

(19) 日本国特許庁(JP)

## (12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4172598号  
(P4172598)

(45) 発行日 平成20年10月29日(2008.10.29)

(24) 登録日 平成20年8月22日(2008.8.22)

(51) Int.Cl.

F 1

C 12 N	15/09	(2006.01)	C 12 N	15/00	Z N A A
C 12 N	1/15	(2006.01)	C 12 N	1/15	
C 12 N	1/19	(2006.01)	C 12 N	1/19	
C 12 N	1/21	(2006.01)	C 12 N	1/21	
C 12 N	5/10	(2006.01)	C 12 N	5/00	A

請求項の数 22 (全 170 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号

特願平10-541074

(86) (22) 出願日

平成10年4月1日(1998.4.1)

(65) 公表番号

特表2001-515359(P2001-515359A)

(43) 公表日

平成13年9月18日(2001.9.18)

(86) 国際出願番号

PCT/DK1998/000132

(87) 国際公開番号

W01998/044119

(87) 国際公開日

平成10年10月8日(1998.10.8)

審査請求日 平成17年3月31日(2005.3.31)

(31) 優先権主張番号

0376/97

(32) 優先日

平成9年4月2日(1997.4.2)

(33) 優先権主張国

デンマーク(DK)

(31) 優先権主張番号

60/044,624

(32) 優先日

平成9年4月18日(1997.4.18)

(33) 優先権主張国

米国(US)

(73) 特許権者 507006422

スタテンス セールム インスティトゥー  
ト  
デンマーク王国 コペンハーゲン エス  
ディーケイ-2300, アルティラリイベ  
イ 5

(74) 代理人 100062007

弁理士 川口 義雄

(74) 代理人 100114188

弁理士 小野 誠

(74) 代理人 100140523

弁理士 渡邊 千尋

(74) 代理人 100119253

弁理士 金山 賢教

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】結核菌由来の核酸フラグメント及びポリペプチドフラグメント

## (57) 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

a ) SEQ ID NO : 2 に示すアミノ酸配列、又は

b )

## 【化 1】

$$\frac{(N_{ref} - N_{dif})}{N_{ref}} \times 100$$

[式中、 $N_{dif}$  は整列している際の 2 つの配列中で同一でない残基の全数であり、 $N_{ref}$  は 1 つの配列における残基数である]により算出して、a ) に定義したポリペプチドと少なくとも 95 % 同一の配列を有し、結核菌群に属するマイコバクテリアの感染に対する免疫防護応答を引き起こす能力、または結核菌群に属するマイコバクテリア由来抗原での過去あるいは現在の感作を示す、診断上、顕著な免疫応答を引き出す能力を有するアミノ酸配列からなり、少なくとも 96 % 以上純粋な調製物であるポリペプチド。

10

## 【請求項 2】

結核菌群に属する細菌からのいずれの他の抗原も含まない請求項 1 に記載のポリペプチド。

## 【請求項 3】

ヘルパー T 細胞のエピトープからなる請求項 1 又は 2 に記載のポリペプチド。

## 【請求項 4】

いずれのシグナル配列もない請求項 1 ~ 3 のいずれか 1 つに記載のポリペプチド。

20

**【請求項 5】**

1) 一次感染から 2 週間以内か、又はマウスを結核菌群に属するマイコバクテリアに再度実験的に感染させてから 4 日以内のマウスから回収した感作記憶 T - リンパ球からの IFN - の放出を誘導し、

その誘導が、約 200,000 個の脾臓細胞 / ml を含む懸濁液にポリペプチドを添加して行われ、ポリペプチドの添加により濃度が 1 ~ 4 μg ポリペプチド / ml 懸濁液となり、IFN - の放出が、懸濁液にポリペプチドを添加して 2 日後に回収した上清中の IFN - の測定により評価できる、及び / 又は

2) 感染第 1 相の TB 患者又は BCG 予防接種した健康なドナー又は TB 患者に接触している健常者から単離した約 1,000,000 個の人 PBMC (末梢血液単核細胞) / ml 10 から、少なくとも 300 pg 上のレベルで IFN - ガンマの放出を誘導し、その誘導が、約 1,000,000 個の PBMC / ml を含む懸濁液にポリペプチドを添加して行われ、ポリペプチドの添加により濃度が 1 ~ 4 μg ポリペプチド / ml 懸濁液となり、IFN - の放出が、懸濁液にポリペプチドを添加して 2 日後に回収した上清中の IFN - の測定により評価できる、及び / 又は

3) 結核菌群に属するマイコバクテリアで予め感作した動物由来のウシ PBMC から IFN - の放出を誘導し、その放出が、結核菌群に属するバクテリアで予め感作していない動物由来のウシ PBMC から観察される放出の少なくとも 2 倍である請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 つに記載のポリペプチド。

**【請求項 6】**

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載の少なくとも 1 つのポリペプチドと少なくとも 1 つの融合パートナーからなる融合ポリペプチド。

**【請求項 7】**

融合パートナーが、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに定義するポリペプチド及び結核菌群に属する細菌由来の他のポリペプチドからなる群から選択される請求項 6 に記載の融合ポリペプチド。

**【請求項 8】**

結核菌、マイコバクテリア・アフリカヌム又はマイコバクテリア・ボビスにより引き起こされる結核の診断用の医薬として用いるための請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のポリペプチド。

**【請求項 9】**

結核菌、マイコバクテリア・アフリカヌム又はマイコバクテリア・ボビスにより引き起こされる結核の診断用の医薬組成物の製造における請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のポリペプチドの使用。

**【請求項 10】**

1) 請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに定義するポリペプチドをエンコードする核酸配列からなるか、又はその相補的な核酸配列からなり、又は

2) SEQ ID NO : 1 に示すヌクレオチド配列又はその相補的な配列からなる、単離形態の核酸。

**【請求項 11】**

DNA である請求項 10 に記載の核酸。

**【請求項 12】**

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のポリペプチドを含む免疫組成物。

**【請求項 13】**

少なくとも 2 つの異なるポリペプチドフラグメントからなり、異なるポリペプチドが、それぞれ請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のポリペプチドである請求項 12 に記載の免疫組成物。

**【請求項 14】**

3 ~ 20 の異なるポリペプチドからなり、異なるポリペプチドフラグメントが、それぞれ、請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のポリペプチドである請求項 13 に記載の免疫組成

10

20

30

40

50

物。

【請求項 1 5】

請求項 1 0 又は 1 1 に記載の核酸からなる複製可能な発現ベクター。

【請求項 1 6】

ウィルス、バクテリオファージ、プラスミド、コスミド及びマイクロクロモソームからなる群から選択される請求項 1 5 に記載のベクター。

【請求項 1 7】

請求項 1 5 又は 1 6 に記載の少なくとも 1 つのベクターを有する形質転換細胞。

【請求項 1 8】

結核菌群に属する細菌である請求項 1 7 に記載の形質転換細胞。 10

【請求項 1 9】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のポリペプチドを発現する請求項 1 7 又は 1 8 に記載の形質転換細胞。

【請求項 2 0】

請求項 1 0 又は 1 1 に記載の核酸を、宿主細胞で複製可能なベクターに挿入し、得られた組換えベクターを宿主細胞へ導入し、ポリペプチドを発現させるのに十分な条件下、培養細胞で宿主細胞を培養し、宿主細胞又は培養培地からポリペプチドを回収する；又は短期培養ろ液から請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つで定義するポリペプチドを単離する；又は 結核菌群の全マイコバクテリア又はその溶解物または画分からポリペプチドを単離する；又は 20

固相又は液相ペプチド合成でポリペプチドを合成する

からなる請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のポリペプチドの產生方法。

【請求項 2 1】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のポリペプチドを製造、合成又は単離し、かつ

ワクチン用の培地にポリペプチドを可溶化又は分散させ、かつ

任意に他の結核菌抗原及び／又は担体、賦形剤及び／又はアジュバント物質を加えるか、又は、

請求項 1 7 ~ 1 9 のいずれか 1 つに記載の細胞を培養し、かつ

ワクチン用の培地に細胞を移し、かつ

任意に担体、賦形剤及び／又はアジュバント物質を加えることからなる請求項 1 2 ~ 1 4 30 のいずれか 1 つに記載の免疫組成物の產生方法。

【請求項 2 2】

イムノアッセイで請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つに記載のポリペプチドと特異的に反応するモノクローナル又はポリクローナル抗体。

【発明の詳細な説明】

発明の分野

本発明は、結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 由来で免疫学的に活性な幾つかの新規のポリペプチドフラグメント、免疫原性成分として該フラグメントを含むワクチン及び他の免疫性組成物、及び該ポリペプチドの產生方法ならびにその用途に関する。また、本発明は、本発明のポリペプチドフラグメントの製造又は結核菌感染の診断に有用な結核菌由來の新規の核酸フラグメントに関する。さらに、本発明は、ある融合ポリペプチド、特に ESAT-6 と MPT59 の融合物に関する。 40

発明の背景

結核菌により引き起こされるヒトの結核（以下、「TB」で示す）は、WHOによれば、一年に約300万件の死亡原因となっている世界的に深刻な健康問題である。新しいTBの症例の世界的な発症率は、最近10年の間、徐々に減少しているが、ごく最近は、エイズの発生や多くの薬剤に耐性の結核菌株の出現により、この傾向が著しく変わっている。

臨床的な用途に現在利用可能な唯一のワクチンはBCGであり、有効なワクチンが議論の対象となっている。BCGは、一般的にTBの動物モデルにおいて高レベルな後天的耐性を誘導するが、開発途上国での数回のヒトの試験では、重要な防護を立証していない。特に、BC 50

Gは、合衆国での使用がFDAにより許可されていない。

このため、新規かつTBに対して改良されたワクチンの開発は緊急課題となっており、WHOによってかなり優先的に扱われている。防護的なマイコバクテリ物質を同定するための多くの試験がなされ、数人の研究者が、1950～1970年の間に実験的な予防接種後の耐性の増大を報告している。しかし、BCGの効力に対する特に長期間の防護的な免疫応答は、可溶性タンパク質又は細胞壁断片の投与によっても依然として立証されておらず、現在、短期培養ろ液から誘導されたポリペプチド（後述参照）によって研究中である。

結核菌に対する免疫性は、3つの基本的な特色で特徴づけられる。i) 生細菌は、死菌製剤と対照的に防護的な免疫応答を有効に誘導する；ii) 特異的な感作Tリンパ球は、この防護を媒介する；iii) もっとも重要な媒介分子は、インターフェロンガンマ（INF- $\gamma$ ）であると思われる。10

短期培養ろ液（ST-CF）は、液体培地で最初の数日成長させる間に結核菌から放出されるタンパク質の複合混合物である [Andersenら、1991]。培養ろ液は、TB感染の第一相で宿主に認識される防護抗原を有していることが示唆されている [Andersenら、1991、Ormeら、1993]。幾つかの研究機関からの最近のデータにより、培養ろ液の抗原をベースにする実験的なサブユニットワクチンは、TBに後天的な耐性を高レベルで生じることが立証されている [Pal及びHorwitz、1992；Robertsら、1995；Andersen、1994；Lindbladら、1997]。しかし、培養ろ液は複雑なタンパク質混合物で、これまで、この防護的な免疫反応を果たす分子について利用可能な情報は非常に限られている。この点に関しては、2つの培養ろ液抗原、つまり低質量抗原ESAT-6 [Andersenら、1995及びEP-A-0 706 571号] 及び31 kDaのAg85B分子 [EP-0 432 203] が免疫防護に関連して記載されているにすぎない。20

したがって、最終的に有効なサブユニットワクチンを产生するために、TBに対する免疫防護誘導に関する別の抗原を同定する必要がある。

#### 発明の目的

本発明の目的は、TBに対するサブユニットワクチンの成分として有効であるか、又はマイコバクテリア（特に、毒性結合性（virulence-associated）のマイコバクテリア）感染の検出用診断組成物の成分として有用な新規の抗原を提供することにある。また、新規の抗原は、重要な薬剤の標的であってもよい。

#### 発明の要約

本発明は、結核菌由来で、これまでに特徴づけされていない幾つかの培養ろ液抗原の同定と特徴づけに基づく。TBの動物モデルで、T細胞が介在する免疫性は、6～12及び17～30kDaの範囲のST-CF中の抗原に優勢である。本発明では、低分子量領域の8抗原（CFP7、CFP7A、CFP7B、CFP8A、CFP8B、CFP9、CFP10A及びCFP11）及び17～30kDaの範囲の18抗原（CFP16、CFP17、CFP19、CFP19B、CFP20、CFP21、CFP22、CFP22A、CFP23、CFP23A、CFP23B、CFP25、CFP26、CFP27、CFP28、CFP29、CFP30A及びCFP30B）が同定された。これらのうち、CFP19AとCFP23が選択された。これは、結核菌の2つのDNA配列orf19Aとorf23に相同性を示すCFP21とCFP25をエンコードする遺伝子（それぞれcfp21及びcfp25）を有するサンガー（Sanger）データベース（後述参照）でヌクレオチドのホモロジーシーケンスを調査した限りでは、それらが、それぞれCFP21とCFP25に比較的高い相同性を示すからである。orf19aとorf23の2つの配列は、それぞれ約19及び23kDaの分子量を有する仮想（putative）タンパク質CFP19AとCFP23をエンコードする。CFP21とCFP25に対するアミノ酸レベルでの同一性は、両タンパク質についてそれぞれ46%及び50%である。CFP21とCFP25は優勢なT細胞抗原であることを示しており、それ故、CFP19AとCFP23は新規なT-細胞抗原である可能性がある。30

さらに、50kDaの抗原（CFP50）が培養ろ液から単離され、30kDaの領域の抗原（CWP32）も細胞壁から単離されている。

また、本発明は、マイコバクテリア・ボビス（M.bovis）BCG株に存在しない結核菌由来の幾つかの仮想抗原の同定に基づく。これらの仮想抗原をエンコードするヌクレオチド配列は、rd1-orf2、rd1-orf3、rd1-orf4、rd1-orf5、rd1-orf8、rd1-orf9a及びrd1-orf9bである。40

最後に、本発明は、ESAT-6とMPT59の融合物が、それぞれ非融合タンパク質に比較して優れた免疫原性があるという驚くべき発見に基づいている。

33個の抗原をエンコードする遺伝子が決定され、様々なマイコバクテリア株での幾つかの抗原の分布が研究され、生成物の生物活性が特徴づけられた。抗原は、全て代謝しているマイコバクテリアにより分泌されるので、ワクチン目的ならびに診断目的での可能性がある抗原をパネルした。

以下の表は、ここで用いる名称ならびに関連するN-末端配列、全アミノ酸配列及び抗原をエンコードするDNA配列のSEQ ID番号を参照して、本発明の抗原を挙げている。

抗原	N-末端配列 SEQ ID NO:	ヌクレオチド配列 SEQ ID NO:	アミノ酸配列 SEQ ID NO:	
CFP7		1	2	10
CFP7A	81	47	48	
CFP7B	168	146	147	
CFP8A	73	148	149	
CFP8B	74	150	151	
CFP9		3	4	
CFP10A	169	140	141	
CFP11	170	142	143	
CFP16	79	63	64	
CFP17	17	5	6	
CFP19	82	49	50	
CFP19A		51	52	
CFP19B	80			20
CFP20	18	7	8	
CFP21	19	9	10	
CFP22	20	11	12	
CFP22A	83	53	54	
CFP23		55	56	
CFP23A	76			
CFP23B	75			
CFP25	21	13	14	
CFP25A	78	65	66	
CFP27	84	57	58	
CFP28	22			
CFP29	23	15	16	
CFP30A	85	59	60	30
CFP30B	171	144	145	
CFP50	86	61	62	
MPT51		41	42	
CWP32	77	152	153	
RD1-ORF8		67	68	
RD1-ORF2		71	72	
RD1-ORF9B		69	70	
RD1-ORF3		87	88	
RD1-ORF9A		93	94	
RD1-ORF4		89	90	
RD1-ORF5		91	92	
MPT59- ESAT6			172	
ESAT6- MPT59			173	40

T-細胞エピトープがTBに対する後天性免疫性を引き出す原因であることは当該分野で周知であるが、B-細胞エピトープは、後天性免疫と生体内でのマイコバクテリアの認識に全く影響しない。このようなT-細胞エピトープは直鎖状で、6アミノ酸残基という最も小さい長さであることが知られているので、本発明は、特に、このようなT-細胞エピトープの同定と利用に関するもの。

したがって、もっとも広い態様において、本発明は実質的に純粋なポリペプチドフラグメントに関し、

a) SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、17~23のいずれか1つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72~86のいずれか1つ、88、90、92、94、14 50

1、143、145、147、149、151、153及び168～171のいずれか1つで示される配列から選択されるアミノ酸配列からなり、

b)少なくとも6アミノ酸残基の長さを有するa)で定義されるポリペプチドフラグメントのサブ配列であって、結核菌群(tuberculosis complex)に属するマイコバクテリアの感染に対する免疫防護応答を引き起こす能力、又は結核菌群に属するマイコバクテリア由来抗原での感作を過去あるいは現在示す、診断上、顕著な免疫応答を引き出す能力に関して、a)で定義されるポリペプチドに免疫学的に等しい配列からなり、又は

c)a)に定義したポリペプチド又はb)で定義したサブ配列と少なくとも70%同一な配列を有し、同時に結核菌群に属するマイコバクテリアの感染に対する免疫防護応答を引き起こす能力、又は結核菌群に属するマイコバクテリア由来抗原での感作を過去あるいは現在示す、診断上、顕著な免疫応答を引き出す能力に関して、a)で定義されるポリペプチドに免疫学的に等しいアミノ酸配列からなり、

但し、i)ポリペプチドフラグメントがSEQ ID NO:2のアミノ酸配列1～96からなるか、又は-ガラクトシダーゼに融合するSEQ ID NO:4のアミノ酸配列87～108からなる際には、本質的に純粹形であり、

ii)c)における配列の同一性の程度が、ポリペプチドがSEQ ID NO:12のアミノ酸配列か、b)で定義するそのサブ配列を有するポリペプチドのホモログからなる際に、少なくとも95%であり、

iii)ポリペプチドフラグメントがSEQ ID NO:42の少なくとも6アミノ酸のアミノ酸配列からなる際に、SEQ ID NO:42の213の位置に相当するスレオニン残基を含む。

本発明の他の部分は、上記の定義を有するポリペプチドをエンコードするDNAフラグメント、ならびにこのようなポリペプチドをエンコードするDNAの存在を決定づけるのに有用なDNAフラグメントに関する。

#### 発明の詳細な説明

この明細書及び請求の範囲において、「ポリペプチドフラグメント」の語は、少なくとも2アミノ酸残基、多くて10アミノ酸残基の長さの短いペプチド、オリゴペプチド(11～10アミノ酸残基)及び長いペプチド(「ポリペプチド」について通常想定されるもの、つまり長さ100アミノ酸残基以上)ならびにタンパク質(機能的単位は、少なくとも1つのペプチド、オリゴペプチド又はポリペプチドからなり、グリコシリ化、脂質化(lipidate)あるいは補欠分子族からなることにより化学的に修飾されていてもよい)を示す。また、ポリペプチドの定義は、マイコバクテリア中で天然型のペプチド/タンパク質、ならびにいずれかの種類の宿主を形質転換する、いずれかのタイプの発現ベクター中の組換えタンパク質又はペプチド及び化学的に合成したペプチドも含む。

この明細書で、「実質的に純粹なポリペプチドフラグメント」は、天然に結合している他のポリペプチド物質を、多くて5重量%(他のポリペプチド物質は、より低い%、例えば多くて4%、多くて3%、多くて2%、多くて1%及び多くて0.5%が好ましい)含むポリペプチド調製物を意味する。実質的に純粹なポリペプチドは、少なくとも96%純粹であることが好ましい。つまり、ポリペプチドは調製物中に存在する全ポリペプチド物質の少なくとも96重量%を構成し、より高い%であることが好ましく、例えば少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、少なくとも99.25%、少なくとも99.5%及び少なくとも99.75%が好ましい。特に、ポリペプチドフラグメントは「本質的に純粹形」、つまり、ポリペプチドフラグメントは、天然に結合しているいずれの他の抗原も本質的になく、結核菌群に属する細菌由來のいずれの他の抗原もないことが好ましい。これは、以下に詳細に記載するように、マイコバクテリアでない宿主細胞で組換え法によりポリペプチドフラグメントを調製するか、又は周知の固相あるいは液相ペプチド合成法(例えば、Merrifieldにより記載の方法やその変法)でポリペプチドフラグメントを合成してなされる。

語「サブ配列」は、2、4、6、8、10、12、14、16、17～23のいずれか一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153及び168～171のいずれか一つから選択されるSEQ ID NOを有する本発明のポリペプチドに関して用いられる際に、SEQ ID NO:2、4、6、8

10

20

30

40

50

、10、12、14、16、17～23のいずれか一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153、168～171のいずれか一つの結核菌由来のポリペプチドから得られる少なくとも6アミノ酸残基のいずれかの連続的な範囲であって、結核菌群に属する細菌感染に抵抗性を増すことができる能力に関して上記ポリペプチドに免疫学的に等しいものを示す。したがって、異なる由来、例えば他の細菌や真核細胞由来のポリペプチドも含まれる。

「免疫学的に等しい」ポリペプチドに関しては、ワクチン又は診断剤（つまり、医薬的に受容な担体もしくは賦形剤及び任意のアジュバントと組合さって）に製剤化される際に、ポリペプチドが、ここでI)投与（単独、又は他の抗原と組合わさった免疫学的に活性な成分のいずれか）により、マウス及び／又はモルモット及び／又はヒトのような靈長類に、結核菌群に属する細菌感染に対して後天的に増した特異的な耐性を付与すること、

（その少なくとも20%がマイコバクテリア・ボビスBCGにより生じた後天的に増した耐性で、さらに少なくとも20%がSEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、17～23のいずれか一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153又は168～171のいずれか一つからなる親ポリペプチド（親ポリペプチドは、図6に示した2DEゲルと実質的に同じ相対位置とパターンを有する。実施例参照）により生じる後天的に増した耐性であり、

後天的に増した耐性を、結核菌のビルレント株に実験的に感染させたマウスあるいはモルモットから単離した脾臓、肺又は他の器官のホモジネート由来のマイコバクテリア数の減少を計測するか、又はヒトのような靈長類では、プラセボもしくはBCGを受けた対照の群に対して予防接種した群で観察される臨床的な結核の進行に対する防護を測定することにより評価する（増大した抵抗性はより高く、マイコバクテリア・ボビスBCGにより誘発される免疫防護応答の少なくとも50%、例えば少なくとも60%に相当することが好ましく、マイコバクテリア・ボビスBCGにより誘発される免疫防護応答の少なくとも80%、例えば少なくとも90%が、さらに好ましい。増大した抵抗性が、マイコバクテリア・ボビスBCGにより生じる抵抗性を代替することが期待される場合には、抵抗性は、増大した抵抗性の少なくとも100%、例えば少なくとも110%であることが好ましい）、及び／又は

II) 結核菌群に属するマイコバクテリア由来抗原での感作を過去あるいは現在示している哺乳類で、診断上、顕著な免疫応答を誘発する

（この診断上、顕著な免疫応答は、例えば皮膚試験で決定できる遅延型の過度感作反応の形態、又は例えば以下に詳述するIFN- $\gamma$ アッセイで測定されるIFN- $\gamma$ 放出の形態であってもよい。一連の皮膚試験で、診断上、顕著な反応は、少なくとも直径5mmで、少なくとも65%（好ましくは、少なくとも75%、例えば少なくとも85%）がSEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、17～23のいずれか一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153又は168～171のいずれか一つからなる親ポリペプチドにより誘発される皮膚反応（皮膚反応直径として評価）を生じる反応である）ことを意味する。

したがって、免疫性を増すポリペプチドフラグメントの能力は、予めポリペプチドで免疫化した後で結核菌群に属するマイコバクテリアのビルレント株に実験的に感染させた実験動物（例えば、マウス又モルモット）から単離した脾臓、肺又は他の器官のホモジネートからのマイコバクテリア数の減少を、同じビルレント株に感染させた実験動物（結核に対して予め免疫化していない）の対照群のマイコバクテリア数と比較して、実験動物で計測して評価することができる。マイコバクテリア数の比較は、マイコバクテリア・ボビスBCGで免疫化した後に同じビルレント株で実験的に感染させた実験動物群からのマイコバクテリアを計測して行ってもよい。

本発明のポリペプチドフラグメントで免疫化した実験動物由来のホモジネート中のマイコバクテリア数は、マイコバクテリア・ボビスBCGで免疫化したマウス又はモルモットで多くて5倍の数で、例えば多くて3倍の数、好ましくは多くて2倍の数である。

抵抗性を増す本発明のポリペプチドフラグメントの能力についてのより適切な評価は、一方の群が本発明の抗原を含む、ここに記載するワクチンを受けており、他方の群がプラセ

10

20

30

40

50

ボもしくは他の公知のTBワクチン（例えばBCG）のいずれかを受けている、2つ個体群（例えば、ヒト又は他の靈長類）での臨床的な結核の発症率の比較である。このような条件では、本発明の抗原は（当業者に公知の統計方法で測定されるように）プラセボの投与で生じるよりも著しく高い免疫防護を生じるはずである。

