

(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 1		
C07K 14/33	(2006.01)	C07K	14/33
A61K 38/00	(2006.01)	C07K	14/33
A61K 39/02	(2006.01)	A61K	38/00
A61K 39/08	(2006.01)	A61K	39/02
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	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) 國際出願番号	PCT/GB2011/051910
(87) 國際公開番号	W02012/046061
(87) 國際公開日	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	英國 (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 エスダブリュー1エー 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】

10

20

(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； 20

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。

【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 / 又は 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 12】

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 11 記載の治療有効量のタンパク質。

【請求項 13】

治療有効量の請求項 11 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 14】

治療有効量の請求項 11 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 15】

治療有効量の請求項 14 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 16】

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 11 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 17】

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 11 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 18】

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 11 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 19】

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 18 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 20】

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 21】

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 22】

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23】

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24】

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25】

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 (CDI) 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CDI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 (CDI) 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、CDIの事例は、過去10年間で劇的に增加了。英国では2010年に21,000例のCDIがあり、関連死は2,700例を超えた。CDI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*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增幅するために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 (toxinotyping) 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60kDa領域には、毒素タイプII-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產生し、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。

【0005】

毒素Aおよび毒素B（それぞれMw 308kおよびMw 269k）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。10

【0006】

毒素Aは、毒素Aのポリペプチド配列のアミノ酸残基1851～2710に及ぶ39個の連續繰り返しユニット（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1852～2366に及ぶ、より少ないR U（19から24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15～25残基の短い繰り返し（S R）および約30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92から141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。20

【0007】

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、Rhoファミリーの低分子GTPアーゼの不活性化を必要とする。これに関して、毒素は、（UDPGルコースから）Rho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、NADからそのターゲットタンパク質上へのADP-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。30

【0008】

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20～30%は疾患の再発を被る。大きな関心が持たれるのは、2002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、PCRリボタイプ027および毒素タイプI II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CDIを引き起こす。40

【0009】

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。

【0010】

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CDI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、CDIの患者またはその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であることは、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、高くなつき、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ソイド（不活性化毒素）に変換しなければならない。10

【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の混合物を化学的の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ソイドの使用の一代替法は、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ことが、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値を產生する）こと、またはより高い抗体力値が產生される場合、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產生される）ことのいずれかである。20

【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。30

【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。40

【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。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（Tx A2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、Tx A2構築物によって提供された免疫応答の12倍であった。

【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、より重要なのは、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。

【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

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の配列のいくつかが、本明細書（例えば

10

20

30

40

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。

【 0 0 2 2 】

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。

【 0 0 2 3 】

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 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。

【 0 0 2 4 】

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 (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 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 L R 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、L R アミノ酸配列に加えて、その（隣接する）短い繰り返し (S R) 配列の一つまたは複数を含む、*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 の一つまたは複数に基づきうる。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む配列に基づく。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む配列に

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。

【0031】

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、当業者によつて容易に理解され、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。

【0032】

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544～1851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Bのアミノ酸残基544～1851のN末端切断、例えばC. difficile毒素Bのアミノ酸残基564～1851、アミノ酸残基584～1851、アミノ酸残基594～1851、アミノ酸残基614～1851、アミノ酸残基634～1851、アミノ酸残基654～1851、アミノ酸残基674～1851、アミノ酸残基694～1851、アミノ酸残基714～1851、アミノ酸残基734～1851、アミノ酸残基754～1851、アミノ酸残基767～1851、アミノ酸残基770～1851、アミノ酸残基774～1851、アミノ酸残基794～1851、アミノ酸残基814～1851、アミノ酸残基834～1851、アミノ酸残基854～1851、アミノ酸残基874～1851、アミノ酸残基894～1851、アミノ酸残基914～1851、アミノ酸残基934～1851、アミノ酸残基954～1851、アミノ酸残基974～1851、アミノ酸残基994～1851、アミノ酸残基1014～1851、アミノ酸残基1034～1851、アミノ酸残基1054～1851、アミノ酸残基1074～1851、アミノ酸残基1094～1851、アミノ酸残基1104～1851、アミノ酸残基1124～1851、アミノ酸残基1131～1851、アミノ酸残基1144～1851、アミノ酸残基1164～1851、アミノ酸残基1184～1851、アミノ酸残基1204～1851、アミノ酸残基1224～1851、アミノ酸残基1244～1851、アミノ酸残基1264～1851、アミノ酸残基1284～1851、アミノ酸残基1304～1851、アミノ酸残基1324～1851、アミノ酸残基1344～1851、アミノ酸残基1364～1851、アミノ酸残基1384～1851、アミノ酸残基1404～1851、アミノ酸残基1424～1851、アミノ酸残基1444～1851、アミノ酸残基1464～1851、またはアミノ酸残基1684～1851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543～2366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。

【0033】

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L R配列は、配列番号74、76、78および／または80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75、77、79および／または81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1852～2007）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1852～2139）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 1 8 5 1 ~ 2 2 7 3）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 1 8 5 1 ~ 2 3 6 6）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。

【 0 0 3 4 】

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

【 0 0 3 5 】

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 8 7 1 個または少なくとも 8 7 6 個または少なくとも 8 8 1 個または少なくとも 8 8 6 個または少なくとも 8 9 1 個または少なくとも 8 9 6 個または少なくとも 9 0 1 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。

【 0 0 3 6 】

一態様では、毒素 B ポリペプチドのアミノ酸残基 1 8 5 2 ~ 2 3 6 6（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 7 6 7 ~ 1 8 5 1（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

【 0 0 3 7 】

別の態様では、毒素 B ポリペプチドのアミノ酸残基 1 8 5 2 ~ 2 3 6 6（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 1 1 4 5 ~ 1 8 5 1（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。

【 0 0 3 8 】

別の態様では、毒素 B ポリペプチドのアミノ酸残基 7 6 7 ~ 2 3 6 6 または 9 5 7 ~ 2 3 6 6 または 1 1 3 8 ~ 2 3 6 6 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

【 0 0 3 9 】

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

【 0 0 4 0 】

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 1 5 0 0 ~ 1 8 5 0 から成るアミノ酸配列と少なくとも 8 0 % 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 1 8 5 2 ~ 2 3 6 6 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 8 0 % 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】

例えの一態様では、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、ここで：
30

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

を提供する。

【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に、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

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 (RcA)、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。

【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、アフィニティーコロマトグラフィー）を組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。

【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

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】

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、アフィニティー精製カラム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

10

20

30

40

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スペーサー配列
- （好ましくは特異的）プロテアーゼ配列またはインティン配列
- 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ィン配列
- 場合による第3スペーサー配列
- 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ホスト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
 - 2) 該核酸配列をホスト細胞中で発現させること
- を含む方法を提供する。

20

【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ソイド化成分で処理すること
 - 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。

40

【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vant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。

【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來の抗原、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、およびパンコマイシン耐性Enterococcus（VRE）などのEnterococcusの一つまたは複数が挙げられる。

【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。

【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

10

20

30

40

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來の抗原、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*、およびパンコマイシン耐性*Enterococcus*(V R E)などの*Enterococcus*の一つまたは複数が挙げられる。

【0075】

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。

【0076】

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免疫処置することによって作製されたものである。

【0077】

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。

【0078】

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。

【0079】

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-MDP)、N-アセチル-ノル-ムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン(CGP11637、ノル-MDP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(CGP19835A、MTP-PE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ビドA、トレハロースジミコレートおよび細胞壁骨格(MPL+TDM+CWS)を2%スクアレン/Tween80エマルション中に含有するRIBIが挙げられるが、それに限定されるわけではない。

【0080】

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。

【0081】

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

10

20

30

40

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。

【0082】

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～250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。

【0083】

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。

【0084】

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-12）、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。

【0085】

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%～10%、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。

【0086】

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カラムは、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、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IgG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IgG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。

【0087】

定義の部

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

【0088】

*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65歳よりも大きい、および入院中が挙げられる。

10

20

30

40

50

【 0 0 8 9 】

*Clostridium difficile*毒素Aは、大きさが約300kDa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<10%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270kDa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15%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、31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、繰り返しがより少ない。毒素Aの繰り返しユニットは、残基1850～2710内に含有され、毒素Bの繰り返しユニットは残基1852～2366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543～1849に基づき、毒素Bについての中央ドメインは、残基543～1851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。毒素タイプは、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。一様では、*C. difficile*毒素は、毒素タイプ0～XV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、純粹に例示的であり、本発明を限定しようとするものではない。

【 0 0 9 4 】

40

【表 101】

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	
11	033	IS58, R11402	Rupnik et al. (2001) Microbiology 147: 439-447
12	056	IS25	
13	070	R9367	
14	111	R10870	
15	122	R9385	

【0095】

「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。

【0096】

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VLC、VHC、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) VHC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VLCおよびVHCドメインから成るFvフラグメント、(v) VHC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、VLCとVHCを、合成リンクマーによって繋ぐことができ、そのリンクマーのおかげで、それらの部分を、VLCおよびVHC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 IAI-ATi-AI；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。10

【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。20

【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、参照配列に比べた被験配列（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。30

【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) 参40
50

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

【0101】

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 10、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）。

【0102】

配列同一性を決定するためのアライメントスコア

20

【0103】

【表102】

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

30

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

40

F -2 -3 -3 -2 -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 -2 -2 -1 -1 -1 -2 -1 1 5

W -3 -3 -4 -4 -2 -2 -3 -2 -2 -3 -1 1 -4 -3 -2 1 1

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

【0104】

50

次に、同一パーセントは、

【0105】

【数1】

同一のマッチの総数

$\times 100$

[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。

【0106】

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ー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。

【0107】

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

【0108】

30

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。

【0109】

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プレッサー 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有する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 Iman et al., *Methods Enzymol.* 202:301, 1991; Chung et al., *Science* 259:806-9, 1993; 10 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プレッサー 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)。 20

【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ヤ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。 30

【0112】

Reidhaar-Olson および Sauer (*Science* 241:53-7, 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、WIPO 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., *Gene* 46:145, 1986; Ner et al., *DNA* 7:127, 1988) が挙げられる。 40

【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、中和力値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のウエスタンプロット分析を示す。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のウエスタンプロット分析を示す。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のウエスタンプロット分析を示す。M = MagicMark (商標) XP 標準。
20

【図5】Tx A4の精製およびHRV3Cプロテアーゼ処理されたTx A4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Tx A4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

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 酶素混合物を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（1μl）、デスティネーションベクター（1μl）およびTE緩衝液（6μl）を1.5ml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 酶素（2μl）をマイクロ遠心チューブに加え、静かにピペット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℃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】

プロトコール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 一般プロトコール

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℃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℃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寒天上に蒔いた。プレートを37℃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TxB3の発現および精製 20

毒素B由来抗原TxB3(-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】

TxB3のN-his₆-チオレドキシン融合物を、プラスミドpDest59TxB3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(3×20 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℃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℃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(3×1 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℃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℃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℃で凍結した。 30

【0122】

(i) チオレドキシンTxB3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ス(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での溶離液の吸光度がベースラインレベル近くに戻るまで、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 m 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、トロンビン切断緩衝液(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】

(i i)チオレドキシンTxB3融合タンパク質のトロンビン消化

トロンビ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ビン(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】

(i i i) TxB3のニッケルアフィニティー精製

10

トロンビ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(トロンビン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ーリングセファロース(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(pH7.4、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プロットによっても、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

20

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 pH7.4、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。

30

【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ーリングセファロース(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戻るまで、カラムを低イミダゾール緩衝液(pH7.4、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(pH7.4、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。

40

【0127】

Nus TxB4融合タンパク質のトロンビン消化

50

タンパク質それぞれ 10 µgに、トロンビン消化緩衝液 (200 mM Tris - HCl pH 8.4、1.5 M NaCl、25 mM CaCl₂) 5 µl、トロンビン希釈緩衝液 (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ビン (Novagen) 1 µl および水を添加し、体積 50 µl 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ーリングセファロース (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戻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プ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 pDest57TxB5 を有する BL21 Star (商標) (DE3) E. coli に発現させた。100 µg/ml アンピシリンを補充した LB 培地中の一晩培養物を、100 µg/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、Sorval RC3BP 遠心分離機、ロータ H 6000 A)、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ーリングセファロース (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戻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戻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。トロンビ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ビン消化

HICカラムからプールされたタンパク質(6.9mg、3.0ml)を、1.0×トロンビン切断緩衝液(1.5ml、200mMトリス-HCl pH 8.4、1.5M塩化ナトリウム、2.5mM塩化カルシウム)、脱イオン水(1.05ml)およびヒトトロンビン(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、PMSF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

トロンビン消化物からのTxB5を2バッチで精製した。各バッチを高塩HIC緩衝液(pH 7.4、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(pH 7.4、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(pH 7.4、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(pH 7.4、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(pH 7.4、50mM HEPES、150mM塩化ナトリウム)で透析した。タンパク質約2.0mgが生成し、SDS-PAGE分析に基づくと、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およびヒツジ抗TcdBポリクローナル抗体を用いたウエスタンプロット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

5.0 μg/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、30および180rpmで一晩維持した。一晩培養物を、5.0 μg/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 P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(pH 7.5、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(pH 7.5、50mM Hepes、0.5M NaCl 20mMイミダゾール)8.5ml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-トリスピ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切斷緩衝液(2 L、pH 7.5、20 mMトリス-HCl、0.5 M NaCl)で4にて一晩透析した。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で一晩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切斷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(pET59 His6 TRXtcs 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100 ml × 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(Sorval 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 × 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-トリスピ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】

10

20

30

40

50

融合パートナーと H i s₆ - 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 T x A 4 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。

【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。

【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vant 2.6 mLと混合し、エマルションを形成させる。アジュvantとの混合は、安定なエマルシ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vant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vant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vant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。

【0146】

ヒツジ用に、抗原とフロイントアジュvantとのエマルションを、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vant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vantを使用する。各ヒツジに抗原／アジュvant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。

【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

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】

様々なりコンビナント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。

10

【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 CDT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CDT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。

20

【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胞子で口内誘発する。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。

30

【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vant（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。

40

【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vant（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%チオメルサールまたは0.01%ホルムアルデヒド）

50

を含む。

【0156】

そのようなワクチン組成は：

1. 0.5ml(例えば、吸着された本発明のフラグメント20μg)を1回皮下投与する、

2. 0.5ml(例えば、吸着された本発明のフラグメント10μg)を0および4週間目に2回投与する、

3. 0.5ml(例えば、吸着された本発明のフラグメント10μg)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
アフィニティーコ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0.5M NaClを含有する0.1M NaHCO₃, pH 8.3で透析する。1~3mg/mlタンパク質溶液約5mlにCNBr-活性化セファロース4B粉末1ml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0.1Mトリス-HCl緩衝液、pH 8.0または1M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、0.5M NaClを含有する0.1M酢酸/酢酸ナトリウム、pH 4.0を用いた洗浄に続く、0.5M NaClを含有する0.1Mトリス-HCl、pH 8.0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、0.15M NaClを含有する50mM 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カラムを調製する。毒素Bに対する抗体を精製するために、Tx B 4(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、Tx A 4(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0.5M NaClを含有する20mM 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Tx B 4が入っているカラムに適用する(ゲル1mlあたり2~6ml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0.5M NaCl緩衝液を含有する20mM 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100mM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1M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、0.15M NaClを含有する50mM HEPES pH 7.4で透析し、必要になるまで凍結保存する。

