(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2012-506858
(P2012-506858A)
(43)公表日　平成24年3月22日(2012.3.22)

(51)Int.Cl.		F I		テーマコード（参考）
A61K 39/00	***(2006.01)***	A61K 39/00	ZNAH	4B024
A61K 39/39	***(2006.01)***	A61K 39/39		4C085
A61P 31/04	***(2006.01)***	A61P 31/04		4H045
A61K 39/02	***(2006.01)***	A61P 31/04	171	
C12N 15/09	*(2006.01)*	A61K 39/02		

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 56 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2011-533288 (P2011-533288)
(86)(22)出願日　平成21年10月21日 (2009.10.21)
(85)翻訳文提出日　平成23年5月26日 (2011.5.26)
(86)国際出願番号　PCT/US2009/061429
(87)国際公開番号　WO2010/048252
(87)国際公開日　平成22年4月29日 (2010.4.29)
(31)優先権主張番号　61/107,858
(32)優先日　平成20年10月23日 (2008.10.23)
(33)優先権主張国　米国 (US)

(71)出願人　510000976
インターベット　インターナショナル　ベー．　フェー．
オランダ国　５８３０　アーアー　ボクスメール，　ヴィム　デ　コルファーストラート　３５
(74)代理人　100078282
弁理士　山本　秀策
(74)代理人　100062409
弁理士　安村　高明
(74)代理人　100113413
弁理士　森下　夏樹

最終頁に続く

(54)【発明の名称】Ｌａｗｓｏｎｉａｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓワクチン

(57)【要約】
本発明は、新規Ｌａｗｓｏｎｉａ　ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列に関連する。それはまた、これらの配列を含むＤＮＡ断片、組換えプラスミドＤＮＡ、および生きた組換え微生物に関連する。さらに、本発明は、これらのヌクレオチド配列によってコードされるポリペプチドに関連する。本発明はまた、Ｌａｗｓｏｎｉａ　ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓ感染の予防のための免疫原性組成物、およびこれらの免疫原性組成物の調製の方法に関連する。本発明はまた、Ｌａｗｓｏｎｉａ　ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓＤＮＡの検出、Ｌａｗｓｏｎｉａ　ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓ抗原の検出、およびＬａｗｓｏｎｉａ　ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓに対する抗体の検出のための診断テストに関連する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
１つまたは複数のポリペプチドおよびアジュバントを含む免疫原性組成物であって、各ポリペプチドは、配列番号１～１１からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、免疫原性組成物。
【請求項２】
配列番号１２および１３からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドをさらに含む、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項３】
前記ポリペプチドが、配列番号１に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項４】
前記ポリペプチドが、配列番号２に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項５】
前記ポリペプチドが、配列番号３に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項６】
前記ポリペプチドが、配列番号４に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項７】
前記ポリペプチドが、配列番号５に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項８】
前記ポリペプチドが、配列番号６に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項９】
前記ポリペプチドが、配列番号７に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項１０】
前記ポリペプチドが、配列番号８に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項１１】
前記ポリペプチドが、配列番号９に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項１２】
前記ポリペプチドが、配列番号１０に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項１３】
前記ポリペプチドが、配列番号１１に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項１４】
前記アジュバントが、動物における薬学的使用のために適切なアジュバントである、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項１５】
前記アジュバントが、水酸化アルミニウムである、請求項１４に記載の免疫原性組成物。
【請求項１６】
前記アジュバントが、リン酸アルミニウムである、請求項１４に記載の免疫原性組成物。
【請求項１７】
前記アジュバントが、油、水、および水酸化アルミニウムを含む、請求項１４に記載の免

疫原性組成物。
【請求項１８】
前記アジュバントが、ＩＳＣＯＭである、請求項１４に記載の免疫原性組成物。
【請求項１９】
Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ Ｈｙｏｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｅｒｙｓｉｐｅｌａｓ ｓｐｐ、ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｈ．ｐａｒａｓｕｉｓ、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｓｐｐ、ｓｔｒｅｐｔｏｃｃｏｕｓ ｓｕｉｓ、ｂｒａｃｈｙｓｐｉｒａ ｓｐｐ、ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ、ｐａｓｔｅｕｒｅｌｌａ、Ｅ．ｃｏｌｉ、コロナウイルス、パルボウイルス、ＰＲＲＳ、サーコウイルス、またはＳＩＶのうちの１つまたは複数の抗原性成分をさらに含む、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項２０】
１つまたは複数のポリヌクレオチドおよびアジュバントを含む免疫原性組成物であって、各ポリヌクレオチドは、配列番号１～１１からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有するポリヌクレオチドをコードするヌクレオチド配列を有する、免疫原性組成物。
【請求項２１】
配列番号３８および３９からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドをさらに含む、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項２２】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号２７に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項２３】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号２８に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項２４】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号２９に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項２５】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号３０に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項２６】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号３１に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項２７】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号３２に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項２８】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号３３に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項２９】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号３４に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項３０】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号３５に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項３１】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号３６に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項３２】

前記ポリヌクレオチドが、配列番号３７に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項３３】
Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ Ｈｙｏｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｅｒｙｓｉｐｅｌａｓ ｓｐｐ、ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｈ．ｐａｒａｓｕｉｓ、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｓｐｐ、ｓｔｒｅｐｔｏｃｃｏｕｓ ｓｕｉｓ、ｂｒａｃｈｙｓｐｉｒａ ｓｐｐ、ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ、ｐａｓｔｅｕｒｅｌｌａ、Ｅ．ｃｏｌｉ、コロナウイルス、パルボウイルス、ＰＲＲＳ、サーコウイルス、またはＳＩＶのうちの１つまたは複数の抗原性成分をコードするポリヌクレオチドをさらに含む、請求項２０に記載の免疫原性組成物。
【請求項３４】
動物において、Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓに対する保護的免疫反応を誘導する方法であって、該方法は、該動物に請求項１に記載の組成物を投与する工程を包含する、方法。
【請求項３５】
前記動物がブタである、請求項３４に記載の方法。
【請求項３６】
前記免疫原性組成物が、乱刺、筋肉内注射、皮下注射、腹腔内、鼻腔内投与、および経口投与からなる群から選択される経路により投与される、請求項３４に記載の方法。
【請求項３７】
動物において、Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓに対する保護的免疫反応を誘導する方法であって、該方法は、該動物に請求項２０に記載の組成物を投与する工程を包含する、方法。
【請求項３８】
前記動物がブタである、請求項３７に記載の方法。
【請求項３９】
前記免疫原性組成物が、乱刺、筋肉内注射、皮下注射、腹腔内、鼻腔内投与、および経口投与からなる群から選択される経路により投与される、請求項３７に記載の方法。
【請求項４０】
動物由来の生物学的サンプルにおける、Ｌａｗｓｏｎｉａに反応性の抗体の特異的検出のための方法であって、
ａ）配列番号１～１１で示される配列、またはその免疫原性断片を有するＬａｗｓｏｎｉａ抗原と、該生物学的サンプルを接触させる工程、
ｂ）該生物学的サンプル中の該Ｌａｗｓｏｎｉａ抗原と抗体との間の抗原－抗体結合を検出する工程であって、該抗原－抗体結合の検出は、該生物学的サンプルにおけるＬａｗｓｏｎｉａに反応性の抗体の存在を示す、工程
を包含する、方法。
【請求項４１】
前記生物学的サンプルが、血液を含む、請求項４０に記載の方法。
【請求項４２】
配列番号１～１１または配列番号２７～３７で示される配列を有する１つまたは複数のＬａｗｓｏｎｉａ抗原を含む、キット。
【請求項４３】
ブタにおいて、Ｌａｗｓｏｎｉａに対する保護的免疫反応を誘導するための説明書をさらに含む、請求項４２に記載のキット。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
関連出願への相互参照
本出願は、２００８年１０月２３日出願の米国仮特許出願番号６１／１０７，８５８号に対して米国特許法の１１９（ｅ）条における優先権を主張する非仮特許出願であり、そ

の全体が本明細書で参照として援用される。

【０００２】

本発明は、Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓに対する免疫のための免疫原性組成物に関連する。タンパク質発現、精製、および免疫原性組成物の調製における使用の方法が提供される。

【背景技術】

【０００３】

回腸炎とも呼ばれるブタ増殖性腸炎（ＰＰＥまたはＰＥ）は、ブタ産業において、最も経済的に負担となる疾患の１つである。その疾患は、世界中の農場の１２％から５０％のブタを冒すと報告された（非特許文献１）。ＰＰＥの経済的影響は、主にブタ産業によって感じられるが、その疾患は、サル、ウサギ、ハムスター、ウマ、ダチョウ、キツネ、フェレット、ラットおよびエミューを含む、複数の哺乳類種も冒すことが示された（非特許文献１）。ＰＰＥの急性形態である増殖性出血性腸炎（ＰＨＥ）を示す動物において、死亡率は５０％と高く、そして感染した妊娠動物は多くの場合、最初の６日以内に流産する（非特許文献１）。ＰＰＥの原因因子は、最初にＬａｗｓｏｎらによって決定および単離された（非特許文献２）。Ｌａｗｓｏｎらによって単離された細菌は、絶対細胞内グラム陰性の湾曲した桿菌（ｃｕｒｖｅｄ ｒｏｄ）であり、それは環境圧力からの減圧において酸素のみを許容し、そして腸細胞においてのみインビボで増殖する。Ｌａｗｓｏｎらは、２つの系統の細菌を単離し、そしてそれらをＮＣＴＣ１２６５６およびＮＣＴＣ１２６５７として寄託した。

【０００４】

これらの細菌のさらなる系統発生的特徴付けおよび命名が、ＭｃＯｒｉｓｔらによって行われた（非特許文献３）。ＰＰＥの原因因子は、絶対細胞内寄生細菌であり、もともとＬａｗｓｏｎらによって発見され、今はＬａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓ（ＬＩ）と命名された。この生物はグラム陰性、有鞭毛細菌であり、それは腸細胞と呼ばれる、腸管陰窩の未熟な上皮細胞に感染する。

【０００５】

感染の早い段階において、細菌は細胞膜と結合し、そして侵入液胞を介して、陰窩上皮細胞に迅速に侵入する（非特許文献４）。この液胞は迅速に分解し、そして細菌は細胞の細胞質で自由に繁殖および増幅する。この疾患の顕著な特徴の１つは、陰窩上皮細胞の制御不可能な増殖であり、それは小腸、そして時には大腸の粘膜裏層（ｍｕｃｏｓａｌ ｌｉｎｉｎｇ）の肥厚を引き起こす。ブタにおいて、ＬＩによる感染は、下痢、発育阻止、そしていくつかの場合には突然死を引き起こす。

【０００６】

増殖性腸炎は、広く異なる様子および症状を有する疾患群であり、その１つのメンバーはＰＰＥである（非特許文献１）。いくつかの異なる形態のＰＰＥ（急性、慢性、壊死性、および無症候性）も区別し得る；しかしそれらは全て共通してその根底には発病の原因であるＬａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓを有する。その疾患は最初に、Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓが感染した未熟な腸管上皮細胞の進行性の増殖として発現する。その疾患のこの形態は、出血性、または血の混じった下痢、血餅、および突然死によって特徴付けられる。ブタ腸管腺腫症（ＰＩＡ）は、その疾患の慢性および最もよくある形態であると考えられ、それは成長中のブタにおいて見られる（保育段階から後期仕上げ段階（ｎｕｒｓｅｒｙ ｔｏ ｌａｔｅ ｆｉｎｉｓｈｉｎｇ ｓｔａｇｅ））。増殖性出血性腸炎（ＰＨＥ）は、その疾患の急性形態と考えられ、成熟ブタ（４－１２ヶ月齢）の回腸末端および結腸を冒す。ＰＨＥはＰＩＡから発達し、そして重度の腸管管腔への出血によって、既存のＰＩＡ病変から区別される。疾患のこの形態は、回腸末端および近位結腸上部において観察され、そして粘膜表面における炎症はほとんどまたは全く無く、冒された領域の粘膜裏層の広範な肥厚によって特徴付けられる。壊死性腸炎は、その疾患の別の形態であり、それは回腸における黄色がかった壊死性病変の存在と共に、回腸の重度の肥厚によって特徴付けられる。Ｌａｗｓｏｎｉａ感染を有す

るブタにおいて記載されたその疾患の別の形態は、疾患の明白な徴候を有さないキャリア動物を生じる無症候性の疾患である。

【０００７】

細胞培養におけるＬａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓの増殖は、普通でない気体の混合物（酸素、二酸化炭素、窒素、および水素）を含む環境を必要とする。それに加えて、その細菌は宿主細胞において観察できる細胞変性効果を示さない。これらの要素は、Ｌａｗｓｏｎｉａによって引き起こされる疾患に対して保護するが、その細菌の培養を必要としない、有効なワクチンを開発するための特殊な技術を研究する重要性を強調する。１つのそのようなアプローチは、サブユニットワクチンを開発するための、組換えＤＮＡ技術の適用を含む。以前の研究は、完全に配列決定されたＬａｗｓｏｎｉａゲノムをアノテートするためにＡＲＴＥＭＩＳおよびＴＢ－ｐａｒｓｅを利用した（特許文献１）。

【０００８】

これらの利点にも関わらず、サブユニットワクチンの開発は、ワクチンの基礎として使用し得る保護抗原の本質（ｉｄｅｎｔｉｔｙ）についての情報の欠如によって妨害されてきた。本発明は、これらおよび他のニーズに取り組む。

【０００９】

本明細書中で引用された参考文献は、参考としてのみ見なされることを意図し、そしていかなる他の目的も意図しない。提供された情報および引用された参考文献が、単にこの文書中にあるので先行技術であるという推論はすべきでない。

【先行技術文献】

【特許文献】

【００１０】

【特許文献１】米国特許出願公開第２００６／００２４６９６号明細書

【非特許文献】

【００１１】

【非特許文献１】Ｄｉｓｅａｓｅｓ ｏｆ Ｓｗｉｎｅ、第７版、５６０－５６９（１９９２）

【非特許文献２】Ｌａｗｓｏｎら、Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｍｉｃｒｏｂｉｏｌｏｇｙ ３１（５）：１１３６、（１９９３年５月）

【非特許文献３】ＭｃＯｒｉｓｔら、Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｓｙｓｔｅｍａｔｉｃ Ｂａｃｔｅｒｉｏｌｏｇｙ、４５（４）：８２０－８２５（１９９５年１０月）

【非特許文献４】ＭｃＯｒｉｓｔ，Ｓ．ら、Ｔｈｅ Ｃａｎａｄｉａｎ Ｊｏｕｒｎａｌ ｏｆ Ｖｅｔｅｒｉｎａｒｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ、７０（２）：１５５－１５９（２００６年４月）

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【００１２】

本発明は、インビトロにおける培養の必要無しに、Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓに対する保護のためのサブユニットワクチンとして有用なポリペプチドおよびポリヌクレオチドに向けられる。本発明は、１つまたは複数の本発明のポリペプチド（例えば配列番号第１～１３番）を含む組成物を提供する。これらの組成物はまた、免疫原性組成物であり得、それはさらに薬学的に許容可能なアジュバントを含む。本発明はまた、さらに１つまたは複数の以下の微生物の抗原性成分を含む免疫原性組成物を提供する：Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ Ｈｙｏｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｅｒｙｓｉｐｅｌａｓ ｓｐｐ、ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｈ．ｐａｒａｓｕｉｓ、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｓｐｐ、ｓｔｒｅｐｔｏｃｃｏｕｓ ｓｕｉｓ、ｂｒａｃｈｙｓｐｉｒａ ｓｐｐ、ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ、ｐａｓｔｅｕｒｅｌｌａ、Ｅ．ｃｏｌｉ、コロナウイルス、パルボウイルス、ＰＲＲＳ、サーコウイルス、およびＳＩＶ。他の実施態様において、本発明は、本発明の

ポリペプチドをコードする、１つまたは複数のポリヌクレオチド（例えば配列番号第２７～３９番）を含む組成物を提供する。これらの組成物はまた、免疫原性組成物であり得、それはさらに薬学的に許容可能なアジュバントを含む。それに加えて、本発明は、不活化Ｌａｗｓｏｎｉａ（バクテリン）および適当なアジュバントを含む免疫原性組成物を提供する。

【００１３】

本発明はさらに、動物においてＬａｗｓｏｎｉａに対する保護的免疫反応を誘導する方法を提供し、ここでその方法は、本発明のバクテリン、ポリペプチドまたはポリヌクレオチドを含む組成物をその動物に投与することを含む。特定の実施態様において、その動物はブタである。投与経路は、本発明にとって決定的ではない。本発明において有用な投与方法は、乱刺、筋肉内注射、皮下注射、腹腔内、鼻腔内投与、または経口投与を含む。本発明はさらに、動物から得られた生物学的サンプルにおける、Ｌａｗｓｏｎｉａに反応性の抗体の特異的検出の方法を提供する。本発明の検出方法は、その生物学的サンプルを、本発明のＬａｗｓｏｎｉａ抗原と接触させる工程、および生物学的サンプルにおいてＬａｗｓｏｎｉａ抗原と抗体の間の抗原抗体結合を検出する工程を含む。特定の実施態様において、その生物学的サンプルは血液由来である。本発明はまた、本発明の１つまたは複数のＬａｗｓｏｎｉａ抗原、およびブタにおけるＬａｗｓｏｎｉａに対する保護的免疫反応を誘導するための説明書を含むキットを提供する。

【発明を実施するための形態】

【００１４】

本発明の定義

他に定義されなければ、本明細書中で使用される全ての技術的および科学的用語は一般的に、本発明が属する当業者によって通常理解されるのと同じ意味を有する。一般的に、本明細書中で使用される命名法、および細胞培養、分子遺伝学、有機化学、および核酸化学、および下記で記載するハイブリダイゼーションにおける実験室手順は、当該分野において周知であり、そして通常採用されるものである。標準的な技術を、核酸およびペプチド合成のために使用する。一般的に、酵素的反応および精製工程を、製造業者の仕様に従って行う。その技術および手順を一般的に、当該分野における従来の方法、およびこの文書中で提供される、様々な一般的な参考文献に従って行う（一般的にＳａｍｂｒｏｏｋら、ＭＯＬＥＣＵＬＡＲ ＣＬＯＮＩＮＧ：ＡＬＡＢＯＲＡＴＯＲＹ ＭＡＮＵＡＬ、第２版（１９８９）Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｐｒｅｓｓ、Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ、Ｎ．Ｙ．を参照のこと、それは本明細書中で参考文献に組み込まれる）。本明細書中で使用される命名法、および分析化学、および下記で記載される有機合成化学における実験手順は、当該分野において周知であり、そして通常採用されるものである。標準的な技術、またはその改変を、化学合成および化学分析のために使用する。

【００１５】

当業者は、本発明のＬａｗｓｏｎｉａポリペプチドは、免疫原性の喪失無しに変化し得ることを認識する。従って、本発明のポリペプチドは、多型性変異体、対立遺伝子、および（１）ここで例示されたポリペプチドに対して、特に少なくとも約２５、５０、１００、２００、５００、１０００、またはそれより多いアミノ酸の領域に渡って、約８０％より高いアミノ酸配列同一性、８５％、９０％、特に９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、または９９％またはそれより高いアミノ酸配列同一性を有するアミノ酸配列を有する変異体を含む。そのような変異体は、ここで例示されたアミノ酸配列を含む免疫原に対して作られた抗体、例えばポリクローナル抗体に特異的に結合する。本発明の変異体を同定する別の手段は、それらをコードするＤＮＡは、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下で、ここで示した核酸配列に特異的にハイブリダイズする、または例示された配列に対して、約９０％より高い、特に約９１％、９２％、９３％、９４％、９５％、９６％、９７％、９８％、９９％、またはそれより高いヌクレオチド配列同一性を有する核酸配列を有することである。

【００１６】
配列比較のために、典型的には１つの配列が参照配列として作用し、それに対してテスト配列を比較する。配列比較アルゴリズムを使用する場合、テスト配列および参照配列をコンピューターにインプットし、もし必要ならサブシーケンス座標を指定し、そして配列アルゴリズムプログラムパラメーターを指定する。次いで配列比較アルゴリズムが、指定したプログラムパラメーターに基づいて、参照配列と比較した、テスト配列（複数可）の配列同一性パーセントを計算する。
【００１７】
例えば、ＳｍｉｔｈおよびＷａｔｅｒｍａｎ、Ａｄｖ．Ａｐｐｌ．Ｍａｔｈ．２：４８２（１９８１）の局所相同性アルゴリズムによって、ＮｅｅｄｌｅｍａｎおよびＷｕｎｓｃｈ、Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．４８：４４３（１９７０）の相同性アラインメントアルゴリズムによって、ＰｅａｒｓｏｎおよびＬｉｐｍａｎ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ’ｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：２４４４（１９８８）の類似性探索の方法によって、これらのアルゴリズムのコンピューター化された実行によって（Ｗｉｓｃｏｎｓｉｎ Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｓｏｆｔｗａｒｅ Ｐａｃｋａｇｅ、Ｇｅｎｅｔｉｃｓ Ｃｏｍｐｕｔｅｒ Ｇｒｏｕｐ、５７５ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ｄｒ．、Ｍａｄｉｓｏｎ、ＷＩにおけるＧＡＰ、ＢＥＳＴＦＩＴ、ＦＡＳＴＡ、およびＴＦＡＳＴＡ）、または目視検査によって（一般的に、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ、Ｆ．Ｍ．Ａｕｓｕｂｅｌら編、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ、Ｇｒｅｅｎｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｉｎｇ Ａｓｓｏｃｉａｔｅｓ，Ｉｎｃ．およびＪｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ & Ｓｏｎｓ，Ｉｎｃ．の間のジョイントベンチャー（１９９５ Ｓｕｐｐｌｅｍｅｎｔ）（Ａｕｓｕｂｅｌ）を参照のこと）、比較のために配列の最適なアラインメントを行い得る。
【００１８】
配列同一性パーセントおよび配列類似性パーセントを決定するために適当なアルゴリズムの例は、ＢＬＡＳＴおよびＢＬＡＳＴ２．０アルゴリズムであり、それらはそれぞれＡｌｔｓｃｈｕｌら（１９９０）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２１５：４０３－４１０およびＡｌｔｓｃｈｕｅｌら（１９７７）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９－３４０２において記載される。ＢＬＡＳＴ分析を行うためのソフトウェアは、Ｎａｔｉｏｎａｌ Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ Ｉｎｆｏｒｍａｔｉｏｎを通じて、公的に入手可能である。このアルゴリズムは、まず検索配列において短い文字列の長さWを同定することによって、ハイスコア配列ペア（ＨＳＰ）を同定することを含み、それはデータベース配列の同じ長さの文字列とアラインメントした場合に、いくらかの正の値の閾値スコアＴにマッチするまたはそれを満足する。Ｔは近傍文字列スコア閾値（ｎｅｉｇｈｂｏｒｈｏｏｄ ｗｏｒｄ ｓｃｏｒｅ ｔｈｒｅｔｈｏｌｄ）と呼ばれる（Ａｌｔｓｃｈｕｌら、前出）。これらの最初の近傍文字列ヒットが、それらを含むより長いＨＳＰを発見するための検索を開始するためのシードとして作用する。次いで累積アラインメントスコアが増加し得る限り、文字列のヒットを各配列に沿って両方向に延長する。累積スコアを、ヌクレオチド配列に関してはパラメーターＭ（マッチする残基のペアの報酬スコア；常に＞０）およびＮ（ミスマッチ残基のペナルティースコア；常に＜０）を用いて計算する。アミノ酸配列に関して、累積スコアを計算するために、スコアリングマトリックスを使用する。累積アラインメントスコアが、その最大達成値より量Ｘだけ減少した場合；１つまたは複数の負のスコア（ｎｅｇａｔｉｖｅ－ｓｃｏｒｉｎｇ）の残基アラインメントのために、累積スコアがゼロまたはそれ以下になった場合；またはいずれかの配列の末端に到達した場合、各方向における文字列ヒットの延長を停止する。ＢＬＡＳＴアルゴリズムパラメーターW、Ｔ、およびＸが、アラインメントの感度およびスピードを決定する。ＢＬＡＳＴＮプログラム（ヌクレオチド配列のための）は、１１の文字列長さ（W）、１０の期待値（Ｅ）、Ｍ＝５、Ｎ＝－４、および両方の鎖の比較をデフォルトとして使用する。アミノ酸配列に関して、ＢＬＡＳＴＰプログラムは、３の文字列長さ（W）、１０の期待値（Ｅ）、およびＢＬＯＳＵＭ６２スコアリングマトリックス（Ｈ

ｅｎｉｋｏｆｆおよびＨｅｎｉｋｏｆｆ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　８９：１０９１５（１９８９）を参照のこと）をデフォルトとして使用する。

【００１９】

配列同一性パーセントを計算することに加えて、ＢＬＡＳＴアルゴリズムはまた、２つの配列の間の類似性の統計的分析を行う（例えばＫａｒｌｉｎおよびＡｌｔｓｃｈｕｌ、Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ　９０：５８７３－５７８７（１９９３）を参照のこと）。ＢＬＡＳＴアルゴリズムによって提供される類似性の１つの尺度は、最少合計確率（Ｐ（Ｎ））であり、それは２つのヌクレオチド配列または２つのアミノ酸配列の間のマッチが、偶然によって起こる確率の指標を提供する。例えば、テスト核酸と参照核酸との比較において、もし最少合計確率が、約０．１より低ければ、より具体的には約０．０１より低ければ、そして最も具体的には約０．００１より低ければ、核酸配列は参照配列と類似しているとみなされる。

【００２０】

２つの核酸配列またはタンパク質が、実質的に同一であることのさらなる指標は、下記で記載するように、最初の核酸によってコードされるタンパク質が、２番目の核酸によってコードされるタンパク質と免疫学的に交差反応性であることである。従って、例えば、２つのペプチドが保存的置換によってのみ異なる場合、タンパク質は、典型的には２番目のタンパク質と実質的に同一である。２つの核酸配列が実質的に同一であるという別の指標は、下記で記載するように、ストリンジェントな条件下で２つの分子がお互いにハイブリダイズすることである。

