATACATTG  
C5 Right Arm

35 1051 AATGTTCTT ACACGGAGG CTTTACCTT TTGTTGTTGA CAGCTTACCT  
TTACAGATAA TGTCGCTTGA AAATGAGGAA AACACAAACG GTGAGATGGA  
C5 Right Arm

40 1101 TARCAAGTT AATTTGGTTA RACTCTTATC GGCTCATCG CGCGATCTG  
ATGTTTCAAA TTAACCAT TGTGAGATAA CGGAGTAAGC CGCTCATC  
C5 Right Arm

45 1151 ATATTCAGA CACGAGATGCA TAACTCTTC TACATATAGC CTATCATTA  
TATAAGTTT GTGCTTACCA AATGAGGAGG ATTTATATCA GATAGTTTA  
C5 Right Arm

50 1201 AAAATTTTAA CAACTGGTTA ACTTCTTATG AACAAAGGGT CTGATGACTGA  
TTTTAAATTT GTTACCAAAATGAGAATACG TGTGTTTACAC GACTATGACT  
C5 Right Arm

55 1251 CTGGCTGAG AACATGGGAT TTAACCTTAT ATGGTGTCTT STACATCTG  
GAACGCTTA TTGACCCCTA CTGAGGAA TTAACAGCGA CTGTTAGAC

C5 Right Arm

1301 GAAATTTGAA TAGATGAGC ACACACTTAA TAAATGAGGAA TAAATGAGG  
CTTCTTCTGTT TAAATGAGGAA TAAATGAGGAA TAAATGAGGAA TAAATGAGG  
C5 Right Arm

1351 ATCTGGAAAAA ATTGAGCTTC CGAGCTGATA TTCAAGGGTAA AAGAAAGG  
TGACCCCTTTT TAATCTAGAC AGTCCGACATC AGTACCCATC TTTTCTTCA  
C5 Right Arm

1401 CTAGGCTAC TTTCAGAAAGA AGGAGCTATG GTTAATCTACA TTCTTGAAG  
GAGTGTGAGTAA ARAGTGTCTT TCTGCTGAGTAA CTTTGTGAGTAA  
C5 Right Arm

1451 AATGGGAAAATC TCTATACGTC TTTCAGGATT GATTAAGAGA ATGACTCTG  
TTTACCTTCTT AGTATGATGAC AAACCTTAA CTAACTTCTT TCAATGAGAC  
C5 Right Arm

1501 AGRCRCAAAGA GAGGAGCTG CTAGTGTACTC CTAGAGGTA CGTGACTTAT  
TCCTGTTTTT CTCCATGAC TCTCAGAAGA GAGTTTTCCTA Repeat Region

1551 TAGCTTATAA AGGAGTCGGG CGCTCTAGAA CTAGTGTGAGC GGGTTTCTTA  
ATGATATTTT TTCTCTGAGG CGGAGATCTT GTACCTCTAG CCCAGAAAT  
Repeat Region

1601 TTCTACTATT AAAAAGTGTAA ATAAATATCA AAGGTGTCTG AGGGTGTG  
AGAGATGAA TAAATGAGA TTTTATAGC TTCCAGAGAC TCCCACRACA  
Repeat Region

1651 TAAATTTGAA CGGAGATAA AGCCTTAAAT ATTTCATTAA CGGGATATCC  
ATTACTTCTT CTCCTCTTAA TAGTGTAA TAAAGTATAA CGGGTATAG  
Repeat Region

1701 GTTACAGTTG TATCGTACCC CGATGCCCGG ACCATGGAG CGCCGAAGGC  
CAATCCTAAC ATACATCTGGG CTGAGGGGGC TTCTGTTACGTC CGGGTTCGG  
Repeat Region

1751 GGGGCAACGG GGGTTGAGC GGCCTATCTG ATGCCCGGAGG AGGCCCTGGC  
CCCCGTTGCC CGCAACTGAC CGCTTACGAC VACCGGGTCC TTCCGGGACCG  
Repeat Region

1801 ATTCCTGAGA CGGAGATGGG CGATGCTGGC CGCCCAAGGAG AGGGGGGG  
TAAGGAGTCTC CGGGTTCGGC GTTACGAGCG CGCGGTTCTC TTCCGGGACAG  
Repeat Region

1851 CACGGGGGGC AGAGGGTCCCC GGGGGCGGGG CGGAGCAAGG CGCTCGGGG  
GTGCGGGCGCG TCTCCAGGGG CCCGGGGTCC CGCGGTTTCC CGGAGCCCCG  
Repeat Region

1901 CGGGAGGAGS CGGGCGGGG CGGGCGGGG CGGGCGGGG CGCTCGGG  
GCCCTCTTC CGGGGGGGG CGGGGGGGG CGGGGGGGG CGGGGGGG  
Repeat Region

1951 ATATGATGTCG CGAGATGGG CGCCAGGGGG CGGGAGAGCC GGCCTGTTGA  
TTTACCTACGA CGCTTACGAC CGGGGGGGG CGGGCTCTGG CGGAGGAC

Repeat Region

2001 GTTCTACCTT GCGATGCTT TCGGAGACAG CATAGCTGA TATCGATT  
CATAGTGGGAG CGGTAGCGAA AGCGCTGTGG GTCGGACT ATACCTTAA  
C5 Right Arm

2051 TAACTGTTCTT ACAGGAGTAT TATTTAACGG AAATCTTAAAT  
ATCCCTCTAG GTGGTCAAGA TCTCTCTAGA ATAAATGCA TTTTATTTAC  
C5 Right Arm

2101 GAAAGCTTAT TTGAGGATAC AGACGGGGTT TTTCGGAAAT CAATAGATC  
CTTGTGATA AATTCGCTATG TATGCCAGAA ARAGCTCTTA GTTCTACTAG  
C5 Right Arm

2151 TGATTTTGAG GATTTTAA CAAATCAATTA GACAGTGCTA ACTGGTTAAA  
ACTAAATCTC CAAATATAGT TATGTTATAA CTGICGAGAT TGGACATT  
C5 Right Arm

2201 AGRAAGCCA AGCAATTATCA TTGGCTTACAA TTTCATATAT ATTTATCTA  
TCTCTCTGTT TTGTTAATAGT ACCGGATTTT AAAATATATA TTAACATCT  
C5 Right Arm

2251 TCCATAGTTGCTTCTTACGTT TCTTATTTAA ATGGTGTGTT GTTAAAGATA  
ACGATCACCC AGGAGATCAA AGAAATATTA TTCAATCTACA CAATCTTAA  
C5 Right Arm

2301 ATATGGGATA TTGGATCCCC CTCAGGAGGG GGTAGCTACTG CGCTGGTT  
TTTACCTTATT AACCTAGGGG GTAGCTTACCC TTAACTGTCG CGGGCAGAAA  
LacZ

2351 TACAGCTGC TGTCTGGGAA AACCCGTCGG TTACCCACTT TATCTCCCTT  
ATGGTGTGAGC ACTTGACCTT TTGGAGCCCG AACGGTGTGA ATGGAGGAA  
LacZ

2401 CGACGACATC CCCCCCTTGC CAGCTGGCTT ATATGGGAGG AGGGGGGAG  
CGCTGGTGTAG CGGGAGAAGG GTGCGACCGCA TTATCGCTTC TTGGGGCGTG  
LacZ

2451 CGATGCGCTT TCCCTACAGT TGGCGACGCTT GAATGGCGAA TTGGCGCTTG  
GCTTACGGGGAG AGGGTTGTCG ACGGGTCGCGA CTTACCGCTT ACCCGGAAAC  
LacZ

2501 CCTGGTTTCTT GCGACCAAGAA CGGGTGTGGG AAAGCTGGCTT GGAGTGTGGAT  
GGACACAAAGG CGCTGGTGTCTT CGCCACGGGGC TTTCGGCGGA CCTTACGGTA  
LacZ

2551 CTCTCTGAGG CGGAGATCTG CTGAGGCTCC TCAACATGGC AGATGGAGG  
GAAGGACTCTC CGCTTACGACA GCAGCAGGGG AGTTTGACCC TTCTACTCTC  
LacZ

2601 TTACGATGTCG CCCTCTACAA CCAAGCTGAC CTATGCTTAT AGGGTCAATC  
AATGCTACGC GGGTAGATGTG CTGGTACGCTG GTAGGGTTA TCCCGATTTAG  
LacZ

2651 CGGGCTTGTG TCCCCACGGG ATTCGGAGGG GTGTTTACTC GTCAGATTT  
GGGGCAACAAAGG AGGGTGCCCT TTAGGGTGGG CAACATGAG CGAGCTTAA

LacZ

2701 ATATGTTGAG AATGCTGCTT ACAGGAGAGG CGAGAGCGGA TTATTTTTGA  
TTTACCTACG TTTCGAGCGA TTCTCTTCCG GTCTGCGCTT ATAAATAAAT  
LacZ

2751 TTGGGTGTTAC TGGCGCTTCTT ATCTCTGGGTG CGACGGGGGGG TTGGGTGG  
ACCCGAAATG AGCGGGAGAG TAGACGACCT GTTGGCTCGG ACCAGGCGA  
LacZ

2801 AGCGCGAGA CACTCTTGTG CGGCTCTGAT TTGAGCTGAG CGGAGTTTTA  
TGCGGCTCTT GTCAAGAAC CGCGAGACTTA ATCTGGCTC GCGTAAATAT  
LacZ

2851 CGGGCGGGGG AAAACCGCTT CGGGCGGGAT GTGCTGCGCTT GGAGTGTGG  
GGGGCGGGCGT TTGGCTGGGA CGGGCAACTAC CACGAGGGGA CCTTACTCTC  
LacZ

2901 CGATGCTCTG CGAGATGAGC ATATGGGGG GTATGAGCGGG ATTTCCTGG  
GTCAAGACG CTTCTTCTG TATACACCGC CTACTCTGGC TAAAGGGAC  
LacZ

2951 AGCTCTGTTT GCTGCTAAAGA CGGGATGAC AGATCTGGGA TTTCCTTCTT  
TUCAGAGAAC CGGGGTTTCTT GGGCTGAGT TTGAGGCTT AAGGGTACAA  
LacZ

3001 CGCACTCGCT TTAAATGAGA TTTCAGGGCG CGCTTACTCTGG AGGGCTGAGT  
CGGTGAGCGA AAATFACTACT AAATGTTGGGG CGACATGACCC TCCGACTTCA  
LacZ

3051 TCGAGTGTGCG CGGGCTGGTGC GGGAGTACCC AGCGGGPACA GTTCTTCTT  
AGCTTACACG CGCTCTAACG CACTGATGGA TCCGGCTTCTT CAAGAGATA  
LacZ

3101 CGGGGGGGGGG AACCGCAGTC CGCGAGGGGCG CGGGGGGGGG  
CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG  
LacZ

3151 ATATGGATG AGCGGGGGGG TTATGGGGAT CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG  
TATAGCTCTG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG  
LacZ

3201 CGGGCAAGAA CGGAGCTCTG CTGAGGCTGGG AGTCCGGGAA ATCTGGCT  
GGGGCTTTTG CGCTTACGCA CGGGGGGGCT TTAGGGCTTA GAGGAGGAC  
LacZ

3251 CGGGGGGGGG AGCTCCACCC CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG  
GGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG  
LacZ

3301 TTGGCTGTCG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG  
AGCTTACACG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG  
LacZ