「結核菌群」は通常の意味でTBを生じるマイコバクテリアの複合体であり、結核菌、マイコバクテリア・ボビス、マイコバクテリア・ボビスBCG及びマイコバクテリア・アフリカヌム (*M.africanum*) がある。

この明細書で、語「代謝しているマイコバクテリア」は、対数的に増殖し、培養されている培養培地にポリペプチドを放出している生きたマイコバクテリアを意味する。

語「配列の同一性」は、等しい長さの2つのアミノ酸配列又は2つのヌクレオチド配列間のホモロジーの程度の定量測定を示す。配列の同一性は、  
10

$$\frac{(N_{ref}-N_{dif})100}{N_{ref}} \quad 1$$

[式中、 $N_{dif}$ は配列している際の2つの配列中で同一でない残基の全数であり、 $N_{ref}$ は1つの配列における残基数である]として算出することができる。それ故、DNA配列AGTCAGTCは、配列AATCAATCと75%の配列の同一性を有するであろう ( $N_{dif}=2$ 、 $N_{ref}=8$ )。

配列の同一性は、所定のポリペプチドのアミノ酸配列とSEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、17～23のいずれか一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153又は168～171のいずれか一つに示すアミノ酸配列との同一性の程度を例示するためにここで用いる。SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、17～23のいずれか一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153又は168～171のいずれか一つに示すアミノ酸配列と比較されるアミノ酸配列は、例えば後述するハイブリダイゼーションで得られるDNA配列から推定するか、又は従来のアミノ酸配列法により得ることができる。配列の同一性は成熟ポリペプチドのアミノ酸配列について、つまり、いずれのリーダー配列も考慮せずに測定することが好ましい。

上記の記載から明らかであるように、SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、17～23のいずれか一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153又は168～171のいずれか一つを有するポリペプチドと同一でないポリペプチドは本発明には含まれない。本発明は、親配列に匹敵する免疫原性に不都合な影響を及ぼさず、重要かつ有用な新規の結合特性や生物学的機能及び免疫原性等を生じ得るマイナーな変形を可能にするものである。したがって、各ポリペプチドフラグメントは、特定のアミノ酸配列と核酸配列で特徴づけることができる。このような配列が組換え法で產生される類似体及び変異体を含み、このような核酸及びポリペプチド配列が、核酸配列への1以上のヌクレオチドの置換、挿入、付加及び／又は欠損により修飾され、組換えポリペプチド中の1以上のアミノ酸残基の置換、挿入、付加又は欠損を生じることは理解されるであろう。語DNAを以下で用いる際、語DNAが、DNAがRNAで置換され得る目的のために当業者に明らかなRNAの具体例を含むように解釈すべきであることは理解されるべきである。ハイブリダイゼーション用には、PNAが、非常にダイナミックなハイブリダイゼーションプロファイルを示すことが分かっているので、DNAの代わりに用いてもよい（PNAは、Nielsen P EらのScience 254:1497-1500に記載）。

免疫応答診断及びワクチン調製で、公知の免疫原性のタンパク質又はポリペプチドのセグメントから抗原を調製することは、ともにしばしば可能であり、実用的である。あるエピトープ領域を用いて、抗原ポリペプチド全体で生じる反応に似た反応を生じることができる。抗原性又は免疫原性の可能性がある領域は、幾つかの試験法、例えばJameson-WolfもしくはKyte-Doolittleの抗原性解析又はHopp及びWoods (1981) の疎水性解析 [例えばJameson及びWolf、1988; Kyte及びDoolittle、1982; 又は米国特許第4,554,101号参照] のいず  
30  
40  
50

れかで同定できる。各アミノ酸残基に平均的な親水値を割り当てる疎水性解析により、これらの値から平均的な親水度を算出でき、もっとも親水性の領域を決定することができる。推測される抗原性領域は、これら的方法を1以上用いて本発明のポリペプチドを指定するアミノ酸配列から誘導することができる。

また、免疫応答のあいだに認識される関連したT-細胞エピトープを同定するために、「ブルートフォース(brute force)」法を使用することもできる。T-細胞エピトープは直鎖状であるので、SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、17～23のいずれか一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153又は168～171のいずれか一つのポリペプチドの欠損変異体は、系統的に構築すると、例えばこれらの欠損変異体をここに記載するIF N- アッセイに付すことにより免疫認識に必要なポリペプチドの領域を示す。別 の方法は、SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、17～23のいずれかの一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153又は168～171のいずれか一つのポリペプチドから誘導される重複オリゴマー(好ましくは、例えば20アミノ酸残基の長さの合成物)を利用して 10 いる。これらのなかには、IFN- アッセイで陽性の反応を生じるものと生じないものとがあるであろう。

本発明の好ましい具体例で、本発明のポリペプチドフラグメントはヘルパーT-細胞のエピトープからなる。

T-細胞エピトープの最も小さい長さは少なくとも6アミノ酸であることが示されているが、このようなエピトープはより長い範囲のアミノ酸から構成されていることが普通である。それ故、本発明のポリペプチドフラグメントは少なくとも7アミノ酸残基で、例えば少なくとも8、少なくとも9、少なくとも10、少なくとも12、少なくとも14、少なくとも16、少なくとも18、少なくとも20、少なくとも22、少なくとも24及び少なくとも30のアミノ酸残基を有していることが好ましい。

実施例から明らかであるように、本発明のポリペプチドの幾つかはリーダー配列(又は他の短いペプチド配列)を含む天然の翻訳産物であるが、結核菌群に属する細菌由来の短期培養ろ液から単離できる生成物は、これらの配列を有しない。これらのポリペプチドを組み換えて产生し、これに関連して、ポリペプチドの遺伝子にリーダー配列をエンコードする情報を含むことによって宿主細胞からのポリペプチドの輸送を容易にすることは幾つかの用途で有利であるが、むしろ輸送を行う宿主系で優れていることが示されている配列でリーダー配列を置換するか又はリーダー配列を(例えば、ペプチド合成によるポリペプチド产生時に)全体的に省くことが、より好ましい。それ故、本発明の好ましい具体例は、SEQ ID NO:6の-30～-1及び/又はSEQ ID NO:10の-32～-1及び/又はSEQ ID NO:12の-8～-1及び/又はSEQ ID NO:14の-32～-1及び/又はSEQ ID NO:42の-33～-1及び/又はSEQ ID NO:52の-38～-1及び/又はSEQ ID NO:56の-33～-1及び/又はSEQ ID NO:58の-56～-1及び/又はSEQ ID NO:151の-28～-1のアミノ酸残基がないポリペプチドである。

別の好ましい具体例では、本発明のポリペプチドフラグメントは、いずれのシグナル配列もない。これは、ポリペプチドフラグメントが合成して產生される際に特に重要であるが、ポリペプチドフラグメントが組換えて產生される際には、通常、それらがベリプラズムや細胞外空間へ宿主細胞により輸送されないようにすることができる。ポリペプチドフラグメントは宿主細胞の破壊後に細胞質から従来法(以下、参照)で回収でき、ポリペプチドフラグメントの再生が必要な場合には一般的な再生方法(例えば、このような一般的に使用可能な再生法を記載するW094/18227号の開示参照)を用いることができる。

SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、17～23のいずれか一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153又は168～171のいずれか一つから誘導される所定のポリペプチドフラグメントの潜在的な有用性について適切なアッセイは、感作記憶T-リンパ球からのIFN- の放出に影響するポリペプチドフラグメントの能力の評価である。この能力を有するポリペプチドフラグメントは、本発明によれば本発明の特に重要な具体例である。

10

20

30

40

50

感染の開始後すぐにTリンパ球免疫応答を刺激するポリペプチドフラグメントは、マイコバクテリアが一瞬の感染で生じる細菌数まで増殖をなし遂げる前に感染を引き起こすマイコバクテリアの制御に重要なものと推測される。

したがって、本発明の重要な具体例は、上記に定義されるポリペプチドフラグメントであつて、

1) 一次感染から2週間以内か、又はマウスを結核菌群に属するマイコバクテリアに再度実験的に感染させてから4日以内のマウスから回収した感作記憶T-リンパ球からのIFN-<sub>γ</sub>の放出を誘導し、

その誘導が約200,000個の脾臓細胞/mlを含む懸濁液にポリペプチドを添加して行われ、ポリペプチドの添加により濃度が1～4 μgポリペプチド/ml懸濁液となり、IFN-<sub>γ</sub>の放出が懸濁液にポリペプチドを添加して2日後に回収した上清中のIFN-<sub>γ</sub>の測定により評価できる、及び／又は 10

2) 感染第1相のTB患者又はBCG予防接種した健康なドナー又はTB患者に接触している健常者から単離した約1,000,000個のヒトPBMC(末梢血液単核細胞)/mlから少なくとも1,500 pg/ml上のレベルでIFN-<sub>γ</sub>の放出を誘導し、

その誘導が約1,000,000個のPBMC/mlを含む懸濁液にポリペプチドを添加して行われ、ポリペプチドの添加により濃度が1～4 μgポリペプチド/ml懸濁液となり、IFN-<sub>γ</sub>の放出が懸濁液にポリペプチドを添加して2日後に回収した上清中のIFN-<sub>γ</sub>の測定により評価できる、及び／又は

3) 結核菌群に属するマイコバクテリアで予め感作した動物由来のウシPBMCからIFN-<sub>γ</sub>の放出を誘導し、その放出が結核菌群に属するマイコバクテリアで予め感作していない動物由来のウシPBMCから観察される放出の少なくとも2倍である。 20

1) 及び2)の代わりに、ポリペプチドフラグメントによりもたらされる放出は上清中で少なくとも1,500pg/mlのIFN-<sub>γ</sub>を生じることが好ましく、より高い濃度、例えば上清中で少なくとも2,000pg/ml、少なくとも3,000pg/mlであることが好ましい。ウシPBMCからのIFN-<sub>γ</sub>の放出は、例えば標準的なサイトカインELISAでバックグラウンドに対し光学密度(OD)指数として測定でき、少なくとも2であるべきであるが、少なくとも3、5、8及び10のような、より高い数値であることが好ましい。

本発明のポリペプチドフラグメントは、SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、17～23のいずれか一つ、42、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72～86のいずれか一つ、88、90、92、94、141、143、145、147、149、151、153又は168～171のいずれか一つと70%より高い配列の同一性を有する、少なくとも6アミノ酸残基の長さのアミノ酸配列からなることが好ましい。配列の同一性の最小割合は少なくとも80%、例えば少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%及び少なくとも99.5%であることが好ましい。 30

上述のとおり、本発明のポリペプチドフラグメントからリーダー配列を省くことは、通常、重要であろう。しかし、融合ポリペプチドの產生により、本発明のポリペプチドフラグメントは、より良好に特徴づけることができる。例えば、組換えて產生される際にポリペプチドの輸送を容易にする融合パートナー(partner)、ポリペプチドの精製を容易にする融合パートナー及び本発明のポリペプチドフラグメントの免疫原性を高める融合パートナーは全て重要である可能性がある。したがって、本発明は、少なくとも1つの上記ポリペプチドフラグメントと少なくとも1つの融合パートナーからなる融合ポリペプチドにも関する。免疫原性を増すためには、融合パートナーは、例えば(関連するエピトープを多重発現できるように)上記の別のポリペプチドフラグメント及び結核菌群に属する細菌由来の他のポリペプチド(例えば、ESAT-6、MPB64、MPT64及びMPB59)又はこれらの抗原のいずれかに対する少なくとも1つのT-細胞エピトープからなる群から選択できる。融合パートナーとして役立つことができる他の免疫原性を高めるポリペプチドは、T-細胞エピトープ(例えば、ポリペプチドESAT-6、MPB64、MPT64又はMPB59由来)又は標的の遺伝子産物の免疫原性を高める他の免疫原性エピトープ(例えば、IFN-<sub>γ</sub>、IL-2及びIL-12のよう 40

なリンホカイン)である。発現及び/又は精製を容易にするためには、融合パートナーは、例えば細菌の線毛タンパク質、例えばピリン線毛成分及びpapA; タンパク質A; ZZ-ペプチド (ZZ-融合物は、スウェーデンのPharmaciaより市販されている); マルトース結合タンパク質; グルタチオンS-トランスフェラーゼ; -ガラクトシダーゼ; 又はポリヒスチジンであってもよい。

他の重要な融合パートナーは、脂質化されることによって免疫原性ポリペプチドを免疫系に適切な様式で存在させるポリペプチドである。この作用は、例えばボレリア・ブルグドルフェリ (*Borrelia burgdorferi*) のOspAポリペプチドベースのワクチンから公知であり、ポリペプチド中の脂質化膜アンカーが産生細胞から単離されると、ポリペプチド(天然に脂質化されている)に自己アジュバント作用を付与する。逆に、OspAポリペプチドは、脂質化アンカーなしで調製される際に免疫学的に比較的休止(silent)状態にある。実施例6 Aに明らかにされているように、ESAT-6のN-末端に直接融合しているMPT59からなる融合ポリペプチドは、MPT59及びESAT-6のみの免疫原性から予想される以上にESAT-6の免疫原性を高める。この驚くべき知見が得られた正確な理由は依然として不明であるが、両方の抗原の存在により免疫原性に関する相乗効果が生じたか、又はESAT-6配列のN-末端配列の存在により、この免疫的に優勢なタンパク質をN-末端での存在が知られている重要なエピトープの損失から保護したものと考えられる。また、第三に、MPT59配列のC-末端に配列が存在することにより、この抗原の免疫特性が高められた可能性がある。

したがって、本発明の一部は、結核菌タンパク質ESAT-6又はMPT59由来のT-細胞エピトープを構成する少なくとも1つの範囲のアミノ酸を含む第一アミノ酸配列と、ESAT-6(最初のアミノ酸範囲がESAT-6から誘導される場合)又はMPT59(最初のアミノ酸範囲がMPT59から誘導される場合)とは異なる結核菌タンパク質由来の少なくとも1つのT-細胞エピトープを含み、及び/又は生体内分解又は翻訳後プロセシングから第一アミノ酸配列を保護するアミノ酸の範囲を含む第二アミノ酸配列からなる融合ポリペプチドフラグメントに関する。第一アミノ酸配列は、第二アミノ酸配列にN-又はC-末端で位置していてもよいが、ESAT-6のN-末端保護についての上記の点を考慮すると、第一アミノ酸配列がESAT-6由来である際に第一アミノ酸配列は第二アミノ酸配列にC-末端で位置していることが好ましい。

現在はMPT59とESAT6の融合作用が研究されているにすぎないが、ESAT6とMPT59又はそれら由来のエピトープは、融合構築物の全体的な免疫原性に対し実質的に同じ作用を有する他の融合パートナーに有利に融合させることができると考えられる。それ故、本発明の融合ポリペプチドフラグメントは、第二アミノ酸配列に含まれる少なくとも1つのT-細胞エピトープが、上記及び実施例に記載される本発明のポリペプチドフラグメントからなる群から選択される結核菌ポリペプチド(「親」ポリペプチド)に由来するか、又はアミノ酸配列が結核菌タンパク質DnaK、GroEL、ウレアーゼ、グルタミンシンセターゼ、プロリンリチ複合体、L-アラニンデヒドロゲナーゼ、ホスフェート結合タンパク質、Ag 85複合体、HBHA(ヘパリン結合血球凝集素)、MPT51、MPT64、スーパーオキシドジスムターゼ、19kDaリポタンパク質、-クリスタリン、GroES、MPT59(第一アミノ酸配列がESAT-6由来である場合)及びESAT-6(第一アミノ酸配列がMPT59由来である場合)のいずれか1つに由来するものが好ましい。第一及び第二T-細胞エピトープは、由来タンパク質中の天然に存在する配列と少なくとも70%の配列同一性をそれぞれ有することが好ましく、第一及び/又は第二アミノ酸配列は、由来タンパク質と少なくとも70%の配列同一性を有することがさらに好ましい。この融合ポリペプチドのもっとも好ましい具体例は、第一アミノ酸配列がESAT-6又はMPT59のアミノ酸配列であり、及び/又は第二アミノ酸配列が上記の潜在的な「親」ポリペプチドのアミノ酸配列の全長であるポリペプチドである。

もっとも好ましい具体例において、融合ポリペプチドフラグメントはMPT59に融合したESAT-6(ESAT-6は、MPT59のC-末端に融合していることが有利である)からなり、1つの詳細な具体的では、2つの親ポリペプチドフラグメントからなる2つのアミノ酸配列間にリンクマークは導入されていない。

本発明の別の部分は、

1) 上記のポリペプチド又は融合ポリペプチドをエンコードする核酸配列からなるか、又

10

20

30

40

50

はその相補的な核酸配列からなり、及び／又は  
2)少なくとも10ヌクレオチドの長さを有し、

SEQ ID NO: 1 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 3 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 5 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 7 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 9 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 11 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 13 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 15 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 41 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 47 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 49 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 51 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 53 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 55 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 57 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 59 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 61 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 63 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 65 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 67 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 69 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 71 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 87 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 89 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 91 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 93 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 140 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 142 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 144 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 146 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 148 又はその相補鎖、

SEQ ID NO: 150 又はその相補鎖及び

SEQ ID NO: 152 又はその相補鎖

から選択されるヌクレオチド配列を有する核酸フラグメントと、ストリンジエントなハイブリダイゼーション条件（当該分野で定義のとおり、つまり融解温度Tmの5～10℃下、Sambrookら、1989、11.45-11.49頁参照）下で容易にハイブリダイズし、

但し、核酸フラグメントがSEQ ID NO:41の配列からなる際、核酸フラグメントはSEQ ID NO:41の781の位置に相当するAを含み、核酸フラグメントがSEQ ID NO:41に正確に相補的なヌクレオチド配列のサブ配列からなる際は、核酸フラグメントはSEQ ID NO:41の781の位置に相当するTを含む、

10

20

30

40

50

単離形態の核酸フラグメントに関する。

核酸フラグメントは、DNAフラグメントであることが好ましい。

本発明を正確に有用なものとするには、ハイブリダイゼーションの研究やアッセイに用いる際の核酸配列は、選択される配列の少なくとも10~40ほどの範囲のヌクレオチドに相補的な配列を含むことが好ましい。少なくとも10ヌクレオチド長の大きさでフラグメントが十分な長さとなり、安定かつ選択的な二重らせん分子の形成が確実となる。ハイブリッドの安定性と選択性を増すためには、10塩基長より長い範囲の相補配列を有する分子が一般的に好ましく、それにより、得られる特異的なハイブリッド分子の質と程度が改善される。

それ故、語「サブ配列」は、本発明の核酸フラグメントに関して用いる際に、上記のハイブリダイゼーションパターンを示す少なくとも10ヌクレオチドの連続的な範囲を示すことが意図される。このため、最低でも、SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11、12、15、21、41、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、87、89、91、93、140、142、144、146、148、150又は152を有するハイブリダイゼーションパートナーのサブ配列との配列同一性が少なくとも70%であることが、通常、必要となるであろう。核酸フラグメントは10ヌクレオチドより長く、例えば少なくとも15、少なくとも20、少なくとも25、少なくとも30、少なくとも35、少なくとも40、少なくとも45、少なくとも50、少なくとも55、少なくとも60、少なくとも65、少なくとも70及び少なくとも80ヌクレオチドの長さであることが好ましい。また、配列同一性は70%より高く、例えば少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも90%、少なくとも92%、少なくとも94%、少なくとも96%及び少なくとも98%であることが好ましい。配列同一性は100%であることが、もっとも好ましい。このようなフラグメントは、例えば化学的手段によるフラグメントの直接合成で、核酸再生技術（例えば、米国特許4,603,102号のPCR技術）の応用で、又は組換え産物用の組換えベクターへの選択配列の導入で容易に調製できる。

同じアミノ酸が様々なコドンでエンコードされていてもよく、用いられるコドンがヌクレオチド配列を発現する対象の微生物の好みに特に関係していることは周知である。したがって、本発明の核酸フラグメントの少なくとも1つのヌクレオチド又はコドンは他で置換されて、発現時に、対象の核酸フラグメントでエンコードされるポリペプチドと同一か、実質的に同一のポリペプチドを生じてもよい。それ故、本発明により、核酸フラグメントやそのサブ配列でエンコードされるポリペプチドに実質的に影響しない、1以上のヌクレオチドの置換、挿入（イントロン含む）、付加、欠損及び転位のような配列の変化が可能になる。語「置換」は、全ヌクレオチド配列中の1以上のヌクレオチドを、1以上の異なるヌクレオチドで置換することを意味する。「付加」は、全ヌクレオチド配列のいずれかの末端での1以上のヌクレオチドの付加を意味するものと理解される。「挿入」は、全ヌクレオチド配列内の1以上のヌクレオチドの導入を意味する。「欠損」は、1以上のヌクレオチドが、全ヌクレオチド配列から、配列のいずれかの末端又は配列内のいずれかの適切な位置で欠損されていることを示す。「転位」は、2以上のヌクレオチド残基が互いに置換されていることを意味する。

修飾されるヌクレオチド配列は、上記のcDNA又はゲノム由来でもよいが、合成由来であつてもよい。さらに、配列は、上述のとおり混合したcDNAならびにゲノム、混合したcDNAならびに合成物又はゲノム、及び合成物由来でもよい。配列は、例えば部位特異的突然変異で修飾し、所望のポリペプチドをエンコードする所望の核酸フラグメントを生じてもよい。ポリペプチドをエンコードする核酸の修飾に焦点をしぼった以下の記載は、このような可能性、ならびに2以上のDNAフラグメントを結合して所望の核酸フラグメント及び上記主題の組合せを生じる核酸構築の可能性も含むものと理解されるべきである。

ヌクレオチド配列をいずれかの適切な技術を用いて修飾し、本発明のポリペプチドをエンコードする核酸フラグメントを產生することができる。

本発明のポリペプチドのアミノ酸配列をエンコードするヌクレオチド配列の修飾は、得られるポリペプチドの免疫学的機能を損なわぬものであるべきである。

ここに開示する抗原変異体の製造に好ましい方法は、部位特異的突然変異である。この技

10

20

30

40

50

術は、基礎となる核酸の特異的突然変異により、抗原配列由来の個々のペプチド又は生物学的機能が等しいタンパク質もしくはペプチドの製造に有用である。さらに、前記の記載を考慮すると、この技術により例えば核酸へ1以上のヌクレオチドの変更が導入されて、配列変異体の調製及び試験を容易に行うことができる。部位特異的突然変異によって、所望の変異のヌクレオチド配列ならびに十分な数の隣接したヌクレオチドをエンコードする特異的なオリゴヌクレオチド配列を用いる変異体の產生が、欠損連結点の両側が交差している安定な二重らせんの形成に十分な大きさで複雑な配列のプライマー配列を生じることができる。一般的には、配列連結点の両側の約5～10残基が変えられている約17～25ヌクレオチドの長さのプライマーが好ましい。

一般に、部位特異的突然変異の技術は、刊行物で例示されているように当該分野で周知である [Adelmanら、1983]。この技術は、一般的に一本鎖及び二本鎖の両形態で存在するファージベクターを用いることが好ましい。部位特異的突然変異に有用な代表的なベクターは、M13ファージのようなベクターを含む [Messingら、1981]。これらのファージは容易に市場で入手でき、それらの用途は一般的に当業者に周知である。

一般に、この明細書によれば部位特異的突然変異は、その配列内に本発明のポリペプチドをエンコードする核酸配列を含む一本鎖ベクターを最初に得ることにより行なわれる。所望の変異配列を有するオリゴヌクレオチドプライマーは、例えばCreaら (1978) の方法で一般的に合成して調製される。このプライマーは、次いで一本鎖ベクターにアニールされ、変異を有する鎖を完全に合成するために大腸菌ポリメラーゼEクレノウフラグメントのようなDNAポリメラーゼ酵素に付される。このようにして、一方の鎖が本来の非変異配列をエンコードし、第二の鎖が所望の変異を有するヘテロ二本鎖が形成される。このヘテロ二本鎖ベクターは、次いで大腸菌細胞のような適切な細胞を形質転換するのに用いられ、変異された転位配列を有する組換えベクターを含むクローニング選択される。

部位特異的突然変異を用いる本発明の選択される核酸フラグメントの配列変異体の調製は、有用である可能性がある遺伝子種の產生手段として提供されるもので、本発明の核酸フラグメントの配列変異体が得られる他の方法の限定を意図するものではない。例えば、所望の遺伝子をエンコードする組換えベクターは、ヒドロキシルアミンを用いるプラスミドDNAの突然変異用の配列変異体を得るために突然変異剤を用いて処理してもよい [例えば、Eichenlaub、1979により記載の方法参照]。

また、本発明は、上記の核酸フラグメントからなる複製可能な発現ベクター、特に本発明のポリペプチドフラグメントをエンコードする核酸フラグメントからなるベクターに関する。

ベクターは、組換えDNA方法に便利に付すことができるいずれのベクターでもよく、ベクターの選択は、しばしばベクターが導入される宿主細胞による。したがって、ベクターは、その複製が染色体の複製から独立した自律複製ベクター (つまり、染色体外の単位として存在するベクター) であってもよい。このようなベクターの例は、プラスミド、ファージ、コスミド、ミニ・クロモソーム又はウィルスである。また、ベクターは、宿主細胞に導入される際に宿主ゲノムに組込まれ、組み込まれた染色体とともに複製されるベクターでもよい。