【００２１】

「特異的にハイブリダイズする」という語句は、その配列が（例えば全細胞）ＤＮＡまたはＲＮＡの複雑な混合物中に存在する場合に、ストリンジェントな条件下で、特定のヌクレオチド配列のみに対する分子の結合、二本鎖形成、またはハイブリダイズを指す。

【００２２】

「ストリンジェントな条件」という用語は、プローブがその標的サブシーケンスにハイブリダイズするが、他の配列にはハイブリダイズしない条件を指す。ストリンジェントな条件は配列依存性であり、そして異なる状況において異なる。より長い配列は、より高い温度で特異的にハイブリダイズする。一般的に、ストリンジェントな条件を、規定されたイオン強度およびｐＨにおける、特異的配列についての熱的融点（Ｔｍ）より約１５℃低くなるよう選択する。Ｔｍは、標的配列に相補的なプローブの５０％が、平衡状態で標的配列にハイブリダイズする温度（規定されたイオン強度、ｐＨ、および核酸濃度において）である。（標的配列は一般的に過剰に存在するので、Ｔｍにおいて、５０％のプローブが平衡状態で占有される）。典型的には、ストリンジェントな条件は、ｐＨ７．０から８．３において、塩濃度が約１．０ＭのＮａイオンより少なく、典型的には約０．０１から１．０ＭのＮａイオン濃度（または他の塩）であり、そして温度が短いプローブ（例えば１０から５０ヌクレオチド）に関して少なくとも約３０℃、そして長いプローブ（例えば５０より長いヌクレオチド）に関して少なくとも約６０℃であるものである。ストリンジェントな条件はまた、ホルムアミドのような、不安定化剤の添加によって達成し得る。選択的または特異的なハイブリダイゼーションのために、ポジティブなシグナルは、典型的には少なくともバックグラウンドの２倍、より具体的にはそのハイブリダイゼーションはバックグラウンドのハイブリダイゼーションの１０倍である。代表的なストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は、以下のようであり得る：５０％のホルムアミド、５×ＳＳＣ、および１％のＳＤＳ、４２℃でインキュベート、または５×ＳＳＣ、１％のＳＤＳ、６５℃でインキュベート、６５℃における０．２×ＳＳＣ、および０．１％のＳＤＳで洗浄。ＰＣＲに関して、約３６℃の温度が、低いストリンジェンシーの増幅のために典型的であるが、アニーリング温度は、プライマーの長さに依存して、約３２～４８℃の間で変更し得る。高いストリンジェンシーのＰＣＲ増幅に関して、約６２℃の温度が典型的であるが、高いストリンジェンシーのアニーリング温度は、プライマーの長さおよび特異性に依存して、約５０℃から約６５℃の範囲であり得る。高いストリンジェンシーの増幅

および低いストリンジェンシーの増幅両方のための典型的なサイクル条件は、９０～９５℃で３０～１２０秒間の変性期、３０～１２０秒間続くアニーリング期、および約７２℃で１～２分間の伸長期を含む。低いストリンジェンシーの増幅反応および高いストリンジェンシーの増幅反応のためのプロトコールおよびガイドラインが、例えばＩｎｎｉｓら（１９９０）ＰＣＲ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ：Ａ Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｍｅｔｈｏｄｓ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ、Ｎ．Ｙ．において入手可能である。

【００２３】

簡便さのための単数形の用語の使用は、決してそのように制限することを意図しない。従って、例えば「ポリペプチド（ａ ｐｏｌｙｐｅｐｔｉｄｅ）」を含む組成物への言及は、１つまたは複数のそのようなポリペプチドへの言及を含む。それに加えて、「抗体（ａｎｔｉｂｏｄｙ）」への言及は、複数の抗体への言及を含む。さらに、「生物（ｏｒｇａｎｉｓｍ）」への言及は、複数の生物への言及を含む。

【００２４】

「増幅プライマー」または「ＰＣＲプライマー」という用語の使用は、特異的な核酸配列の増幅のための土台として働き得る、天然または合成いずれかのヌクレオチドを含むオリゴヌクレオチドを指す。それらは、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）プライマーおよびリガーゼ連鎖反応プライマーの両方を含む。

【００２５】

「抗体」という用語は、実質的に１つの免疫グロブリン遺伝子または複数の免疫グロブリン遺伝子によってコードされるポリペプチドを指し、それは１つまたは複数のタンパク質および／または抗原を含むがこれに限らない、組成物中に含まれる特定のタンパク質または抗原と相互作用および結合し得る。

【００２６】

「アジュバント」という用語は、免疫系の刺激を引き起こす１つまたは複数の物質として定義される。本出願の文脈において、１つまたは複数の免疫原性組成物抗原／単離物に対する免疫原性反応を増強または刺激するために、アジュバントを使用する。

【００２７】

ブタ（ｐｉｇ）またはブタ（ｓｗｉｎｅ）という用語は、他に示されなければ、全ての家畜化されたブタ種を含む。

【００２８】

合成遺伝子を産生する方法

本発明は、免疫原性特性を有する、新規Ｌａｗｓｏｎｉａタンパク質を提供する。あらゆる現在利用可能なバイオインフォマティクスの適用を、推定タンパク質を決定するために採用し得る。推定Ｌａｗｓｏｎｉａタンパク質配列の細胞の位置を予測するためにそのアルゴリズムを使用し得るコンピュータープログラムを使用して、バイオインフォマティクススクリーニングのさらなる工程を使用した。推定タンパク質の位置および／または機能を予測するいかなるバイオインフォマティクスプログラムも採用し得るが、この目的のためにＰＳＯＲＴを好都合に使用する。そのようなプログラムは、数千の推定Ｌａｗｓｏｎｉａタンパク質のどれが細胞表面に位置し、そして従って潜在的にワクチンにおいて有用であるかに関する情報を得るために有用である。本発明のタンパク質を、配列番号第１～１３番に列挙する。これらのタンパク質をコードする核酸を、配列番号第１４～３９番に示す。

【００２９】

本発明はさらに、推定遺伝子を合成する次の工程を提供する。遺伝子を、標準的な方法によって合成し得る。一旦得られたら、その配列を次いで当業者に公知の標準的な方法を使用して発現ベクターに挿入する。コドンの使用を、望ましい宿主細胞、例えばＥ．ｃｏｌｉにおいて最適なタンパク質発現を得るために最適化し得ることが認識される。

【００３０】

増幅の方法

一旦望ましい配列が同定されたら、ＰＣＲ増幅を使用して関心のあるポリヌクレオチド配列を調製し得る。ＰＣＲ増幅を、当該分野において基礎的な技術を有するいかなる人によっても、標準的な方法を用いて行い得る。ＰＣＲ増幅の多くの方法を行い得、そしてこれらのいずれも本発明のために使用し得る。

【００３１】

Ｌａｗｓｏｎｉａ遺伝子のクローニングの方法

Ｌａｗｓｏｎｉａ遺伝子を、標準的な組換えＤＮＡ技術の方法を用いて、当該分野で基礎的な技術を有するいかなる人によってもクローニングし得る。多くのベクターが、本発明の方法のために十分である。使用される正確なベクターは、本発明に決定的ではない。典型的には、その発現ベクターは、望ましい宿主細胞、例えばＥ．ｃｏｌｉにおいて有効なタンパク質発現を提供するよう選択およびデザインされる。

【００３２】

タンパク質の発現および精製

本発明は、新規Ｌａｗｓｏｎｉａポリペプチドの発現および精製のための方法を提供する。タンパク質発現およびタンパク質の精製のための周知の方法論を、本発明において使用し得る。

【００３３】

本発明のタンパク質を、Ｅ．ｃｏｌｉ、他の細菌宿主、酵母および昆虫細胞を含む、様々な宿主細胞において発現し得る。その宿主細胞は、例えば酵母細胞、細菌細胞、または糸状真菌細胞のような、微生物であり得る。適当な宿主細胞の例は、多くの他のものの中で、例えばＰｓｅｕｄｏｍｏｎａｓ ｓｐ．、Ｅｓｃｈｅｒｉｃｈｉａ ｓｐ．（例えばＥ．ｃｏｌｉ）、Ｂａｃｉｌｌｕｓを含む。適当な酵母細胞は、例えばＳａｃｃｈａｒｏｍｙｃｅｓ（例えばＳ．ｃｅｒｅｖｉｓｉａｅ）およびＣａｎｄｉｄａを含む、いくつかの属のいずれかのものであり得る。適当な昆虫細胞は、例えばＳｆ９およびＨｉ－５細胞を含む、いくつかの種類のものであり得る。

【００３４】

本発明のポリペプチドをコードする合成遺伝子を得た後、これらの合成遺伝子を、望ましい宿主細胞における発現のためにデザインした発現ベクターへクローニングし得る。ＤＮＡ配列の発現ベクターへのクローニングは、普通および当業者に周知の方法である。あらゆる数の特定の方法およびベクターを採用し得る。そのベクターは、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列および望ましい宿主細胞、例えばＥ．ｃｏｌｉにおける発現のために必要なエレメントを含むことのみ必要である。本発明のために使用し得る他の特定のベクターは、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列および望ましい昆虫細胞型、例えばＳｆ９またはＨｉ－５における発現のために必要なエレメントを含み得るバキュロウイルスベクターを含む。

【００３５】

適当な宿主細胞に入れた場合に、ポリヌクレオチドの発現を促進する遺伝子発現調節シグナルに操作可能に連結した、関心のあるポリヌクレオチドを含む構築物は、「発現カセット」と呼ばれる。本発明のタンパク質をコードする発現カセットは、多くの場合宿主細胞への導入のために発現ベクターに入れる。そのベクターは典型的には、発現カセットに加えて、ベクターが１つまたは複数の選択された宿主細胞において独立に複製することを可能にする核酸配列を含む。一般的に、この配列は、ベクターが宿主染色体ＤＮＡと独立に複製することを可能にするものであり、そして複製起点または自己複製配列を含む。そのような配列は、様々な細菌に関して周知である。例えば、プラスミドｐＢＲ３２２由来の複製起点は、ほとんどのグラム陰性細菌に適当である。あるいは、そのベクターは、宿主細胞ゲノム相補鎖に組み込まれ、細胞がＤＮＡ複製を行うときに複製されることによって複製し得る。

【００３６】

選択可能マーカーが、多くの場合、本発明のポリヌクレオチドを発現するために使用される発現ベクターへ組み込まれる。これらの遺伝子は、選択培地において増殖する形質転

換した宿主細胞の生存または増殖のために必要な、タンパク質などの遺伝子産物をコードし得る。選択遺伝子を含むベクターで形質転換されなかった宿主細胞は、その培地において生存しない。典型的な選択遺伝子は、アンピシリン、ネオマイシン、カナマイシン、クロラムフェニコール、またはテトラサイクリンのような、抗生物質または他の毒素に対する抵抗性を与えるタンパク質をコードする。あるいは、選択可能マーカーは、栄養要求性の欠損を補完する、または複合培地から入手可能でない決定的な栄養素を供給するタンパク質をコードし得る。多くの場合、そのベクターは、例えばＥ．ｃｏｌｉ、または他の細胞において機能的である１つの選択可能マーカーを有し、そこでベクターは宿主細胞へ導入される前に複製される。いくつかの選択可能マーカーが、当業者に公知である。

【００３７】

そのタンパク質の発現を、誘導性プロモーターを含むベクターを選択することによって誘導し得る。例えば、ＩＰＴＧ誘導性ベクター（ｐＭＡＬ－ｃ２ＸおよびｐＥＴ－２３ａ（＋））を採用し、Ｅ．ｃｏｌｉへ形質転換し、そして発現をＩＰＴＧによって誘導し得る。これらの方法は周知であり、そしてタンパク質発現のために高度に有用であることが示されている。

【００３８】

いくつかの実施態様において、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列を、タンパク質の発現を最適化するために、望ましい宿主におけるコドン使用に関して最適化する。例えば、もとのＬａｗｓｏｎｉａゲノムポリヌクレオチド配列を、配列番号第２７～３９番として列挙する；これらの核酸配列のＥ．ｃｏｌｉコドン最適化変異体を、配列番号第１４～２６番として列挙する。

【００３９】

発現したタンパク質の検出および精製の方法

本発明のタンパク質を、硫酸アンモニウム沈殿、アフィニティーカラム、カラムクロマトグラフィー、ゲル電気泳動等を含む、当該分野において標準的な方法によって精製し得る（一般的に、Ｒ．Ｓｃｏｐｅｓ、Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ、Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ、Ｎ．Ｙ．（１９８２）、Ｄｅｕｔｓｃｈｅｒ、Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ 第１８２巻：Ｇｕｉｄｅ ｔｏ Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ、Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．、Ｎ．Ｙ．（１９９０）を参照のこと）。少なくとも約７０％から９０％の均一性の、実質的に純粋な組成物を想定し、そしてより具体的には９８から９９％を想定する。

【００４０】

精製を促進するために、タンパク質をコードする核酸はまた、アフィニティー結合試薬が利用可能であるエピトープまたは「タグ」、すなわち精製タグのコーディング配列を含み得る。適当なエピトープの例は、ｍｙｃおよびＶ－５リポーター遺伝子を含む；これらのエピトープを有する融合タンパク質の組換え産生に有用な発現ベクターは、市販されている（例えばＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎ（Ｃａｒｌｓｂａｄ ＣＡ）ベクターｐｃＤＮＡ３．１／Ｍｙｃ－ＨｉｓおよびｐｃＤＮＡ３．１／Ｖ５－Ｈｉｓが、哺乳類細胞における発現に適当である）。本発明のタンパク質にタグを結合するために適当なさらなる発現ベクター、および対応する検出システムは、当業者に公知であり、そしていくつかが市販されている（例えば「ＦＬＡＧ」（Ｋｏｄａｋ、Ｒｏｃｈｅｓｔｅｒ ＮＹ）。適当なタグの別の例は、ポリヒスチジン配列であり、それは金属キレートアフィニティーリガンドに結合し得る。典型的には、６個の隣接するヒスチジンを使用するが、６個より多くをまたは６個未満を使用し得る。ポリヒスチジンタグの結合部分として働き得る適当な金属キレートアフィニティーリガンドは、ニトリロ三酢酸（ＮＴＡ）を含む（Ｇｅｎｅｔｉｃ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｍｅｔｈｏｄｓ、Ｊ．Ｋ．Ｓｅｔｌｏｗ編、Ｐｌｅｎｕｍ Ｐｒｅｓｓ、ＮＹのＨｏｃｈｕｌｉ，Ｅ．（１９９０）「Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ ｏｆ ｒｅｃｏｍｂｉｎａｎｔ ｐｒｏｔｅｉｎｓ ｗｉｔｈ ｍｅｔａｌ ｃｈｅｌａｔｉｎｇ ａｄｓｏｒｂｅｎｔｓ」；Ｑｉａｇｅｎ（Ｓａｎｔａ Ｃｌａｒｉｔａ、ＣＡ）から市販されている）。

【００４１】
精製タグはまた、マルトース結合ドメインおよびデンプン結合ドメインを含む。マルトース結合ドメインタンパク質の精製は、当業者に公知である。デンプン結合ドメインは、本明細書中で参考文献に組み込まれる、ＷＯ９９／１５６３６において記載される。ベータシクロデキストリン（ｂｅｔａｃｙｌｏｄｅｘｔｒｉｎ）（ＢＣＤ）－誘導体化樹脂を用いた、デンプン結合ドメインを含む融合タンパク質のアフィニティー精製が、本明細書中でその全体として参考文献に組み込まれる、２００３年５月５日に出願されたＵＳＳＮ６０／４６８，３７４において記載される。
【００４２】
タグとして使用するために適当な他のハプテンは、当業者に公知であり、そして例えばＨａｎｄｂｏｏｋ ｏｆ Ｆｌｕｏｒｅｓｃｅｎｔ Ｐｒｏｂｅｓ ａｎｄ Ｒｅｓｅａｒｃｈ Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ（第６版、Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｂｅｓ，Ｉｎｃ．、Ｅｕｇｅｎｅ ＯＲ）において記載される。例えば、ジニトロフェノール（ＤＮＰ）、ジゴキシゲニン、バルビツール酸塩（例えば米国特許第５，４１４，０８５号を参照のこと）、およびいくつかの型のフルオロフォアが、ハプテンとして有用であり、これらの化合物の誘導体も同様である。ハプテンおよび他の部分をタンパク質および他の分子に結合するためのキットが、市販されている。例えば、ハプテンがチオールを含む場合、ＳＭＣＣのようなヘテロ二官能性リンカーを使用して、タグを捕捉試薬に存在するリシン残基に結合し得る。
【００４３】
当業者は、その免疫原性活性を減少させることなく、本発明のタンパク質に改変を行い得ることを認識する。いくつかの改変を、クローニングまたは発現を促進するために行い得る。そのような改変は当業者に周知であり、そして例えば、例えばアミノ末端に追加して開始部位を提供するメチオニンを提供するための、ポリヌクレオチドのいずれかの末端におけるコドンの追加、または好都合に位置する制限酵素部位または終止コドンまたは精製配列を作成するためにいずれかの末端に置かれたさらなるアミノ酸（例えばポリＨｉｓ）を含む。
【００４４】
ワクチン組成物および使用：
本発明のタンパク質免疫原を、当業者に公知の様々な方法を使用して、Ｅ．ｃｏｌｉなどの発現宿主から発現、濃縮、および精製し得る。精製タンパク質免疫原を、免疫学的に有効な量の１つまたは複数の本発明のタンパク質、および適当な薬学的担体を含むワクチンへ処方し得る。従って、本発明のタンパク質を、単一の組成物または複数の組成物のいずれかで、個々にまたは組み合わせて投与し得る。処方されたワクチンを、薬学的に許容可能なアジュバントと組み合わせ得る。処方されたワクチンは、水性溶液、懸濁液、またはエマルションであり得る。本発明のワクチンにおける各免疫原の免疫学的に有効な量は、過度の実験無しに、当該分野で公知の方法によって決定可能である。本発明の特定の実施態様において、各免疫原の一般的な量は、５μｇおよび５００μｇの間の精製タンパク質である。本発明の特定の実施態様において、その量は１０μｇおよび２５０μｇの間である。さらにより特定の本発明の実施態様において、その量は５０μｇおよび２００μｇの間の各タンパク質である。
【００４５】
そのアジュバントは、あらゆる薬学的に許容可能なアジュバントであり得る。いくつかの実施態様において、そのアジュバントは水酸化アルミニウムである。他のものにおいて、そのアジュバントはリン酸アルミニウムである。さらに別の実施態様において、そのアジュバントはＥｍｕｎａｄｅ（登録商標）である。Ｅｍｕｎａｄｅ（登録商標）は、油、水および水酸化アルミニウムの組み合わせから成るアジュバントである。さらに別の実施態様において、そのアジュバントはＱｕｉｌＡである。さらに別の実施態様において、そのアジュバントはＱｕｉｌＡプラスコレステロールである。
【００４６】

いくつかの実施態様において、ＩＳＣＯＭをアジュバントとして使用する。ＩＳＣＯＭは、免疫刺激複合体のアクロニムであり、そしてその技術はＭｏｒｅｉｎら（Ｎａｔｕｒｅ　３０８：４５７－４６０（１９８４））によって記載された。ＩＳＣＯＭは以下のように形成される。ポリペプチドを、非イオン性界面活性剤（例えばＭｅｇａ－９、ＴｒｉｔｏｎＸ－１００、オクチルグルコシド、ジギトニン、ＮｏｎｉｄｅｔＰ－４０、$C_{12}E_8$、Ｌｕｂｒｏｌ、Ｔｗｅｅｎ－８０）を用いるような、標準的な方法を使用して可溶化する。脂質混合物を加えて、ＩＳＣＯＭの形成を補助する。その脂質混合物は、ホスファチジルコリンおよび合成コレステロールを含み得る。いくつかの実施態様において、その混合物をまず、撹拌しながら室温において非イオン性界面活性剤で処理し、次いでその脂質混合物（例えば等量のホスファチジルコリンおよびコレステロール）を加え、そして撹拌を続ける。ＱｕｉｌＡ（サポニンの精製グリコシド）をポリペプチド組成物に加え、そして撹拌を続ける。次いで非イオン性界面活性剤を除去する（例えば酢酸アンモニウムによるダイアフィルトレーションによって）。ＩＳＣＯＭのマトリクスが、ＱｕｉｌＡによって形成される。電子顕微鏡で見たＩＳＣＯＭ粒子の形態は、サイズが約３５ｎｍの典型的なかご様の構造を示す。ＩＳＣＯＭ形成段階を、タンジェンシャルフローダイアフィルトレーションの使用によって精密にし得る。ＩＳＣＯＭは、ＱｕｉｌＡの臨界濃度において自発的にミセルを形成する能力に基づいて、および精製抗原を捕捉する疎水性／親水性結合によって、精製抗原を多量体の形態で提示する。ＩＳＣＯＭの形成を、典型的なかご様の構造が形成されたことを確認するために電子顕微鏡によって確認し得る。ＱｕｉｌＡを、約０．０１から０．１％の最終濃度を与えるために加え得る。いくつかの実施態様において、最終濃度は約０．０５％である。

【００４７】

本発明のタンパク質およびアジュバントを含む組成物を、以下の標準的な方法の１つによって投与し得る：乱刺、筋肉内注射、皮下注射、腹腔内、鼻腔内投与、または経口投与。特定の実施態様において、１つまたは複数の本発明のポリペプチドを含む組成物を、筋肉内注射によって投与する。本発明の典型的な実施態様において、そのポリペプチドを、１０μｇおよび１０００μｇの間の用量で投与する。別の実施態様において、そのポリペプチドを、１０μｇおよび５００μｇの間の用量で投与する。さらに別の実施態様において、そのポリペプチドを、１００μｇおよび２５０μｇの間の用量で投与する。

【００４８】

１つまたは複数の本発明のポリペプチドを含む組成物の投与後に、保護的免疫反応を引き出すことにおけるその組成物の投与の有効性を調査し得る。

【００４９】

本発明のさらなる実施態様は、本発明のポリヌクレオチドを含む組成物を提供する。本発明は、ウイルスベクターゲノムへ挿入された外来性ＤＮＡ配列を含む組換えウイルスベクターを提供する。本発明によって企図されるウイルスベクターは、アデノウイルスベクター、ブタポックスウイルス、ＰＲＲＳウイルスベクターおよび仮性狂犬病ウイルスベクターから成るが、これに限らない。他の実施態様において、本発明は、細菌ベクターゲノムに挿入された外来性ＤＮＡ配列を含む細菌ベクターを提供する。本発明によって企図される細菌ベクターは、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ　ｃｈｏｌｅｒａｓｕｉｓベクター、Ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ　ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍベクター、Ｅ．ｃｏｌｉベクター、およびＬａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓベクターを含むがこれに限らない。配列番号第２７～３９番として列挙される、本発明のポリヌクレオチドを、当業者に周知の標準的な手順によって、ウイルスベクターまたは細菌ベクターへ組換え的に挿入し得る。別の特定の実施態様において、その組換えウイルスベクターは、その組換えベクターが投与された動物において複製し得る。特定の実施態様において、そのベクターは上記で列挙したものの１つである；しかし、これは網羅的なリストではなく、そして動物において発現し得るあらゆるベクターの使用が、本発明によって企図される。

【００５０】

本発明はさらに、配列番号第２７～３９番において列挙するような、Ｌａｗｓｏｎｉａ

由来の外来性ＤＮＡ配列、またはポリペプチドをコードするこれらの配列由来の外来性ＲＮＡを提供する。特定の実施態様において、本発明のポリヌクレオチドを、ウイルスベクターまたは細菌ベクターのオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）へ組換え的に挿入する。本発明の目的のために、ＯＲＦは、ＲＮＡへ転写され得る、そしてさらにアミノ酸配列またはポリペプチドへ翻訳され得るコドンを含む、組換えベクターのＤＮＡの部分として定義される；ＯＲＦは終止コドンを含まない。本発明の組換えベクターはまた、プロモーターを含む。本発明の目的のために、プロモーターは、ＲＮＡポリメラーゼが結合し、そしてそこで外来性および／または組換え的に挿入されたＤＮＡ配列の転写が開始する、組換えＤＮＡベクターの特定のＤＮＡ配列として定義される。特定の実施態様において、そのポリヌクレオチド配列は、プロモーターの制御下にある。

【００５１】

１つの実施態様において、組換えベクターから転写されたＲＮＡから翻訳されたＬａｗｓｏｎｉａポリペプチドは、それが発現する動物において、免疫原性的に活性な抗原である。より特定の実施態様において、このポリペプチドは、上記動物において抗体の産生を誘導し得る。さらにより特定の本発明の実施態様において、上記動物はブタである。

【００５２】

本発明はさらに、複製可能であり、そしてＬａｗｓｏｎｉｎａ由来である抗原性ポリペプチドをコードする、配列番号第２７～３９番で列挙されたような外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えアデノウイルスベクターを提供する。本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である、配列番号第１～１３番で列挙されたような、抗原性ポリペプチドをコードする外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、複製可能な組換えアデノウイルスベクターを提供する。

【００５３】

本発明はさらに、複製可能であり、そしてＬａｗｓｏｎｉａ由来である抗原性ポリペプチドをコードする、配列番号第２７～３９番で列挙されたような、外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えブタポックスウイルスベクターを提供する。本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である、配列番号第１～１３番で列挙されたような、抗原性ポリペプチドをコードする外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、複製可能な組換えブタポックスウイルスベクターを提供する。

【００５４】

本発明はさらに、複製可能であり、そしてＬａｗｓｏｎｉａ由来である抗原性ポリペプチドをコードする、配列番号第２７～３９番で列挙されたような、外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えＰＲＲＳウイルスベクターを提供する。本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である、配列番号第１～１３番で列挙されたような、抗原性ポリペプチドをコードする外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、複製可能な組換えＰＲＲＳウイルスベクターを提供する。