3351 GACGGCAAG CGGTGCTGA TTGGGGGGF TTACGGTCAC GAGGCTCAGTC  
CTGGGGCTTC CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG  
LacZ

		LacZ			LacZ	
3401	CTTCGCGGAGT TCGAGTCATG GATGAGCAGA CGATGGTGCA GGATGATTCGT GAGACCTAGC ATGGCTTACG CTACTGCTCT GCTAACAGGT CCTATAGGAC	LacZ	4101	TAGGCAGGAC ACATGGCCGAT GTCTGTGAAA CGCTGTGAGC TTTCGGCAGC ATCGCGCTTC CTACGGCGCA AGCATCTCTT CGGACGACAA AACCGCTGCG	LacZ	
5	3451	CTGATGAGG AGAACGACCTT TAACGCCGTT CGCTGTCTCC ATTATTCGGA GACTACTTCC TTCTTGTGAA ATTCCGGCAC GGGACACCGA TAATAGGCTT	LacZ	4151	GGACGCCGCA TGAGGCGCGT AGGACGACCA AACACCGACA GCAGTTTTTC CGTGGGGCGT AGTCGGCGAC TSGCTGTGT TTGTGCTGTG CTGCAAAAG	LacZ
10	3501	CCCTCGCTG TGATCACCGG TGCGCGACCC TAAGCGCGT TAATGGTGG GATAGCGGAC ACCATGCGGAA ATAGGCTGGGATACCGCGAC ATACACCCAC	LacZ	4201	CAGTTCGGT TATTCGGCGA AACCATCGGA GTGACGACCG AATACTCTGT GTCAAGGAGCA ATAGGGCGGT TTGAGTGGCT CTAATGCTGG TTAGGACAA	LacZ
15	3551	ATGAGGACCA FATTGAAACO CGAGGGAGG TGCCATAGGA TGCTCTGAC TACTTCGGT ATTACATTTCG GTGGCGTACG ACCTGTTACTT AGCACRGCG	LacZ	4251	CCGCTATAGC GHTAAAGCGG TCCTGCACCG GTGGGGTGGCG CGGGATGTTA GGCATATTCG CTATTCGCTT AGGACGACG CTACACCGAC GACCTACCAT	LacZ
20	3601	GNKGATGCC GTCTGGTACCG CGGGAGTACG GAGCGGTTAA CGGGATGTT CTACATGGCG CCNCGGATGCG CCCGATCTC CTGGCGCATTT CGGCTTACCA	LacZ	4301	AGCGCGCTGG AGACGGCTGG GTTCGGCTTG AGTCGGCTGG AACAGTGA TGGCGGACCGA TGGCGCATTT AGGACGACCC TACAGCGAG TGTTGCTATT	LacZ
25	3651	GCAGCGCGAT CGTAATCACCG CGAGATGTGAT CAYTCGGGFC CTGGGGAAATG CGTGGCGCTTA CGATTTAGGG GTCGACACTA GTAGACCCAGC GACCCCTTAC	LacZ	4351	CAGTTGTTT PACTGGCGCA ACTACCCAG CGCGAGACG CGGGGACACT GTCAACATAC TTGACGGACT GTATGGCTT CGGCTTCTGG GGCGCGTGTG	LacZ
30	3701	ATACAGGGCA CGGGCGCTTA CGGACGGCGC TTGATVCGCTG GAACAAATT TTAGTCGGG GCGCGGATTA GTGTCGGCG ACATACCGCC CTAGTTTACG	LacZ	4401	GTGCGCTGCA GNAGCGCGAC GAGACCGAA GGACGACCGP TTGGTGTGAG GACCGACGT CGTGGCGATC ACCGGCGCTT GGCTTGCGT ACCAGCTTC	LacZ
35	3751	GTGAGTCTT CCGGCGGGT GCAAGATGAA GGCGCGCGAG CGCACACAC CAGCTAGGA GGCGCGGCCA CGGGATCTT CGGCGCGCTC GGCTTGCGT	LacZ	4451	CGGGCGGATC CAGCGCGCTGG CAGCGCTGG CGGGCGGCGT AAATCCAGT GGCGCGGATC GTGGCGCGA GTGCGCACCG AGGACGCGCTT TTGGTGGAGT	LacZ
40	3801	GCCACCGGAT ATTATTTGGC CGATGTAAGG CGGGCTGGAT GAAGACCCAG CGCGTGGCTA TARTAAACGGG GCTACATCGC CGGCCACCTA CTTCGGCG	LacZ	4501	GTGACGCTCC CGGGCGCGTC CACCGACATC CGGCGATGAA CCACACCGA CACTGGGAGG CGGGCGCGAC GGGCGCGTAG GGCGTGGACT GGTGTTGGCT	LacZ
45	3851	CCTTCGGCG TGAGCGCAA TGGCTCRPCA AANAAAGCTT TTGCTCATCT GGAGACGGCC ACAGCGCTT ACCAGCTAGT TTTTTCGGA AGACGGCTGG	LacZ	4551	ATGGATTTT TGCATGCGG TGCGTAAATA GGCTTGGCA TTAAACCGCC TTACCTTAAAG AGCTACTCTG AACCTCTTAA CGCACCGTT AAATGGCGG	LacZ
50	3901	GGAGAGGAGCG CGGGCGTGTG CTTTGGCGAA TACGGCCCG AGATGGGGTA CTCTCTGG CGGGCGACTA GGAGCGCTT ATGGCGGGTC GCTACCGTACCT	LacZ	4601	ATGCTGGGGT TCTTCTGAG ATGGTGGATG GCGATATAA AACACGCTG TCAGWGCGGA AGAAGATGTTG TACACCTCT ACCTGTTTTT TTGTTGGAC	LacZ
55	3951	CAGCTTGGC GGTTGGCTA ATACAGGCA CGGGCTGGT CAGTATGCC GTGAGACCC CCAAAAGCGAT TTATGGACCGT CGGCAARCGA GTCTAGGGG	LacZ	4651	AGCCCCCGC CGCATCGTCA CGCCCGCTCA CGCGTGGATA AGCGCATGG TGCGCGGAGG CGCTAGTCAA CGGCGCGCTG GGCGCGCTAT TTGCTGTAAC	LacZ
4001	4001	GTTCACAGG CGGGCTCTG TGCGCTGGG TGTTAGCATC GCTGATTTAA CAATGTTCCC GGCGACAGCA ACCCTGACCC ACCCTGCTCG CGACATTAATT	LacZ	4701	CGTATGTTGA GGCGACCCGA TTGACCTTA CGGCTGGGTO GAACGGCTGG GCATTCCTT CGCTGGGGGT AACCTGTTG GCGGACCCAG CTGGCGACCT	LacZ
45051	4051	TATGATGAA AGCGCACCGA GTGGGGCGCT TACGGCGCTG ATTTCGGCA ATACATCTTCTT CGGGCTGGG CACCAAGCCGA ATGCCCGCA TAAACCGCT	LacZ	4751	AGGGCGCGGC CGCATCACCG CGGACGAGCA STGCTGGCTCA GTGCGCGCA TCGGCGCGCG GGGTAACTGG CGGGCTGGCT CGGCTGGCGT GCAACACCGG	LacZ

		LacZ			
4801	GATGAACTTGTGATGGGTT GCGTGATTAG ACCGGCTTACG CGTGGCAGCA CTATGTCGAC GACTACCCCA CCGCATTTG TGCGGAGTCG GCGCCGTCCT	LacZ			
5					
4851	TCAGGGGAAA AACTTATTTT TGGCGCGAA AACCTTACCGG ATTGTGATGTA AGTCCCCCTT TGGTATAAAT AGTGGCTT TTGGTGTAC TAACTTACCAT	LacZ			
10					
4901	GTGTCGAATAA GCGGATTTACG GTTGGATGTTT PACTGGGAA CGTATACCGG CACAGTTTA CGCTGATTCG CAACTACAC TTACCGCTT GCTATGTGGC	LacZ			
15					
4951	CATCCGCCGC GGATTTGGCTT GAACTCCCGC CTGGCGCGG PACTAGACGS GTAGGCCGC CCTAACCGGA CTGGCGCTC GCGCGCTTC ATGGCTCGCG	LacZ			
20					
5001	GCTTAACTGG TTGGGATTTAG CGGCCGAAAGA AAATCTTACG GACGGCTTCT CCATGACCG GAGCTTAAAT CGGGCTTCTT TTGGTATGGG CTGGCGGAT	LacZ			
25					
5051	CTGGCCGCTT TTGTCAGCGG TGGGACITCG CATTGTCGA CATGGTATCC GAGCCGGGAC AAAACTGGG ACCCTTAGCGC GTAACTACCTT CTACATATGG	LacZ			
30					
5101	CGGAGGCTT TCGCGACGAGA MAAGCTTTC CGCGCGCGGA CGCGCGGAATT GCCAGCGAA AGGGCTCGCTT TCGCGACAG GGGAGGCTCTT GGGCGCTTA	LacZ			
35					
5151	GAATTATGG CCACACCGAT GGGCCGGGGA CTTCAGCTTC AACATACGCC CTTAACTCCG GGNITGTCGCA CGGGCGCGCTT GAAGGTCTGA TTGTCGCG	LacZ			
40					
5201	GGTACAGCA ACACCAATTG ATGGGARCCA GCGATTCGCC ATCTGCTGCA CCATGTCGAT TTGTCGTCAG TACCTTGGT CGTGTACGGG TTAGACGCT	LacZ			
45					
5251	CGCGGAGAG GCACATGGCTT GAAATTCGAC GGTGTTCCATA TGGGGATGG GGCGCTTCTT CGTGTACCGGA CTTATGCTG CCAAAAGGTTT ACCCTTACCC	LacZ			
50					
5301	TGGGAGAC GATCTGGAGGCG CTGCACTATC GCGCGGAATTC CAGCTGAGG ACCCCTGCTG AGGACTCTGG CGACTCATAG CGCGCTTCTAG GTGCACTGCG	LacZ			
55					
5351	CGCGGAGAG GCACATGGCTT GAAATTCGAC GGTGTTCCATA ATATACGCC GCCATGCGAT GTGAGGCTT AACGGCA CAGTTTACG GCGCTTCTT TTGTCG	LacZ			
5401	CGCGGAGAG GCACATGGCTT GAAATTCGAC GGTGTTCCATA ATATACGCC GCCATGCGAT GTGAGGCTT AACGGCA CAGTTTACG GCGCTTCTT TTGTCG	H6 Promoter			
5451	CGTATACCGTC GAGGCTTACG ATAGGCTTA GTGAGGAGTTT CTTTATTTCA GCTGGCTGGAG CTGCTCACTGG TACATGCTTACG CACCTCCCAA GAATAGATGAT	H6 Promoter			
5501	TACTTTAAATA GTGAAATAAT ATACAAAGGT TTCTTGAGGT TTGTGTTAAAT ATGAAATTITTT CACTTATTATTTT TACATGCTTCA AGAACTCCCA ACACAAATTAA	H6 Promoter			
5					
5551	TGAGCTGGG AATTTATCTT ATATTTCTGG TACATGCTTCA AGAACTCCCA ACTATGCTTCTT TTGTCGCTC AACAGGCGG AACCAAAACCG AACGGCTGGG	H6 Promoter			
10					
5601	GTGTTGAGG TACGGCCCGGCG GNGCCATGAGCG CGGGCGACG CAACATACG ATGGGGGGGGG CCGGGTGGCG CGGGCGTCG CGGGCGTCG	H6 Promoter			
15					
5651	GGGGTTGCGA GGGCGATCTG GATGGCGCCAG GAGGCCCTGG CATTCCGTAT CCCCCGATCGT CCCCGCTGAGA CGTACCGGGCTT CTGGGGGACCC GTTGGCTCCCG	H6 Promoter			
20					
5701	GGCGGGGGG GCGATCTGGG CGGGCGAGGA CGGGCGGGGG CGCGGGGGGG CGGGGGGGGG CGTGTACGAGC CGGGCGGGGG CGGGCGGGGG CGTGTACGAGC	H6 Promoter			
25					
5751	CAGAGCTGGCTT CGGGGGGGGG GGGGAGCAGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG GTCCTCAGGGG GGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG	H6 Promoter			
30					
5801	GGCGGGGGGG GGGGGGGGG GGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG	H6 Promoter			
35					
5851	TGCAAGATGCG GGGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG ACGCTGCGCG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG	H6 Promoter			
40					
5901	CGCGCATGGCTT TTGCGGACACG CGATGGGAGG CGCGGGGGGG CGCGGGGGGG GGGGTACCGA AGGGCTCTGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG	H6 Promoter			
45					
5951	TGGCCCGAGGA TGCCCAGGCG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG ACGGGGTCTT CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG CGGGGGGGGG	H6 Promoter			
50					
6001	TTCACTGGTGT CGCGCACATCT ACTGACTATCT CGGACTGACTG CTGCGAGACCA AACTGCACTCA GCGCGCTTCA TTGCTGATGATG TGCTGACTGAC GACCTCTGGT	H6 Promoter			
55					
6051	CGCGCACATCT CGCGCACATCT CGGACTGACTG CTGCGAGACCA GACCTCTGGT GGCGGGAGCTT CGTGTACGGAGT AGTGGGAGAC AGGGCTCTGG CGAACGGGAA	H6 Promoter			
60					
6101	TGATGTTGGT CAAGGGCTGG TTCTGGCGCG TTGTTTTGGT TCAGGGCTCC ACTACCTACA GTGGCGCTCC AACAGGCGG AACCAAAACCG AACGGCTGGG	H6 Promoter			
65					
6151	TCAGGGCGAGA GGGCGTGTAGT ATTATATTATTTT TTGTTGGCT GCGAGGATCG AGTGGCTCTG CGGGGGTTCA TTATTAATAA AAAAACCGGA CGTCTCTGGG	H6 Promoter			

