

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第6377907号
(P6377907)

(45) 発行日 平成30年8月22日(2018.8.22)

(24) 登録日 平成30年8月3日(2018.8.3)

(51) Int.Cl.

F I

C O 7 K 14/33 (2006.01)

C O 7 K 14/33 Z N A

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

C O 7 K 14/33

A 6 1 K 39/02 (2006.01)

A 6 1 K 38/00

A 6 1 K 39/08 (2006.01)

A 6 1 K 39/02

A 6 1 K 39/395 (2006.01)

A 6 1 K 39/08

請求項の数 25 (全 72 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2013-532271 (P2013-532271)
 (86) (22) 出願日 平成23年10月5日(2011.10.5)
 (65) 公表番号 特表2014-502253 (P2014-502253A)
 (43) 公表日 平成26年1月30日(2014.1.30)
 (86) 国際出願番号 PCT/GB2011/051910
 (87) 国際公開番号 W02012/046061
 (87) 国際公開日 平成24年4月12日(2012.4.12)
 審査請求日 平成26年9月25日(2014.9.25)
 審判番号 不服2016-16921 (P2016-16921/J1)
 審判請求日 平成28年11月11日(2016.11.11)
 (31) 優先権主張番号 1016742.7
 (32) 優先日 平成22年10月5日(2010.10.5)
 (33) 優先権主張国 英国(GB)

(73) 特許権者 513159343
 セクレタリー オブ ステート フォー
 ヘルス
 SECRETARY OF STATE
 FOR HEALTH
 イギリス国 エスタブリッシュメント 2エ
 ヌエス ロンドン ホワイトホール 79
 リッチモンドハウス
 (73) 特許権者 511203226
 マイクロファーム・リミテッド
 MICROPHARM LIMITED
 イギリス国、カーマーゼンシャー エスエ
 イ38 9ビーエックス、ニューキャッス
 ル・エムリン、ステーション・ロード・イ
 ンダストリアル・エステート
 最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 クロストリジウム・ディフィシル (Clostridium difficile) 抗原

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

a) C. ディフィシル (C. difficile) 毒素 B の配列の残基 767 ~ 2366 からなる
 アミノ酸配列;

b) C. ディフィシル (C. difficile) 毒素 A の配列の残基 770 ~ 2710 からなる
 アミノ酸配列;

c) C. ディフィシル (C. difficile) 毒素 B の配列の残基 1145 ~ 2366 からなる
 アミノ酸配列;

d) C. ディフィシル (C. difficile) 毒素 A の配列の残基 770 ~ 2389 からなる
 アミノ酸配列;

から選択されるいずれか1つの抗原性アミノ酸配列からなるタンパク質、

但し、タンパク質は、C. difficile毒素 A のアミノ酸残基 543 ~ 2710 を含むポリペ
 プチドではないことを条件とし;

但し、タンパク質は、C. difficile毒素 B のアミノ酸残基 543 ~ 2366 を含むポリペ
 プチドではないことを条件とし、そして

タンパク質は、システインプロテアーゼ活性を欠き、ここで、該活性を提供するアミノ酸
 配列の一部又は全ては、不在であり、そして

抗原性ポリペプチド配列は、防御免疫応答を誘発することができる、

タンパク質。

【請求項2】

- (a) 請求項 1 に記載のタンパク質、及び
- (b) 精製タグ、及び/又は
プロテアーゼ配列

を含む、タンパク質。

【請求項 3】

プロテアーゼ配列で切断され、請求項 1 に記載のタンパク質を含む、請求項 2 に記載のタンパク質。

【請求項 4】

請求項 1 定義された毒素 A および / または毒素 B のアミノ酸配列以外に、任意の追加的な毒素 A および / または毒素 B のアミノ酸配列を含まない、請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 項記載のタンパク質。

10

【請求項 5】

C. difficile 毒素 A および / または C. difficile 毒素 B に結合する抗体を作製する方法における抗原として使用するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のタンパク質。

【請求項 6】

C. difficile 毒素 A および / または C. difficile 毒素 B に結合する抗体を単離するための in vitro 法であって、

a) 請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載の一つまたは複数の C. difficile タンパク質を表面 (例えばカラム内のマトリックス) 上に固定化すること ;

b) 固定化されたタンパク質を、C. difficile 毒素 A および / または毒素 B に結合する抗体を含有する溶液と接触させること ;

c) 該抗体を該タンパク質と結合させることによって、抗体とタンパク質の結合型複合体を形成させること ;

d) いかなる未結合の抗体またはタンパク質も洗浄除去すること ; ならびに

e) 結合している抗体を表面から溶離することによってアフィニティー精製された抗体を提供すること

を含む、in vitro 法。

20

【請求項 7】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のタンパク質に対して産生されたポリクローナル抗体であって、C. difficile 毒素 A および / または C. difficile 毒素 B に結合し中和し、C. difficile 毒素 A または毒素 B のエフェクタードメインおよび / またはシステインプロテアーゼドメインに実質的に結合しない、ポリクローナル抗体 (ただし、C. difficile 毒素 A の 1100 - 1450 フラグメントに対して特異的に産生されたポリクローナル抗体、1450 - 1870 フラグメントに対して特異的に産生されたポリクローナル抗体及び / または 1870 - 2680 フラグメントに対して特異的に産生されたポリクローナル抗体を除く)。

30

【請求項 8】

抗体が、IgG 全体、Fab 抗体または F(ab')₂ 抗体を含む、請求項 7 記載のポリクローナル抗体。

【請求項 9】

C. difficile 感染の予防、治療または抑制に使用するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のタンパク質および / または請求項 7 もしくは請求項 8 記載のポリクローナル抗体。

40

【請求項 10】

ヒトにおける C. difficile 感染の予防、治療または抑制に使用するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のタンパク質および / または請求項 7 もしくは請求項 8 記載のポリクローナル抗体。

【請求項 11】

ヒトに治療有効量のタンパク質および / またはポリクローナル抗体を投与することを含む、該ヒトにおける C. difficile 感染を予防、治療または抑制するための方法において使

50

用するための、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のタンパク質および / または請求項 7 もしくは請求項 8 記載のポリクローナル抗体。

【請求項 1 2】

タンパク質が、*C. difficile*非毒素抗原、不活性化または弱毒性全細胞*C. difficile*細菌、および*C. difficile*細胞抽出物より選択される一つまたは複数の追加的な抗原を用いた組合せ療法の一部として投与される、請求項 1 1 記載の治療有効量のタンパク質。

【請求項 1 3】

治療有効量の請求項 1 1 記載のタンパク質を含む医薬組成物であって、該タンパク質が、1) 院内感染を引き起こす細菌由来の抗原、および 2) 院内感染を引き起こす不活性化または弱毒性全細胞細菌より選択される一つまたは複数の抗原を用いた組合せ治療の一部として投与される、医薬組成物。

10

【請求項 1 4】

治療有効量の請求項 1 1 記載のタンパク質を含む医薬組成物であって、該タンパク質が、一つまたは複数の追加的な抗生物質を用いた組合せ治療の一部として投与される、医薬組成物。

【請求項 1 5】

治療有効量の請求項 1 4 記載のタンパク質を含む医薬組成物であって、該抗生物質が、院内感染を引き起こす細菌に有効である、医薬組成物。

【請求項 1 6】

ポリクローナル抗体が、*C. difficile*非毒素抗原に結合する抗体、および全細胞*C. difficile*細菌に結合する抗体から選択される一つまたは複数の追加的な抗体を用いた組合せ療法の一部として投与される、請求項 1 1 記載の治療有効量のポリクローナル抗体を含む医薬組成物。

20

【請求項 1 7】

ポリクローナル抗体が、1) 院内感染を引き起こす細菌由来の抗原に結合する抗体、および 2) 院内感染を引き起こす全細胞細菌に結合する抗体より選択される一つまたは複数の抗体を用いた組合せ療法の一部として投与される、請求項 1 1 記載の治療有効量のポリクローナル抗体を含む医薬組成物。

【請求項 1 8】

ポリクローナル抗体が、一つまたは複数の抗生物質を用いた組合せ療法の一部として投与される、請求項 1 1 記載の治療有効量のポリクローナル抗体を含む医薬組成物。

30

【請求項 1 9】

抗生物質が、院内感染を引き起こす細菌に有効である、請求項 1 8 記載の治療有効量のポリクローナル抗体を含む医薬組成物。

【請求項 2 0】

患者試料中の*C. difficile*感染の存在または非存在を確認するためのin vitroイムノアッセイ法における、請求項 7 または請求項 8 記載のポリクローナル抗体の使用であって、*C. difficile*感染の存在が、該試料中に存在する*C. difficile*毒素 A および / または毒素 B への抗体の結合を検出することによって確認され、そして該試料中に存在する*C. difficile*毒素 A および / または毒素 B への該抗体の結合を検出できないことが、*C. difficile*感染の非存在を確認する、使用。

40

【請求項 2 1】

患者試料中の*C. difficile*感染の存在または非存在を確認するためのin vitroイムノアッセイ法における、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のタンパク質の使用であって、*C. difficile*感染の存在が、該試料中に存在する抗体へのタンパク質の結合を検出することによって確認され、該試料中に存在する抗体への該タンパク質の結合を検出できないことが、*C. difficile*感染の非存在を確認する、使用。

【請求項 2 2】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のタンパク質をヒトを除く哺乳動物に投与することを含む、*C. difficile*毒素 A および / または*C. difficile*毒素 B に結合し中和するポリク

50

ローナル抗体の製造方法であって、

該ポリクローナル抗体は、C. difficile毒素 A または毒素 B のエフェクタードメインおよび / またはシステインプロテアーゼドメインに実質的に結合しない、該製造方法。

【請求項 2 3】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のタンパク質を ヒトを除く 哺乳動物に投与すること、及び

製造されたポリクローナル抗体を精製すること、

を含む、C. difficile毒素 A および / または C. difficile毒素 B に結合し中和する、精製されたポリクローナル抗体の製造方法であって、

該ポリクローナル抗体は、C. difficile毒素 A または毒素 B のエフェクタードメインおよび / またはシステインプロテアーゼドメインに実質的に結合しない、該製造方法。

10

【請求項 2 4】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のタンパク質を ヒトを除く 哺乳動物に投与すること、製造されたポリクローナル抗体を精製すること、及び

精製されたポリクローナル抗体を薬学的に許容される担体と混合すること

を含む、C. difficile毒素 A および / または C. difficile毒素 B に結合し中和する、薬学的組成物の製造方法であって、

該ポリクローナル抗体は、C. difficile毒素 A または毒素 B のエフェクタードメインおよび / またはシステインプロテアーゼドメインに実質的に結合しない、該製造方法。

20

【請求項 2 5】

請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載のタンパク質を含む、ワクチン。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、クロストリジウム・ディフィシル (Clostridium difficile) 感染 (C D I) を予防 / 治療 / 抑制するための抗原に関する。該抗原を作製するための方法、該抗原に結合する抗体を作製するための方法、および C D I を予防 / 治療 / 抑制するための該抗体の使用も提供される。

【0002】

Clostridium difficile感染 (C D I) は、今や世界中の病院で大きな問題である。この細菌は、それ自体、軽症の自己限定性の下痢から潜在的に致命的な重症大腸炎までの様々な形態で発症する院内抗生物質関連疾患を引き起こす。高齢患者は、これらの潜在的に致命的な疾患のリスクに最も曝されており、C D I の事例は、過去 10 年間で劇的に増加した。英国では 2010 年に 21,000 例の C D I があり、関連死は 2,700 例を超えた。C D I のせいで英国国民保健サービスは 1 年に 5 億ポンドを上回る費用を費やしている。

30

【0003】

C. difficile (C. difficile) の様々な株は、いくつかの方法によって分類することができる。最も一般的に使用される方法の一つは、ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) リボタイピングであって、その方法では、C. difficileの 16S - 23S rRNA 遺伝子の遺伝子間スペーサー領域を増幅するために PCR が使用される。この方法からの反応産物は、単離株の細菌リボタイプを同定する特徴的なバンドパターンを提供する。毒素タイピング (toxotyping) は、C. difficile毒素をコードする DNA から得られた制限パターンを使用して株の毒素タイプを同定する、別のタイピング法である。異なる株の毒素遺伝子の間で観察された制限パターンの差は、C. difficile毒素ファミリー内の配列変異も示している。例えば、毒素タイプ 0 の毒素 B の C 末端 60 kDa 領域には、毒素タイプ I I I の毒素 B での同領域に比べて約 13% の配列の差がある。

40

【0004】

C. difficile株は、多様な病原性因子を産生し、その中で注目すべきは、いくつかのタンパク質毒素、すなわち毒素 A、毒素 B、およびいくつかの株における Clostridium per

50

fringens 毒素類似の二元毒素である。毒素 A は、感染病理に役割を果たす大型タンパク質性細胞毒素 / エンテロトキシンであり、腸内定着過程に影響を及ぼす場合がある。C D I の大流行は、毒素 A 陰性 / 毒素 B 陽性株で報告されており、このことは、毒素 B も疾患病理に主要な役割を果たしうることを示している。

【 0 0 0 5 】

毒素 A および毒素 B (それぞれ M w 3 0 8 k および M w 2 6 9 k) をコードする遺伝子配列は公知である (例えば Moncrief et al. (1997) Infect. Immun 63: 1105-1108 を参照されたい)。これらの二つの毒素は、高い配列相同性を有し、遺伝子重複から生じたと考えられている。これらの毒素は、共通の構造 (図 1 参照)、すなわち N 末端グルコシルトランスフェラーゼドメイン、中央の疎水性領域、4 個の保存されたシステイン、および長く連なる C 末端繰り返しユニット (R U) も共有する。

【 0 0 0 6 】

毒素 A は、毒素 A のポリペプチド配列のアミノ酸残基 1 8 5 1 ~ 2 7 1 0 に及ぶ 3 9 個の連続繰り返しユニット (R U) を含む。毒素 B は、毒素 B のポリペプチド配列のアミノ酸残基 1 8 5 2 ~ 2 3 6 6 に及ぶ、より少ない R U (1 9 から 2 4 個の間) を含む。毒素 A および B の両方について、繰り返しユニットは、異なる 2 種類、すなわち約 1 5 ~ 2 5 残基の短い繰り返し (S R) および約 3 0 残基の長い繰り返し (L R) である。L R は、3 または 4 個の S R によって相互に引き離されており、L R は、隣接する S R と一緒になって、毒素の糖質レセプターに対する結合部位を提供する。毒素 A は、その C 末端ドメイン内に 7 個の L R を有し、それらは、7 個のレセプター結合部位を提供すると考えられている (Greco et al. (2005) Nature Structural Biol. 13: 460-461)。毒素 B は、4 個の L R を有し、それらは、4 個の糖質結合ユニットを提供すると考えられている。毒素 A および毒素 B の S R / L R クラスター (レセプター結合「モジュール」としても知られている) の例は、大きさが 9 2 から 1 4 1 個のアミノ酸残基まで様々であり、表 1 および 2 の参照によって例示される。

【 0 0 0 7 】

毒素 A および B の両方は、細胞表面上のレセプターへの結合、インターナリゼーションに続く移行、および細胞のサイトゾル中へのエフェクタードメインの放出を含む多段階メカニズムを介してそれらの作用機作ならびに最終的に細胞内作用を発揮する。該作用機作は、R h o ファミリーの低分子 G T P アーゼの不活性化を必要とする。これに関して、毒素は、(U D P グルコースから) R h o タンパク質のアミノ残基上へのグルコース部分の転移を触媒する。毒素 A および B は、システインプロテアーゼの形態で第 2 の酵素活性も含有し、それは、移行後のサイトゾル中へのエフェクタードメインの放出に役割を果たすと思われる。C. difficile 二元毒素は、N A D からそのターゲットタンパク質上への A D P - リボース部分の転移を伴うメカニズムによって細胞性アクチンを改変する。

【 0 0 0 8 】

C. difficile 感染を処置するための現行療法は、抗生物質、特にメトロニダゾールおよびバンコマイシンの使用に依存している。しかしながら、これらの抗生物質は、全ての症例で有効なわけではなく、患者の 2 0 ~ 3 0 % は疾患の再発を被る。大きな関心が持たれるのは、2 0 0 2 年にカナダで最初に同定された、より強毒性の株が英国に出現することである。これらの株には、P C R リボタイプ 0 2 7 および毒素タイプ I I I に属する株が含まれ、これらの株は、以前に観察された死亡率の 3 倍を超える直接寄与死亡率で C D I を引き起こす。

【 0 0 0 9 】

したがって、現行の抗生物質の有効性が漸減していると思われることから、新しい治療法が特に緊急に必要とされる。

【 0 0 1 0 】

魅力的な代替法は、毒素 A および毒素 B に結合し、その活性を中和する抗体の使用である。これは、これらの毒素を放出しない C. difficile 株、いわゆる非毒素生産株が C D I を引き起こさないという知識に基づく。一つのアプローチでは、C D I の患者またはその

10

20

30

40

50

ような感染を発生するリスクのある対象に、毒素Aおよび毒素Bに対する循環抗体および粘膜抗体の増加を生じる抗原を免疫処置することができる。これは、能動免疫として定義される。または、ウマまたはヒツジなどの動物に免疫処置し、それらの血清を採集し、抗体を精製し、患者への投与に供する（受動免疫）。

【0011】

能動免疫および受動免疫の両方に決定的に必要なことは、それぞれ患者または動物に免疫処置するために適した抗原の入手性である。これらの抗原は、適切な*C. difficile*毒素産生株が培養された培地から精製することができる天然毒素を含みうる。このアプローチにはいくつかの欠点がある。毒素Aおよび毒素Bは、共に培地中に少量しか存在せず、顕著な損失なしに精製することは困難である。したがって、全世界の需要を満たすために必要な量を得るのは、高くつき、かつ困難であろう。加えて、天然毒素は不安定であり、そしてそれらの毒性が原因で、それらを免疫原として使用する前にそれらをトキシイド（不活性化毒素）に変換しなければならない。

【0012】

上記問題から、入手可能な*C. difficile*のワクチン候補は少ししかないという結果になった。今日まで、後期開発段階の唯一のCDIワクチンは、ネイティブな（すなわち天然の）毒素AとBの混合物を化学的改変によって不活性化したものに基づく（Salnikova et al 2008, J Pharm Sci 97: 3735-3752）。

【0013】

天然毒素およびそれらのトキシイドの使用の代替法は、毒素AおよびB由来のリコンビナントフラグメントの設計、開発および使用を伴う。そのようなフラグメントを大量に、そしてネイティブな毒素よりも低いコストで発現および精製することができるが、それらの利点の中に含まれる。*C. difficile*感染の治療／予防に使用することを目的とする既存の抗原の例には、毒素Aまたは毒素BのC末端繰り返しユニット（RU）に基づくペプチドが含まれる（例えば国際公開公報第00/61762号を参照されたい）。しかしながら、そのような抗原に伴う問題は、それらが、免疫原性に乏しい（すなわち抗原が不十分な抗体力価を産生すること、またはより高い抗体力価が産生される場合、その抗体が*C. difficile*細胞傷害活性に対して不十分な中和有効性を示す（すなわち不十分な中和抗体が産生される）ことのいずれかである。

【0014】

したがって、当技術分野において、特異的に*C. difficile*感染（CDI）に対処することができる新しいワクチン／治療法／治療薬の必要性がある。この必要性は、上記問題の一つまたは複数を解決する本発明によって対処される。

【0015】

一態様では、本発明は、*C. difficile*毒素Aおよび／またはBに対して強力な毒素中和応答を誘導できる抗原を提供する。本発明は、また、リコンビナント抗原を調製するための方法を提供する。別の態様では、該抗原は、治療用抗体の大規模調製を可能にする免疫原として使用される。さらなる一態様では、該抗体は、*C. difficile*毒素Aおよび／またはBに対して強力な毒素中和応答を誘導できることから、予防および／または治療用途を有する。

【0016】

上記のように（国際公開公報第00/61762号参照）、以前の研究は、毒素Aおよび／または毒素BのC末端繰り返しユニット（RU）に基づくワクチン調製物について記載している。該RUフラグメントは、不十分な毒素中和作用を有し、かつ／または大量生産が困難である。

【0017】

対照的に、本発明は、毒素Aおよび／または毒素Bの繰り返しユニットに基づく*C. difficile*抗原であって、さらに、本発明者らが考えるところには、重要な「足場」機能を抗原に提供する追加的な*C. difficile*毒素ドメインを含む*C. difficile*抗原を提供する。本発明の該抗原は、良好な毒素中和免疫応答を示し、かつ／または容易に大量生産される。

10

20

30

40

50

【0018】

本発明者らは、驚くことに、「足場」第一アミノ酸配列（上記）の存在が、毒素Aまたは毒素Bの繰り返し領域だけを含む対応するフラグメントに比べて10～100倍高い防御（毒素中和）免疫応答を提供することを確認した。表3～10は、本発明の融合タンパク質が、*C. difficile*毒素の繰り返しドメインだけを含むフラグメントに比べて、毒素中和免疫応答を誘発する能力に優れていることをはっきりと示している。表5および6におけるデータの比較から、本発明の毒素Bに基づく構築物が、毒素BのC末端繰り返しユニットだけにに基づく対応する構築物（TxB2と称する）よりもかなり強力な毒素中和免疫応答を誘発することが確認される。より詳細には、18週間の免疫処置期間の後に、本発明の構築物によって提供された毒素中和免疫応答は、TxB2構築物によって提供された免疫応答の約128倍であった。表9および10に、本発明の毒素Aに基づく構築物についての同様のデータを示す。該表におけるデータの比較から、本発明の毒素Aに基づく構築物が、毒素AのC末端繰り返しユニットだけに基づく、対応する構築物（TXA2と称する）よりもかなり強力な毒素中和免疫応答を誘発することが確認される。より詳細には、18週間の免疫処置期間の後に、本発明の構築物によって提供された毒素中和免疫応答は、TXA2構築物によって提供された免疫応答の12倍であった。

10

【0019】

これらの研究成果は、いくつかの理由から驚くべきである。以前の研究から、*C. difficile*毒素RUから成る毒素フラグメントが正しく折り畳まれ、容易に結晶化して秩序化構造が得られ（Ho et al. (2005) PNAS, 102: 18373-18378）、天然*C. difficile*毒素レセプターを模倣した糖質部分に結合する（Greco et al. (2006) Nature Structure. & Molecular Biology, 13: 460-461）ことが示された。したがって、今日までの科学的な証拠が、抗原製剤における*C. difficile*毒素RUから成るフラグメントの従来技術による使用（例えば国際公開公報第00/61762号）を支援し、それと矛盾しない。しかしながら、より重要には、さらなる研究から、*C. difficile*全体に対する抗体が、RU領域全体のみから成るフラグメントを認識する一方で、*C. difficile*の同毒素の残基901～1750に基づく「足場」領域から成るフラグメントを認識できないことが確認された（Genth et al., (2000) Infect. Immun., 68: 1094-1101）。したがって、これらのデータから、「足場」残基901～1750内のドメインは、重大な抗体結合性構造決定基を与えないことが示唆される。これに関連して、ペプチド結合以外に「足場」毒素ドメインとC末端繰り返し領域の残基の間に三次構造における接触はない。Pruitt et al., (2010) PNAS 1002199107オンライン出版を参照されたい。したがって、まとめると、毒素Aおよび/または毒素Bのリコンビナント免疫原内への*C. difficile*「足場」領域の包含が毒素中和免疫応答を顕著に高める効果を有するのは、極めて驚くべきである。

20

30

【0020】

本発明の第一の局面は、第1のアミノ酸配列および第2のアミノ酸配列から成るまたはその配列を含む融合タンパク質であって、ここで：

1) 第1のアミノ酸配列が、*C. difficile*毒素Aの配列の残基1500～1850から成るアミノ酸配列と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供され；そして

40

2) 第2のアミノ酸配列が、*C. difficile*毒素Aの配列のアミノ酸残基1851～2710内に位置する長い繰り返しユニットから成るアミノ酸配列と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供される、

但し、その融合タンパク質は、*C. difficile*毒素Aのアミノ酸残基543～2710を含むポリペプチドではないことを条件とする、融合タンパク質を提供する。

【0021】

*C. difficile*毒素Aの配列への言及は、天然*C. difficile*毒素Aのアミノ酸配列（*C. difficile*毒素Aの参照配列とも称される）を意味する。そのような配列の例は、当業者によって容易に理解され、より一般的な天然毒素Aの配列のいくつかは、本明細書（例えば

50

、配列番号 1 および 3 参照) において、ならびに文献全体を通して確認される。

【0022】

本明細書の全体を通して「少なくとも 80 % の配列同一性」への言及は、語句「基づく」と同義と見なされ、少なくとも 85 %、少なくとも 90 %、少なくとも 93 %、少なくとも 95 %、少なくとも 97 %、少なくとも 99 %、および 100 % の配列同一性の一つまたは複数を包含しうる。配列同一性を評価する場合、確定した数の連続アミノ酸残基を有する参照配列が、本発明の融合タンパク質の対応する部分からのアミノ酸配列 (同じ数の連続アミノ酸残基を有する) とアライメントされる。

【0023】

一態様では、第 1 のアミノ酸配列は、*C. difficile* 毒素 A のアミノ酸残基 544 ~ 1850 に基づく (すなわち、それと少なくとも 80 % の配列同一性を有する)。別の態様では、第 1 のアミノ酸配列は、*C. difficile* 毒素 A のアミノ酸残基 544 ~ 1850 の N 末端切断に、例えば *C. difficile* 毒素 A のアミノ酸残基 564 ~ 1850、アミノ酸残基 584 ~ 1850、アミノ酸残基 594 ~ 1850、アミノ酸残基 614 ~ 1850、アミノ酸残基 634 ~ 1850、アミノ酸残基 654 ~ 1850、アミノ酸残基 674 ~ 1850、アミノ酸残基 694 ~ 1850、アミノ酸残基 714 ~ 1850、アミノ酸残基 734 ~ 1850、アミノ酸残基 754 ~ 1850、アミノ酸残基 767 ~ 1850、アミノ酸残基 770 ~ 1850、アミノ酸残基 774 ~ 1850、アミノ酸残基 794 ~ 1850、アミノ酸残基 814 ~ 1850、アミノ酸残基 834 ~ 1850、アミノ酸残基 854 ~ 1850、アミノ酸残基 874 ~ 1850、アミノ酸残基 894 ~ 1850、アミノ酸残基 914 ~ 1850、アミノ酸残基 934 ~ 1850、アミノ酸残基 954 ~ 1850、アミノ酸残基 974 ~ 1850、アミノ酸残基 994 ~ 1850、アミノ酸残基 1014 ~ 1850、アミノ酸残基 1034 ~ 1850、アミノ酸残基 1054 ~ 1850、アミノ酸残基 1074 ~ 1850、アミノ酸残基 1094 ~ 1850、アミノ酸残基 1104 ~ 1850、アミノ酸残基 1124 ~ 1850、アミノ酸残基、アミノ酸残基 1131 ~ 1850、アミノ酸残基 1144 ~ 1850、アミノ酸残基 1164 ~ 1850、アミノ酸残基 1184 ~ 1850、アミノ酸残基 1204 ~ 1850、アミノ酸残基 1224 ~ 1850、アミノ酸残基 1244 ~ 1850、アミノ酸残基 1264 ~ 1850、アミノ酸残基 1284 ~ 1850、アミノ酸残基 1304 ~ 1850、アミノ酸残基 1324 ~ 1850、アミノ酸残基 1344 ~ 1850、アミノ酸残基 1364 ~ 1850、アミノ酸残基 1384 ~ 1850、アミノ酸残基 1404 ~ 1850、アミノ酸残基 1424 ~ 1850、アミノ酸残基 1444 ~ 1850、アミノ酸残基 1464 ~ 1850、またはアミノ酸残基 1684 ~ 1850 などに基づくが；但し、その融合タンパク質は、*C. difficile* 毒素 A のアミノ酸残基 543 ~ 2710 を含むポリペプチドではないことを常に条件とする。ほんの一例として、上記アミノ酸位置の番号付けは、配列番号 1 および / または 3 として確認される *C. difficile* 毒素 A の配列を表しうる。