【００５５】

本発明はさらに、複製可能であり、そしてＬａｗｓｏｎｉａ由来である抗原性ポリペプチドをコードする、配列番号第２７～３９番で列挙されたような、外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換え仮性狂犬病ウイルスベクターを提供する。本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である、配列番号第１～１３番で列挙されたような、抗原性ポリペプチドをコードする外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、複製可能な組換え仮性狂犬病ウイルスベクターを提供する。

【００５６】

本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である抗原性ポリペプチドをコードする、配列番号第２７～３９番で列挙されたような、外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えＳａｌｍｏｎｅｌｌａ　ｃｈｏｌｅｒａｓｕｉｓベクターを提供する。本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である、配列番号第１～１３番で列挙されたような、抗原性ポリペプチドをコードする外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えＳａｌｍｏｎｅｌｌａ　ｃｈｏｌｅｒａｓｕｉｓベクターを提供する。

【００５７】
本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である抗原性ポリペプチドをコードする、配列番号第２７～３９番で列挙されたような、外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えＳａｌｍｏｎｅｌｌａ　ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍベクターを提供する。本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である、配列番号第１～１３番で列挙されたような、抗原性ポリペプチドをコードする外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えＳａｌｍｏｎｅｌｌａ　ｔｙｐｈｉｍｕｒｉｕｍベクターを提供する。
【００５８】
本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である抗原性ポリペプチドをコードする、配列番号第２７～３９番で列挙されたような、外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えＥ．ｃｏｌｉベクターを提供する。いくつかの実施態様において、Ｅ．ｃｏｌｉにおける発現のために最適化された、配列番号第１４～２６番を使用する。本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である、配列番号第１～１３番で列挙されたような、抗原性ポリペプチドをコードする外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えＥ．ｃｏｌｉベクターを提供する。
【００５９】
本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である抗原性ポリペプチドをコードする、配列番号第２７～３９番で列挙されたような、外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えＬａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓベクターを提供する。本発明はさらに、Ｌａｗｓｏｎｉａ由来である、配列番号第１～１３番で列挙されたような、抗原性ポリペプチドをコードする外来性ＤＮＡポリヌクレオチドを含む、組換えＬａｃｔｏｂａｃｉｌｌｕｓベクターを提供する。
【００６０】
ベクター免疫原を含むポリヌクレオチドを、免疫学的に有効な量の１つまたは複数の本発明のポリヌクレオチドベクターおよび適当な薬学的担体を含むワクチンへ処方し得る。従って、本発明のポリヌクレオチドを、個々に、または単一の組成物または複数の組成物のいずれかにおいて組み合わせて投与し得る。処方されたワクチンを、薬学的に許容可能なアジュバントと組み合わせ得る。処方されたワクチンは、水性溶液、懸濁液、またはエマルションであり得る。本発明のワクチンにおける各免疫原の免疫学的に有効な量は、過度の実験無しに、当該分野で公知の方法によって決定し得る。本発明のポリヌクレオチド免疫原を、ウイルス粒子または細菌粒子として投与し得る。特定の実施態様において、本発明のポリヌクレオチド配列を含むウイルス粒子または細菌粒子を、用量あたり10^4から10^9粒子の濃度で投与し得る。より特定の実施態様において、本発明のポリヌクレオチド配列を含むウイルス粒子または細菌粒子を、用量あたり10^5から10^8粒子の濃度で投与し得る。さらにより特定の実施態様において、本発明のポリヌクレオチド配列を含むウイルス粒子または細菌粒子を、用量あたり10^6から10^7粒子の濃度で投与し得る。
【００６１】
本発明の免疫原性組成物はまた、ウイルスベクターまたは細菌ベクターの非存在下で、免疫原性ポリペプチドをコードする核酸を含み得る。例えばＷｏｌｆｆら（１９９０）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４７：１４６５－１４６８；米国特許第５，５８０，８５９；５，５８９，４６６；５，８０４，５６６；５，７３９，１１８；５，７３６，５２４；５，６７９，６４７号；およびＷＯ９８／０４７２０を参照のこと。ＤＮＡに基づく送達技術の例は、「裸のＤＮＡ」、促進された（ブピバカイン（ｂｕｐｉｖｉｃａｉｎｅ）、ポリマー、ペプチドによる）送達、陽イオン性脂質複合体、および粒子による（「遺伝子銃」）、または圧による送達（例えば米国特許第５，９２２，６８７号を参照のこと）を含む。
【００６２】
本発明の別の実施態様において、各ポリヌクレオチド免疫原の一般的な量は、用量あたり１μｇおよび１０００μｇの間の各ポリヌクレオチドである。本発明の特定の実施態様において、その量は用量あたり１０μｇおよび５００μｇの間の各ポリヌクレオチドであ

る。さらにより特定の本発明の実施態様において、その量は用量あたり２５μｇおよび２５０μｇの間の各ポリヌクレオチドである。

【００６３】

有効性の１つの簡便な尺度は、コントロール動物に対するワクチン接種動物の、有病率および回腸の肉眼的および顕微鏡的病変の重症度の有意な（ｐ＜０．０５）減少に基づく。例えば、ワクチン接種動物およびコントロール動物の間の回腸病変スコアにおける有意な減少（ｔ－検定、ｐ＜０．０５）は、有効性の１つの有用な尺度である。さらに、冒された回腸組織の免疫組織化学的染色によって決定された、コントロールに対するワクチン接種動物のコロニー形成における有意な減少も検出し得る。そのようなアッセイを行う方法は周知である。

【００６４】

本発明はまた、本発明の免疫原および、Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ Ｈｙｏｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｅｒｙｓｉｐｅｌａｓ ｓｐｐ、ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｈ．ｐａｒａｓｕｉｓ、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｓｐｐ、ｓｔｒｅｐｔｏｃｃｏｕｓ ｓｕｉｓ、ｂｒａｃｈｙｓｐｉｒａ ｓｐｐ、ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ、ｐａｓｔｅｕｒｅｌｌａ、Ｅ．ｃｏｌｉ、コロナウイルス、パルボウイルス、ＰＲＲＳ、サーコウイルス、およびＳＩＶを含むがこれに限らない、他の病原体の少なくとも１つの抗原性成分を含む混合ワクチン（ｃｏｍｂｉｎａｔｉｏｎ ｖａｃｃｉｎｅ）を含む。

【００６５】

本発明のワクチンを、乱刺、筋肉内、皮下、鼻腔内、腹腔内、または経口方法を含むがこれに限らない、様々な方法を用いて動物に投与し得る。

【００６６】

本発明の別の実施態様において、その免疫原性組成物は、「バクテリン」と名付けられた不活化細菌を含み得る。不活化の方法は、本発明にとって決定的ではない。混入物質または干渉物質が除去された後に不活化が起こり得る。不活化は、公知の不活化薬剤の使用を含み得る。そのような不活化薬剤は、ＵＶ照射、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、バイナリーエチレンイミン（ＢＥＩ）、およびベータプロピオラクトンを含むがこれに限らない。いくつかの実施態様において、ＢＥＩはウイルスタンパク質を損傷せずにウイルス核酸を破壊することが公知であるので、ＢＥＩを使用する。それに加えて、ＢＥＩはタンパク質含有量および温度に影響されない。不活化薬剤を、溶液中の全ての細菌を不活化するのに十分な高い濃度で使用する。例えば、ＢＥＩを約０．５ｍＭおよび１０ｍＭの間の最終濃度で使用し得る。得られた不活化細菌が依然として免疫原性であることを保証するためにｐＨおよび温度を選択し得る。不活化は、その薬剤が溶液中の全ての細菌粒子と接触することを保証するために、適当な量の撹拌によって進行し得る。

【００６７】

不活化後、不活化薬剤を、不活化薬剤の不活化、不活化薬剤の沈殿、不活化薬剤のろ過、およびクロマトグラフィーを含むがこれに限らない方法、またはこれらの方法の混合を用いて除去し得る。例えば、ＢＥＩを、チオ硫酸ナトリウムの添加によって不活化し得る。残留ＢＥＩをまた、サイズ排除法を用いて細菌から分離し得る。

【００６８】

血清学的反応の検出

その免疫原性組成物が、血清学的反応を誘導するかどうかを同定する方法も、当該分野で周知である。例えば、テスト動物に、免疫原性組成物／ワクチンを注射し、そして血清中の抗ウイルス抗体を同定し得る。その免疫原性組成物が保護的であるかどうかを同定する方法が、当該分野において周知であり、そしてその免疫原性組成物によるテスト動物の免疫、続く疾患を引き起こすウイルスの接種、および疾患の症状の存在または欠如の同定を含む。

【００６９】

本発明のポリペプチドおよびポリヌクレオチドをまた、生物学的サンプルにおけるＬａｗｓｏｎｉａの検出のための診断的適用において使用し得る。寄生虫の存在を、免疫学的

結果に基づいて、いくつかのよく認識された特異的結合アッセイを用いて検出し得る。例えば、本発明のポリペプチドに対する標識化モノクローナル抗体を使用して、生物学的サンプルにおけるＬａｗｓｏｎｉａを検出し得る。あるいは、本発明の標識化ポリペプチドを使用して、生物学的サンプルにおけるＬａｗｓｏｎｉａ抗原に対する抗体の存在を検出し得る。そのサンプルは、血液、尿、腸管粘膜、または抗体を含んでいる可能性のある他のあらゆる体液であり得る。

【００７０】

多くのアッセイ形式が、標識化アッセイ成分を採用する。標識システムは、様々な形態であり得る。その標識を、当該分野において周知の方法によって、アッセイの望ましい成分に直接または間接的に結合し得る。広く様々な標識を使用し得る。いくつかの方法のいずれか１つによって、その成分を標識化し得る。検出の最もよくある方法は、３Ｈ、１２５Ｉ、３５Ｓ、１４Ｃ、または３２Ｐ標識化合物等によるオートラジオグラフィーの使用である。非放射性標識は、標識抗体に結合するリガンド、フルオロフォア、化学発光薬剤、酵素、および標識リガンドの特異的結合ペアメンバーとして働き得る抗体を含む。標識の選択は、必要な感度、化合物との結合の容易さ、安定性の必要条件、および利用可能な計測手段に依存する。

【００７１】

Ｌａｗｓｏｎｉａに対する抗体の存在を、ウェスタンブロット、ＥＬＩＳＡ等のような周知の技術を用いて測定し得る。従って本発明のポリペプチドをまた、これらの技術を用いて動物におけるＬａｗｓｏｎｉａ感染を検出するために使用し得る。

【実施例】

【００７２】

以下の実施例を本特許請求される発明を制限するためでなく、説明のために提供する。

【００７３】

実施例１：合成遺伝子を産生する方法

本発明は、ゲノムＤＮＡに基づいてタンパク質配列を予測する方法を提供する。本発明はさらに、前述の予測タンパク質の抗原の有用性を予測する方法を提供する。本発明によって包含される方法の前に、Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓ染色体およびプラスミドの完全なＤＮＡ配列を決定し、そしてＧｅｎｂａｎｋに電子的に寄託した。可能性のある保護的抗原を同定するために、バイオインフォマティクスの方法を、公開されたＬａｗｓｏｎｎｉａゲノムＤＮＡ配列およびプラスミドＤＮＡ配列に適用した。

【００７４】

Ｋａｐｕｒらは以前に、Ｌａｗｓｏｎｉａタンパク質配列を予測するために、推定または仮説のオープンリーディングフレームを得るためのバイオインフォマティクスアプローチの使用を報告した（ＵＳ２００６／００２４６９６）。本発明はさらに、発見された仮説のタンパク質の検証の方法を提供する。推定または仮説のＬａｗｓｏｎｉａタンパク質の細胞の位置を決定するために、プログラムＰＳＯＲＴを使用した。ＰＳＯＲＴプログラムは、タンパク質における局在化シグナルを認識することによって機能し、そして所定のタンパク質を、細胞内（すなわち細胞の細胞質内）に、細胞質膜に、外膜に、または複数の位置において見出し得るかどうかに関して情報を提供する。従って、以前の方法をＰＳＯＲＴと組み合わせて、潜在的に免疫原性である配列を得た。

【００７５】

バイオインフォマティクス方法論から得られた推定アミノ酸配列に基づいて、１３個の候補遺伝子を、Ｃｅｎｔｅｒ ｆｏｒ Ｂｉｏｌｏｇｉｃａｌ Ａｎａｌｙｓｉｓ ＣＢＳのソフトウェア、Ｓｉｇｎａｌ Ｐ３．０を用いて分析した。そのソフトウェアは、シグナル配列切断点の可能性の高い位置の同定を可能にする。提唱された推定シグナル配列を欠く推定成熟Ｌａｗｓｏｎｉａタンパク質配列を、ＤＮＡ２．０，Ｉｎｃ．（Ｍｅｎｌｏ Ｐａｒｋ、ＣＡ、ＵＳＡ）に提供した。次いでＥ．ｃｏｌｉにおける発現のためにコドン使用を最適化して、各遺伝子をコードするＤＮＡを合成した。これらの合成Ｌａｗｓｏｎｉａ遺伝子を、次いでＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎ Ｇａｔｅｗａｙ Ｅｎｔｒｙ Ｖｅｃ

ｔｏｒ、ｐＤＯＮＲ２２１にクローニングした。全ての合成遺伝子構築物を、両方の鎖について配列決定し、正確性を保証した。

【００７６】

実施例２：ＰＣＲ増幅の方法

前述の方法を使用して、１３個の推定タンパク質配列をさらなる分析のために選択した。１３個のアミノ酸配列をコードするＤＮＡを単離し、そしてポリメラーゼ連鎖反応方法論によって増幅した。１３個の推定タンパク質配列をコードするＤＮＡの増幅のために、２つのＰＣＲ反応を採用した。

【００７７】

ＰＣＲ増幅反応を、ＫＯＤ Ｈｏｔ Ｓｔａｒｔ ＤＮＡ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ（Ｎｏｖａｇｅｎ）を用いて、１００ｎｇの鋳型ＤＮＡ（配列番号第１４～２６番に列挙した合成遺伝子配列）、１５ｐＭの各プライマー、それぞれ０．２ｍＭのｄＡＴＰ、ｄＧＴＰ、ｄＣＴＰ、およびｄＴＴＰ、および１ｍＭの$MgSO_4$を含む５０μＬの反応混合物において、加熱および冷却の３５回サイクルによって行った。遺伝子の増幅のために使用した全てのプライマーは、配列番号第４０～６５番に列挙した配列に含まれる。

【００７８】

ＰＣＲ増幅を、Ａｃｃｕ－Ｐｒｉｍｅｒ ＧＣ Ｒｉｃｈ ＤＮＡ Ｐｏｌｙｍｅｒａｓｅ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を用いて、２００～５００ｎｇの鋳型ＤＮＡ（配列番号第１４～２６番で列挙した合成遺伝子配列）、１０ｐＭの各プライマー、それぞれ０．２ｍＭのｄＡＴＰ、ｄＧＴＰ、ｄＣＴＰ、およびｄＴＴＰ、および１．５ｍＭの$MgSO_4$を含む５０μＬの反応混合物において、加熱および冷却の３０回サイクルによって行った。遺伝子の増幅のために使用した全てのプライマーは、配列番号第４０～６５番に列挙した配列に含まれる。

【００７９】

実施例３：Ｌａｗｓｏｎｉａ遺伝子のクローニング

ｐＵＥＸ２－Ｍ３へのクローニングのために、プラスミドｐＤＯＮＲ－Ｇ０７５０１から単離されたＰａｃＩ／ＢａｍＨＩ断片を、ＥｃｏＲＩで消化し、そして得られたＥｃｏＲＩ／ＢａｍＨＩ断片を、ＱＩＡｑｕｉｃｋ スピンカラム（ＱＩＡＧＥＮ、Ｖａｌｅｎｃｉａ、ＣＡ）を用いて、２．０％アガロースゲルから精製した。合成Ｌａｗｓｏｎｉａ遺伝子Ｌａｗ０４６０－ＰＥＢＰ（配列番号第２３番）を含む精製ＤＮＡ断片を、次いでｐＵＥＸ２－Ｍ３プラスミドのＥｃｏＲＩ／ＢａｍＨＩ部位へ挿入した。２つの相補的な合成オリゴマーを一緒にアニーリングすることによって産生した、Ｎ末端Ｈｉｓタグを、ＥｃｏＲＩ部位においてこのプラスミドに加えた。配列リストは、Ｈｉｓタグアダプターを作成するために使用した２つのＤＮＡオリゴマーの配列を、配列番号第６６～６７番として含む。

【００８０】

ｐＥＴ－２３ａ（＋）またはｐＭＡＬ－ｃ２Ｘプラスミドベクターのいずれかへのクローニングのために、合成Ｌａｗｓｏｎｉａ遺伝子ＰＣＲ産物を、まずＱＩＡＥＸＩＩ Ｇｅｌ Ｅｘｔｒａｃｔｉｏｎ ＫｉｔまたはＱＩＡｑｕｉｃｋスピンカラム（ＱＩＡＧＥＮ、Ｖａｌｅｎｃｉａ、ＣＡ）の使用によって、１．０－２．０％アガロースゲルから精製し、次いでＢｇｌＩＩまたはＢａｍＨＩおよびＨｉｎｄＩＩＩのいずれかで消化し、そしていずれかのプラスミドベクターのＢａｍＨＩ／ＨｉｎｄＩＩＩ部位へ挿入した（表１）。これの１つの例外は、内部ＨｉｎｄＩＩＩ部位を含むＬａｗ００５０－ＡｓｍＡ（配列番号第１９番）であり、従ってＰＣＲ産物をＢｇｌＩＩおよびＸｂａＩで消化し、そしてプラスミドベクターのＢａｍＨＩ／ＸｂａＩ部位へ挿入した。

【００８１】

この過程は、１３個の発現プラスミドを産生した。これらのプラスミドを、ＤＮＡ配列決定によって確認した。ｐＥＴ－２３ａ（＋）およびｐＵＥＸ２－Ｍ３／Ｈｉｓによって発現される組換えタンパク質は、それぞれＣ末端またはＮ末端に６個のヒスチジン残基を有するＨｉｓタグタンパク質である。ｐＭＡＬ－ｃ２Ｘによって発現される組換えタンパ

ク質は、Ｎ末端にマルトース結合タンパク質（ＭＢＰ）タグを有する。

【００８２】

実施例４：タンパク質の発現および精製

Ｅ．ｃｏｌｉ株ＢＬ２１（ＤＥ３）／ｐＬｙｓＳのコンピテント細胞を、Ｎｏｖａｇｅｎ（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ、ＣＡ、ＵＳＡ）から購入した。コンピテントＥ．ｃｏｌｉ株ＤＨ５αおよびＴＯＰ１０を、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎから購入した。合成Ｌａｗｓｏｎｉａ遺伝子を、ＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎのＧＡＴＥＷＡＹエントリープラスミド、ｐＤＯＮＲ２２１へクローニングし、そしてＩｎｖｉｔｒｏｇｅｎのＥ．ｃｏｌｉ株ＯｍｎｉＭＡＸ２Ｔ１ Ｐｈａｇｅ－Ｒｅｓｉｓｔａｎｔ（Ｔ１）中で増殖させた。発現プラスミドｐＭＡＬ－ｃ２ＸおよびｐＥＴ－２３ａ（＋）を、それぞれＮｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ ＢｉｏｌａｂｓおよびＮｏｖａｇｅｎから購入した。発現プラスミドｐＵＥＸ２－Ｍ３を、Ｂｉｏｓｔａｒ Ｉｎｃ．（Ｓａｓｋａｔｏｏｎ、Ｓａｓｋａｔｃｈｅｗａｎ、Ｃａｎａｄａ）から得た。

【００８３】

Ｌｕｒｉａ Ｂｅｒｔａｎｉ（ＬＢ）肉汁培地を、標準的な手順に従って調製した。ＬＢプレートを、ｉｍＭｅｄｉａ Ａｍｐ（またはＫａｎ）Ａｇａｒ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ、Ｃａｒｌｓｂａｄ、ＣＡ、ＵＳＡ）から調製した。カルベニシリン二ナトリウム塩、カナマイシン硫酸塩、およびイソプロピル－β－Ｄ－チオガラクトピラノシド（ＩＰＴＧ）を、Ｔｈｅｒｍｏ Ｆｉｓｈｅｒ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ Ｉｎｃ．（Ｐｉｔｔｓｂｕｒｇｈ、ＰＡ、ＵＳＡ）から購入した。全ての制限エンドヌクレアーゼ、およびＤＮＡリガーゼを、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓ（Ｉｐｓｗｉｃｈ、ＭＡ、ＵＳＡ）から購入した。

【００８４】

ｐＭＡＬ－ｃ２Ｘから得られた発現プラスミドを、Ｅ．ｃｏｌｉ ＴＯＰ１０株へ形質転換した。細胞を、３７℃で、ＬＢ培地中で一晩増殖させた。１００ｇ／ｍＬのカルベニシリンを含む、ＬＢ培地を含むフラスコに、一晩培養物の１／４０容量を播種し、そして６００ｎｍにおける吸光度が０．６から０．８に達するまで、３７℃でインキュベートした。ＩＰＴＧを、０．２５ｍＭの最終濃度まで加え、そしてインキュベーションを３０℃で２～４時間続けた。７０００×ｇで１０分間の遠心によって、各タンパク質に関して２から３リットルの細胞を回収し、そして２５０～３００ｍＬの緩衝化食塩水溶液に再懸濁した。細胞を、ＡＰＶホモジナイザーによって破壊した。サンプルを１２，０００×ｇで１０分間遠心分離して、可溶性画分および不溶性画分を分離した。次いで、緩衝化食塩水溶液で平衡化した、Ａｍｙｌｏｓｅ Ｒｅｓｉｎ（ＮＥＢ、Ｉｐｓｗｉｃｈ、ＭＡ）を、可溶性画分へ加えた。その溶液を４℃で１～２０時間混合した後、その樹脂をカラムに詰め、そして２０カラム容積の緩衝化食塩水で洗浄した。１０ｍＭのマルトースを含む緩衝化生理食塩水の使用によって、組換えタンパク質をカラムから溶出した。

【００８５】

ｐＥＴ－２３ａ（＋）から誘導された発現プラスミドを、Ｅ．ｃｏｌｉ ＢＬ２１（ＤＥ３）ｐＬｙｓＳ株へ形質転換した。細胞を、３７℃で、ＬＢ培地中で一晩増殖させた。１００ｇ／ｍＬのカルベニシリンを含む、ＬＢ培地を含むフラスコに、一晩培養物の１／４０容量を播種し、そして６００ｎｍにおける吸光度が０．６から０．８に達するまで、３７℃でインキュベートした。ＩＰＴＧを、０．２５ｍＭの最終濃度まで加え、そしてインキュベーションを３０℃で２～４時間続けた。ＤＨ５α Ｅ．ｃｏｌｉ株へ形質転換した、ｐＵＥＸ２－Ｍ３／Ｈｉｓ－Ｇ０７５０１プラスミドを、同様の方式で増殖させ、そして次いで４２℃で２～３時間誘導した。７０００×ｇで１０分間の遠心分離によって、各タンパク質に関して２から３リットルの細胞を回収し、そして２５０～３００ｍＬのＬｙｓｉｓ緩衝液（５０ｍＭのリン酸塩緩衝液、ｐＨ８．０、３００ｍＭのＮａＣｌ、１０ｍＭのイミダゾール）に再懸濁した。細胞を、ＡＰＶホモジナイザーによって破壊した。サンプルを１２，０００×ｇで１０分間遠心分離して、可溶性画分および不溶性画分を分離した。次いで、Ｌｙｓｉｓ緩衝液で平衡化した、Ｎｉ－ＮＴＡ Ｓｕｐｅｒｆｌｏｗ

アガロースビーズ（ＱＩＡＧＥＮ）を可溶性画分に加えた。その溶液を４℃で１～２０時間混合した後、その樹脂をカラムに詰め、そして２０カラム容積のＷａｓｈ緩衝液（５０ｍＭのリン酸塩緩衝液、ｐＨ８．０、３００ｍＭのＮａＣｌ、２０ｍＭのイミダゾール）で洗浄した。Ｅｌｕｔｉｏｎ緩衝液（５０ｍＭのリン酸塩緩衝液、ｐＨ８．０、３００ｍＭのＮａＣｌ、２５０ｍＭのイミダゾール）の使用によって、その組換えタンパク質をカラムから溶出した。

【００８６】

本発明の１３個のＬａｗｓｏｎｉａ遺伝子を、Ｅ．ｃｏｌｉ株ＴＯＰ１０、ＢＬ２１（ＤＥ３）ｐＬｙｓＳまたはＤＨ５αでうまく発現させた。組換えタンパク質のうちの９個が、可溶性タンパク質として発現した（表１）。発現した組換えタンパク質のうちの２つ、Ｌａｗ００３３－ＯｓｔＡ（配列番号第１番）およびＬａｗ　Ｃ０４６－ＳＬＨ（配列番号第４番）は部分的に可溶性であり、そして２つ、Ｌａｗ００５－ＡｓｍＡ（配列番号第６番）およびＬａｗ００４３－ＰｔｆＨ（配列番号第８番）は不溶性である。タンパク質のサイズおよび精製タグの型を、表１に列挙する。ウェスタン分析は、１３個のタンパク質のうち５個が、ブタ抗Ｌａｗｓｏｎｉａ血清と反応したことを示した。ウェスタンブロット分析に基づいて、ブタ抗Ｌａｗｓｏｎｉａ血清と相互作用した５個のタンパク質は、Ｌａｗ０６９１－ＰＡＬ（配列番号第２番）、Ｌａｗ０９９５－ＯＰＲＭ（配列番号第３番）、Ｌａｗ０１４７－ＳｌｙＢ（配列番号第５番）、Ｌａｗ１０８２－ＦｅｏＡ（配列番号第１０番）、およびＬａｗ０４６０－ＰＥＢＰ（配列番号第１１番）であった。