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。

【0161】

図面および表

【0162】

【表1】
0 1
6 3
3 3
モジュー
ルのレセプタ
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)	GVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQS VTGWQTINGKKYYFDINTGAALT SYKIINGKHFYFNNDGVMQL GVFKGPDPDGF EYFAPANTQNNNIEGQAIVYQS KFLTLNGKKY YFDNNNSKA V TGWRIINNEKYFFNPNNAAAVGLQVIDNNKYYFNPD T AISKGWQTVNNGSRYYFD D DTAIAF N
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)	GVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQS GYKTIDGKHFYFDSDC V K GVF STSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQS KFLTLNGKKYYFDNNNSKA V T GLQTIDSSKKYYFN TNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIAST
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)	GVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQN GYTINGKHFYFNTDGIM Q IG VF KGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQN EFLTLNGKKYYFGSDSKA V T GWRINNKKYYFN NNAAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQN
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)	GVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQN GYTIERNNNFYFDANNESKM V T GV FKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQN KFLTLNGKKYYFDNDSKA V T GWQ T IDGKKYYFN YFNLNNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAST
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)	GVFKGPNNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQN GYTSINGKHFYFNTDGIM Q I GV FKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQN KFLTLNGKKYYFGSDSKA V T GLRTIDGKKYYFN TNTAVAVTGWTINGKKYYFNTNTSIAST
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)	GVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQN GYTIISGKHFYFNTDGIM Q IG VF KGPDPDGF EYFAPANTDANNIEGQAIRYQN RFLYLHDNIYYFGNNSKA A ATGWV T IDGNRYYFE 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)	GVFKGNSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQN GYKTIDNKNFYFRNGLP Q I GV FKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQN RFLYLHDNIYYFGNNSKA V T GWQTINGKVYYFM PDTAMAAAAGGLFEIDGVYFFGV D GVVKAPGIYG

【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
【0 1 6 4】

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	GVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGAEIDFTI
モジュール1 (残基 1852-2007 = 配列番号75)	DDKYYFNPNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGAEIDFTI NIYYFDDNRYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDS GVMKV
モジュール2 LR = 配列番号76	GVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYS
モジュール2 (残基 2008-2139 = 配列番号77)	GYTEIDGKHFYFAENGEMQ IGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYS GILNFNNKYYFDDSFATTAVVG WKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSSLINDGQYYFNDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIES
モジュール3 LR = 配列番号78	GVFDTSdgkyfapantvndniyggaveys
モジュール3 (残基 2140-2273 = 配列番号79)	GVQNIDDNYYIDDNGIVQ IGVFDTSdgkyfapantvndniyggaveys GLVRVEDVYYFGETYTIETG WIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQF
モジュール4 LR = 配列番号80	GVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYI
モジュール4 (残基 2274-2366 = 配列番号81)	GYINIEDKMFYFGEDGVW QIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYI GWLDLDEKRYYFTDEYIAATG 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100μg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

【0165】

【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

20

(18週目；それぞれ100μgを5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)	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

【0166】

【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値

抗原	投与回数	免疫処置期間 (週)	毒素Bに対する中和力値 (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

【0167】

【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値

抗原	投与回数	免疫処置期間 (週)	毒素Bに対する中和力値 (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

【0168】

【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値
(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に対する中和力値 (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

10

20

30

40

50

【0169】

【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

【0170】

【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

【0171】

【表10】

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

40

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

50

【0172】

【化1】

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

MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKILTNLDEYNKLTNNNENKYLQLKLNESIDVFMNKYKTSSRNRA
 LSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFVWIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNKLWYDSEAFLVNTLK
 KAIVESSTTEALQLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPTIDDIKSHLVSE
 YNRDETVLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQELLNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLALKNFGGV
 YLDVDMPLPGIHSDFLFTISRPSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIESKS
 EKSEIFSKLENLNVSDELEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIEQVKNRYQFLNQHLPNAIESDNNFT
 DTTKIFHDSLFSATAENSMFLTKIAPYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKA
 SDLIEFKFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLEDNGVDFNKNTALDKNYLL
 NNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIQLQGDDISYEATCNLFSKNPKNSIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILE
 LNKYRIPERLKNKEVKVTFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGCNM
 FSYDFNVEETYPGKLLSIMDKITSTLPDVNKSITIGANQEYVRINSEGRKELLAHSGKWINKEEAIMS
 DLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDAVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEP
 VKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETE
 KEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNVDLNLSTSVK
 VQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKEL
 EAKGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLPIAGISAGPSLVNNELIHDKATSVVNYFNHLSESKK
 YGPLKTEDDKILVPIDDVISEIDFNNNSIKLTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYS
 AIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLSIRDLYPGKFYWRFYAFFDY
 AITTLKPVYEDTNIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSDFGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWI
 FNIDNEVREISENGTIKKGLIKDVLSKIDINKNKLIIQNGTIDFSGDIDNKRUYIFLTCELDKISLIIENLV
 AKSYSLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNAIAYNTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNI
 FYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSS
 YLDFVKNSDGHHTSNTFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFG
 EWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNY
 YSNEYYPEIIVLPNPTFHKKVNIINLDSSSFYEYKWTGSDFILVRYLEESNKKILQKIRKGILSNTQSFN
 KMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIE
 FNLTGQWQTINGKYYFDINTGAALTYSKIINGKHFYFNDGMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNI
 EGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWRINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIS
 KGWQTNGSRYYFDTDTIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQ
 AIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWRINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIS
 GWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAI
 YQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIS
 RNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVT
 GWQTIDGKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTFIASTGYTSI
 NGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGL
 RTIDGKYYFNTNTAVATGWQTINGKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDF
 EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTI
 DNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKYYFGNNSKAVTGW
 QTINGKYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

10

20

30

40

配列番号2 - *C. difficile* 毒素B(毒素タイプ0)

MSLVNRKQLEKMANVRFRTEQEDEYVAILDALLEYHNSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYIDTYKKSGRN
 KALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKDVNSDYNVNVDYFDSNAFLI
 NTLKKTVESAINDTLESFRENLNDPRFDYNKFRKRMEIYDKQKNFINYYKAQREENPELIIDDIVKTY
 LSNEYSKEIDEINTYIEESLNKITQNSGNDVRNFEEFKNGESFNLYEQELVERWNLAASDILRISALKE
 IGGMYLDVMDLPGIQPDLFESIEKPSVTDFWEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHFDMLEEVQSSFE
 SVLASKSDKSEIFSSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIIQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNP
 EDNDFNTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFDPDVKTINLSGPEAYAAAYQDLMFKEG
 SMNIIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEYKRNQFEGSLGEDDNLDFSQNI
 VVDKEYLLEKISSLARSSRGYIHYIVQLQGDKISYEACNLFAKTPYDSVLQKNIEDSEIAYYNNPGD
 GEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNTDIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKEDISPKSIEINLLGCN
 MFSYSINVEETYPGKLLKVKDKISELMPsisQDSIIVSANQYEVRISEGRRELLHSGEWINKESI
 DISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLQEIRNNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIE
 AKNLTSDSINYKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEK
 TIFSEYANHITEEISKIGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKV
 QVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIATIIDGVSLGAAIKELSETDPLLRQEI

EAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVRDKATKVVDFKHVSLVET
 EGVFTLDDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSI
 YDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGTKLDRIRDNYEgefYwRYFA
 FIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSE
 DVWIIDVDNVVRDVIESDKIKKGDLIEGILSTSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAI
 IEVDLLSKSYKLISGELKILMILNSNHQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVSEKGENGFINGSTKEGLFVS
 ELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLTLQDEKTIKLNSVHL
 DESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSMLSFESMNISIFVNFLQSNIKFILDANIFIISGTTSIGQFEFICDEN
 DNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGQRQNMIVEPNYDLDGDISSTVINFQSQKYLYGIDSCVNKKVISPNIYT
 DEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDLFILMSTSEENKVSQVKIRFNV
 FKDKTLANKLSNFNSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYIND
 SLYYFKPPVNNLITGFVTVGD
 DKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLI
 DENIYYFDDNYRGAEVWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFVSENDNKH
 YFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNN
 KIYYFDDSFTAVVGWDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGSLINDGQYYFNDGIMQVGFVTINDKFYFS
 DSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSQYKHFAPANTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGEDVYYF
 GETYTIETGWYIDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGE
 MQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINTGWLDLDEKRYYFTD
 EYIAATGSVIIDGEYYYFPDTAQLVISE

10

配列番号 3 - *C. difficile* 毒素 A (毒素タイプ 3)

MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKILTNLDEYNKLTNNNNENKYLQLKLNESIDVFMNKYKNSSRNRA
 LSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHVWIGEVSDIALEYIKQWADINAЕYNIKLWYDSEAFLVNTLK
 KAIVESSTTEALQLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPTIDDIKSHLVSE
 YNRDETLLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQELLNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGV
 YLDVDMPLPGIHSDLFKTIPRPSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIIESKS
 EKSEIFSKLENLNVSDELEKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIEQVKNRYQFLNQHLPNAIESDNNFT
 DTTKIFHDSLFSNATAENSMFLTKIAPYLQVGFMPEARSTISLSGPAYASAYDFINLQENTIEKTLKA
 SDLIEFKFPENNLSQLTEQEINSLWSFDDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDFNKNТАLDKNYLL
 NNKIPSNNVEEAGSKNYHYIQLQGDDISYEATCNLFSKNPKNSIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILE
 LNKYRPERLKNKEKVKVTFIGHKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGCNM
 FSYDFNVEETYPGKLLSIMDKITSTLPDVNKDSITIGANQYEVIRNSEGRKELAHSGKWINKEEAIMS
 DLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLDASVSPDTKFLNKLKNIESSIGDYIYYEKLEP
 VKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETE
 KEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVK
 VQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITEGIPVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKTEL
 EAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNFNHLSESKE
 YGPLKTEDDKILVPIDDLVisEIDFNNNSIKLGTNCILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIPSLSVS
 AIGIKTENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENNGTKLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDY
 AITTLKPVYEDNTKIKLKDTRNFIMPITTDEIRNKLDSYFSGAGGTYSLSSYPISMNINLSKDDLWF
 FNIDNEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIENLV
 AKSYSLLLSDGKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILE
 FYNGSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLINESVYSS
 YLDFVKNSDGHNTNSFMNLFLNNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFCDNNKNIDIYFG
 EWKTSSSKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDGEDISTSLSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNY
 YSNEYYPEIIVLPNPNTFHKVNVNINLDSSSEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFN
 KMSIDFKDIKKLSGYIMSNFNSFSENELDRDHLGFKIIDNKTYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIE
 SNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIINGKHFYFNNNGVMQLGVFKGPDPGEFYFAPANTQNNNI
 EGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGRIINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIS
 KGWQTVNGSRYYFDTDTIAFNGYKTDGKHFYFSDCVVKIGVFSGSNGFEYFAPANTYNNIEGQ
 AIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSCKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTAEAAT
 GWQTIDGKYYFNTNTSIASTGYTIINGKYFYFNTDGMQIGVFKVPGFEYFAPANTHNNNIEGQAILY
 QNKFLTLNGKKYYFGSDSKAITGWQTIDGKYYFNPNNNAIAATHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIER
 NNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTI
 WQTIIDSKYYFNLNTAVAVTGWQTIDGEKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTYIASTGYTIING
 KHFYFNTDGIMQIGVFKGPDPGEFYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTI
 DGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDPGEFYF
 APANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNK

20

30

40

NFYFRNGLPQIGVFKGPNFGEYFAPANTDANNIDGQAIRYQRFLHLLGKIYFGNNSKAVTGWQTIN
SKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVGDGVKAPGIYG

配列番号 4 - *C. difficile* 毒素 B (毒素タイプ 3)

MSLVNRKQLEKMANVRFRVQEDEYVAILDALEEHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYIDTYKKSGR
NKALKKFKEYLVTEVELKNNNLTPVEKLNLFVWIGQINDTAINYINQWVDVNSDYNVNPFYDSNAF
LINTLKKTIVESATNDTLESFRENLDPRFDYKFRKRMEEIYDKQKNFINYYKTQREENPDLIIDDIVKI
YLSNEYSKDIDELNSYIEESLNKVTENSGNDVRNFEFKGGESFKLYEQELVERWNLAASDILRISAL
KEVGGVYLDVDMPLPGIQPDLFESIEKPSSVTDFWEMVKLEAIMKYKEYIPGYTSEHFDMLDEEVQSS
FESVLASKSDKSEIFSSLGDMEAESPLEVKIAFNKGIIQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNP
AISEDNDFTTTNAFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTLNLSGPEAYAAAYQDLMF
KEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKKNYFEGSLGEDDNLDFS
QNTVV/DKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEACNLFAKTPYDSDLQKNIEDSEIAYYYN
PGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHKDEFNTDIFAGLDVDSLSTEITAIIDLAKEDISPKSIEINLL
GCNMFSYSVNVEETYPGKLLRVKDKVSELMPsisQDSIIVSANQYEVRISEGRRELLDHSGEWINK
EESIIDISKEYISFNPKENKIVKSKNLPELSTLLQEIRNNNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVV
EGRIEEAKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRFIDKETGESIF
VETEKAIFSEYANHIEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDATHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLS
VAMKVQVYAQFLSTGLNTIDAALKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSD
PLLRQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELIILRDKATKVVDFSHI
SLAESEGAFSTSDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTTDDIDHFFSAPSITYR
EPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGTKLDRIRDNYGEF
WRYFAFIADALITLKPRYEDTNIRINLDSNTRSIVPVITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMNI
NIELNENDTWVIDVDNVVRDVIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDNKIILDNHEINFOGTNGNGFVSLTF
SILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTMANSNSVQQKIDYIGLNSELQKNIPYSFMDKGKENGFINC
STKEGLFVSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKVTKDDVIIITGYYLKDDIKISLSTIQDEN
TIKNGVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSMSFLESMNKISIFINSLQSNTKLIIDTNFIISGTTSIGQ
FEFICDKDNNIQPYFIKFTLETKYTLVGNRQNMIVEPNYDLDGSDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNK
VIISPNIYTDEINITPIYEANNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILMSTDEENKVSQV
KIRFTNVFKGNTISDKISFNFSKQDVSINKVISTFTPSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVS
GLVYINDSLYYFKPPIKNLITGFTTGDDKYYFPNDNGGAASVGETIIDGKNEYFSQNGVLQTVFSTE
DGFKYFAPADTLDENLEGEAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDEVYYFSTDGRAFKGLN
QIGDDKFYFNSDGMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFK
YFAHHDEDLGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDDSTAVVGWDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIIND
GKYYFNDSGIMQIGFTINNEFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIGVFDTSQYKYFAPAN
TVNDNIYQQAIVEYGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKY
FDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDE
NFEGESINYTGWLDDKRYYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

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)

ESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSL
SIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSrvvWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYA
FFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLTSYSDGAGGTYSLSSYPISTNINLSKD
DLWIFNIDNEVREISIENGTKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLII
EINLVAKSYSLLSGDKNLYLISLNSNIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHYKKDS
KNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNES
VYSSYLDVFKNSDGHHNTSNFNLFLDNISFW/KLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNI
DIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSLSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLNI
NTNYYNSEYYPEIIVLPNTFHKKVNNLDSSSEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNT
QSFNKMISDFKDIKKLSSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKYYYDEDSKLVKGKLNINNSLFYF
DPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQN
NNIEGQAIYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAAAVGLQVIDNNKYYFNPDT
AISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTDGKHFYFDSCVVKIGVFTSNGFEYFAPANTYNNNIE
GQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTAE
AATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQ
AILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYI
TIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIYQNKFLTNGKKYYFDNDSK
AVTGWQTIDGKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTFIASTG
YTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIYQNKFLTNGKKYYFGSDSKA
VTGLRTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKG

40

PDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGAN
GYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFYLHLLGKIYYFGNNSKA
VTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVKAPGIYG

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)

ESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSL
SIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYA
FFDYAITTLKPVYEDTNIKLKDKTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYFDGAGGTYSSLSSYPISTNINLSKD
DLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLII
EINLVAKSYSLLLSDGKNYLISNLNTIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQSKSIIHYKKDS
KNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNES
VYSSYLDVFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNI
DIYFGEWKTSKKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLNI 10
NTNYYSNYYPEIIVLPNTFHKKVNLNLDSSSEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNT
QSFKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHGKFIIDNKYYYDEDSKLVKGlinINNSLFYF
DPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKIINGKHFYFNNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQ
NNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNNSKAVTGWIINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNP
TAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNI
EGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNNSKAVTGWIINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNP
AATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQ
AILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWIINNEKYYFPNNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYI
TIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDND SK
AVTGWQTIDGKYYFNLNTAEATGWQTIDGKYYFNLNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTFIASTG
YTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKA
VTGLRTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKG
PDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGAN
GYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFYLHLLGKIYYFGNNSKA
VTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVKAPGIYG 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)