【0024】

一態様では、第 2 のアミノ酸配列は、*C. difficile* 毒素 A の配列由来の長い繰り返し (LR) アミノ酸配列の任意の一つまたは複수에に基づく (すなわち、それと少なくとも 80 % の配列同一性を有する)。ほんの一例として、該一つまたは複数の LR 配列は、配列番号 60、62、64、66、68、70 および / または 72 のいずれかに基づきうる。別の態様では、第 2 のアミノ酸配列は、LR アミノ酸配列に加えて、その (隣接する) 短い繰り返し (SR) 配列の一つまたは複数を含み、*C. difficile* 毒素 A の配列のモジュール配列全体に基づく。ほんの一例として、第 2 のアミノ酸は、配列番号 61、63、65、67、69、71 および / または 73 の一つまたは複수에基づきうる。別の態様では、第 2 のアミノ酸配列は、*C. difficile* 毒素 A の配列由来のモジュール 1 のアミノ酸配列全体 (残基 1851 ~ 2007) から成るまたはそれを含み配列に基づく。例えば、表 1 に説明されるようなモジュール 1 を参照されたい。別の態様では、第 2 のアミノ酸配列は、*C. difficile* 毒素 A の配列由来のモジュール 1 およびモジュール 2 のアミノ酸配列全体 (例えば表 1 に説明されるような残基 1851 ~ 2141) から成るまたはそれを含み配列に

10

20

30

40

50

基づく。別の態様では、第2のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Aの配列由来のモジュール1およびモジュール2およびモジュール3のアミノ酸配列全体（例えば表1に説明されるような残基1851～2253）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第2のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Aの配列由来のモジュール1およびモジュール2およびモジュール3およびモジュール4のアミノ酸配列全体（例えば表1に説明されるような残基1851～2389）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第2のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Aの配列由来のモジュール1およびモジュール2およびモジュール3およびモジュール4およびモジュール5のアミノ酸配列全体（例えば表1に説明されるような残基1851～2502）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第2のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Aの配列由来のモジュール1およびモジュール2およびモジュール3およびモジュール4およびモジュール5およびモジュール6のアミノ酸配列全体（例えば表1に説明されるような残基1851～2594）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第2のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Aの配列由来のモジュール1およびモジュール2およびモジュール3およびモジュール4およびモジュール5およびモジュール6およびモジュール7のアミノ酸配列全体（例えば表1に説明されるような残基1851～2710）から成るまたはそれを含む配列に基づく。ほんの一例として、上記のアミノ酸位置の番号付けは、配列番号1および/または3として確認されるC. difficile毒素Aの配列を表しうる。

【0025】

第2のアミノ酸配列についての任意の態様を、第1のアミノ酸配列について記載された任意の態様と組合せてもよい。

【0026】

一態様では、毒素Aの配列のアミノ酸残基1851～2710（またはその部分）に基づく配列および毒素Aポリペプチドのアミノ酸残基770～1850（またはその部分）に基づくN末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【0027】

別の態様では、毒素Aの配列のアミノ酸残基1851～2710（またはその部分）に基づく配列および毒素Aポリペプチドのアミノ酸残基1131～1850に基づくN末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【0028】

別の態様では、毒素Aポリペプチドのアミノ酸残基770～2710または1131～2710に基づく配列（例えば、配列番号5、6、7、8、18、19、20、21、22、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、または58）を含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【0029】

別の態様では、毒素Aポリペプチドのアミノ酸残基770～2007、770～2141、770～2253、770～2389または1131～2007、1131～2141、1131～2253または1131～2389に基づく配列（例えば配列番号59）を含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【0030】

本発明の関連する第一の局面は、第1のアミノ酸配列および第2のアミノ酸配列から成るまたはそれを含む融合タンパク質であって、ここで：

1) 第1のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Bの配列の残基1500～1851から成るアミノ酸配列と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供され；そして

2) 第2のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Bの配列のアミノ酸残基1852～2366内に位置する長い繰り返しユニットから成るアミノ酸配列と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供される；

但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Bのアミノ酸残基543～2366を含

10

20

30

40

50

むポリペプチドではないことを条件とする、
融合タンパク質を提供する。

【 0 0 3 1 】

C. difficile毒素 B の配列への言及は、天然C. difficile毒素 B のアミノ酸配列 (C. difficile毒素 B の参照配列とも称される) を意味する。そのような配列の例は、当業者によって容易に理解され、より一般的な天然毒素 B の配列のいくつかは、本明細書 (例えば、配列番号 2 および 4 参照) および文献全体を通して確認される。

【 0 0 3 2 】

一態様では、第 1 のアミノ酸配列は、C. difficile毒素 B のアミノ酸残基 5 4 4 ~ 1 8 5 1 に基づく (すなわち、それと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する)。別の態様では、第 1 のアミノ酸配列は、C. difficile毒素 B のアミノ酸残基 5 4 4 ~ 1 8 5 1 の N 末端切断、例えば C. difficile毒素 B のアミノ酸残基 5 6 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 5 8 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 5 9 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 6 1 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 6 3 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 6 5 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 6 7 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 6 9 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 7 1 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 7 3 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 7 5 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 7 6 7 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 7 7 0 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 7 7 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 7 9 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 8 1 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 8 3 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 8 5 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 8 7 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 8 9 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 9 1 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 9 3 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 9 5 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 9 7 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 9 9 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 0 1 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 0 3 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 0 5 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 0 7 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 0 9 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 1 0 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 1 2 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 1 3 1 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 1 4 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 1 6 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 1 8 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 2 0 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 2 2 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 2 4 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 2 6 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 2 8 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 3 0 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 3 2 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 3 4 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 3 6 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 3 8 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 4 0 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 4 2 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 4 4 4 ~ 1 8 5 1、アミノ酸残基 1 4 6 4 ~ 1 8 5 1、またはアミノ酸残基 1 6 8 4 ~ 1 8 5 1 などに基づくが ; 但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素 B のアミノ酸残基 5 4 3 ~ 2 3 6 6 を含むポリペプチドではないことを条件とする。ほんの一例として、上記のアミノ酸位置の番号付けは、配列番号 2 および / または 4 として確認される C. difficile毒素 B の配列を表しうる。

【 0 0 3 3 】

一態様では、第 2 のアミノ酸配列は、C. difficile毒素 B の配列由来の長い繰り返し (L R) アミノ酸配列の任意の一つまたは複数に基づく (すなわち、それと少なくとも 8 0 % の配列同一性を有する)。ほんの一例として、該一つまたは複数の L R 配列は、配列番号 7 4、7 6、7 8 および / または 8 0 のいずれかに基づきうる。別の態様では、第 2 のアミノ酸配列は、L R アミノ酸配列および一つまたは複数のその (隣接する) 短い繰り返し (S R) 配列を含む、C. difficile毒素 B の配列のモジュール配列全体に基づく。ほんの一例として、第 2 のアミノ酸配列は、配列番号 7 5、7 7、7 9 および / または 8 1 の一つまたは複数に基づきうる。別の態様では、第 2 アミノ酸は、C. difficile毒素 B の配列由来のモジュール 1 のアミノ酸配列全体 (残基 1 8 5 2 ~ 2 0 0 7) から成るまたはそれを含む配列に基づく。例えば、表 2 に説明されるようなモジュール 1 を参照されたい。別の態様では、第 2 のアミノ酸配列は、C. difficile毒素 B の配列由来のモジュール 1 およびモジュール 2 のアミノ酸配列全体 (例えば、表 2 に説明されるような残基 1 8 5 2 ~ 2 1 3 9) から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第 2 のアミノ酸配列は、C. difficile毒素 B の配列由来のモジュール 1 およびモジュール 2 およびモジュール

10

20

30

40

50

3のアミノ酸配列全体（例えば、表2に説明されるような残基1851～2273）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第2のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Bの配列由来のモジュール1およびモジュール2およびモジュール3およびモジュール4のアミノ酸配列全体（例えば、表2に説明されるような残基1851～2366）から成るまたはそれを含む配列に基づく。ほんの一例として、上記アミノ酸位置の番号付けは、配列番号：2および/または4として確認されるC. difficile毒素Bの配列を表しうる。

【0034】

第2のアミノ酸配列についての任意の態様を、第1のアミノ酸配列について記載された任意の態様と組合せてもよい。

10

【0035】

一態様では、第1および第2のアミノ酸配列が共に毒素Bの配列に基づく場合、融合タンパク質は、C. difficile毒素Bの配列の少なくとも871個または少なくとも876個または少なくとも881個または少なくとも886個または少なくとも891個または少なくとも896個または少なくとも901個の連続アミノ酸残基（例えばC末端アミノ酸残基から開始するもの）、例えば配列番号：2および/または4などに基づくアミノ酸配列から成るまたはそれを含みうる。

【0036】

一態様では、毒素Bポリペプチドのアミノ酸残基1852～2366（またはその部分）に基づく配列および毒素Bポリペプチドのアミノ酸残基767～1851（またはその部分）に基づくN末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

20

【0037】

別の態様では、毒素Bポリペプチドのアミノ酸残基1852～2366（またはその部分）に基づく配列および毒素Bポリペプチドのアミノ酸残基1145～1851（またはその部分）に基づくN末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【0038】

別の態様では、毒素Bポリペプチドのアミノ酸残基767～2366または957～2366または1138～2366に基づく配列（例えば、配列番号9、10、11、12、13、14、23、24、25、26、27、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56または57）を含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

30

【0039】

本発明は、また、毒素AおよびBのドメインのキメラである融合タンパク質を提供する。例えば、毒素Bポリペプチドに基づく一つまたは複数の長い繰り返しユニット（場合により、一つもしくは複数の短い繰り返しユニット；または一つ、複数もしくは全てのモジュールを含む）を、毒素Aポリペプチドの「足場」領域と組合せてもよい。同様に、毒素Aポリペプチドに基づく一つまたは複数の長い繰り返しユニット（場合により、一つもしくは複数の短い繰り返しユニット；または一つ、複数もしくは全てのモジュールを含む）を、毒素Bポリペプチドの「足場」領域と組合せてもよい。

40

【0040】

したがって、本発明のさらなる関連局面は、第1のアミノ酸配列および第2のアミノ酸配列から成るまたはそれを含むハイブリッド/キメラ融合タンパク質であって、ここで：

1) 第1のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Aの配列の残基1500～1850から成るアミノ酸配列と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供され；そして

2) 第2のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Bの配列のアミノ酸残基1852～2366内に位置する長い繰り返しユニットから成るアミノ酸配列と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供される；

50

但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Aのアミノ酸残基543～2710を含むポリペプチドではないことを条件とし；そして

但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Bのアミノ酸残基543～2366を含むポリペプチドではないことを条件とする、

融合タンパク質を提供する。

【0041】

第1および第2のアミノ酸配列の態様は、上記に詳述する通りである。

【0042】

例えば一態様では、毒素Bポリペプチドのアミノ酸残基1852～2366（またはその部分）に基づく配列および毒素Aポリペプチドのアミノ酸残基770～1849（またはその部分）に基づくN末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

10

【0043】

別の態様では、毒素Bポリペプチドのアミノ酸残基1852～2366（またはその部分）に基づく配列および毒素Aポリペプチドのアミノ酸残基1131～1849（またはその部分）に基づくN末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【0044】

別の態様では、毒素Bポリペプチドのアミノ酸残基1852～2366（またはその部分）に基づく配列および毒素Aポリペプチドのアミノ酸残基1500～1849（またはその部分）に基づくN末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。一態様では、該毒素Aポリペプチドの構成要素は、好ましくは、毒素Aポリペプチドの残基543～1849よりも短い配列に基づく。

20

【0045】

具体例には、配列番号：16または17の任意の一つまたは複数に基づくアミノ酸配列から成るまたはそれを含む融合タンパク質が挙げられる。

【0046】

同様に、本発明のさらなる関連する第一の局面は、第1のアミノ酸配列および第2のアミノ酸配列から成るまたはそれを含むハイブリッド/キメラ融合タンパク質であって、こ

30

で：

1) 第1のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Bの配列の残基1500～1851から成るアミノ酸配列と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供され；そして

2) 第2のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Aの配列のアミノ酸残基1851～2710内に位置する長い繰り返しユニットから成るアミノ酸配列と少なくとも80%の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供される；

但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Aのアミノ酸残基543～2710を含むポリペプチドではないことを条件とし、

そして但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Bのアミノ酸残基543～2366を含むポリペプチドではないことを条件とする、

40

【0047】

第1および第2のアミノ酸配列の態様は、上記に詳述する通りである。

【0048】

一態様では、毒素Aポリペプチドのアミノ酸残基1850～2710（またはその部分）に基づく配列および毒素Bポリペプチドのアミノ酸残基767～1851（またはその部分）に基づくN末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【0049】

別の態様では、毒素Aポリペプチドのアミノ酸残基1850～2710（またはその部

50

分)に基づく配列および毒素Bポリペプチドのアミノ酸残基1145~1851(またはその部分)に基づくN末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【0050】

別の態様では、毒素Aポリペプチドのアミノ酸残基1850~2710(またはその部分)に基づく配列および毒素Bポリペプチドの1500~1851に基づくN末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。一態様では、毒素Bポリペプチドの構成要素は、好ましくは、毒素Bポリペプチドの残基543~1851よりも短い配列に基づく。

【0051】

具体例には、配列番号15に基づくアミノ酸配列から成るまたはそれを含む融合タンパク質が挙げられる。

【0052】

本明細書前記のように、本発明は、C. difficile毒素Aおよび/またはC. difficile毒素Bの「足場」区域および(C末端繰り返しユニットの)LR部分に基づく融合タンパク質に関する。これに関して、該C. difficile毒素Aおよび/または毒素Bの配列に基づく該融合タンパク質の総部分(一つまたは複数)は、典型的には最大で1940個の連続アミノ酸残基(例えば、最大で1890個、または1840個、または1790個、または1740個、または1690個、または1640個、または1590個、または1540個、または1490個、1440個、または1390個、または1340個、または1290個、または1240個の連続アミノ酸残基)になる。

【0053】

一態様では、融合タンパク質は、システインプロテアーゼ活性を実質的に欠如する。別の(または同じ)態様では、融合タンパク質は、グルコシルトランスフェラーゼ活性を実質的に欠如する。例えば、該活性(一つまたは複数)を提供するアミノ酸配列(一つまたは複数)の一部または全ては、典型的には本発明の融合タンパク質に不在である(例えば欠失している)。これらの酵素活性は、ネイティブな毒素Aおよび/または毒素Bに存在し、該毒素のN末端ドメインと関連する(図1参照)。

【0054】

別の態様では、融合タンパク質は、ネイティブなC. difficile毒素のグルコシルトランスフェラーゼドメイン(毒素Aのアミノ酸残基1~542;毒素Bのアミノ酸残基1~543)を実質的に欠如する。別の(または同じ)態様では、融合タンパク質は、ネイティブなC. difficile毒素のシステインプロテアーゼドメイン(毒素Aのアミノ酸残基543~770;毒素Bの544~767)を実質的に欠如する。該アミノ酸残基の番号付けは、任意の毒素Aまたは毒素Bの毒素タイプの、例えば本明細書において列挙された任意の一つまたは複数の毒素Aおよび/または毒素Bの参照毒素タイプの配列番号を表す。したがって、該アミノ酸残基の番号付けは、それに対して少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも93%、少なくとも95%、少なくとも97%、または少なくとも99%を有するアミノ酸配列変異体を含む、本明細書に列挙された任意の特定の毒素Aおよび/または毒素Bの参照配列番号を表しうる。

【0055】

本発明の融合タンパク質構築物は、本明細書に説明されたもののよう、任意の毒素Aおよび/またはB配列(任意の毒素タイプの配列を含む)から得られうる。例えば、一態様では、第1および/または第2のアミノ酸配列は、毒素タイプ0の毒素Aおよび/またはBから得られる(それぞれ配列番号1および2)。別の態様では、第1および/または第2のアミノ酸配列は、毒素タイプ3の毒素Aおよび/またはBから得られる(それぞれ配列番号3および4)。

【0056】

本発明の融合タンパク質は、さらに、可溶性発現を容易にするために融合タンパク質パートナーを含みうる。融合タンパク質パートナーは、抗原構築物のNまたはC末端に結合

10

20

30

40

50

していてもよいが、通常はN末端に位置する。融合パートナーの例は：NusA、チオレドキシン、マルトース結合タンパク質、小型ユビキチン様分子（Sumoタグ）である。精製時に融合タンパク質パートナーの除去を容易にするために、ユニークなプロテアーゼ部位を、融合タンパク質パートナーと融合タンパク質自体の間に挿入することができる。そのようなプロテアーゼ部位には、トロンピン、第Xa因子、エンテロキナーゼ、PreScission（商標）、Sumo（商標）に対する部位を挙げることができる。または、融合タンパク質パートナーの除去は、融合タンパク質パートナーと融合タンパク質自体の間にインテイン配列を含ませることによって達成することができる。インテインは、自己切断タンパク質であって、刺激（例えば低下したpH）に応答してインテインと抗原構築物の間の結合部で自己スプライシングできることにより、特異的プロテアーゼを添加する必要性を排除するタンパク質である。インテインの例には、Mycobacterium tuberculosis（RecA）、およびPyrococcus horikoshii（RadA）（Fong et al. (2010) Trends Biotechnol. 28:272-279）から得られたドメインが挙げられる。

10

【0057】

精製を容易にするために、本発明の融合タンパク質は、精製工程に特定のクロマトグラフィー段階（例えば金属イオンキレート形成クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー）を組み入れ可能にする一つまたは複数の精製タグを含んでもよい。そのような精製タグには、例えば：繰り返しヒスチジン残基（例えば6～10個のヒスチジン残基）、マルトース結合タンパク質、グルタチオンS-トランスフェラーゼ；およびストレプトアビジンを挙げることができる。これらのタグは、本発明の抗原融合タンパク質のNおよび/またはC末端に結合していてもよい。精製時のそのようなタグの除去を容易にするために、プロテアーゼ部位および/またはインテイン（上記例）は、融合タンパク質と精製タグ（一つまたは複数）の間に挿入することができる。

20

【0058】

したがって、本発明の典型的な融合タンパク質構築物は（N末端から）：

- 第1精製タグ
- 融合タンパク質パートナー（発現を容易にするため）
- 第1（好ましくは特異的）プロテアーゼ配列またはインテイン配列
- 毒素Aおよび/またはBの抗原配列
- 場合による第2（好ましくは特異的）プロテアーゼ配列またはインテイン配列
- 場合による第2精製タグ

30

を含みうる。

【0059】

第1および第2精製タグは、同じ場合も、異なる場合もありうる。同様に、第1および第2プロテアーゼ/インテイン配列も、同じ場合も、異なる場合もありうる。選択的でコントロール可能な切断/精製を可能にするために、第1および第2の選択肢は、好ましくは異なる。

【0060】

そのような融合タンパク質構築物の具体例を配列番号18～27に示す。

【0061】

40

一態様では、精製タグと融合タンパク質の間隔を空けるためにスペーサーを導入することができ、これは、アフィニティークロマトグラフィー媒体への結合効率を上げるために役立つ。スペーサーは、精製タグの（直）後に、または融合タンパク質パートナーと融合タンパク質自体の間に配置することができる。直鎖またはヘリックス構造のいずれかを与えるために、典型的なスペーサー配列は、10から40個の間のアミノ酸残基から成りうる。

【0062】

したがって、一態様では、本発明の融合タンパク質構築物は（N末端から）：

- 第1精製タグ
- 場合による第1スペーサー配列

50

- 融合タンパク質パートナー（発現を容易にするため）
- 場合による第2スパーサー配列
- （好ましくは特異的）プロテアーゼ配列またはインテイン配列
- 毒素Aおよび/またはB由来の抗原配列
- 場合による第2（好ましくは特異的）プロテアーゼ配列またはインテイン配列
- 場合による第3スパーサー配列
- 場合による第2精製タグ

を含む。

【0063】

そのようなタンパク質融合構築物の具体例を、配列番号28～57に示す。

10

【0064】

本発明の構築物をコードする遺伝子を、PCRによって*C. difficile*ゲノムDNAから作製し、完全性を保証するために標準法によって配列決定することができる。または、そして好ましくは、発現ホストに最適なコドンバイアスを提供する遺伝子を合成することができる（例えば*E. coli*、*Bacillus megaterium*）。したがって、本発明は、本発明の前記融合タンパク質をコードする対応する核酸配列を提供する。

【0065】

したがって、本発明の第2の局面は、前記融合タンパク質の一つまたは複数を発現させるための方法であって：

1）該融合タンパク質の一つまたは複数をコードする核酸配列を宿主細胞中に提供すること、ここで該核酸配列はプロモーターに作動可能に連結している、；および

20

2）該核酸配列を宿主細胞中で発現させること

を含む方法を提供する。

【0066】

本発明の融合タンパク質は、様々な方法でヒトまたは動物用のワクチンとして製剤化することができる。例えば、製剤化には、分子内架橋を導入するための薬剤を用いた処理が含まれる。そのような薬剤の一例は、ホルムアルデヒドであり、ホルムアルデヒドは、例えば本発明の抗原融合タンパク質と共に1～24時間インキュベーションすることができる。または、例えば最大2、4、6、8または10日という、より長いインキュベーション時間を採用してもよい。そのような薬剤を用いた処理の後に、本発明の抗原融合物を適切なアジュバントと組合せることができ、アジュバントは、抗原融合タンパク質がヒト用であるかまたは動物用であるかに応じて異なりうる。

30

【0067】

ヒトまたは動物用ワクチン製剤は、本発明の毒素Aおよび/または毒素Bおよび/または対応するハイブリッド/キメラ抗原融合体を含有しうる。したがって一態様では、本発明のワクチン製剤化手順は、以下の工程：

- 適切な緩衝系中にリコンビナント毒素Aおよび/または毒素Bおよび/またはハイブリッド/キメラ毒素融合タンパク質を提供すること

- 場合により（好ましくは）該混合物をホルムアルデヒドなどのトキシイド化成分で処理すること

40

- 場合により融合タンパク質を新しい緩衝系に移行させること

- 融合タンパク質を一つまたは複数の適切なアジュバントおよび場合により他の賦形剤と組合せること

を含む。

【0068】

したがって、本発明の第3の局面は、*C. difficile*の毒素Aおよび/または毒素Bに結合する抗体の作製に使用するための、本発明の前記融合タンパク質の一つまたは複数を提供する。一態様では、該抗体は、*C. difficile*の毒素Aおよび/または毒素Bに結合し、それを中和する。

【0069】

50

動物の免疫処置のために、本発明の*C. difficile*リコンビナント融合タンパク質抗原を、免疫原として別々にまたは組合せて、同時にまたは連続的に、個別の*C. difficile*毒素または組合せに特異的な抗体を産生させるために使用することができる。例えば、二つ以上のリコンビナント抗原と一緒に混合して、単一の免疫原として使用することができる。または、*C. difficile*毒素融合タンパク質抗原（例えば毒素A由来）を、第1動物群に対する第1免疫原として別々に使用することができ、別の*C. difficile*毒素抗原（例えば毒素B由来）を、第2動物群に対して別々に使用することができる。別々の免疫処置によって産生された抗体を組合せて、*C. difficile*毒素に対する抗体組成物を得てもよい。動物用/獣医学的使用に適したアジュバントの非限定的な例には、フロイント（完全および不完全形）、ミョウバン（リン酸アルミニウムまたは水酸化アルミニウム）、サポニンおよびその精製された成分Quil Aが挙げられる。

10

【0070】

本発明の第4（ワクチン）の局面は、（例えばヒトなどの哺乳類における）CDIの予防、治療または抑制に使用するための、本発明の前記融合タンパク質の一つまたは複数を提供する。言い換えれば、本発明は、（例えばヒトなどの哺乳類における）CDIの予防、治療または抑制のための方法であって、本発明の前記融合タンパク質の一つまたは複数の治療有効量を対象（ヒトなどの哺乳類）に投与することを含む方法を提供する。

【0071】

一例として、毒素Aに基づく融合タンパク質（任意のA毒素タイプ）を、単独で、または毒素Bに基づく融合タンパク質（任意のB毒素タイプ）と組合せて採用することができる。同様に、毒素Bに基づく融合タンパク質（任意のB毒素タイプ）を、単独で、または毒素Aに基づく融合タンパク質（任意のA毒素タイプ）と組合せて採用することができる。該融合タンパク質は、連続的にまたは同時に投与することができる。本発明のワクチン適用には、さらに、*C. difficile*抗原（例えば非毒素抗原；または不活性化もしくは弱毒化された細菌のような*C. difficile*細菌）などの一つまたは複数の抗原、および場合により一つまたは複数の院内感染抗原（例えば院内感染を引き起こす細菌由来の抗原、特に表面抗原；および/または不活性化もしくは弱毒化された細菌などの、院内感染を引き起こす細菌）の組合せ使用（例えば事前投与、連続投与または事後投与）を挙げることができる。院内感染を引き起こす細菌の例には：*E. coli*、*Klebsiella pneumoniae*、MRSAなどの*Staphylococcus aureus*、*Legionella*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Serratia marcescens*、*Enterobacter* spp、*Citrobacter* spp、*Stenotrophomonas maltophilia*、*Acinetobacter baumannii*などの*Acinetobacter* spp、*Burkholderia cepacia*、およびバンコマイシン耐性*Enterococcus*（VRE）などの*Enterococcus*の一つまたは複数が挙げられる。