【００８７】

【表１】

表1:組換えLawsonia Intracellularisタンパク質

組換えタンパク質	タグ	サイズ(kDa)	可溶性(S)または不溶性(I)
Law 0033-OstA (配列番号1)	MBP	130	部分的にS
Law 0691-PAL (配列番号2)	MBP	57	S
Law0995-OPRM (配列番号3)	MBP	80	S
Law C046-SLH (配列番号4)	MBP	130	部分的にS
Law 00147-SlyB (配列番号5)	MBP	55	S
Law 0050-AsmA (配列番号6)	MBP	160	I
Law 0065-LoIA (配列番号7)	MBP	67	S
Law 0043-PtfH (配列番号8)	MBP	128	I
Law 0649-OmpB (配列番号9)	MBP	131	S
Law 1082-FeoA (配列番号10)	MBP	55	S
Law 0460-PEBP (配列番号11)	His	20	S
Law B004-Fluf (配列番号12)	MBP	100	S
Law 1153-OmpA (配列番号13)	His	44	S

実施例５：発現したタンパク質の検出方法

βメルカプトエタノールの存在下で、ＮｕＰＡＧＥ　ＬＤＳ　Ｓａｍｐｌｅ　Ｂｕｆｆｅｒ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）と共に１０分間沸騰させた組換えタンパク質を、４％から１２％のＮｕＰＡＧＥ　Ｂｉｓ－Ｔｒｉｓゲル（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）を用いて、２００ボルトで３５分間、ＳＤＳ－ポリアクリルアミドゲル電気泳動（ＰＡＧＥ）にかけた。そのゲルを、ＳｉｍｐｌｙＢｌｕｅＴＭ　Ｓａｆｅ　Ｓｔａｉｎ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）で染色した、または０．２ポアサイズのニトロセルロース膜（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ）に移し、そしてブタ抗Ｌａｗｓｏｎｉａ血清、ウサギ抗マルトース結合タンパク質血清プラスホスファターゼ標識ヤギ抗ウサギ血清、ペルオキシダーゼ標識マウス抗Ｈｉｓ血清、またはホスファターゼ標識マウス抗Ｈｉｓ（Ｃ－ｔｅｒｍ）血清と反応させた。

【００８８】

マウスモノクローナル抗Ｈｉｓ（Ｃｔｅｒｍ）抗体を、Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎから得た。ペルオキシダーゼ標識マウスモノクローナル抗Ｈｉｓ抗体を、Ｒｏｃｈｅ　Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｓｃｉｅｎｃｅ（Ｉｎｄｉａｎａｐｏｌｉｓ、ＩＮ、ＵＳＡ）から得た。ウサギ抗

マルトース結合タンパク質抗体を、Ｎｅｗ Ｅｎｇｌａｎｄ Ｂｉｏｌａｂｓから得た。ホスファターゼ標識ヤギ抗ウサギ血清を、Ｋｉｒｋｅｇａａｒｄ ＆ Ｐｅｒｒｙ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｉｅｓ，Ｉｎｃ．（Ｇａｉｔｈｅｒｓｂｕｒｇ、ＭＤ、ＵＳＡ）から得た。ブタ抗Ｌａｗｓｏｎｉａ血清を、当業者に利用可能な標準的な方法によって、研究室内で調製した。

【００８９】

実施例６：ワクチン組成物および使用

本発明のタンパク質免疫原を、当該分野で公知の様々な方法を使用して、Ｅ．ｃｏｌｉのような発現宿主から、発現、濃縮、および精製した。精製したタンパク質免疫原を、免疫学的に有効な量の各免疫原および適当な薬学的担体を含むワクチンへ処方し得る。処方されたワクチンを、アジュバントと組み合わせ得る。処方されたワクチンは、水性溶液、懸濁液、またはエマルションであり得る。本発明のワクチンにおける各免疫原の免疫学的に有効な量は、過度の実験無しに、当該分野で公知の方法によって決定し得る。本発明の特定の実施態様において、各免疫原の一般的な量は、５μｇおよび５００μｇの間の精製タンパク質である。本発明の特定の実施態様において、その量は１０μｇおよび２５０μｇの間である。さらにより特定の本発明の実施態様において、その量は５０μｇおよび２００μｇの間の各タンパク質である。

【００９０】

本発明はまた、本発明の免疫原、およびＭｙｃｏｐｌａｓｍａ Ｈｙｏｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｅｒｙｓｉｐｅｌａｓ ｓｐｐ、ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｈ．ｐａｒａｓｕｉｓ、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｓｐｐ、ｓｔｒｅｐｔｏｃｃｏｕｓ ｓｕｉｓ、ｂｒａｃｈｙｓｐｉｒａ ｓｐｐ、ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ、ｐａｓｔｅｕｒｅｌｌａ、Ｅ．ｃｏｌｉ、コロナウイルス、パルボウイルス、ＰＲＲＳ、サーコウイルス、およびＳＩＶを含むがこれに限らない、他の病原体の少なくとも１つの抗原性成分を含む、混合ワクチンを含む。

【００９１】

本発明のワクチンを、乱刺、筋肉内、皮下、鼻腔内、腹腔内、または経口法を含むがこれに限らない、様々な方法を使用して動物に投与し得る。

【００９２】

実施例７：ワクチン接種調査の結果

毒性のＬａｗｓｏｎｉａ微生物による死滅化ワクチン（ｋｉｌｌｅｄ ｖａｃｃｉｎｅ）が、Ｌａｗｓｏｎｉａによって引き起こされる疾患に対して保護を提供し得るかどうかを試験するために、ブタにおいて調査を行った。この調査において、細菌の調製のために使用したＬａｗｓｏｎｉａ生物を、当該分野で確立した方法を用いて、Ｔ－１７５cm^2フラスコにおいて、マウス線維芽細胞（ＭｃＣｏｙ’ｓ）細胞系において増殖させた（例えばＬａｗｓｏｎら、Ｇｅｂｈａｒｔら）。当該分野で記載されたように、細菌を感染ＭｃＣｏｙ細胞から回収し、そして生きた細菌を、バイナリーエチレンイミン（ＢＥＩ）の添加によって不活化し、そして次いでＥｍｕｎａｄｅ（登録商標）アジュバント中で処方した。不活化細菌を、２つの用量レベル；用量あたり1×10^8および5×10^8細菌で試験した。有効性の主な尺度は、コントロール動物に対するワクチン接種動物の、有病率および回腸における肉眼および顕微鏡的病変の重症度の有意な（ｐ＜０．０５）抑制に基づいた。調査スケジュールおよび活動を表２に示す。この調査の結果を表３に示す。表３に示したデータは、ワクチン接種動物およびプラセボコントロールの間の、回腸病変スコアにおいて有意な減少があったことを示す（ｔ－検定、ｐ＜０．０５）。さらに、冒された回腸組織の免疫組織化学的染色によって決定されるように、プラセボコントロールに対してワクチン接種動物のコロニー形成における有意な減少が存在した。これらのデータは、死滅化または不活化Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓによるバクテリン（ｂａｃｔｅｒｉｎ）を用いたブタのワクチン接種は、この細菌によって引き起こされる疾患に対して有意な保護をもたらすことを実証する。

【００９３】

【表２】

表2：治療群およびワクチン接種/チャレンジ活動

治療群	動物の数	ワクチンの識別	用量/経路	ワクチン接種（調査日）	血清回収日	日数
A	15	B06-237-01A	2 ml/IM	0, 21	0, 21, 42, 63	63
B	15	B06-237-01B	2 ml/IM	0, 21	0, 21, 42, 63	63
C	15	B06-237-01C	2 ml/IM	0, 21	0, 21, 42, 63	63

【００９４】

【表３】

表3：陰窩上皮コロニー形成および回腸病変に対する低継代Lawsoniaを用いたワクチン接種の影響

治療	回腸病変スコア	IHCスコア	veIHCを有する動物の%
Vax- $5x10^8$	0.33 ± 0.15	1.1 ± 0.31	54
Vax- $1x10^8$	0.36 ± 0.14	1.56 ± 0.25	91
プラセボ	1.0 ± 0.19	2.53 ± 0.18	100

【００９５】

【化１】

配列

配列番号1
名称：Law 0033-OstA
長さ　：806
型:アミノ酸配列
生物　：*Lawsonia intracellularis*
LYNLFLPFILTNLIYYIIIPSLFIAFFPLQALSIINISEFAQPDINQSQTKWNLEADTLTTLSNNTIIEAKGNII
LTKGQDVFKADFARYYQKTGWLFLKGHVTVKMDENEINADEAEFNLNTKTGWLNNGNIFISSSHVYFSGARITKH
YGDYYTFNNVKVTTCDGPHPAWSISAKEAIVEVDGYAQLYDSTFKIKNIDVMYSPIFTIPAKQTRQSGFLNPNYG
ISQRRGIYYTQPYFLNIDQSSDLTFYAGLMTKIGPLGTVRYRSHKFTNQKTWFAASGIHDKNNIVTPGKDPVYPS
SQLVRNNHQRYWVRGMADGFIGNSTWCYISNLDYVSDQDYLREFDQGITGFSHSRSEMFQMFGRDIQEDDQSRLN
ALLIRKDWQRIGVVGNIRYEQDPTLGHGNHPTSQSELTQRIPQIDMFLYQGKLFQPLSLEGAIHLQSAYMYRAKG
TKGWRTELYPKVTLPIDLKYGSVITTVGLRETYYQTGIKSHTSPVAPHVPDTKTPRQTGQHRSLFNLQLESSTQA
HRIWRLKDKKTINLHSQSIGKTFCTALKHTIQPRICYSFIPREGQEKNPFYTLSDRILPQNDLTYSIVNILTKKN
VTISVDNNNNNNDNSVTPTLITSYYDLLYWNLSTGYDFEEERRKQYVEKYPKRPIKDIYSELELYILSWLTYSGK
TFISPYNGNITRHDHNIIFKSDRFSWKTGLSFRDQYYNYREHLQYRDENNIIMSSRLRLLQNSFSIQLLPNVSVT
LEDFRNLRELGTFGKTNSQLVEVTYLAQCYRIIGRYRYDGYDRSYTVLIEIPGLFE

配列番号2
名称：Law 0691-PAL
長さ　：162
型:アミノ酸配列
生物　：*Lawsonia intracellularis*
MEVFRRYGIVLVLLVVLSAGFGCCKKSVDVEQSLATECIAPAPAINAAAETITDGIIYFDFDKYDIKPEYRDMLQ
KKAELLKEYPCIRVRIEGNCDARGTQEYNLALGERRARAAYEYLVMLGVNPSQLEIISFGKERPAVEGTGPAVWA
KNRRDDFRIIAK

配列番号3
名称：Law 0995-OPRM
長さ　：459
型:アミノ酸配列
生物　：*Lawsonia intracellularis*
MKRLLLCIITCVIVSSCSFAPDYNRPHLELPEVWVSSPETGVPASMQWWKRFNDSTLDILVAEALQHNRDLIAAV
ARVDYAQAQLGVARSDLFPHFSGNAQATPVWVDHKRVTDGQSPYSANFSASWEIDIWGKIRNAKDAAFSQLMATE
AEKEGVFLSIAAQTANAYFLLRSLDLQCSIAERTVKTREDALSIYTAQYQKGFINKLDLTRAKTEVETARTALYQ
KRIAQENAETALSVLLGRSPRLIMDTAIERGVSMKDLSCIPVIPQGIPSELLERRPDIRQAEYTLKATSANIGVA
RAAWLPSISLTGLFGIVSPHLSDLLKNPLKTWSYGETGTVPILDFGQVYYNVEAAQAKEREALANYEKTVQNAFK
DIHDALIRQYESKNIVNSLERMVKELRIAVHLARTLYDNGYTSYLDVLDAERALFQSELDLASAWSDRLSSIVQV
CLALGGSWE

配列番号4
名称：Law C046-SLH
長さ　：796
型:アミノ酸配列

【００９６】

【化２】

生物 : *Lawsonia intracellularis*

MYKFIIFYIICIYETIAIYLLLGSFISYFNRVFLKKEVKILDTTKVKKYARIGTFIFLYVIISSQVSLSHNARIG
YEDKNSDRKSKLILHNKLQVNEFDELRSDIVVTMTPLNIYTSTQENKITTIEANLLRLEVIQRTQPVLLVDVESS
LRDIYLLLDEAEGCNREVERCLKIWETASEHTKVLHRQTRERLSNAVIECQPGLPTNNEGKVVSVPEEIVASIEN
KVLHTANQQRTARKMEVAISRHKNKNIFLGNKQKLLRYRIEVLKARVEGNPDPPIPILTPQVLELPLLPDPPPSP
PPLPQQTFQFPDFGDPLPEPLSPLGDDPPQNVLNQEPQPGPSSEIVSTLQPSPSVEDLSSSGVTLECQEELSSSD
EEILDDECLTSGDESSTSDGESQRSSPPTKRRKLTHTPPPSDRGSPPGSSSMLMPYYTYGQVSSLQGLQSTLMSL
EDQLATQLRLSIIRSINVLGVCCKDDNQLQPHTFQSKKQTKIKGGIGRSHSTDNEIRPTSVNNSLFFSQQWHVIA
SMDSRISNLETTISSRQAGVFTTPIDGLCLSLLYSNNKKKTQNFYGVVLDSVDGSAKAQIETDNILATVTWNKEH
QGFSGHLAGCYGWGKITNIRTIHFFDNESVSKGISSIHMSGGFIQLGYNVLLGKNYFLIPYVEYMRLAVAWDPYE
EHTGLIPCKVSGHKVHVCEKSIGLRNQWKITDNSQLQFWGSHIFTNHNTGEIASKPLSLSDYRNKISIPGYKKQY
IHREAGISYESNVMDTLSMELYSKLRVTKSIKDVTSYTSFTIRYVY

配列番号５
名称：Law 00147-SlyB
長さ ：152
型：アミノ酸配列
生物 : *Lawsonia intracellularis*

MQRCGLYIICLVLSIGMISCANFSASSFGGKQIRSAHIVEFGKVVSVKPVELEGNTPILGTITGGAVGGVLGSLI
GGGSGRILSTVVGAGAGAVAGNIAERKITTQQGLEIEVKLDNGQIISIVQGADQSFSPGERVRVLRGSDGSARVS
SI

配列番号６
名称：Law 0050-AsmA
長さ ：1075
型：アミノ酸配列
生物 : *Lawsonia intracellularis*

MRSFLISIVTLFLLGIIVFFGITFYFIKQHPQYITNKILSTISKQLKDTSISANSIGFHIVPFPKLYLTNVILQT
QKGDTIHIKECLITPKITNILSGNISIYSIEVIQPIASIILQNEQKKNSKTTGYAIPKQVSHLLQLITDSKLFIE
NGSITFQNNDYCFKIIGINGKIGVSKTLTSSLKLTADEIIWEIMNTVSNNSSTAQKSIEKVQLHIEDMPYKINTA
LLHDTSPLYDLFTNTKKTTFKVSGAIPTTNTANNITFDFTTKLEKDNSDKLTMHGQLHIEGTLPNGNTSIPILLS
VPFTTTSSEDMTHFPPLLIKNSKLLFDKTHIDLHGTIKNYDTLSNLFFDGTMDVKNFSFPYWFTFARQLPNGIQH
ALNQLSGEIKFTLSPQQVNAQKIIIHSLDTTFQGNGTVNNFLSPTITLSLATKQFNLNTLLPELKGKKSSQLSYP
KETFLTILSNLHNNNNNNNIKKTINYDITIQADHVTCWKFDGYQFICNIQPKPQGTQIHTNCKNFYDGSLSSSLL
LSNRHTIQLAIENIQLSDITNIITKEYELKGKASGTSRVNGHGDTLASFLSSLKGTIDLYVTDGLVKKTASEAIP
FSMLHLTCDSIGQPSKGNKSSTIPYKGKWSAEISSARWNGSITMDGLIQFSTTDWLSIKAENIPSKVVCSVSGVQ
AVAYGGISFDIDNSFLSFSNFQGEIHPKTALSGTIKTSSSTSNTRQWEGSLTVMTQNLRNLLSKLGYEPKNISPT
MLQYCKLQGDIFISPATIRLTNIQGILDNTLIKFSLNGLQTNPPSWTGDIQLSSLNLDKYLLSINQNKLKKSQEL
WPIELLNKVNIQSTLTLAELIYRKVPYTNVVVPISLNQGTLSITPITASLCDGKTEASFKACPLSTNGNSAQIDF
HYISKGVDMIKLSKKRQQEYLISGLGTFVINIQSIAKSSIDFLKNLQGKWRIFIQNGYFKRNTTTTQQNFSNIGA
TGNIINGIITNNNFAITGPGMVITGSGKIDLPEWNLDYLITIDMEGFPIAIPIKYTGSIDNPKRTINAAKLILST
IGSLGRDTIGLIQDIFSAPLKLLLP

配列番号７
名称：Law 0065-LoIA
長さ ：249
型：アミノ酸配列
生物 : *Lawsonia intracellularis*

LKNIINTIIFPKQRNKKMSQKFSMLQLILFFLTFIFYSYITDSYAESIPIVKELQQSYQSIKNFSATFTQELTHQ
ESGSKETRIGKLFFKKPLLVRWETNTPHEELLLINTNAVWDYLPDENLVYKYSTDIVKDSTSIIQVITGQVRLDK
NFSIIENNNNNNNELIFLKLYPKEPTTQMVEAFLWINKKSLLIHKVQSIDFYGNTNTITFINITPNTHIDNNIFQ
FTPPKDVTIENLQDSSTPERPLFN

配列番号８
名称：Law 0043-PtfH
長さ ：900
型：アミノ酸配列
生物 : *Lawsonia intracellularis*

MTKVGGSNPFSTLASMVGFSKSSSSSSSSKVAELKSKFEALGTLTKASPRPANGTQDTNRLSDRLFRGHYTVPAN
TASRVGGHLQRVDDNKSSSSAANVAKRAAAHSSFASSNPGLQGASGSSSGGTGGSITDQVKSRGITARNFSDSNN

【００９７】

【化３】

NSIGSGSSSGSILDQVRSQGITARGSSISSGNASGTSNVNDGTSSRDYGANVRNTRERFEAGPGGAQGESPGVKD
AKEATKGVSVSNLRGIFEGRGGADNNQVGRSSGGVSGASGSGGAQGTGGTSGLGGAQGTLGSGGLDGGGVSGAAG
GTSGASGAGGARGTADGITSPGAREAQETIKNAGVSVRDLAGRFSGAQGTSGASGAAGASGASGAGGAAGAAGGG
GLDRGGVSGSAGGTSGTSGAGGARGTADGITSPGAREAQETIKNAGVSVRDLAGRFSGAQGTSGASGASGAAGVA
GMPAGSGDVVDGLRRGGEDTVDGFGRNQGSGPIPSSADFVDGPIGGIQGAGGASGAAGAAGASGAAGASGAAEPL
PTNGTDQQIAEVVVRNAENGHFDGIDFSTQPGGVESNTGSIPGTDLIVQRDITPGEQGVYNNLSEMGSWMDSPNA
SPTNAPESLTDDHSVLTTLLNNKEGLQDTVPFPLAVGEGTVVTKTLDPDIDTSKIKIPLEIVFGSGSMYGSGIGG
GSSTISSSMSDDGSSSIGSTTRKNRAGEIISRIAMNQSPGAGSGGQTVVGGLGSGSSNINISGGRGGIVYGPMPN
VNVVAGDGLNRLQLGSGINPLALLQERMVNFSAAQLEHLHGQLTGMMAMMEAMPGVAFEGASVQMTLPEPGDTQT
MPSIRLSGFGEPRLRENIGQPGQPPTQEAFDALRNGPLNGVSELMSQVQEMITVRSEGSISLSRSSSLSDLSSEI

配列番号９
名称：Law 0649-OmpB
長さ　：851
型:アミノ酸配列
生物：*Lawsonia intracellularis*
MAYLSISKNQCKSFLITLVTIFIMTSIPQLAEAVEHFANGVPTVVQDVNVPADSYFGGADSAVGPNPIASTHLTI
STTQGFGQNALEFVVGGSLANGNGNPANINGDIVLIVENTNTQNSIIGGSMANAAPVTIGGSIFMTLRNVTAVDP
IFGGSVDVRFFAQQQPNEDQLVGGDININLENVTTPEFYGLGYANGVIPVNVLNRNFLVAVQGNITTNISNSNIA
TVMLGSHYDTTMAVGGNGTINVDNSTIGYLSASNSSDFVNPDLTNTVTFNIGPNNRIANIFASNNGVIPHFIVNM
DGSGTEIQELTLGNVIRGGLVLTSELNLSQGTINNLITGNEYYDRSGLRTTVNVRGGTIGVLTSGGSDYSELNFI
PGEISTILATNSIGNQDFASLSQVTIHQGAETLWGMRDEVFELQTNNLQLGGELFIPADGTGGVALITNHIIANS
GVITPVNMSPERMTPIIGFLEPTGEVAQLTIYGPLTVNLSHSPEILGKIITQPIPIAVTNSDVFGTSKLFVEHNT
KGLIWSDIIFNPQDKTWYLTNFRGSEDFYGLSAAREASNWLRQQHIWSLQRRSNKLLDHGVDGLWMNVQGGYEKL
DAAIGDAKMPWIMASLGYDFMHKLSDFYNLKALYGFGFGFATGKNKWNTINSTTNDIYMGLVGAYVGLMHEATGL
YGTVSGQFATNRTKTKCTGFDETYNWKENVPTEAIEIGWKWSIDEFKINPRGQVIFEQLSKHHFSLSQEGDTAIL
DKEFLTTTVIGISGEYDLDLRSKIIKLQASVDWIKGISGDFAAKSEVLNMKFKDKNDTSTFRGTLGASAQLLENF
EVHLDIFGDLGNDKGIGGQVGATYRF*

配列番号１０
名称：Law 1082-FeoA
長さ　:112
型:アミノ酸配列
生物：*Lawsonia intracellularis*
MSAVVDSMTPFPCSEHDELPVINEATACCVFDKVESYISLRDLKVGQHARVVRVQADGELGRRIRDMGLVPGTEV
TIVGRAPLKDPVALRLLGFTLSLRNSEADYVMVSPIS

配列番号１１
名称：Law 0460-PEBP
長さ　：183
型:アミノ酸配列
生物：*Lawsonia intracellularis*
MKKLILTFALLLVTNITTFASEPFTLSSPQMKNGTIATNQVYNSFGCKGKNISPSLEWKNPPEGTKSFAITMFDI
DAPTGSGWWHWIVYNIPTSTSSLVLGAGNDPKKLPKGAVQSINDFGFIGFGGPCPPVGAKLHHYIFTIYALNVET
MDLPATTMPAAIGFNIHMHMIDKATFTATYSRK

配列番号１２
名称：Law B004-Fluf
長さ　：971
型:アミノ酸配列
生物：*Lawsonia intracellularis*
MYNIINKHQIIKILLFSLCVFFFTLTEKQKIYAADVFFEGRTETLINVNKPFDSFFGGSDSTIGTLETGPTNLTF
TTVGAFRNSVFRIIGGGRSSFNNPNTVKGNVTLTVYNTDVERIIGAGISNRGLVTVTGSVNMKLENVSVTRGIYG
GVYTQNGHVLGSINMHLKNVQTPLLIGSGVSNGPNRITVNGDINIDVEDSRIQYVNITGEVDAGIKGNATLTVKK
STVELINSGRGNILGNLKISIADSNIRGLSPVDFGSSVYGDTSINVINSQINDITLIPRAGGMLVGPVTLDITSS
TIQNIQCGPVSQNNQLNTLNVTVNTSNITNLNLGSVEGHTISTTATVTDSNITNLNVGTFNGLGVTENASVIINS
GNITNLNVGTNVIAAATTINSSATIHDGLIANLTLGSQGNGRTMIATANVNGGTIGLLTMGSENFIPGTRPITEL
AILNMSGGLIERIIVGNANSSTINFTPGKRSIVKTINGPELPYLVNIQKGAMTQWGTKNMPFLLDTRNLILSGTL
ITSNIQLADLSITNLFVANGGTLVPRKLIPGNQPVIQFLGGPQSLLVIHQPLKVNLSLSPKLIGSSMVPLAFVSQ

【００９８】

【化４】

SFSSPDLFVKQTRSGLIWSDLEFDPTTSIWYVNNIQASQDFYSFSIARETTNWLRQQHIWTLQNRSSKLLDNEHY
GLWINVQGGHESLDTSIGSKAKMPWIMATAGYDYLQQLPRLDMKALYGLAFGASKGKSKWSSVNSTKNDAELGMV
SGYVGLIHNKTGLYSTLTLQLASSKLHTNSTGFYRNFKWTETTPTEALELGWKYTFNNGIKMNPRGQLIFEQTSK
HHFDLGIQNDKAILDKSQLITSSLGITVEYKLPVTTPINLYAGIERIKGQSGNFAISSQSLQMKFKHDNDTSVVR
ATIGTNILLGEHFNIHCDIFGDKGNDKGIGGQAGFTYKF

配列番号13
名称: Law 1153-OmpA
長さ : 398
型:**アミノ酸配列**
生物 : *Lawsonia intracellularis*
EIVMANVSGIPAPRLLSTTNQMTNAAAGNTNRATGSMNGRNLTQIKTPQSMIDNASEELTTSLESKSSDDFAIKD
RKRQGKGSDSLLKMVQEYTELTNDDTRNAKRAMLSQVLRASQSSQDVLEKTLEQFSNKTDAWASLAEIAQEYGAE
SPQPTGLKSVLDAMETLENEFGDEIKAGLKGALNSKEFTDIGSAAQLRDLYTTTVTITAAPDAVLARLLEEYESD
DDLDRAIDFLLSTLGGELESADPSMDKVHLQSVMGDIEKTQQLHSSHKQCTTALSRWKEKHKGGGENSTLTPLEM
MRELIALKNENFISPSSIDKIVDQADPQDIEKEVLFLQEMLAAVRKFPIMVFDNVENRVRVMGAVQDAVDDAVRR
EDEFLFQKEHPDVPLQPDENNIQ