発現ベクターは、ここに開示するDNAセグメントのいずれかを含むように構築してもよい。そのようなDNAは、マイコバクテリアのビルレント株に特異的な抗原性タンパク質又はサンプル中のマイコバクテリア核酸の検出用ハイブリダイゼーションプローブをエンコードしていくてもよい。所望の抗原性タンパク質によって、長い又は短いDNAセグメントを用いることができる。開示されるDNAで発現又はエンコードされるタンパク質のエピトープ領域は、DNAの比較的短いセグメントとして含まれることができる。広範囲な発現ベクターは、例えば異種遺伝子産物及び/又は耐性遺伝子、例えば形質転換細胞の同定に有用な抗生素質耐性遺伝子の同定に有用なレポーター遺伝子産物をエンコードするDNAセグメントを含んでいてもよい。

本発明のベクターを細胞の形質転換に用いて、本発明の核酸フラグメントを増殖させたり、本発明のポリペプチドフラグメントを発現させることができる。それ故、本発明は、本

10

20

30

40

50

発明のベクターを少なくとも 1 つ有する形質転換細胞（その中に含まれる本発明のベクター及び／又は核酸フラグメントを天然に有しない細胞）にも関する。このような形質転換細胞（本発明の一部でもある）は、いずれかの適切な細菌の宿主細胞又はいずれかの他のタイプの細胞（例えば、単核真核生物、真菌もしくは酵母）又は多細胞生物（例えば動物や植物）由来細胞であってもよい。特に、タンパク質のグリコシル化は原核生物では珍しい事象であるが、グリコシル化が望ましい場合には哺乳類細胞が用いられる。しかし、通常は、例えばマイコバクテリア、サルモネラ (*Salmonella*)、シュードモナス (*Pseudomonas*)、バシラス (*Bacillus*) 及びエシェリキア (*Escherichia*) 属に属する細菌のような原核細胞が好ましい。形質転換細胞は、大腸菌 (*E.coli*)、枯草菌 (*B.subtilis*) 又はマイコバクテリア・ボビスBCG細胞が好ましく、形質転換細胞が、本発明のポリペプチドを発現することが特に好ましい。後者によって、本発明のポリペプチドが、形質転換細胞を含む培養液から単に回収することで産生できる可能性が増す。この発明の部分のもっとも好ましい具体例では、形質転換細胞はマイコバクテリア・ボビスBCG株のダニシュ (*Danish*) 1331、つまりデンマーク、コペンハーゲンのBCG研究所 (Statens Serum Institut) からのマイコバクテリア・ボビス株コペンハーゲンである。10

本発明の核酸フラグメントは、本発明のポリペプチドフラグメントの組換え体を産生できる。しかし、ペプチド合成としてのポリペプチドフラグメントの提供方法は、天然源からの単離でもよい。

したがって、本発明は、宿主細胞で複製可能なベクターに上記の核酸フラグメントを挿入し、得られた組換えベクターを宿主細胞に導入し（形質転換細胞は、分化ハイブリダイゼーション、融合レポーター遺伝子産物の同定、耐性マーカー、抗 - 抗原抗体などでのスクリーニングを含む様々な技術を用いて選択できる）、ポリペプチドの発現を生じるのに十分な条件下、培養培地で宿主細胞を培養（当然、細胞は環境に適切な条件下で培養でき、DNAが望ましい場合には複製条件が用いられる）し、宿主細胞又は培養培地からポリペプチドを回収するか；又は20

請求項 1 に記載の短期培養ろ液からポリペプチドを単離するか；又は  
結核菌群の全マイコバクテリア又はその溶解物もしくは画分（例えば、細胞壁含有画分）からポリペプチドを単離するか；又は

固相又は液相ペプチド合成でポリペプチドを合成する

ことからなる本発明のポリペプチドフラグメントの製造方法にも関する。30

形質転換細胞の成長に用いられる培地は、目的に合った従来のいずれかの培地であればよい。適切なベクターは上記のベクターのいずれでもよく、適切な宿主細胞は上記に挙げた細胞タイプのいずれでもよい。ベクターの構築と宿主細胞へのその導入に用いられる方法は、組換えDNAの分野で、このような目的に公知のいずれの方法でもよい。以下に、考えられ得る可能性について、より詳細に記載する。

一般に、本発明の核酸配列の初期クローニングと本発明に有用なベクターの構築には、原核生物が好ましい。例えば、以下のより詳細に記載する特定の株に加えて、一例として大腸菌K12株294 (ATCC No.31446)、大腸菌B及び大腸菌X 1776 (ATCC No.31537) のような株が挙げられる。これらの例は当然に本発明の例示であり、限定するものではない。

発現にも、原核生物が好ましい。上記の株ならびに大腸菌W3110 (F-、ラムダ-、原栄養性、ATCC No.273325)、枯草菌のような桿菌又はサルモネラ・ティフィムリウム (*S.typhimurium*) もしくはセラチア・マルセッセンス (*Serratia marcesans*) のような他の腸内細菌及び様々なシュードモナス種を用いることができる。特に、成長の早いマイコバクテリア、例えばマイコバクテリア・スメグマ (*M.smegmatis*) は結核菌群のマイコバクテリアと高度に類似し、それ故に発現産物の翻訳後修飾を行う必要を減じる可能性があるので、重要である。40

一般に、宿主細胞と適合性の種から誘導されるレプリコン及び制御配列を含むプラスミドベクターは、これらの宿主に関して用いられる。ベクターは、複製部位ならびに形質転換細胞での表現型を選択させることができるマーキング配列を有する。例えば、大腸菌は、通常、大腸菌種由来プラスミドpBR322を用いて形質転換される [ 例えればBolivarら、197750

、Gene 2:95参照]。プラスミドpBR322はアンピシリンとテトラサイクリン耐性遺伝子を含み、形質転換細胞の同定手段を容易にしている。プラスミドpBR又は他の微生物プラスミド又はファージは、発現用の微生物で用いることができるプロモーターを含んでいてもよく、含むように修飾されてもよい。

組換えDNAの構築でもっとも一般的に用いられるプロモーターは、 $\lambda$ -ラクタマーゼ(ベニシリナーゼ)及びラクトースプロモーターシステム[Changら、1978;Itakuraら、1977;Goeddelら、1979]及びトリプトファン(trp)プロモーターシステム[Goeddelら、1979;EP0出願公報No.0036776]を含む。これらはもっとも一般的に用いられるが、他の細菌プロモーターが発見され、利用されており、それらのヌクレオチド配列に関する詳細が公表され、プラスミドベクターとのそれらの機能的な結合が当業者により可能となっている[Seubwenlistら、1980]。原核生物由来の遺伝子は、それら自身のプロモーター配列から大腸菌で効率よく発現され、人為的手段による別のプロモーターの付加の必要性をなくしている。

本発明のポリペプチドの組換え調製後、ポリペプチドの単離は、例えば本発明のポリペプチドに実質的に特異的に結合するモノクローナル抗体を用いるアフィニティクロマトグラフィー(又はクロマトグラフィーに基づく他の従来の生化学的方法)で行うことができる。さらに、Andersenらにより記載されている電気溶出技術[J.Immunol.Methods 161:29-39]を同時に用いてもよい。

本発明によれば、翻訳後修飾は、ポリペプチドの脂質化、グリコシル化、切断又は伸長を含む。

ある態様において、この発明で提供されるDNA配列情報により、マイコバクテリア遺伝子配列に特異的にハイブリダイズする能力を有する比較的短いDNA(又はRNA又はPNA)配列を調製することができる。これらの態様において、適切な長さの核酸プローブは、関連する配列を考慮して調製される。このような核酸プローブがマイコバクテリア遺伝子配列に特異的にハイブリダイズする能力により、種々の具体例でプローブに特定の有用性が付与される。プローブは、サンプル中の病原性微生物の存在を検出するための様々な診断アッセイに使用できることが非常に重要である。しかし、変異種プライマー又は他の遺伝子構築物の調製に用いるプライマーの調製のための配列情報の使用をはじめ、いずれの用途も想定される。

本発明の核酸フラグメントは、本発明のポリペプチド合成及び(直接的なハイブリダイゼーションアッセイ又は例えばPCRもしくは他の分子増幅方法でのプライマーとして有用な)ハイブリダイゼーションプローブのための原点としての用途とは別に、抗原の生体内発現に用いてもよい。つまり、核酸フラグメントは、いわゆるDNAワクチンに用いることができる。最近の研究により、真核細胞で複製しないベクターにクローンされたDNAフラグメントは、例えば筋肉内注射もしくは経皮投与(いわゆる「遺伝子銃」法)により動物(ヒト含む)へ導入できることが示されている。DNAは例えば筋肉細胞により採取され、重要な遺伝子は、真核生物で機能するプロモーター、例えばウィルスプロモーターで発現され、遺伝子産物は、その後免疫系を刺激する(これらの新たに発見された方法は、ここで参照により導入されるUlmerら、1993を参照のこと)。

それ故、本発明は、本発明の核酸フラグメントからなるワクチンにも関し、このワクチンは、ワクチンを投与したヒトを含む動物により抗原を生体内で発現させ、抗原の発現量は、ヒトを含む動物での結核菌群のマイコバクテリア感染に対する耐性を実質的に増す効果を有する。

このような「DNAワクチン」の効力は、免疫応答の調節能力を有するポリペプチドをエンコードするDNAフラグメントとともに発現産物をエンコードする遺伝子を投与して増強される可能性がある。例えば、リンホカイン前駆体又はリンホカイン(例えば、IFN- $\gamma$ 、IL-2又はIL-12)をエンコードする遺伝子は、2つの別のDNAフラグメントを投与するか、又は同じベクターに含まれるDNAフラグメントをともに投与することにより、免疫原性タンパク質をエンコードする遺伝子とともに投与することができる。また、ここに開示されるポリペプチドの関連するエピトープをそれぞれエンコードする多くのヌクレオチド配列か

10

20

30

40

50

らなるDNAフラグメントを投与して、これらのエピトープの広いスペクトルを有する免疫系を連続的に感作させてもよい。

上記のとおり、本発明のポリペプチドフラグメントは、結核菌群に属する代謝しているビルレントマイコバクテリアを含む培養培地で細胞外に存在するため、又はこのような細胞外抗原とホモロジーが高いため、又はマイコバクテリア・ボビスBCGに存在しないために、ワクチンの構成要素又は免疫診断剤の構成要素として優れている可能性がある。

したがって、本発明の別の態様は、本発明のポリペプチド又は融合ポリペプチドからなる免疫性組成物に関する。このような免疫性組成物の能力を確実に最適化するためには、免疫学的かつ医薬的に受容な担体、賦形剤又はアジュバントを含むことが好ましい。

適切な担体は、ポリペプチド（類）が疎水性の非共有相互作用で結合しているポリマー（例えはポリスチレンのようなプラスチック）、又はポリペプチド（類）が共有結合しているポリマー（例えは多糖）又はポリペプチド（例えは、ウシ血清アルブミン、オボアルブミン又は鍵穴アオダイ（keyhole limpet）ヘモシアニン）からなる群から選択される。適切な賦形剤は、希釈剤及び懸濁剤からなる群から選択される。アジュバントは、ジメチルジオクタデシルアンモニウムプロミド（DDA）、キュイル（Quill）A、ポリI:C、フロイント不完全アジュバント、IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-12、モノホスホリル脂質A（MPL）及びムラミルジペプチド（MDP）からなる群から選択することが好ましい。

少なくとも2つの異なるポリペプチドフラグメントからなり、異なるポリペプチドフラグメントが、それぞれ上記のポリペプチド又は融合ポリペプチドである本発明の免疫性組成物が好ましい。免疫性組成物は、3～20の異なるポリペプチドフラグメント又は融合ポリペプチドを含むことが好ましい。このような免疫性組成物は、ワクチン形態又は皮膚試験の試薬形態であることが好ましい。

したがって、上記によれば、本発明は、本発明のポリペプチドを調製、合成又は単離し、ワクチン用媒体にポリペプチドを可溶化又は分散させ、任意に他の結核菌抗原及び/又は担体、賦形剤及び/又はアジュバント物質を加えることからなる、本発明の免疫性組成物の產生方法にも関する。

活性成分としてペプチド配列を含むワクチンの調製は、ここで参考として導入する米国特許第4,608,251号、第4,601,903号、第4,599,231号、第4,599,230号、第4,596,792号及び第4,578,770号に例示されているように、一般的に当該分野で十分理解されている。このようなワクチンは、代表的には液体溶液又は懸濁液のいずれかのような注射可能な剤として調製される。注射前の溶液中又は懸濁液中の液体に適切な固体の形態が調製されてもよい。製剤は、乳化されていてもよい。活性免疫原性成分は医薬的に受容で、活性成分と適合性である賦形剤としばしば混合される。適切な賦形剤は、例えは水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノール等とそれらの組合せである。さらに、所望の場合には、ワクチンは少量の補助物質、例えは湿潤剤もしくは乳化剤、pH緩衝剤又はワクチンの効果を高めるアジュバントを含んでいてもよい。

ワクチンは、通常、非経口、例えは皮下又は筋肉内のいずれかの注射により投与される。他の投与様式に適切な別の製剤には座薬が含まれ、経口製剤が含まれる場合がある。座薬には、伝統的な結合剤及び担体、例えはポリアルカレングリコール又はトリグリセリドが含まれていてもよい。このような座薬は0.5～10%、好ましくは1～2%の範囲で活性成分を含む混合物から形成してもよい。経口製剤は、このような通常用いられる賦形剤、例えは医薬グレードのマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サッカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどを含む。これらの組成物は溶液、懸濁剤、錠剤、丸剤、カプセル剤、継続放出製剤又は粉末形態であり、10～95%、好ましくは25～70%の活性成分を含む。

タンパク質は、中性又は塩の形態としてワクチンに製剤化できる。医薬的に受容な塩は、酸付加塩（ペプチドの遊離のアミノ基とともに形成される）を含む。酸付加塩は、無機酸（例えは塩酸もしくはリン酸）又はオキサル酢酸、酒石酸、マンデル酸のような有機酸などとともに形成される。遊離のカルボキシル基とともに形成される塩は、ナトリウム、カリウム、アンモニウム、カルシウム又は水酸化鉄のような無機塩基、及びイソプロピルア

10

20

30

40

50

ミン、トリメチルアミン、2-エチルアミノエタノール、ヒスチジン、プロカインのような有機塩基などに由来してもよい。

ワクチンは、服用製剤に適合する様式で、治療上、有効かつ免疫原性であるような量で投与される。投与量は、処置すべき対象（例えば、免疫応答を増すための個々の免疫系の能力を含む）及び望まれる保護の程度による。投与範囲は、予防接種1回当たりに数100の微生物活性成分のオーダーが適切であり、約0.1～1000 μgの範囲、例えば約1～300 μgの範囲が好ましく、特に約10～50 μgの範囲が好ましい。最初の投与に適切な型及びブースター注射は変えることもできるが、最初の投与後の接種又は他の投与によって特徴づけられる。

応用方法は、広範囲に変えることができる。ワクチンの従来の投与方法は、いずれも使用することができる。これらは、固形の生理学的に受容な基剤又は生理学的に受容な分散剤での経口的な用途、非経口的な注射などを含むものと考えられる。ワクチンの用量は投与経路によっており、予防接種される人の年齢、症状の程度 (lesser degree) 、予防接種される人の体重により変化する。10

ワクチンのポリペプチドには、ワクチンにおいて十分免疫原性なものがあるが、そうでないものについては、ワクチンがさらにアジュバント物質を含む際に免疫応答が高められるものがある。

ワクチンにアジュバント作用をさせるための様々な方法は、例えば生理食塩水中で通常0.05～0.1%溶液として用いられる水酸化アルミニウム又はホスフェート (alum) 、0.25%溶液として用いられる糖（カルボポール）の合成ポリマーとの混合物、それぞれ30秒～2分間、70～101 の範囲の温度で熱処理することによるワクチン中のタンパク質の凝集物のような剤の使用を含む。ペプシン処理 (Fab) 抗体でアルブミンに再活性化させることによる凝集物、シー・パルブム (C.parvum) のような細菌細胞又はエンドトキシン又はグラム陰性細菌のリポ多糖成分との混合物、マンニットモノオレエート (AraceI A) のような生理学的に受容な油性賦形剤中のエマルジョン又はブロック置換体として用いられるパーカーフルオロカーボン (Fluosol-DA) の20%溶液とのエマルジョンも、用いることができる。本発明によれば、DDA (ジメチルジオクタデシルアンモニウムプロミド) はアジュバントの重要な代替物であるが、フロイントの完全及び不完全アジュバント、ならびにキュイルA及びRIBIも重要である可能性がある。さらに、モノホスホリル脂質A (MPL) 及びムラミルジペプチド (MDP) でもよい。20

さらに、アジュバント作用をなす可能性があるものとして、Gosselinらが1992年に記載する技術（ここで、参照により導入される）を用いることは、かなり重要（したがって、好ましい）である。要約すれば、本発明の抗原のような関連性のある抗原の存在は、単核細胞 / マクロファージ上のFc レセプターに対する抗体（又は抗体フラグメント結合抗原）に抗原を結合させて高められる。特に、抗原と抗-Fc RIの結合は、予防接種目的のための免疫原性の増強を立証している。

ほかに、リンホカイン（例えば、IFN- 、IL-2及びIL-12）のような免疫調節物質又はボリI:Cのような合成IFN- インデューサーが、上記アジュバントと組合わせて使用されてもよい。実施例3で論じるように、抗原とアジュバントの混合物は、優れたワクチン製剤を生じるものと推測される。30

多くの例で、何回にもわたって、通常6回の予防接種を越えないで、さらに、通常4回の予防接種を越えないで、好ましくは1又は2回、通常、少なくともほぼ3回の予防接種でワクチンを投与する必要があるであろう。予防接種は2～12週間隔が通常であり、3～5週間隔がより普通である。1～5年、通常3年間隔の定期的なブースターが、所望の免疫防護レベルを維持するのに望ましい。免疫化の進行は、ESAT-6又はST-CFと同時培養したPBL（末梢血液リンパ球）の生体外での増殖アッセイ、特に感作リンパ球から放出されたIFN- レベルの測定により追跡できる。アッセイは、放射性核種、酵素、蛍光発色物などのような従来の標識を用いて行ってもよい。これらの技術は周知であり、これらのアッセイタイプの例として広範囲な特許、例えば米国特許第3,791,932号、第4,174,384号及び第3,949,064号に見出すことができる。40

遺伝的変化のために、異なる個体が、同じポリペプチドに対する強度を変えて免疫応答と反応することがある。したがって、本発明のワクチンは、免疫応答を増すために幾つかの異なるポリペプチドを含んでいてもよい。ワクチンは、全ポリペプチドが上記のとおりであるか、又は全てではなく幾つかのポリペプチドが結核菌複合体に属する細菌由来である2以上のポリペプチドを含んでいてもよい。後者の例で、ポリペプチドについて上記する基準を充たす必要のないポリペプチドは、それら自身の免疫原性により作用するか、又は単なるアジュバントとして作用することができる。このような重要なポリペプチドの例にはMPB64、MPT64及びMPB59があるが、マイコバクテリアから単離できるいすれかの他の物質も代替物となり得る。

ワクチンは、3～20の異なるポリペプチド、例えば3～10の異なるポリペプチドからなつていてもよい。10

本発明のポリペプチドをアジュバントと混合する理由の1つは、細胞の免疫応答を有効に活性化させる点にある。しかし、この作用は、他の方法、例えば非病原性微生物のワクチンで有効な抗原を発現させてなすことができる。このような微生物の周知の例は、マイコバクテリア・ボビスBCGである。

したがって、本発明の別の重要な態様は、結核菌群に属するマイコバクテリアで引起されるTBに対して動物（ヒトを含む）を免疫化し、有効成分として微生物を含み、上記ポリペプチドをエンコードするDNA配列の1以上のコピーが、微生物にポリペプチドを発現、分泌させる様式で微生物ゲノムに挿入されているワクチンである現在利用可能なBCG生ワクチンの改良である。20

この明細書で、語「ゲノム」は、微生物の染色体ならびにプラスミドのような染色体外のDNAもしくはRNAをいう。しかし、導入される遺伝物質の損失を妨げるために、本発明のDNA配列を非病原性微生物の染色体に導入することが好ましい。

非病原性微生物は、例えばマイコバクテリア、サルモネラ、シュードモナス及びエシェリキア属からなる群から選択される細菌が好ましい。特に、非病原性微生物は、マイコバクテリア・ボビスBCG、例えばマイコバクテリア・ボビスBCG株のダニシュ1331が好ましい。マイコバクテリア・ボビスBCG株由来のマイコバクテリアでの本発明のポリペプチドをエンコードするヌクレオチド配列の1以上のコピーの導入は、BCG株の免疫原性作用を高めるであろう。本発明のヌクレオチド配列の1以上のコピーの導入は、さらに免疫応答を高めるものと推測される。したがって、本発明の態様は、ポリペプチドをエンコードするDNA配列の少なくとも2コピー、例えば少なくとも5コピーが微生物のゲノムに導入されているワクチンである。DNA配列のコピーは、同一のポリペプチドをエンコードする同一物もしくは同一物をエンコードする同じDNA配列の変型もしくはポリペプチドのホモログのいすれであってもよく、又は別の具体例では、ポリペプチドの少なくとも1つが本発明によるものである異なるポリペプチドをエンコードする異なるDNA配列でもよい。30

本発明の生ワクチンは、本発明による形質転換された非病原性細胞を培養し、これらの細胞をワクチン用の培地に移し、任意に担体、賦形剤及び／又はアジュバント物質を加えて製造することができる。

また、本発明は、本発明のポリペプチド又は上記する皮膚試験試薬を動物に皮肉注射することからなり、注射位置での陽性の皮膚反応はTBを有する動物を示し、注射位置で陰性の皮膚反応はTBを有しない動物を示す、結核菌、マイコバクテリア・アフリカヌム又はマイコバクテリア・ボビスにより動物（ヒトを含む）に引き起こされるTBの診断方法に関する。陽性反応は少なくとも直径が5mmの皮膚反応であるが、より大きい反応、例えば直径が少なくとも1cm、1.5cm、少なくとも2cmであることが好ましい。皮膚試験試薬として用いられる組成物は、上記ワクチンについての記載と同じ方法で製造できる。40

ワクチンの製造と用途に関する上記の記載内において、本発明は、本発明のポリペプチド又は上記のような本発明のワクチン組成物又は上記した生ワクチンを動物に投与することからなる、結核菌群に属するマイコバクテリアにより引き起こされるTBに対する動物（ヒトを含む）の免疫化方法にも関する。投与経路は、非経口（例えば、静脈及び動脈内）、腹腔内、筋肉内、皮下、皮内、経口、口腔、舌下、鼻、直腸又は経皮経路が好ましい。50

マイコバクテリア由来の短期培養ろ液に存在するタンパク質ESAT-6ならびにマイコバクテリアゲノム中のesat-6遺伝子は、他のマイコバクテリア株での分布が非常に限られているので、結核菌、例えばesat-6がBCG及び環境から単離される多くのマイコバクテリア種（例えば、マイコバクテリア・アビウム (*M. avium*) 及びマイコバクテリア・テラエ (*M. terrae*)）の両方に存在しないことを立証している。これは、本発明の抗原及びその遺伝子の少なくとも1つにも当てはまると考えられ、それ故に本発明の診断の具体例は、結核菌群のビルレントマイコバクテリア株での現在又は過去の感染診断を行うのに特に適している。1) 例えばBCGワクチンであらかじめ予防接種されるか、又は非ビルレントマイコバクテリア由来抗原に付された対象（動物又はヒト）と2) ビルレントマイコバクテリアに活性に感染しているか、又は感染していた対象は、区別できると考えられる。

10

幾つかの診断アッセイ及び方法が、可能であると考えられる。

過去又は現在のビルレントマイコバクテリア感染の診断が目的である際、患者の単核細胞（つまり、T-リンパ球）からなる血液サンプルを、本発明の1以上のポリペプチドサンプルに接触させることができる。この接触は生体外で行うことができ、陽性反応は、例えばT-細胞の増殖又は、-インターフェロンのようなサイトカインの細胞外相（例えば、培養上清）への放出であってもよい。生体内試験では、上記のように皮膚試験が適している。血清サンプル中の抗体とポリペプチド間の結合の立証は過去又は現在の感染を示すので、対象の血清サンプルを本発明のポリペプチドを接触させることも考えられる。

したがって、本発明は、動物又はヒトの血液サンプルを提供し、本発明のポリペプチドと動物由来のサンプルを接触させることからなる、動物又はヒトにおける結核菌群に属する細菌との現在又は過去の感作を診断するための生体外の方法にも関する。血液サンプル中の単核細胞による細胞外相への少なくとも1つのサイトカインの顕著な放出は、動物が感作されていることを示す。ここで、サイトカインの放出が、結核でない対象（例えば、TBに対する伝統的な皮膚試験で反応しない対象）由来の血液サンプルからのサイトカインの放出より著しく高いことは、語「顕著な放出」により意味する。通常、顕著な放出は、このようなサンプルから認められる放出の少なくとも2倍である。