		sE/I_Promoter					HTRP-2
6201		TAGCAAAAT TGAATTTTA TTITTTTTT TTGGAATATA AATAGCTCG ATCGTTTTA ACTTTAAAT AAAAHAAAA AACCTTATAT TTTATGGAGC HTRP-2		6851	TATTTAGGCC AGGAGCCCCC TACAGGGCCA TAGATTTTC ACATCACAGGA ATAATCTCGG ATCTTCGGGG AGTCCTCGGT ATCTTAAGAG TGTAGTGACT HTRP-2	5	
5		sE/I_Promoter		6901	CCTGGATTT TTAACCTSGCA CGGGTACCAT TCTGTTGTCG TGGAAGAGA GGCGTAAAC ARTGGACGCT HTRP-2		
6251		AAGCTGAGA CTAGACGCC CTTGGGGGG GTTTCGCTG CAGTTCGTC TTGGAGCTCG TGAATGGGG LAGGGACCC CCAAGAGAGA GTCACAGAC HTRP-2		6951	TCTTCAGCGA CTCTAGGGCA ATGAGATCTT TCGCTTGGCC TACTGGAACT AGAGGGCTG GTAGTAACTG TAGCTTAAAGA AGCAAAAGGG ATGAGCTTGA HTRP-2	10	
10				7001	TGCGCTATGG CAGGGAGCGG TGTAGTGGCT GTACAGACCA GCTGTTGGG AACGGTGGC ACCTCTGGG ACACATCTGC ACCTGCTGTG CGACAAACCC HTRP-2	15	
6301		GCGCTGAAA TCTTGCAGG AGCCCAAGGG CAGTTCGCCCC GAGTCCTGAT CGGAGCTTTT AGGAGGGTCCC TGGGGTCCC GTCAAGGGG CTCAGACGTA HTRP-2		7051	CGAGGGAGAC CAGAGATGC GAGGAGGATT AGTCGAGACG CAGAGATTC CTGGCTCTG GTCCTGGGG CTGAGACCTA TCAAGCTTGA TGTCTAAAGG HTRP-2	20	
15				7101	CAGCTGGGA ACCTGCTGG ATAGCTGGG TGACTAACAC CACCTGGTA GTGAGACCTT TGACAGACAG TATGACACT ACCTGATGTTG GTGGACAGT HTRP-2	25	
6351		GACGGGGAG AGCGTATGAGA AGCAAGGAGT CTCGGCAACG CTCGGTCAAG CTGGCGACCTG TCGGAGTCACT TCTTCCTCA GACGGGTGGC GHCCAGCGTC HTRP-2		7151	CTTGTGCGA TGGACGCTT AGGGTTGG TGCGAGAGA TGTAAAGGGA GGGACGCTT ACCTTGATA CTTCAGAACG ACCTTCTTTC AGTTTACCC HTRP-2	30	
20				7201	AGRAACAGG AGTATGGCC AGACCTTAA GACATAGCGG ATTTGGCTGC TGTGGGCGT ACTTACGGT TGTAGTAAATTT CTGTTGTCPC TAAGGGCT HTRP-2	35	
6401		AGTGGCCCA TGTCTGGC TCTTACGGAG GCGGGGGGCA GTGACAGAG TCAGGGCTT ACAGAACACG AGAGCTGTCG CGGGGGCGT CACGGTGTCTC HTRP-2		7251	TCTTCAGAGG TTTCGACATC CTCCTCTCT CGAGACCTCT ACCTTCGAGT AGAGGTCTTC AAACGTTG GAGGAGGAA GGCTTGGAGA TGGAGTCGA HTRP-2	40	
25				7301	TCAGGATTC TTGGAGGG FGTTAAGG CAGATGGCGC TCTGATCT AGTCCTTGGG AAACCTTCG AAACCTTGG TGTCTACCGG AGACCTHAGA HTRP-2	45	
6451		GTGGGACGG AGCRAGAGGCC CTGGAGTGGT CCTTCATACG TACGAAACCA CAGCTGGCGC GTGTTTCCCG GACCTTACCA GGGATGTTGG AGCTTGGT HTRP-2		7351	CAAGTGGTACG GGTCTCTAA TTTGGTCTG CTCTTCTG ACGGGAAACA GTTCATACG GCGGAACTAT AAACCGAGT AGGAGGACT TGGCCCTTT HTRP-2	50	
30				7401	CGCTTGGCA CTTCGGCCG CCATGTCACG CTGTCGCGG GGGATTCCTA GCGAAGCT GTAGTGGGG GTTGTCTGG TGAGACMAG CACTTAAGAT HTRP-2	55	
6501		GGATGAGCTT GAGCTGGGGC CAAAGAAATT CTTCACCGG ACCTTCGAACT CTTACTGGCA CTGAGACACG GTTCCTTTAA GAGGGTGGCC TGGAGCTTCA HTRP-2		7451	ATGTTTGGC TTAACAGCT ACACAGAACG ACCTTGAGCA TGTAGAAA TAGCAAGCA AGTGTAGCA TGTGTTGTTG AGGAAGCTGA ACATCTTTT HTRP-2	55	
35				7501	GAGAGAGGCA CGCAAGGACT CGCCCTCCGCTG CTGTCGCGG TCTTCATTC CTTCCTGGG GTTGTCTGG GGGAGGAGC GTCACAGCC AGGAAAGTAA HTRP-2	55	
6551		GCACAGAAA CTTCGGCGG TATAATTGIG GAGGATGCAA GTTGGCGG CTGTGCTTT GAACGGCGC ATATAAACAC CTCTGAOCTT CAACAGGACC HTRP-2					
40							
6601		ACCGGGTCCC ACTGGCGGC AGAAGACCA CGAGTATTC GCGGAGACAT TGCGCAGGCTT TGGAGCTGGC CTTCAGTTGT GSTCTACTAG CGCTCTGTGA HTRP-2					
45							
6651		CCATCTTCA AGTCCTCAA AAAGAGAGCA GTCTTGGG GCCTTGTATC GGTAAGAAAG TGAGGAGTCC TTCTCTCTCA CGAGACCC CGGAACTCTAG HTRP-2					
50							
6701		TGGGGAGAG GAGGAGTACAG CGGGGAGCTG TGTAGACACG AGAAGATGGS ACCGCTCTT CTCTCAJGTS GGGCGTACAG ACCTATGGG TGTTTGACCC HTRP-2					
55							
6751		CTGGGCTTC TTGGGGCCAA TGGAACTTCA CGCGCATTTT COACATCTCG GACCCGGAG AACCGGGGTTT ACCTTGCGGT GGGCTCAAC GGTGAGCGTC HTRP-2					
55							
6801		TGTTTATGAT TTCTGTGTTG GGTCTCTATA TTATTCGTT AGGATACAT ACAAATACTA AAGAAGCMCA CGCAGGTTAA ATAAGACAA TCTCTATGTA					

Amp (R)

9251 AGCGGTTAGA TCTTTCGCGAG TTTTCGGCCC GGAGGACTT TTGCAATGT  
TCGGCATTTCT AGGAACITCTC AAAAGCGGGG CTTCTTCGAA AGGGTACTA  
Amp (R)

9301 GAGCACTTTT AAAGTTCCTGC TATTTGGGGG GGWATATTACCG CGTATTGAGC  
CTCGTGAAA TTTCAAGAGC ATACACCCCG CCATAATATGG GCATAACTGC  
Amp (R)

9351 CGGGCGANGA GGAACITCGGT CGCGCGATCA ACTATTCICA GAATGACTTG  
GGCCCGTTCT CGTGTGACCA TGATAGAGT CTTCATGAC  
Amp (R)

9401 GTTGGATCTG CCACTCTAC AGAAAGCAT CCTAACGGAT GCATGACAGT  
CAACTCTAGA GTGTTGAGT ACAGTCAGT GATAGGGTA CGTACATG  
Amp (R)

9451 AGAGAGATA TTGAGCTGTC CCATACACAT GAATGATAC ACTGGGGCA  
TTCTTCTTAA AGCTCAACAG GGTATGGTA CTCACTATG TGACGGGGT  
Amp (R)

9501 ACTTACTCTG GCAAGCGATG GGAGGACCGA NGAGGCTACG CGCTTTCCTG  
TGATGAGA CTGTTCGTCG CTTCGGCCCT TCTCTGATG CGAAAGAAC  
Amp (R)

9551 CACACATGG GGGATCAGT AACTCGCCCTT GATGCTGGG AACCGGACST  
GGTGTGTTACCC CGCTAGTACA TTGGAGGGAA CTAGCAACCC TTGCGCTCGA  
Amp (R)

9601 GATATGAGCC ATTCACAAACG AGCGGGTGG CAACACGAGT CCTTACGAA  
CTTACGTCG TTATGGTTGC TGCTTGCCT GTCAGTCAGT GGACATCGTT  
Amp (R)