20

30

【0072】

一態様では、該ワクチン適用は、予防的に、例えば該患者が病院（または類似の治療施設）に入院する前に患者を処置して院内感染の予防に役立つように採用してもよい。または、該ワクチン適用は、日常的な問題として、脆弱な患者に投与してもよい。

【0073】

本発明の関連ワクチン局面は、（例えばヒトなどの哺乳類における）CDIの予防、治療または抑制に使用するための、本発明の一つまたは複数の前記融合タンパク質に結合する一つまたは複数の抗体（IgG全体および/またはFabおよび/またはF(ab')₂フラグメントを含むまたはそれから成る）を提供する。言い換えれば、本発明は、（例えばヒトなどの哺乳類における）CDIを予防、治療または抑制するための方法であって、該抗体（一つまたは複数）の治療有効量を対象（例えばヒトなどの哺乳類）に投与することを含む方法を提供する。

40

【0074】

一例として、毒素Aに基づく融合タンパク質（任意のA毒素タイプ）に対する抗体を、単独で、または毒素Bに基づく融合タンパク質（任意のB毒素タイプ）に対する抗体と組合せて採用することができる。同様に、毒素Bに基づく融合タンパク質（任意のB毒素タイプ）に対する抗体を、単独で、または毒素Aに基づく融合タンパク質（任意のA毒素タ

50

イブ)に対する抗体と組合せて採用することができる。該抗体は、連続的にまたは同時に投与することができる。本発明のワクチン適用には、さらに、*C. difficile*抗原(例えば非毒素抗原;または*C. difficile*細菌)などの抗原に結合する一つまたは複数の抗体、および場合により、一つまたは複数の院内感染抗原(例えば院内感染を引き起こす細菌由来の抗原、特に表面抗原;および/または院内感染を引き起こす細菌)に結合する一つまたは複数の抗体の組合せ使用(例えば事前投与、連続投与または事後投与)を挙げることができる。院内感染を引き起こす細菌の例には:*E. coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*M R S A*などの*Staphylococcus aureus*、*Legionella*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Serratia marcescens*、*Enterobacter* spp、*Citrobacter* spp、*Stenotrophomonas maltophilia*、*Acinetobacter baumannii*などの*Acinetobacter* spp、*Burkholderia cepacia*、およびバンコマイシン耐性*Enterococcus* (*V R E*) などの*Enterococcus*の一つまたは複数の挙げられる。

10

【 0 0 7 5 】

一態様では、該ワクチン適用は、予防的に、例えば患者がいったん病院(または類似の治療施設)に入院してから採用してもよい。または、該ワクチン適用は、一つまたは複数の抗生物質と組合せて患者に投与してもよい。

【 0 0 7 6 】

一態様では、該抗体は、動物(例えばヒトなどの哺乳類、またはヤギもしくはヒツジなどの非ヒト動物)に前記の本発明の融合タンパク質の一つまたは複数を経免疫処置することによって作製されたものである。

【 0 0 7 7 】

一態様では、本発明の抗体は、*C. difficile*毒素Aおよび/または毒素Bのエフェクタードメインおよび/またはシステインプロテアーゼドメインに(実質的に)結合しない。

20

【 0 0 7 8 】

ヒト(または非ヒト動物)用のワクチンを調製するために、活性免疫原性成分(これらは、本発明の抗原性融合タンパク質(一つまたは複数)および/またはそれに結合する本発明の対応する抗体のいずれかである)は、薬学的に許容される担体または賦形剤であって、活性成分と適合性の担体または賦形剤と混合することができる。適切な担体および賦形剤には、例えば、水、食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノール等、およびその組合せが挙げられる。加えて、ワクチンは、所望により湿潤剤もしくは乳化剤、pH緩衝剤および/またはワクチンの有効性を高めるアジュバントなどの補助物質を少量含有する場合がある。

30

【 0 0 7 9 】

ワクチンは、さらに、一つまたは複数のアジュバントを含みうる。本発明の範囲のアジュバントの非限定的な一例は、水酸化アルミニウムである。アジュバントの他の非限定的な例には:*N*-アセチル-ムラミル-L-トレオニル-D-イソグルタミン(*thr*-*M D P*)、*N*-アセチル-ノル-ムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン(*C G P 1 1 6 3 7*、ノル-*M D P*と称される)、*N*-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミニル-L-アラニン-2-(1'-2'-ジパルミトイル-sn-グリセロ-3-ヒドロキシホスホリルオキシ)-エチルアミン(*C G P 1 9 8 3 5 A*、*M T P - P E*と称される)、および細菌から抽出された3成分であるモノホスホリルリピドA、トレハロースジミコレートおよび細胞壁骨格(*M P L + T D M + C W S*)を2%スクアレン/*T w e e n 8 0*エマルジョン中に含有する*R I B I*が挙げられるが、それに限定されるわけではない。

40

【 0 0 8 0 】

典型的には、ワクチンは、注射剤として、液剤または懸濁剤のいずれかで調製される。もちろん、注射前に液体中に溶解または懸濁するために適した固体剤形も調製することができる。また、調製物を乳化させても、またはペプチドをリポソームもしくはマイクロカプセル中に封入してもよい。

【 0 0 8 1 】

ワクチンの投与は、一般に、従来経路、例えば静脈内、皮下、腹腔内、または粘膜経路

50

による。投与は、注射、例えば皮下または筋肉内注射による場合がある。

【 0 0 8 2 】

ワクチンは、投薬製剤と適合する様式で、予防的および／または治療的に有効であろう量で投与される。投与される量は、一般に 1 回あたり抗原 5 マイクログラム ~ 2 5 0 マイクログラムの範囲内であるが、処置される対象、対象の免疫系が抗体を合成する能力、および所望の防御度に依存する。投与する必要のある活性成分の正確な量は、開業医の判断に依存しうるし、各対象に特定でありうる。

【 0 0 8 3 】

ワクチンは、1 回投与スケジュールで、または場合により多回投与スケジュールで投与することができる。多回投与スケジュールは、ワクチン処置の初回クールが 1 ~ 6 回の別々の投与であり、続いて、免疫応答を維持および／または強化するために必要なその後の時間間隔で他の投与が行われ、例えば 2 回目の投与が 1 ~ 4 ヶ月目であり、必要に応じてその後の投与（1 回または複数回）が数ヶ月後に行われうるスケジュールである。投与方式は、また、少なくとも部分的には個体の必要性によって決定され、開業医の判断に依存するであろう。

【 0 0 8 4 】

加えて、免疫原性抗原（一つまたは複数）を含有するワクチンは、他の免疫調節剤、例えば免疫グロブリン、抗生物質、インターロイキン（例えば IL - 2、IL - 1 2）、および／またはサイトカイン（例えば IFN）と共に投与してもよい。

【 0 0 8 5 】

本発明で使用するために適した追加的な製剤には、マイクロカプセル剤、坐剤、および場合により、経口製剤またはエアロゾルとして分布させるために適した製剤が挙げられる。坐剤について、従来の結合剤および担体には、例えばポリアルキレングリコールまたはトリグリセリドを挙げることができるが；そのような坐剤は、約 0 . 5 % ~ 1 0 %、例えば約 1 % ~ 2 % など、の範囲内で活性成分を含有する混合物から形成させることができる。

【 0 0 8 6 】

本発明の融合タンパク質は、また、アフィニティークロマトグラフィー手順に使用するためのリガンドとしての用途を有しうる。そのような手順では、本発明の融合タンパク質は、例えば臭化シアン活性化セファロースを使用して、セファロースなどのマトリックス上に共有結合的に固定化することができる。次に、そのようなアフィニティークラムは、抗血清または免疫グロブリンの部分精製溶液から抗体を精製するために使用することができる、それはそれらの液をカラムに通過させ、次に、結合している Ig G 画分を（例えば低 pH により）溶離させることによる。溶離した画分中の抗体のほとんど全てが本発明の融合タンパク質に対するものであり、非特異的抗体および他のタンパク質は除去されるであろう。これらのアフィニティー精製された Ig G 画分は、免疫療法剤および診断試薬の両方としての適用を有する。免疫療法剤について、アフィニティー精製された抗体は、より低用量を投与可能にし、有害副作用の可能性をより小さくする。診断薬について、アフィニティー精製された薬剤は、向上した特異性およびより少ない偽陽性結果を与えることが多い。

【 0 0 8 7 】

定義の部

Clostridium difficileは、Clostridium属のグラム陽性細菌の一種である。

【 0 0 8 8 】

Clostridium difficile感染（CDI）は、ヒトおよび動物を冒す細菌感染であって、軽症の自己限定性の下痢から偽膜性大腸炎および細胞中毒性巨大結腸などの致命的な状態までの一連の症状を招く細菌感染を意味する。この疾患では、C. difficileが正常な腸管内フローラの一部に置き換わり、腸上皮を攻撃して損傷する細胞毒素を生産し始める。ヒト CDI に関する主リスク因子には：広域スペクトル抗生物質処置を受けている、年齢が 6 5 歳よりも大きい、および入院中が挙げられる。

【 0 0 8 9 】

*Clostridium difficile*毒素 A は、大きさが約 3 0 0 kDa のタンパク質性細胞毒素 / エンテロトキシンのファミリーである。毒素 A は、哺乳類細胞の細胞骨格を破壊して細胞死を引き起こすように作用する酵素活性を N 末端領域内に有する。*Clostridium difficile* の株内には「毒素タイプ」と呼ばれる毒素 A のいくつかの天然変異体がある。毒素 A の様々な毒素タイプは、通常、それらの一次配列内に全体で < 1 0 % の変異を有する。適切な毒素 A 配列の例には、配列番号：1 および 3 が挙げられる。

【 0 0 9 0 】

*Clostridium difficile*毒素 B は、毒素 A に類似しているが顕著に細胞毒性が高い、大きさが約 2 7 0 kDa のタンパク質性細胞毒素ファミリーである。毒素 A のように、毒素 B は、哺乳類細胞の細胞骨格を破壊して細胞死を引き起こすように作用する酵素活性を N 末端領域内に有する。*C. difficile* の株内には、「毒素タイプ」と呼ばれる、毒素 B のいくつかの天然変異体がある。毒素 B の様々な毒素タイプは、それらの一次配列内に全体で最大 1 5 % の変異を有する。適切な毒素 B 配列の例には、配列番号：2 および 4 が挙げられる。

10

【 0 0 9 1 】

C. difficile 繰り返しユニットは、von Eichel-Streiber および Sauerborn (1990; Gene 30: 107-113) によって最初に同定された繰り返しモチーフを含有する、毒素 A および B の C 末端内の領域である。毒素 A の場合、3 1 個の短いリピートおよび 7 個の長いリピートがあり、各リピートは、ヘアピンに続くループから成る。毒素 B は、類似の構造から成るが、繰り返し数がより少ない。毒素 A の繰り返しユニットは、残基 1 8 5 0 ~ 2 7 1 0 内に含有され、毒素 B の繰り返しユニットは残基 1 8 5 2 ~ 2 3 6 6 内に含有される。繰り返し領域は、レセプターの結合に役割を果たす。レセプター結合領域（すなわち毒素の構造結合ポケットを規定する）は、長い繰り返し領域周囲にクラスター化して「結合モジュール」を形成すると思われる（表 1 および 2）参照。

20

【 0 0 9 2 】

毒素 A および B の中央ドメインは、哺乳類細胞内への毒素の移行に役割を果たすと考えられている。毒素 A の中央ドメインは、残基 5 4 3 ~ 1 8 4 9 に基づき、毒素 B についての中央ドメインは、残基 5 4 3 ~ 1 8 5 1 に基づく。毒素 A および B の中央ドメイン領域のうち、第 1 のドメインはシステインプロテアーゼであり、毒素のエフェクタードメイン（グルコシルトランスフェラーゼ活性を含有する）のインターナリゼーションに役割を果たす。

30

【 0 0 9 3 】

毒素タイプは、*C. difficile* の株を分類するために使用されることが多い。毒素タイピングは、毒素遺伝子で得られた制限パターンを特徴づける方法に基づく。毒素 A および B の毒素タイプは、これらのタンパク質性毒素の一次アミノ酸配列による変異体を表す。一態様では、*C. difficile* 毒素は、毒素タイプ 0 ~ X V の一つより選択される。好ましい毒素タイプ（ならびにリボタイプおよび株の例）をすぐ下の表に挙げる。列挙した毒素タイプは、純粋に例示的であり、本発明を限定しようとするものではない。

【 0 0 9 4 】

40

【表 1 0 1】

毒素タイプ	リボタイプの例	株の例	参考文献
0	001, 106	VPI10463	Rupnik et al. (1998) J. Clinical Microbiol. 36: 2240-2247
1	003, 012, 102	EX623	
2	103	AC008	
3	027, 034, 075, 080	R20291, QCD-32g58	
4	023, 034, 075, 080	55767	
5	066, 078	SE881	
6	045, 063, 066	51377	
7	063	57267	
8	017, 047	1470	
9	019	51680	
10	036	8864	Rupnik et al. (2001) Microbiology 147: 439-447
11	033	IS58, R11402	
12	056	IS25	
13	070	R9367	
14	111	R10870	
15	122	R9385	

【 0 0 9 5】

「抗体」は、最も広い意味で使用され、それらが所望の生物学的活性を示す限り、具体的にポリクローナル抗体および抗体フラグメントを包含する。例えば、抗体は、少なくとも1または2個の重（H）鎖可変領域（本明細書においてVHCと略す）、および少なくとも1または2個の軽（L）鎖可変領域（本明細書においてVLCと略す）を含むタンパク質である。VHCおよびVLC領域は、さらに、「相補性決定領域」（「CDR」）と名付けられた超可変領域と、それに点在し、より高く保存された「フレームワーク領域」（FR）と名付けられた領域とに細分することができる。フレームワーク領域およびCDRの程度は正確に定義されている（参照により本明細書に組み入れられるKabat, E.A., et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, 1991、およびChothia, C. et al, J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987参照）。好ましくは、VHCおよびVLCのそれぞれは、アミノ末端からカルボキシ末端にかけて以下の順序に配列した3個のCDRおよび4個のFRから構成される：FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。

【 0 0 9 6】

抗体のVHCまたはVLC鎖は、さらに、重鎖または軽鎖定常領域の全てまたは一部を含みうる。一態様では、抗体は、2本の免疫グロブリン重鎖および2本の免疫グロブリン軽鎖の四量体であり、ここで、免疫グロブリン重鎖および軽鎖は、例えばジスルフィド結合によって相互に結合している。重鎖定常領域は、3個のドメイン、CH1、CH2およびCH3を含む。軽鎖定常領域は、1個のドメイン、CLから成る。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、典型的には免疫系の様々な細胞（例えばエフェクター細胞）および古典的補体系の第1成分（CIq）を含めた、ホスト組織または因子への抗体の結合を仲介する。「抗体」という用語には

、IgA、IgG、IgE、IgD、IgM型のインタクトな免疫グロブリン（およびそのサブタイプ）が含まれ、その際、免疫グロブリン軽鎖は、または型でありうる。

【0097】

本明細書に使用されるような抗体という用語は、*C. difficile*の毒素（例えば毒素AまたはB）に結合する抗体の部分、例えば、1本または複数本の免疫グロブリン鎖が完全長ではないが毒素に結合する分子も表す。抗体という用語内に包含される結合部分の例には、（i）Fabフラグメント、すなわちVL_C、VH_C、CLおよびCH₁ドメインから成る一価フラグメント；（ii）F（ab'）₂フラグメント、すなわちヒンジ領域でジスルフィド架橋によって結合した2個のFabフラグメントを含む二価フラグメント；（iii）VH_CおよびCH₁ドメインから成るFcフラグメント；（iv）抗体の一本の腕のVL_CおよびVH_Cドメインから成るFvフラグメント、（v）VH_Cドメインから成るdAbフラグメント（Ward et al, Nature 341:544-546, 1989）；ならびに（vi）結合するために十分なフレームワークを有する単離された相補性決定領域（CDR）、例えば可変領域の抗原結合部分が挙げられる。リコンビナント法を用いて、軽鎖可変領域の抗原結合部分と重鎖可変領域の抗原結合部分を、例えば、Fvフラグメントの二つのドメイン、VL_CとVH_Cを、合成リンカーによって繋ぐことができ、そのリンカーのおかげで、それらの部分を、VL_CおよびVH_C領域が対になって一価分子を形成したタンパク質1本鎖として製造できるようになる（単鎖Fv（scFv）として知られている；例えば、Bird et al. (1988) Science 1A1-ATi-A1；およびHuston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. Sci USA 85:5879-5883参照）。そのような単鎖抗体（およびラクダ抗体（camelid））もまた、抗体という用語内に包含される。これらは、当業者に公知の従来技法を用いて得られ、それらの一部がインタクトな抗体と同様に有用性についてスクリーニングされる。

【0098】

「フラグメント」という用語は、典型的には参照配列の連続アミノ酸配列の少なくとも70、好ましくは少なくとも80、より好ましくは少なくとも90%を有するペプチドを意味する。

【0099】

「変異体」という用語は、*C. difficile*毒素ポリペプチドと少なくとも80、好ましくは少なくとも85、より好ましくは少なくとも90%のアミノ酸配列相同性を有するペプチドまたはペプチドフラグメントを意味する。配列比較のために、典型的には一つの配列が参照配列としての機能を果たし、その参照配列と被験配列を比較することができる。配列比較アルゴリズムを使用する場合、被験配列および参照配列がコンピューターにインプットされ、必要に応じて後続の座標が指定され、配列アルゴリズムプログラムのパラメーターが指定される。次に、配列比較アルゴリズムが、参照配列に比した被験配列（一つまたは複数）についての配列同一パーセンテージを、指定されたプログラムパラメーターに基づき計算する。

【0100】

非限定的にグローバル法、ローカル法および例えばセグメントアプローチ法などのハイブリッド法を含めた、任意の多様な配列アライメント法を用いて同一パーセントを決定することができる。同一パーセントを決定するためのプロトコールは、当業者の範囲内の日常的な手順である。グローバル法は、分子の最初から終わりまで配列をアライメントし、個別の残基対のスコアを加算することによって、そしてギャップペナルティーを課すことによって最良のアライメントを決定する。非限定的な方法には、例えば、CLUSTAL W、例えば、Julie D. Thompson et al., CLUSTAL W: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment Through Sequence Weighting, Position-Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice, 22(22) Nucleic Acids Research 4673-4680 (1994)参照；および反復改良法、例えば、Osamu Gotoh, Significant Improvement in Accuracy of Multiple Protein. Sequence Alignments by Iterative Refinement as Assessed by Reference to Structural Alignments, 264(4) J. Mol. Biol. 823-838 (1996)参

照が挙げられる。ローカル法は、インプット配列の全てによって共有される一つまたは複数の保存されたモチーフを同定することによって配列をアライメントする。非限定的な方法には、例えばマッチボックス、例えば、Eric Depiereux and Ernest Feytmans, Match-Box: A Fundamentally New Algorithm for the Simultaneous Alignment of Several Protein Sequences, 8(5) CABIOS 501 -509 (1992)参照 ; Gibbsサンプリング、例えば、C. E. Lawrence et al., Detecting Subtle Sequence Signals: A Gibbs Sampling Strategy for Multiple Alignment, 262(5131) Science 208-214 (1993)参照 ; アライン - M、例えば、Ivo Van Walle et al., Align-M - A New Algorithm for Multiple Alignment of Highly Divergent Sequences, 20(9) Bioinformatics:1428-1435 (2004)参照が挙げられる。

10

【 0 1 0 1 】

したがって、配列同一性パーセントは、従来法によって決定される。例えば、Altschul et al., Bull. Math. Bio. 48: 603-16, 1986およびHenikoff and Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-19, 1992を参照されたい。簡潔には、ギャップオープニングペナルティー 1 0、ギャップ伸長ペナルティー 1、および下記のようなHenikoffおよびHenikoffの「blosum 62」スコアリングマトリックス（同文献）を使用して、アライメントスコアを最適化するように二つのアミノ酸配列がアライメントされる（アミノ酸を標準的な一文字コードによって表示する）。

【 0 1 0 2 】

配列同一性を決定するためのアライメントスコア

20

【 0 1 0 3 】

【表 1 0 2 】

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	4																			
R	-1	5																		
N	-2	0	6																	
D	-2	-2	1	6																
C	0	-3	-3	-3	9															
Q	-1	1	0	0	-3	5														
E	-1	0	0	2	-4	2	5													
G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6												
H	-2	0	1	-1	-3	0	0	-2	8											
I	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	4										
L	-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	2	4									
K	-1	2	0	-1	-3	1	1	-2	-1	-3	-2	5								
M	-1	-1	-2	-3	-1	0	-2	-3	-2	1	2	-1	5							
F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	6						
P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7					
S	1	-1	1	0	-1	0	0	0	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4				
T	0	-1	0	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	1	5			
W	-3	-3	-4	-4	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-1	1	-4	-3	-2	11		
Y	-2	-2	-2	-3	-2	-1	-2	-3	2	-1	-1	-2	-1	3	-3	-2	-2	2	7	
V	0	-3	-3	-3	-1	-2	-2	-3	-3	3	1	-2	1	-1	-2	-2	0	-3	-1	4

30

40

【 0 1 0 4 】

50

次に、同一パーセントは、

【 0 1 0 5 】

【 数 1 】

同一のマッチの総数

_____ x 100

[長い方の配列の長さ + 2 配列を

アライメントするために長い方の

配列に導入されたギャップの数]

10

として計算される。

【 0 1 0 6 】

実質的に相同なポリペプチドは、一つまたは複数のアミノ酸置換、欠失または付加を有することとして特徴づけられる。これらの変化は、好ましくは小さな種類であり、それは保存的アミノ酸置換（下記参照）およびポリペプチドの折り畳みまたは活性に顕著には影響しない他の置換；小さな欠失、典型的には 1 ~ 約 30 個のアミノ酸の欠失；およびアミノ末端メチオニン残基、最大約 20 ~ 25 残基の小型リンカーペプチド、またはアフィニティタグなどの小さなアミノ末端伸長またはカルボキシル末端伸長である。

【 0 1 0 7 】

20

保存的アミノ酸置換

塩基性： アルギニン

リシン

ヒスチジン

酸性： グルタミン酸

アスパラギン酸

極性： グルタミン

アスパラギン

疎水性： ロイシン

イソロイシン

バリン

芳香族： フェニルアラニン

トリプトファン

チロシン

小型： グリシン

アラニン

セリン

トレオニン

メチオニン

30

【 0 1 0 8 】

40

20 個の標準アミノ酸に加えて、非標準アミノ酸（4 - ヒドロキシプロリン、6 - N - メチルリシン、2 - アミノイソ酪酸、イソバリンおよび - メチルセリンなど）を、本発明のポリペプチドのアミノ酸残基と置き換えてもよい。限られた数の非保存的アミノ酸、すなわち遺伝コードによってコードされていないアミノ酸、および非天然アミノ酸を、Clostridiumポリペプチドのアミノ酸残基と置き換えてもよい。本発明のポリペプチドは、非天然アミノ酸残基も含みうる。

【 0 1 0 9 】

非天然アミノ酸には、非限定的に、trans - 3 - メチルプロリン、2 , 4 - メタノプロリン、cis - 4 - ヒドロキシプロリン、trans - 4 - ヒドロキシ - プロリン、N - メチルグリシン、アロトレオニン、メチルトレオニン、ヒドロキシエチルシステイン、ヒドロキシ

50

エチルホモシステイン、ニトログルタミン、ホモグルタミン、ピペコリン酸、tert - ロイシン、ノルバリン、2 - アザフェニルアラニン、3 - アザフェニルアラニン、4 - アザフェニル - アラニン、および4 - フルオロフェニルアラニンが挙げられる。タンパク質に非天然アミノ酸残基を組入れるために、当技術分野においていくつかの方法が公知である。例えば、化学的にアミノアセチル化されたサブレッサー tRNAを使用してナンセンス突然変異が抑制されるin vitro系を採用することができる。アミノ酸を合成する方法およびtRNAをアミノアセチル化する方法は、当技術分野において公知である。ナンセンス突然変異を含むプラスミドの転写および翻訳は、E. coli S30抽出物ならびに市販の酵素および他の試薬を含む無細胞系で実施される。タンパク質は、クロマトグラフィーによって精製される。例えば、Robertson et al., J. Am. Chem. Soc. 113:2722, 1991; El lman et al., Methods Enzymol. 202:301, 1991; Chung et al., Science259:806-9, 1993;およびChung et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:10145-9, 1993参照。第2の方法では、翻訳は、突然変異mRNAおよび化学的にアミノアセチル化されたサブレッサー tRNAのマイクロインジェクションによってXenopus卵母細胞において実施される。(Turcatti et al., J. Biol. Chem. 271:19991-8, 1996)。第3の方法の中で、E. coli細胞が、置換されるべき天然アミノ酸(例えばフェニルアラニン)の非存在下で、そして所望の非天然アミノ酸(一つまたは複数)(例えば、2 - アザフェニルアラニン、3 - アザフェニルアラニン、4 - アザフェニルアラニン、または4 - フルオロフェニルアラニン)の存在下で培養される。非天然アミノ酸は、ポリペプチド中に、その天然対応物の位置に組入れられる。Koide et al., Biochem. 33:7470-6, 1994参照。天然アミノ酸残基は、in vitro化学的改変によって非天然種に変換することができる。化学的改変を部位特異的突然変異誘発と組合せて、さらに置換の範囲を拡大することができる(Wynn and Richards, Protein Sci. 2:395-403, 1993)。

【0110】

限られた数の非保存アミノ酸、すなわち、遺伝コードによってコードされないアミノ酸、非天然アミノ酸、および異常(unnatural)アミノ酸を本発明のポリペプチドのアミノ酸残基と置換することができる。

【0111】

本発明のポリペプチド中の不可欠アミノ酸は、部位特異的突然変異誘発またはアラニンスキャン突然変異誘発などの当業界で公知の手順により同定することができる(Cunningham and Wells, Science 244: 1081-5, 1989)。生物学的相互作用の部位もまた、推定される接触部位のアミノ酸の突然変異と関連して、核磁気共鳴、結晶学、電子線回折または光アフィニティーラベリングのような技法によって決定されるような物理学的構造解析によって決定することができる。例えば、de Vos et al., Science 255:306-12, 1992; Smith et al., J. Mol. Biol. 224:899-904, 1992; Wlodaver et al., FEBS Lett.309:59-64, 1992を参照されたい。不可欠アミノ酸の同一性は、本発明のポリペプチドの関連構成要素(例えば移行成分またはプロテアーゼ成分)との相同性の分析からも推論することができる。