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLDASVSPDTKFILNNLKLNISSIGDYIYYEKL
EPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTKNSIITDVGNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNNDVLDLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITEGIPIVSTILDGINLGAIAKELLDEHDPLLK
KELEAKVGLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVNYYFNHLSSES
KKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSI
YSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVYEDTNIKLKDKTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYFDGAGGTYSSLSSYPISTNINLSKDD
WIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLII
EINLVAKSYSLLLSDGKNYLISNLNIIKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQSKSIIHYKKDSKNI
LEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVY
SSYLDVFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNI
FGEWKTSKKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLNINT
NYYSNYYPEIIVLPNTFHKKVNLNLDSSSEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQS
FNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHGKFIIDNKYYYDEDSKLVKGlinINNSLFYFDP
IEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNN
NIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNNSKAVTGWIINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTA
IISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEG
QAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNNSKAVTGWIINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTA
ATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQA
ILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWIINNEKYYFPNNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITI
ERNNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDND SKAV 40
TGWQTIDGKYYFNLNTAEATGWQTIDGKYYFNLNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTFIASTGYTS
INGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTG
LRTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGP
FEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYK
TIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFYLHLLGKIYYFGNNNSKAVTG
WQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVKAPGIYG

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)

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKL
 EPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
 TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVNLNLSTS
 VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITIEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLK
 KELEAKGVVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVNPFNHLSES
 KEYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIPSLSV
 YSAIGIKTENLDFSKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENNGTKLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
 DYAITTLKPVYEDTNTKIKLDKTRNFIMPTITTDEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISMINLSKDD
 LWIFNIDNEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLIIIGNQTDFSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLIIEI
 NLVAKSYSLLLSDGKNYLISNLNTIEKINTLGLDSKNIAYNNTDESNNKYFGAISKTQSQKSIHYKKDSK
 NILEFYNGSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYNESV
 YSSYLDVFVNSDGHNTSNFMLFLNNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDI
 YFGEWKTSKKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDGEDISTSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININ
 TNYYNSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNIINLDSSSEFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQ
 SFNKMSIDFKDIKKLSSLGYIMSFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKYYYDEDSKLVKGLINIINNSLFYFD
 PIESNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIINGKHFYFNNNGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQN
 NNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFPNDT
 AIIKGWQTVNGSRYYFDTDTIAFNGYKTDGKHFYFDSCVVKIGVFGSNGFEYFAPANTYNNNIE
 GQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTAE
 AATGWQTIDGKKYYFNTNTSIASTGYTIINGKYFYFNTDGIMQIGVFKVPGFEYFAPANTHNNNIEGQ
 AILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAITGWQTIDGKKYYFPNNNAIAATHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYI
 TIERNNFYFDANNESKMTVGVFKPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSK
 AVTGWQTIDSKKYYFNLNTAVAVTGWQTIDGEKYYFNLNTAEATGWQTIDGKRYYFNTNTYIASTG
 YTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAV
 TGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGP
 DGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQRFLYLDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYYFEPNTAMGANG
 YKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKPNGFEYFAPANTDANNIDGQAIRYQRFLHLLGIYYFGNNSKAVT
 GWQTINSKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

10

20

30

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)

MPQDDL VISEIDFNNNSIVLGCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEEL
 DLSKDLVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGTKLDRIRDNYEgefYWRyFAFIADALITTLKPR
 YEDTNIRINLDSNTRSFIPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESVDWIIDVDNVVR
 DVTIESDKIKKGDLIEGILSTLIEENKIIILSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIIEVDLLSKSYKL
 LISGELKILMLNSNHQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDFSEGKENGFIGSTKEGLVSELPDVVLISKVY
 MDDSKPSFGYYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSSLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKF
 MNRKGNTNTSDSLSMFSLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNT
 LETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDSDGDISSTVINFQSKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETN
 NTTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLS
 FNFSQDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNN
 LITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEG
 EAIDFTGKLIIDENIYYFDDNRYRAVEWKELEDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVQMKG
 FVSINDKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEIS
 YSGILNFNNKIIYFDDSFTA V/GWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDGIMQVGFVTI
 NDKVFYFSDSGIIESGVQNIIDNMFYIIDDNGIVQIGVFTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVR
 VGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENN
 YYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDD
 EKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPTAQLVISE

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)

MPQDDL VISEIDFNNNSITLGCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEEL
 DLSKDLVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGTKLDRIRDNYEgefYWRyFAFIADALITTLKPR
 YEDTNIRINLDSNTRSFIPIVITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELNENDTWIDVDNVVR
 RDVTIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDNKIIIDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTSILEGINAVIEVDLLSKSY
 KVLISGELKTLMANNSNSVQQKIDYIGLNSELQKNIPYSFMDDKGKENGFIGSTKEGLVSELSDVVLIS
 KVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVIIITGYYLKDDIKISLSFTIQDENTIKLNGVYLDENGVAEIL
 KFMNKKGSTNTSDSLSMFSLESMNIKSIFINSLQSNTKLILDNTFIISGTTSIGQFEFICDKDNNIQPYFIKF
 NTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDSDGDISSTVINFQSKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPIYE
 NNTYPEVIVLDNYISEKINININDLSIRYVWSNDGDFILMSTDEENKVSQVKIRFTNVFKGNTISDKISF
 NFSDKQDVSIKVISTFTPSYYVEGLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYINDSLYYFKPKPIKNL

40

TGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEGE
AIDFTGKLTIDENVYFGDNYRAAIIEWQTLDEEVYYFSTDGRAFKGLNQIGDDKFYFNSDGIMQKG
VNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFYFAHHDEDLGNEEGEALSY
SGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYFYFNDSGIMQIGFVTIN
EVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVERSGLVR
GEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNH
YFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFYFAHQNTLDENFEGESINYTGWL
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)

NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLAMKVQVYAAQFLSTGLNTDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSE
GLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPPLLQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGI
PSLVNNELVLRDKATKVVDFKHSLVETEGVFTLDDKIMMPQDDLVICEIDFNNNSIVLGKCEIWRM
EGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGL
RSLENDGTKLDRIRDNYEgefYwRYFAFIADALITLPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPITTEYIREKL
SYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESVDVVIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTSIEENKII
NSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFSEL
QKNIPYSFVDSEGKENGFIGSTKEGLVSELPDVVLISKVYMDDSLPSFGYSSNNLKDVKITKDN
NILTGYYLKDDIKISLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMN
NFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFECIDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYD
GDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVIISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINV
YVWSNDGNDLFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLISFNFSDKQDVPVSEIILS
IGYDGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGE
TIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRG
WKELEDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSI
GKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDD
DLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNSDGVMQKGFVSI
YIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVERSGL
EDSKYYFN
EDGVMQIGVFNTPDGFYFAHQNTLDENFE
FDPDTAQLVISE

10

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)

NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLAMKVQVYAAQFLSTGLNTDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSE
GLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPPLLQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGIS
GIPSLVNNELILRDKATKVVDFSHISLAEGAFSTSLLDKIMMPQDDLVICEIDFNNNSITLGKCEIWR
MEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTP
GLRSLENDGTKLDRIRDNYEgefYwRYFAFIADALITLPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPITTEYIR
EKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNM
NINELNENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIENILSKL
SIEDN
KILDNHEINFSGTNGNGFVSLTSILEGINAVIEVDLLSKSYK
V
LISGELKTL
MAN
NSV
QQK
IDY
IGL
NSELQKNIPYSFMD
DDKGKENG
FINC
STKEGL
VSEL
SDV
V
LISK
V
YMD
NSKPL
FGY
CSND
LKD
V
K
V
IT
DD
VI
ILT
G
Y
Y
L
K
DD
DI
K
I
L
S
F
T
I
Q
D
E
N
T
I
K
L
G
V
Y
L
D
E
N
G
V
A
E
I
L
K
F
M
N
K
G
S
T
N
T
S
D
L
M
S
F
L
E
S
M
N
I
K
S
I
F
N
S
L
Q
S
N
T
K
L
I
L
D
T
N
F
I
I
S
G
T
T
S
I
G
Q
F
E
F
I
C
D
K
D
N
N
I
Q
P
Y
F
I
K
F
N
T
L
E
T
K
Y
T
L
Y
V
G
N
R
Q
N
M
I
V
E
P
N
Y
D
L
D
D
S
G
D
I
S
S
T
V
I
N
F
S
Q
K
Y
L
Y
G
I
D
S
C
V
N
K
V
I
I
S
P
N
I
Y
T
D
E
I
N
T
P
I
Y
E
A
N
N
T
P
E
V
I
L
D
T
N
Y
I
S
E
K
I
N
I
N
I
N
D
L
S
I
R
Y
V
W
S
N
D
G
S
D
F
I
L
M
S
T
D
E
E
N
K
V
S
Q
V
K
I
R
F
T
N
V
F
K
G
N
T
I
S
D
K
I
S
F
N
F
S
D
K
Q
D
V
S
I
N
K
V
I
S
T
F
P
S
Y
Y
V
E
G
L
L
N
Y
D
L
G
L
I
S
L
Y
N
E
K
F
Y
I
N
N
F
G
M
M
V
S
G
L
V
Y
I
N
D
S
L
Y
Y
F
K
P
P
I
K
N
L
I
T
G
F
T
I
G
D
K
Y
Y
F
N
P
D
N
G
G
A
A
S
V
G
E
T
I
D
G
K
Y
F
Y
F
A
E
N
G
E
M
Q
I
G
V
F
N
T
A
D
G
F
Y
F
A
H
H
D
E
D
L
G
N
E
E
G
E
A
L
S
Y
G
I
L
N
F
N
N
K
I
Y
Y
F
D
D
S
F
T
A
V
V
G
W
K
D
L
E
K
R
Y
Y
F
T
D
E
Y
I
A
T
G
S
V
I
I
D
G
E
E
Y
Y
F
D
P
T
A
Q
L
V
I
S
E

20

30

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)

SIIKDISSKEYISFPK
ENKITVSKNLPEL
STLLQEIRNN
NSNSDIE
LEEKV
MLTECE
INVIS
NIDTQ
I
V
EE
RI
EE
AK
NL
TS
D
S
I
N
Y
I
K
D
E
F
K
L
I
E
S
I
D
A
C
D
L
K
Q
Q
N
E
L
D
S
H
F
I
S
F
E
D
I
S
E
T
D
E
G
F
S
I
R
F
I
N
K
E
T
G
E
S
I
F
V
E
T
K
I
F
S
E
Y
A
N
H
I
T
E
I
S
K
I
G
T
I
F
D
T
V
N
G
K
L
V
K
V
N
L
D
T
T
H
E
V
N
T
L
N
A
A
F
I
Q
S
L
I
E
Y
N
S
K
E
S
L
N
S
V
A
M
K
V
Q
V
Y
A
Q
L
F
S
T
G
L
N
T
D
A
A
K
V
V
E
L
V
S
T
A
L
D
E
T
I
D
L
L
P
T
L
S
E
G
L
P
I
A
I
I
D
G
V
S
L
G
A
A
I
K
E
L
S
E
T
S
D
P
L
L

40

RQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVRDKATKVVVDYFKHVSL
 VETEGVFTLDDKIMMPQDDLVICEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREP
 HLSIYDVLEVQKEELDSLKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGTKLDRIRDNYEgefYWR
 YFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIGVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIEL
 SESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTSIEENKIIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEG
 INAIIEVDLLSKSYKLLISGEKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVSEGKENGFINSTKEGL
 FVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSSNLKDVKITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSSLQDEKTIKLNS
 VHLDESGVAEILKFMRKKGNTNTSDSMSFLESFMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANIFIISGTTSIGQFEFICD
 ENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDSDGDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVVISPN
 IYTDEINITPVYETNNTYPEEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFV
 NVFKDKTLANKLSFNFSDKQDPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYI
 NDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLTQGVFSTEDGFKY
 FAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAEVWKELDGEHYFSPETGKAFKGLNQIGDY
 KYYFNSDGMQKGFVSENDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAH
 HNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATAVGWWDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGSLINDGQY
 YFNDDGIMQMVGFTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIIDNYFYIIDDNGIVQIGVFDTSRGKYFAPANTVN
 DNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDE
 KGIMRTGLISFENNNTYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDEN
 FEGESINYTGWLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFPDTAQLVISE

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)

SIKKDISSKEYISFPNPKENKIIVKSKNLPPELSTLLQERRNNNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVVEG
 RIEEAKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFDEDILETDEGFSIRFIDKETGESIFVE
 TEKAIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDATHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVA
 MKVQVYAAQLFSTGLNTIDAALKVVELVSTALDETIDLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL
 RQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELIRDKATKVVVDYFSHISLA
 ESEGAFTSLDDKIMMPQDDLVICEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPH
 LSIYDVLEVQKEELDSLKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGTKLDRIRDNYEgefYWR
 YFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIGVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIEL
 NENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIENILSKSIEDNKIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILE
 GINAVIEVDLLSKSYKVLISGEKTLMANNSVQQKIDYIGLNSELQKNIPYSFMDDGKENGFINCSTK
 EGLFSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKITKDDVILTGYYLKDDEKISLSTSFTIQDENTIKL
 NGVYLDENGVAEILKFMNKKSTNTSDSMSFLESFMNIKSIFINSLQSNKTLIILDTNFIFIISGTTSIGQFEI
 CDKDNNIQPYFIKFNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDSDGDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVII
 PNIYTDEINITPIYEANNTYPEEVIVLDNYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRF
 TNVFKGNTISDKISFNFSDKQDVSVNKVISTFTPSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYI
 NDSLYYFKPPIKNLITGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKYYFSQNGVLTQGVFSTEDGFKY
 FAPADTLDENLEGEAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDEVYYFSTDTGRAFKGLNQIGDD
 KFYFNSDGMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYYFYAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHH
 DEDLGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDDSFATAVGWWDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGSIINDGKYYF
 NDSGIMQMVGFTINNEVYFSDSGIYESGMQNIIDNYFYIDENGLVQIGVFDTSRGKYFAPANTVNDN
 IYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENG
 IMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQMVGYLNIEDKTFYFSEDGIMQMIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGE
 SINYTGWLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFPDTAQLVISE

20

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)

NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAAQLFSTGLNTIDAALKVVELVSTALDETIDLPTLSE
 GLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLQEIKAIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGI
 PSLVNNELVRDKATKVVVDYFKHVSLETGVFTLDDKIMMPQDDLVICEIDFNNNSIVLGKCEIWRM
 EGGSHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDSLKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPL
 RSLENDGTKLDRIRDNYEgefYWRFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIGVPIITTEYIREKL
 SYSFYGSSTYALSLSQYNMGINIELSESVDWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTSIEENKII
 NSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGEKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSEL
 QKNIPYSFVSEGKENGFINSTKEGLVSELSDVVLISKVYMDNSKPSFGYYSSNLKDVKITKDN
 NILTGYYLKDDEKISLSSLQDEKTIKLNSVHLDGESVAEILKFMRKGTNTSDSMSFLESFMNIKSIFV
 NFLQSNKFIELDANIFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLD
 GDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEEVIVLDANYINEKINVNINDLS
 YVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDCTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGL
 IGYDGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLVTGWQTINGKYYFDINTGAALISYK
 IINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLNGKKYYFDNDNSKAVT

40

GWRIINNEKYYFNPNNAAAVGLQVIDNNKYYFNPDATIISKGWQTVNGSRYYFDTDATAIFNGYKTID
GKHFYFDSDCVVKIGVFSTNSGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNNSKAVTGW
QTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGK
HFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIIN
NKKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYF
APANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWQTIDGKYYFNLNTAEAATGWQTIDG
KKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFA
PANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKK
YYFNTNTSIASTGYIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHD
NIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAP
ANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYFGNNSKAUTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVI
YFFGVGDGVKAPGIYG

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)