9651 TGGCAACAC GTTGGCCAAAT CTATTAACCTG CGCGACTACT TACTCTAGCT  
ACCGTTGTTG CAACCGGTTT GATGTTGAC CGCTTATGAA ATGGATGGA  
Amp (R)

9701 TCCGGGCAAC ATTATATAGA CTGGATGGAG GCGGATTAAG TTGAGGAGC  
AGGGCGGTG TAACTTACTG GACCTACCC CGCTTATTC AACGTCCTGG  
Amp (R)

9751 ACTTCCTGGC TTGGCCCTTC CGGGTGGGTT GTTATATCTG GATAAATCTG  
TSRAGNCGGG ACCCGGAGAG CGCGACCCAC CAATTAAGCA CTATTTAGAC  
Amp (R)

9801 GAGCGGGTGA GGCGGGTCT CGCGGTATCA TTGACACACT GGGGCCAGAT  
CTCGGCACT CGCACCAAGA GGCGCATAGT AACGTCGGTA CCCCGCTTA  
Amp (R)

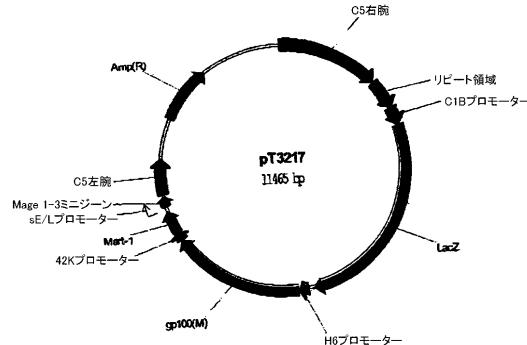
9851 GGTAAAGCCCT CGCGTATGCT AGTATCTAC CGCAACGGGA GTCAAGCCAC  
CCATCGGGG GGGCATAGCA TCATGAGTG TSGTCCCCCT CAGTCGGTG  
Amp (R)

9901 TATGATGAA CGAAATAGAC AGATTCGCTGA GATAGGTGCC TCACTGATTA  
ATACCTCTT CTGTTATCTG TCTGGCGAT CTATCCACGG AGTGAATCA

Amp (R)

9951 AGCATTTGATA ACCTGTCAGAC CAAGTTTACT CATAATATACT TTAGATGAT  
TCTGATACCA TGACAGTCTG GTTCAAGAGG GATATATAGA ATCTCTAAT  
TTAATACCTC ATTATTAATT TAAAGGAGC TAGTGGAGA CGCTTCTTGA  
AAATTGAGC TAAATATCA ATTATGAGC ATCTCTGAGG AGGAAACACT  
TCTGATGAGC AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
TCTGATGAGC AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
GCTGTTGGCA SCCTTCTGAG GACTCTAGS AAAAGAAC  
CGCGTAACTC CGTCTCTGCA ACACAAAAAA CCACCGCTAC CAGCGGTGGT  
GGCGATTTGA CGACGAAGCT GTTGTGTTT GTGGCGCAT CGCGCCNCA  
10051 TGTGTTGCGG GATCAGAGAC TACCAACTT TTGCGGAGS STAACTGCT  
TGTGTTGCGG GATCAGAGAC TACCAACTT TTGCGGAGS STAACTGCT  
10101 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
GCTGTTGGCA SCCTTCTGAG GACTCTAGS AAAAGAAC  
CGCGTAACTC CGTCTCTGCA ACACAAAAAA CCACCGCTAC CAGCGGTGGT  
GGCGATTTGA CGACGAAGCT GTTGTGTTT GTGGCGCAT CGCGCCNCA  
10151 TGTGTTGCGG GATCAGAGAC TACCAACTT TTGCGGAGS STAACTGCT  
10201 TGTGTTGCGG GATCAGAGAC TACCAACTT TTGCGGAGS STAACTGCT  
10251 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
10301 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
10351 TGTGTTGCGG GATCAGAGAC TACCAACTT TTGCGGAGS STAACTGCT  
10401 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
10451 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
10501 TGTGTTGCGG GATCAGAGAC TACCAACTT TTGCGGAGS STAACTGCT  
10551 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
10601 TGTGTTGCGG GATCAGAGAC TACCAACTT TTGCGGAGS STAACTGCT  
10651 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
10701 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
10751 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
10801 TGTGTTGCGG GATCAGAGAC TACCAACTT TTGCGGAGS STAACTGCT  
10851 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
10901 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
10951 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
11001 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
11051 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
11101 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG  
11151 CGACGGCGG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG AGGAAAGCTG

【図4】



【図5】

FIGURE 5  
DNA Sequence of donor plasmid pT3217

C5 Right Arm

1 TGAATGTTAA ATGTTTATCT TTGGATGAA CTATTAATAT GATTTGAA  
ACTTACAAAT TACATATGAA AACTTACTT GATATTTATA CGTAAACCTT  
C5 Right Arm

10 51 ATTAATCCAT TTAAAGANG GTTCAAAATA CTACAAACCC TAAAGGTTAA  
TTATTTAGTA AATTTCTCTC CTAACTTTAT GATGTTTGGG ATTTCCCTAT  
C5 Right Arm

15 101 TATGTTTACTC AATGCTTATTC TTACGCGAGC TTAAATATATA CACAAATTTA  
ATACAGATGA TTGCGATTCG ATTCGCGG AATTTTATAT GNTTTTATT  
C5 Right Arm

20 151 CATTTTTTTT GTATACACCA ACAAACTACT AAACAACTAA AATCAATAA  
GTTAAAAAAATGATATGAT GTTATGATG TTTTGTTATT TTATTTATT  
C5 Right Arm

25 201 GGGAAATGTAATGATGATTAATGATGATGATGATGATGATGATGATGATG  
CTCTTACATC ATAGCAATTA GAAATGTTG CTTTACCCCA ATTATTAATAT  
C5 Right Arm

30 251 TATCACCGGT ATATCTTACG TGTATACGTA TACTCTTAC AATCTTACAT  
ATAGTCGCACT ATAGTATGATG ACAATAGCAT ATAGAATGATG TTATGATGAT  
C5 Right Arm

35 301 AGGATATGTC AGGAGTATGAG AGGATGACCT ATTTAGGAG ATTCGCGAG  
TGTCTTACAG TTCTTCTATC TTCTTACGA TAATATGCTT TGTACAGAT  
C5 Right Arm

40 351 GATAATTTGGG TACGACATAG TGTATATGAG TATTTCGATG CGTACATAA  
CTATTAACCC ATTCGCGAG ATCTATACG ATAAAGGCTA CGATGTTTAT  
C5 Right Arm

45 401 ATGCTGTTGAA AGGATGATGATG TGTACAGATG TACCTTAATTA GGTGCAAAA  
TCATGTCACCC TTCTGTCACCA AACCTGCTAC ATTTGAAATT CCACGTTTTT  
C5 Right Arm

50 501 TTTTTAAATTA CACGATTTGGG TGTGAGATG GGTATACCTG TATTTTACAT  
CTGCTGAAAGG AGGATGATGATG TGTACAGATG TACCTTAATTA GGTGCAAAA  
C5 Right Arm

55 551 AGATATCTGC GGTGTTGAA ACTATGAGAA TAATAGGCA TTATTCGAA  
TGTATGAGG CTTAAACATAT GTATGCTTATTTTCTCAAA AATATGAGTT  
C5 Right Arm

<p>C5 Right Arm</p> <p>601 CGACATCGT TAACTCTCC AGCCTTATG TATGTTTC AGATATTATG GCTGTAGCAC ATTAGAACG CAGAACG ATACACAGC TCTAATATG CS Right Arm</p> <p>651 AGATTAATCT AACATTTTG TATACATTA TTCGGTAAAC TATAATATC TCTTAAAGTA TTGAAARAC ATAGAAATAT AAGGCATTG ATATAATTG CS Right Arm</p> <p>701 ATGACGAAA TGAACAGCA TAGAACGTC TCAAGGGGG TTGTTGAAA TACTCTTT ACTCTTCTA ACCTCGCA AGTCTGCCA AACACCTTT CS Right Arm</p> <p>751 CRACAAATT ATACATTCGA GATGGCTTAC ATATAGGCTC GTGAGGCTAT GTGTTTTAA TTGTTGAGT CPGCGGATG TATATCGAG CACTCGATA CS Right Arm</p> <p>801 CATGGTATG GCAACGCT CTCRATAGG GTTTGGGC ATGGATGG GTCTTAACTA CTGTPACCTA GAGATTATC AACAAACCTG TTACCTAAC CS Right Arm</p> <p>851 ACCCTAACAC GGAATTTGTG ACTCTTACAT CTTCCTTGA ATGGCTTVA TGGGTTGG CCTTATAGCA TGAGATGTA GAGGAGACTT TTACCGACAT CS Right Arm</p> <p>901 ATGTTCAAGA ATAGCCGGGG TATAAAATTC TTGATGAGG ATGAGCTAA TACAGATCT TTATGGCTCC ATATTTTAG ACTCTTCA ACCTCGATT CS Right Arm</p> <p>951 ACCCTGAGTT ACTCTGATCA ACTCTTGT TCISCATGAT CGGTTGTTGA TGGGATCAA TTGCTTACAC GAGGACTAA CGGCAACACT CS Right Arm</p> <p>1001 GAGACACTA CAAATAAGT AAAGATCTTG TGAAGATAA CTATGTAAC CTCTGCTGAT GTTGTATCAC TTCTAGACCA ACTCTTATTG GATCAATTG CS Right Arm</p> <p>1051 RATGTTCTT ACAGCGGGG CTTTRACTCTC TTGTTGTTG CAGCTTACCT TTCAAGGAA TTGTCGCTCC GAAATGAGA AACACAAACG GTGAAATGGA CS Right Arm</p> <p>1101 TTACAAGTT ATTTGGTTAA AACCTTATTG GGTCTATTCG GGCGATGAG ATTTGTTCAA TTAAACCAAT TTGAGAAATA CGCGATGAG CGCTTACAC CS Right Arm</p> <p>1151 ATATTTCAAA CACGGATGCG TTACAGCTCC TACATATAGC CTTATCAAT TATGAAAGTT GTGCCCTAGCC ATTTGGGAG ATGATATAGC GCTATTTTA CS Right Arm</p> <p>1201 AAAATAATTA CAAATGGTTAA ACTCTTATG AACAAAGGTG CTGATGACTG TTTTAAATT GTTACCAATG GAGAGAAC TTTTTCCAC GACTATGACT CS Right Arm</p> <p>1251 CTGCTGGAT AACATGGGAT GTACTCTT ANTGTACCTG GTPACATCTG GRACGACCTA TTGTPACCTA CTAGGAGAA TTATAGCGA CATGTTAGAC</p>	<p>C5 Right Arm</p> <p>1301 GAAATATGAA TATATCTGC NCTCTACTTA AAAAANAAA ANGGCCAGA CTTCTAACTT TTTCACAGTC TTGTTGAGTAA TTGTTTATT TTACAGGTC CS Right Arm</p> <p>1351 ACTGGGAAATA ATTCATGCTG CCACGCTGAA TTCAATGGTAG AAAAGAACGTG TGACCTTTTT TAATAGACG GGTGCGACATT AGTACCCAC TTTCTCTCAC CS Right Arm</p> <p>1401 CTGAGGCTAC TTTTCACAA AGGGACGAGT GTAACTCTCA TTCTTGAGG GAGTCGATG AAAAGTGTG TTCTCGCTTA CACTTGAGT AGAAAATTTG CS Right Arm</p> <p>1451 AAATGGGAAATA ATTCATGCTG TTTCGGATTG GATTAAGAAA AGTACTCTG TTTACCTTT ACTCTTAC AACACCTAA CTAACTCTTCT CAATGAGAC CS Right Arm</p> <p>1501 AGACACAAA GAGGTAGCTG AAAGTGTACTT CTCAAGGTA CGTGTACTTAT TCTGTTTTTT TTCTCATCAC TTCACTATGA GAGTTCCAT GGTCTGATTA Repeat Region</p> <p>1551 TAGCTTAAAGA AAGGATCGG TTGTTTAACTT TTAACTTTAA AGGGAAAT ATGCGAAATT TTCTTACCCC AGACGAAAG ATGAGATTT TTGACTTTA Repeat Region</p> <p>1601 AAATGAAAG GTTCTTGAGG GTTGTGTTAA ATTGAAAGCCG AGAAATATTC TTTATTTCTC CAACAGCTCC CAACGAAATT TAATCTTCTC TTCTTTTATG Repeat Region</p> <p>1651 ATGAAATTTT TGTATTTGC GAAATCGGGT AGATGTTGAT CGTATCTGC TTTAAATTA AGTATAGCC CGTATAGG TTCTATGGAA TTCAACATAA GGTATGAGG Repeat Region</p> <p>1701 AGCCGCCCCACCTT ATGGATCTGG TTGTTAAAGG ATTCCTTCTT CATTGGCTG TGGGGGGTGG TACCTAGACG ACGATTTTC TACCGAGAA GTAAACCGAC Repeat Region</p> <p>1751 TGATGAGTGC TTGCTGCTG GTGGGGGGCTA CAAARATACC CAGAAACGAG ACTATCCACG AAACGACCGA CACCCCGAT GTTCTACG GGTCTTGGCT Repeat Region</p> <p>1801 GACTGCTTCTC GTGCTTCTCAG CGAACCTGAG ACCAAAGCTG GGAAACAGGA CTGACGAGAA CACAGAGG CCGCTGAGTC TTGGTTTGGG CTTTGTGCGT Repeat Region</p> <p>1851 GCTGATATCCA GAGTGGACG ARGGCCAGAG ACTTGTACG TGAGGAGGTG CGCATAGTC TTCAACCTGTC TTCCGGGTCTC TGAACGTGAGS ACCCTCTCCAC Repeat Region</p> <p>1901 GTCAGATGTC CTCAGAGTC AGTATAGAGC GCGCTTACACT GATGGTGTCA CGTCACAG CGAGTTCCAG SCATCATAC CGCGATCTGA CTAACCGC Repeat Region</p> <p>1951 ATGGCTCTTCTC TTCTTATGCT CTGAGACTTC CCTGGAGGCC AAARGTTT TTACGGAGGA AGAGATACG GAACATGAG GGCCTTGGG TTTTCCATTA</p>
--	--