【0112】

Reidhaar-OlsonおよびSauer (Science241:53-7, 1988) またはBowieおよびSauer (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2152-6, 1989) によって開示された方法のような公知の突然変異誘発およびスクリーニング法を用いて、多重アミノ酸置換を行い試験することができる。簡潔には、これらの著者は、ポリペプチド中の二つ以上の位置を同時にランダム化し、機能的ポリペプチドを選択し、次に、突然変異誘発されたポリペプチドを配列決定して各位置での許容される置換のスペクトルを決定するための方法を開示している。使用できる他の方法には、ファージディスプレイ(例えば、Lowman et al., Biochem. 30:10832-7, 1991; Ladnerら、米国特許第5, 223, 409号; Huse、W I P O 公報である国際公開公報第92/06204号)および領域特異的突然変異誘発(Derbyshire et al., Gen e 46:145, 1986; Ner et al., DNA7:127, 1988)が挙げられる。

【0113】

毒素の中和は、哺乳類細胞上の毒素AまたはBのいずれかの細胞毒性作用を物質が阻止する能力を意味する。毒素中和活性についてのアッセイでは、一定量の毒素が様々な濃度の中和物質（例えば抗体）と混合され、その混合物が哺乳類細胞系（例えばVero細胞）に適用され、その細胞と共に一定時間インキュベーションされる。毒素AまたはBのいずれかの細胞毒性作用（細胞の円形化によって明らかになる）から細胞を完全に保護する物質（抗体）の希釈を、中和力価として定義することができる。

【図面の簡単な説明】

【0114】

【図1】様々なドメイン境界でのアミノ酸残基を示す、C. difficile毒素AおよびBの構造を示す図である。

10

【図2】TxB3の精製を示す図である。左図は、TxB3の4～12% SDS-PAGE分析を示す。M1 = SeeBlue（登録商標）Plus2染色前標準。M2 = MagicMark（商標）XP標準。右図は、ヒツジ抗TcdBポリクローナル抗体を用いたTxB3のウエスタンブロット分析を示す。M1およびM2は、左図に説明したものと同様である。

【図3】TxB4の精製を示す図である。左図は、TxB4の4～12% SDS-PAGE分析を示す。M = SeeBlue（登録商標）Plus2染色前標準。右図は、ヒツジ抗TcdBポリクローナル抗体を用いたTxB4のウエスタンブロット分析を示す。M = MagicMark（商標）XP標準。

【図4】TxB5の精製を示す図である。左図は、TxB5の4～12% SDS-PAGE分析を示す。M = SeeBlue（登録商標）Plus2染色全標準。右図は、ヒツジ抗TcdBポリクローナル抗体を用いたTxB5のウエスタンブロット分析を示す。M = MagicMark（商標）XP標準。

20

【図5】TxA4の精製およびHRV3Cプロテアーゼ処理されたTxA4のニッケルアフィニティー精製のSDS-PAGE分析を示す図である。M = 分子量マーカー、L = カラムのロード、A8 = カラムの溶離液。画分A14～B14は精製されたTxA4を示した。

【0115】

実施例

実施例1 毒素AおよびBから得られた抗原のクローニングおよび発現

30

これらのペプチドをコードする遺伝子は、任意の所望の発現ホスト（例えばE. coli、Pichia pastoris）に関するコドンバイアスを有するように商業的に製造することができる。ペプチドは、これらの遺伝子から標準的な分子生物学的方法を用いて発現される（例えばSambrook et al. 1989, Molecular Cloning a Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York）。クローニングの好都合な一方法は、遺伝子構築物をモジュラー的に集合させるGateway（登録商標）システム（Invitrogen）である。

【0116】

プロトコール1：Gateway LR組換え反応 一般プロトコール

材料：抗原遺伝子（毒素AまたはB））エントリークローンをEntelechonによって合成した。Gateway（登録商標）LR Clonase（商標）II酵素混合物をInvitrogenから購入した。Gateway（登録商標）Nova pETデスティネーションベクターを、Merck Chemicals Ltd.の一部門であるCalbiochem Novaから購入した。

40

【0117】

毒素AまたはBのエントリークローン（1 μl）、デスティネーションベクター（1 μl）およびTE緩衝液（6 μl）を1.5 mlマイクロ遠心チューブに入れて室温で混合した。LR Clonase（商標）IIを2分間氷上に置き、ボルテックス（2秒×2回）で手早く混合した。Clonase酵素（2 μl）をマイクロ遠心チューブに加え、静かにピペッティングして成分を混合した。組換え物を25 で1時間インキュベーションし

50

た。プロテイナーゼK溶液(1 µl、2 µg/µl)を加え、反応物を37 °Cで10分間インキュベーションした。結果として生じた溶液(1 µl)を使用して化学的コンピテントE. coliをトランスフォーメーションした。

【0118】

プロトコル2：化学的コンピテント細胞のトランスフォーメーション 一般プロトコル

材料：One Shot (登録商標) BL21 Star (商標) (DE3) および One Shot (登録商標) TOP10 化学的コンピテントE. coli および SOC 培地は Invitrogen から購入した。アンピシリンは Sigma Aldrich から購入した。

【0119】

LR 組換え反応物またはプラスミド DNA (1 µl) を、一定分量 (50 µl) の BL21 Star (商標) または TOP10 化学的コンピテントE. coli にピペットで入れた。この混合物を氷上で30分間インキュベーションし、続いて42 °Cの水浴中で30秒間熱ショックを与えた。一定分量の細胞を氷へ戻し、SOC 培地 (250 µl) を加えた。軌道振盪 (180 rpm) しながらトランスフォーメーション物を37 °CのSOC 培地中で1時間維持した。トランスフォーメーション培養物 (100 ~ 200 µl) を、アンピシリン (100 µg/ml) を補充したLB寒天に蒔いた。プレートを37 °Cで15分間インキュベーションし、倒置し、同温度で一晩維持した。

【0120】

実施例2 本発明の抗原の精製 C. difficile 毒素BフラグメントTx B3の発現および精製

毒素B由来抗原Tx B3 (-h) (例えば配列番号9) をチオレドキシン融合タンパク質 (配列番号27) として発現させた。

【0121】

Tx B3のN-his₆-チオレドキシン融合物を、プラスミドpDest59Tx B3を有するBL21 Star (商標) (DE3) E. coli内で発現させた。100 µg/mlアンピシリンおよび0.5%グルコースを補充したLB培地 (3 x 20 ml) に、グリセロール保存細胞 (OD600が<1の細胞培養物 [500 µl] + グリセロール [125 µl]) から接種した。培養物を軌道振盪 (180 rpm) しながら37 °Cで6 ~ 7時間維持した。100 µg/mlアンピシリンおよび0.5%グルコースを補充したLB培地 (100 ml) に接種するために各培養物を使用した。培養物を軌道振盪 (180 rpm) しながら37 °Cで1時間維持した。100 µg/mlアンピシリンおよび0.1%グルコースを補充したTB (Terrific Broth) 培地 (3 x 1 L) にLB培養液を接種し (100 ml/L)、600 nmでの吸光度が0.5になるまで前回と同様に37 °Cで維持した。終濃度1 mMになるまでIPTGを添加して発現を誘導し、培養物を軌道振盪 (180 rpm) しながら16 °Cで一晩維持した。30分間遠心分離することによって (3000 rpm、Sorvall RC3BP 遠心分離機、ロータH6000A) 細胞を回収し、低イミダゾール緩衝液 (100 ml、pH 7.4、50 mM HEPES、500 mM塩化ナトリウム、20 mMイミダゾール) 中に再懸濁し、-80 °Cで凍結した。

【0122】

(i) チオレドキシンTx B3融合タンパク質のニッケルアフィニティー精製

細胞ペーストを、室温の次に氷上で液化するまで解凍した。超音波処理して細胞を破壊し (オン30秒およびオフ30秒を10サイクル)、結果として生じた溶解物を30分間の遠心分離によって透明化した (14,000 rpm、Sorvall RC5C 遠心分離機、ロータSS-34)。ニッケルイオンをチャージされたファストフローキレーティングセファローズ (fast flow chelating sepharose) (ベッド体積40 ml) に透明化された溶解物を流速1 ml/minで適用した。280 nmでの溶解液の吸光度がベースラインレベル近くに返るまで、カラムを低イミダゾール緩衝液 (pH 7.4、50 mM HEPES、500 mM塩化ナトリウム、20 mMイミダゾール) で洗浄した。15、25および70%高イミダゾール緩衝液 (pH 7.4、50 mM HEPES、500 mM塩化ナトリウム、500 mM

10

20

30

40

50

Mイミダゾール)への連続ステップで、結合した物質を溶離させた。70%高イミダゾール緩衝液で溶離した物質をプールし、トロンピン切断緩衝液(20mMトリス-HCl pH 8.4、150mM塩化ナトリウム、2.5mM塩化カルシウム)で一晩透析した。

【0123】

(ii) チオレドキシンTxB3融合タンパク質のトロンピン消化

トロンピン切断緩衝液で透析したニッケルカラム画分プールにヒトトロンピン(Novagen、1U/mg総タンパク質)を添加した。消化物を25℃で4時間インキュベーションし、-80℃で凍結して継続切断を防止した。

【0124】

(iii) TxB3のニッケルアフィニティー精製

トロンピン消化物を氷上で解凍し、p-アミノベンズアミジン樹脂を添加した(トロンピン6Uあたり水切りをした樹脂0.1ml)。この混合物を氷上で30分間静かに揺らし、樹脂を濾過した。透明化された濾液を、ニッケルイオンをチャージされたファストフローキレーティングセファロース(ベッド体積6ml)に流速1ml/minで通過させ、溶離液をプールし、保存用緩衝液(pH 7.4、50mM HEPES、150mM塩化ナトリウム)で透析した。この溶液を無菌濾過し、1ml分量にした。得られた総タンパク質は10.5mgであり、これは、55% TxB3と推定された。ヒツジ抗TcdBポリクローナル抗体を用いたウエスタンブロットによっても、タンパク質を分析した(図2)。

【0125】

実施例3 本発明の抗原の精製 C. difficile毒素BフラグメントTxB4の発現および精製

Nus TxB4融合タンパク質の大規模発現

プラスミドpDest57TxB4Hisを有するBL21 Star(DE3)E. coliの-80℃原液からの一滴を、100µg/mlアンピシリンを補充したL寒天上に画線し、37℃で一晩インキュベーションした。単一のコロニーを使用して、100µg/mlアンピシリンおよび0.5%グルコースを補充した2YT培地(100ml)に接種した。600nmでの吸光度が0.6になるまで軌道振盪(180rpm)しながら培養物を37℃で維持し、100µg/mlアンピシリンおよび0.5%グルコースを補充したTB培地(2×1L)用の5%の接種材料として使用した。600nmの吸光度が0.6になるまで培養物を前回と同様に維持し、温度を16℃に下げた。熱平衡化後にIPTGを終濃度1mMまで添加することによってタンパク質の発現を誘導し、培養物を一晩維持した。30分間遠心分離することによって(3000rpm、Sorvall RC3BP遠心分離機、ロータH6000A)細胞を回収し、低イミダゾール緩衝液(細胞ペースト:緩衝液(w/v)=1:4、50mM HEPES pH 7.4、500mM塩化ナトリウム、20mMイミダゾール)中に再懸濁し、-80℃で凍結した。

【0126】

Nus TxB4融合タンパク質のニッケルアフィニティー精製

細胞ペーストを室温の次に氷上で液化するまで解凍した。超音波処理して細胞を破壊し(オン30秒およびオフ30秒を15サイクル)、結果として生じた溶解物を4℃で30分間の遠心分離によって透明化した(16,000rpm、Sorvall RC5C遠心分離機、ロータSS-34)。ニッケルイオンをチャージされたファストフローキレーティングセファロース(ベッド体積40ml)に透明化された溶解物を流速2ml/minで適用した。280nmでの溶離液の吸光度がベースラインレベル近くにに戻るまで、カラムを低イミダゾール緩衝液(pH 7.4、50mM HEPES、500mM塩化ナトリウム、20mMイミダゾール)で洗浄した。50%高イミダゾール緩衝液(pH 7.4、50mM HEPES、500mM塩化ナトリウム、500mMイミダゾール)へのステップで、結合した物質を溶離させた。カラムから溶離した物質をSDS-PAGEによって分析し、選択された画分をプールした。280nmの吸光度からタンパク質濃度を決定した。

【0127】

Nus TxB4融合タンパク質のトロンピン消化

タンパク質それぞれ 10 μ g に、トロンピン消化緩衝液 (200 mM トリス - HCl pH 8.4、1.5 M NaCl、25 mM CaCl₂) 5 μ l、トロンピン希釈緩衝液 (50 mM クエン酸ナトリウム、pH 6.5、200 mM NaCl、0.1% PEG-8000、50% グリセロール) で 200 倍に希釈したヒトトロンピン (Novagen) 1 μ l および水を添加し、体積 50 μ l とした。タンパク質を室温で一晩消化し、4 にて低イミダゾール緩衝液で透析した。

【0128】

TxB4 のニッケルアフィニティー精製

ニッケルイオンをチャージされたファストフローキレーティングセファロース (ベッド体積 40 ml) に低イミダゾール緩衝液中の TxB4 を流速 3 ml/min で適用した。280 nm での溶離液の吸光度がベースラインレベル近くに返るまでカラムを低イミダゾール緩衝液で洗浄した。カラムを 80 mM イミダゾールで洗浄し、結果として生じた最初の UV 吸光度 (280 nm) ピークの後に溶離するタンパク質を採集し、保存用緩衝液 (50 mM HEPES pH 7.4、150 mM 塩化ナトリウム) で透析した。タンパク質を SDS-PAGE およびヒツジ抗 TcdB ポリクローナル抗体を用いたウエスタンブロットによって分析した (図 3)。

【0129】

実施例 4 C. difficile 毒素 B フラグメント TxB5 (毒素 B の残基 544 ~ 2366) の発現および精製

Nus TxB5 融合タンパク質の大規模発現

TxB5 の N-his₆-Nus 融合体を、プラスミド pDest57 TxB5 を有する BL21 Star (商標) (DE3) E. coli に発現させた。100 μ g/ml アンピシリンを補充した LB 培地中での一晩培養物を、100 μ g/ml アンピシリンを補充した TB 培地 (3 L) のための 3% 接種材料として使用した。培養物を軌道振盪 (180 rpm) しながら 600 nm での吸光度が 0.6 になるまで 37 で維持した。IPTG を終濃度 1 mM まで添加して発現を誘導し、培養物を軌道振盪 (180 rpm) しながら 16 で一晩維持した。細胞 (25 g) を 30 分間遠心分離することによって回収し (3000 rpm、Sorvall RC3BP 遠心分離機、ロータ H6000A)、低イミダゾール緩衝液 (250 ml、pH 7.4、50 mM HEPES、500 mM 塩化ナトリウム、20 mM イミダゾール) 中に再懸濁した。

【0130】

Nus TxB5 融合タンパク質のニッケルアフィニティー精製

再懸濁した細胞にリゾチーム (10 mg) を添加し、この混合物を 15 分間攪拌した。超音波処理して細胞を破壊し (オン 30 秒およびオフ 30 秒を 10 サイクル)、結果として生じた溶解物を 30 分間の遠心分離によって透明化した (14,000 rpm、Sorvall RC5C 遠心分離機、ロータ SS-34)。ニッケルイオンをチャージされたファストフローキレーティングセファロース (ベッド体積 40 ml) に透明化された溶解物の半分を流速 2 ml/min で適用した。280 nm での溶離液の UV 吸光度がベースラインレベル近くに返るまでカラムを低イミダゾール緩衝液で洗浄した。38% (200 mM イミダゾール) 高イミダゾール緩衝液 (pH 7.4、50 mM HEPES、500 mM 塩化ナトリウム、500 mM イミダゾール) へのステップで Nus TxB5 を含むタンパク質を溶出させた。溶解物の残りの半分を同様に処理し、溶離タンパク質プールを高塩 HIC 緩衝液 (pH 7.4、50 mM HEPES、750 mM 硫酸アンモニウム) で一晩透析した。

【0131】

Nus TxB5 のブチル-s疎水性相互作用クロマトグラフィー精製

高塩 HIC 緩衝液中にプールされたタンパク質溶液の半分を、ブチル-s-セファロース 6 ファストフロー樹脂 (ベッド体積 9 ml) が入っているカラムに適用した。溶離液の 280 nm での UV 吸光度がベースライン近くに返るまでカラムを高塩 HIC 緩衝液 (pH 7.4、50 mM HEPES、750 mM 硫酸アンモニウム) で洗浄した。100% 低塩 HIC 緩衝液 (pH 7.4、50 mM HEPES) へのステップでタンパク質をカラムから

10

20

30

40

50

溶離させた。第1のニッケルカラムからのタンパク質の残りの半分を同様に精製した。トロンピンを用いた消化の準備として、溶離したタンパク質をプールした。

【0132】

Nus TxB5 融合タンパク質のトロンピン消化

HICカラムからプールされたタンパク質(69mg、30ml)を、10×トロンピン切断緩衝液(15ml、200mMトリス-HCl pH8.4、1.5M塩化ナトリウム、25mM塩化カルシウム)、脱イオン水(105ml)およびヒトトロンピン(Novagen、40U)を含有する溶液に添加した。溶液を室温で4時間インキュベーションし、PMSEを終濃度1mMまで添加した。結果として生じた、TxB5を含むタンパク質を高塩HIC緩衝液で透析した。

10

【0133】

TxB5のブチル-s疎水性相互作用クロマトグラフィー精製

トロンピン消化物からのTxB5を2バッチで精製した。各バッチを高塩HIC緩衝液(pH7.4、50mM HEPES、750mM硫酸アンモニウム)に入れて、ブチル-s-セファロース6ファストスロー樹脂(ベッド体積9ml)が入っているカラムに流速1ml/minで適用した。溶離液の280nmでのUV吸光度がベースラインレベル近くに戻るまでカラムを高塩HIC緩衝液で洗浄した。100%低塩HIC緩衝液(pH7.4、50mM HEPES)へのステップでタンパク質をカラムから溶離させた。溶離した物質を緩衝液(pH7.4、50mM HEPES)で一晩透析した。

20

【0134】

TxB5のQセファロースイオン交換クロマトグラフィー精製

緩衝液(pH7.4、50mM HEPES)中のTxB5に、Qセファロースファストフロー樹脂(ベッド体積5ml)が入っているカラムを流速1ml/minで通過させた。溶離液をプールし、保存用緩衝液(pH7.4、50mM HEPES、150mM塩化ナトリウム)で透析した。タンパク質約20mgが生成し、SDS-PAGE分析に基づく、このうち60%がTxB5であった。タンパク質を1ml分量にして-80℃で凍結させた。SDS-PAGEおよびヒッジ抗TcdBポリクローナル抗体を用いたウエスタンブロッティングによってタンパク質を分析した(図4)。

【0135】

実施例5 C. difficile毒素AフラグメントTxA4(毒素Aの残基770~2710)の発現および精製

30

発現

50µg/mlカナマイシンおよび0.2%グルコースを補充したL培地(100ml)に、グリセロール凍結物(プラスミドpET28aHis₆TrxHRV3C Natural TxA4を有するBL21(DE3)E. coli)から掻き取ったものを接種し、300および180rpmで一晩維持した。一晩培養物を、50µg/mlカナマイシンおよび0.2%グルコースを補充したTB培地(2Lバッフルなしフラスコ中に0.5L×4本)用の2%接種材料として使用した。培養物を軌道振盪(180rpm)しながら600nmでの吸光度が0.6になるまで37℃で維持した。培養物の温度を16℃に下げ、タンパク質の発現を1mM IPTGの添加によって誘導した。培養物を前回のように軌道振盪しながら16℃で一晩維持した。細胞ペースト(23g)を遠心分離(Sorvall RC3B遠心分離機、H6000Aロータ、4000g、20分)によって回収した。低イミダゾール緩衝液(pH7.5、50mM Hepes、0.5M塩化ナトリウム、20mMイミダゾール)中に再懸濁することによってペーストを遠心ポットから回収し、-80℃で保存した。

40

【0136】

TxA4前駆体の固定化ニッケルアフィニティー精製

細胞(23g)を低イミダゾール緩衝液(pH7.5、50mM Hepes、0.5M NaCl、20mMイミダゾール)85mlで再懸濁し、超音波処理を利用して溶解に供した。溶解物を遠心分離(Sorvall RC5C遠心分離機、SS-34ロータ、20、

50

0.00 g、20分)によって透明化し、流速1.5 ml/minで20 mlニッケルカラム(26 mM)に適用した。カラムを10カラム体積の低イミダゾール緩衝液で洗浄し、結合しているタンパク質を、100%高イミダゾール緩衝液(pH 7.5、50 mM HEPES、0.5 M NaCl、0.5 M イミダゾール)への5カラム体積の勾配を用いて溶離した。4~12% NuPAGEビス-トリスポリアクリルアミドゲルで、クマシー染色を行って画分を分析した。

【0137】

融合パートナーとHis₆-タグの切断

最も純度の高い画分をプールし、HRV3C切断緩衝液(2 L、pH 7.5、20 mM トリス-HCl、0.5 M NaCl)で4に overnight 透析した。HRV3Cプロテアーゼ(10 U/mg完全長ターゲットタンパク質)を溶液に添加し、20で5時間、続いて4で overnight インキュベーションした。

【0138】

切断後TxA4の固定化ニッケルアフィニティー精製

タンパク質溶液(pH 7.5 20 mM トリス-HCl、0.5 M NaCl)に20 ml ニッケルカラム(26 mM)を流速1.5 ml/minで通過させた。UV吸光度によって判断したところ、一部のタンパク質は溶離液中に溶離することが見出された。HRV3C切断緩衝液でカラムを短時間洗浄し、5%高イミダゾール緩衝液(pH 7.5、50 mM HEPES、0.5 M NaCl、0.5 M イミダゾール)を用いてイミダゾール濃度25 mMでTxA4を溶離させた。100%高イミダゾール緩衝液への4カラム体積の勾配をかけて、残ったタンパク質をカラムから溶離させた。最も純度の高い画分をプールし、保存用緩衝液(pH 7.5 50 mM HEPES、0.5 M NaCl)で透析した。最終精製カラムからの画分を図5に示す。

【0139】

実施例6 C. difficile毒素AフラグメントTxA4切断型(毒素Aの残基770~2389)の発現および精製

発現

100 µg/mlアンピシリンおよび0.5%グルコースを補充したL培地(100 ml)に、100 µg/mlアンピシリンを補充したL寒天プレート上の一晩成長物からコロニー(PE T59 His₆ TRX tcs natural TxA4 truncateを有する)を接種し、37および180 rpmで一晩維持した。これを、100 µg/mlアンピシリンおよび0.5%グルコースを補充したTB培地(2000 mlバッフルなしフラスコ中に1000 ml x 6本)用の接種材料として使用した。培養物を軌道振盪(180 rpm)しながら600 nmでの吸光度が0.6になるまで37で維持した。培養物の温度を16に下げ、終濃度1 mMのIPTGを添加してタンパク質の発現を誘導した。培養物を前回と同様に軌道振盪しながら16で一晩維持した。細胞ペーストを遠心分離(Sorvall RC3BP遠心分離機、H6000Aロータ、4000 g、30分)によって回収した。ペーストをHEPES緩衝液(50 mM HEPES pH 7.4、0.5 M 塩化ナトリウム)中に再懸濁することによって遠心ポットから回収し、-20で保存した。

【0140】

TxA4切断型前駆体の固定化ニッケルアフィニティー精製

HEPES緩衝液(50 mM HEPES pH 7.4、500 mM NaCl)180 mlで再懸濁された細胞(44 g)を、超音波処理を利用して溶解に供した。4000 rpmで20分間遠心分離(Heraeus Multifuge)することによって溶解物を透明化した。上清を回収し、64 ml亜鉛セファロースカラム(XK26 x 12)に流速5 ml/分で適用した。280 nmでの吸光度がベースラインまで減少するまでカラムを洗浄した。結合しているタンパク質を、50 mM HEPES pH 7.4、500 mM 塩化ナトリウム中に0~250 mM イミダゾールの勾配を利用して、結合しているタンパク質を溶離させた。4~12% NuPAGEビス-トリスポリアクリルアミドゲルでクマシー染色し、これら画分を分析した。

【0141】

融合パートナーとHis₆-タグの切断

最も純度の高い画分をプールし、トロンビン切断緩衝液（20 mM トリス / HCl pH 8.4 + 150 mM NaCl + 2.5 mM CaCl₂）で+4で一晩透析した。レストリクショングレード・トロンビン（Restriction grade thrombin）（Novagen）をターゲットタンパク質に対して1：2000（wt/wt）となるように添加した。この混合物を室温で一晩インキュベーションした。

【0142】

切断後TxA4短縮型の固定化亜鉛アフィニティー精製

タンパク質溶液（50 mM Hepes pH 7.4、500 mM 塩化ナトリウム中）に、24 ml 亜鉛カラム（XK16 × 12）を流速2 ml/minで通過させた。280 nmでの吸光度がベースラインに下がるまでカラムを平衡緩衝液（50 mM Hepes pH 7.4、500 mM 塩化ナトリウム）で洗浄した。結合しているタンパク質を、50 mM Hepes pH 7.4、500 mM 塩化ナトリウム中に0～250 mM イミダゾールの勾配を用いて溶離させた。

10

【0143】

実施例7 動物を免疫処置するための本発明の抗原の製剤化

濃度0.5～2 mg/ml（公称1 mg/ml）の精製C. difficile抗原を、適切な緩衝液（例えば150 mM NaClを含有する10 mM Hepes 緩衝液 pH 7.4）で透析し、次にホルムアルデヒドを終濃度0.2%になるまで添加し、35℃で最大7日間インキュベーションした。インキュベーション後に、場合により、適切な緩衝液、例えばリン酸緩衝食塩水で透析することによってホルムアルデヒドを除去してもよい。

20

【0144】

ヒツジ用に、上記C. difficile抗原10～500 µgを含有する緩衝溶液2 mlをフロイントアジュバント2.6 mlと混合し、エマルジョンを形成させる。アジュバントとの混合は、安定なエマルジョンを確実にするために数分間実施する。初回免疫処置のために完全型アジュバントを、その後の全ての追加免疫処置のためにフロイント不完全アジュバントを使用する。