20

また、器官を感染する可能性があるサンプルは、本発明のポリペプチドに対して生じる抗体と接触させてもよい。当該分野で周知の方法でサンプルと抗体間の反応を立証することにより、現在の感染が示されるであろう。当然、対象由来の血清サンプルを本発明のポリペプチドフラグメントの少なくとも1つと接触させ、抗体及び抗原間の反応を可視化する周知の方法を用いることにより、血清中の抗マイコバクテリア抗体の存在を立証することもできる可能性がある。

30

また、動物に本発明の核酸フラグメントを投与するか、又はサンプルを本発明の核酸フラグメントもしくはその相補的な核酸フラグメントとインキュベートし、インキュベーションで生じるハイブリダイズした核酸の存在を検出する（当該分野で周知のハイブリダイゼーションアッセイを用いることによる）ことからなる、動物（ヒトを含む）又はサンプル中のマイコバクテリア核酸の存在の決定方法が、本発明に含まれる。このようなTBの診断方法は、上記ヌクレオチド配列の少なくとも一部からなる組成物の使用、及び試験される動物又はヒト由来のサンプルでのヌクレオチド配列（PCR技術を用いることにより、核酸フラグメント（又はその相補フラグメント）とハイブリダイズする）の存在の検出を含む。

40

開示されるある種の抗原はマイコバクテリア・ボビスBCGに存在しないが、ビルレントマイコバクテリアに存在するという事実は、それらが重要な薬剤の標的となることを示している。抗原は、マイコバクテリア感染を容易にするレセプター分子又は毒素を構成してもよく、そのような機能が阻害される際にマイコバクテリアの感染性が減じられる。

本発明の抗原のうちで特に適切な薬剤の標的を決定するために、本発明のポリペプチドの少なくとも1つをエンコードする遺伝子と必要な制御配列が、マイコバクテリア（例えばBCG）の非ビルレント株に導入され、毒性に決定的なポリペプチドを決定することができる。いったん特定のタンパク質が毒性に決定的である／寄与しているとして同定されると、重要な遺伝子の発現を阻害するか又は重要な遺伝子産物を攻撃するように、抗マイコバ

50

クテリア剤を合理的にデザインすることができる。例えば、抗体又はそのフラグメント(例えはFab及び(Fab')2フラグメント)は、当該分野で公知の方法で重要なポリペプチドに対して調製し、その後、予防又は治療剤として用いることができる。また、小さい分子は、例えは遺伝子の内在性プロモーターを含む組換え発現系を用いて、重要な遺伝子産物の発現を選択的に阻害する能力又は標的の作用を直接阻害する能力についてスクリーニングすることができる。次いで、これらの小分子は、マイコバクテリアの毒性を阻害する治療剤又は予防剤として用いられる。

また、ビルレントマイコバクテリアを非毒性にする抗マイコバクテリア剤は、発現制御配列に実施可能に連結させ、ビルレントマイコバクテリアを形質転換するのに用いることができる。このような抗マイコバクテリア剤は、マイコバクテリアでの剤の転写又は翻訳により特定のマイコバクテリアの複製を阻害する。このような「新規の非ビルレント」マイコバクテリアは、免疫性が例えはBCGに比較してビルレントマイコバクテリアに非常に似ているので、ワクチン目的用に修飾した上記BCGの優れた代替物となっている。10

最終的に、イムノアッセイで本発明のポリペプチドと特異的に反応するモノクローナル又はポリクローナル抗体、又は特異的な抗体結合フラグメントも、本発明の一部である。このようなポリクローナル抗体の產生は、適切な動物がポリペプチドで免疫化されること、その後これらの抗体がイムノアフィニティクロマトグラフィーにより適切に単離されることを要する。本発明は、免疫化及び陽性ハイブリドーマのスクリーニングの両方に十分な量の抗原を提供するので、モノクローナルの產生は、当該分野で周知の方法で行うことができる。20

#### 図面の説明

図1：長期記憶免疫マウスは、結核菌感染に対して非常に有効に防護される。マウスを結核菌に付し、異なる時間のポイントで脾臓を単離した。脾臓リンパ球をST-CFと生体外で刺激し、IFN- $\gamma$ の放出を研究した(パネルA)。2群のマウスの脾臓中のCFU含量は、パネルBに示す。免疫記憶マウスは1週間以内で感染を制御し、ST-CF中の抗原に応じて大量のIFN- $\gamma$ を產生する。

図2：免疫防護に関するT細胞は、6~12及び17~38kDaの分子に関して優勢である。脾臓のT細胞は結核菌に付してから4日後に単離し、ST-CFの狭い分子質量画分で生体外で刺激した。IFN- $\gamma$ の放出を研究した。

図3：cfp7のヌクレオチド配列(SEQ ID NO:1)。CFP7の推定されるアミノ酸配列(SEQ ID NO:2)は、ヌクレオチド配列の下に従来の一文字のコードで示す。下線を付したイタリックで示す仮想のリボソーム結合部位は、-10~-35領域と推定される。太線で示したヌクレオチドは、CFP7をエンコードするヌクレオチドである。30

図4：cfp9のヌクレオチド配列(SEQ ID NO:3)。CFP9の推定されるアミノ酸配列(SEQ ID NO:4)は、ヌクレオチド配列の下に従来の一文字のコードで示す。下線を付したイタリックで示す仮想のリボソーム結合部位シャインダルガノ配列は、-10~-35領域と推定される。太線で示したヌクレオチドは、CFP9をエンコードするヌクレオチドである。ラムダ26.6ファージから得られるヌクレオチド配列は、二重線を付している。

図5：mpt51のヌクレオチド配列。MPT51の推定されるアミノ酸配列は、ヌクレオチド配列の下に一文字のコードで示す。シグナルは、イタリックで示す。リボソーム結合部位の可能性がある箇所に、下線を付している。ヌクレオチドの違い及びアミノ酸の違いをMPB51のヌクレオチド配列と比較して[Oharaら、1995]、780の位置に下線を付した。イタリックで示したヌクレオチドは、結核菌H37Rvに存在しない。40

図6：2DE系での精製抗原の位置を決定し、参照ゲルにマッピングした。新たに精製した抗原を丸で囲み、周知のタンパク質の位置も示している。

#### 実施例1：免疫防護に関する单一培養液抗原の同定

有效地に防護されているマウスの群は、8~12週齢のメスのC57BL/6jマウスに $5 \times 10^4$ 個の結核菌を静脈で感染させて得た。感染から30日後に、マウスはイソニアジドで処理した抗生素質に60日間付し、次いで、休眠長期記憶免疫(resting long-term memory immunity)を確立するために200~240日間放置した。このような免疫記憶マウスは、二次感染に対し50

て非常に効率良く防護される（図1）。このモデルで長期に続く免疫は、感染部位に補充された高度に反応性のCD4細胞の増殖で媒介され、ST-CFに応じて大量のIFN- $\gamma$ の産生を誘導する（図1）[Andersenら、1995]。

我々は、防護T細胞によって認識される単一抗原の同定にこのモデルを用いた。免疫記憶マウスを $1 \times 10^6$ 個の結核菌に静脈で再感染させ、再感染から4～6日、つまり、この増殖がST-CFに高度に反応性な時間で、脾臓のリンパ球を回収した。これらのT細胞で認識される抗原は、多重溶出（multi-elution）技術によりマッピングした[Andersen及びHeron、1993]。この技術は、SDS-PAGEで分離した複雑なタンパク質混合物を、生理緩衝液中で狭い画分に分ける。これらの画分は生体外で脾臓リンパ球を刺激するのに用い、IFN- $\gamma$ の放出をモニターした（図2）。長期記憶免疫マウスは、TB感染前はこれらの画分を認識しなかったが、免疫防護の回復のあいだに得られる脾臓リンパ球は、ある範囲の培養ろ液抗原を認識し、IFN- $\gamma$ の産生ピークが6～12及び17～30kDaの見かけ分子量のタンパク質に応じて見出された（図2）。したがって、これらの領域内の培養ろ液抗原は、免疫防護応答の第一相のあいだにIFN- $\gamma$ の放出を誘発する記憶エフェクターT-細胞で認識される主要な標的であることが結論づけられた。  
10

#### 実施例2：低質量培養ろ液抗原を発現する遺伝子のクローニング

実施例1で、低分子質量画分中の抗原は、免疫記憶マウスから単離した細胞で強く認識されることが立証された。それ故、これらの抗原に対するモノクローナル抗体（mAb）は、RIBIアジュvantで低質量画分と免疫化し（第一及び第二免疫化）、次いで水酸化アルミニウム中の画分で2回注射して得られた。反応性セルラインの融合及びクローニングは、標準的な方法にしたがって行った[Kohler及びMilstein、1975]。SDS-PAGEでの抗原の移動から分子量を見積もると、この方法により、2つのmAb：9kDaの培養ろ液抗原（CFP9）に対するST-3及び7kDaの抗原（CFP7）に対するPV-2が得られた。  
20

Mab類に結合する抗原を同定するために、以下の実験を行った。

モノクローナル抗体ST-3及びPV-2に結合する遺伝子産物を発現するファージについて、R. Young [Young, R.A.ら、1985]により構築され、世界保健機構IMMTUBプログラム（WHO.003 2.wibr）を通して得られる組換えgt11結核菌DNAライブラリーをスクリーニングした。約 $1 \times 10^5$ pfuの遺伝子ライブラリー（約25%の組換えファージ含有）は、柔らかい寒天で大腸菌Y1090（DlacU169、proA<sup>+</sup>、Dlon、araD139、supF、trpC22::tn10 [pMC9] ATCC#37197）にプレートし、42℃で2.5時間培養した。  
30

プレートは、イソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシドで飽和したニトロセルロース膜で積層（overlay）し、37℃で2.5時間培養を続けた。ニトロセルロースを除き、最終濃度が0.05%になるように加えたツイン20を有するPBS中のモノクローナル抗体サンプルとインキュベートした。結合モノクローナル抗体は、西洋ワサビペルオキシダーゼ-結合ウサギ抗マウス免疫グロブリン（P260、Dako、Glostrup、DK）及び5,5'-3,3'-テトラメチルベンジジン及びH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を含む染色反応で可視化した。

陽性ブラークを再クローンし、ブラーク1つから得たファージを大腸菌Y1089（DlacU169、proA<sup>+</sup>、Dlon、araD139、strA、hflI150 [chr::tn10] [pMC9] ATCC nr.37196）の溶原化に用いた。得られた溶原株は、DNA抽出用ファージ粒子の増殖に用いた。これらの溶原性大腸菌株は、以下のように命名した：  
40

ブダペスト条約の規定にしたがって、Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSM) のコレクションに1993年6月28日に受託番号DSM 8377で寄託されたAA226（ST-3反応性ポリペプチドCFP9を発現する）、及び

ブダペスト条約の規定にしたがって、Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSM) のコレクションに1993年6月28日に受託番号DSM8379で寄託されたAA242（PV-2反応性ポリペプチドCFP7を発現する）。

これらの2つの溶原性大腸菌株はWO 95/01441号に開示され、それによりマイコバクテリアポリペプチド産物が発現される。しかし、これらのポリペプチドのアミノ酸配列又はそれらの遺伝子起源に関する情報がないために、AA226とAA242の直接的な発現産物が公衆に利用可能となっているにすぎない。  
50

st-3結合タンパク質は、-ガラクトシダーゼに融合するタンパク質として発現するが、p  
v-2結合タンパク質は非融合型で発現されるようである。

#### PV-2及びST-3結合タンパク質をエンコードするヌクレオチド配列のシークエンシング

pV-2結合タンパク質をエンコードする遺伝子のヌクレオチド配列を得るために、AA242の約3kbの結核菌由来のEcoRI-EcoRIフラグメントを、pBluescript SK+ [Stratagene] のEcoRI部位にサブクローンし、大腸菌XL-1Blue [Stratagene] の形質転換に用いた。

同様に、st-3結合タンパク質をエンコードする遺伝子のヌクレオチド配列を得るために、AA226の約5kbの結核菌由来のEcoRI-EcoRIフラグメントを、pBluescript SK+ [Stratagene] のEcoRI部位にサブクローンし、大腸菌XL-1Blue [Stratagene] の形質転換に用いた。

両遺伝子の完全なDNA配列は、シーケナーゼDNAシークエンシングキット1.0バージョン [United States Biochemical Corp., Cleveland, OH] を用いるスーパーコイルDNA用に合わせたジデオキシ鎖末端法、及び添付の指示書にしたがって自動ゲルリーダー (reader) (モデル373A ; Applied Biosystems) と組合せたダイ・ターミネーターシステムを用いるサイクルシークエンシングにより得た。DNA配列は、それぞれSEQ ID NO:1 (CFP7) 及びSEQ ID NO:3 (CFP9) ならびに図3及び4に示す。DNAの両鎖をシークエンスした。

#### CFP7

96アミノ酸残基の配列をエンコードするオープンリーディングフレーム (ORF) は、91～93位置のATG開始コドンから伸長する379～381位置のTAG停止コドンまで同定した。推定されるアミノ酸配列は、SEQ ID NO:2 (及び従来の一文字アミノ酸コードを用いる図3) に示す。

CFP7は、非融合型として大腸菌で発現されると考えられる。78～84位置のヌクレオチド配列はシャインダルガノ配列であると考えられ、47～50及び14～19位置の配列は、それぞれ-10及び-35領域であると推測される。

#### CFP9

ST-3で認識されるタンパク質はAA226ラムダファージから発現する際に、-ガラクトシダーゼ融合タンパク質として産生した。この融合タンパク質は、約116～117kDaの大きさ (-ガラクトシダーゼ116.25kDaに対するMw) を有し、CFP9遺伝子のごく一部は、ラムダクローン (AA226) に含まれたことを示唆している。

ラムダファージAA226からの挿入で得られるヌクレオチド配列90bpに基づいて、結核菌ゲノムのヌクレオチド配列とのホモロジー検索をサンガーデータベース (Sanger Mycobacterium tuberculosis database) ; <http://www.sanger.ac.uk/pathogens/TB-blast-server.html> ; Williams、1996で行った。クローンされた配列との100%の同一性は、MTCY48コスミドで見出された。109アミノ酸残基の配列をエンコードするオープンリーディングフレーム (ORF) は、141～143I位置のGTG開始コドンから伸長する465～467位置のTAG停止コドンまで同定した。推定されるアミノ酸配列は、従来の一文字コードを用いて図4に示す。123～130位置のヌクレオチド配列はシャインダルガノ配列であると推測され、73～78及び4～9位置の配列は、それぞれ-10及び-35領域であると推測される (図4)。AA229の配列の5'末端と重複するORFは、二重線で図4に示す。

#### 発現ベクターでのCFP7及びCFP9のサブクローニング

CFP7及びCFP9をエンコードする2つのORFは、それぞれpMST24 [Theisenら、1995] にPCRクローンして発現ベクターpRVN01、又はpQE-32 [QIAGEN] にクローンして発現ベクターpRVN02とした。

PCR增幅は、マスターMix (各オリゴヌクレオチドプライマー0.5 μM、BSA [Stratagene] 0.25 μM、低塩緩衝液 (pH8.8、Tris-HCl 20mM、KCl 10mM、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10mM、MgSO<sub>4</sub> 2mM及びTriton X-100 0.1%) [Stratagene] 、各デオキシヌクレオシド三リン酸0.25mM及びTaq Plus Long DNAポリメラーゼ0.5U [Stratagene] ) とプラスミドDNA 10ngを混合して温度反応器 (Rapid cycler, Idaho Technology, Idaho) で行った。最終容量は、10 μlとした (示した全濃度は、最終容量での濃度である)。予備変性は、30秒94°で行った。後の30サイクルは、30秒94°での変性、30秒55°でのアニーリング、及び1分72°での伸長で行った。

10

20

30

40

50

オリゴヌクレオチドプライマーは、DNAシンセサイザー [ Applied Biosystems, Forster City, Ca, ABI-391, PCR 様式 ] で自動合成し、脱遮断 ( deblock ) し、エタノール沈殿で精製した。

cfp7オリゴヌクレオチド（表1）は、CFP7配列のヌクレオチド配列（図3）をベースにして合成した。オリゴヌクレオチドは、直接的なサブクローニング用に5'末端のSmaI制限酵素部位及び3'末端のBamHI制限酵素部位を含むように設計した。

cfp9オリゴヌクレオチド（表1）は、部分的にAA229クローンの配列のヌクレオチド配列をベースにし、部分的にサンガーデータベースのコスマドMTCY48に見出されたのと同一の配列（図4）から合成した。オリゴヌクレオチドは、直接的なサブクローニング用に5'末端のSmaI制限酵素部位及び3'末端のHindIII制限酵素部位を含むように設計した。 10

#### CFP7

コード領域のみが発現されるように、SmaI部位が、PCRを用いてcfp7遺伝子をエンコードする291bpのORFの最初のコドンの5'に隣接して設計され、BamHI部位が3'末端の停止コドンの直後に挿入された。291bpのPCRフラグメントはSmaIとBamHIで切断し、アガロースゲルから精製し、pMST24発現ベクターのSmaI-BamHI部位にサブクローンした。融合遺伝子を含むベクターDNAは、大腸菌XL1-Blueの形質転換に用いた（pRVN01）。

#### CFP9

コード領域のみが発現されるように、SmaI部位が、PCRを用いてcfp9遺伝子をエンコードする327bpのORFの最初のコドンの5'に隣接して設計され、HindIII部位が3'末端の停止コドンの直後に挿入された。327bpのPCRフラグメントはSmaIとHindIIIで切断し、アガロースゲルから精製し、pQE-32発現ベクター [ QIAGEN ] のSmaI-HindIII部位にサブクローンした。融合遺伝子を含むベクターDNAは、大腸菌XL1-Blueの形質転換に用いた（pRVN02）。 20

#### 組換えCFP7とCFP9の精製

ORFは、(His)<sub>6</sub>-tagのN-末端に融合させた [ EP-A-0 282 242号参照 ]。組換え抗原は、以下のようにして調製した。要約すれば、pRVN01又はpRVN02プラスミドのいずれかを有する大腸菌のコロニー1つを、アンピシリン100μg/ml及びテトラサイクリン12.5μg/mlを含むルリア-ベルタニ培地に接種し、OD<sub>600nm</sub>が0.5になるまで37℃で成長させた。次いで、最終濃度が2mMになるようにIPTG ( イソプロピル -D-チオガラクトシド ) を加え ( 発現が、強力なIPTG誘発性P<sub>tac</sub>又はT5プロモーターのいずれかで調節される ) 、さらに2時間成長させた。細胞は、8分4℃で4,200xgの遠心分離で回収した。ペレット化した細菌は、-20℃で一晩保存した。ペレットは、BC 40/100緩衝液 ( Tris-HCl pH7.9 20mM、20%グリセロール、KCl 100mM、イミダゾール40mM ) に再懸濁し、4℃での超音波処理 ( 30秒間隔、30秒間5回 ) 、その後の4℃で30分の12,000xgの遠心分離で細胞を破壊し、上清 ( 粗抽出物 ) を組換え抗原の精製に用いた。 30

2つのヒスチジン融合タンパク質 ( His-rCFP7及びHis-rCFP9 ) は、100ml容量のNi<sup>2+</sup>-NTAカラム [ QIAGEN ] でのアフィニティクロマトグラフィーで粗抽出物から精製した。His-rCFP7及びHis-rCFP9は、Ni<sup>2+</sup>に結合する。BC 40/100緩衝液でカラムを大量に洗浄した後、イミダゾール100mM、Tris pH7.9 20mM、20%グリセロール及びKCl 1Mを含むBC 1000/100緩衝液を用いて融合タンパク質を溶出した。次いで、精製した生成物を、Tris pH8.0 10mMに大量に透析した。次いで、His-rCFP7及びHis-rCFP9は、0~1MのNaClの直鎖状勾配でTris pH8.0 10mMのアニオン交換カラム ( Mono Q、Pharmacia、スウェーデン ) によりタンパク質高速液体クロマトグラフィー ( FPLC ) で不純物から分離した。画分のアリコートは、10~20%勾配のドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動 ( SDS-PAGE ) で分析した。精製したHis-rCFP7又はHis-rCFP9のいずれかを含む画分をプールした。 40

表1.オリゴヌクレオチド<sup>a</sup>*cfp7*と*cfp9*の配列

方向及び オリゴヌクレオチド センス	配列 (5' → 3')	位 置 <sup>b</sup> (ヌクレオチド)
pvR3	<u>GCAACACCCGGGATGTGGCAAATCATG</u> (SEQ ID NO: 43)	91-105 (SEQ ID NO: 1)
stR2	<u>GTAACACCCGGGTGGCGCCGACCCG</u> (SEQ ID NO: 44)	141-155 (SEQ ID NO: 3)
アンチセンス		
pvF4	<u>CTACTAAAGCTTGGATC CCTAGCCGCC CATTGGCGG</u> (SEQ ID NO: 45)	381-362 (SEQ ID NO: 1)
stF2	<u>CTACTAAAGCTTCCATGGTCAGGTCTTTGATGCTTAC</u> (SEQ ID NO: 46)	467 - 447 (SEQ ID NO: 3)

10

<sup>a</sup> *cfp7*オリゴヌクレオチドは、図3に示すヌクレオチド配列 (SEQ ID NO:1)に基づく。*cfp9*オリゴヌクレオチドは、図4に示すヌクレオチド配列 (SEQ ID NO:3)に基づく。

下線を付したヌクレオチドは、*cfp7*及び*cfp9*のヌクレオチド配列に含まれない。

20

<sup>b</sup> 示している位置は、プライマーの下線を付していない部分であって、図3及び図4それぞれに示すヌクレオチド配列に対応する。

#### 実施例 2 A : BCG株で発現されない抗原の同定

TBの治療を制御するために、弱毒化細菌カルメット-ゲラン (BCG) を生の弱毒化ワクチンとして用いた。BCGは、ビルレントマイコバクテリア・ボビスの弱毒化誘導体である。パストール研究所 (フランス、パリ) 由来のオリジナルのBCGは、1908～1921年に液体培地で231回継代してつくられたものであり、動物に毒性を復帰しないことが示されている。BCGでの弱毒化変異は、容易に復帰しない安定な欠失及び/又は多重変異であることを示している。BCG及び結核菌及びマイコバクテリア・ボビスの生理的な差異が認められているが、オリジナルのBCG株の一連の継代のあいだに生じる弱毒化変異は、最近まで知られていなかつた。記載されている最初の変異は、幾つかのBCG株でMPB64をエンコードする遺伝子 [Liら、1993、OettingerとAndersen、1994] 及び試験される全てのBCG株でESAT-6をエンコードする遺伝子 [Harboeら、1996] を欠落しており、その後、BCGでの3つの大きな欠失が同定されている [Mahairasら、1996]。RD1と命名される領域は、ESAT-6をエンコードする遺伝子及びMPT64をエンコードする他の遺伝子 (RD2) を含む。抗原は、ともに診断剤の可能性があることを示しており、ESAT-6は、ワクチンの代替物としての特性を有することが分かっている [PCT/DK/00273号及びPCT/DK/00270号参照]。結核菌に特異的な新規の診断用抗原ならびにTBに対する新規のワクチン用抗原を見出すために、結核菌H37RvのRD1領域 (17,499bp) を、オープンリーディングフレーム (ORF) について分析した。BorodovskyとMcIninch (1993) により記載されているアルゴリズムを用いて、最小で96bpの長さのORFが推測された。推測された全体で27個のORFにおいて、これらの20個は、全ての公知のBCG株から欠失されているので、診断剤としての可能性及び/又はワクチンとしての可能性がある。推測されるORFは、アルゴリズムの能力についての正の対照として、あらかじめ記載 [Sorensenら、1995] されているESAT-6 (RD1-ORF7) 及びCFP10 (RD1-ORF6) を含む。ここでは、推測される7つの抗原のTB診断に対する可能性ならびにTBに対する新規のワクチン代替物としての可能性を記載する。

30

診断剤及びワクチンとしての可能性がある17,499kbのRD1領域由来のオープンリーディングフレーム (ORF) 7つを同定し、クローンした。

ORFのrd1-orf2、rd1-orf3、rd1-orf4、rd1-orf5、rd1-orf8、rd1-orf9a及びrd1-orf9bの

40

50

同定

結核菌H37Rv由来のrd1-orf2のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO:71に記載する。RD1-ORF2の推定されるアミノ酸配列は、SEQ ID NO:72に記載する。

結核菌H37Rv由来のrd1-orf3のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO:87に記載する。RD1-ORF2の推定されるアミノ酸配列は、SEQ ID NO:88に記載する。

結核菌H37Rv由来のrd1-orf4のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO:89に記載する。RD1-ORF2の推定されるアミノ酸配列は、SEQ ID NO:90に記載する。

結核菌H37Rv由来のrd1-orf5のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO:91に記載する。RD1-ORF2の推定されるアミノ酸配列は、SEQ ID NO:92に記載する。

結核菌H37Rv由来のrd1-orf8のヌクレオチド配列は、SEQ ID NO:67に記載する。RD1-ORF2の推定されるアミノ酸配列は、SEQ ID NO:68に記載する。10

結核菌H37Rv由来のrd1-orf9aのヌクレオチド配列は、SEQ ID NO:93に記載する。RD1-ORF2の推定されるアミノ酸配列は、SEQ ID NO:94に記載する。