配列番号14
名称: Law 0033-OstA
長さ : 2322
型:**合成核酸配列**
生物:**合成**
ATTATCAACATCTCTGAATTTGCACAACCGGACATCAACCAGTCTCAGACCAAATGGAACCTGGAAGCCGACACT
CTGACCACTCTGAGCAATAACACTATTATTGAAGCGAAGGGTAACATCATCCTGACCAAAGGCCAGGATGTGTTT
AAAGCTGACTTTGCACGCTACTATCAGAAGACGGGCTGGCTGTTTCTGAAAGGTCACGTTACCGTGAAAATGGAC
GAAAACGAGATCAATGCAGACGAAGCGGAATTCAACCTGAACACCAAAACCGGCTGGCTGAACAACGGCAATATC
TTCATTAGCTCTAGCCATGTGTACTTCAGCGGCGCGCGCATCACTAAACACTACGGCGATTACTACACTTTTAAC
AATGTTAAGGTGACTACCTGCGATGGTCCTCATCCGGCCTGGTCCATCTCTGCGAAAGAAGCTATTGTTGAAGTT
GATGGTTACGCGCAGCTGTATGACAGCACCTTTAAAATCAAGAACATTGATGTTATGTACAGCCCGATCTTCACC
ATCCCGGCGAAACAAACTCGTCAGTCCGGTTTCCTGAATCCGAATTATGGTATCTCTCAACGCCGTGGCATCTAT
TACACGCAGCCGTACTTCCTGAACATCGATCAGTCCTCTGACCTGACTTTCTACGCAGGTCTGATGACCAAAATC
GGTCCTCTGGGCACGGTGCGTTACCGCTCCCACAAATTTACGAACCAGAAGACCTGGTTCGCCGCTTCTGGTATC
CACGACAAAAACAACATCGTTACCCCGGGTAAAGACCCGGTTTATCCGTCTAGCCAACTGGTGCGCAATAATCAC
CAGCGCTACTGGGTTCGTGGTATGGCAGACGGTTTTATCGGTAACTCCACCTGGTGCTATATTTCTAATCTGGAT
TACGTGTCTGATCAGGACTATCTGCGTGAATTCGACCAGGGTATCACCGGTTTCTCTCACAGCCGCTCCGAGATG
TTCCAGATGTTTGGCCGTGACATCCAGGAAGACGATCAGTCCCGCCTGAACGCCCTGCTGATCCGTAAAGACTGG
CAGCGTATCGGCGTAGTGGGTAACATCCGTTACGAACAGGATCCAACTCTGGGTCACGGCAACCACCCGACTTCC
CAAAGCGAGCTGACTCAGCGCATTCCGCAGATTGATATGTTCCTGTACCAGGGTAAGCTGTTTCAGCCGCTGAGC
CTGGAAGGCGCGATCCACCTGCAGAGCGCCTACATGTATCGTGCAAAAGGTACCAAAGGCTGGCGTACCGAACTG
TACCCGAAAGTTACCCTGCCGATCGACCTGAAATACGGCTCTGTAATTACGACGGTTGGTCTGCGCGAAACTTAT
TACCAGACCGGTATCAAATCCCACACCTCTCCGGTAGCTCCGCACGTTCCGGACACCAAGACTCCGCGCCAAACC
GGTCAGCACCGCTCTCTGTTCAACCTGCAGCTGGAATCCAGCACCCAGGCACACCGCATTTGGCGTCTGAAAGAT
AAGAAAACCATCAACCTGCACAGCCAGTCTATTGGCAAAACTTTTTGTACTGCTCTGAAACACACGATCCAGCCA
CGTATCTGCTACTCTTTCATCCCGCGCGAGGGCCAGGAGAAAAACCCGTTCTATACTCTGAGCGATCGCATCCTG
CCGCAGAACGATCTGACCTATTCCATCGTAAACATCCTGACTAAGAAAAATGTCACCATTTCCGTCGACAACAAT
AACAACAATAACGATAATAGCGTTACTCCGACTCTGATTACCTCTTACTACGACCTGCTGTACTGGAACCTGAGC
ACTGGCTATGACTTCGAAGAAGAACGTCGTAAGCAGTACGTAGAAAAATACCCGAAACGCCCTATTAAAGATATC
TACTCCGAACTGGAACTGTACATTCTGTCCTGGCTGACCTACTCTGGCAAAACCTTCATCTCTCCGTACAACGGC
AACATCACCCGTCACGATCACAACATCATCTTCAAGAGCGATCGCTTTTCCTGGAAAACCGGCCTGTCTTTCCGT
GACCAGTATTACAACTACCGTGAACACCTGCAGTACCGTGATGAAAACAATATCATCATGAGCTCCCGTCTGCGT
CTGCTGCAAAACTCTTTCTCTATTCAGCTGCTGCCTAATGTGAGCGTAACCCTGGAGGATTTTCGCAACCTGCGT
GAACTGGGCACCTTCGGTAAGACCAACTCTCAACTGGTGGAAGTTACGTATCTGGCTCAATGCTACCGCATTATT
GGTCGTTATCGCTACGATGGTTACGACCGTAGCTACACTGTCCTGATTGAAATCCCTGGTCTGTTTGAATAA

配列番号15
名称: Law 0691-PAL
長さ : 414
型:**合成核酸配列**
生物:**合成**
AAAAGCGTAGATGTAGAACAAAGCCTGGCAACCGAATGTATCGCACCGGCGCCGGCAATCAACGCGGCGGCAGAA

【００９９】

【化５】

ACGATCACGGACGGTATCATTTACTTCGACTTCGATAAATACGACATCAAGCCGGAATACCGTGACATGCTGCAG
AAGAAAGCTGAACTGCTGAAGGAATACCCGTGCATCCGTGTTCGCATCGAAGGCAACTGTGATGCGCGCGGTACT
CAGGAATACAATCTGGCGCTGGGTGAACGTCGTGCGCGTGCGGCCTATGAATACCTGGTTATGCTGGGTGTGAAC
CCGAGCCAGCTGGAAATCATCAGCTTCGGCAAAGAGCGCCCAGCTGTTGAGGGTACCGGTCCGGCTGTGTGGGCG
AAAAACCGTCGTGACGATTTCCGCATCATCGCAAAATAA

配列番号16
名称：Law 0995-OPRM
長さ　：1326
型：合成核酸配列
生物：合成
TTCGCTCCAGATTACAACCGTCCACACCTGGAACTGCCGGAAGTCTGGGTTTCTAGCCCGGAAACTGGCGTGCCG
GCATCCATGCAGTGGTGGAAACGTTTTAATGACTCTACGCTGGACATCCTGGTGGCCGAAGCCCTGCAGCACAAC
CGTGATCTGATCGCGGCGGTTGCGCGTGTAGATTACGCACAGGCTCAGCTGGGTGTTGCGCGCTCTGACCTGTTT
CCGCATTTTAGCGGTAACGCGCAGGCGACTCCTGTTTGGGTTGACCATAAACGTGTAACTGATGGTCAGAGCCCT
TACAGCGCGAACTTCAGCGCTAGCTGGGAGATTGATATCTGGGGTAAAATTCGTAACGCTAAAGATGCTGCGTTC
AGCCAACTGATGGCAACCGAAGCAGAAAAAGAGGGTGTGTTCCTGTCTATCGCAGCACAGACTGCTAACGCATAT
TTCCTGCTGCGCTCTCTGGACCTGCAATGCTCTATCGCTGAACGCACGGTAAAAACTCGTGAAGACGCACTGTCT
ATCTATACCGCGCAGTATCAAAAGGGTTTTATCAACAAACTGGATCTGACGCGCGCGAAAACCGAAGTTGAGACT
GCTCGTACCGCGCTGTACCAGAAACGTATCGCACAGGAGAACGCTGAAACCGCGCTGTCTGTCCTGCTGGGCCGC
AGCCCGCGTCTGATTATGGATACTGCTATTGAACGCGGCGTATCCATGAAAGATCTGAGCTGTATCCCGGTTATC
CCGCAGGGCATTCCGTCCGAACTGCTGGAACGTCGTCCTGATATCCGCCAGGCAGAGTATACCCTGAAAGCAACC
TCCGCGAACATCGGTGTGGCGCGCGCGGCGTGGCTGCCGTCTATTTCTCTGACCGGCCTGTTTGGTATCGTTTCC
CCGCACCTGTCCGATCTGCTGAAAAATCCTCTGAAAACCTGGAGCTATGGTGAAACCGGCACTGTACCAATCCTG
GACTTCGGTCAGGTTTACTATAACGTTGAAGCGGCCCAGGCGAAGGAACGTGAGGCTCTGGCCAACTACGAGAAA
ACCGTTCAGAACGCCTTCAAAGACATTCACGACGCGCTGATCCGTCAGTATGAATCCAAAAACATCGTCAACAGC
CTGGAACGTATGGTGAAGGAACTGCGTATCGCCGTCCATCTGGCTCGTACTCTGTACGACAACGGCTACACCTCT
TACCTGGACGTTCTGGATGCCGAACGCGCGCTGTTCCAGAGCGAGCTGGATCTGGCGAGCGCGTGGAGCGATCGT
CTGTCTAGCATCGTTCAGGTTTGCCTGGCGCTGGGTGGCTCCTGGGAATAA

配列番号17
名称：Law C046-SLH
長さ　：2286
型：合成核酸配列
生物：合成
AAAAAGGAAGTTAAAATCCTGGACACCACTAAAGTAAAAAAGTATGCGCGTATCGGCACGTTTATCTTTCTGTAC
GTAATCATCAGCTCCCAGGTGTCTCTGTCTCACAACGCCCGTATCGGCTATGAAGACAAAAACAGCGACCGCAAG
AGCAAGCTGATCCTGCATAACAAACTGCAGGTCAACGAATTCGACGAACTGCGCAGCGACATCGTTGTGACTATG
ACGCCTCTGAACATCTACACCTCCACCCAGGAAAACAAAATCACCACCATCGAAGCGAATCTGCTGCGTCTGGAA
GTCATTCAACGTACTCAGCCGGTGCTGCTGGTTGATGTTGAATCTTCTCTGCGTGATATCTATCTGCTGCTGGAC
GAAGCGGAAGGTTGCAATCGCGAAGTGGAGCGCTGTCTGAAAATCTGGGAAACCGCGTCCGAACACACTAAGGTA
CTGCACCGTCAGACTCGTGAGCGTCTGAGCAATGCCGTTATCGAATGTCAGCCGGGTCTGCCTACCAACAATGAA
GGTAAAGTAGTCTCTGTTCCGGAGGAAATCGTCGCGTCTATCGAGAACAAAGTTCTGCACACGGCGAACCAGCAG
CGTACGGCACGTAAAATGGAAGTGGCCATTTCCCGTCACAAAAACAAGAATATCTTTCTGGGTAACAAACAAAAG
CTGCTGCGCTATCGCATTGAAGTTCTGAAAGCTCGTGTGGAAGGCAACCCGGATCCGCCGATTCCGATTCTGACC
CCGCAGGTTCTGGAACTGCCGCTGCTGCCGGATCCACCGCCATCTCCGCCGCCTCTGCCGCAGCAAACCTTCCAG
TTCCCGGACTTCGGCGACCCACTGCCGGAACCACTGAGCCCGCTGGGCGATGATCCACCGCAGAACGTACTGAAC
CAGGAACCGCAGCCAGGTCCGTCTTCCGAAATCGTCTCCACTCTGCAGCCATCTCCGTCTGTTGAGGATCTGAGC
TCCTCCGGCGTCACTCTGGAGTGCCAGGAGGAACTGTCTTCCAGCGATGAAGAGATCCTGGATGACGAGTGCCTG
ACCTCCGGCGACGAATCTTCTACTTCCGATGGTGAAAGCCAACGTTCCAGCCCGCCGACCAAACGCCGCAAGCTG
ACCCACACTCCTCCACCATCTGACCGTGGTTCCCCGCCAGGCTCTTCTTCTATGCTGATGCCGTACTATACCTAC
GGTCAGGTGTCTTCTCTGCAGGGTCTGCAGTCTACTCTGATGTCTCTGGAAGACCAGCTGGCTACTCAGCTGCGC
CTGAGCATTATCCGTTCTATTAACGTCCTGGGTGTTTGCTGCAAAGACGACAACCAGCTGCAGCCGCACACCTTC
CAATCCAAGAAACAAACCAAAATCAAGGGTGGTATCGGTCGTTCCCACTCTACCGACAACGAAATTCGTCCGACG
TCCGTTAACAATAGCCTGTTCTTTAGCCAGCAGTGGCATGTGATCGCTTCTATGGACAGCCGTATCTCTAACCTG
GAAACTACTATCTCCTCCCGCCAAGCAGGTGTTTTCACCACTCCGATTGATGGCCTGTGCCTGTCTCTGCTGTAC
TCCAACAACAAGAAAAAAACGCAGAATTTCTACGGCGTTGTTCTGGACTCCGTCGATGGCAGCGCAAAAGCCCAG
ATTGAAACCGACAATATCCTGGCGACGGTAACTTGGAACAAAGAACACCAGGGTTTCAGCGGCCACCTGGCCGGC
TGCTACGGCTGGGGTAAAATCACCAACATCCGCACCATCCACTTCTTTGATAACGAGAGCGTTTCTAAAGGTATC
AGCAGCATCCATATGTCCGGCGGCTTCATCCAGCTGGGTTACAACGTCCTGCTGGGCAAAAACTACTTTCTGATC
CCGTATGTGGAATACATGCGTCTGGCAGTGGCATGGGATCCGTACGAAGAACACACTGGTCTGATTCCGTGTAAA

【０１００】

【化６】

GTTTCTGGCCACAAAGTTCACGTTTGCGAGAAAAGCATCGGCCTGCGCAACCAATGGAAAATCACTGACAATTCC
CAGCTGCAGTTCTGGGGTAGCCATATTTTCACCAACCATAACACCGGCGAAATCGCCTCCAAACCGCTGTCCCTG
AGCGATTACCGCAACAAAATCTCTATCCCGGGCTACAAAAAGCAGTACATCCACCGCGAGGCGGGCATTTCCTAT
GAGTCTAACGTTATGGATACTCTGTCCATGGAACTGTATTCTAAGCTGCGTGTGACTAAATCCATTAAAGATGTG
ACGAGCTACACCTCTTTTACCATCCGTTATGTGTAC

配列番号18
名称: Law 00147-SlyB
長さ : 396
型:合成核酸配列
生物:合成
TTAATTAAtaGAATTCacGGTAAACAGATCCGTAGCGCACACATCGTTGAATTTGGTAAAGTTGTTTCTGTTAAA
CCGGTTGAACTGGAAGGTAACACCCCGATCCTGGGTACCATCACCGGTGGTGCGGTTGGTGGCGTGCTGGGTTCT
CTGATTGGCGGTGGTTCCGGTCGTATTCTGTCTACTGTTGTTGGTGCAGGTGCTGGCGCCGTCGCGGGCAACATC
GCTGAACGTAAAATCACCACTCAGCAGGGTCTGGAGATCGAAGTTAAACTGGACAATGGCCAGATCATCAGCATC
GTTCAAGGTGCGGATCAGAGCTTCTCCCCGGGTGAACGTGTTCGCGTTCTGCGTGGTTCCGACGGCAGCGCACGC
GTCAGCTCTATCTGAGGATCC

配列番号19
名称: Law 0050-AsmA
長さ : 3189
型:合成核酸配列
生物:合成
TTAATTAAtaGAATTCaCATCACGTTCTACTTCATCAAACAGCACCCGCAGTATATCACCAACAAAATTCTGTCC
ACCATCTCTAAACAGCTGAAGGACACCTCTATCTCTGCGAACAGCATCGGCTTCCACATCGTACCGTTCCCTAAA
CTGTATCTGACCAACGTAATCCTGCAGACCCAGAAAGGCGATACCATCCACATCAAAGAATGCCTGATCACTCCG
AAAATCACGAACATTCTGTCCGGTAACATCAGCATCTACTCCATCGAGGTTATTCAGCCAATTGCATCCATTATC
CTGCAGAACGAGCAGAAAAAGAACTCTAAAACGACTGGTTATGCCATTCCAAAACAGGTGAGCCACCTGCTGCAG
CTGATCACCGATAGCAAACTGTTTATCGAGAACGGCAGCATCACCTTTCAGAACAACGACTACTGCTTTAAAATC
ATTGGTATCAACGGCAAAATTGGTGTTAGCAAAACTCTGACGTCTTCTCTGAAACTGACTGCAGACGAAATCATT
TGGGAGATCATGAACACCGTATCCAACAACTCCAGCACCGCGCAGAAATCTATTGAAAAAGTGCAACTGCACATC
GAAGACATGCCATACAAAATCAACACCGCCCTGCTGCACGACACGAGCCCGCTGTACGATCTGTTTACTAATACC
AAGAAGACCACCTTCAAGGTGTCCGGCGCTATCCCGACCACCAACACCGCAAACAACATTACCTTTGACTTTACC
ACCAAACTGGAAAAAGATAACTCCGACAAGCTGACCATGCACGGTCAGCTGCACATTGAGGGTACTCTGCCGAAC
GGCAACACCTCCATCCCGATCCTGCTGTCCGTTCCGTTTACCACTACTAGCTCCGAAGACATGACGCATTTCCCT
CCGCTGCTGATCAAAAACAGCAAGCTGCTGTTTGATAAAACCCACATCGATCTGCACGGCACCATTAAAAACTAT
GATACCCTGTCCAACCTGTTTTTCGACGGTACCATGGATGTGAAAAACTTCTCTTTTCCGTATTGGTTTACCTTC
GCCCGTCAGCTGCCGAATGGCATTCAGCATGCGCTGAACCAGCTGTCCGGCGAAATTAAATTCACTCTGTCCCCG
CAGCAAGTAAACGCACAGAAAATCATCATTCACAGCCTGGACACTACTTTTCAGGGTAACGGCACCGTTAACAAC
TTCCTGTCCCCTACTATTACTCTGAGCCTGGCTACCAAACAGTTCAACCTGAACACCCTGCTGCCAGAACTGAAA
GGTAAAAAGTCCAGCCAGCTGTCTTACCCTAAGGAAACTTTCCTGACCATCCTGAGCAACCTGCACAACAACAAT
AACAACAACAACATTAAGAAAACGATCAACTACGATATCACCATCCAGGCGGACCATGTGACTTGTTGGAAGTTT
GACGGCTATCAGTTCATTTGTAACATTCAGCCGAAACCGCAGGGCACGCAGATCCATACCAACTGTAAAAACTTC
TACGATGGCTCCCTGTCTTCCTCCCTGCTGCTGAGCAATCGTCACACCATCCAGCTGGCCATTGAGAACATTCAG
CTGTCTGATATCACTAACATTATCACTAAAGAGTACGAGCTGAAAGGCAAAGCCTCCGGCACTTCCCGTGTCAAC
GGTCACGGTGATACTCTGGCTAGCTTTCTGAGCTCTCTGAAAGGCACCATCGACCTGTACGTAACCGACGGCCTG
GTCAAGAAAACCGCGTCTGAAGCCATCCCGTTCTCTATGCTGCACCTGACTTGTGATTCTATCGGCCAGCCGAGC
AAGGGTAACAAGAGCTCCACCATTCCATACAAAGGTAAATGGTCTGCGGAAATTTCTTCTGCTCGCTGGAACGGT
TCCATCACTATGGACGGCCTGATTCAGTTCTCCACCACCGATTGGCTGAGCATCAAAGCAGAAAACATTCCGAGC
AAAGTGGTCTGCAGCGTTAGCGGTGTTCAGGCGGTCGCGTATGGCGGCATCTCTTTTGATATCGATAACAGCTTC
CTGAGCTTCAGCAACTTCCAAGGCGAAATTCACCCGAAAACCGCCCTGAGCGGTACCATCAAGACCAGCTCCTCC
ACCTCTAACACCCGTCAATGGGAAGGTTCCCTGACTGTCATGACCCAGAACCTGCGCAACCTGCTGTCCAAACTG
GGTTATGAACCGAAAAATATCAGCCCAACCATGCTGCAGTATTGCAAGCTGCAAGGTGACATTTTCATTTCCCCT
GCTACTATTCGCCTGACTAACATCCAGGGTATCCTGGACAACACCCTGATTAAGTTTTCCCTGAACGGTCTGCAG
ACTAACCCACCGAGCTGGACCGGCGACATCCAGCTGTCCTCCCTGAACCTGGACAAATATCTGCTGTCTATTAAC
CAAAACAAACTGAAAAAGTCCCAGGAACTGTGGCCTATTGAACTGCTGAACAAAGTTAACATTCAGTCTACTCTG
ACCCTGGCGGAGCTGATCTATCGCAAAGTGCCGTACACCAACGTGGTAGTGCCTATCTCTCTGAATCAGGGCACC
CTGTCTATCACCCCGATCACCGCCAGCCTGTGCGACGGTAAAACCGAAGCGTCCTTCAAAGCTTGCCCACTGTCT
ACTAACGGCAACTCTGCCCAAATCGACTTCCACTATATTTCCAAGGGCGTCGATATGATCAAGCTGTCTAAGAAA
CGTCAGCAGGAGTACCTGATCTCTGGCCTGGGCACCTTCGTAATCAACATCCAGAGCATCGCAAAATCCTCTATT
GACTTCCTGAAAAATCTGCAGGGTAAATGGCGCATTTTTATTCAGAACGGTTACTTTAAACGCAACACTACGACC

【０１０１】

【化７】

ACTCAGCAGAACTTTTCTAACATCGGTGCGACCGGCAATATCATTAACGGCATTATCACCAATAACAACTTCGCG
ATCACTGGTCCGGGTATGGTTATCACCGGTAGCGGCAAGATCGACCTGCCAGAATGGAATCTGGATTACCTGATT
ACTATCGACATGGAAGGTTTTCCAATTGCGATCCCGATCAAATATACTGGTAGCATCGATAATCCAAAACGCACC
ATCAATGCGGCTAAACTGATTCTGTCTACCATCGGTTCTCTGGGTCGCGATACCATTGGTCTGATTCAGGACATT
TTCTCTGCTCCGCTGAAACTGCTGCTGCCGTGAGGATCC

配列番号20
名称： Law 0065-LoIA
長さ　： 639
型：合成核酸配列
生物：合成
TTAATTAAtaGAATTCacGAAAGCATCCCGATTGTAAAAGAACTGCAGCAAAGCTACCAGTCTATCAAAAACTTC
AGCGCGACCTTCACCCAAGAGCTGACTCACCAGGAGAGCGGTTCTAAAGAGACTCGTATCGGCAAACTGTTTTTC
AAGAAACCGCTGCTGGTTCGTTGGGAAACCAACACCCCACACGAAGAACTGCTGCTGATCAACACCAACGCCGTG
TGGGACTACCTGCCAGATGAAAACCTGGTCTACAAATACTCTACTGATATCGTTAAAGACAGCACGAGCATTATT
CAAGTGATCACCGGTCAGGTTCGTCTGGACAAAAACTTTAGCATCATTGAAAACAATAACAACAACAATAACGAA
CTGATCTTTCTGAAACTGTACCCGAAAGAACCGACCACCCAGATGGTCGAGGCCTTCCTGTGGATCAACAAAAAG
AGCCTGCTGATCCACAAAGTTCAGAGCATCGATTTCTACGGTAACACTAACACCATCACCTTTATCAACATCACC
CCTAACACCCACATTGATAATAACATCTTCCAGTTTACCCCGCCGAAGGACGTTACTATTGAAAACCTGCAGGAT
AGCTCTACTCCGGAGCGCCCACTGTTCAATTAAGGATCC