<p>Repeat Region C1B promoter</p> <p>2001 GCGAGATACT AGCTCTGAGC GACCTTTTAA TAACTGAAAC TAAATGAAA CGGTCATGA TCAAGCTAA ATTCGATTTG ATTTCCTTT C1B promoter</p> <p>2051 AGCTTAATTC AGGTGATACG GGTGTTTTTC TGGTACATCA TGATTTGAA TCTGATTAATC TTCTATATG CCACAAAGG ACCTTGTATTG ACTCTGACTA C1B promoter</p> <p>2101 TTGAGGATT TTATGAAACG AAATAGGCA GROGTACTG GGAAGAGAG AACTCTCTTA ATATGTTACG TTATGTTACG CACCTGAG CATTTTTCT C1B promoter</p> <p>2151 AAGCAACAAA TTACATGCG TTACAAATT TTTTAAATT TGATGATGCA TTTCGTTGTT ATATGTTACG ATTTGTTAAA ATATATATAA CATACAGT C1B promoter</p> <p>2201 TGGGGCTCTTCTCTT TTATTAAGT TAACTGCTTA AGCTTTATC ATCACCGAAA ATGAGAGAA ATATATTTCA ATTTACACAT TTCTAATTC C1B promoter</p> <p>2251 GAGTAATTGG ATCCOCCTACG GTATGGGGAT TTACTGGGGCG TGTTTCTAC CTCATTAACC TTGGGGGGAG CGTACCCCTTA ATGACCGGG AGCAAAAGT LacZ</p> <p>2301 AGCTGGGAGAC TGGGGAAACCT CGGGCGTCTC CCAACTTAAT CGCTTGGAG TGCAGGACTG ACCTTTTGG GACCGCTG GTTGTGATTA CGCGAACCTC LacZ</p> <p>2351 CACATCCCCC TTGGCGCACG TTATGTTATA CGCGAGAGGC CGCGACCGAT GTGTTGGGGAG AAACCGCTTC ACCTGGATAT CCTCTTCTCG CGCTTGGCTA LacZ</p> <p>2401 CGCCCTTCTCC AACGCTTGG CGACGGTAAAT CGCGATATGG CGCTTGGCTG GGGGGGAGGG TTCTCAACGG GTCGAGCTTA CGCGTTCACCG CGAACGGAC LacZ</p> <p>2451 GTTGTGGCA CCGAGAGGG TCGCGAGAG CGTGGCTGG CGCGATCTTC CAAGCGCCGT GTGTTGGGGCC ACCTGGCTTC GACCGCTTC ACCTGGAG LacZ</p> <p>2501 CTGAGCGCCG TACCTGGCTC GTCCCTCTTAA ACTGGCTATG CGCGATCTTC GACTCCGGCT ATGACGACGAG CAGGGGAGTT TGACCGCTTA CTGCTCCGAT LacZ</p> <p>2551 GATGCCCCCA TCTACACAA CCTCTACCTT CCTGTTGGG TCAATGCC CTACGGGGGT AGATGTTGGT GACTCGGATAA GGGTATATGCC ATTTAGGGG LacZ</p> <p>2601 GTTGTGTCG AGCGGAATTC CGACGGGGTG TTACTGGCTC ACATTTTATG CRAACAGGG TTCTCTTATG GCTGCCACAC ATGACGCGAG TTTAATTAC LacZ</p> <p>2651 TTGATGAGGAG CTCGCTTACAG GAAAGCGAGA CGCGATATG TTGTTGAGG AACTCTTCTG CGCGATGTC CTGCGGCTTC CGCGTCTTATAA AAGACATCCG</p>	<p>LacZ</p> <p>2701 GTTACCTGG CCTTCTACCTC CGGCGCGAC GGGCGCTGGG TCGGTGTTAGG CAATTGAGCC GCAAGATGAG CACCGCGTGG CGCCGCGACCC AGCCATATGCC LacZ</p> <p>2751 CCAGGACATG CTTTGTGCTG CTAATTTTCA CGTACGGGCTG TTTTACGGG GTCCTGTCA GCAACAGCA GACTTAATCT GGTCTCGGT AAAATYGGC LacZ</p> <p>2801 CGGGAAGAA CGCGCTGGG GGGATGCTGC CGCGCGCTGC GCGCTCTTGT GGGCGGGCGC CACTACCGAG CGCGACGCTC ACTGCGCTCA LacZ</p> <p>2851 TATCTGGAG ATCAGGATAT GTGGCGGATG AGCGCGATTTT CGCTGAGCT ATAGACCTTC TAGTCTCTATA CACCGCCCTA TCGCGCTATA AGCCACTGCA LacZ</p> <p>2901 CTGCTGCTG CATAAAAGCA CGAACAAAT CACGGATTTT CGCTTGGCGA GAGCGACGGG GTATTTGGCT GATGTGTTTA GTGCGCTAAG GTACAGCGT LacZ</p> <p>2951 CTGGCTTAA TGATGTTTC AGCGCGCTGC CGCTTGGGGCG TGAATGTTGAG GNGGAAATTT ACTACTAAAG CGCGACGCG ATGGCTCGC ACTTCAGTC LacZ</p> <p>3001 ATGGCGGGG AGTTGGGGTA CGTACCTACAG GTAACAGTTT CTTTTGGCA TACAGCGGG CGAACCGCTT GATGGATGCC CATTGTCAGA GAATAACCGT LacZ</p> <p>3051 GGTGGAACG CAGTCGCGA CGCGACGCG CGCTTGGGGCG GCGTGTAA CCCGCTTGGC GTCCAGCGGT CGCGAACGCG CGCACTTATA LacZ</p> <p>3101 TGGATGAGG CGTGTGGGGT CGCGATGGGG CGTACCTAGG TTCTGAGGTC AGCTACTCC ACCAACCTA CGCGTACGG AGTGTGAGAC AGACTTGGAG LacZ</p> <p>3151 GAAACCGCA AACGTTGGAG CGCGCGAACAT CGCGATCTCTT ATCGCTGGGT CTTGTGGCTG TTGACCTCTC CGGGCGTTAG GCGCTTGGAGA TGGACGSCCA LacZ</p> <p>3201 GTGTTGAGCTC CACACCGCG CGCGACGCGT GTTGTGAGCA GAGGCGCTGG CGCAACTGAC GTGTTGGGGCG CGCGACGCG GCGTGTAA LacZ</p> <p>3251 ATGGCGGGTT CGCGGGGGT CGGATTTGAGA ATGGCTGTGCT GTGCTGAGAC TACAGCGAAA GGGCGCTCCAC CGCGATCTTT TACCGAGACG CGACGAGCTG LacZ</p> <p>3301 GCGCAAGCGT TTCTGTTGGG AGCGCTTACAC CGTACGAGNC AGTACGCTCT CGGTGCGCA ACCTGCTACG CGCGATCTGG CGCGTGTGAGGAG LacZ</p> <p>3351 GCGATGGCTG CTCGATGAGT CGCGACGAT GTGGCGAGAT ATCCGCTGTA CGTACCGAGT CGFACCTAC CGTGTGCTCA CGACGCTCTA TAGGAGACG</p>
---	--