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKL
EPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKLNLDKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVNLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLSNAVNDTINVLPITEGIPIVSTILDGINLGAIAKELLDEHDPLLK
KELEAKVGVAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSES
KKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSI
YSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYSDGAGGTYSSLSSYPISTNIINLSKDDL
WIFNIDNEVREISIENGTIKKGLIKDVLSKIDINKNKLIGNQTIDSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLIEIN
LVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNI
LEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVY
SSYLDVFVNSDGHHTSNFMNLFLDNISFWKLFGENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDY
FGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDGEDISTSLSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININT
NYYSNEYYPEIIVLPNTFHKKVNINLDSSSFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQS
FNKMSIDFKDIKKLSGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGKIIDNKYYYDEDDSLKVKGЛИNNSLFYFDP
IEFNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTAGVFTEDGFKYFAPANTLDEN
LEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVM
QKGFVSENDKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEGFKYFAHHNEDLGNEEG
EEISYSGILNFNNKIYFDDSFTA\VGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDGIMQVG
FVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFTSDGKYKTFAPANTVNDNIYGQAVEYSG
LVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISSEN
NNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWL
LDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEMYFPDPAQLVISE

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)

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKL
EPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKLNLDKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVNLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLSNAVNDTINVLPITEGIPIVSTILDGINLGAIAKELLDEHDPLLK
KELEAKVGVAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSSES
KKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSI
YSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYSDGAGGTYSSLSSYPISTNIINLSKDDL
WIFNIDNEVREISIENGTIKKGLIKDVLSKIDINKNKLIGNQTIDSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLIEIN
LVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNI
LEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVY
SSYLDVFVNSDGHHTSNFMNLFLDNISFWKLFGENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDY
FGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDGEDISTSLSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININT
NYYSNEYYPEIIVLPNTFHKKVNINLDSSSFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQS
FNKMSIDFKDIKKLSGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGKIIDNKYYYDEDDSLKVKGЛИNNSLFYFDP
IEFNLITGFVTVGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKYYFSQNGVLQTAGVFTEDGFKYFAPADTLDE
NLEGEAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIIEWQTLDEVYYFSTDGRAFKGLNQIGDDKFYFNSDGI
MQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEGFKYFAHHNEDLGNEE
GEALSYSGILNFNNKIYFDDSFTA\VGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYYFNDSGIMQIG
FVTINNEVYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIGVFTSDGKYKTFAPANTVNDNIYGQAVEYS
GLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFPETKKAYKGINVDDIKYYFDENGIMRTGLITF

30

40

EDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINTGWL
DLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEYYFDPTAQLVISE

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

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEAELESALATATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVDEVTPQTKIELEARYEDESNLGVDYVEDQIESVTDRITQTAKQVIVQKVRREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKVNRDNISLDGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAARADPGSRKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASICVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEEAHAAIDTFTKYLIDIDEFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDN
KLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEF
NLLENVSDELYELKKLNLDKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEIS
TIKNSIITDVGNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVNLDSLTSVKVQLYAQLFSTGLNTI
YDSIQLVNLSNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKGVVLAINMSLSI
AATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSeskkyGPLKTEDDKILVPID
DLVISEIDFNNNSIKLGTNCILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIM
MLPNAPSRRVFWWETGAVPGRLSLENDGTRLLSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNKI
KLDKDTRNFIIMPTITTNEIRNKLDSYSDGAGGTYSSLSSYPISTNINLSKDDWIFNIDNEVREISIENG
IKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIQNTIDFSGDIDNKRDRYIFLTCELDKISLIIENLVAKSYSLLSGDKNYL
ISNLSNIIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIA
EDINVFMKDINTITGKYYVDNNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDVFKNSDGHHNTS
NFMLFLDNISFWKLFGENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGN
GRNVVVEPIYNPDGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNT
FHKKVNINLDSSSEFEYKWSSTEGRSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMISDFKDIKKLSLGYI
MSNFKSFNSENELDRDHGLFKIIDNKYYYDEDESKLVKGlinINNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYY
FDINTGAALISYKIINGKHFYFNDGVMQLGVFKPGDFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGK
KYYFDNDSKAVTGWIINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPTAIISKGWQTVNGSRYYFDT
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGFSTSNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGS
FDNNSKAVTGWTIDSKKYYFNNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNT
AIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGS
DSKAVTGWIINNKYYFPNNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMTVG
VFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWTIDGKYYFNLNTA
EAATGWQTIDGKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTFIASTGTSINGKHFYFNTDGIMQIGV
FKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKYYFNTNTAVA
VTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDFEYFAPANTDANNIEGQA
IRYQNRFYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGV
KGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQRNRLHLLGKIYFGNNSKAVTGWTINGKVYYFMPDTAMA
AAGGLFEIDGVYFFGVVDGVKAPGIYGGGSGGSLVPRGSGGSHHHHHH

10

20

30

40

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

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEAELESALATATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVDEVTPQTKIELEARYEDESNLGVDYVEDQIESVTDRITQTAKQVIVQKVRREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKVNRDNISLDGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAARADPGSRKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASICVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEEAHAAIDTFTKYLIDIDEFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDN
KLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEF
NLLENVSDELYELKKLNLDKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEIS
TIKNSIITDVGNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVNLDSLTSVKVQLYAQLFSTGLNTI
YDSIQLVNLSNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKGVVLAINMSLSI
AATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSeskkyGPLKTEDDKILVPID
DLVISEIDFNNNSIKLGTNCILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIM
MLPNAPSRRVFWWETGAVPGRLSLENDGTRLLSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNKI
KLDKDTRNFIIMPTITTNEIRNKLDSYSDGAGGTYSSLSSYPISTNINLSKDDWIFNIDNEVREISIENG
IKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIQNTIDFSGDIDNKRDRYIFLTCELDKISLIIENLVAKSYSLLSGDKNYL
ISNLSNIIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIA

EDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLFVKNSDGHHNTS
 NFMNLFLDNISFWKLGFBENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDYFGEWKTSSSKSTIFSGN
 GRNVVVEPIYNPDTGEDISTSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYNEYYPEIIVLPNPNT
 FHKKVNIINLDSSSEFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNQSFNPKMSIDFKDIKKLSLGYI
 MSNFKSFSNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYY
 FDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGK
 KYYFDNDSKAVTGWIINNEKYYFNPNNAAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT
 DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGK
 FDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTAEATGWQTIDGKYYFNTNT
 AIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGS
 DSKAVTGWIINNKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMTG
 VFKGPNFGEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWQTIDGKYYFNLNTA
 EAATGWQTIDGKYYFNLNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGV
 FKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKYYFNTNTAVA
 VTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQA
 IRYQNRFYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVF
 KGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMA
 AAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

10

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

HHHHHHSHMASDKIILTDSDFTDVLKADGAILVDFWAECGPCKMIAPIILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLFLKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSA
 AAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGD
 YIYYEKLEPVKNIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNG
 ESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVL
 NDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLSNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDE
 HDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYF
 NHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSI
 HIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRRFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFWY
 RFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLDSYFSDGAGGTYSLSSYPISTNIN
 LSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDD
 KISLIIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIHY
 KKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGL
 YLNESVYSSYLDVKNSDGHHTNSFNMNLFLDNISFWKLGFBENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICD
 NNKNIDYFGEWKTSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLY
 TSLININTNYYNEYYPEIIVLPNTFHKKVNIINLDSSSEFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKG
 LSNTQSFNPKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININ
 SLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAP
 ANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNTAIFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTY
 NNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNTAIFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTY
 NTAEATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANN
 IEQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWIINNKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGLQ
 NGYITIERNNFYFDANNESKMTGFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFGSD
 DSKAVTGWQTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGV
 KGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMG
 ANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNN
 KAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

20

30

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

40

HHHHHHSHMASDKIILTDSDFTDVLKADGAILVDFWAECGPCKMIAPIILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLFLKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSA
 AAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSI
 SSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRRFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKF
 YWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLDSYFSDGAGGTYSLSSYPIST
 NINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCEL
 DDKISLIIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSI
 HYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKV

GLYLNESVYSSYLDVKNSDGHHTNSNFMLFLDNISFWKLGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFI
 CDNNKNIDIFYGEWKTSSSKTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAP
 DLYTSLININTNYSNEYYPEIIVLNPNFTHKVKVNINLDSSSEYKWSTEGSDFLVRYLEESNKKILQKIR
 IKGILSNTQSFKMSIDFKDIKKLQLGYIMSFKSFNSENLDRDHLGFKIENDKTYYYDEDSKLVKGKLN
 NNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNNDGMQLGVFKGPDGFYF
 APANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNTSKAVTGWRINNEKYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNK
 YYFPNDTAIIISKGWQTNGSRYYFDNTDAIAFNGYKTIDGKHFYFDSCCVKIGVFTSNGFEYFAPAN
 TYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNNSKAVTGWTIDSKKYYFNTNTAEATGWQTDGKYYF
 NTNTAEATGWQTDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPGNGFEYFAPANTDA
 NNIEGQAIVYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRINNKYYFPNNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGI
 LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPGNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYF
 DNDSKAVTGWTIDGKYYFNLNTAEATGWQTDGKYYFNLNTAEATGWQTDGKYYFNTNTF
 IASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPGNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYF
 DSKAVTGLRTIDGKYYFNTNTAVVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIG
 VFKGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTA
 MGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGN
 NSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

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

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNKALPREKIFEALESLATALATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVVDEVTPQTKETLEARYEDESNLGHDYVEDQIESVTDFRITTQTAQVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVGVLYSVRPEARQAL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIQRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLIDIDEFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLDNKPADDLNLEGVDRLAFLKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILV
 PIDDVLISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHPSLSIYSAIGIETENLDFSKK
 IMMLPNAPSRSVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNI
 KIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLDSYSDGAGGTYSSLSSYPINSTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIEN
 GTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIIGNQTDGSDIDNKKDRYIFLTCELDKISLIIENLVAKSYSSLGDK
 NYLISNLNSIIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAIKSQSKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSK
 DFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYDFVKNSDGH
 HNTSNFMNLFLDNISFWKLGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDYFGEWKTSSSKSTI
 FSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYFTSLININTNYSNEYYPEIIVL
 NPNTFHKKVNINLDSSSEYKWSTEGSDFLVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFKMSIDFKDIKKL
 SLGYIMSNFKSFNSENLDRDHLGFKIENDKTYYYDEDSKLVKGKLNINNSLFYFDPIEFNLVTGWQTING
 GKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNNDGMQLGVFKGPDGFYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTN
 YYFDNTDAIAFNGYKTIDGKHFYFDSCCVKIGVFTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTN
 GKKYYFDNNNSKAVTGWTIDSKKYYFNTNTAEATGWQTDGKYYFNTNTAEATGWQTDGKYY
 YFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPGNGFEYFAPANTDANNIEGQAIVYQNEFLTNGK
 KYYFGSDSKAVTGWRINNKYYFPNNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNE
 SKMVTGVFKGPGNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNNNSKAVTGWTIDGKYY
 FNLTAEATGWQTDGKYYFNLNTAEATGWQTDGKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGI
 MQIGVFKGPGNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKYYFNT
 NTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFYFAPANTDANN
 IEQQAIRYQNRFLYLDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLP
 QIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPD
 TAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

20

30

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

40

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNKALPREKIFEALESLATALATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVVDEVTPQTKETLEARYEDESNLGHDYVEDQIESVTDFRITTQTAQVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVGVLYSVRPEARQAL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIQRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLIDIDEFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLDNKPADDLNLEGVDRLAFLKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIKDISSKEYISNPKE

NKITVSKKNLPELSTLLQEIRNNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDFSINYIKD
 EFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISSETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEIS
 KIKGTIFDTVNGKLVKVKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLVAMKVQVYAQLFSTGLNT
 ITDAAKVVELVSTALDETIDLPLTSEGLPIATIIDGVSLGAAIKESETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTA
 TTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVRDKATKVVDFKHSVLVETEGVFTLDDKIMMP
 QDDLVISEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDL
 KDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLDRIRDNYEGERFYWRYFAFIADALITTLKPRYED
 TNIRINLDSNTRSFIGVPIITTEIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESVDWIIDVDNVVRDVT
 IESDKIKKGDLIEGILSTSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISG
 ELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSSEGKENGINGSTKEGLVSELPDVVLISKVYMDD
 SKPSFGYYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLQLQDEKTIKLNNSVHLDESGVAEILKFMNRK
 GNTNTSDSLMSFLESNIKSIFVNFLQSNKFIELDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETN
 YTLYVGNRQNMIVEPNYDLDSSGDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVISPNIYTDINITPVYETNNTY
 PEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGND FILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNF
 SDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLGLVSLYNEKFYINNGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITG
 FVTVGDDKYYFNPNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTFGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAID
 FTGKLIIDENIYYFDDNYRGAWEVKELDGEHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSI
 NDNKHYFDDSGVMKGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGI
 LNFNNKIYYFDDSFATVVGWDLLEDGSKYYFDEDTAEAYIGSLINDGQYYFNDGIMQVGFVTINDK
 VFYFSDSGIIESGVQNIDNMFYIDDNGIVQIGVFDTSRGKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGE
 DVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYF
 NENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINTGWLDLDEKR
 YYFTDEYIAATGSVIIDGEYYYFPDTAQLVISEGHHHHHHH

10

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

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFESEALESALATATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVDEVTPQPTKEITLEAARYEDESNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAQVIVQVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAL
 FVTRSKPEMLIIFRievpeigeevieikaaardpgsrakiavktndkriddpgvlgacvgmrgarvqavste
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASICDDEKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDDIDEFATVLTVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEP
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPK
 NKITVSKKNLPELSTLLQEIRNNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDFSINYIKD
 EFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISSETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEIS
 KIKGTIFDTVNGKLVKVKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLVAMKVQVYAQLFSTGLNT
 ITDAAKVVELVSTALDETIDLPLTSEGLPIATIIDGVSLGAAIKESETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTA
 TTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVRDKATKVVDFKHSVLVETEGVFTLDDKIMMP
 QDDLVISEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDL
 KDLMLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLDRIRDNYEGERFYWRYFAFIADALITTLKPRYED
 TNIRINLDSNTRSFIGVPIITTEIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESVDWIIDVDNVVRDVT
 IESDKIKKGDLIEGILSTSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISG
 ELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSSEGKENGINGSTKEGLVSELPDVVLISKVYMDD
 SKPSFGYYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLQLQDEKTIKLNNSVHLDESGVAEILKFMNRK
 GNTNTSDSLMSFLESNIKSIFVNFLQSNKFIELDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETN
 YTLYVGNRQNMIVEPNYDLDSSGDISSTVINFSQKLYGIDSCVNKVISPNIYTDINITPVYETNNTY
 PEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGND FILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNF
 SDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLGLVSLYNEKFYINNGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITG
 FVTVGDDKYYFNPNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTFGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAID
 FTGKLIIDENIYYFDDNYRGAWEVKELDGEHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSI
 NDNKHYFDDSGVMKGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGI
 LNFNNKIYYFDDSFATVVGWDLLEDGSKYYFDEDTAEAYIGSLINDGQYYFNDGIMQVGFVTINDK
 VFYFSDSGIIESGVQNIDNMFYIDDNGIVQIGVFDTSRGKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGE
 DVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYF
 NENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINTGWLDLDEKR
 YYFTDEYIAATGSVIIDGEYYYFPDTAQLVISE

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-[トロンビン部位]-TxB4

HHHHHHSHMASDKIILHTDDSFDTVLKADGAILVDFWAECGPCKMIAPIDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPLLLKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSA

AAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPTELSTLLQEIRNNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNID
 TQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKE
 ESIVFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESL
 SNLSVAMKVQVYAQQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSE
 TSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVV
 DYFKHVSLLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPS
 ITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLNPAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLDRIRDNYEG
 EFYWRWFYAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGGTYA
 ALSLSQYNM
 GINIELSESDVVIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLT
 FSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVSEGKENG
 FINGS
 TKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKITKDNVNILTGYYLKDDIKISL
 SLTQDEK
 TIKLNSVHLDESGVAEILKFMRKGNTNTSDSMSFLES
 MNIKSIFVNFLQSNIK
 FILDANFIISGTTSIGQ
 FEFICDENDNIQPYF
 IKFNTLETNYTLYVG
 NRQNMIVE
 PNYD
 LDDSGD
 ISSTV
 INF
 SQKYLY
 GIDSC
 VNK
 VV
 ISPN
 IYT
 DE
 IN
 ITP
 VY
 ET
 NN
 TPE
 V
 I
 LD
 ANY
 Y
 NE
 K
 I
 N
 V
 N
 D
 L
 S
 I
 R
 Y
 W
 S
 N
 D
 G
 N
 D
 F
 I
 L
 M
 S
 T
 S
 E
 E
 N
 K
 I
 L
 N
 S
 H
 E
 I
 N
 F
 S
 G
 E
 V
 N
 G
 S
 N
 G
 F
 V
 S
 L
 T
 F
 S
 I
 L
 E
 G
 I
 N
 A
 I
 I
 E
 V
 D
 L
 L
 S
 K
 S
 Y
 K
 L
 L
 I
 S
 G
 E
 L
 K
 I
 M
 L
 N
 S
 N
 H
 Q
 Q
 K
 I
 D
 Y
 I
 G
 F
 N
 S
 E
 L
 Q
 K
 N
 I
 P
 Y
 S
 F
 V
 D
 S
 E
 G
 K
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E
 I
 L
 K
 F
 M
 R
 K
 G
 N
 T
 N
 T
 S
 D
 S
 L
 M
 S
 F
 L
 E
 N
 G
 F
 I
 N
 G
 S
 T
 K
 E
 G
 L
 F
 V
 S
 E
 L
 P
 D
 V
 V
 L
 I
 S
 K
 V
 Y
 M
 D
 D
 S
 K
 P
 S
 F
 G
 Y
 Y
 S
 N
 N
 L
 K
 D
 E
 K
 I
 L
 S
 L
 T
 L
 Q
 D
 E
 K
 T
 I
 K
 L
 N
 S
 V
 H
 L
 D
 E
 S
 G
 V
 A
 E

SKVYMDDSKPSFGYYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTQDEKTIKLNSVHLDESGVAE
 ILKFMNRKGNTNTSDSLSMFSLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIK
 FNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDSDGDISSTVINFSSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVY
 ETNNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDLFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLAN
 KLSFNFSNDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPP
 VNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTVFSTEDGFKYFAPANTLDEN
 LEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAEVWKELEDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVM
 QKGFVSENDNKHYFDDSGVMKGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEG
 EEISYSGILNFNNKIIYYFDDSFATAVVGWVAKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDGIMQVG
 FVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSG
 LVRVGEDVYYFGETTYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFEN
 NNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWL
 DEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFPDPAQLVISE

10

配列番号 28 - 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]-Tx A4

HHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPRE
 KIFEALESLATALATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESNLG
 DYVEDQIESVTFDRITTQTAQVIVQKVRREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAE
 AVILREDMLPRENFRPGDRVGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAARD
 PGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIV
 VDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIQRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAAHAAIDTFTKYLD
 IDEDFATVLEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADD
 LLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVP
 RGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLDASVSPDTK
 FILNNLKLNIESSIGDYIYYEKEPVKNIIHNSIDDLIDEFLNLLENVSDELYELKKLNLDKEYLISFEDISK
 NSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDNGNLLDNQLDHTSQVNTLNAFF
 IQSLIDYSSNNDVLNLSLTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPVSTILD
 GINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKGVVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLV
 LIHDKATS/V/NYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIIDLVISEIDFNNNSIKLGTNCILAMEGGSGHTVT
 GNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLL
 DSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPITTNEIRNKLSDGAGGTY
 SLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIGNQTIDFSGDIDN
 KDRYIFLTCELDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSIIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYF
 GAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSIS
 LVSKNQVKVNGLYLNESYVSSYLDVKNSDGHHTNSFMNLFLDNISFWKLFGENINFVIDKYFTLV
 GKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGI
 DRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSENYYPEIIVLPNPTFHKKVNINLDSSSEYKWSTEGSDFILVRYLE
 ESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNPKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELRDHHLGFKIIDNKTYYYD
 EDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLG
 VFKGPGDFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNNSKAVTGWQTDSSKYYFNTNTAEAAAT
 GWQTIDGKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPN
 GFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNNAAIAIHLC
 NNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNNFYFDANNESKMTVGFKGPNFGEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQ
 KFLTLNGKKYYFDNDNSKAVTGWQTIDGKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKYYFNLNTAEAATGWQ
 DGKYYFNTNTFIASTGTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNFGEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNK
 LTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKH
 FYFNTDGIMQIGVFKGPGDFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLDNIIYYFGNNNSKAATGWV
 TIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQ
 NRFHLLGKIIYFGNNSKAVTGWQTINGKYYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIY.

20

30

40

配列番号 29 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-NusA-[トロンビン部位]-Tx A4

HHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKA
 LPREKIFEALESLATALATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDES
 LNLDYVEDQIESVTFDRITTQTAQVIVQKVRREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLG
 NNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKA
 AARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPAD

VASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIQRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTF
 TKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDN
 KPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIETDEKAGALIMAARNICWFGDEAS
 GALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLDASV
 SPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISF
 EDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNT
 LNAAFFIQSLIDYSSNKDVNLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLSNAVNDTINVLPITEGIPI
 VSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPS
 LVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVICEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGS
 GHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRSFWWETGAVPGLRSLEND
 GTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYFDDG
 AGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIGNQTIDFS
 GDIDNKRDRYIFLTCELDKISLIIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESN
 NKYFGAISKTSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYVVDNNNTDKSI
 DFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDVFVKNSDGHHTNSFMNLFLDNISFWKLFGENINFVIDKY
 FTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSLDFSYEP
 LYGYIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNPTFKKVNINLDSSSEYKWSTEGSDFILV
 RYLEESNKKILQKIRKGILSNTQSFNKMISDFKDIKKLSGYIMSBNFKSFNSENELDRDHLGFIIDNKTY
 YYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVM
 QLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNP
 NAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTDGKHFYFDSDCVVKG
 VFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNNSKAVTGWQTINGKKYYFNTNTAE
 AATGWQTINGKKYYFNTNTAEAATGWQTINGKKYYFNTNTAIASTGYIINGKHFYFNTDGIMQIGVFK
 GPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYFNPNNNAIAIH
 LCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMTVGFKGPNFGEYFAPANTHNNNIEGQAIV
 YQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTINGKKYYFNLNTAEAATGWQTINGKKYYFNLNTAEAATG
 WQTINGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILY
 QNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTII
 SGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFYLYHDNIIYFGNNNSKAATG
 WVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIR
 YQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAGGLFEIDGVYIYFFGVDGVKAPGI
 G

10

20

30

40

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

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNKALPREKIFESEALESALATATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVVDEVTPQTKETLEARYEDESNLGDXVEDQIESVTFDRITQTAKQVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKVKVNRDNISLDGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLSVRPEARQAL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVEIGEEVIEIKAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIQRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGSLVPRGSIG
 AAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIG
 DYIYYEKEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKS
 GESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDV
 LNLDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLSNAVNDTINVLPITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDE
 HDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSIVNNEILHDKATSVVNYF
 NHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVICEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSI
 HIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRSFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFY
 RFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYFDGAGGTYSSLSSYPISTNIN
 LSKDDLWIFNIDNEVREISENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIGNQTIDFSGDIDNKRDRYIFLTCELD
 KISLIIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKQYFGAISKTSQKSIIHY
 KKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYVVDNNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGL
 YLNESVYSSYLDVFVKNSDGHHTNSFMNLFLDNISFWKLFGENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICD
 NNKNIDIYFGEWKTSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLY
 TSLININTNYYSEYYPEIIVLPNPTFKKVNINLDSSSEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRKG
 LSNTQSFNKMISDFKDIKKLSSLGYIMSBNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYDEDSKLVKG
 SLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGP
 DGFEYFAP
 ANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNNAIAAVGLQVIDNNK
 Y

FNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDATAIFNGYKIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTY
 NNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWTIDSKKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYFNT
 NTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTIASTGYTIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTDANN
 IEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRINNKYYFPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGLQ
 NGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDN
 DSKAVTGWTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIA
 STGTSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSD
 SKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGMQIGV
 KGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMG
 ANGYKIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNN
 KAVTGWTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVGVKAPGIYG

10

配列番号 31 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 - His-NusA-[ヘリカルスペーサー]-[トロンビン部位]-Tx A4
 HHHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNKALPREKIFEAELESALATATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVDEVTPQTKETLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQAKQVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLNLEGVDRLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAGGSLVPRG
 SGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLAKSKNIPGLASISEDIKTLLDASVSPDTKFILNNLKNIE
 SSIGDYIYYEKLEPVKNIIHSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFIN
 KSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSITDVGNLNDNQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSN
 KDVNLDSLTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLSNAVNDTINVLPITEGIPIVSTILDGINLGAAIKE
 LLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSV
 VNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSS
 PSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRRVFWWEWTGAVPGRLSLENDGTRLLDSIRDLYPG
 KFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNKIKLDKDTRNFIMPITTNEIRNKLSSYFSDGAGGTYSLLSSYPI
 STNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLKDVLSKIDINKNKLIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLT
 ELDDKISLIIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQK
 SIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDSISLVSKNQVKV
 NGLYNESVYSSYLDVKNSDGHHTSNFMNLFLDNISFWKLFGENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVE
 FICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSLSDFSYEPLYGIDRYINKVIA
 PDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNPTFHKKVNINLDSSSFNEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKI
 RIKGILSNTQSFNPKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFIIDNKTYYYDEDSKLVKGLI
 NINNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNDGVMQLGVFKGPDGFE
 YFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKK
 NKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDATAIFNGYKIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAP
 ANTYNNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKK
 YYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTIASTGYTIINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPAN
 TDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRINNKYYFPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSY
 DGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKK
 YYFDNDSKAVTGWTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNT
 NTFIASTGTSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPNNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKK
 FGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGM
 QIGVFKGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPN
 TAMGANGYKIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYF
 GNNSKAVTGWTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVGVKAPGIYG

20

30

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]-Tx A3
 HHHHHHHHHGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSHMASNKEILAVVEAVSNKALPRE
 KIFEAELESALATATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTPQTKETLEAARYEDESLNLG
 DYVEDQIESVTFDRITTQAKQVIVQKVREAERAMVVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADV
 VDEDKHTMDIAVEAGNLAQQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLD
 IDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADD

40

LLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVP
 RGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGH
 TVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGT
 RLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYSDGAG
 GTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTDIFSGD
 IDNKDRYIFLTCELDKISLIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAINYTDENNNK
 YFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNNTDKSIDFS
 ISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLFVKNSDGHHTSNFMNLFLDNISFWKLGFBENINFVIDKYFTL
 VGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSLDFSYEPLY
 GIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNPTFHKKVNINLDSSSFYKWSTEGSDFILVRY
 LEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMISDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYY
 DEDSKLVGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQL
 GVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSCKYYFNTNTAEA
 AIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTDGKHFYFDSDCVVKIGV
 FSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSCKYYFNTNTAEA
 ATGWQTIDGKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKG
 PNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWIINNKYYFPNNNAIAAIHL
 CTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVY
 QNKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDGKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKYYFNLNTAEAATGW
 QTIDGKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQ
 NKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIIS
 GKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLDNIYYFGNNSKAATGW
 VTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQ
 NRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVGVKAPGIYG

10

配列番号 33 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His- [ヘリカルスペーサー]-NusA- [トロンビン部位]-TxA3

20

HHHHHHHHHHGGLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKA
 LPREKIFEALESLATATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDES
 LNLDYVEDQIESVTFDRITQTAKQVIVQKREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVN RDNISLDLG
 NNAEAVILREDMLPRENRPGDRVGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKA
 AARDPGSRAKIAVKTNDKRDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPAD
 VASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIQRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTF
 TKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDN
 KPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEAS
 GALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAME
 GGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRS
 LENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSSY
 SFDGAGGTYSLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQ
 TIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAINYT
 DESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNNT
 DKSIDSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLFVKNSDGHHTSNFMNLFLDNISFWKLGFBENINFV
 IDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDISTSLDF
 SYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNPTFHKKVNINLDSSSFYKWSTEGS
 DFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMISDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKII
 DNKTYYYDEDSKLVKGGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNN
 DGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWIINNKYYFNP
 YFNPNNAAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAII SKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTDGKHFYFDSDC
 VVKGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSCKYYFN
 TNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIM
 QIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWIINNKYYFNP
 NAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNN
 EGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDGKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKYYFNLNTA
 EAATGWQTIDGKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIE
 GQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA
 STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLDNIYYFGNN
 KAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIE
 GQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVGVK
 APGIYG

30

40

配列番号 34 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 His-NusA-[直鎖スペーサー]-[トロンビン部位]-Tx A3

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESLATATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESNLGKYVEDQIESVTDRITTQTAQKVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKVNRDNISLDGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLNLEGVDRLAFLKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGSGGSGSGSGGGSLVPRGSGS
 AAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSP
 SISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWEETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGK
 FYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLTSYSDGAGGTYSLLLSSYPIS
 TNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCE
 LDDKISLIIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLNSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSI
 IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVN
 GLYLNESVYSSYLDVKNSDGHHTNSNFMLFLDNISFWKLFGENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFI
 CDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAP
 DLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNPTFHKKVNINLDSSSFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIR
 IKGILSNTQSFNPKMSIDFKDIKKLSSLGYIMSNFKSFSNENEELDRDHLGKIIDNKYYYDEDESKLVKG
 NNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNNDGMQLGVFKGPDGFEYF
 APANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWIINNEKYYFNPNNAAIAAVGLQVIDNNK
 YYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTTAIFNGYKTDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPAN
 TYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNNSKAVTGWQTIDSCKYYFNTNTAEATGWQTIDGKYYF
 NTNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDA
 NNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWIINNKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGI
 LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYF
 DND SKAVTGWQTIDGKYYFNLNTAEATGWQTIDGKYYFNLNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTF
 IASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFG
 DSKAVTGRTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIG
 VFKGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYHDNIYYFGNNSKAATGWVITDGMRYYFEPNTA
 MGANGYKIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFG
 NSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAGGLFEIDGVIYFFGVGVKAPGIY

10

20

30

40

配列番号 35 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[ヘリカルスペーサー]-[トロンビン部位]-Tx A3

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESLATATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESNLGKYVEDQIESVTDRITTQTAQKVIVQKVREAERAMVV
 DQFREHEGEIITGVVKVNRDNISLDGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAL
 FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLNLEGVDRLAFLKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAGGSLVPRG
 SGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFF
 SSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWEETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLY
 PGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKLTSYSDGAGGTYSLLLSSY
 PISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLT
 CELDDKISLIIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLNSNIEKINTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQ
 KSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVK
 VNGLYLNESVYSSYLDVKNSDGHHTNSNFMLFLDNISFWKLFGENINFVIDKYFTLVGKTNLGYV
 EFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLI
 APDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNPTFHKKVNINLDSSSFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQ
 KIRIKGILSNTQSFNPKMSIDFKDIKKLSSLGYIMSNFKSFSNENEELDRDHLGKIIDNKYYYDEDESKLVKG
 LININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNNDGMQLGVFKGPDG
 EYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNTAIFNGYKTDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYF
 NNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTTAIFNGYKTDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYF
 APANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNTAIFNGYKTDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYF
 KKYYFNTNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAP
 ANT DANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWIINNKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYF

SYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVTGFKGPNFGEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNG
 KKYYFDNDNSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYF
 NTNTFIASTGYSINGKHFYFTNDGIMQIGVFKGPNFGEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKK
 YYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKYYFNTNTSIASTGTYIISGKHFYFNTDG
 IMQIGVFKGPDGFYEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLDNIYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFE
 PNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFYEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIY
 YFGNNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