配列番号21
名称： Law 0649-OmpB
長さ　： 2472
型：合成核酸配列
生物：合成
TTAATTAAtaGAATTCacGTAGAACACTTCGCAAATGGCGTACCGACTGTAGTTCAAGATGTAAACGTGCCGGCC
GATTCTTATTTCGGTGGCGCTGATTCTGCTGTGGGCCCGAACCCGATTGCGTCTACGCACCTGACCATCTCTACT
ACTCAGGGCTTCGGTCAGAACGCCCTGGAGTTCGTAGTAGGTGGTTCTCTGGCAAACGGTAATGGCAACCCAGCA
AACATCAACGGTGATATTGTACTGATCGTTGAAAACACGAACACTCAGAACAGCATCATTGGTGGTTCCATGGCA
AATGCAGCGCCGGTTACCATTGGTGGTAGCATCTTCATGACGCTGCGTAACGTTACCGCTGTTGATCCGATCTTC
GGTGGCTCTGTTGATGTCCGCTTCTTCGCACAGCAGCAGCCGAACGAGGACCAGCTGGTGGGTGGCGATATCAAC
ATTAACCTGGAGAACGTCACTACTCCGGAGTTCTACGGTCTGGGTTATGCGAATGGCGTAATCCCGGTTAATGTT
CTGAATCGTAACTTTCTGGTGGCGGTTCAGGGTAACATCACCACCAATATCTCTAACAGCAACATCGCAACCGTT
ATGCTGGGCTCCCACTACGACACTACCATGGCAGTAGGTGGTAACGGCACTATCAACGTGGACAACAGCACCATT
GGTTACCTGAGCGCGTCTAATTCTTCTGACTTCGTTAATCCGGACCTGACTAACACGGTTACCTTCAACATCGGC
CCGAACAACCGTATTGCAAACATCTTTGCAAGCAACAACGGCGTGATTCCTCATTTCATTGTTAACATGGACGGT
TCCGGCACGGAAATCCAGGAGCTGACCCTGGGTAACGTAATTCGTGGTGGTCTGGTTCTGACGTCCGAACTGAAC
CTGTCCCAGGGTACCATCAACAACCTGATCACCGGCAACGAGTACTATGATCGTTCCGGTCTGCGTACTACCGTA
AACGTGCGTGGTGGTACCATCGGCGTGCTGACGTCCGGCGGTAGCGATTATTCCGAGCTGAACTTCATCCCAGGC
GAAATCAGCACCATTCTGGCTACTAATAGCATTGGTAACCAAGATTTCGCATCCCTGAGCCAGGTAACTATCCAC
CAAGGCGCCGAAACCCTGTGGGGTATGCGTGATGAAGTGTTCGAGCTGCAGACTAACAACCTGCAGCTGGGTGGC
GAACTGTTCATTCCGGCAGATGGTACCGGTGGTGTAGCCCTGATCACCAACCATATCATTGCAAACAGCGGTGTA
ATCACGCCGGTGAACATGTCCCCGGAGCGCATGACGCCGATCATCGGTTTCCTGGAGCCTACCGGCGAAGTTGCT
CAGCTGACCATCTACGGTCCTCTGACCGTAAACCTGTCCCACTCTCCTGAGATCCTGGGCAAGATCATCACGCAG
CCGATCCCGATCGCTGTGACTAATTCTGATGTGTTCGGCACTTCCAAACTGTTTGTGGAGCACAATACCAAGGGT
CTGATTTGGTCTGATATCATCTTTAATCCGCAGGACAAGACCTGGTACCTGACCAACTTCCGTGGCTCTGAAGAT
TTCTACGGCCTGTCTGCCGCTCGTGAAGCCTCTAACTGGCTGCGTCAACAACACATCTGGTCCCTGCAACGTCGT
TCTAACAAACTGCTGGATCACGGTGTGGACGGTCTGTGGATGAACGTGCAAGGTGGTTATGAAAAGCTGGATGCT
GCTATTGGTGATGCCAAGATGCCGTGGATTATGGCCTCCCTGGGCTATGACTTCATGCACAAACTGAGCGACTTC
TATAATCTGAAGGCGCTGTACGGTTTCGGCTTCGGTTTCGCTACCGGCAAGAACAAATGGAACACTATCAACTCT
ACCACTAATGACATTTACATGGGTCTGGTCGGTGCGTACGTTGGTCTGATGCATGAAGCCACGGGCCTGTATGGT
ACCGTGAGCGGTCAGTTCGCGACGAACCGCACCAAAACCAAATGCACTGGCTTCGACGAAACCTACAATTGGAAA
GAAAACGTTCCGACTGAAGCCATTGAAATCGGTTGGAAATGGTCCATTGATGAGTTTAAAATTAACCCTCGCGGT
CAGGTAATCTTTGAACAGCTGAGCAAACATCATTTTTCCCTGTCTCAGGAAGGTGATACTGCGATCCTGGATAAG
GAGTTCCTGACGACCACTGTTATCGGTATTTCCGGCGAATATGACCTGGACCTGCGCTCCAAAATCATTAAACTG
CAGGCCAGCGTTGACTGGATTAAAGGCATCTCTGGTGATTTCGCAGCTAAAAGCGAAGTTCTGAACATGAAATTC
AAAGACAAAAACGATACTTCTACCTTCCGTGGCACTCTGGGTGCTAGCGCCCAGCTGCTGGAGAACTTTGAAGTT
CACCTGGATATCTTCGGTGATCTGGGTAACGACAAAGGTATTGGCGGCCAGGTGGGTGCTACCTACCGCTTC

【０１０２】

【化８】

配列番号22
名称：Law 0043-PtfH
長さ　：2628
型：合成核酸配列
生物：合成
TCTAGCAGCTCTAAGGTTGCAGAACTGAAATCTAAATTCGAAGCGCTGGGTACGCTGACCAAGGCTTCCCCACGT
CCGGCGAACGGTACCCAGGACACCAATCGCCTGTCCGACCGCCTGTTCCGTGGCCATTATACTGTCCCTGCAAAC
ACCGCAAGCCGTGTTGGCGGTCATCTGCAGCGCGTCGATGATAACAAATCCTCTTCTAGCGCTGCGAACGTAGCA
AAACGTGCTGCTGCTCACTCCTCTTTTGCGTCTAGCAACCCGGGTCTGCAAGGCGCGTCTGGCTCTTCTAGCGGT
GGTACCGGCGGTAGCATTACCGACCAGGTGAAAAGCCGTGGCATCACTGCTCGTAATTTCTCTGACTCCAACAAC
AACTCCATCGGCAGCGGCTCTAGCTCCGGCTCTATCCTGGACCAGGTCCGTAGCCAGGGTATTACCGCACGTGGC
TCCAGCATCTCTTCTGGCAACGCTTCCGGCACCTCCAACGTTAACGATGGCACCAGCTCCCGTGATTACGGTGCG
AACGTACGTAACACCCGTGAACGTTTTGAAGCAGGTCCGGGCGGTGCTCAGGGTGAAAGCCCGGGTGTTAAAGAC
GCTAAAGAAGCCACCAAAGGTGTAAGCGTCTCCAACCTGCGTGGTATCTTTGAAGGTCGTGGTGGCGCGGATAAT
AACCAAGTTGGTCGTTCTTCTGGCGGCGTCTCCGGCGCATCCGGCTCTGGCGGCGCCCAGGGCACCGGTGGTACC
TCCGGTCTGGGCGGTGCTCAGGGCACCCTGGGTTCTGGTGGCCTGGACGGTGGCGGTGTAAGCGGTGCCGCGGGC
GGTACTTCCGGCGCCAGCGGCGCTGGCGGTGCGCGTGGCACCGCTGATGGCATCACTTCTCCGGGTGCACGTGAA
GCGCAGGAAACCATCAAAAACGCCGGTGTATCCGTTCGTGATCTGGCAGGCCGTTTTTCTGGTGCGCAGGGTACT
AGCGGTGCTTCTGGTGCTGCCGGCGCCTCCGGTGCATCTGGTGCGGGTGGTGCGGCAGGTGCAGCTGGCGGTGGT
GGTCTGGACCGCGGTGGCGTTTCTGGCAGCGCTGGCGGTACCAGCGGCACCAGCGGTGCCGGTGGCGCGCGTGGT
ACCGCCGACGGTATCACTTCCCCGGGTGCTCGTGAAGCACAGGAAACCATTAAAAACGCTGGTGTTTCCGTTCGT
GACCTGGCCGGTCGTTTCAGCGGCGCTCAAGGTACTTCTGGTGCATCTGGCGCGTCCGGTGCGGCAGGCGTGGCA
GGCATGCCGGCGGGCTCCGGCGACGTGGTAGACGGTCTGCGTCGCGGTGGCGAAGACACCGTTGACGGTTTCGGT
CGTAACCAAGGTTCCGGCCCTATCCCATCTTCCGCCGACTTTGTTGACGGCCCGATCGGTGGTATTCAGGGCGCG
GGTGGCGCTTCTGGTGCAGCGGGTGCTGCGGGTGCTTCCGGTGCTGCTGGCGCAAGCGGTGCGGCGGAACCGCTG
CCGACGAACGGTACCGACCAGCAAATCGCCGAGGTGGTTGTTCGTAACGCGGAGAACGGCCACTTCGATGGCATC
GACTTCTCCACGCAGCCGGGTGGCGTTGAATCTAACACTGGTTCTATCCCAGGCACCGATCTGATTGTACAGCGT
GACATCACCCCGGGTGAACAGGGTGTATATAACAACCTGTCTGAAATGGGTTCCTGGATGGACAGCCCAAACGCT
TCCCCGACCAACGCACCAGAATCTCTGACCGATGACCACTCTGTTCTGACCACCCTGCTGAACAACAAGGAAGGT
CTGCAGGATACGGTTCCGTTCCCGCTGGCAGTAGGTGAAGGCACGGTCGTGACTAAAACCCTGGATCCGGATATT
GATACCTCCAAAATCAAAATTCCACTGGAGATTGTATTCGGTTCTGGCTCTATGTACGGTTCCGGTATCGGTGGT
GGCTCTAGCACCATCTCCTCTTCTATGTCTGATGACGGTTCCTCTTCTATTGGTTCTACCACCCGTAAAAACCGC
GCTGGCGAAATTATCAGCCGCATCGCCATGAACCAGAGCCCAGGCGCGGGTTCTGGCGGTCAAACTGTGGTGGGC
GGCCTGGGTAGCGGCTCTTCTAACATTAATATCTCTGGCGGTCGTGGTGGTATTGTTTACGGTCCAATGCCTAAC
GTTAACGTGGTGGCAGGTGACGGCCTGAACCGCCTGCAACTGGGCAGCGGCATCAACCCGCTGGCGCTGCTGCAG
GAACGTATGGTGAACTTCAGCGCGGCACAGCTGGAACATCTGCATGGCCAGCTGACTGGTATGATGGCAATGATG
GAGGCAATGCCGGGCGTGGCTTTCGAGGGTGCTTCCGTACAGATGACCCTGCCTGAACCTGGTGATACCCAAACC
ATGCCGTCCATTCGTCTGTCCGGTTTCGGTGAACCGCGCCTGCGTGAAAACATCGGCCAGCCGGGCCAACCGCCT
ACTCAGGAAGCGTTCGACGCACTGCGTAACGGCCCGCTGAACGGTGTGTCTGAACTGATGAGCCAAGTTCAGGAA
ATGATCACGGTACGCTCTGAAGGCTCTATCTCCCTGTCTCGCTCCAGCAGCCTGTCTGACCTGTCCTCTGAAATC
TAA

配列番号23
名称：Law 0460-PEBP
長さ　：516
型：合成核酸配列
生物：合成
TTAATTAAtaGAATTCacTCTGAACCGTTTACTCTGTCTAGCCCTCAAATGAAAAATGGCACTATCGCAACCAAC
CAGGTTTACAACAGCTTTGGCTGTAAGGGCAAGAACATCTCTCCGTCTCTGGAATGGAAAAACCCACCGGAAGGC
ACGAAAAGCTTCGCCATCACCATGTTCGATATTGATGCCCCGACGGGCAGCGGCTGGTGGCATTGGATCGTTTAT
AACATTCCGACTTCTACCAGCTCTCTGGTCCTGGGCGCAGGCAACGACCCGAAAAAGCTGCCGAAAGGCGCTGTT
CAATCTATTAACGATTTCGGCTTCATCGGCTTCGGTGGCCCGTGTCCTCCGGTCGGCGCGAAACTGCACCACTAT
ATCTTCACTATCTACGCTCTGAACGTGGAAACTATGGATCTGCCGGCAACGACTATGCCAGCTGCTATTGGTTTT
AACATCCACATGCATATGATTGATAAAGCTACTTTCACCGCGACCTATAGCCGCAAGTAAGGATCC

配列番号24
名称：Law 1082-FeoA
長さ　：363
型：合成核酸配列
生物：合成

【０１０３】

【化９】

TTAATTAAtaGAATTCacATGTCTGCCGTTGTTGATTCTATGACTCCTTTTCCGTGCTCTGAACACGATGAGCTG
CCTGTTATTAACGAAGCCACCGCATGCTGTGTTTTTGACAAGGTTGAGAGCTACATTTCCCTGCGCGACCTGAAG
GTGGGCCAGCATGCCCGTGTGGTTCGTGTGCAAGCGGACGGCGAACTGGGTCGCCGTATTCGTGACATGGGTCTG
GTCCCGGGCACCGAAGTAACTATCGTAGGCCGCGCGCCACTGAAAGATCCGGTTGCCCTGCGTCTGCTGGGTTTT
ACTCTGAGCCTGCGTAACTCTGAAGCTGATTACGTTATGGTGTCTCCGATTTCTTAAGGATCC

配列番号25
名称: Law B004-Fluf
長さ : 2739
型:合成核酸配列
生物:合成
AAACAAAAGATCTACGCGGCGGATGTATTCTTTGAAGGTCGTACCGAAACCCTGATCAACGTGAACAAGCCGTTC
GACTCTTTCTTTGGCGGTAGCGATTCTACCATTGGCACCCTGGAAACCGGCCCGACTAACCTGACTTTCACCACC
GTTGGCGCCTTTCGTAACTCCGTATTCCGTATCATCGGCGGTGGTCGTTCCAGCTTCAACAACCCGAACACTGTG
AAAGGTAACGTGACCCTGACTGTTTACAACACCGACGTTGAACGTATCATCGGTGCTGGCATCTCCAACCGTGGT
CTGGTGACCGTGACCGGTTCCGTTAACATGAAACTGGAGAACGTGTCCGTCACGCGTGGTATCTACGGTGGCGTT
TACACCCAGAACGGTCACGTGCTGGGTTCTATCAACATGCACCTGAAAAACGTGCAGACCCCGCTGCTGATCGGT
TCTGGCGTATCTAACGGCCCGAACCGTATTACCGTAAACGGCGACATTAACATTGACGTCGAGGATAGCCGTATC
CAGTACGTGAACATCACCGGCGAGGTAGATGCAGGCATTAAAGGTAACGCAACCCTGACCGTTAAAAAGAGCACC
GTGGAACTGATCAACAGCGGTCGCGGCAACATCCTGGGTAATCTGAAAATCTCTATCGCAGACAGCAACATTCGT
GGCCTGTCTCCGGTCGACTTCGGCAGCTCCGTATACGGTGACACGAGCATCAACGTTATTAACTCCCAGATCAAC
GACATCACCCTGATTCCGCGCGCAGGCGGCATGCTGGTTGGCCCGGTCACTCTGGACATTACCTCTTCCACGATT
CAGAACATTCAGTGTGGCCCGGTGTCCCAGAACAACCAGCTGAATACTCTGAATGTGACCGTAAACACGTCCAAT
ATCACCAACCTGAACCTGGGCTCTGTAGAAGGCCATACCATCAGCACCACCGCGACCGTAACGGATTCCAACATC
ACCAATCTGAACGTCGGCACCTTCAACGGCCTGGGTGTTACCGAGAATGCATCTGTCATTATTAACAGCGGTAAC
ATTACTAATCTGAACGTAGGCACTAACGTTATTGCGGCTGCGACTACGATCAATTCTTCCGCTACCATCCACGAC
GGCCTGATCGCAAACCTGACTCTGGGCAGCCAGGGTAACGGTCGTACTATGATCGCTACCGCTAACGTCAACGGT
GGCACCATTGGTCTGCTGACCATGGGTTCTGAAAACTTCATTCCGGGTACCCGTCCGATCACCGAACTGGCGATC
CTGAACATGAGCGGTGGTCTGATCGAACGTATCATTGTGGGTAACGCTAATTCTTCTACTATTAACTTCACGCCA
GGTAAACGTTCCATCGTAAAAACCATCAATGGCCCGGAACTGCCGTACCTGGTTAATATCCAGAAAGGCGCGATG
ACTCAATGGGGCACCAAAAACATGCCGTTCCTGCTGGACACCCGTAACCTGATTCTGTCCGGTACTCTGATCACT
AGCAACATCCAGCTGGCAGACCTGAGCATTACCAATCTGTTTGTGGCTAATGGTGGCACCCTGGTTCCTCGCAAA
CTGATTCCGGGTAACCAGCCGGTTATTCAGTTCCTGGGTGGCCCGCAGTCTCTGCTGGTGATCCATCAGCCGCTG
AAAGTAAACCTGAGCCTGTCTCCAAAGCTGATCGGCTCCAGCATGGTCCCTCTGGCGTTCGTATCCCAGTCTTTC
AGCTCTCCAGATCTGTTTGTGAAACAGACCCGCTCCGGCCTGATTTGGTCCGATCTGGAATTTGACCCAACGACT
AGCATCTGGTACGTTAACAACATTCAGGCGTCCCAGGATTTCTATAGCTTCAGCATTGCGCGTGAAACCACCAAC
TGGCTGCGTCAACAGCATATTTGGACCCTGCAGAACCGTTCCTCCAAACTGCTGGACAACGAACACTACGGCCTG
TGGATTAACGTACAAGGCGGCCACGAGTCTCTGGACACTTCCATCGGTAGCAAGGCAAAAATGCCATGGATCATG
GCTACCGCGGGTTATGATTATCTGCAGCAACTGCCGCGTCTGGACATGAAAGCACTGTACGGCCTGGCATTTGGT
GCCTCTAAAGGTAAAAGCAAGTGGTCTTCCGTAAATAGCACTAAGAACGATGCGGAACTGGGCATGGTTTCTGGT
TACGTCGGTCTGATCCACAACAAAACTGGCCTGTATAGCACTCTGACTCTGCAGCTGGCTTCTTCTAAACTGCAT
ACCAATAGCACGGGTTTTTATCGTAACTTTAAATGGACGGAAACCACTCCAACTGAGGCGCTGGAGCTGGGTTGG
AAATACACCTTTAACAATGGCATCAAAATGAACCCTCGTGGTCAGCTGATTTTCGAACAGACTAGCAAACACCAC
TTCGACCTGGGTATCCAGAACGACAAAGCGATCCTGGACAAAAGCCAGCTGATCACCAGCTCCCTGGGTATTACG
GTTGAGTACAAACTGCCGGTCACCACGCCTATCAACCTGTACGCAGGTATCGAGCGTATTAAAGGCCAATCCGGC
AACTTTGCGATTTCCAGCCAGTCCCTGCAGATGAAGTTCAAGCATGATAACGACACCAGCGTGGTCCGTGCTACC
ATCGGTACGAACATTCTGCTGGGCGAGCACTTCAACATCCACTGCGATATCTTCGGTGACAAAGGCAATGACAAG
GGTATCGGCGGTCAGGCTGGTTTCACCTACAAATTCTAA

配列番号26
名称: Law 1153-OmpA
長さ : 1140
型:合成核酸配列
生物:合成
TTAATTAAtaGAATTCacGGTAACACTAATCGTGCTACTGGCTCTATGAATGGTCGTAATCTGACCCAGATCAAA
ACGCCGCAGAGCATGATCGACAACGCGTCTGAGGAACTGACCACCTCTCTGGAAAGCAAATCTTCCGACGACTTC
GCGATTAAGGATCGTAAACGTCAGGGCAAGGGCTCCGACAGCCTGCTGAAAATGGTTCAGGAATATACTGAGCTG
ACGAATGATGACACCCGTAACGCGAAACGTGCGATGCTGTCTCAAGTGCTGCGTGCTAGCCAGTCTAGCCAGGAC
GTGCTGGAGAAAACCCTGGAGCAGTTCTCTAACAAAACTGACGCCTGGGCGTCTCTGGCCGAAATCGCACAAGAA
TACGGCGCGGAATCTCCGCAGCCGACTGGTCTGAAAAGCGTACTGGACGCCATGGAAACGCTGGAAAACGAGTTC
GGCGACGAGATCAAAGCAGGTCTGAAGGGCGCCCTGAACTCCAAAGAGTTCACTGATATCGGTAGCGCTGCTCAG

【０１０４】

【化１０】

CTGCGTGACCTGTACACTACTACCGTCACCATTACCGCTGCACCTGATGCAGTACTGGCCCGCCTGCTGGAAGAA
TATGAATCCGATGACGACCTGGACCGCGCGATCGATTTCCTGCTGTCTACTCTGGGTGGCGAACTGGAAAGCGCA
GATCCGAGCATGGATAAAGTCCACCTGCAATCTGTGATGGGTGATATCGAGAAAACTCAACAGCTGCACAGCTCC
CACAAGCAGTGCACTACTGCTCTGAGCCGTTGGAAGGAAAAACACAAGGGCGGTGGTGAGAACTCTACTCTGACC
CCGCTGGAAATGATGCGCGAGCTGATCGCACTGAAAAACGAAAACTTCATTTCTCCTTCCTCCATCGACAAAATT
GTGGACCAGGCAGACCCGCAGGACATCGAGAAAGAAGTTCTGTTCCTGCAAGAAATGCTGGCTGCCGTGCGTAAA
TTTCCGATTATGGTATTCGATAACGTTGAAAACCGCGTTCGTGTAATGGGTGCCGTTCAGGATGCGGTGGACGAT
GCCGTACGTCGTGAAGATGAGTTCCTGTTCCAGAAAGAGCATCCAGATGTGCCGCTGCAGCCGGATGAAAACAAC
ATCCAGTAAGGATCC

配列番号27
名称：Law 0033-OstA
長さ：2421
型:Lawsonia核酸配列
生物：*Lawsonia intracellularis*

ttgtataatctttttttaccatttattctaactaaccttatatattatataattattccatccttatttatagca
ttttttcctctacaagctttatctattataaacatatccgaatttgcacaaccagatattaaccaatctcaaact
aaatggaaccttgaagctgatacgttaactacactatcaaataatactattattgaagctaaaggaaacattatc
cttacaaaaggacaggatgtatttaaagctgactttgcaaggtattatcaaaaaacaggttggctttttccttaaa
ggtcatgtcactgtaaagatggatgaaaatgaaatcaatgctgacgaagcagaatttaatttgaatactaaaaca
ggctggcttaataatgggaacatatttatctcttcatcacatgtttacttttctggtgcacgtattaccaaacat
tacggagattattatacttttaataatgtcaaagttactacatgtgacggacctcatccagcatggtcaatatca
gctaaagaggcaatagtagaagttgatggatatgcacaattatatgattctacctttaaaattaaaaacatagat
gtaatgtatagccctatttttacaatacctgcaaaacaaacaagacaatcaggtttttaaatcctaattatgga
atcagtcagcgacgtggaatttattatactcaaccatacttttaaatattgatcaaagcagcgatctaacattt
tatgctggactgatgacaaaaataggtccattaggaactgtaagatatcgttcacacaaatttacaaatcaaaaa
acatggtttgctgctagtggcattcatgataaaaataatattgtcacaccagggaaagatcctgtctatccatca
agccaacttgtacgtaataaccatcaacgttattgggttcgtggaatggctgatggttttattggaaactcaact
tggtgctatatatctaatttagactatgtatcagaccaagattatcttagagaatttgatcaaggtataacaggc
ttttcacactcccgtagtgaaatgtttcaaatgtttggcagagatatccaagaagatgaccaatctcgattaaat
gctttacttattagaaaagattggcagcgtataggggtagtaggaaatattagatatgaacaagatccaacatta
ggacatgggaatcatcctactagtcaaagtgagttaacgcaacgaattccacaaattgacatgtttctttaccaa
ggaaaactatttcaacctctttcattagagggtgccattcatttacagtctgcttatatgtatcgtgctaaaggc
actaaaggttggagaacagaactttatccaaaagttacattaccaatcgatctcaaatatggatctgttataaca
actgttgggctacgtgaaacttactatcaaacaggtataaaatcacacacaagtcctgtagcaccacatgtccct
gatactaaaacaccacgtcaaacaggtcagcatcgttcacttttaacttacaactagaaagtagtacacaagct
caccgaatatggcgactaaaggataaaaaaactattaatcttcattctcaaagtataggaaaaacctttgtaca
gcactcaagcatacaatccaaccacgtatatgctatagctttatacctagagaaggccaagaaaaaaatccattt
tatacactatcagataggatccttccccaaaatgaccttacttattcaatagtaaatattctcacaaaaaagaat
gttactattagtgtagataataataataataataatgataatagtgttacaccaacacttattacttcctactat
gatcttctctactggaacttatcaacaggatatgattttgaagaagaacgccgaaaacaatatgtagaaaaatat
ccaaagcgccctataaaagacatctattctgaactagaactttatatactatcttggttaacttattcaggtaag
acatttatttctccatataacggtaatattactagacatgatcataatatcatattcaaatcagacagattttct
tggaaaacaggccttagctttcgtgatcaatactataattaccgtgagcatcttcaatatcgagatgaaaataat
attattatgtctagtaggttacgcttacttcaaaactctttttctatacagctattaccaaatgtatctgttacg
ttagaagatttccgaaacctacgagaacttggaacttttggtaaaacaaactctcaactagttgaagttacatat
ttagcacaatgttatcgtattattggtagataccgatatgacggctatgatcgtagctatacagtattaatagaa
atacctggattatttgaataa

配列番号28
名称：Law 0691-PAL
長さ：489
型:Lawsonia核酸配列
生物：*Lawsonia intracellularis*

atggaagtatttagacgttatggcatagttctggttctgttagtagtattaagtgcaggttttggttgttgtaaa
aagagtgttgatgtagaacaatctttagcaacggagtgtattgctccagcaccagcaattaatgcagctgcagaa
actataactgatgggattatttatttttgattttgataaatatgatattaaacctgaatatcgtgatatgttgcag
aagaaagctgaacttttaaaagaatatccttgtattcgtgtccgtatagaaggtaattgtgacgctcgtggtact
caagagtataatttagcacttggagagcgtcgtgcacgtgcagcatatgaatatttagtcatgcttggagtaaat
ccatctcagcttgagataataagttttgggaaagagcgtccagctgttgaaggaacagggccagctgtatgggca
aaaaatcgtcgtgatgattttcgtattattgccaagtaa

【０１０５】

【化１１】

配列番号29
名称：Law 0995-OPRM
長さ　：1380
型:Lawsonia核酸配列
生物：*Lawsonia intracellularis*

atgaaaagattgttactctgtattataacatgtgttattgtatcaagttgctcttttgctccagattacaatcga
ccacatttagagttacctgaggtatgggttagttcaccagagacaggagttcctgcttctatgcagtggtggaaa
cgctttaatgattctacacttgatattttagtagcagaagctttgcagcataatagagacttaattgcagctgtg
gccagagtagattatgcacaagctcagttaggagttgctcgatcagatttgtttccacatttttcaggaaatgct
caagcaacacctgtatgggtagatcataagagggttacagatggacaatctccatatagcgcaaacttttcagca
agttgggaaattgatatttggggaaagatacggaatgccaaagatgctgcattttctcaattaatggctacagaa
gcagaaaaagagggtgtttttctttctattgctgcccaaacagcaaatgcttatttttttgttgaggagccttgac
ttacaatgttctattgcagagaggacagtaaaaacacgtgaagatgcattaagtatctatactgcacaatatcaa
aaaggatttattaacaaattagatttaactcgagcaaaaacagaagttgagacagcacgtacagcactttatcaa
aaacgtattgcacaagagaatgctgaaacagctttatctgttttgttaggccgttctccacggttaattatggac
acagcaattgagcgtggggtatctatgaaagatttatcttgtattcctgttattcctcaaggtattccttcagag
cttttagaaagacgtcctgatatacgtcaagctgaatatacgttaaaagctactagtgcaaatattggtgtggca
agagcagcttggttaccatctatttcattaacaggattatttggtattgtaagcccacatttaagtgatttatta
aaaaatcctttaaaaacatggagttatggggaaactggaactgtgcctattttagattttggtcaggtatactat
aatgtggaagcagcccaggcaaaagaacgtgaagcattagctaactatgaaaaaacagtacaaaatgcttttaaa
gatattcatgatgctcttatacggcaatatgaatcaaagaatatagttaattcacttgaacgaatggtgaaagag
ttacgtatagctgtacatcttgcacgtactctttacgataatggttatacatcttatcttgatgtgttagatgca
gaacgtgctctttttcaaagtgaactagatcttgctagtgcttggagtgatcgcctatcttctattgtacaagtt
tgtttagcattaggaggcagttgggaataa