LacZ		LacZ	
3401	TGAGGCAGAA CAACTTTAAC GGCGGGCGGT GTTCGCAATT TCGGACCAT ACTTGTCYT GTTGAATTC CGCGACGGCA CRAGCGTAAAT AGGCGTGGTA LacZ	4101	GGCCGATCGCA GGCGTGGCGG AMGCCAARCA CRAGCGACGGG TTTTTCGCGT CGCGCAGTGG CCGCGAACCC ATCGGAGTCA CGACGCAATAA CCTGTTCCGG LacZ
3451	CGCGTGGGGT ACACCGCTGTT CGACCGCTAC GCGCTTGTGATG TGCGTGGATG GGCGACACCA TGTGCGACAC GCTGGCGATC CGCGACATAC ACCACACTAT LacZ	4151	TCCGTTTATC CGCGCACAAAC ATCGGAGTCA CGACGCAATAA CCTGTTCCGG AGCGCAATAAG CGCCGTTTGG TAGCTTCATC GTGCGGTTAT GGACAAAGCCA LacZ
10	3501 AGCCATTAATG GRACACCACCG CGATGGGCGC AATGAGATGT CTGACCGATG TCCGGTAAAGA CTGTCGGTC CGFACCGCG TGTACTTCGA GATCTGGCTAC LacZ	4201	CATACCGATA AGCGAGCTC GCACGGATG GTGCGCGCTGG ATGTTAACCGC GTATCGCTAA TGTCTGAGA CGTACGCTAC CACCGCGGCG TACCATTCGG LacZ
15	3551 ATCCGGGCGC CGTACCGCCG ATGAGCGGAA CGCTACCGCC ATGGTGGCG TAGCGCCGAC TACTGGCTTG TACGAGCGC CGGATGAGTC LacZ	4251	GTGCGGACGG GGTGAGTCC CTCAGGATGCT CGCTCCCGAA GGTAACACGT CGACGCTTCG CTCATTCAG GAGACGTTACA CGACGGGTTT CCTATTGTC LacZ
20	3601 CGGAGTCGTA ATCACCGACG TGTGATCAG TGTGCGCGS CGGATGAGTC CGCGTAGCAT TACTGGGCTC ACATAGTAG ACCACGGACG CCTTACTTAG LacZ	4301	TGATTTGACT GCCTTGACTA CGCGCACCGG AGAGGCGCGG GCAACTCTGG ACTTACTTGA CGGACTGTAT GGCGTGGCGC CCTCGGGGCC CGTTGAGGCC LacZ
25	3651 AGGGCAAGGG FGTAAATCAG ACCCGCGTGA TGTCTGGATC AATGCTGCG TCGGTGGCGG CGTATTGGTC TGCGGACAT ACCGACCTAG TTGTCAGAC LacZ	4351	CGACGAGTAC CGCGTACGCA ACCGACGGG AGCGACGGG GAGAGCGGCC GAGTGATGTC CGCATACGAT TCGCTGGC TGCGCTACCA GTCTTGGGCC LacZ
30	3701 ATCCCTTCGG CGCGGTGCGT TAIGAGAGCG CGGAGGCGCA CACCAAGGCC TAGGAAGGGC ATACCTCGCGT ATACCTCGCGT CGGGTGGCG LacZ	4401	GGACATCAGC GCGTGGCGAC AGTGGCGCTCT GGCGGAAAGAC CTCAAGTGGA CTGTTAGTCG CGGACGCGC TCACCGCTAGA CGGCGTTTGG GAGTCACHT LacZ
35	3751 AGGATTAATTA TTTCCCGATG GTACCGCGGC GTGAGTGAAG AGACGCGCT TGGCTATATP RANCGCGCA CGCGCGCGS CACCTACTTC TGGCTGGAA LacZ	4451	CGCTCCCGC CGCCCTCCAC GCGATCCCGC ATCAGCAC CACCGAATG GGCGAGGGCG CGCGAGGGTGG CGTGTAGGGCG TAGACTGGTG GTGCGTTTAC LacZ
40	3801 CCCGGCTGT CGGAAATGGT CCATCAAATAA ATGGCTTTCG CTCAGCTGAG GGGGCGACAC GCGTTTACCA GTGAGTATTT TACCGAAGC GATGGACCTC LacZ	4501	GATTTTTCGA TGAGCTGGG TAAATAGCGGT TGGCGATTTA ACGCCAGTC CTAAARAAGCT AGCTCGACCC ATTATTCGCA ACCGTTAAAT TGCGCGTCA LacZ
45	3851 AGAGGGCGC CGGAGATCTT CGGGAGACAG CGACGGCGT CGGTACAGT TCTGGCGCG CGACTAGAA AGCGCTATGC CGGTGCGCTA CCATTTGTC LacZ	4551	AGGCTTGTCT TCAAGAGTGG GTGATGGCGA TAAAGAACAA CTGCTGAGGC TCCGAGAGAA AGTGTCTACA CCTAACCGCT ATTTTTTGTT GAGCTGGCG LacZ
50	3901 CTGGGGGGIT TGGCTAAATAA TGGCGAGGCG TTTGGCTAGT ATCCCGTTT GAACCGCCRA AGCGGATTTAAT GACCGCGCG CGAGCAGTCA TAGGGCRAA LacZ	4601	CGGGCGCGA TCAGTCACCC CTGTCACCC CGTGGTACCGA CATTGGCGTA GGCGACGCGC ACTGCAAGGG GGGGGGGGG ACCATTTGGG GAGCAGCGT LacZ
55	3951 ACAGGGCGC TTGGCTGGG PCTGGGGGGA TGAGGCGCGG ATTAATATG TGTCGGCGCG AGCGAGNC CGTGGCAACCT AGTCAGCGAC TAATTTTAD LacZ	4651	AGTGAAGGGC CGCCGATGTA CGCTTACGCC CGTGGTGGCGAC GTCTGGAGGC TCACCTTCGCT GGGCGTAACT GGGATGGGGG ACCACGCTTG GACCCCTTCG LacZ
4051	CGGAGGATC CGGAGCTTCG TATGAGCGGT CTGGCTCTTG CGCACCGAC GGCTTGCTAG CGGTGAGAC AGTACCTGGCA LacZ	4701	GGCGGGCGAT TAAAGCGGG AGGAGCGGTT GTGCGAGGCG AGCGAGATA CGCGCCGCTA ATGGTCCCGC TCCGCGGAA CAAAGTCACG TSCCGCTAT LacZ
4551	4001 ATGAAARCGG CAACCGCGG CGCGCTTACG CGCGTGAATT TGCGGATAC TACCTTTGCC GTTGGGCAC AGCGAGATTC CGCGACTAA ACACGCTATGC LacZ	4751	CACTTCTGCA TGCGGGCTG ATTACGACGG CTCAACCGTG CGACGATCAG GTGAGRCAGT AGGCCGACG TAATGCTGGC GAGTGGCGAC CGTFCGTRACTC LacZ

LacZ		H6 Promoter	
4801	GGGAAARACCT TATTATTCAG CGCGAAARACG TACCGGATTC ATGGTGTAGGG CCCTTTTGA AATTAATAGTC CGCGCTTGG ATGGCGCTAAC TACCATCAC LacZ	5501	GGGGAGAAA ATGATAAAATT ATTCATTTAT CGCGGAAACG GTTAAGTTG CGCGCTTAAAT TAGTATTAAAT TAAAGTAACTA CGCGTAAAGG CAAATCAAC H6 Promoter gp100 (M)
4851	TCAATATGGCG ATTAACGGTGG ATGTTGAAAGT CGCGAGCGATC AGACGGATC AGTTATGGCG ATTAACGGTGG CGACGCTAC TACACTTCA CGCGTGGCTA LacZ	5551	TATGTAATTCG TCGAGGACGGG ACCATAGGATC TGGTGCTAAAGA AGATGCGTT ATAGGATAGTACG CGTGGCGGGG TGTTGCTAGS ACCACAGATTT TTCTACGGAA gp100 (M)
5		5601	CTTCATTTGG CTGGGATGAG TGCTTGGCG CGCTGCGGGG CTACAAAGG GAAGTAARACCG CGACATTCACCC AGGAACAGCG CGACACCCCC GAGTCCTTTC LacZ
10	4901 CGCGGGGGAT TGGCGAACG CGCGAGCGGG CGCGAGTAGC AGCGGGGGTA CGCGCGCTTA AGCGGACTTC AGCGTGCAGG CGGTGTCAGG TGCGCCGAT LacZ	5651	ACCCGAGAAA CAGGACTGGG TTGGGTTCTCA AGGGCAACTA AGGAGCAAAG TGGGTTCTGG GTTCTGGAGG ACCACAGAG TCCCGGTTGTT CTTCTGAACTG gp100 (M)
15	4951 AACATGGCTGG GATTTAGGGCC CGAACAAAGAA TATGCCGACCC GCGCTTACTGC TTGACGAGAC CTAACTCCCGG CGTTTCTTTTG ATAGGGCTGG CGGAGATGAG LacZ	5701	CGTGGACACG CGACATTCAG CGAGCTGGA CGAAGGCCA GAGACTTGAC GGACCTTGGTGT CGTCGACATA CGCTTCACCT GTCTCTGGGT CTCTGAACTG gp100 (M)
20	5001 CGCTTGTGTTT GACCGCTGGG CGCGGACTTC CAGTCAACAA TACAGCGGTA CGCGGAAAAA CTGGCGCGAC CGAGCTGTTAA CAGTCTGTCAC ATAGGGCGCA LacZ	5751	TGGCGAGAGG CGGGTCACTG CGCGCTCAGG GTGCTGTTAGT ATGGGCCYIA ACGACCTTCG CACCGAGTC CACCGAGTC CAGTCATAC TACCCGGATG gp100 (M)
25	5051 ACGTCTTCCC AAACCGAAACG CGTCACCGCT CGGGGAGCGCG CGATGTTAAT TGCAAGAGG CTGGCTTTTG CGACGCGA CGCCCGCGC GTTAACTCTA LacZ	5801	ACTGTTGGG CGAAATGCTT CTTCTCTTA TGCTCTGGAA TGACTAACCA CGTTCAGCGA CGAAGAGATA ACCGAGCTTG AAGGGACCTT gp100 (M)
30	5101 TATGGCCCG ACCAGTGGG CGCGGACTTC CAGTCAACAA TACAGCGGTA ATACCGGGTGG TGCGTACCGG CGCGCTGAGG GTTCAAGTGTG AGTGGCCAT LacZ	5851	CGCGAAAGGT ATTCGCGAGT CGCGCTCAGG GTGCTGTTAGT CGTATGGTGA CGTGTTCCTCA TAACGCTGCTA CGCCGCTTAT AGACCGAGTT GTTATGGTGA gp100 (M)
35	5151 CAGTCACGG CAACTGCGGG AAACCGACCA TACCGCGACCT CGTCACGGCG GTGCGCTGTCG CTTAACCTACG TTTCGCTGGT AAACGGTAAAG CGACGCGCC LacZ	5901	ATCAATGGG CGCGAGGTGG CGGGGGCGAC CGAGCTGATG CCTACGGAAAC CTTCTGGCTG CTCGGCTTAC CGCTCTGTCG GTGTCACATAG GGGTCTTGTG gp100 (M)
40	5201 GAAGAGCGCA ATGGCTGAAAT ATGGCAGGTT TCCATAGGG GATTTGGTGG CTTCGCGGTT TACCGCTACTA TAGCTGCGCA AGGTATACCG CTACACCGCC LacZ	5951	TGACGNVNGC TGACATTCG CTCAGGATGG ACCTTGCGCA TCTGCTCTT ACTGCTACGAC ACTGAGRAGC GACTACCAACG TGACGACGGG AGACCGAGGA gp100 (M)
45	5251 TGCGTACGAT TACCGCTGGG CGTGGCTGGG GTTCAAGTGG CGTGGCGGG CTTCGCGAGG CCTCGGGCGA TCATAGCGCG CTTAAGGTGCG ACTCGGGGCC LacZ	6001	GGCTGAGAA GAGGAGCTTC CTTCAGCTGT CGAGACGCTG CGGCCATATAC CGAGACGCTT CTCTTCGAGA CGAACGAGCA CGCTTCTGAGC CGCGGTGATG gp100 (M)
50	5301 TGGCTACGAT TACCGCTGGG CGTGGCTGGG GTTCAAGTGG CGTGGCGGG AGCGAGGCGA ATGGCTGAGG AGACGAGCTTC TTTCATTTATG ATGGCGGG GGGGGGATCC CGGAGCTTACG CGAGATCTACG CGCGATGCAAA CGTGGATGAG LacZ	6051	TGGCGAGTCG TGGGGGGCCC AGTGGCTGGG CTGACGCTTGG CGACAGCGCG ACCGCTGAG ATCCCGGGGG CGACGACGGG GAGCTGTTGAGA CGTCTGGTGC gp100 (M)
55	5351 AAAAGTGGAA AATTAATACA AAGGTTCTTG AGGGTTGTGT TAAATGAAA TTTTCTACTT TAAATTTATG TTCCAGACAC TCCACACAA LacZ	6101	GGCGAATCTG CGCGACACAA CGATGAGCTG GAGCTCTTAC CGTACGAGG CGCTTGTGAGC CGCTGGTGTGTG CTGACCTCTTA CTGACGAGAAG STAGCGECCC gp100 (M)
55	5401 ACCGGTCGACCG TCGAGCTGGTGG ATGGCTGCGG GGGTCTTTTA TTCTATACCT 16 Promoter	6151	GATCGCGAGA CTAGTGGCTG CTTGTGCTATC CGAGCTGAG CGTCACCAT CTAGGGGCTC GATACAGCGA GAACGAGTAA GGTCGAGTCG GAAGTGTGAA
55	5451 AAAAGTGGAA AATTAATACA AAGGTTCTTG AGGGTTGTGT TAAATGAAA TTTTCTACTT TAAATTTATG TTCCAGACAC TCCACACAA		