【0145】

実施例8 本発明の抗原に対する抗体の作製

最適な液性抗体応答を達成するために、抗血清の調製時にいくつかの従来要因を考慮する。これらには：動物の品種；アジュバントの選択；免疫処置部位の数および位置；免疫原の量；ならびに投与回数および投与間隔が挙げられる。6 g/リットル血清を上回る特異的抗体レベルを得るために、これらのパラメーターを従来のように最適化することが常用されている。

30

【0146】

ヒツジ用に、抗原とフロイントアジュバントとのエマルジョンを、実施例7に記載するように調製する。初回免疫処置のために完全型アジュバントを、その後の全ての追加免疫処置のためにフロイント不完全アジュバントを使用する。各ヒツジに抗原/アジュバント混合物約4.2 mlを、頸部および全ての上肢を含めた6個の部位にわたりi.m.注射によって免疫処置する。これを28日毎に繰り返した。各免疫処置の14日後に血液試料を採取した。

40

【0147】

異なる抗原に対する毒素中和免疫応答を比較するために、抗原1種類あたり3匹のヒツジを使用した。免疫処置1回毎に同一のプロトコールおよび同じタンパク質用量を用いて、それらを上記のように免疫処置した。

【0148】

実施例9 in vitro細胞アッセイを用いた毒素抗血清の中和有効性の評価

C. difficile毒素に対する抗血清の毒素中和活性を、Vero細胞を用いた細胞傷害性アッセイによって測定した。精製されたC. difficile毒素Aまたは毒素Bのいずれかの一定量を、様々な希釈を行った抗体と混合し、37℃で30分間インキュベーションし、次

50

に、96ウェル組織培養プレート上に成長しているVero細胞に適用した。毒素AおよびBの両方が、Vero細胞の特徴的な円形化を招く細胞傷害活性を24～72時間にわたり有した。中和抗体の存在下でこの活性は阻害され、抗体調製物の中和強度は、毒素AまたはBのいずれかの指定量の効果を中和するために必要な希釈によって評価することができる。

【0149】

様々なリコンビナントC. difficile毒素B抗原に対するヒツジ抗体の中和活性を実証しているデータを表3～6に示す。これらの実験において、様々な希釈を行ったヒツジ抗体を終濃度0.5ng/mlの毒素Bと混合し、37℃で30分間インキュベーションし、次に上記のようにVero細胞に適用し、37℃でインキュベーションし、24～72時間にわたりモニタリングした。毒素Bの細胞障害作用から細胞を完全に保護する抗体の希釈度を計算した。毒素A由来抗原についての類似のデータを表7～10に示す。

【0150】

まとめると、表3～10におけるデータは、毒素AまたはBのいずれかの繰り返しドメインだけを含有するフラグメントに比べて、本発明の融合タンパク質が毒素中和免疫応答を卓越して誘発できることを示している。

【0151】

実施例10 C D Iを処置するための、本発明のリコンビナント抗原を用いて作製された抗血清のin vivo有効性の評価

リコンビナント抗原を用いて作製した抗血清がC D Iをin vivo処置する有効性を実証するために、シリアンハムスターにC. difficile毒素の一つまたは複数に対して中和活性を有する抗体を受動免疫処置する。治療用製剤の有効性を評価するために、C. difficile誘発の6時間後から誘発の240時間後までの様々な時間に、静脈内または腹腔内経路のいずれかでハムスターに抗体を与える。

【0152】

受動免疫処置する前に、ハムスターに広域スペクトル抗生物質（例えばクリンダマイシン）を投与し、12～72時間後にC. difficile孢子で口内誘発する。次に、C. difficile関連疾患の症状について動物を最大15日間モニタリングする。対照の非免疫処置動物は、疾患の徴候（例えば下痢、腹部膨満、嗜眠、被毛の乱れ）を発生したが、ヒツジ抗体で処置された動物は正常に見える。

【0153】

実施例11 本発明のペプチド/ペプチドフラグメントによるワクチン処置

本発明のペプチド/ペプチドフラグメントによって代表されるワクチンを、現行の製造品質管理基準（Good Manufacturing Practice）によって調製する。そのような基準を用いて、本発明のペプチド/ペプチドフラグメントを市販の水酸化アルミニウムアジュバント（例えばアルハイドロゲル）と結びつけてもよい。そのワクチンは通常、毒素Aおよび毒素Bから得られた本発明の抗原の組合せを含有するが、毒素AまたはB抗原のいずれかを含有する場合がある。そのワクチンは、また、毒素AおよびB抗原を、細菌またはウイルス起原の他の抗原と組合せて含有することもありうる。

【0154】

本発明の精製C. difficile毒素Aおよび/または毒素B抗原を終濃度0.2%のホルムアルデヒドで処理して、35℃で最大24時間インキュベーションしてもよい（実施例7に記載）。

【0155】

本発明の抗原に加えて、典型的なワクチン組成は：

- A) 緩衝液（例えば、5～20mMおよびpH7.0～7.5のHepes緩衝液）；
- B) ワクチンを生理学的に等張にする塩成分（例えば100～150mM NaCl）；
- C) アジュバント（例えば、ワクチン1回あたりアルミニウム終濃度100～700μgの水酸化アルミニウム）；ならびに
- D) 保存料（例えば、0.01%チオメルサルまたは0.01%ホルムアルデヒド）

を含む。

【0156】

そのようなワクチン組成は：

1. 0.5 ml (例えば、吸着された本発明のフラグメント 20 μ g) を 1 回皮下投与する、
 2. 0.5 ml (例えば、吸着された本発明のフラグメント 10 μ g) を 0 および 4 週間目に 2 回投与する、
 3. 0.5 ml (例えば、吸着された本発明のフラグメント 10 μ g) を 0、2 および 12 週間目に 3 回投与する
- などの、多様な異なる免疫処置方式によってヒトに投与される。

10

【0157】

これらのワクチン処置方式は、*C. difficile* 毒素の相同血清型への曝露からの防御レベルを付与する。

【0158】

実施例 12 本発明の固定化構築物を用いた IgG のアフィニティー精製
アフィニティークロマトグラフィー媒体の調製

固定化しようとする本発明の構築物を、適切なカップリング緩衝液、例えば 0.5 M NaCl を含有する 0.1 M NaHCO₃ pH 8.3 で透析する。1 ~ 3 mg/ml タンパク質溶液約 5 ml に CNBr - 活性化セファロース 4 B 粉末 1 ml あたり添加する。この混合物を室温で 1 時間または 4 で一晩転倒回転する。他の静かな攪拌法を採用してもよい。次に、過剰のリガンドは、少なくとも 5 媒体 (ゲル) 体積の過剰のカップリング緩衝液を用いて洗浄除去する。次に、残った活性基があればブロッキングする。媒体を 0.1 M トリス - HCl 緩衝液、pH 8.0 または 1 M エタノールアミン、pH 8.0 に移し、室温で 2 時間インキュベーションする。次に、ゲルを少なくとも 3 サイクルの交互 pH (少なくとも 5 媒体体積の各緩衝液) で洗浄する。各サイクルは、0.5 M NaCl を含有する 0.1 M 酢酸 / 酢酸ナトリウム、pH 4.0 を用いた洗浄に続く、0.5 M NaCl を含有する 0.1 M トリス - HCl、pH 8 を用いた洗浄から成るものとする。洗浄後、ゲルを適切な保存緩衝液 (例えば、0.15 M NaCl を含有する 50 mM HEPES pH 7.4 に移し、使用まで 4 で保存する。

20

【0159】

IgG の精製

毒素 A または B のいずれかから得られた本発明の抗原を使用して、上記のようにアフィニティークラムを調製する。毒素 B に対する抗体を精製するために、TxB4 (残基 767 ~ 2366) などの構築物を使用することができよう。毒素 A に対する抗体を精製するために、TXA4 (残基 770 ~ 2710) などの構築物を使用することができよう。毒素 B に結合する抗体のアフィニティー精製のために、毒素 B に対する抗体を含有する血清を、適切な緩衝液 (例えば 0.5 M NaCl を含有する 20 mM HEPES pH 7.4 緩衝液) で 1 : 1 に希釈し、その混合物を、適切なカラムに充填された固定化 TxB4 が入っているカラムに適用する (ゲル 1 ml あたり 2 ~ 6 ml の混合物)。未結合の画分 (血清アルブミンおよび非特異的 IgG を含有する) を、少なくとも 10 カラム体積の 0.5 M NaCl 緩衝液を含有する 20 mM HEPES pH 7.4 緩衝液で洗浄除去後に、結合している画分を 5 カラム体積の溶離緩衝液 (例えば 100 mM グリシン緩衝液、pH 2.5) でカラムから溶離させる。次に、IgG を含有する溶離画分を直ちに 1 M トリス - HCl pH 8.0 で pH 約 7.0 に中和する。次に、毒素 B と結合する IgG を含有するこれらの画分を、0.15 M NaCl を含有する 50 mM HEPES pH 7.4 で透析し、必要になるまで凍結保存する。

30

40

【0160】

毒素 A または B のいずれかと結合してそれを中和する、アフィニティー精製された IgG 画分を、CDI の治療または予防のいずれかの治療剤として使用することができる。これらは、また、毒素 A または B を検出するための酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA

50

）などのアッセイ系に使用することができる。そのような診断系では、アフィニティー精製された抗体は、より感度が高く、バックグラウンド妨害が低下したアッセイを提供することができる。

【 0 1 6 1 】

図面および表

【 0 1 6 2 】

【 表 1 】

表 1 - 毒素 A のレセプター結合性繰り返しモジュール

毒素 A のレセプター結合 モジュール	アミノ酸配列 (長い繰り返し領域を太字で示す)
モジュール 1 LR = 配列番号 60 モジュール 1 (残基 1851-2007 = 配列番号 61)	<u>GVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQS</u> VTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKIINGKHIFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKY YFDNNSKAVTGWRIINNEKYYFNPNAIAAVGLQVIDNKKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFN
モジュール 2 LR = 配列番号 62 モジュール 2 (残基 2008-2141 = 配列番号 63)	<u>GVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQS</u> GYKTIDGKHIFYFSDSDCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGLQTIDSKKKYYFN TNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIAST
モジュール 3 LR = 配列番号 64) モジュール 3 (残基 2142-2253 = 配列番号 65)	<u>GVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQN</u> GYTIINGKHIFYFNTDGMIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKKYYFNP NNAIAIHLCTINNDKYYFSYDGILQN
モジュール 4 LR = 配列番号 66) モジュール 4 (残基 2254-2389 = 配列番号 67)	<u>GVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQN</u> GYTIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKY YFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAST
モジュール 5 LR = 配列番号 68) モジュール 5 (残基 2390-2502 = 配列番号 69)	<u>GVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQN</u> GYTSINGKHIFYFNTDGMIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFN TNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIAST
モジュール 6 LR = 配列番号 70) モジュール 6 (残基 2503-2594 = 配列番号 71)	<u>GVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQN</u> GYTIISGKHIFYFNTDGMIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNRFLYHDNIYFGNNSKAATGWWTIDGNRYFFE PNTAMGAN
モジュール 7 LR = 配列番号 72) モジュール 7 (残基 2595-2710 = 配列番号 73)	<u>GVFKGSGNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQN</u> GYKTIDNKNIFYFRNGLPQIGVFKGSGNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNRFLHLLGKIYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFM PDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVGVKAPGIYG

【 0 1 6 3 】

【表 2】

表 2 - 毒素 B のレセプター結合性繰り返しモジュール

毒素 B のレセプター結合 モジュール	アミノ酸配列 (長い繰り返し領域を太字で示す)
モジュール 1 LR = 配列番号 74	<u>GVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFT</u>
モジュール 1 (残基 1852-2007 = 配列番号 75)	DDKYYFNPIGGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDE NIYYFDDNRYRGAVEWKELDGEIMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYYFDDDS GVMKV
モジュール 2 LR = 配列番号 76	<u>GVFNTEGDKFYFAHHNEDLGNEEGEEISYS</u>
モジュール 2 (残基 2008-2139 = 配列番号 77)	GYTEIDGKHFFYAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGLNFNNKIYYFDDSFATAVVG WKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVIFYFSDSGIIES
モジュール 3 LR = 配列番号 78	<u>GVFDTSDGKYFAPANTVNDNIYGQAVEYS</u>
モジュール 3 (残基 2140-2273 = 配列番号 79)	GVQNIDDNIFYIDNNGIVQIGVFDTSDGKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETG WYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGMIMRTGLISFENNYYFNENGENMQF
モジュール 4 LR = 配列番号 80	<u>GVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYT</u>
モジュール 4 (残基 2274-2366 = 配列番号 81)	GYINIEDKMFYFGEDGVMMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATG SVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

【表 3】

表 3 - リコンビナント毒素 B 由来抗原を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価
(6 週目 ; それぞれ 100 μ g を 2 回投与)

毒素 B 由来抗原 (アミノ酸配列)	毒素 B に対する中和力価 (0.5ng/ml)
リコンビナント毒素 B (1756-2366)	<10
リコンビナント毒素 B (1145-2366)	960
リコンビナント毒素 B (767-2366)	2,560
リコンビナント毒素 B (543-2366)	1,280

10

【 0 1 6 5 】

【表 4】

表 4 - リコンビナント毒素 B 由来抗原を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価
(18 週目 ; それぞれ 100 μ g を 5 回投与)

20

毒素 B 由来抗原 (アミノ酸配列)	毒素 B に対する中和力価 (0.5ng/ml)
リコンビナント毒素 B (1756-2366)	80
リコンビナント毒素 B (1145-2366)	5,120
リコンビナント毒素 B (767-2366)	10,250
リコンビナント毒素 B (543-2366)	5,120

30

【 0 1 6 6 】

【表 5】

表 5 - 本発明のリコンビナント毒素 B 由来抗原 (TxB4; 残基 767-2366) を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価

抗原	投与回数	免疫処置期間 (週)	毒素 B に対する中和力価 (0.5ng/ml)
100µg/回のリコンビナント 毒素 B (残基 767~2366)	2	6	2,560
	3	10	2,560
	4	14	10,250
	5	18	10,250
	6	22	20,480

10

【 0 1 6 7 】

【表 6】

表 6 - 繰り返し領域を表すリコンビナント毒素 B 由来抗原 (TxB2, 1756-2366) を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価

20

抗原	投与回数	免疫処置期間 (週)	毒素 B に対する中和力価 (0.5ng/ml)
100µg/回のリコンビナント 毒素 B (残基 767~2366)	2	6	<10
	3	10	10
	4	14	10
	5	18	80

30

【 0 1 6 8 】

【表 7】

表 7 - リコンビナント毒素 A 由来抗原を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価 (10 週間の時点)

毒素 A 由来抗原 (アミノ酸配列)	投与回数 (100µg)	毒素 A に対する中和力価 (50ng/ml)
リコンビナント毒素 A (1850-2710)	3	640
リコンビナント毒素 A (770-2710)	2	7,680
リコンビナント毒素 A(770-2389)	3	10,240

40

50

【 0 1 6 9 】

【 表 8 】

表 8 - リコンビナント毒素 A 由来抗原を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価
(18 週間の時点)

毒素 A 由来抗原 (アミノ酸配列)	投与回数 (100μg)	毒素 A に対する中和力価 (50ng/ml)
リコンビナント毒素 A (1850-2710)	5	1,280
リコンビナント毒素 A (770-2710)	4	15,360

10

【 0 1 7 0 】

【 表 9 】

表 9 - 本発明のリコンビナント毒素 A 由来抗原 (TxA4; 残基 770-2710) を用いたヒツジの
免疫処置によって得られた中和力価

20

抗原	投与回数	免疫処置期間 (週)	毒素 A に対する中和力価 (50ng/ml)
100μg/回のリコンビナント 毒素 A (残基 770~2710)	2	10	7,680
	3	14	10,240
	4	18	15, 360

30

【 0 1 7 1 】

【 表 1 0 】

表 10 - 繰り返し領域のみを表すリコンビナント毒素 A 由来抗原 (TxA2; 残基 1850-2710)
を用いたヒツジの免疫処置により得られた中和力価

抗原	投与回数	免疫処置期間 (週)	毒素 A に対する中和力価 (50ng/ml)
100μg/回のリコンビナント 毒素 A (残基 1850~2710)	2	6	320
	3	10	630
	4	14	1,280
	5	18	1,280

40

50

【 0 1 7 2 】

【 化 1 】

配列番号

配列番号 1 - *Clostridium difficile* 毒素 A (毒素タイプ 0)

MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTNNNNENKYLQKLKLNESIDVFMNKYKTSSRNRA
 LSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFVWIGGEVSDIALEYIKQWADINAENIKLWYDSEAFVNTLK
 KAIVESSTTEALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYKYSQINKPTVPTIDDIKSHLVSE
 YNRDETVLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQELLNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGV
 YLDVDMPLPGIHSDFLTKTISRPSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIESKS
 EKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIEQVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFT
 DTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTkiAPYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKA
 SDLIEFKFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSSENGVDNFKNALDKNYLL
 NNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLFSKNPKNSIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILE
 LNKYRIPERLKNKEKVKVTFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGCNM
 FSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKNsitIGANQYEVrinSEGRKELLAHSGKWINKEEAIMS
 DLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEP
 VKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKNLNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETE
 KEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVK
 VQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITIEGIPVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKEL
 EAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAETVIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSEKK
 YGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCLNlAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYS
 AIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDY
 AITTLKPVEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLsYSFDGAGGTYSLLSSYPISNTINLSKDDLWI
 FNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLV
 AKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAYNyTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILE
 FYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNEsvYSS
 YLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFldNISFWKLGFGFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFG
 EWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSyePLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNY
 YSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFeyKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFN
 KMSIDFKDIKLSLGYIMSNFksFSNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIE
 FNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKIINGKHfYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNI
 EGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIS
 KGWQTVNGSRYYFDTDAIAFNgyKTIDGKHfYFSDCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQ
 AIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGLQTIDSKKYYFNTNTAEaATGWQTIDGKKYYFNTNTAEaAT
 GWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHfYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIL
 YQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNNAAIAHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIE
 RNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVT
 GWQTIDGKKYYFNLNTAEaATGWQTIDGKKYYFNLNTAEaATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASGTYSI
 NGKHfYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGL
 RTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGTYSIISGKHfYFNTDGIMQIGVFKGPDGF
 EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTI
 DNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGW
 QTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVdGVKAPGIYg

10

20

30

配列番号 2 - *C. difficile* 毒素 B (毒素タイプ 0)

MSLVNRKQLEKMANVRFRtQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLDINSLTDIYIDTYKKSGRN
 KALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKDVNSDYNVNVFYDSNAFLI
 NTLKKTVVESAINDTLESFRENLDPRFDYnkFFRKRMEIYDKQKNFINYYKAQREENPELIIDDIVKTY
 LSNEYSKEIDELNTYIEESLNKITQNSGNDVRNFEeFKNGESFNLYEQELVERWNLAAASDILRISALKE
 IGGMYLDVDMPLPGIQPDLFESIEKPSSVTVDfWEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHfDMLDEEVQSSFE
 SVLASKSDKSEIFSSLGDMEASPLEVKIAFNskGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAIS
 EDNDFNTTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTtINLSGPEAYAAAYQDLLMFKEG
 SMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDARAKAQFEeYKRNYFEGSLGEDDNLDFSQNI
 VVDKEYLLEKISSLARSSERGIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAKTPYDSVLFQKNIEDSEIAYYNNPGD
 GEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNTDIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKEDISPKSIEINLLGCN
 MFSYSINVEETYPGKLLLVKDKISELMPsisQDSiIVSANQYEVrinSEGRRELLDHSGEWINKEESIIK
 DISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKV/MLTECEINVISNIDTQIVEERIEE
 AKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQNELEDShFISFEDISetDEGFSIRFINKETGESIFVETEK
 TIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNDLTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKV
 QVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLQEI

40

EAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSIVET
EGVFTLLDDKIMMPQDDLVEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSI
YDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTCLLDRIRDNYEGEFYWRIFA
FIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYSGGGTYALSLSQYNMGINIELSES
DVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAI
IEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFIENGSTKEGLFVS
ELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSVHL
DESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDEN
DNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKV/VISPNIYT
DEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNV
FKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYIND
SLYYFKPPVNNLITGFVTVGD
DKYYFNPIINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVGFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLII
DENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFAKGLNQIGDYKYYFNSDGMVQKGFVSINDNKH
YFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFN
KIYYFDDSFYVGVWGDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFVS
DSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSBGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYFVS
GETYTIETGWYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKIMRTGLISFENNNYFNGE
MQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTD
EYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

10

配列番号 3 - C. difficile 毒素 A (毒素タイプ 3)

MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTNNNNENKYLQLKKLNEIDVFMNKYKNSSRNRA
LSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFVWIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFVNTLK
KAIVESSTTEALQLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYKSKINKPTVPTIDDIKSHLVSE
YNRDETLLSYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQELLNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGV
YLDVDMLPGIHSDLFKTIPRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIESKS
EKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIEQVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFT
DTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIAPYLQVGFMPPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKA
SDLIEFKFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSLEDNGVDFNKNTALDKNYLL
NNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIQLQGDDISYEATCNLFKSNPKNSIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILE
LNKYRIPERLKNKEKVKVTFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLGCM
FSYDFNVEETYPGKLLSIMDKITSTLPDVNKDSITIGANQYEVINSEGRKELLAHSGKWINKEEAIMS
DLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKLEP
VKNIHNSIDDLIDEFNLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETE
KEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVK
VQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKEL
EAKVGLVAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSES
YGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCLNLAAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIPSLSVYS
AIGIKTENLDFSKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENNNGTKLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDY
AITTLKPVYEDTNTKIKLDKDRNFIMPTITTDEIRNKLVSFSGAGGTYSLLLSSYPISMNINLSKDDLWI
FNIDNEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLV
AKSYLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILE
FYNGSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNEVSYSS
YLDVFNKSDGHHNTSNFMNLFNNISFWKLFGFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFG
EWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNY
YSNEYYPEIIVLNPNFTFHKVNINLDSSSFYKRWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFN
KMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKNFSNENELDRDLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIE
SNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIINGKHFFYFNNNGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNI
EGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYFNPNNIAAAGLQVIDNNKYFNPDTAIS
KGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFGSNGFEYFAPANTYNNNIEGQ
AIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQIDSKYYFNTNTAEATGWQIDGKKYYFNTNTAEAT
GWQIDGKKYYFNTNTSIASGTIINGKYFYFNTDGIMQIGVFKVPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILY
QNKFLTNGKKYYFGSDSKAITGWQIDGKKYYFNPNNIAATHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIER
NNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTG
WQIDSKKKYYFNLTAVAVTGWQIDGKYYFNLTAEATGWQIDGKRYFNTNTYIASTGYTIING
KHFFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTI
DGKKYYFNTNTAVAVTGWQIDGKKYYFNTNTYIASTGYTIISGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYF
APANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNK

20

30

40

NFYFRNGLPQIGVFKGPNGFYFAPANTDANNIDGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTIN
SKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 4 - C. difficile 毒素 B (毒素タイプ 3)

MSLVNRKQLEKMANVRFRVQEDEYVAILDALEEYHNMSSENTVVEKYLLKLDINSLTDIYIDTYKKSGR
NKALKKFKEYLVTEVLELKNNTLPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKDVNSDYNVNVFYDSNAF
LINTLKKTIVESATNDTLESFRENLDNPRFDYNKFYRKRMEIYDKQKNFINYYKTQREENPDLIIDIVKI
YLSNEYSKDIDELNSYIEESLNKVTENSGNDVRNFEFEGGESFKLYEQELVERWNLAASDILRISAL
KEVGGVYLDVDMPLGPIQPDFESIEKPSSVTVDWFEMVKLEAIMKYKEYIPGYTSEHFDMLDEEVQSS
FESVLASKSDKSEIFSSLGDMEASPLEVKIAFNKSGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNP
AISEDNDFNTTNAFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTINLSGPEAYAAAYQDLLMF
KEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKKNYFEGSLGEDDNLDFS
QNTVVDKEYLLEKISSLARSSERYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAKTPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYN
PGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNTDIFAGLDVDSLSTEIETAIDLAKEDISPKSIEINLL
GCNMFSSYSVNVEETYPGKLLLRVKDKVSELMPSSISQDSIIVSANQYEVIRINSEGRRELLDHSGEWINK
EESIIKDISSKEYISFNPKENKIIKSKNLPSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVV
EGRIEEAKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRFIDKETGESIF
VETEKAIKSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDAHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLNSL
VAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAKVVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSD
PLLRQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIITSSLGASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELILRDKATKVVDYFSHI
SLAESEGAFTSLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYR
EPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTLKLDRIIRDNYEGEFY
WRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIREKLSYSFYGGGTALSLSQYNMNI
NIELNENDTWIDVDNVRDVTIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDNKIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTF
SILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANSSNSVQKIDYIGLNSLQKNIPYSFMDKGKENGFINC
STKEGLFVSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVILTGYYLKDDIKISLSFTIQDEN
TIKLNQVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESNIKSIFINSLQSNTKLILDTNFIISGTTSIGQ
FEFICDKDNNIQPYFIKFNLTETKYTLVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNK
VIISPNYITDEINITPIYEANNITYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILMSTDEENKVSQV
KIRFTNVFKGNTISDKISFNFSQKQDVSKVISTFTPSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFMMVS
GLVYINDSLYYFKPKPIKNLITGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYFYSQNGVLQTVGFSTE
DGFKYFAPADTLDENLEGEAIDFTGKLTIDENVYFVFGDNYRAAIEWQTLDDDEVYFSTDTGRAFKGLN
QIGDDKFYFNSDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFK
YFAHDEDLGNEEGEALSYSGLNFNKNIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIIND
GKYFNDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIGVFDTSBGYKYFAPAN
TVNDNIYGQAVEYSGLVVRVGEDVYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYY
FDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDE
NFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

10

20

30

配列番号 5 - 毒素 A フラグメント - TxA3 (毒素タイプ 0) (残基 1131-2710)

ESKKYGLPKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSISIKLGTENILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSL
SIYSAIGIETENLDFSKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLNDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYA
FFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNIRNKLSSYSFSGAGGTYSLLSSYPSTININLSKD
DLWIFNIDNEVREISIENTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIGNQITIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLI
EINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNNTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDS
KNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNES
VYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNI
DIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGTEDISTLDFSYPELYGIDRYINKVLIAPDLYTSLINI
NTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSEYKWSSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNT
QSFNKMISIDFKDIKKLSLGYIMSNFNSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYF
DPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFFYNNDGVMQLGVFKGPDGFYFAPANTQN
NNIEGQAIYVQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPD
AISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDSCVVKIGVFSTNGFEYFAPANTYNNIE
GQAIYVQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNNTNTAEATGWQTIDGKKYYFNNTNTAE
AATGWQTIDGKKYYFNNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTDANNIEGQ
AILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNNAIAAHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYI
TIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFYFAPANTNNIEGQAIYVQNKFLTNGKKYYFDNDSK
AVTGWQTIDGKKYYFNLTNTAEATGWQTIDGKKYYFNLTNTAEATGWQTIDGKKYYFNNTNTAIASTG
YTSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTHNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKA
VTGLRTIDGKKYYFNNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNNTNTAIASTGYTIISGKHFFYFNTDGIMQIGVFKG