配列番号30
名称：Law C046-SLH
長さ　：2391
型:Lawsonia核酸配列
生物：*Lawsonia intracellularis*

atgtataaatttattatattttatattatatgtatatatgaaacaatagccatatatttactcttaggtagtttt
atatcctatttttaatagagtctttcttaaaaaagaagtaaaaatattagatactactaaagtaaaaaagtatgct
agaataggaacatttatttttttgtatgtaataataagttctcaagtatcgttatctcataatgctcgtataggc
tatgaagataaaaatagtgataggaagagtaaactgattttacataacaaattacaagtaaatgagtttgatgag
cttcgttcagatattgtagttacaatgacaccattaaatatatatacttctactcaggaaaataaaattacaact
atagaagccaaccttttaagattagaggtgatacagcgaacacaacctgtgcttttagtagatgtcgaaagcagt
cttcgtgacatatatcttctactggacgaagctgaagggtgtaatagagaagtagaaagatgtcttaaaatatgg
gaaacagctagtgaacatacaaaagtactgcatcgtcagactagggagcgtttatctaatgcagtaatagagtgt
caaccagggttacctactaataatgagggtaaagtagtaagtgtaccagaagaaattgtggcttccattgaaaat
aaggtgttacatacagcaaatcaacaaagaactgcacgaaaaatggaagtagctatatcacgacataaaaataaa
aatattttcttggggaataaacaaaaactacttaggtatcgaattgaagtactgaaagcgcgtgtagaaggtaat
cctgatcctcctatacctatacttacaccacaagtgcttgaattaccacttttacctgatccaccaccatcacca
ccaccattgccacagcagacttttcaattcccagattttggagatcctcttccggaaccattgtctcctttagga
gatgatcctccccaaaatgtactaaatcaagagcctcagccaggaccatcttctgagattgtctcaactttacag
ccttcaccttcagtagaggatctatctagttcaggagtgactttagaatgtcaagaagagctttctagcagtgat
gaggagatattagatgatgagtgtttaacctctggcgatgaatcttcaacatcagatggtgagtctcaaaggtca
tcaccgccaacaaaacgtaggaagctaactcatactccaccaccttctgatagaggctctcctccagggagttct
tctatgcttatgccatattacacatatggacaagtcagttctcttcaaggattacaaagtacgttaatgagttta
gaggatcagttagcaacacaattacgactatctattattagatccattaatgttttaggtgtttgttgtaaggac
gacaatcagttacaacctcatacttttcaaagtaaaaaacagactaaaattaaaggaggaataggaagaagtcac
tcaacagataatgaaatacgtccaacttctgtgaataattcattatttttttcgcagcaatggcatgttattgca
tctatggatagtcgtatatctaatttagagactactatttcttcaagacaagcaggggtttttacaacacctatc
gatggactctgtttatctttattgtatagtaataacaaaaagaaaactcaaaatttctatggagttgtactagac
tcagtagatggttctgcaaaagctcagatagaaacagataacattttagcaacagtgacatggaataaagaacat
caaggtttttcaggtcatttagcaggttgttatgggtgggggaaaataacaaatattcgtacaatacatttttt
gataacgaaagtgtttctaaaggtatttcaagtatacatatgagtggtggatttattcagctaggatataacgtt
ttactaggaaaaaattattttcttattccatatgttgaatatatgagattagcagtagcatgggatccatatgaa
gaacatacaggtcttattccttgtaaagtgagtggacataaagttcatgtttgtgagaaaagtataggtttgcgt

【０１０６】

【化１２】

aatcaatggaaaattacagataattcccagctacagttttggggttctcatatttttacaaatcataatacaggt
gaaatagcttctaaaccacttagtttatctgactataggaataaaatatctattcctggttataagaagcaatat
atccatagggaggcagggatttcttatgagtcaaatgtaatggatacattatctatggagctttatagtaagtta
agggtaactaaaagcataaaagatgttactagttatacaagttttacaataagatacgtttattaa

配列番号31
名称： Law 00147-SlyB
長さ ： 459
型:Lawsonia核酸配列
生物 ： *Lawsonia intracellularis*
atgcagcgttgtggtctttatatcatttgtttagtgttatctataggtatgataagttgtgcaaattttagtgct
tcttcttttggagggaagcaaattcgtagtgcacatattgttgaatttggaaaagtcgtttctgtaaaacctgtt
gaactagaaggaaatacaccaattctaggtactattactggtggagctgttggtggtgttcttggtagtttaatc
ggtggaggatcaggaagaatattatcaactgttgttggtgctggagcaggggctgttgctggaaacattgctgaa
agaaaaattacaacgcaacaaggtctcgaaatagaagtgaaacttgataatggtcaaattatttctatagttcaa
ggtgctgatcaatcttttagtcctggcgaacgtgttcgagtactacgtggaagtgatggttcggctcgagtatct
tcaatatag

配列番号32
名称： Law 0050-AsmA
長さ ： 3228
型:Lawsonia核酸配列
生物 ： *Lawsonia intracellularis*
atgagatcttttctcattagtatagttactctctttctattaggaattatagtatttttggtattacattctac
tttatcaaacaacatccacaatatattacaaataaaatactttctactatttcaaaacaattaaaggatacttct
atttctgctaattctattgggtttcatattgtacctttttcctaagctttacttaacaaatgttatacttcaaaca
caaaaaggtgatacaattcatattaaagaatgcttgattactccaaaaatcaccaacatattatcaggaaacatt
tctatatattctattgaggtaatccaaccaatagcctccattattcttcaaaatgaacaaaaaaaaaaatagtaaa
accacaggatatgctataccaaaacaagtttcgcatcttctccaattaattacagatagtaaacttttttattgaa
aatggtagtattacctttcaaaataatgactattgttttaagataataggtattaatggtaaaattggtgtttct
aagacacttacaagctcattaaagctcactgcagatgaaataatctgggaaataatgaatactgtaagtaataat
tctagcactgcacaaaaaagtattgaaaaagtacagctccacatagaggatatgccgtataaaataaatacagca
ttacttcatgatacttctcctttatacgatttatttacaaatactaaaaaaactacatttaaggtttcaggggct
atacctacaaccaatacagctaataacattacattcgacttcacgacaaaactagaaaaagataactctgataaa
cttacaatgcatgggcagttacatattgaaggaacactccctaatggtaatacatccattcctatactattatct
gttccgtttacaacaacatcttctgaggacatgacacactttcctccactgctgataaaaaactcaaaactactt
tttgataaaactcatatagatcttcatggaacaataaaaaattatgatacactatcaaatctctttttgatgga
acaatggatgtaaaaaatttttagttttccctattggtttacttttgcaaggcaactaccaaatggtattcaacat
gctcttaatcaattatctggagaaataaaatttacattatctcctcaacaagttaatgcccaaaaaataatcatt
cattctttagatactacatttcaagggaatggaactgtcaataatttttttatccccaacgattacattatccctt
gccacaaaacagttcaaccttaatacacttcttccagaactaaagggtaaaaaatcttcacaactatcctatcct
aaagaaacgtttttaactatcttaagtaatctccataataataataataataatataaaaaaaacaatcaac
tatgacattactattcaggctgatcatgtaacatgttggaaatttgatggatatcagtttatatgtaacatacaa
cctaaacctcagggtactcagattcatactaactgtaaaaatttttatgatggcagtttatcttcctcacttttta
ctatctaataggcacacaatacaattagctatagaaaatattcaactgtctgatataacaaatattattacaaaa
gaatatgaactaaaaggtaaagcttctggcacaagtcgtgttaatggacatggtgatactttagcatcatttctt
tcaagtctaaaaggtacaattgatttatatgtaactgatggattagtaaaaaaaacagcgtctgaagctattcct
ttttctatgcttcatctaacatgtgacagtattggtcaaccatcaaagggaaataaatcctctacaattccatat
aaagggaagtggagtgcagagatatcatcagcaagatggaatggctcaattacaatggatgggttaatacaattt
tcaaccactgactggctttctattaaagcagaaaacataccatcaaaagttgtatgttctgtatctggcgtacaa
gctgtggcttatggaggaatatcttttgacatagataatagttttcttagcttctctaattttcaaggtgaaata
catcctaaaacagccctatctggaacaatcaaaactagttctagtacaagtaacacaagacaatgggagggttct
ctcactgtcatgacacaaaatcttagaaatttattaagtaaacttggttatgaaccaaaaaatatttctccaact
atgttgcaatattgtaaattgcaaggagatatctttatttctcctgcaacaattcgccttacaaatatacaggga
atattagataatacactgattaaatttttctctcaatggattacagacaaaccctccaagttggacaggagatatc
caactaagttcattaaacttagataaatatttactatcaattaaccaaaataaactgaaaaaatcacaggaactc
tggccgatagaattgctgaataaagtaaatattcaatctacactgactctagctgagcttatctatagaaaagtt
ccatatactaatgtagtagtacccattagtcttaatcaaggaacattatctatcactccaattacagcatcacta
tgtgatggaaaaacagaagcaagctttaaggcttgccctctttcaactaatggcaatagtgcacagatagatttt
cattatatttcaaaaggtgtggatatgattaaactaagtaaaaaacgtcaacaagaatatcttatttcaggcctt
ggtacatttgttattaatatacagtcaatagcaaaatcatctatagatttccttaaaaatcttcaagggaaatgg

【０１０７】

【化１３】

cgtatttttatccagaatggctatttcaaaagaaacaccactactactcaacaaaatttttagtaacattggtgca
acaggaaatattataaatggtattattacaaataataatttttgcaataacagggcctggaatggtaataacaggg
agtggaaaaattgatcttcctgaatggaatcttgactacctcatcactatagatatggaaggatttcctatagct
atccccataaaatatacaggaagtatagataacccaaaaagaacaattaatgcggccaagttaattcttagtact
ataggttctcttgggagagatactataggattaatacaagatatttttttcagctccactgaagttacttcttccc
taa

配列番号33
名称： Law 0065-LoIA
長さ ：750
型:Lawsonia核酸配列
生物 ：*Lawsonia intracellularis*
ttgaagaatattataaatactataatttttcctaagcaaaggaacaaaaaaatgtcacaaaaattttctatgcta
caactaatattatttttttttaacttttatattttattcatatataacagatagttatgcagagtctataccaata
gtaaaagaattacagcaatcatatcaatccattaaaaacttttctgcaacatttactcaagaacttactcatcaa
gaaagtgggtccaaagaaacacgtattgggaaactctttttttaaaaaaccacttcttgtcagatgggaaacaaac
acacctcatgaagaacttcttcttattaataccaatgctgtatgggattatcttcctgatgaaaaccttgtttat
aagtactctacagatattgtaaaagattccacatctattattcaggttattactggacaagtacgacttgataaa
aacttctcaattattgaaaataataataataataataatgagctaatcttccttaaattatacccaaaagaacca
acgactcaaatggttgaggcatttttatggattaataaaaaaagtttactcattcacaaagtacaatcaattgat
ttttatggaaatacaaatactattactttattaatattacacccaatactcatattgataataacatatttcaa
tttactccacctaaagatgttactatagaaaatttacaagattcatctacaccagaacgaccactatttaattag

配列番号34
名称： Law 0649-OmpB
長さ ：2466
型:Lawsonia核酸配列
生物 ：*Lawsonia intracellularis*
atggcatacctatctatttcaaaaaatcaatgtaagtctttttttaataactctagtaactatatttataatgaca
tcaataccacaactagctgaggctgttgaacactttgctaatggtgtccccacagtagtacaagatgttaatgtc
ccagctgactcatactttggtggtgctgactcagctgtaggtccaaacccaatagcttctactcaccttacaatt
tctacaactcaagggtttggacaaaatgcactagaatttgttgtgggtggtagccttgcaaatggtaatggaaat
ccagccaacataaatggagatatagtccttattgttgaaaatacaaatactcagaatagtattattggtggtagt
atggcaaatgctgcccctgtaactattggtggctctatttttatgactcttagaaatgttactgcagtagatcca
atttttggtggctctgtagatgtacgctttttcgcccaacagcaacctaatgaggatcaacttgtaggtggagat
attaatataaatctagagaatgtaacaactccagagttttatggtctaggctacgcaaatggtgtaatacctgtt
aacgtcctcaatagaaatttttggtagctgttcagggaaatataactacaaatatttctaattctaacattgca
accgttatgttaggttcacactatgatacaactatggctgtaggaggtaatggaacaataaatgttgataattca
acaattggttatctttcagctagcaatagtagcgactttgttaaccctgacttaacaaacactgttacttttaat
attggtcccaacaacagaatagcaaatatttttgcaagcaataatggtgttatcccacattttattgtaaatatg
gatggatctggaacagaaatacaagagttaacacttggtaatgtaattcgaggtggccttgtacttacttcagag
ctaaatctatctcaaggaacaataaataatttaatcactggtaatgaatattacgatagatcaggattaagaact
actgtaaatgttagaggaggtacaattggcgtattgacttcaggaggttctgactattcagaattaaacttcatt
cctggagaaatatccactatattagcaacaaattcaataggtaaccaagattttgcatctctttctcaagttaca
atacaccaaggtgctgaaactctttggggaatgagagatgaagtatttgaacttcaaactaacaatctacagtta
ggtggtgaactatttattcctgctgatggaactggaggagtagccctaatcacaaatcatattattgcaaattca
ggtgtgataactccggtaaatatgtctccagaaaggatgacccctatcattggatttttagaacctactggtgag
gtagcacagttaacaatatatggaccacttacagttaaccttagccattctccagaaattcttgggaaaattatt
acacaacctatccctattgcagttactaatagtgatgtttttggtacttctaaactatttgtggaacataacaca
aaaggactaatttggagtgatatcatttttaatcctcaagataaaacatggtatctaactaactttagaggttct
gaagacttctacggactttcagcagcacgggaagcatctaattggttaagacaacaacatatctggagcctacaa
cgtcgctctaataaattattagatcatggtgtagatgggttatggatgaatgttcaaggtggttatgaaaagctt
gatgcagcaattggtgatgctaagatgccttggattatggcaagcttaggatatgattttatgcataagttaagt
gatttttataacttaaaagcactttatggattcggatttggatttgctacaggtaaaaataaatggaataccata
aactcaactactaatgatatctacatggggctggttggtgcctatgttggccttatgcatgaagccacaggcctt
tatggtacagtatccggacagtttgcaactaaccgtacaaaaacaaaatgtacaggctttgatgaaacctataac
gaaatggagcattgatgagtttaaaataaacccacgtggacaagttatttttgaacaattatctaaacatcactt
tagtcaaccgttataggtatctctggagaatatgatttagatttaagaagtaaaataataaagcttcaagctagt
gttgactggattaaaggcatctctggtgactttgcagctaaatccgaagttcttaatatgaagtttaaagataaa
aatgatactagtacatttagaggaacactgggtgctagtgcacaacttctagaaaactttgaagttcaccttgat
atttttggtgatcttggcaatgataaaggtattggtggacaggtaggagctacttatagattctaa

【０１０８】

【化１４】

配列番号35
名称：Law 0043-PtfH
長さ ：2703
型:Lawsonia核酸配列
生物 ：*Lawsonia intracellularis*

atgactaaagttggtggtagtaatccttttcaacacttgcatcaatggttggctttagcaaatcttcttccagc
tcatcttcaagtaaggtagctgaattaaaaagtaaatttgaagcacttgggacactaacaaaagcaagtcctcgt
cctgcaaatggcactcaggatactaatcgattaagtgatagactatttagaggacactatacagttcctgctaat
acagcttcaagagtaggtggtcatcttcagcgggttgatgacaataaaagtagcagttcagcagctaatgttgca
aaaagagctgcagcacattcttcttttgcaagttcaaacccaggactccaaggagctagcggttcttcttctgga
ggaacaggcggaagtataacagatcaagttaaaagtaggggaattactgcaaggaatttttcggattctaataat
aattctataggatcagggtcaagcagtggaagtatattagatcaggttagaagtcaaggtattactgccagagga
tcatctatttcttctggtaatgcatcaggtactagcaatgttaatgatggaacaagttcaagagattatggagct
aatgtccgtaatactcgtgaaagatttgaagctggtcctggaggtgctcaaggagagtctcctggagtaaaagat
gctaaagaagctactaaaggagttagtgtttctaatttaagaggaatatttgaaggaagaggtggtgcagataat
aatcaagtaggtagaagctctggtggagtttcaggagcatcaggatcaggaggagctcaagggacaggaggaaca
tcgggattaggtggagcacaaggtacattaggaagtggaggtcttgatggaggaggagtttcaggtgctgctggt
ggaacttcaggcgcctcaggagccggaggagcaagaggtactgctgatggaataacgtctcctggagcaagagaa
gcacaagaaactattaaaaatgctggtgttagtgtaagagatttagctggaagatttagtggagctcaaggtaca
agtggagcttcaggagcagcgggagcttcaggagcctcaggagccggaggagcagctggtgcggcaggaggtgga
ggtcttgatagaggaggagtttcaggttctgctggtggaacttcaggcacctcaggagccggaggagcaagaggt
actgctgatggaataacatctcctggagcaagagaagcacaagaaactattaaaaatgctggtgttagtgtaaga
gatttagctggaagatttagtggagctcaaggtacaagtggagcttcaggagcttcaggagcagctggtgtggca
ggaatgccagcaggtagtggagatgttgttgatggactaagaagaggaggagaagatactgtcgatggatttgga
agaaatcagggtagtggtcctatccctagttctgcagattttgtagatggtcctataggcggtatacaaggagct
ggaggagcttcaggagcagcgggagcagctggtgcttcaggagcagcgggagcttcaggagcagcagagccactt
cctactaatggtacagatcagcagatagctgaagtcgttgtaagaaatgcagaaaatggtcattttgatggtatt
gatttctcgacacagcctggtggtgtagaatcaaatacaggtagtatccctggaacagatcttattgtccaacga
gacatcactcctggagaacaaggagtgtataataatctcagtgagatgggatcatggatggatagccctaatgct
agtcctacaaatgcaccagagtctcttacagatgatcatagtgttttgactacactacttaataataaagaaggc
ctacaagatactgttccttttcctcttgctgtgggtgaaggcactgttgttactaaaactcttgatccagacatt
gatacaagtaagattaaaatcccacttgaaattgtttttggttctggaagtatgtatggttctggtattggagga
ggtagtagtacaattagctcctcaatgtctgatgatggaagttctagcataggatcaactacacgtaaaaataga
gcaggtgaaataataagtagaattgcaatgaatcaatcacctggcgctggtagcgggggtcaaactgtagttggt
ggtcttggttctggtagtagtaatatcaatataagtggtggacgtggtggtattgtttatggaccaatgcctaat
gtgaatgtagtagctggagatggccttaatagactacagcttggtagtggaataaatccattagcacttcttcag
gaaagaatggttaatttttctgctgctcaactagagcatttacatggccaacttacaggtatgatggctatgatg
gaagctatgcctggcgtagcatttgaaggtgcaagtgtccaaatgacattacctgaaccaggtgatacacagact
atgcctagtataaggctatcaggttttggagagccaaggttgcgggaaaatataggacagccagggcaacctcca
acacaagaagcatttgatgcattaaggaatggtccactaaatggagtaagcgagttaatgagccaagttcaagaa
atgataactgtaaggagtgaaggaagtatttcactaagcagaagtagtagtttatcagatttaagttcagaaata
taa

配列番号36
名称：Law 0460-PEBP
長さ ：552
型:Lawsonia核酸配列
生物 ：*Lawsonia intracellularis*

ATGAAAAAACTGATTCTAACTTTTGCTTTATTATTAGTAACAAATATAACTACTTTTGCTTCTGAGCCTTTTACT
CTATCAAGCCCACAAATGAAAAATGGAACTATTGCAACTAATCAAGTTTATAATAGTTTTGGATGCAAAGGAAAA
AATATTTCTCCAAGTCTAGAGTGGAAAAATCCTCCTGAAGGAACTAAAAGCTTTGCTATAACTATGTTTGATATA
GATGCACCAACAGGTAGTGGATGGTGGCATTGGATAGTTTATAACATTCCTACATCCACTTCCTCATTAGTACTA
GGAGCAGGAAATGATCCTAAAAAACTTCCCAAAGGTGCAGTTCAATCAATAAATGACTTTGGTTTTATTGGATTT
GGAGGACCTTGTCCTCCAGTTGGTGCAAAACTTCATCACTATATTTTTACTATCTATGCTCTCAATGTAGAGACA
ATGGATTTACCAGCAACAACTATGCCTGCAGCTATTGGATTCAATATTCATATGCATATGATTGACAAAGCTACT
TTTACTGCTACTTATTCTCGTAAGTAA

配列番号37

【０１０９】

【化１５】

名称：Law 1082-FeoA
長さ：339
型:Lawsonia核酸配列
生物：*Lawsonia intracellularis*

ATGTCTGCAGTTGTTGATAGTATGACACCATTTCCTTGTTCAGAACATGATGAGCTTCCAGTTATAAATGAAGCA
ACAGCATGCTGTGTCTTTGATAAGGTAGAGAGTTATATTTCATTGCGTGATTTAAAAGTAGGACAACATGCTCGT
GTTGTACGTGTGCAAGCAGATGGAGAGCTAGGAAGACGTATCCGTGATATGGGTCTTGTCCCAGGGACAGAGGTA
ACTATTGTTGGGAGGGCACCTCTTAAAGATCCAGTTGCATTAAGGTTACTAGGTTTTACTCTTAGTCTTAGAAAT
AGTGAAGCAGACTATGTGATGGTATCACCTATTTCATAA

配列番号38
名称：Law 1153-OmpA
長さ：1197
型:Lawsonia核酸配列

GAGATAGTTATGGCTAATGTTAGTGGAATCCCTGCACCACGATTACTTTCCACAACAAATCAAATGACCAATGCA
GCTGCTGGTAATACTAATAGAGCTACCGGTAGTATGAACGGTCGTAATCTCACACAAATAAAAACACCTCAGTCC
ATGATTGATAATGCTTCAGAAGAATTAACAACTTCTCTTGAATCTAAAAGCAGTGACGACTTTGCAATTAAAGAT
CGTAAAAGACAAGGGAAAGGATCTGATTCTCTATTAAAAATGGTTCAAGAATATACAGAGCTGACGAATGATGAT
ACCCGTAATGCTAAAAGAGCTATGTTATCCCAGGTATTACGTGCAAGTCAAAGTTCACAAGATGTACTCGAAAAA
ACATTAGAACAATTTTCTAATAAAACAGATGCTTGGGCTTCTCTTGCAGAAATTGCACAAGAATATGGTGCAGAA
TCTCCACAGCCAACAGGATTAAAATCTGTATTAGATGCTATGGAGACATTAGAAAATGAGTTTGGTGATGAAATT
AAAGCAGGACTAAAAGGAGCTCTAAATTCAAAAGAATTTACTGATATAGGCAGTGCAGCACAGTTAAGAGATCTT
TATACAACAACAGTAACTATAACAGCTGCACCTGATGCAGTGTTAGCAAGACTTCTTGAAGAATATGAGAGTGAT
GATGATCTGGATAGAGCCATTGATTTCCTTCTATCTACACTTGGTGGAGAGCTTGAATCAGCTGATCCAAGTATG
GATAAAGTACATCTTCAAAGTGTAATGGGTGATATTGAAAAAACACAACAACTTCATAGCTCTCATAAACAATGT
ACTACAGCCCTTAGCAGGTGGAAAGAGAAACATAAAGGTGGGGGGGAAAATAGTACACTAACTCCTTTAGAAATG
ATGCGTGAACTAATTGCACTAAAAAATGAAAATTTTATTTCTCCTTCCTCTATAGATAAAATTGTTGATCAAGCT
GATCCCCAAGATATTGAAAAAGAAGTCCTTTTTTTACAAGAGATGTTAGCTGCTGTAAGAAAATTTCCCATTATG
GTATTTGATAATGTCGAAAATCGTGTAAGAGTTATGGGTGCTGTACAAGATGCTGTTGACGATGCTGTAAGAAGA
GAAGATGAATTCCTCTTTCAAAAAGAACATCCTGATGTACCACTACAACCAGATGAAAATAATATACAATAA