	gp100 (N)	gp100 (M)
6201	ATGGACCCAGC TGCCTTTCG CTCGACGCTT TCCCAGTGGC GGGCCGTGGA TACCTGGTCC ACGGAARAGC GCACCTCGCAC AGGGTCAACG CCGGAACTCT gp100 (N)	6901 CRATCATGTC TAGCGGAAGT ATTACAGGTT CCTCTGGGCC CCTGCTGGAT GTTAGTACAG ATGCGCTTCA TAATGTCCAA GGGACCCGGG GGACGACCA gp100 (M)
6251	TGGAGGAGAC AACGACTTTCG TGAGAARATCA GGCCTCGAAC TTTCGCGCTCC ACCTCCCTTG TTCTGTAAGG ACTCTTGTAGT CGGAGACTGG AAACCGGGAG gp100 (N)	6951 GGTGACGCCA CCTTAAAGGAA GGTGAGGAA CAAAGTCCCCC TTGATTTSTCT CCATGTGCGST GGAAATTCCGA CCACCTCTCT GTTCAAGGGG ACCTTACACA gp100 (M)
6301	AGCTCCATGA CCCCACTGGC TATCTGGCTG AAGCTGACCT CTCCCTAACCC TGCGGACTCTG GGGGTCAACG ATAGACCCGAC ITCGACTGGA GAGGATGTTGG gp100 (M)	7001 TTGTATACCT TATGTTCTT TTTCGCTGAC CCTTGACATT TTCCAGGGTA AGACATAGCT ATACAGACCA AAAGSCGAGC GGACCTGTTA CAGGTTCCAT gp100 (M)
6351	TGGGACTCTTG AGCAGAGTAC TGCAGACCTG ATCTCTGGG CACTTTGGT ACCTGAAACG CTCGTCATCC AGCGGAGAC TAGAGAGGCC GTAGACACCA gp100 (N)	7051 TTGAGAAGNC CGGAGCTTGG CAGGGCTGGC CCTCCCTGCA CGGGGATGCA AACTTCAACG CCTCTAGGGC GCGGACACAGC GGACSGCCTCT CGCCCTTAC gp100 (M)
6401	CACTCATVACT TACTCTGGAC CTGGCCCGACT CAATGTTGAG GTGGTCCGCG GTGAGATGAGA ATGGACCTTCC GACGGGGTCA GTGACAGTCG CACAGGAGC gp100 (N)	7101 TTGAGCTCTG CTGNGCCCA CCAAGGGGGC CTTGGCCAGG AGACCTGCA AAACTGACTG GACACAGGC GGTTCGGCCCG GACGGTTGTC TTCCGAGGTA gp100 (M)
6451	AGGCTGCGCT TCGGCTGGCTG CTCGCGCTGG TCCAGCGAGT TCCAGCGAC TCCAGCGCTA AGGGAGATGG AGGAGACCGA GGAGGGGCTCA AGCTCGTGG gp100 (N)	7151 GGAGATCTCA TGCGCTGGCTG GCGAACCCCGG TGCCAGAGGG CTTGGCCAGC CCTCTAGAGT AGGGTCCCA CGTGGGGGGG AGGGTTCGG GACAGCTGG gp100 (M)
6501	ACAGATGCGGC TTACGGCCAC TGCAGAGGCC CCTACACCA CAGCTGGCA TGCTGACCTG TGCGCGGTG ACCGCTGGGG GGATTTGGGT GTCAAGCGGT gp100 (N)	7201 CTGTCGCTACC CGACCCAGAC CGCCAGCTG TTCTGACCA GATACTGANG GACAGATGAGG GTTCGGGCTGG AGGGTGCACG AAAGGAGGTGT CTATGACTC gp100 (M)
6551	AGTGTCTTCTT ACAGGAGTGTG TGGGTACTAC ACCTCTGGAG CGGGGAACTG TCACGGATGAG TGCTCTTCAC ACCCATGAGC TTGACCACTC CGGGTTGAC gp100 (N)	7251 GTGTCGCTGGG GGACATAGC CCTCTGAGTG TTCTGCGTC ATACACAG CGACGGAGCC CGTGTATGAC GGAAGTTTACA AGAGACCGAC TATGGTTGTC gp100 (M)
6601	CAGAGCCCTG TTGACACCA TCCCTTGAGG TCCCAACACCA TGAGACATCA GTCTGGGAG AGCTTGGGTG AGGGTGGC AGGGTGGTGG ACTTCAVAT gp100 (N)	7301 CCTGGCAGCTG GTCACACCC AGGCACTACG CCTCTGGTCA GAAGGAGGGC GGACCGCTTCG CAGCTGGTGG CGTAAATGAGT CGAGACGCTT CTTCGTCGG gp100 (M)
6651	AGGACTGCGAC CTGTCGAGATG GCGAACCTCA GAGAGGAGAG GTATGACAC TGCTGACCTG GACACGCTTA CGGGTGGACT CCTCTGVTGTC CATACCTGG gp100 (N)	7351 TTGGCGAGG TTGGCTGATG GGGGGCATCT TTGCTGGGGT GTGTCGCTGG AGGCGCTGCA AGGGTCACTG CACCCCTAGG AGGACCCACAG CTACCGNC gp100 (M)
6701	TGAGAGGTC CGATTTTAC AGGGTGGGG TACACAGTCG GCMAGATGT ACTCTTCAG GGTGAGATG TCCAGCTGG AGNGTGTGAC CGTCTCTAC gp100 (N)	7401 GGGCTCTGAT CTCTGATATA TAGGGGAGA CTTGTGAGG AGAGCTTCCC CAGGAGCTGA GAGGATATAT ATGCCGCTGTT GAACTCTGCG TTCTGAGNG gp100 (M)
6751	CAACTCCAGA CGCTACAGGT ATGACACCGT CGAGAGTATC ATTATGGTG GTGAGGGCTT CGGAGTCGA TACINGTGAGC GTCTCCATAG TTAAACCCAC gp100 (N)	7451 CGTACCCCGG TTGCGACATG CGGACATCTA CTGGCTGGCA CTACCGCGA GCATGGGGTC AGGGTGTAA CGTGGTGTG AGGACGGAGCA GATGGGGCGT gp100 (M)
6801	CTTCTCTGGA CCAACCGCTG ACAGGPPACA ACTACAGAGT GGTTGGAGAC GAAGACCTT GGTTGGAGC TGTCATATG TGATGTTCTCA CCACATCTG gp100 (N)	7501 TCCTTCGTCG TTGTCGCCATT GGTGAGAGCA GCGCCCGCTCT CAGTGGGAG AGAGAGGAGG AACGGGTAA CGACCTCTG CGGGGGGGG GTCACCCGTC gp100 (M) 42K promoter
6851	CACAGCTGAG GAGCTACTA TCCCTGAGCC TGAGGAGTC GATGCGAGCT GTGTCGAGCT CGTGGATGGT AGGGACTCGG ATCTCGAGGT CTACGCTGCA gp100 (N)	7551 CAGGCTGTAT TTATTTCTA GTTCAAAAAA ATATAAATGA TTACACATC GTCGACGCTA AAATAAAGAT CAAGTTTCTT TATTTTACT TATGTTGAGA