結核菌H37Rv由来のrd1-orf9bのヌクレオチド配列は、SEQ ID NO:69に記載する。RD1-ORF2の推定されるアミノ酸配列は、SEQ ID NO:70に記載する。

DNA配列rd1-orf2 ( SEQ ID NO:71 ) は、889 ~ 891位置のATGコドンで開始し、2662 ~ 2664の位置（位置の数は、RD1での位置を参照）の終始コドン ( TAA ) で終わるオープンリーディングフレームを含む。推定されるアミノ酸配列 ( SEQ ID NO:72 ) は、分子量64,525に相当する591残基を含む。

DNA配列rd1-orf3 ( SEQ ID NO:87 ) は、2807 ~ 2809位置のATGコドンで開始し、3101 ~ 3103位置（位置の数は、RD1での位置を参照）の終始コドン ( TAA ) で終わるオープンリーディングフレームを含む。推定されるアミノ酸配列 ( SEQ ID NO:88 ) は、分子量9,799に相当する98残基を含む。20

DNA配列rd1-orf4 ( SEQ ID NO:89 ) は、4014 ~ 4012位置のGTGコドンで開始し、3597 ~ 3595位置（位置の数は、RD1での位置を参照）の終始コドン ( TAG ) で終わるオープンリーディングフレームを含む。推定されるアミノ酸配列 ( SEQ ID NO:90 ) は、分子量14,210に相当する139残基を含む。

DNA配列rd1-orf5 ( SEQ ID NO:91 ) は、3128 ~ 3130位置のGTGコドンで開始し、4241 ~ 4243位置（位置の数は、RD1での位置を参照）の終始コドン ( TGA ) で終わるオープンリーディングフレームを含む。推定されるアミノ酸配列 ( SEQ ID NO:92 ) は、分子量37,647に相当する371残基を含む。30

DNA配列rd1-orf8 ( SEQ ID NO:67 ) は、5502 ~ 5500位置のGTGコドンで開始し、5084 ~ 5082位置（位置の数は、RD1での位置を参照）の終始コドン ( TAG ) で終わるオープンリーディングフレームを含む。推定されるアミノ酸配列 ( SEQ ID NO:68 ) は、分子量11,737に相当する139残基を含む。

DNA配列rd1-orf9a ( SEQ ID NO:93 ) は、6146 ~ 6148位置のGTGコドンで開始し、7070 ~ 7072位置（位置の数は、RD1での位置を参照）の終始コドン ( TAA ) で終わるオープンリーディングフレームを含む。推定されるアミノ酸配列 ( SEQ ID NO:94 ) は、分子量33,453に相当する308残基を含む。

DNA配列rd1-orf9b ( SEQ ID NO:69 ) は、5072 ~ 5074位置のATGコドンで開始し、7070 ~ 7072位置（位置の数は、RD1での位置を参照）の終始コドン ( TAA ) で終わるオープンリーディングフレームを含む。推定されるアミノ酸配列 ( SEQ ID NO:70 ) は、分子量70,650に相当する666残基を含む。40

ORFのrd1-orf2、rd1-orf3、rd1-orf4、rd1-orf5、rd1-orf8、rd1-orf9a及びrd1-orf9bのクローニング

ORFのrd1-orf2、rd1-orf3、rd1-orf4、rd1-orf5、rd1-orf8、rd1-orf9a及びrd1-orf9bは、発現ベクターpMST24 [ Theisenら、1995 ] ( rd1-orf3 ) 又はpQE32 [ QIAGEN ] ( rd1-orf2、rd1-orf4、rd1-orf5、rd1-orf8、rd1-orf9a及びrd1-orf9b ) にPCRクローンした。オリゴヌクレオチドの製造とrd1-orfエンコード遺伝子のPCR増幅は、実施例2に記載のようにして行った。結核菌H37Rv由来の染色体DNAは、PCR反応で錆型として用いた。オリゴヌク50

レオチドは、RD1領域のヌクレオチド配列（受託番号U34848）に基づいて合成した。オリゴヌクレオチドプライマーは、5'末端及び3'末端に制限酵素部位を含むように設計し、それによって後のサブクローニングを可能にした。プライマーを表2に示す。

rd1-orf2。BamHI部位はrd1-orf2の最初のコドンの5'に隣接して設計し、HindIII部位は、3'末端の停止コドンの直後に挿入した。遺伝子rd1-orf2はpQE32にサブクローンし、pT096とした。

rd1-orf3。SmaI部位はrd1-orf3の最初のコドンの5'に隣接して設計し、NcoI部位は、3'末端の停止コドンの直後に挿入した。遺伝子rd1-orf3はpMST24にサブクローンし、pT087とした。

rd1-orf4。BamHI部位はrd1-orf4の最初のコドンの5'に隣接して設計し、HindIII部位は、3'末端の停止コドンの直後に挿入した。遺伝子rd1-orf4はpQE32にサブクローンし、pT089とした。 10

rd1-orf5。BamHI部位はrd1-orf5の最初のコドンの5'に隣接して設計し、HindIII部位は、3'末端の停止コドンの直後に挿入した。遺伝子rd1-orf5はpQE32にサブクローンし、pT088とした。

rd1-orf8。BamHI部位はrd1-orf8の最初のコドンの5'に隣接して設計し、NcoI部位は、3'末端の停止コドンの直後に挿入した。遺伝子rd1-orf8はpMST24にサブクローンし、pT098とした。

rd1-orf9a。BamHI部位はrd1-orf9aの最初のコドンの5'に隣接して設計し、HindIII部位は、3'末端の停止コドンの直後に挿入した。遺伝子rd1-orf9aはpQE32にサブクローンし、pT091とした。 20

rd1-orf9b。ScaI部位はrd1-orf9bの最初のコドンの5'に隣接して設計し、HindIII部位は、3'末端の停止コドンの直後に挿入した。遺伝子rd1-orf9bはpQE32にサブクローンし、pT090とした。

PCRフラグメントは適切な制限酵素で消化し、アガロースゲルから精製し、pMST24又はpQE32のいずれかにクローンした。7つの構築物を用いて、大腸菌XL1-Blueを形質転換した。融合遺伝子のエンドポイントは、ジデオキシ鎖末端法で決定した。DNAの両鎖をシークエンスした。

組換えRD1-ORF2、RD1-ORF3、RD1-ORF4、RD1-ORF5、RD1-ORF8、RD1-ORF9a及びRD1-ORF9bの精製

30

rRD1-ORFは、(His)<sub>6</sub>-tagのN-末端に融合させた。組換え抗原は、接種用にpT087、pT088、pT089、pT090、pT091、pT096又はpT098のいずれかを有する大腸菌のコロニー1つを用いて実施例2に記載（例外として、pT090は37でなく30で発現させた）のようにして調製した。Ni<sup>2+</sup>アフィニティクロマトグラフィーによる組換え抗原の精製も、実施例2に記載のようにして行った。精製したHis-rRD1-ORF2、His-rRD1-ORF3、His-tRD1-ORF4、His-rRD1-ORF5、His-rRD1-ORF8、His-rRD1-ORF9a又はHis-rRD1-ORF9bを含む画分をプールした。His-rRD1-ORFは、10mM Tris/HCl (pH8.5)、ユレア3Mに大量に透析し、次いで、タンパク質高速液体クロマトグラフィー (FPLC) [Pharmacia, Uppsala, スウェーデン] を用いてアニオン交換カラム (Mono Q) でさらに精製工程を行った。精製は、10mM Tris/HCl (pH8.5)、ユレア3M中で行い、0~1MのNaClの直鎖状勾配でタンパク質を溶出した。His-rRD1-ORFを含有する画分をプールし、次いで、使用前に25mM Hepes (pH8.0) に大量に透析した。 40

表2. *rd1-orf*オリゴヌクレオチド<sup>a</sup>の配列

方向及び オリゴヌクレオチド	配列 (5' → 3')	位置 (nt)	
センス			
RD1-ORF2f	<u>CTGGGGATCCGCATGACTGCTGAACCG</u>	886 - 903	
RD1-ORF3f	<u>CTTCCCAGGATGGAAAAATGTCAC</u>	2807 - 2822	
RD1-ORF4f	<u>GTAGGATCCTAGGAGACATCAGCGGC</u>	4028 - 4015	
RD1-ORF5f	<u>CTGGGGATCCGGGTGATCACCATGCTGTGG</u>	3028 - 3045	
RD1-ORF8f	<u>CTCGGATCCTGTGGGTGCAGGTCCGGCGATGGGC</u>	5502 - 5479	10
RD1-ORF9af	<u>GTTGATGTGAGCTCAGGTGAAGAAGGTGAAG</u>	6144 - 6160	
RD1-ORF9bf	<u>GTGATGTGAGCTCTATGGCGCCCGACTACGAC</u>	5072 - 5089	
アンチセンス			
RD1-ORF2r	<u>TGCAAGCTTTAACCGGCGCTTGGGGTGC</u>	2664 - 2644	
RD1-ORF3r	<u>GATGCCATGGTTAGCGAAGACGCCGC</u>	3103 - 3086	
RD1-ORF4r	<u>CGATCTAAGCTTGGCAATGGAGGTCTA</u>	3582 - 3597	
RD1-ORF5r	<u>TGCAAGCTTTACCAAGTCGTCCTCTCGTC</u>	4243 - 4223	
RD1-ORF8r	<u>CTCCCATGGCTACGACAAGCTCTCCGGCCGC</u>	5083 - 5105	
RD1-ORF9a/bz	<u>CGATCTAAGCTTCAACGACGTCCAGCC</u>	7073 - 7056	

<sup>a</sup> オリゴヌクレオチドは、受託番号 U34484 のヌクレオチド配列から構築した

[Mahairas ら、1996]。下線を付したヌクレオチド(nt)は、RD1-ORF のヌクレオチ  
ド配列に含まれない。位置は、受託番号 U34484 のヌクレオチド配列に対応する。

結核菌H37Rv由来のヌクレオチド配列rd1-orf2、rd1-orf3、rd1-orf4、rd1-orf5、rd1-orf  
8 rd1-orf9a及びrd1-orf9bは、それぞれSEQ ID NO:71、87、89、91、67、93及び69に記載  
する。推定されるrd1-orf2、rd1-orf3、rd1-orf4、rd1-orf5、rd1-orf8 rd1-orf9a及びrd  
1-orf9bのアミノ酸配列は、それぞれSEQ ID NO:72、88、90、92、68、94及び70に記載す  
る。

#### 実施例3：ST-CF由来の17～30kDaの抗原を発現する遺伝子のクローニング

##### CFP17、CFP20、CFP21、CFP22、CFP25及びCFP28の単離

ST-CFは、80%飽和硫酸アンモニウムで沈殿した。沈殿したタンパク質は遠心分離で除き  
、再懸濁後、ユレア8Mで洗浄した。CHAPSとグリセロールは、それぞれ最終濃度が0.5% (w/v)  
及び5% (v/v)になるまで加え、タンパク質溶液をロトフォル等電点細胞 (Rotofor  
isoelectrical Cell) [Biorad] に塗布した。ロトフォル細胞は、0.5% (w/v) CHAPS、  
5% (v/v) グリセロール、3% (v/v) バイオリット (Biolyt) 3/5及び1% (v/v) バイ  
オリット4/6 [Biorad] を含むユレア8M緩衝液で平衡化した。等電点フォーカスは、3～  
6のpH勾配で行った。画分は、銀染色した10～20%のSDS-PAGEで分析した。同様のバンド  
パターンを有する画分をプールし、1～3mlの最終容量になるように3kDaのカットオフメ  
ンブレンを有するセントリプレップ (Centriprep) 濃縮器 [Amicon] でPBSを用いて3回  
洗浄した。サンプル緩衝液を含む等量のSDSを加え、タンパク質溶液を5分煮沸した後、  
電気勾配下の16%ポリアクリルアミドのマトリクスでプレップ細胞 (Prep Cell) [Biora  
d] でさらに分離した。17～30kDaの分子質量を有する純粋なタンパク質を含有する画分を  
回収した。

##### CFP29の単離

CFP29と反応する抗-CFP29は、2週間の間隔でRIBIアジュバント（第一及び第二回目の免  
疫化）又は水酸化アルミニウム（第三回目の免疫化及び追加免疫化（boosting））中の破碎  
したゲル片で、BALB/cマウスを免疫化して生じた。2～5 μgのCFP29を含むSDS-PAGEの  
ゲル片は、免疫化にそれぞれ用いた。マウスは、脾臓を除く前に3日間、抗原で追加免疫  
化した。CFP29に対する抗体を産生するモノクローナルセルラインの発生は、本質的にKoh  
lerとMilstein (1975)により記載されているようにして得られた。成長しているクロー  
ン由来の上清のスクリーニングは、SDS-PAGEで分離したST-CFを含むニトロセルロースの

20

30

40

50

ストリップをイムノプロットして行った。各ストリップは、ST-CFを約50 μg含んだ。抗CFP29の抗体のクラスは、製造者の指示にしたがったマウスモノクローナル抗体イソタイピングキットRPN29 [ Amersham ] によりIgMとして同定した。

CFP29は、以下の方法で精製した：ST-CFは限外ろ過で10倍に濃縮し、45～55%の飽和範囲で硫酸アンモニウム沈殿を行った。ペレットは、50mMリン酸ナトリウム、1.5M硫酸アンモニウム (pH8.5) に再溶解し、Affi-Tゲルカラム [ Kem-En-Tec ] でチオフィル (thiophilic) 吸着クロマトグラフィー [ Porathら、1985 ] に付した。タンパク質は1.5M～0Mの硫酸アンモニウムの直鎖状勾配で溶出し、0.44～0.31Mの範囲の硫酸アンモニウムで回収した画分を、mAb抗-CFP29を用いるウェスタンプロット実験でCFP29含有画分として同定した。これらの画分をプールし、FPLCシステム [ Pharmacia ] に接続したMono Q HR 5/5カラムでアミオン交換クロマトグラフィーを行った。カラムは、10mM Tris-HCl (pH8.5) で平衡化し、0～500mM NaClの線状勾配で溶出を行った。400～500mMの塩化ナトリウムから、かなり純粋なCFP29が溶出された。最終精製工程として、CFP29を含むMono Q画分を12.5%のSDS-PAGEゲルにローディングし、多重溶出技術 [ Andersen及びHeron、1993 ] により純粋なCFP29を得た。10

#### N-末端のシーケンシング及びアミノ酸解析

CFP17、CFP20、CFP21、CFP22、CFP25及びCFP28は、10kDaのカットオフを有するセントリコン (Centricon) 濃縮機 [ Amicon ] で水と洗浄し、次いで、プロスピン (ProSpin) 濃縮機 [ Applied Biosystems ] にアプライしてタンパク質をPVDF膜に回収した。膜は、プロサイズ (Procise) シークエンサー [ Applied Biosystems ] でシークエンスする前に、メタノール20%で5回洗浄した。20

CFP29含有画分は、トリシンSDS-PAGE後にPVDF膜にプロットした [ Plougら、1989 ] 。関連するバンドを切りだし、プロサイズシークエンサー [ Applied Biosystems ] でアミノ酸解析 [ Barkholt及びJensen、1989 ] 及びN-末端配列解析に付した。

以下のN-末端配列が得られた：

CFP17について: A/S E L D A P A Q A G T E X A V	(SEQ ID NO: 17)
CFP20について: A Q I T L R G N A I N T V G E	(SEQ ID NO: 18)
CFP21について: D F X S D I A V V F A R G T H	(SEQ ID NO: 19)
CFP22について: T N S P L A T A T A T L H T N	(SEQ ID NO: 20)
CFP25について: A X P D A E V V F A R G R F E	(SEQ ID NO: 21)
CFP28について: X I/V Q K S L E L I V/T V/F T A D/Q E	(SEQ ID NO: 22)
CFP29について: M N N L Y R D L A P V T E A A W A E I	(SEQ ID NO: 23)

「X」は、用いたシークエンス法により決定できないアミノ酸を示すが、2つのアミノ酸間の「/」は、2つのアミノ酸のどちらが実際存在するものか、シークエンス法で決定できないことを示す。30

#### CFP29をエンコードする遺伝子のクローニング

CFP29のN-末端配列は、シークエンス解析ソフトウェアパッケージ [ Genetics Computer Group ] のTFASTAプログラムを用いてEMBLデータベースでのホモロジー検索に用いた。検索により、CFP29の19個のN-末端アミノ酸と74%の同一性を有するブレビバクテリウム・リネンス (Brevibacterium linens) 由来のタンパク質、リノシン (Linocin) M18が同定された。

CFP29のN-末端配列とブレビバクテリウム・リネンス由来のリノシンM18タンパク質とのこの同一性に基づいて、CFP29をエンコードする結核菌遺伝子のPCRクローニング用に一連の変性プライマーを構築した。PCR反応物は、10 μlの反応容量に4つの各ヌクレオチド250 μM [ Boehringer Mannheim ] 、BSA 0.5mg/ml [ IgG technology ] 、1% DMSO [ Merck ] 、各プライマー5pmol及びTaq+DNAポリメラーゼ0.5ユニット [ Stratagene ] を加えた1x低塩Taq +緩衝液 [ Stratagene ] に結核菌の染色体DNA 10ngを含むものであった。反応は、最初に2秒間94℃に加熱し、サーモサイクラー装置 [ Idaho Technology ] を用いて15秒間94℃、1秒間55℃及び90秒間72℃のプログラムを30サイクル行った。40

約300bpのフラグメントが、配列

1: 5'-CCCGGCTCGAGAACCTSTACCGCGACCTSGCSAC (SEQ ID NO: 24)

2: 5'-GGGCCGGATCCGASGCGCGTCCCTTSACSGGYTGCCA (SEQ ID NO: 25)

-ここで S = G/C 及び Y = T/C

を有するプライマーを用いて得られた：

フラグメントを 1 % アガロースゲルから切りだし、スピニ-Xスピニ (Spin-X spinn) カラム [Costar] で精製し、pBluescript SK II+T-ベクター [Stratagene] にクローンし、最後にシーケナーゼキット [United States Biochemical] でシークエンスした。

この配列の最初の150bpは、サンガーの結核菌データベース：

([http://www.sanger.ac.uk/projects/M-tuberculosis/blast\\_server](http://www.sanger.ac.uk/projects/M-tuberculosis/blast_server)) のブラスト (Blast) プログラムを用いてホモロジー検索に用いた。 10

このプログラムにより、データベースのコスミドcy444上の結核菌配列が、CFP29タンパク質の配列150bpにほぼ100%同一であることが同定された。この配列は、5'末端が、精製したCFP29タンパク質のN-末端シークエンスされた19アミノ酸に100%同一な配列に翻訳するオープンリーディングフレーム795bp内に含まれている。

最後に、795bpのオープンリーディングフレームは、プライマー：

3: 5'-GGAAGCCCCATATGAACAATCTCTACCG (SEQ ID NO: 26)

4: 5'-CGCGCTCAGCCCTTAGTGACTGAGCGCGACCG (SEQ ID NO: 27)

を用いて上記と同じPCR条件下でPCRクローンした。

得られたDNAフラグメントは、上記のようにしてアガロースゲルから精製し、以下のプライマー：

5: 5'-GGACGTTCAAGCGACACATCGCCG-3' (SEQ ID NO: 115)

6: 5'-CAGCACGAACGCGCCGTCGATGGC-3' (SEQ ID NO: 116)

に加えてプライマー3及び4を用いてシークエンスした。

3つの独立したクローンをシークエンスした。3つのクローンは全て、コスミドcy444上の配列と100%一致した。

全ての他のDNA操作は、Maniatisら (1989) にしたがって行った。

Taqポリメラーゼ以外の全ての酵素は、New England Biolabsのものであった。

サンガーデータベースでのホモロジー検索

CFP17、CFP20、CFP21、CFP22、CFP25及びCFP28について、各タンパク質のN-末端アミノ酸配列は、サンガーの結核菌のデータベース：

<http://www.sanger.ac.uk/pathogens/TB-blast-server.html>.

のブラストプログラムを用いてホモロジー検索に用いた。

CFP29については、DNA配列の最初の150bpを検索に用いた。さらに、EMBLデータベースで、CFP29とホモロジーを有するタンパク質を検索した。

これにより、以下の情報が得られた。

#### CFP17

CFP17で決定された14アミノ酸について、MTCY1A11.16c.と93%の同一性が見出された。2つの配列間の違いは、最初のアミノ酸にある。つまり、決定されたN-末端配列では、それはA又はSであり、MTCY1A11ではSである。N-末端シークエンスからは、13番目のアミノ酸を決定することはできなかった。 40

オープンリーディングフレーム内で、翻訳されたタンパク質は162アミノ酸の長さである。培養液から精製したタンパク質のN-末端は31番目のアミノ酸で始まり、切断されるシグナル配列の存在に一致する。これにより、理論分子質量13833Da及び理論pI 4.4に相当する132アミノ酸長の成熟タンパク質が生じる。SDS-PAGEで認められた質量は、17kDaである。

#### CFP20

CFP20の決定された15アミノ酸に100%同一な配列が、翻訳されたコスミドcscy09F9に見出された。停止コドンは、1の位置のアミノ酸Mから166番目のアミノ酸に見出された。これ

10

20

30

40

50

により、理論分子質量16897kDa及びpI 4.2に相当する165アミノ酸の長さの生じることが推測される。SDS-PAGEで認められた分子量は、20kDaである。

TFASTAアルゴリズム [ Pearson及びLipman、1988 ] を用いたGenEMBLデータベースの検索で、164アミノ酸長と推測される翻訳タンパク質にホモロジーを有する幾つかのタンパク質が示された。

最高のホモロジー、つまり163アミノ酸が重複する51.5%の同一性が、ヘモフィルス・インフルエンザ (*Haemophilus influenza*) Rd toxR reg (HIH10751) に見られた。

#### CFP21

CFP21の決定された14アミノ酸に100%同一な配列は、MTCY39に見られた。N-末端シークエンスから、3番目のアミノ酸を決定できなかった。このアミノ酸は、MTCY39ではCである。おそらくこの違いにより、アミノ酸Cをシークエンサーで決定できない。

オープンリーディングフレーム内で、翻訳タンパク質は217アミノ酸長である。培養ろ液から精製したタンパク質の決定されたN-末端配列は33番目のアミノ酸で始まり、切断されるシグナル配列の存在に一致する。これにより、理論分子質量18657Da、理論pI 4.6に相当する185アミノ酸長の成熟タンパク質が得られる。SDS-PAGEで認められた分子量は、21kDaである。

タンパク質は、193アミノ酸を重複して、209アミノ酸長のケチナーゼ (cutinase) 前駆体 (CUT1\_ALTBR P41744) に32.6%の同一性を有する。

マイコバクテリア・ボビスBCGで欠失された翻訳領域 (RD2) と決定されたN-末端の14アミノ酸との比較により、100%同一な配列 (mb3484) が示された [ Mahairasら、1996 ] 。

#### CFP22

CFP22の決定された15アミノ酸に100%同一な配列は、MTCY10H4に見られた。オープンリーディングフレーム内で、翻訳タンパク質は182アミノ酸長である。培養ろ液から精製したタンパク質のN-末端配列は8番目のアミノ酸で始まり、それ故に結核菌培養ろ液中で175アミノ酸長のタンパク質を生じる。これにより、理論分子質量18517Da及びpI 6.8が得られる。SDS-PAGEで認められた分子量は、22kDaである。

182アミノ酸の重複で、翻訳タンパク質は、E235739、ペプチジル-プロリル シス-トランスイソメラーゼと90.1%の同一性を有する。

#### CFP25

決定された15アミノ酸に93%同一な配列は、コスミドMTCY339.08cに見出された。2つの配列間で異なる1つのアミノ酸は、MTCY339.08cでCであり、N-末端シークエンステータによればXである。シークエンサーでは、おそらくこの違いによりCを決定できない。

培養ろ液から精製したタンパク質の決定されたN-末端配列は33番目のアミノ酸で始まり、切断されるシグナル配列の存在に一致する。これにより、理論分子量19665Da及び理論pI 4.9に相当する187アミノ酸長の成熟タンパク質が得られる。SDS-PAGEで認められた分子量は、25kDaである。

タンパク質は、217アミノ酸の重複でCFP21 ( MTCY39.35 ) に42.9%の同一性を有する。

#### CFP28

データベース検索でSEQ ID NO:22の2～8、11、12及び14残基の決定された10アミノ酸を用いる際に、ホモロジーは見られなかった。

#### CFP29

サンガーデータベース検索：CFP29タンパク質の配列150bpにはほぼ100%同一な配列は、コスミドcy444に見出された。配列は、オープンリーディングフレーム795bp内に含まれ、その5'末端は、精製されたCFP29タンパク質のN-末端シークエンスされた19アミノに100%同一な配列に翻訳する。オープンリーディングフレームは、265アミノ酸のタンパク質をエンコードする。

精製タンパク質について行ったアミノ酸解析により、コスミド444でのオープンリーディングフレームにエンコードされるタンパク質とCFP29の同一性がさらに確認された。

EMBLデータベース検索：オープンリーディングフレームは、リノシンM18タンパク質 (DNA レベルで61%同一) に58%同一で、74%類似している265アミノ酸タンパク質をエンコード