40

PDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMGAN
GYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKA
VTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 6 - 毒素 A フラグメント - TxA3 (毒素タイプ 3) (残基 1131-2710)

ESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLNILEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSL
SIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYA
FFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLSSYPISTNINLSKD
DLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLI
EINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAANYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDS
KNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNE
VYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFNDNISFWKLFGEFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNI
DIYFGEWKTSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLINI
NTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSEYKRWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNT
QSFNKMISDFDKIKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYF
DPIEFNLVTGWQTINGKKYFDINTGAALTSYKIINGKHFFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQ
NNNIEGQAIYQSKFRTLNGKKYFDNNSKAVTGWRIINNEKYFNPNNIAAAGLQVIDNNKYFNP
TAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSGFEYFAPANTYNNNI
EGQAIYQSKFRTLNGKKYFDNNSKAVTGLQTIDSKKYFNTNTAEATGWQTIDGKKYFNTNTAE
AATGWQTIDGKKYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTDANNIEGQ
AILYQNEFLTLNGKKYFSGDSKAVTGWRIINNKYFNPNNIAAHLCTINNDKYFSYDILQNGYI
TIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAIYQNKFLTLNGKKYFDNDSK
AVTGWQTIDGKKYFNLNTAEATGWQTIDGKKYFNLNTAEATGWQTIDGKKYFNTNTFIAS
YTSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYFSGDSKA
VTGLRTIDGKKYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYFNTNTSIASGYTIISGKHFFYFNTDGIMQIGVFKG
PDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMGAN
GYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKA
VTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

10

20

配列番号 7 - 毒素 A フラグメント - TxA4 (毒素タイプ 0) (残基 770-2710)

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFIILNNLKLNISSIGDYIYYEKL
EPVKNIHNSIDDLIDEFNLENVSELYELKLLNLDKEYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGIPVSTILDGINLGAIAKELLDEHDPLLK
KELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAETIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLS
KKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLNILEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSL
YSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLSSYPISTNINLSKDDL
WIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLI
LVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAANYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKN
LEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNE
SSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFNDNISFWKLFGEFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNI
DIYFGEWKTSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLINI
NTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSEYKRWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNT
QSFNKMISDFDKIKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYF
DPIEFNLVTGWQTINGKKYFDINTGAALISYKIINGKHFFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQ
NNNIEGQAIYQSKFRTLNGKKYFDNNSKAVTGWRIINNEKYFNPNNIAAAGLQVIDNNKYFNPDTA
IISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSGFEYFAPANTYNNNIEG
QAIYQSKFRTLNGKKYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYFNTNTAEATGWQTIDGKKYFNTNTAE
ATGWQTIDGKKYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTDANNIEGQ
AILYQNEFLTLNGKKYFSGDSKAVTGWRIINNKYFNPNNIAAHLCTINNDKYFSYDILQNGYITI
ERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAIYQNKFLTLNGKKYFDNDSKAV
TGWQTIDGKKYFNLNTAEATGWQTIDGKKYFNLNTAEATGWQTIDGKKYFNTNTFIASGYTS
INGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYFSGDSKAVTG
LRTIDGKKYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYFNTNTSIASGYTIISGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPDG
FEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMGANGYK
TIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTG
WQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

30

40

配列番号 8 - 毒素 A フラグメント - TxA4 (毒素タイプ 3) (残基 770-2710)

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKL
EPVKNIHNSIDDLIDEFNLLNENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINXNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGIPVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLK
KELEAKVGVLAJNMSLSIAATVASIVGIGAETIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLS
KEYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCLNLAAMEGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIPSLSV
YSAIGIKTENLDFSKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENNGTKLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVEYEDTNTKIKLKDTRNFIMPTITTTDEIRNKLSYSFSGAGGTYSLLLSSYPISMNINLSKDD
LWIFNIDNEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLIEI
NLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSK
NILEFYNGSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNE
YSSYLDVFNKSDGHHNTSNFMNLFNNISFWKLGFGFENINFDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDI
YFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYPELYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININ
TNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHHKVNINLDSSSFYKWKSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQ
SFNKM SIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFD
PIESNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIINGKHFFYFNNNGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQN
NNIEGQAIVYQSKFRTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAAGLQVIDNNKYYFNPDT
AIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFGSNGFEYFAPANTYNNNIE
GQAIVYQSKFRTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAE
AATGWQTIDGKKYYFNTNTSIASTGYTIINGKYFYFNTDGIMQIGVFKVPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ
AILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAITGWQTIDGKKYYFNPNNIAAATHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYI
TIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSK
AVTGWQTIDSKYYFNLNTAVAVTGWQTIDGKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKYYFNTNTYIASTG
YTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAV
TGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIASTGYTIISGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGP
DGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYFEPNTAMGANG
YKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIDGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNKAVT
GWQTINSKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

10

20

配列番号 9 - 毒素 B フラグメント - TxB3(-h) (毒素タイプ 0) (残基 1145-2366)

MPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEEL
DLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTKLDRIRDNYEGEFYWRFYAFIADALITTLKPR
YEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTIALSLSQYNMGINIELSESDWIIDVDNVVR
DVTIESDKIKKGDLEIGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKL
LISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSQLQKNIPYSFVDSEKENGFINSTKEGLFVSELDPVVLISKVY
MDDSKPSFGYYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSNVHLDESGVAEILKF
MNRKGNNTSDSLMSFLESNMNKSIFVNFLLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIPYFIKFN
LETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETN
NTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLS
FNFSDKQDVPVSEILSFTPSYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNN
LITGFVTVGDDKYYFNPIINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEG
EAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMVMQKG
FVSINDNKHFFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFYAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEIS
YSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTI
NDKVFFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSBGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVR
VGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNN
YYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLD
EKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYFDPDTAQLVISE

30

配列番号 10 - 毒素 B フラグメント - TxB3(-h) (毒素タイプ 3) (残基 1145-2366)

MPQDDLVISEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEEL
DLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTKLDRIRDNYEGEFYWRFYAFIADALITTLKPR
YEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIREKLSYSFYGSGGTIALSLSQYNMNINIELNENDTWIDVDNV
RDVTIESDKIKKGDLEIENILSKLSIEDNKIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILEGINAVIEVDLLSKSY
KVLISGELKTLMANSSVQQKIDYIGLNSQLQKNIPYSFMDDKKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLIS
KVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKITKDDVIILTGYYLKDDIKISLSFTIQDENTIKLNGVYLDENGVAEIL
KFMNKKGSTNTSDSLMSFLESNMNKSIFINSLQSNITKLILDTNFIISGTTSIGQFEFICDKDNNIQPYFIKF
NTLETKYTYLVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVIISPNIYTDEINITPIYEA
NNTYPEVIVLDNTYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRFTNVFKGNTISDKISF
NFSKQDVSINKVISTFTPSYYYEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFMMVSGLVYINDSLYYFKPPIKNLI

40

TGFTTIGDDKYYFNPNDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEGE
AIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDDDEVYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKYYFNSDGIMQKGF
VNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHEDELDGNEEGEALS
SGILNFNNKIYYFDDSFATAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYYFNDSGIMQIGFVTINN
EVFYFSDSGIVESGMQNIDNIFYIDENGLVQIGVFDTSBGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRV
GEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNH
YFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEK
RYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 11 - 毒素 B フラグメント - TxB3 (毒素タイプ 0) (残基 957-2366)

NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSE
GLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLQRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGI
PSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNSIVLGKCEIWRM
EGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGL
RSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKL
SYSFYSGGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLEIGILSTLSIEENKIL
NSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSEL
QKNIPYSFVDSEKENGFIENGSTKEGLFVSELDPVVLISKVYMDDSKPSFGYSSNNLKDVKVITKDNV
NLTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSVHLDSEGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFV
NFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDD
GDISSTVINFSQKYLIDSCVNKVVISPNITDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIR
YVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNFSQKQDVPVSEILSFTPSYYEDGL
IGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYFYPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGE
TIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVE
WKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEID
GKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHEDELDGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATAVVGW
KDLLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQYGVFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIIDN
YFIDNNGIVQGVFDTSBGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMEN
ESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFG
EDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYY
FDPDTAQLVISE

10

20

配列番号 12 - 毒素 B フラグメント - TxB3 (毒素タイプ 3) (残基 957-2366)

NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSE
GLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLQRQEIEAKIGIMAVNLTAATTAITSSLGIASGFSILLVPLAGISA
GIPSLVNNELILRDATKVVDYFHSISLAESEGAFTSLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNSITLGKCEIWR
MEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTP
GLRSLNDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIR
EKLSYSFYSGGGTYALSLSQYNMGINIELNENDTWIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLEIENILSKLSIEDN
KIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANNSVQQKIDYIGL
NSELQKNIPYSFMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELDPVVLISKVYMDSKPLFGYCSNDLKDVKVITK
DDVILTGYYLKDDIKISLSFTIQDENTIKLNGVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSI
FINSLQSNTKLILDNTFIISGTTSIGQFEFICDKDNNIQPYFIKNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDD
SGDISSTVINFSQKYLIDSCVNKVVISPNITDEINITPIYEANNTYPEVIVLDNTYISEKINININDLSIRY
VWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRFTNVFKGNTISDKISFNFSQKQDVSINKVISTFTPSYYVEGLL
NYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYINDSLYFYPPIKNLITGFTTIGDDKYYFNPNDNGGAASVGET
IIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEGEAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEW
QTLDDDEVYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKYYFNSDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGK
YFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHEDELDGNEEGEALSYSGLNFNNKIYYFDDSFATAVVGWKL
LEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYYFNDSGIMQIGFVTINNEVYFSDSGIVESGMQNIDNIFYID
ENGLVQIGVFDTSBGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENES
DKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSED
GIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDP
DTAQLVISE

30

40

配列番号 13 - 毒素 B フラグメント - TxB 4 (毒素タイプ 0) (残基 767-2366)

SIIDISSKEYISFNPKENKITVSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVVE
RIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVE
TEKTIFSEYANHITTEISKIGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVA
MKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL

RQEIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSL
VETEGVFTLLDDKIMMPQDDL VISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREP
HLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTCLLDRIRDNYEGEFYWR
YFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIEL
SESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLEIGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEG
INAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENGFGINGSTKEGL
FVSELPDVLISKVYMDDSKPSFGYYSNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLS
VHLDSESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESJNIKSIFVNFQLQSNIFILDANFIISGTTSIGQFEFICD
ENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPN
IYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFV
NVFKDKTLANKLSFNFSKQDQVPVSEILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYI
NDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPIGGAASIGETIIDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKY
FAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDY
KYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAH
HNEDLGNEEGEELISYSGILNFNKIIYYFDDSFATAVVGWVKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQY
YFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIIDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSBGYKYFAPANTVN
DNIYGQAVEYSGLVVRGDEVYFGETYTIETGWYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDE
KGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDEN
FEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

10

配列番号 14 - 毒素 B フラグメント - TxB 4 (毒素タイプ 3) (残基 767-2366)

SIKDISKEYISFNPKENKIVKSKNLPSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVVEG
RIEEAKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRFIDKETGESIFVE
TEKAIFSEYANHITTEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDATEVENTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVA
MKVQVYAQLFSTGLNTITDAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL
RQEIEAKIGIMAVNLTAATTAITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELILRDKATKVVDYFHSILA
ESEGAFTSLDDKIMMPQDDL VISEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPH
LSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGTCLLDRIRDNYEGEFYWR
FAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIREKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMNINIEL
NENDTWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLENIILSKLSIEDNKIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILE
GINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANSSVQQKIDYIGLNSSELQKNIPYSFMDKKGKENGFINCSTK
EGLFVSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKITKDDVILTGYLKDIIKISLSFTIQDENTIKL
NGVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESJNIKSIFINSLQSNITKLILDTNFIISGTTSIGQFEFI
CDKDNIIQPYFIKFNLTETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVIIS
PNIYTDEINITPIYEANNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRF
TNVFKGNTISDKISFNFSKQDVSINKVISTFTPSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYI
NDSLYYFKPKIKNLITGFTTIGDDKYYFNPONGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKY
FAPADTLDENLEGEAIDFTGKLTIDENVYFYGDNRAAIEWQTLDDDEVYFSTDTGRAFKGLNQIGDD
KFFYNSDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHH
DEDLGNEEGEALSYSGLNFNKIIYYFDDSFATAVVGWVKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYYF
NDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIIDNYFYIDENGLVQIGVFDTSBGYKYFAPANTVNDN
IYGQAVEYSGLVVRGDEVYFGETYTIETGWYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENG
IMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGE
SINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

20

30

配列番号 15 - 毒素 B フラグメント - 毒素 B-A ハイブリッド (毒素タイプ 0)

NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAKVVELVSTALDETIDLLPTLSE
GLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQEIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGI
PSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDL VISEIDFNNNSIVLGKCEIWRM
EGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGL
RSLNDGTCLLDRIRDNYEGEFYWR YFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKL
SYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLEIGILSTLSIEENKIIL
NSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSEL
QKNIPYSFVDSEKENGFGINGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDDSKPSFGYYSNLKDVKVITKDNV
NLTGYLKDIIKISLSLTQDEKTIKLSVHLDSESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESJNIKSIFV
NFLQSNIFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDD
SGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIR
YVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSKQDQVPVSEILSFTPSYYEDGL
IGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYK
IINGKHFFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVT

40

GWRIINNEKYFFNPNNIAAVGLQVIDNNKYFFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNQYKTD
GKHFYFSDSCVVKIGVFSTSNQGEYFAPANTYNNNIEGQAIYQSKFLTLNGKKYFFDNNSKAVTGW
QTIDSKYFFNTNTAEATGWQIDGKKYFFNTNTAEATGWQIDGKKYFFNTNTAIASTGYTIINGK
HFYFNTDQIMQIGVFKGPNQGEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYFFGSDSKAVTGWRIIN
NKKYFFNPNNIAAHLCTINNDKYFFSYDQILQNGYITIERNNFYDANNESKMVTGVFKGPNQGEYF
APANTHNNNIEGQAIYQNKFLTLNGKKYFFDNDSKAVTGWQIDGKKYFFNLNTAEATGWQIDG
KKYFFNLNTAEATGWQIDGKKYFFNTNTFIASSTGYTSINGKHFFYFNTDQIMQIGVFKGPNQGEYFA
PANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYFFGSDSKAVTGLRTIDGKKYFFNTNTAVAVTGWQTINGKK
YYFNTNTSIASSTGYTIISGKHFFYFNTDQIMQIGVFKGPDQGEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLYLHD
NIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGGEYFAP
ANTDANNIEGQAIYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVI
YFFGVGDKVAPGIYG

10

配列番号 16 - 毒素 B フラグメント - 毒素 A-B ハイブリッド (毒素タイプ 0)

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKL
EPVKNIHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLK
KELEAKVGVLAJNMSLSIAATVASIVGIGAETIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLS
KKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLNLAAMEGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSI
YSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLNDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVEYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLSSYPITNINLSKDDL
WIFNIDNEVREISIENGITKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEIN
LVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAANYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNI
LEFYNDSTLEFNKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNEVS
SSYLDVFNKSDGHHNTSNFMNLFNDISFWKLFGEFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIY
FGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTEGIDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININT
NYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFYKWSSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQS
FNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKNSENELDRDLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDP
IEFNLTITGFTVVGDDKYFFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVGFSTEDGFKYFAPANTLDEN
LEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFFNSDQVM
QKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFYAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEG
EESYSGILNFNNKIYYFDDSTAVVGWWDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVG
FVTINDKVFFYFSDSGIIESGVQNIIDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYQGAVEYS
LVRVGEDVYFFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFFDEKGIMRTGLISFEN
NNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLD
LDEKRYFFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

20

配列番号 17 - 毒素 B フラグメント - 毒素 A-B ハイブリッド (毒素タイプ 0 および 3)

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKL
EPVKNIHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLK
KELEAKVGVLAJNMSLSIAATVASIVGIGAETIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLS
KKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLNLAAMEGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSI
YSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLNDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVEYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLSSYPITNINLSKDDL
WIFNIDNEVREISIENGITKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEIN
LVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAANYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNI
LEFYNDSTLEFNKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNEVS
SSYLDVFNKSDGHHNTSNFMNLFNDISFWKLFGEFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIY
FGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTEGIDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININT
NYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFYKWSSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQS
FNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKNSENELDRDLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDP
IEFNLTITGFTTIGDDKYFFNPNDGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTVGFSTEDGFKYFAPADTLDE
NLEGEAIDFTGKLTIDENVYFGDNYRAAIEWQTLDDVYFFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFFYNSDGI
MQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHNEDLGNEE
GEALSYSGILNFNNKIYYFDDSTAVVGWWDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYFFNDSGIMQIG
FVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIIDNYFYIDENGLVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYQGAVEYS
LVRVGEDVYFFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYFFDENGIMRTGLITF

30

40

EDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTDPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWL
DLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYFDPDTAQLVISE

配列番号 18 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 His-NusA-[トロンビン部位]-TxA4-His

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLWVDEVDTQPTKEITLEAARYEDES LN LGDYVEDQIESVTFRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARDPGSRKIAVKTNDKRIDPVGACVGMARGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDN
KLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEF
NLLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINXNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEIS
TIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNLDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTI
YDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGIPVSTILDGINLGAAIKELLDEHDP LLKKELEAKVGV LAINMSLSI
AATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSKSKYGPLKTEDDKILVPID
DLVISEIDFNNNSIKLGTCLN LAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFS KIM
MLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKI
KLDKDTRNFIMPTITTTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENTG
IKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYL
ISNLSNIEKINTLGLDSKNIAANYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIA
EDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHNTS
NFMNLF LDNISFWKLF GFENIN FVIDKYFTLVGKTN LGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGN
GRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFS YEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSN EYYPEIIVLPNT
FHKKNINLNDSSSFYK WSTEGSDFILVRYLEESNKKILQIRIKGILSNTQSFNKSIDFKDIKKLSLGYI
MSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYY
FDINTGAALISYKIINGKH FYFNNDGVMQLGVFKGPDGF EYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGK
KYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYFNPNNIAIAVGLQVIDNNKYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDT
DTAIAFNGYKTIDGKH FYFSDCVVKIGVFSTNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYY
FDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNT
AIASTGYTIINGKH FYFNTDGIMQIGVF KGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGS
DSKAVTGWRIINNKYYFNPNNIAIAHLCITINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYDANNESKMVTG
VFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTA
EAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAS TGYTSINGKH FYFNTDGIMQIGV
FKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVA
VTGWQTINGKKYYFNTNTSIAS TGYTIISGKH FYFNTDGIMQIGVF KGPNGFEYFAPANTDANNIEGQA
IRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVF
KGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMA
AAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYGGSGGSLVPRSGSGSHHHHHH

10

20

30

配列番号 19 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 His-NusA-[トロンビン部位]-TxA4

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLWVDEVDTQPTKEITLEAARYEDES LN LGDYVEDQIESVTFRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARDPGSRKIAVKTNDKRIDPVGACVGMARGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDN
KLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEF
NLLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINXNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEIS
TIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNLDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTI
YDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGIPVSTILDGINLGAAIKELLDEHDP LLKKELEAKVGV LAINMSLSI
AATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSKSKYGPLKTEDDKILVPID
DLVISEIDFNNNSIKLGTCLN LAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFS KIM
MLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKI
KLDKDTRNFIMPTITTTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENTG
IKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYL
ISNLSNIEKINTLGLDSKNIAANYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIA

40

EDINVMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNEVSYSYLDFVKNSDGHHNTS
 NFMNLFNDNISFWKLFGEFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGN
 GRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSSNEEYPIIVLNPNT
 FHKKNINLDDSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMISDFKDIKKLSLGYI
 MSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYY
 FDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGK
 KYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDT
 DTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYY
 FDNNSKAVTGWQTIIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTIIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIIDGKKYYFNTNT
 AIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNEFLTLNGKKYYFGS
 DSKAVTGWRIINNKYYFNPNNAAIAHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTG
 VFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIIDGKKYYFNLNTA
 EAATGWQTIIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGV
 FKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVA
 VTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQA
 IRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVF
 KGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMA
 AAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

10

配列番号 20 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 - His-チオレドキシシン-[トロンビン部位]-TxA4

HHHHHHSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALALVPRGSVTSLYKKAGSA
 AAPFTMIMSDLSSKEYIFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGD
 YIYYEKLEPVKNIHNSIDDLIDEFNLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNG
 ESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVL
 NDLSSTSVKQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGIPVSTILDGINLGAAIKELLDE
 HDPLLKKELEAKVGLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVITIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYF
 NHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISS
 HIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFY
 RYFAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYFDGAGGTYSLLLSSYPISTNIN
 LSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDD
 KISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHY
 KKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGL
 YLNEVSYSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFNDNISFWKLFGEFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICD
 NNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLY
 TSLININTNYYSSNEEYPIIVLNPNTFHKKNINLDDSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGI
 LSNTQSFNKMISDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININ
 SLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAP
 ANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAAVGLQVIDNNKYY
 FNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCVVKIGVFSTNGFEYFAPANTY
 NNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIIDSKYYFNTNTAEAAATGWQTIIDGKKYYFNT
 NTAEEAATGWQTIIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDAN
 IEGQAIVYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNNAAIAHLCTINNDKYYFSYDGILQ
 NGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDN
 DSKAVTGWQTIIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIIDGKKYYFNTNTFIA
 STGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFGSD
 SKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVF
 KGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMG
 ANGKYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSGNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNRFLHLLGKIYYFGNNS
 KAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

20

30

配列番号 21 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 - His-チオレドキシシン-[トロンビン部位]-TxA3

HHHHHHSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALALVPRGSVTSLYKKAGSA
 AAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSI
 SSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKF
 YWRFAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYFDGAGGTYSLLLSSYPIST
 NINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCEL
 DDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSII
 HYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGL

40

GLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFNDNISFWKLF GFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFI
CDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAP
DLYTSLININTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIR
IKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLINI
NNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFFYNNDGVMQLGVFKGPDGFEYF
APANTQNNNIEGQAIVYQSKFRTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAAGVGLQVIDNNK
YYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDIAIFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPAN
TYNNNIEGQAIVYQSKFRTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYF
NTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFVKGPNGFEYFAPANTDA
NNIEGQAIVYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNNKYYFNPNNIAAAHLCITINNDKYYFSYDGI
LQNGYITERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYF
DNDKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNT
IASTGYTSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFVKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFGS
DSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGTIISGKHFFYFNTDGIMQIG
VFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNRFLYLHDNIYFYGNNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTA
MGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFVKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNRFLHLLGKIYYFGN
NSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIY

10

配列番号 22 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[トロンビン部位]-TxA3

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVDVETQPTKEITLAAARYEDESINLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMARGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEEGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILV
PIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKK
IMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLNDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNI
KIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLVSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIEN
GTIKKGKLIKDVLSKIDINKNLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDK
NYLISNLSNIIKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSK
DFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGH
HNTSNFMNLFNDNISFWKLF GFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTI
FSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSSNEYYPEIIVL
NPNTFHKKVNINLDSSSFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKL
SLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTIN
GKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFFYNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFL
TLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAAGVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSR
YYFDTDIAIFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFRTL
GKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKY
YFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFVKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNEFLTLNGK
KYYFGSDSKAVTGWRIINNNKYYFNPNNIAAAHLCITINNDKYYFSYDGI LQNGYITERNNFYFDANNE
SKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYY
FNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASGTIISGKHFFYFNTDGI
MQIGVFVKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNT
NTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGTIISGKHFFYFNTDGIMQIGVFVKGPDGFEYFAPANTDANN
IEGQAIVYQNRFLYLHDNIYFYGNNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLP
QIGVFVKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNRFLHLLGKIYYFGNNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPD
TAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIY

20

30

配列番号 23 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[トロンビン部位]-TxB4-His

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVDVETQPTKEITLAAARYEDESINLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMARGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEEGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIISKDISKEYISFNPKE

40

NKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKD
 EFKLIESISDALCDLKQQNELEDSEHIFSEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTFSEYANHITEEIS
 KIKGTIFDVTNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNT
 ITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLREQIEAKIGIMAVNLTTA
 TTAITSSLGASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNELVLRDKATKVVDYFKHVSLEVEGVFTLLDDKIMMP
 QDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLS
 KDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYED
 TNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVT
 IESDKIKKGDLEIGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISG
 ELKILMLNSNHQQKIDYIGFNSSELQKNIPYSFVDSEKENGFGINGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDD
 SKPSFGYYSNNLKDVKITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSVHLDSEGVAEILKFMNRK
 GNTNTSDSLMSFLESNMNKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETN
 YTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLIGIDSCVNKVVISPNITYTDEINITPVYETNNTY
 PEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNF
 SDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITG
 FVTVGDDKYYFNPIINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVGFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAID
 FTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMMQKGFVSI
 NDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGI
 LNFNNKIYYFDDSFATAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDK
 VFYFSDSGIIESGVQNIIDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSBGYKYFAPANTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGE
 DVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYF
 NENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKR
 YYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISEGHHHHHH

10

配列番号 24 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原 - His-NusA-[トロニン部位]-TxB4

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSQDFDTF
 RRWLVDVETQPTKEITLAAARYEDESNLNGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLVSVRPEARQAQL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVEIGEEVIEIKAAARDPGSRKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISKEYISFNPKE
 NKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKD
 EFKLIESISDALCDLKQQNELEDSEHIFSEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTFSEYANHITEEIS
 KIKGTIFDVTNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNT
 ITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLREQIEAKIGIMAVNLTTA
 TTAITSSLGASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNELVLRDKATKVVDYFKHVSLEVEGVFTLLDDKIMMP
 QDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLS
 KDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYED
 TNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVT
 IESDKIKKGDLEIGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISG
 ELKILMLNSNHQQKIDYIGFNSSELQKNIPYSFVDSEKENGFGINGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDD
 SKPSFGYYSNNLKDVKITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSVHLDSEGVAEILKFMNRK
 GNTNTSDSLMSFLESNMNKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETN
 YTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLIGIDSCVNKVVISPNITYTDEINITPVYETNNTY
 PEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNF
 SDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITG
 FVTVGDDKYYFNPIINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVGFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAID
 FTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMMQKGFVSI
 NDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGI
 LNFNNKIYYFDDSFATAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDK
 VFYFSDSGIIESGVQNIIDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSBGYKYFAPANTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGE
 DVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYF
 NENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKR
 YYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