	42K promoter	Mage 1-3 minigene	C5 Left Arm
7601	GAATGAAAGA ATATTAATTCG GGAGAGATATG ATATAATTTT GGGATGAA CTATCTTTT TTATATATAC CCTCTTATAC TATTTAAAGA CCTTAAAGTT 42K promoter Mart-1	8251 CTAGTTTTTA TCCCGGGTTT TTGGACTTAG TTATACAGGS CGCGTTTATAA GATCAAAAT AGGGCCCAAATA ATGGTGTGTC ATATAGTCTCC GCGCATATT C5 Left Arm	
7651	ATATGAAAT ATATTAATTCG ATATTAATTCG ATAGGTTGGG AGGGTCTCT CTATCTTTT TTATATATAC TATTTAAAGA CCTTAAAGTT Mart-1	8301 AGATGCTAAA TGTCAATTATT TTATATTTATG AAAAATAGG AGATCATGAG CTCTGTTTTT CGATTTATGTT GATTTATGAC TTCTTTTCTCA TGTTGACTC C5 Left Arm	
7701	AGATGCTCAC TTCTCTTACG GTTACCCCA GAGGGGGCAC CGCCCTCTT TCTAGGAGTG AGCTGAGTAC CAATGGGGTTT CTTCCTGGTGG CGGGTGGAGA Mart-1	8351 CAACGGGTTA GTATTTTTTCTT CTATGGCTAT TACGGCTTCA TACGGCTTCA CTTCGGCAAT CTATATATTTTCTT ATTCGGCTAT ATGGCAGAT C5 Left Arm	
7751	ACACCCAGGG TGAGAGGGCGC GTCTGGAGATG GCTATCTGGAG AGTGTACCTG TGTTGGTGCCTG ACTTCTTCGG CGACCTCTAGG CGTAGAGACTC TTACAGAGAC Mart-1	8401 TTGTTTTAGA TTTCAGATAG TTGTTAGAGAA AGAAACATTAT TGTATGAGA ACAAATTAATC AGGTCTGAT CCTTCATTTT CTTCCTAAATA ATCTTACTT C5 Left Arm	
7801	GGAGCTCTAC TGCTGATTCGG CGTGGTTGTTG TGAGGAGAC GAATGTTGATA CCTCCAGAGT ACAGCTGGAC GACACCCATA ACATCTTCG TTCTTACCTAT Mart-1	8451 AACTTTTATG AGAGTGAAGA FGCGCGAT GATTTATGTT GTAAATCTGT TGAGTAACTC TTCTCTCTG CGGGATTCAT AGTGTACCAA TTGTTGATC C5 Left Arm	
7851	CGAGGCTCTG ATGGATGATTA ATCTTGTGTTG TGCGCTCTA GGTGCTGTTA GTCTGGAGAC TACCTTTTCTT GAGACCA AGGGTGGGTT AGACGGGTT Mart-1	8501 TTGGAGTAAAGA GAAGGAGAGG CGCTTAAAGTA TACTCTGGTTT ACAAGATATA AAATCTCTTCTT CTCTCTCTG CGGGATTCAT AGTGTACCAA TTGTTGATC C5 Left Arm	
7901	CAAGAGATG CCCCAAGAGA GGGTTGATC ATGGGGACAC GAAAGTGTCT GTTCCTCTAC GGGTTGTTCTT CCAAACATAG TACCCCTGTCG GTTACAGACA Mart-1	8551 AGCTGATCT ACTCTAAGGGG ACCTCTGGCA GAGGGGTTAG TACGGCTTA TCAGGUAGTA TGATGACCG AGACGACACTT CTTCGATACG ATATCTCTT C5 Left Arm	
7951	CTTCGAGGAA ATATCTCTG AGCTTGTGTTG CCTCCATCTC CGCCCTGTTA GAAGTGTCT TTTTGACACT TGGACACCA GGGTTACGGG TTGGGGAAAT Mart-1	8601 ATGGTTGTTG ATTATGATTA TGAAAANACCA ATATAAATGAG ATCCACATC TACACAGCTA TAATACATAC ACTTTTGTG TTATTTTACT TGGTGTATGA C5 Left Arm	
8001	TGAGGAACTC TTGCGAGAGA AGTCACCCAC ACCTTATTCG CCTTATCTA ACTCTTGTAC AGACCTCTTCTG CTAGTGGGG TGGAAATAGT GGAAATGAT 8E/L Promoter	8651 AAAGGTAATCT CCTTCGACAA TAAATTCAC TTTCTCTGTT TTGAGATAC TTTCCTCTAGA GGGAGGAGG ATTAATGAGT ATAGAGGATCA ATATCTTATG C5 Left Arm	
8051	GAGTCGACCT GCGGGCATGC AAAATGAGA ATTTATTTT TTTTTTGG CTCAGCTGGG CGTCGCGTAC TTTTTAATCTT TAAATATAAA AAAAATAAAC sE/L Promoter	8701 TTTCATATCA TTGGTTTACG CTTCGCTCC AAAAATAT ATGGATATA AAAGTATATA AAACAGATA CGCTCTGCTC TTTCCTTATA TAGCTTATTA C5 Left Arm	
	Mage 1-3 minigene	8751 GAGAGTTGTTG TTAACTCTGC TTATTAAGATG ANATGAAATG AGCTCTGAC CTTCCTTACG ATATGAGAGG ATTAATCTAC TTACTCTAC TTACGACACTG C5 Left Arm	
8101	ATATATATAA ATGGAGTCTC TGGCTCTGTT CTTCGCTAC GAGGGAGGG TTATATTTAT TACCTCGAGA AGCTGACCA GAAGCTGAA CCTGCCTCTC Mage 1-3 minigene	8801 TGCAACGAG CTTCGCGTAC CGCTCTGGTT TACACGCTGG TTCTGGGAA ACSGCCTGTC GAACCCCTCA CGCCGCAAAATA ATGGCTGAGC ACTGACCTCT AACTCTCTG TTACGGCTAT TAATGCTCTT GAGCAGACATC CCTCCCTTCTC 8851 TTGGACGCCA ATATGGTTGA ATTCGGCGGA CGCTGGTGGAG GGGGAAAGCG CAGCTGGCTT ATATGAGAGG AGGGCCCGCA CGATGCGCTT TCCCAACAGT 8901 TGCGACCCGTT TTACGGCTTA TCCGGGGGGT GCTCGGGGGT AGGGTTGTC TCCGACCCCT GAGAGGCGCA TGCCTGGCA TGCCTGGGTTA TTCTCTTACG 8951 TCCGACCCCT GAGAGGCGCA TGCCTGGCA TGCCTGGGTTA TTCTCTTACG CAGCTGGCTT TTACGGCTTA TCCGGGGGGT GCTCGGGGGT AGGGTTGTC 9001 CAGCTGGCTT TTACGGCTTA TCCGGGGGGT GCTCGGGGGT AGGGTTGTC GAGACGCGC CCTATGATGTG GGCCTATACG AGCTGAACTG ATGGTGTACG	
8151	AAGCAGAGCC CACCGGCCAC CCTCTTCTGC TTTCGACCTCA CCTAGGTTCTC TTCTGCTGGG GTGGCGCGTGG AGGATGAGCG AACAGTGGAC GTATGCGAG Mage 1-3 minigene		
8201	TCCATGATGAGS GCAATTAAGG TGAGAGAATG GACCCATAGG GCGCATCTGTA AGGATACACT CGTATTGCTC ATTTCTCAC CTGGGGTAAAG CGGTGACAT 55		

【 図 6 C 】

### **FIGURE 6C**

## 【図6D】

**FIGURE 6D**  
gp100 and gp100M

```

      1 MDL VIKRCCLLILUA VIGHLLAVGA TTKVNRQOGL GVSPQLRTKA WNRQOLYPERT
      2 *** ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
  5   1 EAQRLLDCWRG GGVQSLKWSND GPTFLIGANAS FSIALNPGGS QRVLPLGGVW WVNNTTINGS
  6   2 *** ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
  10  1 QWNGGQPVYP QSTDDACIIP DGGHCFSGSN SCKRSFVIVW KIWQWFOFL GPFVSGLSIG
  11  2 *** ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
  15  1 TGRMLIGHT MEVVVVHHRG SSRSVVPLANS SSAFTITDQV PFSVSVSOLR ALDGGNNHFL
  16  2 *** ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
  20  1 RNQPLTFALQ LHDPSGYLMR ADLSYTWDPC DSGTGLLISRA LUVVPHTYIEP GPVTAQVVLQ
  21  2 *** ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
  25  1 ARILTSOGS SPVPGTDTGH RPTARAPNIT AGQVPIITKV GTTFCGAFTA EPSTGTTSVOV
  26  2 *** ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
  30  1 TADQVLTEN VETTPARELPV PRPEGDASS IMSTESTING LGPILLGATP LRUVKROVPL
  31  2 *** ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
  35  1 QGPAPRLOQP VLPLPQACVJ LMQTLKGGSC TXCLNVLISAD TNSLAVVSTQ LIMPGCERGL
  36  2 *** ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
  40  1 FLLSGQQV2 *** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *
  Key
  *-identical amino acid residue
  1-gp100
  2-gp100M

```

## 【図6E】

**FIGURE 6E**  
ICAM-1

```

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

```

## 【図6J】

**FIGURE 6J**  
ICAM-1\*

```

mapssprpal pallylgal fppgpnqaae vppskvlpr ggevlytcat scdpkllgi
cpplpkell lpgnnwkyre lanvgedags mcyenepdgs stcktflyv wvewvovp
lpswgvgnk ltlrcqeqng spranitwl lrgekelkre pagvepaevt ttvlrrddh
ganfscrtel dlrpgqglf entsepvcylg tfvlpattppq lvsprclewd tqgtwvcsld
glfpvseaqy blalgdrnl ptvtygndsf sakasvsvta adeoptgrtc avilgnqse
tlqtvtiyf papnvltkp evsgegtetv kceahprakv tlnsgvapgl gpraqllka
tpednhrsfs csatlevaqq lkhkntrel rvygprlde rdcpqnwtwp ensqgtpmcq
awgnplpelk cldgdtfpilq igesvttvrd legtylcra stggvttrev tvnvlsprye
ivitiavvaq vimgtaglst ylynqrkrik kyrllqqaqkg tpmkpnktat pp

```

\*mature sequence begins at residue 28 (q)

## 【図6F】

**FIGURE 6F**  
MAGE-1

```

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

```

## 【図6G】

**FIGURE 6G**  
MAGE-3

```

mpleqrsqhc kpeeglearg ealglyqagc pateegeaas ssstlvevtl gevpaeespd
ppqspqgass lpttmypil sqsyedssng eeeepstfpd lesefqaals rkvalvhfl
lkykarepvt tkaemlgsva gnwgyffpwi fskassslql wfgielnevq pighlyifat
clglsydgll gdqimpkag llifviaila regdcapeek iweelsylev fegredslq
dpkklltghf vqenyleyrz vpgsdpcaye fwgpralve tsykvihhm vkiisggphis
ypplnewvir egae

```

## 【図6H】

**FIGURE 6H**  
BT-1

```

mghtrrqgts pskpcylnff qllvlqaglh fcsgvihvtk evkevatlsc ghnsveela
qtriywgkex kmvlitmsqgd mnwpeykrn tifdittmns lviilalrpds egtyecvnlk
yekdafrehk laevtisvka dfptpsisdf eliptsnirri icstsgffpe phlwlenge
dnllpswait llsvnqifvi cctyfcapr crerrnnei rresrvp

```

## 【図6I】

**FIGURE 6I**  
LFA-3

```

mvagedagra lgvlsvvcll hcfcifscfs qqiygvvgn vtfhvpsnvp lkeviwkkqk
dkvaelense fratsfknr vlydtsvagl tlynltsdde deyenespni tdtmkffly
leslpsptit caltnsgs vqimipkngs hrqimlyswd cpmeqckns tsifykmend
lpqkqctis nplfnttssi illtcipssg hsrhryalip iplavittci vlymmgilkc
drkpdirtnsn

```

## 【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		Inte rnal Application No PCT/US2004/028751
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 A61K39/00 A61K48/00 A61P35/00 C12N15/863		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> 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		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
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 — 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
P, X		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.
<p>* Special categories of cited documents :</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the International filing date</p> <p>"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)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the International filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"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</p> <p>"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.</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the International search	Date of mailing of the International search report	
1 April 2005	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 apo nl, Fax: (+31-70) 340-2016	Authorized officer Guarinos Viñals, E	

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.
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	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	1-3, 17-19
X	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	1,2, 17-19
X	WO 00/34494 A (THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES OF AMERICA REPRESENTED BY THE SEC) 15 June 2000 (2000-06-15) page 26, line 2 page 34, line 1 - line 12	1-5, 11-19
X	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	1-5, 11-19
X	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	1-4, 11-14, 16-19
	-/-	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International Application No PCT/US2004/028751
C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category <sup>a</sup>	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

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. PCT/US2004/028751
<b>Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)</b>		
<p>This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <input checked="" type="checkbox"/> 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.</li> <li>2. <input type="checkbox"/> 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:</li> <li>3. <input type="checkbox"/> Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).</li> </ol>		
<b>Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)</b>		
<p>This International Searching Authority found multiple Inventions in this International application, as follows:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. <input type="checkbox"/> As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.</li> <li>2. <input type="checkbox"/> As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.</li> <li>3. <input type="checkbox"/> 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.:</li> <li>4. <input type="checkbox"/> 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.:</li> </ol>		
<b>Remark on Protest</b>		<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's protest. <input type="checkbox"/> No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT				Inte rial Application No
Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 03095642	A 20-11-2003	AU WO	2003229429 A1 03095642 A2	11-11-2003 20-11-2003
WO 03080800	A 02-10-2003	AU WO	2003228339 A1 03080800 A2	08-10-2003 02-10-2003
WO 03016342	A 27-02-2003	WO US	03016342 A2 2003113919 A1	27-02-2003 19-06-2003
WO 0034494	A 15-06-2000	AU AU CA EP JP WO US	774076 B2 1621800 A 2354024 A1 1137792 A1 2002531133 T 0034494 A1 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 AU CA EP WO	712714 B2 3998295 A 2201592 A1 0789774 A2 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,M,A,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