10

20

30

40

50

ドしている。これは、バクテリオシン活性を有する28.6kDaのタンパク質である [ Valdes-Stauber 及び Scherer, 1994; Valdes-Stauber 及び Scherer, 1996 ] 。 2 つのタンパク質は同じ長さ ( 1 アミノ酸を除いて ) を有し、同じ理論物理化学特性を有する。したがって、CFP29は、プレビバクテリウム・リネンスのリノシンM18タンパク質と相同なマイコバクテリア ( mycobacterial homolog ) であることが示唆される。

サンガーデータベースから選んだ精製抗原のアミノ酸配列を以下のリストに示す。N-末端シークエンスで決定したアミノ酸は、太字で示す。

CFP17 (SEQ ID NO: 6):

1 MTDMDNP DIEK DQTSDEVTVE TTSVFRADFL **SELDAPAQAG TESAVSGVEG**  
 51 LPPGSALLVV KRGPNAGSRF LLDQAITSA G RHPDSDIFLD DTVSRRHAE  
 101 FRLENNEFN VDVGSNLNGTY VNREPVD SAV LANGDEVQIG KFRLVFLTGP  
 151 KQGEDDGSTG GP

CFP20 (SEQ ID NO: 8):

1 **MAQITLRGNA INTVGELPAV GSPAPAFTLT GGDLGVISSD QFRGKSVLLN**  
 51 IFPSVDT PVC ATSVRTFDER AAASGATVLC VSKDLPFAQK RFCGAEGTEN  
 101 VMPASAFRDS FGEDYGV TIA DGPMAGLLAR AIVVIGADGN VAYTELVPEI  
 151 AQEPNYEAAL AALGA

10

CFP21 (SEQ ID NO: 10):

1 MTPRSLV RIV GV VVATT LAL VSAPAGGR A HADPCSDIAV  
 41 **VFARGTHQAS GLGDVGEAFV DSLTSQVGGR SIGVYAVNYP ASDDYRASAS**  
 91 NGSSDASAHI QRTVASC PNT RIVLGGYSQG ATVIDLSTSA MPPAVADHVA  
 141 AVALFGE PSS GFSSMLWGGG SLPTIGPLYS SKTINLCAPD DPICTGGGN  
 191 MAHVS YVQSG MTSQAATFAA N RL DHAG

20

CFP22 (SEQ ID NO: 12):

1 MADCD SV **TNS PLATATATLH TN RGDIKIAL FGNHAPKTVA NFVGLAQGTK**  
 51 DY STQ NASGG PSGPFYDGAV FHRVIQGFMTI QGGDPTGTGR GGPGYKFADE  
 101 FHPELQFDKP YLLAMANAGP GTNGSQFFIT VGKTPHLNRR HTIFGEVIDA  
 151 ESQRV VEAIS KTATDGND RP TDPVVIESIT IS

30

CFP25 (SEQ ID NO: 14):

1 MGAAAAMLA VLLLTPITVP AGYPGAVAPA TAACPD AEVV **FARGR FEEPPG**  
 51 IGTVGNAFVS ALRSKVKNV GYAVKYPAD NQIDVGANDM SAHQSMANS  
 101 CPNTRLVPGG YSLGAAVTDV VLAVPTQMWG FTNPLPPGSD EHIAAVALFG  
 151 NGSQWVGPI T NFSPAYNDRT IELCHGDDPV CHPADPNTWE ANWPQHLAGA  
 201 YVSSGMVNQA ADFVAGKLQ

40

CFP29 (SEQ ID NO: 16):

1 **MNNLYRDLAP VTEAAWAEIE LEAARTFKRH IAGRRVVDVS DPGGPVTA AV**  
 51 STGRLIDVKA PTNGVIAHLR ASKPLVRLRV PFTLSRNEID DVERGSKDSD  
 101 WEPVKEAAKK LAFVEDRTIF EGYSAA SIEG IRSASSNPAL TL PEDPREIP  
 151 DVISQALSEL RLAGVDGPYS VLLSADVYTK VSETSDHGYP IREH LNR LVD  
 201 GDIIWAPAI D GAFVLTT RGG DF DLQLGTDV AIGYASHDTD TVRLYLQETL  
 251 TFLCYTAEAS VALSH

6つのタンパク質全てについて配列から推測される分子量は、SDS-PAGEで認められる分子

50

量に一致する。

CFP17、CFP20、CFP21、CFP22及びCFP25をエンコードする遺伝子のクローニング

CFP17、CFP20、CFP21、CFP22及びCFP25をエンコードする遺伝子は、大腸菌内で組換えタンパク質が発現されるように、遺伝子の特異的なプライマーを用いるPCR増幅により発現ベクターpMCT6に全てクローンした。

PCR反応物は、10 μlの反応容量に4つの各ヌクレオチド250mM [Boehringer Mannheim]、BSA 0.5mg/ml [IgG technology]、1% DMSO [Merck]、各プライマー-5pmol及びTaq+DNAポリメラーゼ0.5ユニット [Stratagene] を加えた1x低塩Taq+緩衝液 [Stratagene] に結核菌の染色体DNA 10ngを含むものであった。反応は、最初に25秒間94 ℃に加熱し、サーモサイクラー装置 [Idaho Technology] を用いて10秒間94 ℃、10秒間55 ℃及び90秒間72 ℃のプログラムを30サイクル行った。  
10

次いで、DNAフラグメントを1%アガロースゲルに付し、バンドを切りだしてスピン-Xスピンカラム [Costar] で精製し、pBluescript SK II+-Tベクター [Stratagene] にクローンした。その後、所望のフラグメントを有するクローンからプラスミドDNAを調製し、適切な制限酵素で消化し、発現ベクターpMCT6（発現されるタンパク質のN-末端に加えられる8個のヒスチジン残基とフレームを合わせた）にサブクローンした。得られたクローンは、この後、シーケナーゼDNAシーケンシングキットバージョン1.0 [United States Bioc hemical Corp.、合衆国] を用いるスーパーコイルDNA用に合わせたジデオキシ鎖末端法、及び添付の指示書にしたがった自動ゲルリーダー [モデル373A、Applied Biosystems] と組み合わせたダイ・ターミネーターシステムを用いるサイクルシークエンスにより、シークエンスした。  
20

個々の抗原のクローニングには、以下の遺伝子の特定のプライマーを用いた：

CFP17:cfp17のクローニングに用いられるプライマー：

OPBR-51: ACAGATCTGTGACGGACATGAACCCG (SEQ ID NO: 117)

OPBR-52: TTTTCCATGGTCACGGGCCCGGTACT (SEQ ID NO: 118)

OPBR-51及びOPBR-52は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP20:cfp20のクローニングに用いられるプライマー：

OPBR-53: ACAGATCTGTGCCCATGGCACAGATA (SEQ ID NO: 119)

OPBR-54: TTTAAGCTTCTAGGCGCCAGCGCGGC (SEQ ID NO: 120)  
30

OPBR-53及びOPBR-54は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びHindIII部位をそれぞれ生じる。

CFP21:cfp21のクローニングに用いられるプライマー：

OPBR-55: ACAGATCTGCGCATGCGGATCCGTGT (SEQ ID NO: 121)

OPBR-56: TTTTCCATGGTCATCCGGCGTGATCGAG (SEQ ID NO: 122)

OPBR-55及びOPBR-56は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP22:cfp22のクローニングに用いられるプライマー：

OPBR-57: ACAGATCTGTAATGGCAGACTGTGAT (SEQ ID NO: 123)

OPBR-58: TTTTCCATGGTCAGGAGATGGTGATCGA (SEQ ID NO: 124)  
40

OPBR-57及びOPBR-58は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP25:cfp25のクローニングに用いられるプライマー：

OPBR-59: ACAGATCTGCCGGCTACCCCGGTGCC (SEQ ID NO: 125)

OPBR-60: TTTTCCATGGCTATTGCAGCTTCCGGC (SEQ ID NO: 126)

OPBR-59及びOPBR-60は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP17、CFP20、CFP21、CFP22及びCFP25の組換えタンパク質の発現/精製

組換えタンパク質の発現及び金属親和性精製は、本質的に製品に記載されているようにし  
50

て行った。各タンパク質について、アンピシリン100 μg/mlを含有するLB-培地1lを、組換えpMTC6プラスミドを有するXL1-Blue細胞の一晩培養液10mlに接種した。培養は、OD<sub>600</sub>が0.4~0.6の密度に達するまで37℃で振盪した。最終濃度が1mMになるようにIPTGをこの後加え、さらに4~16時間培養した。細胞を回収して1x超音波処理緩衝液+8Mユレアに再懸濁し、パルスの間に30秒停止して、5x30秒、超音波処理した。

遠心分離後、再懸濁したタロン(Talon)樹脂[Clontech, Palo Alto、合衆国]25mlを含むカラムに溶解物を用いた。製品に記載されているようにしてカラムを洗浄し、溶出した。溶出後、全画分(各1.5ml)を、マイティ・スマール(Mighty Small)[Hoefer Scientific Instruments、合衆国]システムを用いるSDS-PAGEでの分析に付し、タンパク質濃度を280nmで見積もった。組換えタンパク質を含有する画分をプールし、10mM Tris-HCl(pH8.5)中の3Mユレアに透析した。透析したタンパク質は、6mlのResource-Qカラムを用いてFPLC[Pharmacia、スウェーデン]でさらに精製し、0~1MのNaClの線状勾配で溶出した。画分はSDS-PAGEで分析し、タンパク質濃度はOD<sub>280</sub>で見積もった。タンパク質を含む画分をプールし、25mM Hepes緩衝液(pH8.5)に透析した。

最後に、それぞれBCA[Pierce、オランダ]及びLAL[Endosafe, Charleston、合衆国]試験でタンパク質濃度及びLPS含量を決定した。

実施例3A:CFP7A、CFP8A、CFP8B、CFP16、CFP19、CFP19B、CFP22A、CFP23A、CFP23B、CFP25A、CFP27、CFP30A、CWP32及びCFP50の同定

#### CFP16及びCFP19Bの同定

ST-CFは、80%飽和の硫酸アンモニウムで沈殿した。沈殿したタンパク質は遠心分離で除き、再懸濁後に8Mユレアで洗浄した。最終濃度がそれぞれ0.5%(w/v)と5%(v/v)になるようにCHAPSとグリセロールを加え、タンパク質溶液をロトフォル等電点細胞[BioRad]に塗布した。ロトフォル細胞は、0.5%CHAPS(w/v)、5%グリセロール(v/v)、3%バイオリット3/5(v/v)及び1%バイオリット4/6(v/v)[BioRad]を含む8Mユレア緩衝液で平衡化した。等電点フォーカスは、3~6のpH勾配で行った。画分を、銀染色した10~20%のSDS-PAGEで分析した。同様のバンドパターンを有する画分をプールし、最終容量が1~3mlになるように、3kDaのカットオフメンブレンを有するセントリプレッピング濃縮機[Amicon]でPBSを用いて3回洗浄した。サンプル緩衝液を含む等量のSDSを加え、タンパク質溶液を5分煮沸し、電気勾配下の16%ポリアクリルアミドのマトリクスでプレッピング細胞[Biorad]についてさらに分離した。PVDF膜への転移後に、SDS-PAGEで分離したバンドのウエル含有画分をN-末端シーケンス用に選択した。

#### CFP8A、CFP8B、CFP19、CFP23A及びCFP23Bの単離

ST-CFは、80%飽和の硫酸アンモニウムで沈殿させ、PBS(pH7.4)に再溶解し、25mMピペラジン-HCl(pH5.5)に3回透析し、FPLCシステム[Pharmacia]に接続したカラムでPBE94[Pharmacia]のマトリクスについての等電点クロマトグラフィーに付した。カラムは25mMピペラジン-HCl(pH5.5)で平衡化し、溶出を10%PB74-HCl(pH4.0)[Pharmacia]を用いて行った。同様のバンドパターンを有する画分をプールし、最終容量が1~3mlになるように3kDaのカットオフメンブレンを有するセントリプレッピング濃縮機[Amicon]でPBSを用いて3回洗浄し、上記のようにしてプレッピング細胞で分離した。

#### CFP22Aの同定

ST-CFを限外ろ過で約10倍に濃縮し、80%飽和でタンパク質を沈殿させ、PBS(pH7.4)に再溶解し、PBS(pH7.4)に3回透析した。Rnase(0.2mg/ml, QIAGEN)とDNase(0.2mg/ml, Boehringer Mannheim)で透析したST-CF5.1mlを6時間処理し、ソルバル(Sorvall)チューブ[Ultracrimp 03987, DuPont Medical Products]内のPBS(pH7.4)中48%ショ糖(w/v)6.4mlの上部に置き、10℃、257,300×g<sub>max</sub>で20時間、超遠心分離した。ペレットは、200μlの25mM Tris-192mMグリシン、0.1% SDS(pH8.3)に再溶解した。

#### CFP7A、CFP25A、CFP27、CFP30A及びCFP50の同定

CFP27、CFP30A及びCFP50については限外ろ過でST-CFを約10倍に濃縮し、45~55%飽和の硫酸アンモニウム沈殿を行った。タンパク質は、50mMリン酸ナトリウム、1.5mM硫酸アンモニウム(pH8.5)に再溶解し、Affi-Tゲルカラム[Kem-En-Tec]でのチオフィル吸着ケ

10

20

30

40

50

ロマトグラフィーに付した。タンパク質は、1.5から0Mに低下する硫酸アンモニウムの勾配で溶出した。SDS-PAGEで同様のバンドパターンを有する画分をプールし、FPLCシステム [ Pharmacia ] に接続したMono Q HR 5/5カラムでアニオン交換クロマトグラフィーを行った。カラムは、10mM Tris-HCl ( pH8.5 ) で平衡化し、0~1MのNaCl勾配で溶出した。SDS-PAGEで分離したバンドのウェル含有画分を選択した。

CFP7とCFP25Aは、以下の点を変えるほかは上記のようにして得られた：限外ろ過でST-CFを約10倍に濃縮し、80%飽和でタンパク質を沈殿させ、PBS ( pH7.4 ) に再溶解し、PBS ( pH7.4 ) に3回透析した。1.5Mの濃度まで硫酸アンモニウムを加え、ST-CFタンパク質をAffi T-ゲルカラムにロードした。Affi T-ゲルカラムとアニオン交換からの溶出は、上記のようにして行った。

10

#### CWP32の単離

熱処理したH37Rvは、Sorensenらが記載 ( 1995 ) しているように、細胞下画分にサブ分画した。細胞壁画分は、8Mユレア、0.2% ( w/v ) N-オクチル- $\beta$ -グルコピラノシド [ Sigma ] 及び5% ( v/v ) グリセロールに再懸濁し、同じ緩衝液で平衡化したロトフォル等電点細胞 [ BioRad ] にタンパク質溶液を塗布した。等電点フォーカスは、3~6のpH勾配で行った。画分をSDS-PAGEで分析し、分離したバンドのウェル含有画分をプールし、PVDF膜への転移後にN-末端シーケンシングに付した。

#### N-末端シーケンシング

CFP7A、CFP8A、CFP8B、CFP16、CFP19、CFP19B、CFP22A、CFP23A、CFP23B、CFP27、CFP30A、CWP32及びCFP50を含む画分は、トリシンSDS-PAGE後にPVDF膜にプロットした [ Plougら、1989 ] 。関連するバンドを切り出し、プロサイズ494シークエンサー [ Applied Biosystems ] でN-末端アミノ酸シークエンス解析に付した。CFP25Aを含む画分を、2-DE PAGE ( 一次で等電点フォーカス、二次でトリシンSDS-PAGE ) 後にPVDF膜にプロットした。関連するスポットを切り出し、上記のようにシークエンスした。

20

以下のN-末端配列が得られた：

CFP7A:	AEDVRAEIVAVLLEVVVNEG DQIDKGDVVV LLESMYMEIP VLAEEAGTVS	(SEQ ID NO: 81)
CWP32:	DPVDDAFIAKLNNTAG	(SEQ ID NO: 73)
CFP8B:	DPVDAIIINLDNYGX	(SEQ ID NO: 74)
CFP16:	AKLSTDELLDAFKEM	(SEQ ID NO: 79)
CFP19:	TTSPDPYAAALPKLPS	(SEQ ID NO: 82)
CFP19B:	DPAXAPDVPTAAQLT	(SEQ ID NO: 80)
CFP22A:	TEYEGPKTKF HALMQ	(SEQ ID NO: 83)
CFP23A:	VIQ/AGMVT/GHIHXVAG	(SEQ ID NO: 76)
CFP23B:	AEMKKXFKNNAIVQEID	(SEQ ID NO: 75)
CFP25A:	AIEVSVLRVF TDSDG	(SEQ ID NO: 78)
CWP32:	TNIVVLIKQVPDTWS	(SEQ ID NO: 77)
CFP27:	TTIVALKYPG GVVMA	(SEQ ID NO: 84)
CFP30A:	SFPYFISPEX AMRE	(SEQ ID NO: 85)
CFP50:	THYDVVVLGA GPGGY	(SEQ ID NO: 86)

30

#### サンガーデータベースでのN-末端ホモジー検索及び相当する遺伝子の同定

各タンパク質由来のN-末端アミノ酸配列は、サンガーの結核菌データベース：

<http://www.sanger.ac.uk/projects/m-tuberculosis/TB-blast-server> のblastプログラムを用いるホモジー検索に用いた。

40

CFP23B、CFP23A及びCFP19Bについては、サンガーのデータベースで類似性が見出されなかった。これは、検索を行ったときにシークエンスされていた結核菌ゲノムは70%にすぎないという事実のためである。これらのタンパク質をエンコードする遺伝子は、シークエンスデータがいまだ利用できない残りの30%のゲノムに含まれているであろう。

50

CFP7A、CFP8A、CFP8B、CFP16、CFP19、CFP19B、CFP22A、CFP25A、CFP27、CFP30A、CWP32 及びCFP50については、以下の情報が得られた。

CFP7A: CFP7Aの決定された50アミノ酸のうち、98%同一な配列がコスミドcsCY07D1 (contig 256)に見出された: スコア=226 (100.4ビット)、イクスペクト(expect)=1.4e-24、P=1.4e-24、同一性=49/50 (98%)、陽性=49/50 (98%)、フレーム(frame)=-1。

問:	1	AEDVRAEIVASVLEVVVNEGDQIDKGDVVVLLESMYMEIPVLAEEAGTVS 50
(Query)		AEDVRAEIVASVLEVVVNEGDQIDKGDVVVLLESMEIPVLAEEAGTVS
対象:	257679	AEDVRAEIVASVLEVVVNEGDQIDKGDVVVLLESMKMEIPVLAEEAGTVS 257530 (subject)

(SEQ ID NOs: 127, 128, 及び 129)

10

同一性は、理論MWがCFP7Aの7305.9Da及びpI 3.762に相当する71アミノ酸長のオーブンリーディングフレーム内で見出される。SDS-PAGEで認められた分子量は、7kDaである。

CFP8A: 15個のN-末端アミノ酸に80%が同一な配列が、contig TB\_1884に見出された。培養ろ液から精製したタンパク質由来の決定されたN-末端た配列は、32番目のアミノ酸で開始する。これにより、MW 9700Da及びpI 3.72の理論値に相当する98アミノ酸長の成熟タンパク質が生じる。これは、SDS-PAGEで認められる約8kDaのMWに一致する。全長タンパク質は、MW 12989Da及びpI 4.38の理論値を有する。

CFP8B: 14個のN-末端アミノ酸に71%同一な配列が、contig TB\_653に見出された。しかし、最初のN-末端配列データを注意深く再評価することにより、タンパク質の同一性が確認された。培養ろ液から精製したタンパク質の決定されたN-末端配列は、29番目のアミノ酸で開始する。これにより、MW 8337Da及びpI 4.23の理論値に相当する82アミノ酸長の成熟タンパク質が生じる。これは、SDS-PAGEで認められる約8kDaのMWに一致する。アミノ酸配列解析により、培養ろ液に見出された成熟タンパク質から切断されたシグナルペプチドの存在することが予測される。

20

CFP16: 15個のN-末端アミノ酸配列は、コスミドMTCY20H1に見られる配列と100%同一であることが分かった。

同一性は、13440.4Da及びpI 4.59のCFP16の理論MWに相当する130アミノ酸長のオーブンリーディングフレーム内に見出される。SDS-PAGEゲルで認められた分子量は、16kDaである。

CFP19: 15個のN-末端アミノ酸配列は、コスミドMTCY270に見られる配列と100%同一であることが分かった。

30

同一性は、18633.9Da及びpI 5.41のCFP19の理論MWに相当する176アミノ酸のオーブンリーディングフレーム内に見出される。SDS-PAGEゲルで認められた分子量は、19kDaである。

CFPA22A: 15個のN-末端アミノ酸配列は、コスミドMTCY1A6に見られる配列と100%同一であることが分かった。

同一性は、20441.9Da及びpI 4.73のCFP22Aの理論MWに相当する181アミノ酸のオーブンリーディングフレーム内に見出される。SDS-PAGEゲルで認められた分子量は、22kDaである。

CFPA25A: 15個のN-末端アミノ酸配列は、contig 255に見られる配列と100%同一であることが分かった。

40

同一性は、24574.3Da及びpI 4.95のCFP25Aの理論MWに相当する228アミノ酸のオーブンリーディングフレーム内に見出される。SDS-PAGEゲルで認められた分子量は、25kDaである。

CFPA27: 15個のN-末端アミノ酸配列は、コスミドMTCY 261に見られる配列と100%同一であることが分かった。

同一性は、291アミノ酸長のオーブンリーディングフレーム内に見出される。培養ろ液から精製したタンパク質の決定されたN-末端配列は、58番目のアミノ酸で開始する。これにより、24422.4Daの理論分子量、4.64の理論pIに相当する233アミノ酸長の成熟タンパク質が生じる。SDS-PAGEゲルで認められた分子量は、27kDaである。

CFPA30A: CFP30Aで決定された13個のアミノ酸について、100%同一な配列がコスミドMTCY2

50

61に見出された。

同一性は、26881.0Da及びpI 5.41のCFP30Aの理論MWに相当する248アミノ酸のオープンリーディングフレーム内に見出される。SDS-PAGEゲルで認められた分子量は、30kDaである。

CWP32:15個のN-末端アミノ酸配列は、contig 281に見られる配列と100%同一であることが分かった。同一性は、28083Da及びpI 4.563のCWP32の理論MWに相当する266アミノ酸長のオープンリーディングフレーム内に見出された。SDS-PAGEゲルで認められた分子量は、32kDaである。

CFP50:15個のN-末端アミノ酸配列は、MTV038.06に見られる配列と100%同一であることが分かった。同一性は、49244Da及びpI 5.66のCFP50の理論MWに相当する464アミノ酸長のオープンリーディングフレーム内に見出される。SDS-PAGEゲルで認められた分子量は、50kDaである。  
10

#### CFP19AとCFP23の同定のためのEMBLデータベースでのホモロジー検索の使用

TFASTAアルゴリズムを用いる、2つの初期に同定された高度に免疫応答性のST-CFタンパク質のアミノ酸配列とのEMBLデータベース(BiobaseのGCGパッケージを使用、Arhus-DK)でのホモロジー検索により、これらのタンパク質(CFP21とCFP25、実施例3)が、真菌のクチナーゼホモログの群に属することが示された。これらのうちで、もっとも相同な配列は、コスミドMTCY13E12に見らる2つの結核菌配列であった。まず、MTCY13E12.04は、CFP25とCFP21に、それぞれ46%及び50%同一である。次に、MTCY13E.12.05も、CFP25とCFP21に46%及び50%同一である。2つのタンパク質は、184残基を重複させて62.5%の同一なアミノ酸を共有する。強力なT-細胞抗原CFP21とCFP25に高度なホモロジーに基づくと、CFP19AとCFP23は、それぞれ新規なT-細胞抗原であるものと考えられる。  
20

最初の読み枠は、254アミノ酸のタンパク質をエンコードし、最初の26アミノ酸は、タンパク質の細胞外の位置を強く示す仮想のリーダーペプチドを構成している。したがって、成熟タンパク質は、23149.0Daの理論MWと5.80のpIに相当する228アミノ酸の長さである。このタンパク質を、CFP23と命名する。

二番目の読み枠は、231アミノ酸のタンパク質をエンコードし、最初の44アミノ酸は、タンパク質の細胞外の位置を強く示す仮想のリーダーペプチドを構成している。したがって、成熟タンパク質は、19020.3Daの理論MWと7.03のpIに相当する187アミノ酸の長さである。このタンパク質を、CFP19Aと命名する。  
30

両タンパク質での仮想リーダーペプチドの存在(及び、それによるST-CFでのそれらの存在)は、エクスパシー(Exasy)分子生物サーバー(<http://expasy.hcuge.ch/www/tools.html>)のシグナルPプログラムを用いる理論シーケンス解析で確認される。

#### EMBLデータベースでのCFP7A、CFP16、CFP19、CFP19A、CFP19B、CFP22A、CFP23、CFP25A、CFP27、CFP30A、CWP32及びCFP50とのホモロジー検索

相同的なタンパク質を見出し、抗原に最終的な機能的役割を果たさせるために、TFASTAアルゴリズムを用いるEMBL及びGenbankデータベースでのホモロジー検索に個々の抗原の翻訳遺伝子由来のアミノ酸配列を用いた。