20

30

40

配列番号 25 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原 - His-チオレドキシン-[トロニン部位]-TxB4

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSA

AAPFTMSIIKDISKEYISFNPKNKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNID
 TQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSEHIFSFEDISETDEGFSIRFINKETG
 ESIFVETEKTFSEYANHITTEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESL
 SNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSE
 TSDPLLRLQIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDY
 FKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVDISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPS
 ITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG
 EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTIALSLSQYNM
 GINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDILIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLT
 FSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFIGS
 TKEGLFVSELDPVVLISKVYMDDSKPSFGYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEK
 TIKLNSVHLDSESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESNMNKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQ
 FEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNK
 VVISPNIYDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQ
 VKIRFVNVPFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFMMV
 SGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVGFSTE
 DGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLN
 QIGDYKYYFNSDGMVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGF
 KYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLIN
 DGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFFYSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTS DGYKYFAPA
 NTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKY
 YFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNT
 LDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

10

配列番号 26 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原 - His-NusA-[トロンビン部位]-TxB3

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALATATKKKYEQEI DVRVQIDRKS GDFDTF
 RRWLVDDEVTPQTKEITLAAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMV
 DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMPLPRENFRPGDRVGRVLYSVRPEARQAQL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVEIGEEVIEIKAAARDPGSRKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAGGSMPQDDLVDISEIDFNNNSIV
 LGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFA
 WETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIV
 PIITTEYIREKLSYSFYGSGGTIALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDILIEGIL
 STLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQK
 IDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFIGSTKEGLFVSELDPVVLISKVYMDDSKPSFGYSSNNLKDV
 KVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSVHLDSESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLE
 SMNKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVE
 PNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKIN
 VNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVPFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFT
 PSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPIN
 GGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVGFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDD
 NYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVM
 KVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF
 TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFFYSDSGIIESGV
 QNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTS DGYKYFAPANTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETG
 WIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIE
 DKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVI
 IDGEEYFDPDTAQLVISE

20

30

配列番号 27 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原 - His-チオレドキシン-[トロンビン部位]-TxB3 (-hyd)

HHHHHHSHMASDKIHLTDSDFTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALVPRGSVTSLYKKAGSA
 AGGSMPQDDLVDISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQ
 KEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITT
 LKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTIALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVD
 NVVRDVTIESDKIKKGDILIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSK
 SYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFIGSTKEGLFVSELDPVVL

40

SKVYMDDSKPSFGYYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSVHLDSESGVAE
ILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESNNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIK
FNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVY
ETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVPKDKTLAN
KLSFNFSDKQDVPVSEILSFTPSYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPP
VNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVGFSTEDGFKYFAPANTLDEN
LEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVM
QKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEG
EISYSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWVKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVG
FVTINDKVFFYFSDSGHIESGVQNIDNIFYIDDNGIVQIGVFDTSBGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSG
LVRVGEDVYYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFEN
NNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLD
LDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEYFDPDTAQLVISE

10

配列番号 28 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スパーサー]-NusA-[トロロビン部位]-TxA4

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPRE
KIFEALESALATATKKKYEQIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLTVVDEVTPQTKEITLAAARYEDES
DYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAE
AVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARD
PGSRAKIAVKTNDKRDPVGACVGMARGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIV
VDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMVTDDLQAKHQAEAAHAIIDTFTKYLD
IDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADD
LLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVP
RGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTK
FILNNLKLNISSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDENLLENVSELYELKKLNNLDEKYLISFEDISK
NSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFF
IQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKQQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPVSTILD
GINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNE
LILHDKATSVMNYFNHLSSESKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLILAMEGGSGHTVT
GNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSCKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLL
DSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLVSFDFGAGGT
SLLLSSYPITNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIGNQTIDFSGDIDN
KDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYF
GAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSIS
LVSKNQVKVNGLYLNEVSYSSYLDVFKNSDGHNTSNFMNLFNDNISFWKLFGFENINVIDKYFTLV
GKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYPELYGI
DRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINLDSSSFYKRWSTEGSDFILVRYLE
ESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMIDFKDIKKLSLGYIMSNFNSFENSELDRDHLGFKIIDNKTYYYD
EDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLG
VFKGPDGFYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAI
AAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRYFYDFTDAIAFNGYKTIDGKHFFYDSDCVVKIGVFS
TSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEAAAT
GWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPN
GFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAAIHLCTI
NNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAIVYQN
KFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTI
DGKKYYFNTNTFIASGTYSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAILYQNK
LTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKYYFNTNTSIASGTYSINGKH
FYFNTDGIMQIGVFKGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTID
GNRYFFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNR
LHLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVYFFGVGVKAPGIYG.

20

30

40

配列番号 29 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスパーサー]-NusA-[トロロビン部位]-TxA4

HHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKA
LPREKIFEALESALATATKKKYEQIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLTVVDEVTPQTKEITLAAARYEDES
LNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLG
NNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAA
AARDPGSRAKIAVKTNDKRDPVGACVGMARGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPAD

VASIVVDEDEKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDTF
 TKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDN
 KPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEAS
 GALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASV
 SPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKLEPVKNIHNSIDDLIDEFNLEENVSELYELKKLNNLDEKYLISF
 EDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNT
 LNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGIPI
 VSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAInMSLSIAATVASIVGIGAETIFLLPIAGISAGIPS
 LVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLNILEMEGGS
 GHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLEND
 GTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDG
 AGGTYSLLLSSYPSTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFS
 GDIDNKDRYIFLTCELDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNNTDES
 NKYFGAISKTSQKSIHYKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSI
 DFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLFNLDNISFWKLGFGFENINVIDKY
 FTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYPE
 LYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSEFEYKWSTEGSDFILV
 RYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFNSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTY
 YYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFFYFNNDGVM
 QLGVFVKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNP
 NAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIG
 VFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAE
 AATGWQTIDGKKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGMQIGVFK
 GPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNAIAAIIH
 LCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGTVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIV
 YQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEATGWQTIDGKKYYFNLNTAEATG
 WQTIDGKKYYFNTNTFIASSTGYTSINGKHFFYFNTDGMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILY
 QNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASSTGYTII
 SGKHFFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATG
 WVTIDGNRYFFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSGNGFEYFAPANTDANNIEGQAIR
 YQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIY
 G

10

20

配列番号 30 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[直鎖スペーサー]- [トロンビン部位]-TxA4

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALATATKKKYEQEI DVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVDDEVTPQTKETLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAQL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVP EIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDEKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDTF TKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSLVPRGSGS
 AAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIG
 DYIYYEKLEPVKNIHNSIDDLIDEFNLEENVSELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSN
 GESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDV
 LNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDE
 HDPLLKKELEAKVGVLAInMSLSIAATVASIVGIGAETIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYF
 NHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLNILEMEGGS GHTVTGNIDHFFSSPSISS
 HIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWR
 RFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPSTNIN
 LSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELD
 KISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNNTDESNNKYFGAISKTSQKSIHY
 KKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGL
 YL NESVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLFNLDNISFWKLGFGFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICD
 NNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYPELYGIDRYINKVLIAPDLY
 TSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSEFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGI
 LSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFNSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININN
 SLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAP
 ANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNAIAAVGLQVIDNNKYY

30

40

FNPDTAIIISKGWQTVNGSRYFFDTDTAIAFNKYKTIDGKHFFYFSDSCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTY
 NNNIEGQAIYQSKFLTLNGKKYFFDNNSKAVTGWQTIDSKKYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYFNT
 NTAEAAATGWQTIDGKKYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANN
 IEGQAILYQNEFLTLNGKKYFFGSDSKAVTGWRIINNKKYFNPNNAAIAHLCTINNDKYFFSYDGILQ
 NGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIYQNKFLTLNGKKYFFDN
 DSKAVTGWQTIDGKKYFFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYFFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYFNTNTFIA
 STGYTSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYFFGSD
 SKAVTGLRTIDGKKYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYFNTNTSIASSTGYTIISGKHFFYFNTDGIMQIGV
 KGPDPGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLYLHDNIYFFGNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMG
 ANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLHLLGKIYFFGNNS
 KAVTGWQTINGKVYFFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 31 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 - His-NusA-[ヘリカスペーサー]-[トロンビン部位]-TxA4

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLWVDEVTPPTKEITLAAARYEDESINLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMARGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGSLVPRG
 SGSAAAPFTMIMSDLSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFIILNNKLNIE
 SSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYLKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFIN
 KSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSN
 KDVLNDLSTSVKVQLYALQFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTEGIPVSTILDGINLGAAIKE
 LLDEHDPLLKKELEAKVGVLAJNMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSV
 VNYFNHLSSESKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLNLAAMEGGSGHTVTGNIDHFFSS
 PSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPG
 KFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTTNEIRNKLSYSFSGAGGTYSLSSYPI
 STNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRIYFLTC
 ELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQK
 SIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKV
 NGLYLNESVYSSYLDVFNKSDGHHNTSNFMNLFNDNISFWKLFGENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVE
 FICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVPEIYNPDTGEDISTSLDFSYPELYGIDRYINKVLIA
 PDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNFTFHKKNINLDSSSFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKI
 RIKGILSNTQSFNKMISDFDKIKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLI
 NINNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYFFDINTGAALISYKIINGKHFFYFNDGVMQLGVFKGPDGFE
 YFAPANTQNNNIEGQAIYQSKFLTLNGKKYFFDNNSKAVTGWQTIDSKKYFNTNTAEAAATGWQTIDGKK
 YFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPAN
 TDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYFFGSDSKAVTGWRIINNKKYFNPNNAAIAHLCTINNDKYFFSY
 DGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIYQNKFLTLNGKK
 YFFDNDSKAVTGWQTIDGKKYFFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYFFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYFNT
 NTFIASSTGYTSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKY
 FGSDSKAVTGLRTIDGKKYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYFNTNTSIASSTGYTIISGKHFFYFNTDGIM
 QIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLYLHDNIYFFGNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPN
 TAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLHLLGKIYFF
 GNNSKAVTGWQTINGKVYFFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 32 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 - His-[直鎖スペーサー]-NusA-[トロンビン部位]-TxA3

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPRE
 KIFEALASALATATKKKYEQIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLWVDEVTPPTKEITLAAARYEDESINLGD
 DYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAE
 AVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARD
 PGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMARGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIV
 VDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLD
 IDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADD

LLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVP
 RGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLNIMEGGSGH
 TVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSCKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLNDGT
 RLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTTNEIRNKLSYFSDGAG
 GTYSLLLSSYPSTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGD
 IDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNK
 YFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFS
 ISLVSKNQVKVNGLYLNEVSYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFNDNISFWKLFGFENINVIDKYFTL
 VGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSIEPLY
 GIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHHKKNINLDSSSFYKRWSTEGSDFILVRY
 LEESNKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYY
 DEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKYYFDINTGAALISYKIINGKHFFYNNDGVMQL
 GVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNN
 AIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGV
 FSTSNGFYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNTNTAEAA
 ATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKG
 PNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNNAAIAHL
 CTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAIVY
 QNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGW
 QTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAILYQ
 NKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKYYFNTNTSIASTGYTIS
 GKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGW
 VTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQ
 NRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

10

配列番号 33 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスパーサー]-NusA-[トロニン部位]-TxA3

20

HHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKA
 LPREKIFEALASALATATKKKYEQIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVDVETQPTKEITLEAARYEDES
 LNLGDYVEDQIESVTFDRITTQAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLG
 NNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAFLVTRSKPEMLIELFRIEVEIGEEVIEIKA
 AARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPAD
 VASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEEHAADTF
 TKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDN
 KPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEAS
 GALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLNIME
 GSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSCKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRS
 LENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTTNEIRNKLSY
 SFDGAGGTYSLLSSYPSTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQ
 TIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYT
 DESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDNNT
 DKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNEVSYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFNDNISFWKLFGFENINV
 IDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDF
 SYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHHKKNINLDSSSFYKRWSTEGS
 DFILVRYLEESNKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKII
 DNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKYYFDINTGAALISYKIINGKHFFYFNN
 DGVMLGVLGKPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKY
 YFNPNNAAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFSDC
 VVKIGVFSTSNGFYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKYYFNT
 TNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIM
 QIGVFKGPNGFYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNN
 NAIAAHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFYFAPANTHNNNI
 EGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNLNTA
 EAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIE
 GQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKYYFNTNTSIA
 STGYTISGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNS
 KAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIE
 GQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVK
 APGIYG

30

40

配列番号 34 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 His-NusA-[直鎖スパーサー]-[トロンビン部位]-TxA3

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDES LN LGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVEIGEIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVM TVDDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSLVPRGSGS
 AAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSP
 SISHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGK
 FYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLSSYPIS
 TNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCE
 LDDKISLIIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNNTDESNNKYFGAISKTSQKSI
 IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVN
 GLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFI
 CDNNKNIDIYFGWKTSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAP
 DLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIR
 IKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLINI
 NNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFFYNNDGVMQLGVFKGPDGFYF
 APANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAAGVGLQVIDNNK
 YYFNPDTAIIKSGWQTVNGSRYFFDTDTAIAFNKYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSNGFYFAPAN
 TYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYF
 NTNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTDA
 NNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNNIAAIAHLCTINNDKYFFSYDGI
 LQNGYITERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYF
 DNDKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEATGWQTIDGKKYYFNLNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTF
 IASTGYTSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGS
 DSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGYTIISGKHFFYFNTDGIMQIG
 VFKGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTA
 MGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFYEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGN
 NSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVVDGVKAPGIYG

10

20

配列番号 35 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[ヘリカルスパーサー]-[トロンビン部位]-TxA3

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDES LN LGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVEIGEIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVM TVDDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRG
 SGSAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFF
 SSPSISHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLY
 PGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLSSY
 PISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLT
 CELDDKISLIIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNNTDESNNKYFGAISKTSQ
 KSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVK
 VNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLF GFENINVIDKYFTLVGKTNLGYV
 EFICDNNKNIDIYFGWKTSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLI
 APDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQ
 KIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKG
 LININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFFYNNDGVMQLGVFKGPDGF
 EYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAAGVGLQVID
 NNKYYFNPDTAIIKSGWQTVNGSRYFFDTDTAIAFNKYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSNGFYF
 APANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEATGWQTIDG
 KKKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFYFAP
 ANTANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNNIAAIAHLCTINNDKYYF

30

40

SYDGILQNGYITERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNG
 KKYFDNDKAVTGWQIDGKKYFNLNTAEAAATGWQIDGKKYFNLNTAEAAATGWQIDGKKYF
 NTNTFIASGTYSINGKHFFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKK
 YFGSDSKAVTGLRTIDGKKYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYFNTNTSIASGTYSINGKHFFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYFNGNSKAATGWVTIDGNRYFFE
 PNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIY
 YFGNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

**配列番号 36 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-チオレドキシン- [トロンビン部位]-
 Tx4**

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGA
 ILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIQNPQTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVG
 ALSKGQLKEFLDANLALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIP
 GLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYKLEPVKNIHNSIDDLIDEFNLLENVDEL
 YELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVN
 GNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLIS
 NAVNDTINVLPITTEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAInMSLSIAATVASIVGIG
 AEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNN
 NSIKLGTCLNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVF
 WWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIM
 PTITTNEIRNKLSYFSDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLS
 KIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRIYFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINT
 LGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDI
 NTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNEVSYSSYLDVFNKSDGHHNTSNFMNLFNLIS
 FWKLGFGFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVEPIYN
 PDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLNPNTFHKKVNLNLS
 SSFEYKWNSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNITQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSE
 NELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYDPIEFNLVTGWQTINGKKYFDINTGAALIS
 YKIINGKHFFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYFDNDKSA
 VTGWRIINNEKYFNPNNAAVGLQVIDNNKYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTI
 DGKHFFYFSDSCVVKIGVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYFDNNKAVTG
 WQIDSKKYFNTNTAEAAATGWQIDGKKYFNTNTAEAAATGWQIDGKKYFNTNTAIASTGYTIIN
 GKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNEFLTNGKKYFNGSDSKAVTGW
 RIINNKKYFNPNNAAIHLCTINNDKYFSYDGILQNGYITERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGF
 EYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYFDNDKAVTGWQIDGKKYFNLNTAEAAATGWQIDGKKYFNLNTAEAAATGWQIDGKKYFNTNTFIASGTYSINGKHFFNTDGMQIGVFKGPNNGFEY
 FAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYFNGSDSKAVTGLRTIDGKKYFNTNTAVAVTGWQTING
 KKYFNTNTSIASGTYSINGKHFFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYL
 HDNIYFNGNSKAATGWVTIDGNRYFFE
 PNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGPNNGFEYF
 APANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYFNGNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDG
 VIYFFGVDGVKAPGIYG

10

20

30

**配列番号 37 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-チオレドキシン- [トロンビン部位]-
 Tx4**

HHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGA
 ADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIQNPQTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVA
 ATKVGALSKGQLKEFLDANLALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAK
 SKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYKLEPVKNIHNSIDDLIDEFNLLN
 VDELVELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSII
 TDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQL
 VNLISNAVNDTINVLPITTEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAInMSLSIAATVA
 SIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKYGPLKTEDDKILVPIDDLVIS
 EIDFNNNSIKLGTCLNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNA
 PSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDT
 RNFIMPTITTNEIRNKLSYFSDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLI
 KDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRIYFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSN
 IEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVF
 MKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNEVSYSSYLDVFNKSDGHHNTSNFMNLFNLIS
 FLDNISFWKLGFGFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVV
 VEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLNPNTFHKKV

40

NINLDSSSFYKRWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNF
KSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDIN
TGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYY
FDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAAGVLQVIDNNKYYFNPDTAIIKSGWQTVNGSRYYFDTDTAI
AFNGYKTIDGKHFFYFSDCVVIGVVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDN
NSKAVTGWQTIIDSKYYFNTNTAEATGWQTIIDGKKYYFNTNTAEATGWQTIIDGKKYYFNTNTAIA
STGYTIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDS
KAVTGWRIINNKYYFNPNNIAAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITERNNFYFDANNESKMVTGVF
KGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIIDGKKYYFNLNTAE
ATGWQTIIDGKKYYFNLNTAEATGWQTIIDGKKYYFNTNTFIASGTYSINGKHFYFNTDGMQIGVFK
GPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVT
GWQTINGKKYYFNTNTSIASGTYSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR
YQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFK
GSGNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAA
AGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

10

**配列番号 38 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシシ- [直鎖スパーサー]- [トロンビン部位]-
Tx4**

HHHHHHSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGGSGGSGGSGG
SGGSGGSGGSGGSLVPRGSGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLL
LDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKLNNLDE
KYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHT
SQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLP
TEGIPIVSTILDGINLGAIAKELLDEHDPLLKKELEAKVGLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGIS
AGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTNCILAM
EGSGGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLR
SLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLS
YSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGN
QTIDFSGDIDNKDRIYFLTCELDKISLIEINLVAKSYLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYN
YTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVDN
NTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNEVSYSSYLDVKNSDGHHNTSNFMNLFNDISFWKLFGENIN
FVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTEGIDISTSL
DFSYPELYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVINLDSSSFYKRWST
GSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLG
FKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFY
FNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNE
KYYFNPNNIAAAGVLQVIDNNKYYFNPDTAIIKSGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYFDS
DCVVKIGVVFSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIIDSKYY
FNTNTAEATGWQTIIDGKKYYFNTNTAEATGWQTIIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGI
MQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNP
NNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNN
NIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIIDGKKYYFNLNTAEATGWQTIIDGKKYYFNLNT
AEATGWQTIIDGKKYYFNTNTFIASGTYSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIE
GQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA
STGYTIISGKHFFYFNTDGMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNS
KAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSGNGFEYFAPANTDANNIE
GQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVK
APGIYG

20

30

**配列番号 39 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシシ-[ヘリカルスパーサー]- [トロンビン部位]-
Tx4**

HHHHHHSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAKEAAA
KEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIK
TLLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKLNNL
DEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLD
HTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINV
PTITEGIPIVSTILDGINLGAIAKELLDEHDPLLKKELEAKVGLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIA
GISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSESKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTNCI

40

LAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKIMMLPNAPSRVFWWETGAVP
GLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRN
KLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLI
GNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIA
YNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYV
DNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKLFGE
NINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDIS
TSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNIINL DSSSF EYKWS
TEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHL
GFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHF
YFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLT LNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN
NEKYYFNPNNIAAAGVLQVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFFYF
DSDCVVKIGVFSTSGNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLT LNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKK
YYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNT
DGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLT LNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYY
FNPNNIAAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANT
HNNNIEGQAIVYQNKFLT LNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYF
NLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASGTYSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTH
NNNIEGQAILYQNKFLT LNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNT
NTSIASGTYSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYF
GNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSGNGFEYFAPANTD
ANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFG
VDGVKAPGIYG

10

配列番号 40 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-チオレドキシン- [トロンビン部位]-
TxA3

20

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADGA
ILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVG
ALSKGQLKEFLDANLALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDF
NNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKIMMLPNAPSR
VFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNF
IMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDV
LSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKI
NTLGLDSKNIA YNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKD
DINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYL NESVYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLF LDN
ISFWKLFGEFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPI
YNPDTGEDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNIINL
DSSSF EYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFN
SENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAA
LISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLT LNGKKYYFDND
SKAVTGWRIINNEKYYFNPNNIAAAGVLQVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNG
YKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTSGNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLT LNGKKYYFDNNSKA
VTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGY
TIINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLT LNGKKYYFGSDSKAVT
GWRIINNKYYFNPNNIAAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPN
GFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLT LNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAAATGW
QTIDGKKYYFNLNTAEAAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASGTYSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPNNG
FEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLT LNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTI
NGKKYYFNTNTSIASGTYSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNR
LYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSGNGF
EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLF
EIDGVIYFFGV DGVKAPGIYG

30

40

配列番号 41 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-チオレドキシン- [トロンビン部位]-
TxA3

HHHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKIIHLTDSDFTDVLK
ADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVA
ATKVGALSKGQLKEFLDANLALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDL
VISEIDFNNNSIKLGT CNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKIMML
PNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKL

DKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYSFDGAGGTYSLLLSSYPSTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIK
 KGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRIYFLTCELDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLIS
 NLSNIIKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAE
 DINVFMKDDINTITGKYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQKVNGLYLNEVSYSSYLDFVKNSDGHHTSN
 FMNLFLDNISFWKLFGEFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG
 RNVVVEPIYNPDTGEDISTLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTF
 HKKVNINLDSSSFYKWSSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYI
 MSNFKSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYY
 FDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGK
 KYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYFNPNNIAAAGLQVIDNNKYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDT
 DTAIAFNKYKTIDGKHFFYFSDCVVKIGVFSTNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYY
 FDNNKAVTGWQIDSKYYFNTNTAEATGWQIDGKKYYFNTNTAEATGWQIDGKKYYFNTNT
 AIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFVKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGS
 DSKAVTGWRIINNKYYFNPNNIAAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTG
 VFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQIDGKKYYFNLNTA
 EAATGWQIDGKKYYFNLNTAEATGWQIDGKKYYFNTNTFIASGTYSINGKHFYFNTDGIMQIGV
 FKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVA
 VTGWQTINGKKYYFNTNTSIASGTYSINGKHFYFNTDGIMQIGVFVKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQA
 IRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVF
 KGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMA
 AAGGLFEIDGVIYFFGVGDKAPGIYG

10

配列番号 42 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[直鎖スペーサー]-[トロンビン部位]-TxA3
 HHHHHHSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGGSGGSGGSGG
 SGGSGGSGGSGSLVPRGSGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGYCNI
 LAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVP
 GLRSLNDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKTRNFIMPTITTNEIRN
 KLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPSTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLI
 GNQTIDFSGDIDNKDRIYFLTCELDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIIKINTLGLDSKNIA
 YNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYVD
 DNNTDKSIDFSISLVSKNQKVNGLYLNEVSYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLFLDNISFWKLFGE
 NINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDIS
 TSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFYKWS
 TEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHL
 GFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHF
 YFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN
 NEKYFNPNNIAAAGLQVIDNNKYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNKYKTIDGKHFFY
 DSDCVVKIGVFSTNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQIDSKK
 YYFNTNTAEATGWQIDGKKYYFNTNTAEATGWQIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNT
 DGIMQIGVFVKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYY
 FNPNNIAAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANT
 HNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQIDGKKYYFNLNTAEATGWQIDGKKYYF
 NLNTAEATGWQIDGKKYYFNTNTFIASGTYSINGKHFYFNTDGIMQIGVFVKGPNGFEYFAPANTH
 NNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNT
 NTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFVKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYF
 GNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFVKGSNGFEYFAPANTD
 ANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFG
 VDGVKAPGIYG

20

30

配列番号 43 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[ヘリカルスペーサー]-[トロンビン部位]-
 TxA3

40

HHHHHHHSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAKEAAA
 KEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLG
 TCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETG
 AVPGLRSLNDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKTRNFIMPTITTN
 EIRNKLSSYSFDGAGGTYSLLLSSYPSTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINK
 NKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRIYFLTCELDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIIKINTLGLDS

KNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITG
 KYYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNE SVYSSYLD FVKNSDGHHTSNFMNLF LDNISFWKL
 FGFENINVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTG
 EDISTSLDFSIEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKNINL DSSSFEY
 KWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKM SIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFENSEN ELD R
 DHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIING
 KHFFYNNDGVMQLGVFKGPDGF EYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLT L NGKKYYFDNDSKAVTGW
 RIINNEKYYFNPNNIAIAVGLQVIDNNKYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKH
 FYFDSDCVVKIGVFSTSN GFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLT L NGKKYYFDNNSKAVTGWQTID
 SKKYYFNTNTAE AATGWQTIDGKKYYFNTNTAE AATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFFY
 NTDGIMQIGVFKGPN GFEYFAPANTDANNIEGQA ILYQNEFLT L NGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKK
 YYFNPNNIAIAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPN GFEYFAPA
 NTHNNNIEGQAIVYQNKFLT L NGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAE AATGWQTIDGKKY
 YFNLNTAE AATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAS TGYTSINGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPN GFEYFAPAN
 THNNNIEGQA ILYQNKFLT L NGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYF
 NTNTSIAS TGYTIISGKHFFYFNTDGIMQIGVFKGPDGF EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIY
 YFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSGNGFEYFAPANT
 DANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIIYFF
 GVDGVKAPGIYG

10

配列番号 44 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-NusA-[トロンビン部位]-TxB4

HHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPRE
 KIFEALESALATATKKKYEQ EIDVRVQIDRKSGDFDTFRRLVVD ETVTQPTKEITLEAARYEDES LNLG
 DYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAE
 AVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARD
 PGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIV
 VDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMVTVDLQAKHQA EAHAAIDFTTKYLD
 IDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQ EESLGDNKPADD
 LLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVP
 RGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEE
 KVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED SHFISFEDIS
 ETDEGFSIRFINKETGESIFVETEK TIFSEYANHITTEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAA
 FFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIAT
 IIDGVSLGAAIKELSETSDPLL RQEIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGISLVN
 NELVLRDKATKVVDYFKHVS L VETEGVFTLLDDKIMMPQDDL VISEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGS
 GHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLE
 NDGTKLDDRIRDNYEGEFYWR YFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSF
 YGSGGTALSLSQNYMGINIELSESDVWIIDVNVVRDVTIESDKIKKGD LIEGILSTLSIEENKIILNSHEI
 NFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNS ELQKNIP
 YSFVDSEKGNGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDSDKPSFGYYSNLKDVKVITKDNVNILTYG
 YLKDDIKISLSLT LQDEKTIKLSVHLDSEGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNF LQS
 NIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISST
 VINFSQKLYGIDSCVNKVVISPN IYTD EINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSN
 DGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KDKTLANKLSFNFS DKQDVPVSEIILSFTPSY YEDGLIGYDLG
 LVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKN
 YYFNQSGVLQTG VFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDG
 EMHYFSPETGKA FKLGNQIGDYKYYFNSDGVMQKG FVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFY
 AENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF TAVVGWKDLEDGS
 KYYFDED TAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKV FYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGI
 VQIGVFDTS DGYKYFAPANTVNDNIYQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYY
 FNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQ
 IGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQ
 LVISE.