配列番号39
名称：Law B004-Fluf
長さ：2820
型:Lawsonia核酸配列

atgtataatataattaataagcatcaaatcataaaaattttattattttccttatgtgttttcttttttacactt
acagaaaaacaaaaaatttatgctgcagacgtctttttgagggcagaaccgaaaccttaatcaatgtaaacaaa
ccatttgattctttttttggaggttctgactctacaataggaacccttgaaacaggacctactaatcttaccttc
acaacagtaggagccttccgcaattctgttttcagaattattggtggtggtaggtctagttttaacaacccaaat
acagttaaaggcaatgttactctaactgtttataatactgatgtagaaagaataattggtgcaggtatcagcaat
agaggacttgtaaccgttactggctcagtaaatatgaagctagaaaatgtttctgttactagaggaatttatggt
ggtgtctatactcaaaatggacatgtactaggctctatcaacatgcatttgaaaaacgtccaaactccactatta
ataggttctggagtaagcaatggacctaatcgtattactgtaaatggagacataaacattgatgttgaagactct
aggattcaatatgtaaacattacaggagaagtagatgcagggataaaaggaaatgctactctaactgtaaaaaaa
tctactgttgagcttataaactctggtagaggtaatatcttaggtaatctcaaaatatctatagcagattcaaat
ataaggggttatcaccagtagactttggttcttcagtatatggggacacatctataaatgtaattaattctcag
attaatgatattactcttataccaagggctggtggaatgcttgtaggtcctgttaccctagatatcacaagcagt
actatacaaaatatacaatgtgggcctgtcagtcaaaataatcaacttaacacactaaatgtaactgttaatact
agtaacattactaacttaaaccttggtagtgtcgaaggtcatacaatatcaactacagcaactgttactgatagt
aatattactaaccttaatgtcggaaccttcaatggacttggagtaactgagaatgcctctgtaatcattaatagt
ggcaatattactaaccttaatgtcggaactaatgtaatagctgcagccacaactattaattcctctgcgaccata
cacgacggacttattgcaaaccttaccttaggctcacaaggtaatggtcgtactatgatagctacagcaaatgtt
aatggtggaactattggattattaactatgggttcagaaaacttcataccaggcacaagaccaattactgaatta
gcaatactaaacatgtctggtggattaattgaaagaattatcgtaggtaatgccaactcttcaaccataaacttt
actcctgggaagagatcaattgtaaaaacaataaatggtccagaacttccatatttagttaacatacaaaaaggt
gctatgacacaatggggcactaaaaatatgccctttttattggatacaagaaatttaatcttgtccggaactctg
attacctcaaatattcaactagctgatttatctataaccaatctatttgttgctaatggcggtacactagtacct
agaaaattaatacctgggaaccaacctgttatacagtttcttggaggtcctcaatcactcttagttatccatcaa
ccattaaaagtaaatttaagcttatcaccaaaacttattggaagtagcatggtgccacttgcttttgtctctcaa
tctttttcatcaccagatctttttgttaaacaaactagaagtggtctcatttggagtgatcttgagtttgatcca
acaacatctatttggtatgttaataatatccaagcatctcaagatttttactctttctctattgctcgtgagact

【０１１０】

【化１６】

actaactggctaagacaacaacatatatggactctacaaaaccgttcaagtaaacttttagacaacgaacattat
ggactatggataaatgttcaaggtggacatgaaagtcttgatacttctattggtagcaaagcaaaaatgccatgg
ataatggcaacagcaggatatgactatcttcaacaactaccaaggttagatatgaaagccctttatggtcttgct
tttggtgcttctaaaggtaaaagtaaatggtctagcgtcaactctacaaaaaatgatgctgagctaggtatggtt
agtggttatgtaggtcttatccataacaaaactgggctctatagtacattgaccttacaacttgcgtctagtaaa
ttacatactaattctacagggttctatagaaattttaaatggacagaaacaactccaacagaagcacttgaactt
ggatggaaatacactttcaacaacggtattaaaatgaatcctcgtggacaacttatttttgaacaaacatctaaa
caccattttgatttaggaattcaaaatgataaggctatattagataaaagccagttaataacaagttctcttggt
attaccgttgaatataagctaccagttaccacacctattaatctttatgctggtattgaaaggataaaaggtcag
tctggaaactttgcaattagttcccagagccttcaaatgaagttcaagcatgacaatgatacaagtgtagttaga
gcaacaataggtacaaatatattattgggagaacattttaatattcactgtgatatatttggagataaaggaaat
gataaaggcattggtgggcaagcaggatttacatacaaattttaa

配列番号40
名称：Law 0033-OstA
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：30
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAGATCTATTATCAACATCTCTGAA-3'

配列番号41
名称：Law 0033-OstA
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：33
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAAGCTTTTATTCAAACAGACCAGGGAT-3'

配列番号42
名称：Law 0691-PAL
ベクター：pET23a+
長さ　：30
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTGGATCCAAAAGCGTAGATGTAGAA-3'

配列番号43
名称：Law 0691-PAL
ベクター：pET23a+
長さ　：30
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAAGCTTTTTTGCGATGATGCGGAA-3'

配列番号44
名称：Law 0691-PAL
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：30
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTGGATCCAAAAGCGTAGATGTAGAA-3'

配列番号45
名称：Law 0691-PAL
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：33
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAAGCTTTTATTTTGCGATGATGCGGAA-3'

【０１１１】

【化１７】

配列番号46
名称：Law0995-OPRM
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：30
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AAACTAGGATCCTTCGCTCCAGATTACAAC-3'

配列番号47
名称：Law0995-OPRM
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：33
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCAAAAGCTTTTATTCCCAGGAGCCACCCAG-3'

配列番号48
名称：Law C046-SLH
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：30
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCTTAGATCTAAAAAGGAAGTTAAAATC-3'

配列番号49
名称：Law C046-SLH
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：33
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCTTAAGCTTTTAGTACACATAACGGATGGT-3'

配列番号50
名称：Law00147-SlyB
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：30
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCTTAGATCTGGTAAACAGATCCGTAGC-3'

配列番号51
名称：Law00147-SlyB
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：33
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCTTAAGCTTTCAGATAGAGCTGACGCGTGC-3'

配列番号52
名称：Law 0050-AsmA
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：30
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCTTAGATCTATCACGTTCTACTTCATC-3'

配列番号53
名称：Law 0050-AsmA
ベクター：pMAL-c2X

【０１１２】

【化１８】

長さ ： 33
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTTCTAGACGGCAGCAGCAGTTTCAGCGG-3'

配列番号54
名称： Law 0065-LoIA
ベクター： pMAL-c2X
長さ ： 30
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAGATCTGAAAGCATCCCGATTGTA-3'

配列番号55
名称： Law 0065-LoIA
ベクター： pMAL-c2X
長さ ： 33
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAAGCTTTTAATTGAACAGTGGGCGCTC-3'

配列番号56
名称： Law 0043-PtfH
ベクター： pMAL-c2X
長さ ： 30
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAGATCTTCTAGCAGCTCTAAGGTT-3'

配列番号57
名称： Law 0043-PtfH
ベクター： pMAL-c2X
長さ ： 34
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAAGCTTAGATTTCAGAGGACAGGTCAGA-3'

配列番号58
名称： Law 0649-OmpB
ベクター： pMAL-c2X
長さ ： 30
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAGATCTGTAGAACACTTCGCAAAT-3'

配列番号59
名称： Law 0649-OmpB
ベクター： pMAL-c2X
長さ ： 33
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAAGCTTTCAGAAGCGGTAGGTAGCACC-3'

配列番号60
名称： Law 1082-FeoA
ベクター： pMAL-c2X
長さ ： 30
型：合成核酸配列
生物：プライマー
5'-AACCTTAGATCTATGTCTGCCGTTGTTGAT-3'

【０１１３】

【化１９】

配列番号61
名称：Law 1082-FeoA
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：33
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCTTAAGCTTTTAAGAAATCGGAGACACCAT-3'

配列番号62
名称：LawB004-Fluf
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：30
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCTTGGATCCAAACAAAAGATCTACGCG-3'

配列番号63
名称：LawB004-Fluf
ベクター：pMAL-c2X
長さ　：33
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCTTAAGCTTTTAGAATTTGTAGGTGAAACC-3'

配列番号64
名称：Law 1153-OmpA
ベクター：pET23a+
長さ　：33
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCTTAGATCTGGTAACACTAATCGTGCTACT-3'

配列番号65
名称：Law 1153-OmpA
ベクター：pET23a+
長さ　：30
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AACCTTAAGCTTCTGGATGTTGTTTTCATC-3'

配列番号66
名称：N末端Hisタグアダプター
ベクター：pUEX2-M3
長さ　：60
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AATTCATCATCATCATCATCATAGCAGCGGCATCGAAGGCCGCGGCCGCTTAATTAATAG-3'

配列番号67
名称：N末端Hisタグアダプター
ベクター：pUEX2-M3
長さ　：60
型:合成核酸配列
生物:プライマー
5'-AATTCTATTAATTAAGCGGCCGCGGCCTTCGATGCCGCTGCTATGATGATGATGATGATG-3'

本明細書中で記載された実施例および実施態様は、説明目的のみのためであり、そしてそれを考慮した様々な改変または変更が当業者に示唆され、そして本出願の意図および範囲および添付の特許請求の範囲内に含まれることが理解される。本明細書中で引用された全ての出版物、特許、および特許出願は、これによって全ての目的のためにその全体として参考文献に組み込まれる。

【配列表】

2012506858000001.app

【手続補正書】
【提出日】平成23年6月23日(2011.6.23)
【手続補正１】
【補正対象書類名】明細書
【補正対象項目名】００１２
【補正方法】変更
【補正の内容】
【００１２】
本発明は、インビトロにおける培養の必要無しに、Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓに対する保護のためのサブユニットワクチンとして有用なポリペプチドおよびポリヌクレオチドに向けられる。本発明は、１つまたは複数の本発明のポリペプチド（例えば配列番号第１～１３番）を含む組成物を提供する。これらの組成物はまた、免疫原性組成物であり得、それはさらに薬学的に許容可能なアジュバントを含む。本発明はまた、さらに１つまたは複数の以下の微生物の抗原性成分を含む免疫原性組成物を提供する：Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ Ｈｙｏｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｅｒｙｓｉｐｅｌａｓ ｓｐｐ、ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｈ．ｐａｒａｓｕｉｓ、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｓｐｐ、ｓｔｒｅｐｔｏｃｃｏｕｓ ｓｕｉｓ、ｂｒａｃｈｙｓｐｉｒａ ｓｐｐ、ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ、ｐａｓｔｅｕｒｅｌｌａ、Ｅ．ｃｏｌｉ、コロナウイルス、パルボウイルス、ＰＲＲＳ、サーコウイルス、およびＳＩＶ。他の実施態様において、本発明は、本発明のポリペプチドをコードする、１つまたは複数のポリヌクレオチド（例えば配列番号第２７～３９番）を含む組成物を提供する。これらの組成物はまた、免疫原性組成物であり得、それはさらに薬学的に許容可能なアジュバントを含む。それに加えて、本発明は、不活化Ｌａｗｓｏｎｉａ（バクテリン）および適当なアジュバントを含む免疫原性組成物を提供する。
本発明は、例えば以下の項目を提供する。
（項目１） １つまたは複数のポリペプチドおよびアジュバントを含む免疫原性組成物であって、各ポリペプチドは、配列番号１～１１からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、免疫原性組成物。
（項目２） 配列番号１２および１３からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドをさらに含む、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目３） 前記ポリペプチドが、配列番号１に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目４） 前記ポリペプチドが、配列番号２に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目５） 前記ポリペプチドが、配列番号３に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目６） 前記ポリペプチドが、配列番号４に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目７） 前記ポリペプチドが、配列番号５に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目８） 前記ポリペプチドが、配列番号６に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目９） 前記ポリペプチドが、配列番号７に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目１０） 前記ポリペプチドが、配列番号８に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目１１） 前記ポリペプチドが、配列番号９に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目１２） 前記ポリペプチドが、配列番号１０に少なくとも９０％同一であるアミノ

酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目１３）　前記ポリペプチドが、配列番号１１に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目１４）　前記アジュバントが、動物における薬学的使用のために適切なアジュバントである、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目１５）　前記アジュバントが、水酸化アルミニウムである、項目１４に記載の免疫原性組成物。
（項目１６）　前記アジュバントが、リン酸アルミニウムである、項目１４に記載の免疫原性組成物。
（項目１７）　前記アジュバントが、油、水、および水酸化アルミニウムを含む、項目１４に記載の免疫原性組成物。
（項目１８）　前記アジュバントが、ＩＳＣＯＭである、項目１４に記載の免疫原性組成物。
（項目１９）　Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ　Ｈｙｏｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｅｒｙｓｉｐｅｌａｓ　ｓｐｐ、ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｈ．ｐａｒａｓｕｉｓ、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ　ｓｐｐ、ｓｔｒｅｐｔｏｃｃｏｕｓ　ｓｕｉｓ、ｂｒａｃｈｙｓｐｉｒａ　ｓｐｐ、ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ、ｐａｓｔｅｕｒｅｌｌａ、Ｅ．ｃｏｌｉ、コロナウイルス、パルボウイルス、ＰＲＲＳ、サーコウイルス、またはＳＩＶのうちの１つまたは複数の抗原性成分をさらに含む、項目１に記載の免疫原性組成物。
（項目２０）　１つまたは複数のポリヌクレオチドおよびアジュバントを含む免疫原性組成物であって、各ポリヌクレオチドは、配列番号１～１１からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有するポリヌクレオチドをコードするヌクレオチド配列を有する、免疫原性組成物。
（項目２１）　配列番号３８および３９からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドをさらに含む、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目２２）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号２７に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目２３）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号２８に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目２４）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号２９に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目２５）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号３０に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目２６）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号３１に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目２７）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号３２に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目２８）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号３３に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目２９）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号３４に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目３０）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号３５に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目３１）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号３６に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目３２）　前記ポリヌクレオチドが、配列番号３７に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を有する、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目３３）　Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ　Ｈｙｏｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｅｒｙｓｉｐｅｌａｓ　ｓｐｐ、ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｈ．ｐａｒａｓｕｉｓ、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ

ｓｐｐ、ｓｔｒｅｐｔｏｃｃｏｕｓ ｓｕｉｓ、ｂｒａｃｈｙｓｐｉｒａ ｓｐｐ、ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ、ｐａｓｔｅｕｒｅｌｌａ、Ｅ．ｃｏｌｉ、コロナウイルス、パルボウイルス、ＰＲＲＳ、サーコウイルス、またはＳＩＶのうちの１つまたは複数の抗原性成分をコードするポリヌクレオチドをさらに含む、項目２０に記載の免疫原性組成物。
（項目３４） 動物において、Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓに対する保護的免疫反応を誘導する方法であって、該方法は、該動物に項目１に記載の組成物を投与する工程を包含する、方法。
（項目３５） 前記動物がブタである、項目３４に記載の方法。
（項目３６） 前記免疫原性組成物が、乱刺、筋肉内注射、皮下注射、腹腔内、鼻腔内投与、および経口投与からなる群から選択される経路により投与される、項目３４に記載の方法。
（項目３７） 動物において、Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓに対する保護的免疫反応を誘導する方法であって、該方法は、該動物に項目２０に記載の組成物を投与する工程を包含する、方法。
（項目３８） 前記動物がブタである、項目３７に記載の方法。
（項目３９） 前記免疫原性組成物が、乱刺、筋肉内注射、皮下注射、腹腔内、鼻腔内投与、および経口投与からなる群から選択される経路により投与される、項目３７に記載の方法。
（項目４０） 動物由来の生物学的サンプルにおける、Ｌａｗｓｏｎｉａに反応性の抗体の特異的検出のための方法であって、
ａ）配列番号１～１１で示される配列、またはその免疫原性断片を有するＬａｗｓｏｎｉａ抗原と、該生物学的サンプルを接触させる工程、
ｂ）該生物学的サンプル中の該Ｌａｗｓｏｎｉａ抗原と抗体との間の抗原－抗体結合を検出する工程であって、該抗原－抗体結合の検出は、該生物学的サンプルにおけるＬａｗｓｏｎｉａに反応性の抗体の存在を示す、工程
を包含する、方法。
（項目４１） 前記生物学的サンプルが、血液を含む、項目４０に記載の方法。
（項目４２） 配列番号１～１１または配列番号２７～３７で示される配列を有する１つまたは複数のＬａｗｓｏｎｉａ抗原を含む、キット。
（項目４３） ブタにおいて、Ｌａｗｓｏｎｉａに対する保護的免疫反応を誘導するための説明書をさらに含む、項目４２に記載のキット。

【手続補正２】
【補正対象書類名】特許請求の範囲
【補正対象項目名】全文
【補正方法】変更
【補正の内容】
【特許請求の範囲】
【請求項１】
１つまたは複数のポリペプチドを含む免疫原性組成物であって、各ポリペプチドは、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、および１１からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、免疫原性組成物。
【請求項２】
前記ポリペプチドが、配列番号９に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項１に記載の免疫原性組成物。
【請求項３】
配列番号１２および１３からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する第二のポリペプチドをさらに含む、請求項１または２に記載の免疫原性組成物。
【請求項４】

前記第二のポリペプチドが、配列番号１３に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有する、請求項２または３に記載の免疫原性組成物。
【請求項５】
１つまたは複数のポリヌクレオチドを含む免疫原性組成物であって、各ポリヌクレオチドは、配列番号１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０、および１１からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む、免疫原性組成物。
【請求項６】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号９に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、請求項５に記載の免疫原性組成物。
【請求項７】
配列番号１２および１３からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするヌクレオチド配列を有する第二のポリヌクレオチドをさらに含む、請求項５または６に記載の免疫原性組成物。
【請求項８】
前記第二のポリヌクレオチドが、配列番号１３に少なくとも９０％同一であるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードする、請求項６または７に記載の免疫原性組成物。
【請求項９】
前記ポリヌクレオチドが、配列番号２７、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、および３７からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を含み、該第二のポリヌクレオチドが、配列番号３８および３９からなる群から選択される配列に少なくとも９０％同一であるヌクレオチド配列を含む、請求項７または８に記載の免疫原性組成物。
【請求項１０】
前記ポリヌクレオチドおよび前記第二のポリヌクレオチドは、組換えウイルスベクターまたは細菌ベクターから構成される、請求項５、６、７、８、または９に記載の免疫原性組成物。
【請求項１１】
アジュバントをさらに含む、請求項１、２、３、４、５、６、７、８、９、または１０に記載の免疫原性組成物であって、該アジュバントは、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウム、油、水、およびＱｕｉｌ、ＱｕｉｌＡプラスコレステロール、及び免疫刺激複合体（ＩＳＣＯＭ）からなる群から選択される、免疫原性組成物。
【請求項１２】
請求項１、２、３、４、５、６、７、８、９、１０または１１に記載の免疫原性組成物を含む、ワクチン。
【請求項１３】
Ｍｙｃｏｐｌａｓｍａ Ｈｙｏｐｎｅｕｍｏｎｉａｅ、Ｅｒｙｓｉｐｅｌａｓ ｓｐｐ、ｓａｌｍｏｎｅｌｌａ、Ｈ．ｐａｒａｓｕｉｓ、ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍ ｓｐｐ、ｓｔｒｅｐｔｏｃｃｏｕｓ ｓｕｉｓ、ｂｒａｃｈｙｓｐｉｒａ ｓｐｐ、ｂｏｒｄｅｔｅｌｌａ、ｐａｓｔｅｕｒｅｌｌａ、Ｅ．ｃｏｌｉ、コロナウイルス、パルボウイルス、ＰＲＲＳ、サーコウイルス、またはＳＩＶのうちの１つまたは複数の抗原性成分をさらに含む、請求項１２に記載のワクチン。
【請求項１４】
動物において、Ｌａｗｓｏｎｉａ ｉｎｔｒａｃｅｌｌｕｌａｒｉｓに対する保護的免疫反応を誘導するための、請求項１３に記載のワクチン。
【請求項１５】
動物から得られた生物学的サンプルにおける、Ｌａｗｓｏｎｉａに反応性の抗体の特異的検出のための方法であって、
ａ）配列番号１～１３で示される配列、またはその免疫原性断片を有するＬａｗｓｏｎｉａ抗原と、該生物学的サンプルを接触させる工程、

ｂ）該生物学的サンプル中の該Ｌａｗｓｏｎｉａ抗原と抗体との間の抗原－抗体結合を検出する工程であって、該抗原－抗体結合の検出は、該生物学的サンプルにおけるＬａｗｓｏｎｉａに反応性の抗体の存在を示す、工程
を包含する、方法。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/061429

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. C07K14/195 C12Q1/68 G01N33/68

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, Sequence Search, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2004/033631 A (UNIV MINNESOTA [US]; KAPUR VIVEK [US]; GEBHART CONNIE J [US]) 22 April 2004 (2004-04-22) page 29, line 14 - page 30, line 29 -& DATABASE JPO Proteins [Online] 16 August 2006 (2006-08-16), "NUCLEIC ACID AND POLYPEPTIDE SEQUENCES FROM LAWSONIA INTRACELLULARIS AND METHODS OF USING." XP002560456 retrieved from EBI accession no. JPOP:BD894600 Database accession no. BD894600 the whole document -/--	1-3, 14-22, 33-43

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
26 February 2010	16/03/2010

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Turri, Matteo

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/061429

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	-& DATABASE EMBL [Online] 17 August 2006 (2006-08-17), "NUCLEIC ACID AND POLYPEPTIDE SEQUENCES FROM LAWSONIA INTRACELLULARIS AND METHODS OF USING." XP002560660 retrieved from EBI accession no. EMBL:DD307274 Database accession no. DD307274 -& DATABASE JPO Proteins [Online] 16 August 2006 (2006-08-16), "NUCLEIC ACID AND POLYPEPTIDE SEQUENCES FROM LAWSONIA INTRACELLULARIS AND METHODS OF USING. 720" XP002570348 retrieved from EBI accession no. JPOP:BD895216 Database accession no. BD895216 -& DATABASE EMBL [Online] 17 August 2006 (2006-08-17), "NUCLEIC ACID AND POLYPEPTIDE SEQUENCES FROM LAWSONIA INTRACELLULARIS AND METHODS OF USING." XP002570349 retrieved from EBI accession no. EMBL:DD307890 Database accession no. DD307890 -& DATABASE JPO Proteins [Online] 16 August 2006 (2006-08-16), "NUCLEIC ACID AND POLYPEPTIDE SEQUENCES FROM LAWSONIA INTRACELLULARIS AND METHODS OF USING." XP002570350 retrieved from EBI accession no. JPOP:BD894443 Database accession no. BD894443 -& DATABASE EMBL [Online] 17 August 2006 (2006-08-17), "NUCLEIC ACID AND POLYPEPTIDE SEQUENCES FROM LAWSONIA INTRACELLULARIS AND METHODS OF USING." XP002570351 retrieved from EBI accession no. EMBL:DD307117 Database accession no. DD307117 -& DATABASE JPO Proteins [Online] 16 August 2006 (2006-08-16), "NUCLEIC ACID AND POLYPEPTIDE SEQUENCES FROM LAWSONIA INTRACELLULARIS AND METHODS OF USING." XP002570352 retrieved from EBI accession no. JPOP:BD895720 Database accession no. BD895720 -& DATABASE EMBL [Online] 17 August 2006 (2006-08-17), "NUCLEIC ACID AND POLYPEPTIDE SEQUENCES FROM LAWSONIA INTRACELLULARIS AND METHODS OF USING." XP002570353 retrieved from EBI accession no. EMBL:DD308693 Database accession no. DD308693 -/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/US2009/061429

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	& JP 2006 501846 T 19 January 2006 (2006-01-19)	
X	WO 2006/116763 A (BOEHRINGER INGELHEIM VETMED [US]; VAUGHN ERIC [US]; SCHAEFFER MERRILL) 2 November 2006 (2006-11-02) sequence 208	1,3, 14-18, 22,34-43

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US2009/061429

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. [X] Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

Although claims 34-39 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. [ ] Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International search can be carried out, specifically:

3. [ ] Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

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

see additional sheet

1. [ ] As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. [ ] As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. [X] As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

1-3,14-22,33-43 (partially)

4. [ ] No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

[ ] The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

[X] No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/US2009 /061429

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

Invention 1: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

All subject-matter relating to SEQ ID NO:1 and 27

Invention 2: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

All subject-matter relating to SEQ ID NO:2 and 28

Invention 3: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

All subject-matter relating to SEQ ID NO:3 and 29

Invention 4: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

All subject-matter relating to SEQ ID NO:4 and 30

Invention 5: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

All subject-matter relating to SEQ ID NO:5 and 31

Invention 6: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

All subject-matter relating to SEQ ID NO:6 and 32

Invention 7: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

All subject-matter relating to SEQ ID NO:7 and 33

Invention 8: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

All subject-matter relating to SEQ ID NO:8 and 35

Invention 9: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

All subject-matter relating to SEQ ID NO:9 and 34

Invention 10: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

All subject-matter relating to SEQ ID NO:10 and 37

Invention 11: claims 1, 3, 14-18, 20, 22, 34-43 (partially)

International Application No. PCT/US2009/061429

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

All subject-matter relating to SEQ ID NO:11 and 36

Inventions 12-22: claims 1-43 (partially)

As inventions 1-11 further comprising the subject-matter of claims 2, 19, 21 and 33

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/US2009/061429

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004033631 A	22-04-2004	AU 2003295341 A1	04-05-2004
		CA 2501238 A1	22-04-2004
		EP 1570045 A2	07-09-2005
		JP 2006501846 T	19-01-2006
JP 2006501846 T	19-01-2006	AU 2003295341 A1	04-05-2004
		CA 2501238 A1	22-04-2004
		EP 1570045 A2	07-09-2005
		WO 2004033631 A2	22-04-2004
WO 2006116763 A	02-11-2006	AR 053372 A1	02-05-2007
		EP 1877580 A2	16-01-2008
		JP 2009509496 T	12-03-2009
		US 2008279893 A1	13-11-2008

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
Ｃ０７Ｋ 14/195	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	15/00	Ａ	
		Ｃ０７Ｋ	14/195		

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

(72)発明者 モーゼイ, モハマド エー.
アメリカ合衆国 ネブラスカ ６８１３５, オマハ, エス. １７２エヌディー ストリート ５３０３
(72)発明者 クック, ステファニー エム.
アメリカ合衆国 ネブラスカ ６８１５４, オマハ, パーカー ストリート １４１２４
(72)発明者 チャン, ユエンチャン
アメリカ合衆国 ネブラスカ ６８５０５, リンカーン, ミスティー ブルー サークル ８６３０
(72)発明者 チャン, チン
アメリカ合衆国 ニュージャージー ０７０７８, ショート ヒルズ, シルバー スプリング ロード ３０

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 BA31 CA04 DA06 EA04 GA11
4C085 AA03 AA04 BA15 BA37 BB11 BB23 DD86 EE01 EE03 EE06
FF01 FF02 FF11 FF24
4H045 BA10 CA11 DA86 EA31 FA74