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]-

Tx A4

HHHHHHHHGGSGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGA
 ILVDFWAECGPCKMIAPILDIADEYQGKLTVAKLNIQNPQTAPKYGIRGIPPTLLFKNGEVAATKVG
 ALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIP
 GLASISEDIKTLLDASVSPDTKFLINLNKLNIESSIGDYIYYELEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVDEL
 YELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDV
 GNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVNLSTSVDVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLIS
 NAVNDTINVLPITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAIMSLSIAATVASIVGIG
 AEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNN
 NSIKLGTCNLAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVF
 WWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIM
 PTITTNEIRNKLSSYFSDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLS
 KIDINKNKLIIGNQTIDSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLIIIEINLVAKSYSSLGDKNYLISNLSNIEKINT
 LG LDSKNIAYNYTDESNNKYGAIKSQKSIHYKKDSKNILEYFNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDI
 NTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDVFVNSDGHHTSNFMNLFLDNIS
 FWKLFGEFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIFYGEWKTSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYN
 PDTGEDISTSLEDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNTFHKKVNINLDS
 SSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMISDFKDIKKLSSLGYIMSFKSFNSE
 NELDRDHLGFIIDNKYYYDEDSDKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKYYFDINTGAALIS
 YKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFYEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKYYFDNNSKAVTG
 VTGWRIINNEKYYFNPNNAAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTI
 DGKHFYFDSDCVVKIGVfstSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKYYFDNNSKAVTG
 WQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGTYIIN
 GKHFYFNTDGMQIGVFKGPNFGEYFAPANTDANNIEGQAIYQNEFLTLNGKYYFGSDSKAVTGW
 RIINNKYYFNPNNAAIAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMTGVTGFKGPNF
 EYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTING
 DGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYSINGKHFYFNTDGMQIGVFKGPDGFYEY
 FAPANTHNNNIEGQAIYQNKFLTLNGKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTING
 KKYYFNTNTSIASTGTYIISGKHFYFNTDGMQIGVFKGPDGFYEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLY
 HDNIYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFYEY
 APANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDG
 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]-

Tx A4

HHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLK
 ADGAILVDFWAECGPCKMIAPILDIADEYQGKLTVAKLNIQNPQTAPKYGIRGIPPTLLFKNGEVA
 ATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAK
 SKNIPGLASISEDIKTLLDASVSPDTKFLINLNKLNIESSIGDYIYYELEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLL
 VSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSI
 TDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVNLSTSVDVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQL
 VNLISNAVNDTINVLPITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAIMSLSIAATVA
 SIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVIS
 EIDFNNNSIKLGTNCNLAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPN
 PSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKD
 RNFIMPTITTNEIRNKLSSYFSDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLI
 KDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDSGDIDNKDRYIFLTCELDKISLIIIEINLVAKSYSSLGDKNYLISNLSN
 IEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYGAIKSQKSIHYKKDSKNILEYFNDSTLEFNSKDFIAEDINV
 MKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDVFVNSDGHHTSNFMNL
 FLDNISFWKLFGEFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIFYGEWKTSSKSTIFSGNGRN
 VVVEPIYNPDTGEDISTSLEDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNTFHKKV

40

NINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNE
 KSFNSENELDRDHLGFIIDNKYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDIN
 TGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYY
 FDNDSKAVTGWRIINNEKYYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFPDTAISKGWQTNGSRYYFDTDIA
 AFNGYKTIDGKHFYFDSCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDN
 NSKAVTGWQTINGKFFFNTNTAEATGWQTINGKFFFNTNTAEATGWQTINGKFFFNTNTAIA
 STGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDS
 KAVTGWRIINNKYYYFPNNNAIAAIHLCTINNDKYYYFSDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVF
 KGPGNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTINGKFFFNTAVAVT
 GWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGHKFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIR
 YQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGW/TIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFK
 GSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIIYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAA
 AGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

10

**配列番号 38 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン- [直鎖スペーサー]-[トロンビン部位]-
 TxA4**

HHHHHHSHMASDKIILTDDSFDTDVLAQGAILVDFWAECGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPPTLLLKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGGSGGSGGSGG
 SGGSGGGSGGSGLVPRGSGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLAKSKNIPGLASISEDIKTLL
 LDASVSPDTKFLINNLKLNIESSIGDYIYYEKEPVKNIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDE
 KYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVGNNLDNIQLDHT
 SQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNNDVLNLDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLP
 TEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGS
 AGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAM
 EGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHSPLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLR
 SLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKL
 YSFDFGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGN
 QTIDFSGDIDNKKDRYIFLTCELDKISLIIENLVAKSYSLLLSDKKNYLISNLNSNIEKINTLGLDSKNIAYN
 YTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDN
 NTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDVKNSDGHHTNSFMNLFLDNISFWKLFGFENIN
 FVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDGEDISTSL
 DFSYEPLYGIDRYIYKVLIAPIPDLYTSLININTNYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTE
 GSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNSFKSFNSENELDRDHLG
 KIIDNKYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKINGKHFYF
 NNDGVMQLGVFKGPDGFYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNE
 KYYFPNNNAIAAVGLQVIDNNKYYFPDTAISKGWQTNGSRYYFDTDIAFNGYKTIDGKHFYFD
 DCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNNSKAVTGWQTINGKFFFNT
 FNTNTAEATGWQTINGKFFFNTNTAEATGWQTINGKFFFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDG
 MQIGVFKGPGNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKYYYFNP
 NNAIAAIHLCTINNDKYYYFSDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPGNGFEYFAPANTHNN
 NIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTINGKFFFNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA
 STGYTIISGHKFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYIHDNIYYFGNN
 KAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIE
 GQAIRYQNRFLHLLGKIIYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVK
 APGIYG

20

30

**配列番号 39 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン- [ヘリカルスペーサー]-[トロンビン部位]-
 TxA4**

40

HHHHHHSHMASDKIILTDDSFDTDVLAQGAILVDFWAECGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPPTLLLKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEEAAKEAAKEAAA
 KEAAKEAAAKAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLAKSKNIPGLASISEDIK
 TLLLDASVSPDTKFLINNLKLNIESSIGDYIYYEKEPVKNIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNL
 DEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVGNNLDNIQLD
 HTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNNDVLNLDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINV
 PTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIA
 GISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTNCI

LAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVP
 GLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRN
 KLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLKDVLSKIDINKNLII
 GNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELEDDKISLIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIA
 YNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYV
 DNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGE
 NINFVIDKYFTLVGKTNLYVEFICDNNKNIDIFYFGEWKTSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDGEDIS
 TSLSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNPTFHKKVNINLDSSSFYEYKWS
 TEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNPKMSIDFKDIKKLSSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHL
 GFKIIDNKTYYYDEDSDKLVKGKLNINNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKYYFDINTGAALISYKIINGKHF
 YFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRRIIN
 NEKYYFNPNNAAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYFDTDTAIAFNGYKTDGKHFYF
 DSDCVVKIGVFSTSGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKK
 YYFNTNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNT
 DGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWQTIDGKYYF
 FNPNNAAIAIHLCINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMTVGFKGPNGFEYFAPANT
 HNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNSKAVTGWQTIDGKYYFNLNTAEATGWQTIDGKYYF
 NLNTAEATGWQTIDGKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTH
 NNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGRLTIDGKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKYYFNT
 NTSIASTGYTISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLDNIYYF
 GNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTD
 ANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFG
 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

HHHHHHHHGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSHMASDKIILHTDDSFDTDVKA
 ILVDFWAECGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIQNPGTAPKYGIRGIP
 ALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTE
 NNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPS
 VFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLK
 IMPTITTNEIRNKLSDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEV
 REISIENGTIKKGKLKDVLSKIDINKNLII
 LSKIDINKNLIIQNTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELEDDKISLIIEINLV
 AKSYSLLSGDKNYLISNLSNIIEK
 NTLGLDSKNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFY
 NDSTLEFNSKDFIAEDINVFMK
 DINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVS
 KNQVKVNGLYLNESVYSSYLD
 FKNSDGHHNTSNFMNLFLDN
 ISFWKLF
 GFENINFVIDKYFTLVGKTNLYVEFICDNN
 KNIDIFYFGEWKTSSKSTIFSGNGRN
 VVVEPI
 YNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYY
 SEYYPEIIVLPNPTFHKKVNINL
 DSSSFYEYKWSTE
 GSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNPKMSIDFKD
 IKKLSSLGYIMS
 NFKSF
 SENELDRDH
 LGFKIIDNKTYYYDED
 SKLVKG
 LININNSLFYFD
 PIELFNL
 VTGWQTINGK
 YYFDINTGAA
 LISYKIINGKHF
 YFNNDGVMQLGVFKGP
 DGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFL
 TLNGKKYYFDN
 DS
 SKAVTGWR
 INNEKYYFNPNNAAIAAVGLQ
 VIDNNKYYF
 NPDTA
 IISKGWQTVNGS
 RYYFD
 DTDTA
 IFNG
 YKTDGKHF
 YFDSC
 VVKIGVF
 STSNGFEYF
 APANTYNNNIEGQAIVYQSKFL
 TLNGKKYYFDN
 NSKA
 VTGWQ
 TIDS
 KKYYF
 NTNTAEATGW
 QTIDGK
 YYFNTNT
 AEATGW
 QTIDGK
 YYFNT
 NTFI
 ASTGY
 TSINGKHF
 YFNTDG
 IMQIGV
 FKGP
 NGF
 EYFAP
 ANTHNNNIEGQAIVYQNKFL
 TLNGKKYYFG
 SD
 SKAV
 TGRL
 TIDGK
 YYFNT
 NTAVAV
 TGWQ
 QTIDGK
 YYFNL
 NTAEATGW
 NGK
 YYFNT
 NT
 SIA
 STGY
 TISGKHF
 YFNTDG
 IMQIGV
 FKGP
 FEYFAP
 ANT
 DANNIEGQA
 IRYQNR
 LYLHD
 NIYYFG
 NNNSKA
 ATGW
 VTIDGN
 RYYFEP
 NTAMG
 ANGYKT
 IDNKN
 FYFRN
 GLPQIGV
 FKGSNG
 EYFAP
 ANT
 DANNIEGQA
 IRYQNR
 FLHLLG
 KIYYFG
 NNNSKA
 VTGW
 QTINGKV
 YYFMP
 DTAMAAAG
 GLFEID
 DVYFFG
 VDG
 VKA
 PGIYG

30

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

40

HHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKIILHTDDSFDTDV
 ADGAILVDFWAECGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIQNPGTAPKYGIRGIP
 ATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTE
 DDKILV
 PIDDL
 VISEIDFNNNSIKLGTNCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLIYSAIGIETENLDFSKKIMML
 PNAPS
 RVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLK
 PVYEDTN
 IKIKL

DKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSSYSDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIK
 KGKLIKDVLSKIDINKNKLIIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELEDDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLIS
 NLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAE
 DINVFMKDDINTITGKYYVDNNNTDKSIDFSISLVSQNVKVNGLYLNESVSYSSYLDVFVNSDGHHTSN
 FMNLFLDNISFWKLGFENINFVIDKYFTLVGKTNGLYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSKSTIFSGNG
 RNVVVEPIYNPDGEDISTSLDSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLPNPNTF
 HKKVNIINLDSSSEFYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMISDFKDIKKLSLGYI
 MSNFKSFNSENELDRDHGLFKIENDKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYY
 FDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGK
 KYYFDNDSKAVTGRIINNEKYYFNPNNAAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRRYYFDT
 DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSCVVKIGFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYY
 FDNNSKAVTGWTIDSCKKYYFNTNTAEATGWQTDGKYYFNTNTAEATGWQTDGKYYFNTNT
 AIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGS
 DSKAVTGRIINNKYYFNPNNAAAIHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNNFYFDANNESKMTVG
 VFKGPNFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWTQTDGKYYFNLNTA
 EAATGWQTDGKYYFNLNTAEATGWQTDGKYYFNTNTFIASTGTSINGKHFYFNTDGIMQIGV
 FKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKYYFNTNTAVA
 VTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQA
 IRYQNRFYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGV
 KGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWTQTINGKVYYFMPDTAMA
 AAGGLFEIDGVYFFGVVDGVKAPGIYG

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]-Tx A3
 HHHHHHHSHMASDKIILHTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAECGPKMIAPIILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNP GTAPKYGIRGIP TLLFKN GEA V ATKVG AL SKG QL KE FLD AN LAR AL GSG GSG GSG GSG
 SGGSGGGSGGGSLVPRGSGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDL VISEIDFNNNSIKLGT CNI
 LAMEGGSGHTVTGNIHDFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNA P S R V FW WET G A VP
 GLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRN
 KLSYSDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKGKLIKDVLSKIDINKNKL
 GNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELEDDKISLIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIA
 YNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYY
 DNNTDKSIDFSISLVSQNVKVNGLYLNESVSYSSYLDVFVNSDGHHTSNFNMNLFLDNISFWKLGF
 NINFVIDKYFTLVGKTNGLYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDGEDIS
 TSLSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNPNTFHKKVNINLDSSSEFYKWS
 TEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMISDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDH
 GFKIIDNKTYYYDEDSKLVKG LININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDND SKAVTGRIIN
 NEKYYFNPNNAAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRRYYFDNTAIAFNGYKTIDGKHFYF
 DSCVVKIGFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNN SKAVTGWTQTDSSK
 YYFNTNTAEATGWQTDGKYYFNTNTAEATGWQTDGKYYFNTNTAEATGWQTDGKYYFNTNTAEATGWQTDGK
 DGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTNGKKYYFGSDSKAVTGRIINNKYY
 FNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNNFYFDANNESKMTVGFKGPNGFEYFAPANT
 HNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDND SKAVTGWTQTDGKYYFNLNTAEATGWQTDGKYYF
 NLNTAEATGWQTDGKYYFNTNTFIASTGTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTH
 NNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKYYFNTNTAVAVTGWTQTINGKKYYFNT
 NTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFL
 GNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTD
 ANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNN SKAVTGWTQTINGKVYYFMPDTAMAAGGLFEIDGVYFFG
 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]-
 Tx A3

40

HHHHHHSHMASDKIILHTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAECGPKMIAPIILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNP GTAPKYGIRGIP TLLFKN GEA V ATKVG AL SKG QL KE FLD AN LAR ALL A E A A K E A A K E A A A
 K E A A A K E A A A K A A A G G S L V P R G S G S A A P F T M E S K K Y G P L K T E D D K I L V P I D D L V I S E I D F N N N S I K L G
 T C N I L A M E G G S G H T V T G N I D H F F S S P S I S S H I P S L I Y S A I G I E T E N L D F S K K I M M L P N A P S R V F W W E T G
 A V P G L R S L E N D G T R L L D S I R D L Y P G K F Y W R F Y A F F D Y A I T T L K P V Y E D T N I K I K L D K D T R N F I M P T I T T N
 E I R N K L S Y S F D G A G G T Y S L L L S S Y P I S T N I N L S K D D L W I F N I D N E V R E I S I E N G T I K G K L I K D V L S K I D I N K
 N K L I I G N Q T I D F S G D I D N K D R Y I F L T C E L D D K I S L I I E I N L V A K S Y S L L S G D K N Y L I S N L S N I I E K I N T L G L D S

KNIAINYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITG
 KYYVDNNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDVKNSDGHHTNSFMNLFLDNISFWKL
 FGFEININFIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDGT
 EDISTSLSDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYNEYYPEIIVLPNPTFHKKVNINLDSSSFEY
 KWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNPKMSDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDR
 DHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLINIINNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIING
 KHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGW
 RIINNEKYYFNPNNAAIAAVGLQVIDNNKYYFPNDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTTAIAFNGYKTIDGKH
 FYFDSCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTGWQTD
 SKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYF
 NTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRRIINNK
 YYFPNNAAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGLQNGYITIERNNFYFDANNESKMTVGFKGPNNGFEYFAPA
 NTHNNNIEGQAIVYQNKFLTNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKY
 YFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPAN
 THNNNIEGQAILYQNKFLTNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYF
 NTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFYLHDNIY
 YFGNNSKAATGWVTTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANT
 DANNIEGQAIRYQNRFHLLLGIYYFGNNSKAUTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVYIYFF
 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

HHHHHHHHGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPRE
 KIFEALESLATALATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTPQPTKEITLEAARYEDESLNLG
 DYVEDQIESVTFDRITTQTAQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKVNRDNISLDLGNNAE
 AVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAGLQFVTRSKPEMIELFRIEVPEIGEEVIEIKAARD
 PGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIV
 VDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLD
 IDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESELDGDNKPADD
 LLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGLVP
 RGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISKEYISFNPKENKITVSKNLPPELSTLLQEIRNNNSNSSDIELEE
 KVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDIS
 ETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAA
 FFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMVQVYAQLFSTGLNTITDAKVVVLVSTALDETIDLPLTSEGLPIAT
 IIDGVSLGAAIKELSETSDPPLLQEIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVN
 NELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGS
 GHTVTTDDIHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDSLKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLE
 NDGKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIGVPIITTEYIREKLSYF
 YGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESVDVVIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGLSTLSIEENKIILNSHEI
 NFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKIDYIGFNSELQKNIP
 YSFVDSEGKENGFIGSTKEGLVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGY
 YLKDDIKISLSLTQDEKTIKLNVSHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDLSMFLESMNKSFVNFLQS
 NIKFIELDANFIISGTTSIGQFECIDENDNIQPYFKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDSSGDISST
 VINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPINIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSN
 DGNDFLMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDCTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLG
 LVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKN
 YYFNQSGVLQTTGXFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDG
 EMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYF
 AENGEMQIGVFTEDGFKYFAHHNEDLGNEESEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATVVGWWDLEDGS
 KYYFDEDATAEAYIGLSLINDGQYYFNDGIMQVGFTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIIDNYFYIDDNGI
 VQIGVFTSDGYKYFAPANTVNDNIYQQAWEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYY
 FNPKETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQ
 IGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQ
 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

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESLATALATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
 RRWLVDEVTPQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAQVIVQKVREAERAMV
 DQFREHEGEIITGVVKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARQAL

FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
 LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
 WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
 VEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDNKPADDLLNLEGVDRLAFLKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
 EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGGSGGGSGGGSGGSVPRGSGS
 AAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVSKNLPTELSTLLQEIRNNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISI
 DTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKET
 GESIFVETEKTFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKES
 LSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLPLTSEGLPIATIIDGVSLGAAIKELS
 ETSDPOLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKV
 YFKHVSLSVETEGVFLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAP
 SITYREPHLSIYDVLEVKEEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYE
 GEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIGVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQY
 MGINIELSESVDVVIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTSIEENKILNSHEINFSGEVNGSNGFVSL
 TFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDFSEGKENGFING
 STKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSSLQDE
 KTIKLNSVHLDESGVAEILKFMRKGNNTSDSLSMSFLESMNKISIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIG
 QFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDGSDISSTVNFQSQKLYGIDSCVN
 KVVISPINYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDLFILMSTSEENKVS
 QVKIRFNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMM
 VSGLIYINDSLYYFKPPVNLITGFVTVGDDKYYFPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFST
 EDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEHYFSPETGKAFKGL
 NQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSENDNKHYFDDSGVMKVGTYEIDGHFYFAENGEMQIGVFNTEDG
 FKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYFDDSFATAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLI
 NDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAP
 ANTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLDDIK
 YYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQN
 TLDENFEGESINTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPTAQLVISE.

10

20

30

40

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

HHHHHHHHHHGGSLAEAAAEEKAAAAKEAAAEEKAAAAKEAAAAKAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKA
 LPREKIFEALESLATATKKYEQEIDVVRQIDRKSGDFDTFRRLVVDEVTKPTKEITLEAARYEDES
 LNLDYVEDQIESVTDRITTQAKQVIVQKVRREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKVNRDNISLDLG
 NNAEAVLREDMLPRENRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKA
 AARDPGSRAKIAVKTNKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPAD
 VASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTF
 TKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEEESLGDN
 KPADDLLNLEGVDRLAFLKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEAS
 GALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVSKNLPTELSTLLQEIRNNNSSS
 DIELEEKVMLTECEINVISI DTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHF
 SFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEV
 NTLNAFFIQSLIEYNSSKESLSNLVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLPLTSE
 GLPIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPOLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGI
 PSLVNNELVLRDKATKVVDFKHVSLSVETEGVFLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRM
 EGGSGHTVTDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMLVLPNAPNRVFAWETGWTPGL
 RSLENDGTKLLDRIRDNYEgefYwryfafiadalttkpryedtnirinldsntrsfigvpiitteyirekl
 SYSFYGSGGTYALSLSQYNGMINIELSESVDVVIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTSIEENKIL
 NSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKIDYIGFNSEL
 QKNIPYSFVDFSEGKENGINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSSNNLKDVKVITKDN
 NILTGYYLKDDIKISLSSLQDEKTILNSVHLDESGVAEILKFMRKGNNTSDSLSMSFLESMNKISIFV
 NFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFECIDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLD
 GDISSTVNFQSQKLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIR
 YVWSNDGNDLFILMSTSEENKVSQVKIRFNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGL
 IGYDGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNLITGFVTVGDDKYYFPINGGAASIGE
 TIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVE
 WKELDGEHYFSPETGKAFKGLNQIDYKYYFNSDGVMQKGFVSENDNKHYFDDSGVMKVGTYEID
 GKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYFDDSFATAVVGW
 DLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNID
 YIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMEN

ESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFG
EDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYY
FDPDTAQLVISE

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

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESLATALATKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTPQPTKEITLEAARYEDESNLGDYVEDQIESVTDRITTQTAQVIVQKVREAERAMV
DQFREHEGEIITGVVKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVGVLYSVRPEARQAL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAARADPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LggeridivlwddnPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIQRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAHKQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLNLEGVDRLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEEAAKEAAKEAAKEAAKEAAKAAGGSLVPRG
SGSAAAFTMSIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNNSNSSDIELEEKVMLTECEINV
ISNIIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFIN
KETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSS
KESLSNLSVAMKVQVYAQQLFSTGLNTITDAKVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIATIIDGVSLGAAIK
ELSETSPLLQEIIEAKIGIMAVNLTTATTAAITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATK
VVDFKHSVLSVETEGVFTLLDKIMMPQDDLVICEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFF
SAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDSLKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLDRIRD
NYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLS
QYNMGINIELSESDVVIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNG
FVSLTFSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMNSNHQQKIDYIGFNFSELQKNIPYSFVDSEGKENG
FINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVTKDNVNILTGYYLKDDIKISLSTL
QDEKTIKLNLSVHLDESGVAEILKFMRKGNTNTSDSMSFLESMMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGT
TSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFTLETNTLYVGMRQNMIVEPNYDLDSDGDISSTVINFQSYKLYGID
SCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDLFILMSTSEE
NKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINN
FGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQT
GVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAWEVKELDGEMHYFSPETGK
AFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSENDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVF
NTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSTAVVWKDLEDGSKYYFDEDTAEA
YIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFTINDKFYFSDSGIIIESGVQNIDDNYFYIDDDNGIVQIGVFDTSDG
YKYFAPANTVNDNIYQGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETTYIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGI
NLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKY
FAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 48 - 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]-TxB4

HHHHHHHHHHGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGGSHMASDKIIHLTDSDFTDVLKADG
AILVDFWAECGPKCMIAPILDIADYEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLKNGEVAATKV
GALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNL
PELSTLLQEIRNNNSSSDIELEEKVMLTECEINVISNIIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYKDEFKLIESISD
ALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTV
NGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQQLFSTGLNTITDAKVE
LVSTALDETIDLLPTLSEGLPIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLQEIIEAKIGIMAVNLTTATTAAITSSLG
IASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVDYFKHVSLVETEGVFTLLDKIMMPQDDLVICEI
DFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDSLKDLMVLPN
APNRFVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDS
NTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNNMGINIELSESVDVVIIDVDNVVRDVTIESDKIKKG
DLIEGILSTSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMNS
NHQQKIDYIGFNFSELQKNIPYSFVDSEGKENGINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDSSKPSFGYY
SNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSTLQDEKTIKLNLSVHLDESGVAEILKFMRKGNTNTSD
SLMSFLESMMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFTLETNTLYVGMR
QNMIVEPNYDLDSDGDISSTVINFQSYKLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNNTYPEVIVLDAN
YINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDLFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDCTLANKLSFNFSDKQDVPV
SEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDK
YYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTFGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDE
NIYYFDDNYRGAWEVKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMVQKGFVSENDNKHYF

10

20

30

40

DDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIY
YFDDSFATAVGVWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGSLINDGQYYFNDDGIMQVGFTINDKVFYFSDSG
IIESGVQNIDNDYFYIDDNGIVQIGVFDTSDFGKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGET
YTIELTGWYIDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQF
GYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINTGWLDLDEKRYYFTDEYIA
ATGSVIIDGEYVFDPDTAQLVISE

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

TxB4

HHHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAECGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGGSGSGSGGG
SGGSGGGSGGSGSLVPRGSGSAAAPFTMSIICKDISKEYISFNPKENKITVSKNLPELSTLQEIRNN
SNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELE
DSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLD
THEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLL
PTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPPLLQEIIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLA
GISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDFKHKVSLVETEGVFTLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKC
EIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLVPNAPNRVFAWETG
WTPGLRSLENDGTKLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIIVPIITTE
YIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESVDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIE
ENKIIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKIDYIGF
NSELQKNIPYSFVSEKGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITK
DNVNILTGYYLKDDIKISLSTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLSMFLESNN
SIFVNFLQSNIKFIELDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDL
DDSGDISSSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDL
SIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDCTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYYE
DGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAA
SIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRG
AVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFSINDNKHYFDDSGVMKVG
TEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYFDDSGFTAVV
GWKDEDGSKYYFDEDTAEAYIGSLINDGQYYFNDDGIMQVGFTINDKVFYFSDSGIIESGVQNID
NYFYIDDNGIVQIGVFDTSDFGKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWYID
MENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMF
YFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGE
EYYFDPDTAQLVISE

10

20

30

40

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]-チオレドキシン-[トロンビン部位]-

TxB4

HHHHHHHHHHGGSLAEAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLK
ADGAILVDFWAECGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLKNGEVA
ATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIICKDISKEYISFNPKENKITV
SKNLPELSTLQEIRNNNSNDDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIE
SISDALCDLKQQNELEDHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTI
FDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDA
KVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPPLLQEIIEAKIGIMAVNLTTATTAI
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDFKHKVSLVETEGVFTLDDKIMMPQDDL
VISEIDFNNNSIVLGCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLM
VLVPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRI
NLDNSNTRSFIIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESVDVWIIDVDNVVRDVTIESD
KIKKGDLIEGILSTSIEENKILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIEVDLLSKSYKLLISGELKI
LMLNSNHQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVSEKGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMMDDSKP
SFGYYSNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKG
TNTSDSLSMFLESNNIKSIFVNFLQSNIKFIELDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYT
YVGNRQNMIVEPNYDLDGSDGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEV
VLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDCTLANKLSFNFSK
QDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFV
VGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTG
KLIIDENIYYFDDNYRGAWEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFSIND
NKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILN
FNNKIYYFDDSFATAVGVWDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGSLINDGQYYFNDDGIMQVGFTINDKV

YFSDSGIIESGVQNIDDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDV
YYFGETYTIETGWIYDMENESDKYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNE
NGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDEKRYY
FTDEYIAATGSVIIDGEYYFDPTAQLVISE

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

TxB4

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAECGPKMIAPILDIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAKEAAA
KEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVSKNLPBELSTLLQEI
RNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYKDEFKLIIESISDALCDLKQQN
ELED SHFISFEDISSETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHTEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVN
LDTTHEVNTLNAAFFIQSLSIEYNSSKESLSNLNVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETI
DLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAITSSLGIASGFSILLV
PLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLSVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVL
GKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLVPNAPNRVFAW
ETGWTPGLRSLENDGTKLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSIVPII
TTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESVDVVIIDVDNVVRDVIESDKIKKGDLIEGILST
LSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKID
YIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLVSELPDVVLSKVMDDSKPSFGYYSNNLKDVK
VITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMRKGNTNTSDSLMSFLES
MNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEP
NYDLDDSGDISSTVINF SQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEPEVIVLDANYINEKINV
NINDLSIRYVWSNDGND FILM STSEENKVSQVKIRFVNFKD LANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTP
SYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNF GMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPING
GAASIGETIIDDKNYYFNQSVLQQTGVFSTEDGFYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDN
YRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKA FKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMK
VGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFTEDGFYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF
AVVGWKDLEDGSKYYFDED TAEAYIGSLINDGQYYF NDDGIMQVGFTINDKVFYFSDSGIIESGVQ
NIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETG
WIYDMENESDKYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIE
DKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDEKRYYFTDEYIAATGSV
IDGEYYFDPTAQLVISE

10

20

30

40

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]-チオレドキシン-[トロンビン部位]-
Tx B3

HHHHHHHHHHGGLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLK
ADGAILVDFWAECGPKMIAPILDIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLKNGEVA
ATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAGGSMQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEI
WRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLVPNAPNRVFAWETGW
TPGLRSLENDGTKLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSIVPII
REKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESVDVVIIDVDNVVRDVIESDKIKKGDLIEGILSTSIEE
NKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKIDYIGFN
SELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLVSELPDVVLSKVMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKD
NVNILTGYYLKDDIKISLSTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSI
FVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLD
DSGDISSTVINF SQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEPEVIVLDANYINEKINV
NINDLSIRYVWSNDGND FILM STSEENKVSQVKIRFVNFKD LANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTP
SYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNF GMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPING
GLIGYDLGLVSLYNEKFYINNF GMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPING
GETIIDDKNYYFNQSVLQQTGVFSTEDGFYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAV
EWKELDGEMHYFSPETGKA FKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEI
DGKHFYFAENGEMQIGVFTEDGFYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF
TDVGV
KDLEDGSKYYFDED TAEAYIGSLINDGQYYF NDDGIMQVGFTINDKVFYFSDSGII
ESGVQ
NIDDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETG
WIYDMENESDKYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIE
DKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDEKRYYFTDEYIAATGSV
IDGEYYFDPTAQLVISE

配列番号 53 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[ヘリカルスペーサー]-[トロンビン部位]-
Tx B3

HHHHHHSHMASDKIILHTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAECGPKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLKNGEVAATKGALSKGQLKEFLDANLARALLAEEAAKEAAKEAAA
 KEAAKEAAAKAAAGGSLVPRGSAGGSMPQDDLVISEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVT
 DDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGK
 LLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDNSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGS
 TYALSLSQYNGINIELSESVDWIIDVDNVVRDVIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIIILNSHEINFSGE
 VNGSNGFVSLTSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDS
 EGKENGFIGNSTKEGLFVSELPDV/LISKVYMDDSKPSFGYYSSNNLKDVKITKDNVNILTGYYLKDDI
 KISLSLTQDDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSFLMSFLESMNKSIFVNFLQSNIKFILD
 ANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIPEPNYDLDSDGDISSTVINF
 KYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFI
 LMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYN
 EKFYINNFMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQ
 SGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAEVWKELDGEMHYF
 SPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFSINDNKHYFDDSGVMKGVTGKHYTEIDGKHFYFAENGE
 MQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATAVV/GWKDLEDGSKYYFDE
 DTAEAYIGLSLINDGQYYFNDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDDNYFYIDDNGIVQIGVF
 DTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETK
 KACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFN
 PDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEYYYFPDTAQLVISE

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
 HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGHMASDKIILHTDDSFDTDVLKADGA
 ILVDFWAECGPKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLKNGEVAATKG
 ALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAGGSMPQDDLVISEIDFNNSIVLGKCEIWRME
 GGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPLR
 SLENDGKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDNSNTRSFIVPIITTEYIREKLS
 YSFYGSGGTYALSLSQYNGINIELSESVDWIIDVDNVVRDVIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKII
 SHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKIDYIGFNSELQ
 KNIPYSFVDSEGKENGFIGNSTKEGLFVSELPDV/LISKVYMDDSKPSFGYYSSNNLKDVKITKDNVN
 LTGYYLKDDIKISLSSLQDDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSFLMSFLESMNKSIFVN
 LQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIPEPNYDLDSDG
 SSTVINFSQLYKLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRY
 WSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIG
 YDLGLVSLYNEKFYINNFMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETII
 DDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAEVWK
 ELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFSINDNKHYFDDSGVMKGVTGKHYTEIDGK
 HFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATAVV/GWKDLE
 DGSKYYFDEDTAEAYIGSLINDGQYYFNDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDDNYFYIDD
 NGIVQIGVFDTSRGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDK
 YYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGV
 MQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEYYYFPDP
 TAQLVISE