CFP7A:CFP7Aは、仮想上(hypothetical)、メタノコッカス・ジャナスチ(Methanococcus jannaschii)タンパク質(1162199-1175341塩基由來のメタノコッカス・ジャナスチ)と44%の同一性及び70%の類似性、ならびにビー・ステアロサーモフィラス(B.stearothermophilus)のピルベートカルボキシラーゼのC-末端の一部、及びストレプトコッカス(Streptococcus)変異体のビオチンカルボキシル担体タンパク質と43%と38%の同一性及び68%と64%の類似性を有する。  
40

CFP7Aは、この場合にわずかに修飾されたビオチン結合部位モチーフについて共通のEAMKM配列(ESMKMで34~38アミノ酸残基)を含む。SDS-PAGE後にストレプトアビシンに結合したアルカリホスファターゼとインキュベーションし、ニトロセルロースに転移することにより、天然のCFP7Aがビオチニル化されたことが立証された。

CFP16:RpIL遺伝子、130アミノ酸、マイコバクテリア・ボビス50sリボソームタンパク質L7/L12と同一(受託No P37381)。  
50

CFP19:CFP19は、150アミノ酸重複して、大腸菌ペクチンストレアーゼホモログ（ybhC遺伝子）と47%同一で、55%類似している。

CFP19A:CFP19Aは、異なる真菌種由来の幾つかのクチナーゼと38~45%の同一性を有する。

さらに、CFP19AはCFP25と46%の同一性と61%の類似性、ならびにCFP21と50%の同一性と64%の類似性を有する（両タンパク質は、ST-CFから初期に単離される）。

CFP19B:ホモロジーは、見られない。

CFP22A:ホモロジーは、見られない。

CFP23:CFP23は、異なる真菌種由来の幾つかのクチナーゼと38~46%の同一性を有する。

さらに、CFP23はCFP25と46%の同一性と61%の類似性、ならびにCFP21と50%の同一性と63%の類似性を有する（両タンパク質は、ST-CFから初期に単離される）。

10

CFP25A:CFP25Aは、推測上、結核菌のチミジレートシンセターゼと241アミノ酸重複して95%の同一性を有する（450アミノ酸、受託番号p28176）。

CFP27:CFP27は、仮定上、らい菌（M. leprae）タンパク質と81%の同一性、及びロドコッカス（Rhodococcus）種のプロテアソーム - タイプサブユニット2（prcb (2) 遺伝子）と64%の同一性ならびに78%の類似性を有する。

CFP30A:CFP30Aは、ロドコッカスのプロテアソーム - タイプ1サブユニットと67%の同一性を有する。

CWP32:CWP32のN-末端配列は、らい菌の配列MLCB637.03と100%同一である。

CFP50:CFP50のN-末端配列は、推測上、らい菌由来のリポアミドデヒドロゲナーゼと100%同一である（受託415183）。

20

CFP7A、CFP8A、CFP8B、CFP16、CFP19、CFP19A、CFP22A、CFP23、CFP25A、CFP27、CFP30A、CWP32及びCFP50をエンコードする遺伝子のクローニング

CFP7A、CFP8A、CFP8B、CFP16、CFP19、CFP19A、CFP22A、CFP23、CFP25A、CFP27、CFP30A、CWP32及びCFP50をエンコードする遺伝子は、大腸菌で組換えタンパク質を発現するよう

に、特異的な遺伝子プライマーとのPCR增幅で発現ベクターpMCT6に全てクローンした。

PCR反応物は、10mlの反応容量に4つの各ヌクレオチド250mM [Boehringer Mannheim]、BSA 0.5mg/ml [IgG technology]、1% DMSO [Merck]、各プライマー5pmol及びTaq+DNAポリメラーゼ0.5ユニット [Stratagene] を加えた1x低塩Taq+緩衝液 [Stratagene] に結核菌の染色体DNA 10ngを含むものであった。反応は、最初に25秒間94℃に加熱し、サーモサイクラー装置 [Idaho Technology] を用いて10秒間94℃、10秒間55℃及び90秒間72℃のプログラムを30サイクル行った。

30

次いで、DNAフラグメントを1%アガロースゲルに付し、バンドを切りだして、スピン-Xスピンカラム [Costar] で精製し、pBluescript SKII+ -Tベクター [Stratagene] にクローンした。その後、所望のフラグメントを有するクローンからプラスミドDNAを調製し、適切な制限酵素で消化し、発現ベクターpMCT6（発現されるタンパク質のN-末端に加えられる8個のヒスチジン残基とフレームを合わせた）にサブクローンした。得られたクローンは、この後、シーケナーゼDNAシーケンシングキットバージョン1.0 [United States Biochemical Corp.、合衆国] を用いるスーパーコイルDNA用に合わせたジデオキシ鎖末端法、及び添付の指示書にしたがった自動ゲルリーダー [モデル373A、Applied Biosystems] と組み合わせたダイ・ターミネーターシステムを用いるサイクルシークエンスにより、シークエンスした。遺伝子の両鎖をシークエンスした。

40

個々の抗原のクローニングには、以下の特異的な遺伝子プライマーを用いた：

CFP7A:cfp7Aのクローニングに用いたプライマー

OPBR-79: AAGAGTAGATCTATGATGGCCGAGGATGTTCGCG (SEQ ID NO: 95)

OPBR-80: CGGCACGACGGATCCTACCGCGTCGG (SEQ ID NO: 96)

OPBR-79及びOPBR-80は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びBamHI部位をそれぞれ生じる。

CFP8A:cfp8Aのクローニングに用いたプライマー：

CFP8A-F: CTCGAGATCTATGAACCTACGGCGCC (SEQ ID NO: 154)  
CFP8A-R: CTCCCCATGGTACCCCTAGGACCCGGCAGCCCCGGC (SEQ ID NO: 155)

CFP8A-F及びCFP8A-Rは、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP8B:cfp8Bのクローニングに用いたプライマー:

CFP8B-F: CTGAGATCTATGAGGCTGTCGTTGACCGC (SEQ ID NO: 156)  
CFP8B-R: CTCCCCGGGCTTAATAGTTGTTGCAGGAGC (SEQ ID NO: 157)

CFP8B-F及びCFP8B-Rは、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びSmaI部位をそれぞれ生じる。

CFP16:cfp16のクローニングに用いたプライマー:

OPBR-104: CCGGGAGATCTATGGCAAAGCTCTCACCGACG (SEQ ID NOs: 111 and 130)  
OPBR-105: CGCTGGGCAGAGCTACTTGACGGTGACGGTGG (SEQ ID NOs: 112 and 131)

OPBR-104及びOPBR-105は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP19:cfp19のクローニングに用いたプライマー:

OPBR-96: GAGGAAGATCTATGACAACCTCACCCGACCCG (SEQ ID NO: 107)  
OPBR-97: CATGAAGCCATGGCCGCAGGCTGCATG (SEQ ID NO: 108)

OPBR-96及びOPBR-97は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP19A:cfp19Aのクローニングに用いたプライマー:

OPBR-88: CCCCCCAGATCTGCACCACCGGCATCGCGGGC (SEQ ID NO: 99)  
OPBR-89: GCGGCGGATCCGTTGCTTAGCCGG (SEQ ID NO: 100)

OPBR-88及びOPBR-89は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びBamHI部位をそれぞれ生じる。

CFP22A:cfp22Aのクローニングに用いたプライマー:

OPBR-90: CCGGCTGAGATCTATGACAGAAATACGAAGGGC (SEQ ID NO: 101)  
OPBR-91: CCCCCGCAGGGAACTAGAGGCCGC (SEQ ID NO: 102)

OPBR-90及びOPBR-91は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP23:cfp23のクローニングに用いたプライマー:

OPBR-86: CCTTGGGAGATCTTGGACCCCGGTTGC (SEQ ID NO: 97)  
OPBR-87: GACGAGATCTATGGGCTTACTGAC (SEQ ID NO: 98)

OPBR-86及びOPBR-87は、ともにpMCT6でのクローニングに用いられるBgIII部位を生じる。

CFP25A:cfp25Aのクローニングに用いたプライマー:

OPBR-106: GGCCCAGATCTATGCCATTGAGGTTTCGGTGTGC (SEQ ID NO: 113)  
OPBR-107: CGCCGTGTTGCATGGCAGCGCTGAGC (SEQ ID NO: 114)

OPBR-106及びOPBR-107は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP27:cfp27のクローニングに用いたプライマー:

OPBR-92: CTGCCGAGATCTACCAACATTGTCGCGCTGAAATACCC (SEQ ID NO: 103)  
OPBR-93: CGCCATGGCCTTACCGCGCCAACCTCG (SEQ ID NO: 104)

OPBR-92及びOPBR-93は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP30A:cfp30Aのクローニングに用いたプライマー:

OPBR-94: GGC GGAGATCTGTGAGTTTCCGTATTCATC (SEQ ID NO: 105)  
OPBR-95: CGCGTCGAGCCATGGTAGGCCAG (SEQ ID NO: 106)

OPBR-94及びOPBR-95は、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CWP32:cwp32のクローニングに用いたプライマー:

CWP32-F: GCTTAGATCTATGATTCTGGGCAACCAGGTA (SEQ ID NO: 158)  
CWP32-R: GCTTCCATGGCGAGGCACAGGCGTGGAA (SEQ ID NO: 159)

CWP32-F及びCWR32-Rは、pMCT6でのクローニングに用いられるBglII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP50: cfp50のクローニングに用いたプライマー:

OPBR-100: GGCGAGATCTGTGACCCACTATGACGTCGTCG (SEQ ID NO: 109)  
OPBR-101: GGCGCCCATGGTCAGAAATTGATCATGTGGCAA (SEQ ID NO: 110)

OPBR-100及びOPBR-101は、pMCT6でのクローニングに用いられるBglII及びNcoI部位をそれぞれ生じる。

CFP7A、CFP8A、CFP8B、CFP16、CFP19、CFP19A、CFP22A、CFP23、CFP25A、CFP27、CFP30A  
CWP32及びCFP50の組換えタンパク質の発現/精製

組換えタンパク質の発現及び金属親和性精製は、本質的に製品に記載されているようにして行った。各タンパク質について、アンピシリン100 μg/mlを含有するLB-培地1lを、組換えpMTC6プラスミドを有するXL-1 Blue細胞の一晩培養液10mlに接種した。培養は、OD<sub>600</sub>が0.4~0.6の密度に達するまで37℃で振盪した。この後、最終濃度が1mMになるようにIPTGを加え、さらに4~16時間、培養した。細胞を回収して1x超音波処理緩衝液+8Mコリアに再懸濁し、パルス間で30秒停止して、5x30秒、超音波処理した。

遠心分離後、再懸濁したタロン樹脂[Clontech, Palo Alto、合衆国]を25ml含むカラムに溶解物を用いた。製品に記載されているようにしてカラムを洗浄し、溶出した。

溶出後、全画分(各1.5ml)を、マイティ・スモール[Hoefer Scientific Instruments、合衆国]システムを用いるSDS-PAGEでの分析に付し、タンパク質濃度を280nmで予測した。組換えタンパク質を含有する画分をプールし、10mM Tris-HCl(pH8.5)中の3Mコリアに透析した。透析したタンパク質は、6mlのResource-Qカラムを用いてFPLC[Pharmacia、スウェーデン]でさらに精製し、0~1MのNaClの線状勾配で溶出した。画分はSDS-PAGEで分析し、タンパク質濃度はOD<sub>280</sub>で予測した。タンパク質含有画分をプールし、25mM Hepes緩衝液(pH8.5)に透析した。

最後に、タンパク質濃度及びLPS含量は、それぞれBCA[Pierce、オランダ]及びLAL[Endosafe, Charleston、合衆国]試験で決定した。

実施例3B: CFP7B、CFP10A、CFP11及びCFP30Bの同定

CFP7Bの単離

ST-CFは、80%飽和の硫酸アンモニウムで沈殿し、PBS(pH7.4)に再溶解し、25mMピペラジン-HCl(pH5.5)に3回透析し、FPLCシステム[Pharmacia]に接続したカラムでPBE94[Pharmacia]のマトリクスについての等電点クロマトグラフィーに付した。カラムは25mMピペラジン-HCl(pH5.5)で平衡化し、10%PB74-HCl(pH4.0)[Pharmacia]を用いて溶出を行った。同様のバンドパターンを有する画分をプールし、最終容量が1~3mlになるよう3kDaのカットオフメンブレンを有するセントリプレップ濃縮機[Amicon]でPBSを用いて3回洗浄した。サンプル緩衝液を含む等量のSDSを加え、タンパク質溶液を5分煮沸し、10~20%ポリアクリルアミドのマトリクス[Andersen, P.及びHeron, I., 1993]のマルチエリューター(MultiEluter)[Biorad]でさらに分離した。PVDF膜への転移後に、10kDa以下で分離したバンドのウェル含有画分をN-末端シーケンス用に選択した。

CFP11の単離

ST-CFは、80%飽和の硫酸アンモニウムで沈殿した。沈殿したタンパク質は遠心分離で除き、再懸濁後に8Mコリアで洗浄した。最終濃度がそれぞれ0.5%(w/v)と5%(v/v)になるようにCHAPSとグリセロールを加え、タンパク質溶液をロトフォル等電点細胞[BioRad]に塗布した。0.5%CHAPS(w/v)、5%グリセロール(v/v)、3%バイオリット3/5(v/v)及び1%バイオリット4/6(v/v)[BioRad]を含む8Mコリア緩衝液で、ロトフォル細胞を平衡化した。等電点フォーカスは、3~6のpH勾配で行った。銀染色した10~20%のSDS-PAGEで画分を分析した。pH5.5~6の勾配で画分をプールし、最終容量が1mlになるように、3kDaのカットオフメンブレンを有するセントリプレップ濃縮機[Amicon]でPBSを用いて3回洗浄した。タンパク質調製物300mgを10~20%トリシンSDS-PAGEで分離し[Plougら

10

20

30

40

50

、1989]、PVDF膜に移してクーマシー染色した。膜のもっとも低い位置で生じたバンドを切り出し、N-末端シーケンスに付した。

#### CFP10AとCFP30Bの単離

ST-CFは、限外ろ過及び80%飽和の硫酸アンモニウム沈殿で約10倍に濃縮した。タンパク質は、50mMのリン酸ナトリウム、1.5Mの硫酸アンモニウム(pH8.5)に再溶解し、Affi-Tゲルカラム[Kem-En-Tec]でのチオフィル吸着クロマトグラフィーに付した。タンパク質は、1.5から0Mに減少する硫酸アンモニウムの勾配で溶出した。SDS-PAGEで同様のバンドパターンを有する画分をプールし、FPLCシステム[Pharmacia]に接続したMono Q HR 5/5カラムでアニオン交換クロマトグラフィーを行った。カラムは10mM Tris-HCl(pH8.5)で平衡化し、0~1MのNaCl勾配で溶出した。SDS-PAGEで分離したバンドのウェル含有画分を選択した。  
10

CFP10AとCFP30Bを含有する画分は、2-DE PAGE後にPVDF膜にプロットした[Plougら、1989]。関連するスポットを切り出し、N-末端アミノ酸配列の解析に付した。

#### N-末端シーケンシング

N-末端アミノ酸配列の解析は、プロサイズ494シーケンサー[Applied Biosystems]を行った。

以下のN-末端配列が得られた：

CFP7B:	PQGTVKWFNAEKGFG	(SEQ ID NO: 168)
CFP10A:	NVTVSIPTILRPXXX	(SEQ ID NO: 169)
CFP11:	TRFMTDPHAMRDMAG	(SEQ ID NO: 170)
CFP30B:	PKRSEYRQGTPNWVD	(SEQ ID NO: 171)

「X」は、用いたシーケンス法では決定できないアミノ酸を示す。

#### サンガーデータベースでのN-末端ホモロジー検索及び相当する遺伝子の同定

各タンパク質由来のN-末端アミノ酸配列は、サンガーの結核菌ゲノムのデータベース：

<http://www.sanger.ac.uk/projects/m-tuberculosis/TB-blast-server>

のblastプログラムを用いるホモロジー検索に用いた。

CFP11について15個のN-末端アミノ酸に100%同一な配列が、contig TB\_1314

に見られた。同一性は、MW 10977Da及びpI 5.14の理論値に相当する98アミノ酸長のオープンリーディングフレーム内に見られた。  
30

この配列も得られたように(結果を示していない)、アミノ酸の1つは、(Thrの代わりに)Alaでもよい。このN-末端に100%同一な配列がcontig TB\_671及びMTCI 364.09の座に見出される。

CFP7Bについて15個のN-末端アミノ酸に100%同一な配列が、EMBL受託番号がz95436のcontig TB\_2044及びMTY15C10.04の座に見られた。同一性は、MW 7240Da及びpI 5.18の理論値に相当する67アミノ酸長のオープンリーディングフレーム内に見られた。

CFP10Aについて12個のN-末端アミノ酸に100%同一な配列が、EMBL受託番号：Q10646及びZ73902のcontig TB\_752及びCY130.20の座に見られた。同一性は、MW 9557Da及びpI 4.78の理論値に相当する93アミノ酸長のオープンリーディングフレーム内に見られた。

CFP30Bについて15個のN-末端アミノ酸に100%同一な配列が、contig TB\_\_\_\_\_335に見られた。同一性は、MW 27345Da及びpI 4.24の理論値に相当する261アミノ酸長のオープンリーディングフレーム内に見られた。  
40

サンガーデータベースから選んだ精製抗原のアミノ酸配列を、以下のリストに示す。

## CFP7B (SEQ ID NO: 147)

1 MPQGTVKWFN AEKGFGFIAP EDGSADVVFHYTEIQGTGFR TLEENQKVEF  
 51 EIGHSPKGPO ATGVRSL

## CFP10A (SEQ ID NO: 141)

1 MNVTVSIPTI LRPHTGGQKS VSASGDTLGA VISDLEANYS GISERLMDPS  
 51 SPGKLHRFVN IYVNDEDVRF SGGLATAIAAD GDSVTILPAV AGG

10

## CFP11 protein sequence (SEQ ID NO: 143)

1 MATRFMTDPH AMRDMAGRFE VHAQTVEDEA RRMWASAQNI SGAGWSGMAE  
 51 ATSLDTMAQM NQAFRNIVNM LHGVRDGLVR DANNYEQQEQ ASQQILSS

## CFP30B (SEQ ID NO: 145)

1 MPKRSEYRQG TPNWVDLQTT DQSAAKKFYT SLFGWGYDDN PVPGGGGVYS  
 51 MATLNGEAVA AIAPMPPGAP EGMPIIWNTY IAVDDVDAVV DKVVPGGGQV  
 101 MMMPAFDIGDA GRMSFITDPT GAAVGLWQAN RHIGATLVNE TGTLIWNELL  
 151 TDKPDALALAF YEAVVGLTHS SMEIAAGQNY RVLKAGDAEV GGCMEPPMPG  
 201 VPNHWHVYFA VDDADATAAK AAAAGGQVIA EPADIPSVGR FAVLSDPQGA  
 251 IFSVLKPAPQ Q

20

CFP7B、CFP10A、CFP11及びCFP30Bをエンコードする遺伝子のクローニング

PCR反応物は、10mlの反応容量に4つの各ヌクレオチド250mM [Boehringer Mannheim]、BSA 0.5mg/ml [IgG technology]、1% DMSO [Merck]、各プライマー-5pmol及びTaq+ DNAポリメラーゼ0.5ユニット [Stratagene] を加えた1x低塩Taq+緩衝液 [Stratagene] に結核菌の染色体DNA 10ngを含むものであった。反応物は、最初に25秒間94℃に加熱し、サーモサイクラー装置 [Idaho Technology] を用いて10秒間94℃、10秒間55℃及び90秒間72℃のプログラムを30サイクル行った。

30

次いで、DNAフラグメントを1%アガロースゲルに付し、バンドを切りだし、スピン-Xスピンカラム [Costar] で精製し、pBluescript SK II+ -Tベクター [Stratagene] にクローンした。その後、所望のフラグメントを有するクローンからプラスミドDNAを調製し、適切な制限酵素で消化し、発現ベクターpMCT6（発現されるタンパク質のN-末端に加えられる8個のヒスチジン残基とフレームを合わせた）にサブクローンした。得られたクローンは、この後、シーケナーゼDNAシーケンシングキットバージョン1.0 [United States Biochemical Corp.、合衆国] を用いるスーパーコイルDNA用に合わせたジデオキシ鎖末端法、及び添付の指示書にしたがった自動ゲルリーダー [モデル373A、Applied Biosystems] と組み合わせたダイ・ターミネーターシステムを用いるサイクルシークエンスにより、シークエンスした。遺伝子の両鎖をシークエンスした。

40

個々の抗原のクローニングには、以下の特異的な遺伝子プライマーを用いた：

CFP7B : cfp7Bのクローニングに用いたプライマー

CFP7B-F: CTGAGATCTAGAATGCCACAGGGAACTGTG (SEQ ID NO: 160)  
 CFP7B-R: TCTCCGGGGTAACTCAGAGCGAGCGGAC (SEQ ID NO: 161)

CFP7B-F及びCFP7B-Rは、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びSmaI部位をそれぞれ生じる。

CFP10A : cfp10Aのクローニングに用いたプライマー :

CFP10A-F: CTGAGATCTATGAACGTCACCGTATCC (SEQ ID NO: 162)  
 CFP10A-R: TCTCCCGGGCTCACCCACCGGCCACG (SEQ ID NO: 163)

CFP10A-F及びCFP10A-Rは、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びSmaI部位をそれぞれ生じる。

CFP11 : cfp11のクローニングに用いたプライマー :

CFP11-F: CTGAGATCTATGGCAACACGTTTATGACG (SEQ ID NO: 164)  
 CFP11-R: CTCCCCGGGTTAGCTGCTGAGGATCTGCTH (SEQ ID NO: 165)

CFP11-F及びCFP11-Rは、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びSmaI部位をそれぞれ生じる。

CFP30B : cfp30Bのクローニングに用いたプライマー :

CFP30B-F: CTGAAGATCTATGCCAACAGAGAAGCGAATAC (SEQ ID NO: 166)  
 CFP30B-R: CGGCAGCTGCTAGCATTCTCCGAATCTGCCG (SEQ ID NO: 167)

CFP30B-F及びCFP30B-Rは、pMCT6でのクローニングに用いられるBgIII及びPvuII部位をそれぞれ生じる。

#### CFP7B、CFP10A、CFP11及びCFP30Bの組換えタンパク質の発現/精製

組換えタンパク質の発現及び金属親和性精製は、本質的に製品に記載されているようにして行った。アンピシリン100 μg/mlを含有するLB-培地1 lを、組換えpMTC6プラスミドを有するXL-1 Blue細胞の一晩培養液10mlに接種した。培養は、OD<sub>600</sub>が0.5の密度に達するまで37℃で振盪した。この後、最終濃度が1mMになるようにIPTGを加え、さらに4時間、培養した。細胞を回収して1x超音波処理緩衝液+8Mユレアに再懸濁し、パルス間で30秒停止して、5x30秒、超音波処理した。

遠心分離後、再懸濁したタロン樹脂[Clontech, PaloAlto、合衆国]を25ml含むカラムに溶解物を用いた。製品に記載されているようにしてカラムを洗浄し、溶出した。

溶出後、全画分(各1.5ml)を、マイティ・スモール[Hoefer Scientific Instruments、合衆国]システムを用いるSDS-PAGEで分析に付し、タンパク質濃度を280nmで予測した。組換えタンパク質を含有する画分をプールし、10mM Tris-HCl(pH8.5)中の3Mユレアに透析した。透析したタンパク質は、6mlのResource-Qカラムを用いてFPLC[Pharmacia、スウェーデン]でさらに精製し、0~1MのNaClの線状勾配で溶出した。画分はSDS-PAGEで分析し、タンパク質濃度はOD<sub>280</sub>で予測した。タンパク質含有画分をプールし、25mM Hepes緩衝液(pH 8.5)に透析した。

最後に、タンパク質濃度及びLPS含量は、それぞれBCA[Pierce、オランダ]及びLAL[Endosafe, Charleston、合衆国]試験で測定した。

#### 実施例4 : CFP26 (MPT51) 発現遺伝子のクローニング

##### プローブの合成及びデザイン

オリゴヌクレオチドプライマーは、DNAシンセサイザー[Applied Biosystems, Forster City, Ca, ABI-391, PCRモード]で自動合成し、脱阻害し、エタノール沈殿で精製した。Oharaら(1995)により記載されているmpb51のヌクレオチド配列に基づいて、3つのオリゴヌクレオチドを合成した(表3)。オリゴヌクレオチドは、5'末端と3'末端にEcoRI制限酵素部位を含むように設計し、後者によってサブクローニングを可能にした。

MPT51のヌクレオチド配列(図5及びSEQ ID NO:41)に基づいて、さらに4つのオリゴヌクレオチドを合成した。PCR研究にはプライマーの4つの組み合わせを用いた。

##### DNAクローニングとPCR技術

DNAの調製と処理には、標準的な方法を用いた[Sambrookら、1989]。遺伝子mpt51は、前述のとおりポリメラーゼ連鎖反応(PCR)技術を用いて結核菌H37Rvの染色体DNAからクローンした[OettingerとAndersen、1994]。PCR産物は、pBluescript SK+[Stratagene]にクローンした。