20

30

40

配列番号 45 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[直鎖スペーサー]-[トロンビン部位]-TxB4

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQ EIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVD ETVTQPTKEITLEAARYEDES LNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL

FVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSLVPRGSGS
 AAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNI
 DTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKET
 GESIFVETEKTIIFSEYANHITTEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKES
 LSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELS
 ETSDDLRRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGISLVNNELVLRDKATKVVD
 YFKHVSLEVEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAP
 SITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGTKLLDRIRDNYE
 GEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSIFVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTALSLSQYN
 MGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSL
 TFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSQLKNIPYSFVDSEKENGFIG
 STKEGLFVSELDPVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDE
 KTIKLSNVHLDESQVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIG
 QFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVN
 KVVISPNITYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVS
 QVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSQKQDVPVSEILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMM
 VSGLIYINDSLYFFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVGFST
 EDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGL
 NQIGDYKYYFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFYAENGEMQIGVFNTEDG
 FKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLI
 NDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDDGYKYFAP
 ANTVDNIYGQAVEYSGLVVRGVEDVYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIK
 YFFDEKIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQN
 TLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE.

10

20

配列番号 46 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスパーサー]- [トロンビン部位]-NusA-B4

HHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKA
 LPREKIFEALASALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTRRWLVVDEVTPQTEITLEAARYEDES
 LNLGDYVEDQIESVTFDRITTQAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLG
 NNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLVSVRPEARQAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKA
 AARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPAD
 VASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDTF
 TKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDN
 KPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEAS
 GALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSS
 DIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHF
 SFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIIFSEYANHITTEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEV
 NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSE
 GLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGI
 PSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLEVEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRM
 EGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPL
 RSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSIFVPIITTEYIREKL
 SYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDIEGILSTLSIEENKIIL
 NSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSQL
 QKNIPYSFVDSEKENGFIGSTKEGLFVSELDPVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVN
 ILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSNVHLDESQVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNKSIFV
 NFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDD
 GDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNITYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIR
 YVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSQKQDVPVSEILSFTPSYYEDGL
 IGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYFFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGE
 TIIDDKNYYFNQSGVLQTVGFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVE
 WKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEID
 GKHFFYAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWK
 DLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNYF
 YIDDNGIVQIGVFDTSDDGYKYFAPANTVDNIYGQAVEYSGLVVRGVEDVYFGETYTIETGWIYDMEN

30

40

ESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFG
EDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYY
FDPDTAQLVISE

配列番号 47 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[ヘリカルスパーサー]- [トロンビン部位]-TxB4

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALATATKKKYEQIDVRVQIDRKSQDFTF
RRWLVDVDEVTPQPTKEITLAAARYEDESNLNGDYVEDQIESVTFRITTTQAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARDPGSRKIAVKTNDKRIDPVGACVGMARGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAGGSLVPRG
SGSAAAPFTMSIIKDSSKEYISFNPENKNTVKSNNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIEEEKVMLTECEINV
ISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQKNELEDSESHFISFEDISSETDEGFSIRFIN
KETGESIFVETEKIFSEYANHITTEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSS
KESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIK
ELSETSDPLLRLQEIEAKIGIMAVNLTTATTATITSSLGASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATK
VVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFF
SAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTCLLDRIRD
NYEGEFYWRYPFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTALSL
QYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGLDIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNG
FVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENG
FINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDSDSKPSFGYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLT
QDEKTIKLSNVHLDESQVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESNNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGT
TSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKLYGID
SCVNKVVISPNIYTDENITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEE
NKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIISFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINN
FGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQT
GVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGK
AFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVF
NTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWKDLEDGSKYYFDEDATAEA
YIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIIDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDG
YKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWYDMENESDKYYFNPETKKACKGI
NLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKY
FAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

10

20

配列番号 48 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スパーサー]-チオレドキシン-[トロンビン部位]-TxB4

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDLVKADG
AILVDFWAEWCPCMKMIAPILDEIADEYQGLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKV
GALSKGQLKEFLDANLALALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDSSKEYISFNPENKNTVKSNNL
PELSTLLQEIRNNSNSSDIEEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISD
ALCDLKQKNELEDSESHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKIFSEYANHITTEEISKIKGTIFDTV
NGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVE
LVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRLQEIEAKIGIMAVNLTTATTATITSSLG
IASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEI
DFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPN
APNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTCLLDRIRDNYEGEFYWRYPFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDS
NTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKK
DLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNS
NHIQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEKENG FINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDSDSKPSFGY
SNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSNVHLDESQVAEILKFMNRKGNTNTSD
SLMSFLESNNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNR
QNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVVISPNIYTDENITPVYETNNTYPEVIVLDAN
YINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNFSKQDVPV
SEIISFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDK
YYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDE
NIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFVSINDNKHYF

30

40

DDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNKKIY
YFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSG
IESGVQNIDNIFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGET
YTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQF
GYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIA
ATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

**配列番号 49 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシシ-[直鎖スペーサー]-[トロンビン部位]-
TxB4**

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLALALGGSGGSGGSGGSGG
SGGSGGSGGSGGSLVPRGSGSAAAPFTMSIHKDISKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNN
SNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELE
DSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTISEYANHITTEEISKIKGTIFDVTNGKLVKKVNLDT
THEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLL
PTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRLQIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLA
GISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKC
EIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETG
WTPGLRSLENDGTLLDRIRDNYEGEFYWRVYAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTE
YIREKLSYSFYGGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDIEGILSTLSIE
ENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKIDYIGF
NSELQKNIPYSFVDSEGKENGFGINGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDDSKPSFGYYSSNNLKDVKVITK
DNVNILTGYLKDIDIKISLSLTQDEKTIKLSNVHLDSEGVAEILKFMNRKGNNTNTSDSLMSFLESMNIK
SIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLVGNRQNMIVEPNYDL
DDSGDISSTVINFSQKYLIGIDSCVNKVVISPNIYDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDL
SIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNFSKQDQVPVSEILSFTPSYIE
DGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGA
SIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRG
AVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFVSINDNKHFFDDSGVMKVG
TEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNKKIYYFDDSFTAVV
GWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDN
NYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYD
MENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMF
YFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDG
EYFDPDTAQLVISE

10

20

**配列番号 50 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-チオレドキシシ-[トロンビン部位]-
TxB4**

HHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDLK
ADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVA
ATKVGALSKGQLKEFLDANLALALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIHKDISKEYISFNPKENKITV
SKNLPELSTLLQEIRNNNSSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLSDSINYIKDEFKLI
SISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTISEYANHITTEEISKIKGTI
FDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAA
KVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRLQIEAKIGIMAVNLTTATTAIT
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDL
VISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLML
VLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTLLDRIRDNYEGEFYWRVYAFIADALITTLKPRYEDTNIRI
NLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESD
KIKKGDIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKI
LMLNSNHQQKIDYIGFNSSELQKNIPYSFVDSEGKENGFGINGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDDSKP
SFGYYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYLKDIDIKISLSLTQDEKTIKLSNVHLDSEGVAEILKFMNRKGN
TNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTL
VGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLIGIDSCVNKVVISPNIYDEINITPVYETNNTYPEVI
VLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNFSKQDQ
QDVPVSEILSFTPSYIEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVT
VGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTG
KLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFVSIND
NKHFFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILN
FNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKV

30

40

YFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDV
YYFGETYTIETGWYIDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNE
NGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRY
FTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

**配列番号 51 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシシ-[Helical spacer]-[トロンビン部位]-
TxB4**

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAAKEAAA
KEAAAKEAAAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMSIIKDISKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEI
RNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQON
ELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKIFSEYANHITTEEISKIKGTIFDVTNGKLVKKVN
LDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAKVVVELVSTALDETI
DLLPTLSEGLPIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRLQEIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLV
PLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLEVEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNSIVL
GKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAW
ETGWTPGLRSLENDGTLLDRIRDNYEGEFYWRVYAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPII
TTEYIREKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDIEGILST
LSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKID
YIGFNSELQKNIPYSFVDSEKGKENGFIINGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDDSKPSFGYYSNLKDVK
VITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSVHLDSESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLES
MNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTLETNYTLYVGNRQNMIVP
NYDLDDSGDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVVISPNITDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINV
NINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFSKQDVPVSEILSFTF
SYIEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFFNPING
GAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDN
YRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMK
VGYTEIDGKHFFYAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDST
AVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQ
NIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETG
WYIDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIE
DKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVI
IDGEEYYFDPDTAQLVISE

10

20

**配列番号 52 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-チオレドキシシ-[トロンビン部位]-
TxB3**

HHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAAKEAAAAKEAAAAKEAAAAAGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDLK
ADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVA
ATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAGGSMPQDDLVISEIDFNNSIVLGKCEI
WRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGW
TPGLRSLENDGTLLDRIRDNYEGEFYWRVYAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYI
REKLSYSFYGSGGTALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDIEGILSTLSIEE
NKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFN
SELQKNIPYSFVDSEKGKENGFIINGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDDSKPSFGYYSNLKDVKVITKD
NVNILTGYLLKDDIKISLSLTQDEKTIKLSVHLDSESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLES
MNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTLETNYTLYVGNRQNMIVP
NYDLDDSGDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVVISPNITDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINV
NINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVN VF KD KTLANKLSFNFSKQDVPVSEILSFTF
SYIEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYFFNPING
GAASI
GETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAV
EWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEI
DGKHFFYAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSTAVVGW
KDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNY
FYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWYIDME
NESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYF
GEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIIDGEEY
YFDPDTAQLVISE

30

40

**配列番号 53 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシシ-[ヘリカルスペーサー]- [トロンビン部位]-
TxB3**

HHHHHHSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAA
 KEAAAKEAAAAAGGSLVPRGSGSAAGGSMQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVT
 DDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGKTK
 LLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGG
 TYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVNDVVRDVTIESDKIKKGDLEIGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGE
 VNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDS
 EGKENGFIGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDI
 KISLSLTLQDEKTIKLSVHLDSESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFQSNIKFILD
 ANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQ
 KYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFI
 LMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYN
 EKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQ
 SGVLQTVGFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYF
 SPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFYAENGE
 MQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWKDLEDGSKYYFDE
 DTAAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVF
 DTSDGYKYFAPANTVNDNIYQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETK
 KACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNT
 PDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

10

配列番号 54 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-チオレドキシン-[トロンビン部位]-TxB3
 HHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADGA
 ILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVG
 ALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKAGSAAGGSMQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRME
 GSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLR
 SLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLS
 YSFYGGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVNDVVRDVTIESDKIKKGDLEIGILSTLSIEENKIILN
 SHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQ
 KNIPYSFVDSEKENGFIGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNI
 LTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLSVHLDSESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNF
 LQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDI
 SSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYV
 WSNNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEILSFTPSYYEDGLIG
 YDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETI
 DDKNYYFNQSGVLQTVGFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWK
 ELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGK
 HFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWKDLE
 DGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDD
 NGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDK
 YYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGV
 MQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPD
 TAQLVISE

20

30

配列番号 55 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[直鎖スペーサー]-[トロンビン部位]-TxB3
 HHHHHHHSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGGSGGSGGSGG
 SGGSGGSGGSGGSLVPRGSGSAAGGSMQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDI
 DHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLNDGKTKLLD
 RIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYA
 LSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVNDVVRDVTIESDKIKKGDLEIGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNG
 SNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEK
 ENGFIGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISL
 SLTLQDEKTIKLSVHLDSESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFQSNIKFILDANFI
 ISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLY
 GIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMST
 SEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFY
 INNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVL

40

QTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPET
 GKAFKGLNQIGDYKYFFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFFAENGEMQIG
 VFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWVKDLEDGSKYYFDEDTAE
 AYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSD
 GYKYFAPANTVNDNIYQQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACK
 GINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTDPGF
 KYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFFTDEYIAATGSVIIDGEEYFDPDTAQLVISE

配列番号 56 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[インティン A 配列]-TxB4-His

MGSSHHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSG
 DFDTFRRWLWVDEVTPQTKITLEAARYEDESINLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAER
 AMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEA
 RGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDRIDPVGACVGMRGARV
 QAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRL
 ASQLSGWELNVMVTDDLQAKHQAEAAHAIIDFTKYLDIDEDFATVLEEGFSTLEELAYVPMKELLEIE
 GLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGNPKADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGI
 DDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALRTRVKKVKNKALAEGRIFDPVTGTTHRIEDVVD
 GRKPIHVVAANKDGTLLHARPVVSWFDDQGTDRDVLRIAGGAILWATPDHKLVEYGWRAAGELRKGD
 RVAQPRRFDGFGDSAPIPARVQALADALDDKFLHDLMAEELRYSVIREVLPTRRARTFGLEVEELHTL
 VAEGVVVHNSSPPFKQAEFGSAAAPFTMSIIKDISKEYISFNPKENKITVSKNLPSTLLQEIRNNS
 NSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED
 SHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKIFSEYANHITTEEISKIKGTIFDVTNGKLVKKVNLDTT
 HEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAKVVELVSTALDETIDLLP
 TLSEGLPIIATIDGVSGLAAIKELSETSDPLLRLQEIIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLAG
 ISAGISLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLEVEGFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEI
 WRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGW
 TPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRVYAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYI
 REKLSYSFYSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDILIEGILSTLSIEE
 NKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFN
 SELQKNIPYSFVDSEGKENGFIINGSTKEGLFVSELDPVVLISKVYMDDSKPSFGYSSNNLKDVKVITKD
 NVNILTGYLLKDDIKISLTLQDEKTIKLSVHLDSEGVAEILKFMNRKGNTNTSDLSMSFLESNNIKSI
 FVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLD
 DSGDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVVISPNYITDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLS
 IRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYED
 GLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYFFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASI
 GETIIDDKNYYFNQSGVLQTVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAV
 EWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYFFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEI
 DGKHFFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGW
 KDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFFYFSDSGIIESGVQNIDDNY
 FYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYQQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDME
 NESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYF
 GEDGVMQIGVFNTDPGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFFTDEYIAATGSVIIDGEEY
 YFDPDTAQLVISEGHHHHHH

10

20

30

配列番号 57 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[インティン BT 配列]-TxB4-His

MGSSHHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALASALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSG
 DFDTFRRWLWVDEVTPQTKITLEAARYEDESINLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAER
 AMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEA
 RGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVEPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDRIDPVGACVGMRGARV
 QAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRL
 ASQLSGWELNVMVTDDLQAKHQAEAAHAIIDFTKYLDIDEDFATVLEEGFSTLEELAYVPMKELLEIE
 GLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGNPKADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGI
 DDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALEVFGEFGSGKAFARDTEVYYENDTVPHMESIEE
 MYSKYASMNGELPFDNGYAVPLDNVVFYTLDIASGEIKKTRASYIYREKVEKLEIKLSSGYSKLVTPSH
 PVLLFRDGLQWVPAAEVKPGDVVGVREEVLRRIISKGELEFHEVSSVRIIDYNNWVYDLVIPETHNF
 IAPNGLVLHNTQLAHTLAVMGSAAPFTMSIIKDISKEYISFNPKENKITVSKNLPSTLLQEIRNNS
 NSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED
 SHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKIFSEYANHITTEEISKIKGTIFDVTNGKLVKKVNLDTT
 HEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAKVVELVSTALDETIDLLP
 TLSEGLPIIATIDGVSGLAAIKELSETSDPLLRLQEIIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLAG

40

ISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLEVETEGVFTLLDDKIMMPQDDL VISEIDFNNNSIVLGKCEI
 WRMEGGSGHTVTDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLPNAPNRVFAWETGW
 TPGLRSLENDGTKLDRIRDNYEGEFYWRIFYAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYI
 REKLSYSFYSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEE
 NKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFN
 SELQKNIPYSFVDSEGKENGFIGSTKEGLFVSELPDVLISKVYMDDSKPSFGYYSNLKDVKVITKD
 NVNILTGYLLKDDIKISLTLQDEKTIKLSVHLDSEGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSI
 FVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNLTETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLD
 DSGDISSTVINFSQKYLIDGSCVNKVVISPNITDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLS
 IRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYED
 GLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYFFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASI
 GETIIDDKNYYFNQSGVLQTVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAV
 EWKELDGMHYFSPETGKAFAKGLNQIGDYKYFFNSDGVMMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEI
 DGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSTAVVGW
 KDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVYFSDSGIIESGVQNIDDNY
 FYIDDNGIVQIGVFDTSBGYKYFAPANTVNDNIYQAVEYSGLVRVGEDVYFGETYTIETGWIYDME
 NESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYF
 GEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYFTDEYIAATGSVIDGEEY
 YFDPDTAQLVISEGHHHHH

10

配列番号 58 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 (TxA4; residues 770-2710) 発現構築物

MGSSHHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLT
 VAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALEVLFQGGGSA
 DARAKAQFEYKRNYFEGAGGSIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSP
 DTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKLNNLDEKYLISFEDI
 SKNNSTYSVRFINSGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLN
 AAFIQLSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGPIVS
 TILDGINLGAAIKELLDEHDPKKELEAKVGVLAInMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLV
 NNELILHDKATSVVNYFNHLSESCKYGLPKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCLNLAEMEGSG
 HTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDG
 TRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDRNFIMPTITTNEIRNKLVSFDDGA
 GGTYSLLLSSYPISNTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSG
 DIDNKDRYIFLTCELDDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAANYTDESNN
 KYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYVYDNNNTDKSIDF
 SISLVSKNQVKVNGLYLNEVSYSSYLDVFNKSDGHHNTSNFMNLFNDNISFWKLFGENINFVIDKYFT
 LVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGTGEDISTLDFSSEPLY
 GIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNYYEPIIIVLNPNTFHKVNINLDSSSFEYKHWSTEGSDFILVRY
 LEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMISDFDKIKLSLGYIMSNFNSFENSENELDRDHLGFKIIDNKTYYY
 DEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYFNTDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQL
 GVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIYQSKFLTNGKKYFNDNSKAVTGWRIINNEKYFNPNN
 AIAAVGLQVIDNNKYFNPDTAISKGWQTVNGSRYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFSDCCVVKIGV
 FSTSNNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIYQSKFLTNGKKYFNDNSKAVTGWQIDSKKYFNTNTAEEA
 ATGWQIDGKKYFNTNTAEEAATGWQIDGKKYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKG
 PNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYFNGSDSKAVTGWRIINNKYFNPNNIAIAIHL
 CTINNDKYYFSYDGILQNGYITERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIY
 QNKFLTNGKKYFNDNSKAVTGWQIDGKKYFNLNTAEEAATGWQIDGKKYFNLNTAEEAATGW
 QTIDGKKYFNTNTFIASSTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQ
 NKFLTNGKKYFNGSDSKAVTGLRTIDGKKYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYFNTNTSIASSTGYTIIS
 GKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGW
 VTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIYQ
 NRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

20

30

40

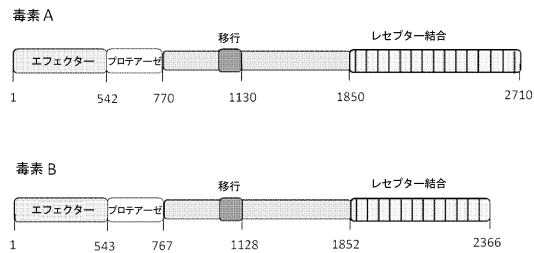
配列番号 59 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 (TxA4 切断型; residues 770-2389) 発現構築物

MGSSHHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLT
 VAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSGGSADA
 RAKAQFEYKRNYFEGAGGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLD
 ASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDLEYELKKLNNLDEKYL

ISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQ
 VNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITTE
 GIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISA
 GIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTCLILAME
 GSGGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRS
 LENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTNRFIMPTITTNEIRNKLSY
 SFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQ
 TIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIENLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAANYT
 DESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVMKDDINTITGKYYVDNNT
 DKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNEVSYSSYLDFVKNSDGHHTSNFMNLFNDNISFWKLFGEFENINNV
 IDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDF
 SYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLNPNTFHKKVNIINLDSSSFYKRWSTEGS
 DFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKLSLGYIMSNFKSFENSENELDRDHLGFKII
 DNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNN
 DGVMQLGVFKGPDGFYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKY
 YFNPNNIAAAGVLQVIDNNKYYFNPDTAIIKSGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDC
 VVKIGVFSTSNGFYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFN
 TNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIM
 QIGVFKGPNGFYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNNKYYFNP
 NAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFYFAPANTHNNNI
 EGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTA
 EAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAST

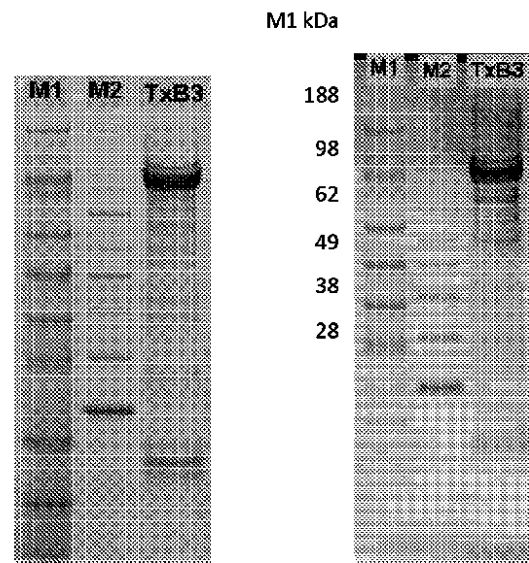
10

【図 1】



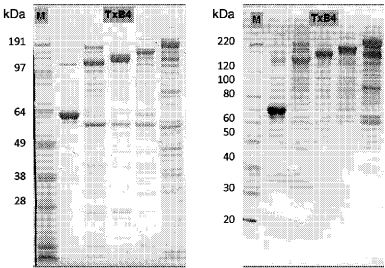
【図 2】

Figure 2



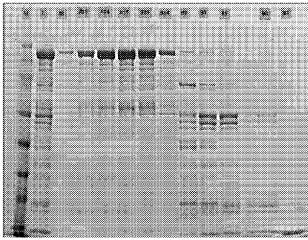
【 図 3 】

Figure 3



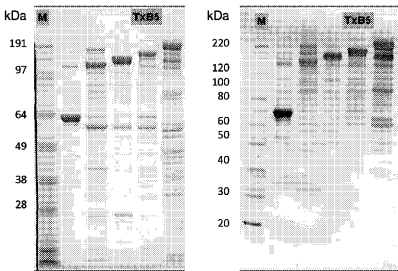
【 図 5 】

Figure 5



【 図 4 】

Figure 4



【 配 列 表 】

0006377907000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/395	D	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 K 45/00		
C 0 7 K 1/22 (2006.01)	A 6 1 P 31/04		
C 0 7 K 16/12 (2006.01)	C 0 7 K 1/22		
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 16/12		
C 1 2 N 15/31 (2006.01)	C 0 7 K 19/00		
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	C 1 2 N 15/31		
G 0 1 N 33/531 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	D	
G 0 1 N 33/569 (2006.01)	G 0 1 N 33/53	N	
	G 0 1 N 33/531	A	
	G 0 1 N 33/569	F	

(74)代理人 110001508

特許業務法人 津国

(72)発明者 ショーン, クリフォード

イギリス国、ウィルトシャー エスピー 4 0 ジェイジー、ソールズベリー、ポートン・ダウン、ヘルス・プロテクション・エージェンシー

(72)発明者 ロバーツ, エイプリル

イギリス国、ウィルトシャー エスピー 4 0 ジェイジー、ソールズベリー、ポートン・ダウン、ヘルス・プロテクション・エージェンシー

(72)発明者 アハーン, ヘレン

イギリス国、ウィルトシャー エスピー 4 0 ジェイジー、ソールズベリー、ポートン・ダウン、ヘルス・プロテクション・エージェンシー

(72)発明者 メイナード-スミス, マイケル

イギリス国、ウィルトシャー エスピー 4 0 ジェイジー、ソールズベリー、ポートン・ダウン、ヘルス・プロテクション・エージェンシー

(72)発明者 ランドン, ジョン

イギリス国、カーマーゼンシャー エスエイ 3 8 9 ビーエックス、ニューキャッスル・エムリン、ステーション・ロード・インダストリアル・エステート、マイクロファーム・リミテッド

合議体

審判長 大宅 郁治

審判官 中島 庸子

審判官 松浦 安紀子

(56)参考文献 特表 2 0 0 2 - 5 1 4 8 8 6 号公報 (J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

IPC C12N 15/00-15/90

C07K

C A p l u s / B I O S I S / E M B A S E / W P I D S (S T N)

P u b M e d

J S T P l u s / J S T 7 5 8 0 / J M E D P l u s (J D r e a m 3)