20

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
 HHHHHHHSHMASDKIILHTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAECGPKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
 NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLKNGEVAATKGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGGSGGSGGSG
 SGGSGGSGGSGSLVPRGSAGGSMPQDDLVISEIDFNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDI
 DHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPLRSLENDGKLLD
 RIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDNSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGS
 LSLSQYNGINIELSESVDWIIDVDNVVRDVIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIIILNSHEINFSG
 ENGFINGSTKEGLFVSELPDV/LISKVYMDDSKPSFGYYSSNNLKDVKITKDNVNILTGYYLKDDIKISL
 SLTLQDDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSFLMSFLESMNKSIFVNFLQSNIKFILD
 ANFII SGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIPEPNYDLDSDGDISSTVINF
 SQYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDG
 NDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDL
 GLVSLYNEKFYINNFMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDD
 KNYYFNQSGVL

40

QTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEHYFSPET
 GKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIG
 VFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATAVVWGDLEDGSKYYFDEDTAE
 AYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTS
 GYKYFAPANTVNDNIYGGAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACK
 GINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGF
 KYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEYEEYFDPDTAQLVISE

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

MGSSHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESLATATKKYEQEIDRVQIDRKSG
 DFDTFRRLVDEVTPQTKEITLEAARYEDESLNLGYVEDQIESVTDRITTQAKQVIVQKVREAER
 AMVVDQFREHEGEITGVVKVNRDNISLDLGNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEA
 RGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAARDPGSRAKIAVTKNDKRIDPVGACVMGRARV
 QAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASICVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRL
 ASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIE
 GLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGI
 DDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALRTRVKVVKNKAEGTRIFDPVTGTTHRIEDVVD
 GRKPIHVVAAKDGTLHARPVSWFDQGTRDVIGLRIAGGAILWATPDHKVLTEYGWRAAGELRKGD
 RVAQPRRFDGFGDSAPIPARVQALADALDDKFLHDMALAEELRYSIREVLPTRRARTFGLVEELHTL
 VAEGVVHNSSPPFKQAEGGSAAPFTMSIICKDISKEYISFPNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNS
 NSSDIEEEKVMLTECEINVISIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED
 SHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTFSEYANHITEEISKIGTIFDTVNGKLVKKVNLDTT
 HEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLVAMKVQVYAGLFSTGLNTITDAKVELVSTALDETIDLLP
 TLSEGLPIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPPLLQEIKAIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAG
 ISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDFKHSVLSATEGVFTLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEI
 WRMEGGSGHTVTTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDSLKDLMVLPNAPNRVFAWETGW
 TPGLRSLENDGTKLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIGVITTEYI
 REKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESVDWIIDVDNVRDVIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEE
 NKİLNHSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMNSNHİQQKIDYIGFN
 SELQKNIPYSFVDSEGKENGINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVTKD
 NVNILTGYYLKDDIKISLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSMSFLESMNİKSI
 FVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFECIDENDNIQPYFIKNTLETNTYLVGNRQNMIVEPNYDLD
 DSGDISSTVINFQSQKLYGIDSCVNKVVISPNIYTEDINITPVYETNNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLS
 IRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNFSKQDVPVSEIILSFTPSYYED
 GLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASI
 GETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAV
 EWKELDGEHYFSPETGKAFGLNQIGDYKYYFNSDGMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEI
 DGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDEGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFATAVVW
 KDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKFYFSDSGIIESGVQNIDDNY
 FYIDDNGIVQIGVFDTSRGYKYFAPANTVNDNIYGGAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDME
 NESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYF
 GEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEY
 YFDPDTAQLVISEGHHHHHH

10

20

30

40

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

MGSSHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESLATATKKYEQEIDRVQIDRKSG
 DFDTFRRLVDEVTPQTKEITLEAARYEDESLNLGYVEDQIESVTDRITTQAKQVIVQKVREAER
 AMVVDQFREHEGEITGVVKVNRDNISLDLGNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEA
 RGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAARDPGSRAKIAVTKNDKRIDPVGACVMGRARV
 QAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASICVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRL
 ASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIE
 GLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGI
 DDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALEVFGFGSGKAFARDTEVYYENDTVPHMESIEE
 MYSKYASMNGELPDFNGYAVPLDNVFVYTLIASGEIKKTRASYIYREKVEKLIKEKLSSGYSLKTPSH
 PVLLFRDGLQWVPAAEVKPGDVVVGVRREEVLRRIISKGELEFHESVSSVRIIDYNNWYDVLIPETHNF
 IAPNGLVLHNTQLAHTLAVMGSAAPFTMSIICKDISKEYISFPNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNS
 NSSDIEEEKVMLTECEINVISIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED
 SHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTFSEYANHITEEISKIGTIFDTVNGKLVKKVNLDTT
 HEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLVAMKVQVYAGLFSTGLNTITDAKVELVSTALDETIDLLP
 TLSEGLPIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPPLLQEIKAIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAG

ISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSIVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVICEIDFNNNSIVLGKCEI
 WRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLNPAPNRVFAWETGW
 TPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGERFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIGVPIITTEYI
 REKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNGMGINIELSESVDWIIDVDNVVRDVIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEE
 NKLILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHQQKIDYIGFN
 SELQKNIPYSFVDSSEGKENGFIGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKD
 NVNILTGYYLKDDIKISLSTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMRKGNTNTSDSLMSFLESMNISI
 FVNFLQSNIKFIELDANFIISGTTSIGQFECIDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLD
 DSGDISSTVINFQSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLS
 IRYVWSNDGND FILM STSEENKVSQVKIRFVNFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTP SY YED
 GLIGYDLGLVSLYNEKFYINNGMMVSGLIYINDSLYYF KPPVNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASI
 GETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTL DENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAV
 EWKELDGEMHYFSPETGAKFGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEI
 DGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGLNFNNKIIYFDDSTAVVGW
 KDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKFYFSDSGIIESGVQNIDDNY
 FYIIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYQGAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDME
 NESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYF
 GEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDEKRYYFTDEYIAATGSIIDGEY
 YFPDTAQLVISEGHHHHHHH

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

MGSSHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAECGPCKMIAPILDIADEYQGKLT
 VAKLNIDQNP GTAP KYGIRG IPTLLL FKNG EVAAT KV GALS KGQL KEFL DAN LARALE VLF QGP GGS A
 DARAKAQFE EYKR NYFEGAGGSIMS DLSS KEYIFF DSD IDN KLAK SKNIP GLAS IS EDIK TLL DAS VSP
 DTKFILN NLKLN IE SSIG DYI YYE KLE PV KN II HNS IDDL IDEF NLL EN VS DE LY EKL KLN LDE KYL S FEDI
 SKNN STY SVR FINK SNG ESY VV ET EK IF SKY SE HIT K EIST K NIS IT DV GN LL DN IQ LD HT SQ VNT LN
 AAFFIQSLIDYSSN KDV LND LST SV KV QLY AQL FST GL NT YD IS QL VN L IS NAV ND T IN VL PT IEG IPI VS
 TILDG IN LGAAI KELL DE HDPL LKKE LEAK KV GV LAIN MSL SIA AT VA SIV GIG AE VT FLL PIAG IS AGIP SLV
 NNE LIL HDK AT SVV NY FN HLS ESK K YG PLK T EDD K IL VP ID DL V IS EID FNN NSI K LG TC NI LAME GG SG
 HTV TGN IDH FFSSP SISSH IPSL SIY SAIGI ETEN LDFS KK IMML PNAP SRV FW WET GA VP GL RSL END G
 TRLL DSIR DLY PGK F YWRF Y AFFD YAIT TLK P VY E DT NIK I KLL D KTR N FIM PT ITT NE IRN K L S Y SF DGA
 GGT YS L L S S Y P I ST N I N LSK DDL WIF NI DNE VRE I S E N G TIK K G K LI K D V L S K ID I N K N K I I G N Q T I D F S G
 DID NK DRY I F LT C E L D D K I S L I I E I N L V A K S Y S L L S G D K N Y L I S N L S N I I E K I N T L G L D S K N I A Y N Y T D E S N N
 KYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNI LEFYNDSTLEFN SKDFIAE D I N V F M K D D I N T I T G K Y Y V D N N T D K S I D F
 SISL VSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLD FVKNSDGHNTS NFMNLFLDNISFWKLGFENINFVIDKYFT
 LVG KTN LGY VE FIC DNN KN I D Y FGE WKT S S K ST I FSG NGRN V V EPI YNP DT GED I ST SLD FS Y EPL Y
 GIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSENYYPEIIVLPNPTFHKKVNINLDSSSF EYK WSTE GSD F I L V R Y
 LEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFN KMSIDFKD I KKL S LGY I M S NF KSF NSEN EL DRD HLG FKI IDN K T Y Y
 DEDSKLVGLININNSLFYFDPIEFLVGTWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGV M Q L
 GVF KGP DGF EYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNDSKAVTG WRI INN K YYFNPNN AIAAVGLQV DNN K YYFNPDTAI SKG WQ TV NG S R Y Y F D T D T A I F N G Y K T I D G K H F Y F D S D C V V K I G V
 FST SNG F EYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTNGKKYYFDNNSKAVTG WQ T I D S K K YYFNTNT A E A T G W Q T I D G K H F Y F D S D C V V K I G V
 ATG W Q T I D G K H F Y F D S D C V V K I G V
 PNG FEYFAPANTDANNIEGQ A I L Y Q N E F L T N G K H F Y F D S D C V V K I G V
 CTIN N D K YY F S Y D G I L Q N G Y I T I E R N N F Y F D A N N E S K M V T G V F K G P N G F E Y F A P A N T H N N N I E G Q A I V Y
 Q N K F L T L N G K H F Y F D S D C V V K I G V
 NK F L T L N G K H F Y F D S D C V V K I G V
 G K H F Y F N T D G I M Q I G V F K G P D G F E Y F A P A N T D A N N I E G Q A I R Y Q N R F L Y L H D N I Y Y F G N N S K A A T G W V
 V T I D G N R Y Y F E P N T A M G A N G Y K T I D N K N F Y F R N G L P Q I G V F K G S N G F E Y F A P A N T D A N N I E G Q A I R Y Q
 N R F L H L L G K I Y Y F G N N S K A V T G W Q T I N G K V Y Y F M P D T A M A A A G G L F E I D G V I Y F F G V D G V K A P G I Y G

20

配列番号 59 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 (Tx A4 切断型; residues 770-2389) 発現構築物

MGSSHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAECGPCKMIAPILDIADEYQGKLT
 VAKLNIDQNP GTAP KYGIRG IPTLLL FKNG EVAAT KV GALS KGQL KEFL DAN LARAL VPR GSG GS A
 RAKAQFE EYKR NYFEGAGGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFF DSD IDN KLAK SKNIP GLAS IS EDIK TLL D
 ASVSPDTK F I L N N L K L N I E S S I G D Y I Y Y E K L E P V K N I I H N S I D D L I D E F N L L E N V S D E L Y E K L K L N N L D E K Y L

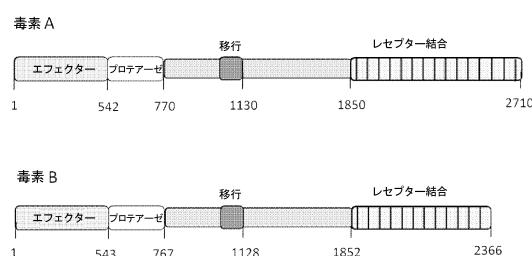
30

40

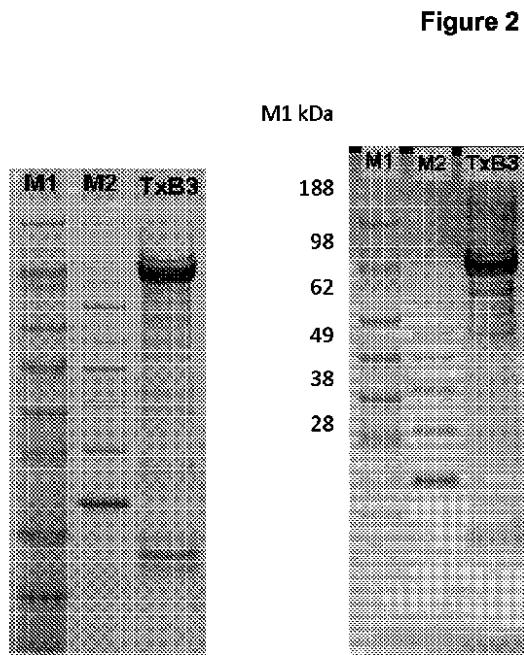
ISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQ
 VNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVNLDSLTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPITE
 GIPIVSTILDGINLGAAKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLPIAGISA
 GIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDVISEIDFNNNSIKLGTNCNILAME
 GGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRS
 LENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLKDTRNFIMPTITTNEIRNKL SY
 SFDGAGGTYSSLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTTKKGKLIKDVLSKIDINKNKLII GNQ
 TIDFSGDIDNKGDRYIFLTCELDKISLIIEINLVAKSYSLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIA YN
 DESNNKYFGAISKTQSQKSIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNT
 DKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLFVKNSDGHHTNSFMNLFLDNISFWKLFGFENINFV
 IDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSRKSTIFSGNGRNVVEPIYNPDTGEDISTSDF
 SYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSEYYPEIIVLPNTFHKKVNINLDSSSFYEYKWSTE
 DFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNPKMSIDFKDIKKLSGYIMSNFKSFNSENELDRDHGF
 DNKTYYYDEDSKLVKGKLNINNSLFYFDPFIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKH
 DGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWR
 YFNPNNAAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKH
 VVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWT
 TNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTAEATGWQTIDGKKYYFNTNTAI
 ASTGYTIINGKH
 FYN
 QIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWR
 NAI
 AIAI
 IHLC
 TINND
 KYYFSY
 DGIL
 QNGY
 ITIER
 NN
 FD
 ANNES
 KM
 V
 T
 G
 V
 F
 K
 GP
 NG
 FEY
 F
 AP
 AN
 TH
 H
 N
 N
 N
 EAATGWQTIDGKKYYFNTNTFI
 AST

10

【図1】

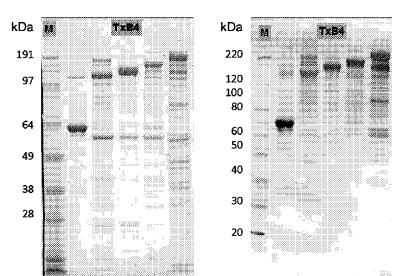


【図2】



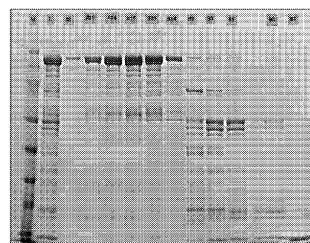
【図3】

Figure 3



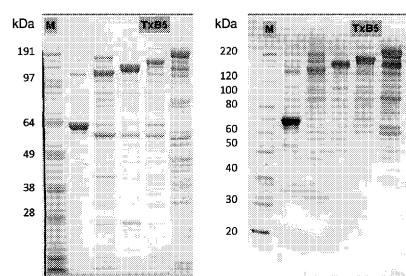
【図5】

Figure 5



【図4】

Figure 4



【配列表】

0006377907000001.app

フロントページの続き

			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-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-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-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-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、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2002-514886号公報(J P , A)

(58)調査した分野(Int.Cl. , DB名)

IPC C12N 15/00-15/90

C07K

Caplus / BIOSIS / EMBASE / WPIDS (STN)

PubMed

JSTPlus / JST7580 / JMEDPlus (JDream3)