##### mpt51のクローニング

遺伝子、つまりMPT51のシグナル配列とシャインダルガノ領域は、PCR技術を用いてpBluescript SK+に952bp及び815bpの2つのフラグメントとしてクローンし、pT052及びpT053とした。

10

20

30

40

50

### DNAシーケンシング

MPT51のシャインダルガノ配列、シグナルペプチド配列及び構造遺伝子を含む952bpの結核菌H37Rv PCRフラグメントがクローンされたヌクレオチド配列pT052及びMPT51の構造遺伝子を含む815bpのPCRフラグメントがクローンされたヌクレオチド配列pT053は、シーケナーゼDNAシーケンシングキットバージョン1.0 [ United States Biochemical Corp., Cleveland, OH ] を用いてスーパーコイルDNA用に合わせたジデオキシ鎖末端法、及び添付の指示書にしたがって自動ゲルリーダー [ モデル373A, Applied Biosystems ] と組み合わせたダイ・ターミネーターシステムを用いるサイクルシークエンスにより決定した。DNAの両鎖をシークエンスした。

pT052とpT053のヌクレオチド配列及び推測されるアミノ酸配列は、図5に示す。DNA配列は、45～47の位置のATGコドンで開始し、942～944の位置の終止コドン(TAA)で終わるオープンリーディングフレームを含んだ。最初の33コドンのヌクレオチド配列は、シグナル配列をエンコードしているものと推測された。精製MPT51 [ Nagaiら、1991 ] の公知のN-末端アミノ酸配列(Ala-Pro-Tyr-Glu-Asn)及びシグナルペプチドの特徴に基づくと、シグナルペプチダーゼ認識配列(Ala-X-Ala) [ von Heijne, 1984 ] は、144位置の成熟タンパク質のN-末端領域の前に位置しているものと考えられる。したがって、結核菌H37Rv由来のMPT51をエンコードする構造遺伝子mpt51は、図5に示す配列の144～945の位置に位置していることが分かった。mpt51のヌクレオチド配列は、Oharaら(1995)により記載されているMPB51のヌクレオチド配列と比較してヌクレオチドが1つ異なった(図5)。mpt51の780の位置では、グアニンをアデニンに置換していることが分かった。推定されるアミノ酸配列によれば、この変化は最初の位置のコドンで生じ、アミノ酸をアラニンからスレオニンに変える。したがって、mpt51は801bpからなること、及び推定されるアミノ酸配列は、分子量が27,842の266残基を含むこと、MPT51はMPB51と99.8%の同一性を示すことが結論づけられる。

### mpt51のサブクローニング

MPT51をエンコードする遺伝子のコード領域のみが発現されるように、EcoRI部位をmpt51の最初のコドンの5'に隣り合うように設計し、3'末端の停止コドンの直後に挿入した。組換えプラスミドpT053のDNAは、EcoRI部位で切断した。アガロースゲルから815bpのフラグメントを精製し、pMAL-cR1発現ベクター [ New England Biolabs ] のEcoRI部位にサブクローンし、pT054とした。融合遺伝子を含有するベクターDNAは、DNA操作の標準的な方法で大腸菌XL-1 Blueの形質転換に用いた。

融合遺伝子のエンドポイントは、DNAシーケンシングの項に記載したようにジデオキシ鎖末端法で決定した。DNAの両鎖をシークエンスした。

### rMPT51の調整及び精製

組換え抗原は、New England Biolabsの指示にしたがって調製した。要約すると、アンビシリソウ50 μg/ml及びテトラサイクリン12.5 μg/mlを含むルリア-ベルタニ培地にpT054プラスミドを有する大腸菌のシングルコロニーを接種し、2×10<sup>8</sup>細胞/mlまで37℃で成長させた。次いで、最終濃度が0.3mMになるようにイソプロピル-D-チオガラクトシド(IPTG)を加え、さらに2時間成長させた。新しいカラム緩衝液(Tris-HCl 20mM(pH7.4)、NaCl 200mM、EDTA 1mM、ジチオスレイトール(DTT)1mM)にペレット化した細菌を-20℃で一晩置き、4℃で溶かした後、30分氷上でリゾチーム1mg/mlとインキュベーションし、超音波処理(20秒間隔、10秒間20回)した。4℃で30分、9,000xgで遠心分離後、マルトース結合タンパク質-MPT51融合タンパク質(MPB-rMPT51)を、アミロース樹脂カラムのアフィニティクロマトグラフィーで粗抽出物から精製した。MPB-rMPT51は、アミロースに結合する。カラムを何度も洗浄した後、融合タンパク質をマルトース10mMで溶出した。アリコートの画分を10% SDS-PAGEで分析した。重要な融合タンパク質を含む画分をプールし、生理食塩水に何度も透析した。

タンパク質濃度は、Pierce [ Pierce Chemical Company, Rockford, IL ] のBCA法で測定した。

表3. *mpt51* ヌクレオチド<sup>a</sup>の配列

方向及び オリゴヌクレオチド	配列 (5' → 3')	位 置 <sup>b</sup> (ヌクレオチド)
センス		
MPT51-1	<u>CTCGAATT</u> CGCCGGGTGCACACAG (SEQ ID NO: 28)	6 - 21 (SEQ ID NO: 41)
MPT51-3	<u>CTCGAATT</u> CGCCCCATACGAGAAC (SEQ ID NO: 29)	143 - 158 (SEQ ID NO: 41)
MPT51-5	GTGTATCTGCTGGAC (SEQ ID NO: 30)	228 - 242 (SEQ ID NO: 41)
MPT51-7	CCGACTGGCTGGCCG (SEQ ID NO: 31)	418 - 432 (SEQ ID NO: 41)
アンチセンス		
MPT51-2	GAGGAATT <u>CGCTTAGCGGATCGCA</u> (SEQ ID NO: 32)	946 - 932 (SEQ ID NO: 41) 10
MPT51-4	CCCACATT <u>CCGTTGG</u> (SEQ ID NO: 33)	642 - 628 (SEQ ID NO: 41)
MPT51-6	GTCCAGCAGATAACAC (SEQ ID NO: 34)	242 - 228 (SEQ ID NO: 41)

<sup>a</sup> オリゴヌクレオチド MPT51-1 及び MPT51-2、MPB51 のヌクレオチド配列 [Ohara ら、1995]から構築した。他のオリゴヌクレオチドは、この研究で報告した *mpt51* から得られるヌクレオチド配列に基づいて構築した。下線のヌクレオチド(nt)は、MPB/T51 のヌクレオチド配列には含まれない。

<sup>b</sup> 示している位置は、プライマーの下線を付していない部分であって、SEQ ID NO:41 に示すヌクレオチド配列に相当する。

#### 発現ベクターpMST24での*mpt51*のクローニング

PCRフラグメントは、MPT51-FとMPT51-Rのプライマーの組み合わせを用いてpT052から産生した(表4)。BamHI部位は、MPT51をエンコードする遺伝子のコード領域のみが発現されるように*mpt51*の最初のコドンの5'に隣接して設計し、3'末端の停止コドンの直後にNco I部位を導入した。

PCR産物は、BamHI及びNcoI部位で切断した。811bpのフラグメントをアガロースゲルから精製し、pMST24発現ベクターのBamHI部位及びNcoI部位にサブクローニングし、pT086とした。DNA操作の標準的な方法で、融合遺伝子を含有するベクターDNAを大腸菌XL-1 Blueの形質転換に用いた。

完全な融合遺伝子のヌクレオチド配列は、DNAシーケンシングの項に記載したようにジデオキシ鎖末端法で決定した。DNAの両鎖をシークエンスした。

#### rMPT51の調整及び精製

組換え抗原は、アンピシリン50 μg/ml及びテトラサイクリン12.5 μg/mlを含むルリア-ベルタニ培地に接種したプラスミドpT086を有する大腸菌のシングルコロニーから調製し、2 × 10<sup>8</sup>細胞/mlまで37℃で成長させた。

次いで、最終濃度が1mMになるようにイソプロピル-D-チオガラクトシド(IPTG)を加え、さらに2時間成長させた。BC 100/20緩衝液(KCl 100mM、イミダゾール20mM、Tris/HCl 20mM(pH7.9)、グリセロール20%)にペレット化した細菌を再懸濁した。細胞は、超音波処理(20秒間隔、10秒間20回)で破壊した。4℃で30分、9,000xgで遠心分離後、不溶物を8Mユレアを有するBC 100/20緩衝液に再懸濁し、超音波処理し、上記のように遠心分離した。6xHis tag-MPT51融合タンパク質(His-rMPT51)は、Ni-NTA樹脂カラム[Qiagen、Hilden、ドイツ]でのアフィニティクロマトグラフィーで精製した。His-rMPT51は、Ni-NTAに結合する。カラムを何度も洗浄した後、8Mユレアを有するBC 100/40緩衝液(KCl 100mM、イミダゾール40mM、Tris/HCl 20mM(pH7.9)、グリセロール20%)及び8Mユレアを有するBC 1000/40緩衝液(KCl 1000mM、イミダゾール40mM、Tris/HCl 20mM(pH7.9)、グリセロール20%)で融合タンパク質を溶出した。His-rMPT51は、Tris/HCl 10mM(pH8.5)、3Mユレアに透析し、0~1MのNaClの線状勾配でTris/HCl 10mM(pH8.5)、3Mユレアを用

10

20

30

40

50

いるアニオニン交換カラム (Mono Q) でタンパク質高速液体クロマトグラフィー (FPLC) [ Pharmacia, Uppsala, スウェーデン] を用いて精製した。rMPT51含有画分をプールし、次いで使用前にHepes 25mM (pH8.0) に透析した。

タンパク質濃度は、Pierce [ Pierce Chemical Company, Rockford, IL ] のBCA法で測定した。リポポリサッカライド (LPS) 含量はリムルス変形細胞溶解試験 (LAL) で決定した。rMPT51は0.004ng/μg未満であった。この濃度は、細胞活性に影響がなかった。

表4. *mpt51*オリゴヌクレオチドの配列

方向及び オリゴヌクレオチド	配列 (5' → 3')	位置 (nt)
センス		
MPT51-F	<u>CTCGGATCCTGCCCATACGAGAACCTG</u>	139 - 156
アンチセンス		
MPT51-R	<u>CTCCCATGGTTAGCGGATCGCACCG</u>	939 - 924

実施例4A : ESAT6-MPT59及びMPT59-ESAT6ハイブリッドのクローニング  
ESAT6-MPT59及びMPT59-ESAT6融合物のバックグラウンド

ESAT-6は免疫原性であるが、免疫化の際に一貫した結果を得るために補助するのは比較的難しいことが、幾つかの研究により立証されている。抗原での免疫化後にESAT-6の生体外認識を見出すことは、結核菌に対する免疫記憶を回復するあいだに見出される抗原の強力な認識と比較すると非常に困難である。切断型 (truncated version) のST-CFに見られるESAT-6は、1~15アミノ酸が欠失されている。欠損は、C57BL/6jマウスで認識される主要なT-細胞エピトープを含む [Brandtら、1996]。この結果、ESAT-6は、STCFでN-末端処理されているか、又はタンパク質加水分解で分解される。免疫原としてESAT-6を最適化するために、ESAT-6と別の主要なT細胞抗原MPT59の融合遺伝子が構築された。2つの異なる構築物、MPT59-ESAT-6 (SEQ ID NO:172) 及びESAT-6-MPT59 (SEQ ID NO:173) がつくられた。最初のハイブリッドで、ESAT-6はMPT59によりN-末端が保護され、後者では、2つの優勢なT-細胞抗原の融合で相乗効果の生じることが推測される。

ESAT6-MPT59及びMPT59-ESAT6ハイブリッドをエンコードする遺伝子は、ハイブリッドタンパク質を大腸菌で組換え発現するように、特異的な遺伝子プライマーでのPCR増幅により発現ベクターpMCT6にクローンした。

MPT59-ESAT6ハイブリッドの構築

クローニングは、3工程で行った。最初に、ハイブリッドの2成分をエンコードする遺伝子、ESAT6及びMPT59を以下のプライマー構築物を用いてPCR増幅した。

ESAT6 :

OPBR-4: GGC GCC CGCAAGCTTGCCATGACAGAGCAGCAGTGG {SEQ ID NO: 132)  
OPBR-28: CGAACTCGCCGGATCCCGTGTTCGCG {SEQ ID NO: 133}

OPBR-4及びOPBR-28は、それぞれHindIII及びBamHI部位を生じる。

MPT59 :

OPBR-48: GGCAACCGCGAGATCTTCTCCGGCCGGGC {SEQ ID NO: 134)  
OPBR-3: GGCAGCTTGGCGCGCTAACGAAC {SEQ ID NO: 135}

OPBR-48及びOPBR-3は、それぞれBgIII及びHindIIIを生じる。さらに、OPBR-3は、MPT59の停止コドンを欠失している。

PCR反応物は、10 μlの反応容量に4つの各ヌクレオチド250mM [Boehringer Mannheim]、BSA 0.5mg/ml [IgG technology]、1% DMSO [Merck]、各プライマー5pmol及びTaq+ DNAポリメラーゼ0.5ユニット [Stratagene] を加えた1x低塩Taq+緩衝液 [Stratagene] に結核菌の染色体DNA 10ngを含むものであった。反応物は、最初に25秒間94℃に加熱し、サーモサイクラー装置 [Idaho Technology] を用いて10秒間94℃、10秒間55℃及び90秒間72℃

10

20

30

40

50

のプログラムを30サイクル行った。

次いで、DNAフラグメントを1%アガロースゲルに付し、バンドを切りだして、スピン-Xスピンカラム [Costar] で精製した。2つのPCRフラグメントをHindIIIで消化し、結合した。MPT59-ESAT6をエンコードする結合したPCRフラグメントのPCR増幅は、プライマーOPB R-48及びOPBR-28を用いて行った。PCR反応は最初に25秒間94℃に加熱し、30秒間94℃、30秒間55℃及び90秒間72℃のプログラムを30サイクル行った。得られたPCRフラグメントをBglIIとBamHIで消化し、発現ベクターpMCT6にクローン（発現されるハイブリッドタンパク質のN-末端に加えられる8個のヒスチジンとフレームを合わせた）した。得られたクローンは、この後シーケナーゼDNAシーケンシングキットバージョン1.0 [United States Biochemical Corp.、合衆国] を用いるスーパーコイルDNA用に合わせたジデオキシ鎖末端法、及び添付の指示書にしたがって自動ゲルリーダー [モデル373、Applied Biosystems] と組み合わせたダイ・ターミネーターシステムを用いるサイクルシークエンスによりシークエンスした。DNAの両鎖をシークエンスした。

#### ESAT6-MPT59ハイブリッドの構築

ESAT6-MPT59ハイブリッドの構築は、ハイブリッドMPT59-ESAT6に記載しているようにして行った。構築及びクローニングに用いたプライマーは、以下のとおりであった：

##### ESAT6 :

OPBR-75: GGACCCAGATCTATGACAGAGCAGCAGTGG (SEQ ID NO: 136)

OPBR-76: CCGGCAGCCCCGGCCGGAGAAAAGCTTGCGAACATCCCAGTGACG (SEQ ID NO: 137)

OPBR-75及びOPBR-76は、それぞれBglII及びHindIII部位を生じる。さらに、OPBR-76は、ESAT6の停止コドンを欠失している。

##### MPT59 :

OPBR-77: GTTCGCAAAGCTTTCTCCCGGCCGGGCTGCCGGTCGAGTACC (SEQ ID NO: 138)

OPBR-18: CCTTCGGTGGATCCCGTCAG (SEQ ID NO: 139)

OPBR-77及びOPBR-18は、それぞれHindIII及びBamHI部位を生じる。

#### MPT59-ESAT6及びESAT6-MPT59ハイブリッドタンパク質の発現/精製

組換えタンパク質の発現及び金属親和性精製は、本質的に製品に記載されているようにして行った。各タンパク質について、アンピシリン100μg/mlを含有するLB-培地1lを、組換えpMTC6プラスミドを有するXL-1 Blue細胞の一晩培養液10mlに接種した。培養は、OD<sub>600</sub>が0.4~0.6の密度に達するまで37℃で振盪した。この後、最終濃度が1mMになるようにIPTGを加え、さらに4~16時間、培養した。細胞を回収して1x超音波処理緩衝液+8Mコリアに再懸濁し、パルスの間に30秒停止して、5x30秒、超音波処理した。

遠心分離後、再懸濁したタロン樹脂 [Clontech, PaloAlto、合衆国] を25ml含むカラムに溶解物を用いた。製品に記載されているようにカラムを洗浄し、溶出した。

溶出後、全画分（各1.5ml）を、マイティ・スモール [Hoefer Scientific Instruments、合衆国] システムを用いるSDS-PAGEで分析に付し、タンパク質濃度を280nmで予測した。

組換えタンパク質を含有する画分をプールし、10mM Tris-HCl (pH8.5) 中の3Mコリアに透析した。透析したタンパク質は、6mlのResource-Qカラムを用いてFPLC [Pharmacia、スウェーデン] でさらに精製し、0~1MのNaClの線状勾配で溶出した。画分はSDS-PAGEで分析し、タンパク質濃度はOD<sub>280</sub>で予測した。タンパク質含有画分をプールし、25mM Hepes緩衝液 (pH8.5) に透析した。

最後に、タンパク質濃度及びLPS含量を、それぞれBCA [Pierce、オランダ] 及びLAL [Endosafe, Charleston、合衆国] 試験で測定した。

MPT59-ESAT6融合タンパク質の生物活性は、実施例6Aに記載する。

#### 実施例5：2DEシステムでの精製抗原のマッピング

精製抗原を特徴づけるために、二次元電気泳動（2DE）参照システムで、それらをマッピングした。これは、等電点フォーカス、次いでポリアクリルアミドゲル電気泳動での大きさにしたがった分別で分離されるST-CFタンパク質を含む銀染色ゲルからなる。2DEは、Hochstrasserら (1989) にしたがって行った。ST-CF 85μgは、両性電解質のバイオリット4-6(2部)とバイオリット5-7(3部) [BioRad] を含む等電点フォーカスチュープにアプ

ライした。一次元は、ユレア、界面活性剤CHAPS及び還元剤DTTの存在下、18時間400V及び2時間800Vでアクリルアミド/ピペラジンジアクリルアミドチューブゲルで行った。10~20%のSDS-PAGEの二次元は18時間100Vで行い、銀染色した。2DE参照ゲルでのCFP7、CFP7A、CFP7B、CFP8A、CFP8B、CFP9、CFP11、CFP16、CFP17、CFP19、CFP20、CFP21、CFP22、CFP25、CFP27、CFP28、CFP29、CFP30A、CFP50及びMPT51の同定は、精製抗原を用いるか、用いないで、ST-CFとの精製抗原のスポットパターンを比較して行った。分析用2DEソフトウェアシステム [ Phoretix International, 英国 ] を用いて、スポットを図6で同定した。MPT51とCFP29の位置は、Mabの抗CFP29及びHBT4を用いる2DEゲルのウェスタンプロットで確認した。

#### 実施例6：精製抗原の生物活性

10

#### TB感染マウスモデルでのIFN- $\gamma$ の誘導

TBに対する免疫記憶マウスモデル（実施例1に記載）での精製抗原の認識を研究した。表5に示す結果は、3つの実験について代表的な結果である。

非常に高度なIFN- $\gamma$ の応答は、ST-CFとほぼ同じレベルの高さでCFP17とCFP21の2つの抗原により誘導された。

表5

天然抗原での刺激後に結核菌で再感染させた後で単離した C57BL/6J マウス由来  
の脾臓記憶エフェクター細胞からの IFN- $\gamma$ の放出

20

抗原 <sup>a</sup>	IFN- $\gamma$ (pg/ml) <sup>b</sup>
ST-CF	12564
CFP7	ND <sup>d</sup>
CFP9	ND
CFP17	9251
CFP20	2388
CFP21	10732
CFP22 + CFP25 <sup>c</sup>	5342
CFP26 (MPT51)	ND
CFP28	2818
CFP29	3700

データは、3回の実験のうちの代表的な実験に基づく。

<sup>a</sup> ST-CFは5 $\mu$ g/mlの濃度で試験し、個々の抗原は2 $\mu$ g/mlの濃度で試験した。

40

<sup>b</sup> 再試験から4日後に、3匹のマウス由来の細胞のプールを試験した。

結果は、デュプリケート値の平均として示す。デュプリケート培養の差は、平均の15%未満である。抗原なしで培養した培養液の IFN- $\gamma$ 放出は、390pg/mlであった。

<sup>c</sup> CFP22及びCFP25のプールを試験した。

<sup>d</sup> ND、測定不能

50

TB感染したモルモットでの皮膚反応試験

精製タンパク質の皮膚活性試験は、結核菌に感染したモルモットで試験した。PBS 0.2ml中に $1 \times 10^4$ CFUの結核菌H37Rvで耳の静脈を通して一群のモルモットを感染させた。4週間後に皮膚試験を行い、注射から24時間後に紅斑の直径を測定した。

表6及び6aから分かるように、全抗原が、顕著な遅延型過度感作(DTH)反応を誘導した。

表6

天然抗原での刺激後に、 $1 \times 10^4$ CFUの結核菌に感染したモルモットでのDTH紅斑の  
直径

10

抗原 <sup>a</sup>	皮膚反応 (mm) <sup>b</sup>	
対照	2.00	
PPD <sup>c</sup>	15.40 (0.53)	
CFP7	ND <sup>d</sup>	
CFP9	ND	
CFP17	11.25 (0.84)	20
CFP20	8.88 (0.13)	
CFP21	12.44 (0.79)	
CFP22 + CFP25 <sup>d</sup>	9.19 (3.10)	
CFP26 (MPT51)	ND	
CFP28	2.90 (1.28)	
CFP29	6.63 (0.88)	

示した値は、4匹の動物の紅斑直径の平均である。SEMは括弧に示す。PPDとCFP29については、値は、10匹の動物の紅斑直径の平均である。

30

\* 抗原は、CFP29を $0.8\mu\text{g}$ の濃度で試験した以外は、 $0.1\mu\text{g}$ の濃度で試験した。

† 皮膚反応は、皮内注射から24時間後の紅斑をmmで測定する。

‡ PPD 10TUを用いた。

§ CFP22とCFP25のプールを試験した。

¶ ND、測定不能

これらの分析とともに、同定された抗原の多くは生物活性が高く、異なる動物モデルでのTB感染のあいだに認識されることが示された。

40

表 6a

$1 \times 10^4$  CFU の結核菌に感染した異系交配モルモットでの組換え抗原の DTH 紅斑の直径

径

抗原	皮膚反応 (mm) <sup>b</sup>		
対照	2.9	(0.3)	10
PPD <sup>c</sup>	14.5	(1.0)	
CFP 7a	13.6	(1.4)	
CFP 17	6.8	(1.9)	
CFP 20	6.4	(1.4)	
CFP 21	5.3	(0.7)	
CFP 25	10.8	(0.8)	
CFP 29	7.4	(2.2)	
MPT 51	4.9	(1.1)	

20

示した値は、4匹の動物での紅斑直径の平均である。SEMは括弧に示す。

対照、PPD と CFP29 については、値は、8匹の動物の紅斑直径の平均である。

抗原は、 $1.0 \mu\text{g}$  の濃度で試験した。

皮膚反応試験は、皮内注射から 24 時間後の紅斑を mm で測定する。

PPD 10TU を用いた。

#### 精製組換え抗原の生物活性

##### TB 感染したマウスモデルでのインターフェロン - の誘導

30

一次感染：8~12週齢のメスのマウス C57BL/6j (H-2<sup>b</sup>)、CBA/J (H-2<sup>k</sup>)、DBA.2 (H-2<sup>d</sup>) 及び A.SW (H-2<sup>s</sup>) [Bomholtegaard, Ry] は、側方 (lateral) の尾の静脈を介して、0.1ml 容量の PBS に懸濁した結核菌  $5 \times 10^4$  の接種物で静脈感染させた。感染から 14 日後に動物を屠殺し、脾臓細胞を単離し、組換え抗原の認識について試験した。

表 7 から分かるように、組換え抗原 rCFP7A、rCFP17、rCFP21、rCFP25 及び rCFP29 は、全て ST-CF に匹敵するレベルでマウスの少なくとも 2 つの種で認識された。rMPT51 と rCFP7 は、ST-CF の刺激後に検出された応答のわずか 1/3 に相当するレベルで、それぞれ 1 又は 2 つの種で認識されるにすぎなかった。抗原 rCFP20 と rCFP22 は、いずれも 4 つのマウスの種のいずれによっても認識されなかった。

記憶応答：8~12週齢のメスのマウス C57BL/6j (H-2<sup>b</sup>) [Bomholtegaard, Ry] は、側方の尾の静脈を介して、0.1ml 容量の PBS に懸濁した結核菌  $5 \times 10^4$  の接種物で静脈感染させた。

感染から 1 カ月後に、飲料水中のイソニアジド [Merck and Co., Rahway, NJ] 及びリファブチン (rifabutin) [Farmatalia Carlo Erba, ミラノ、イタリア] でマウスを 2 ケ月間、処理した。実験に用いる前に、マウスを 4~6 カ月間休養させた。免疫記憶の回復研究のために、 $1 \times 10^6$  細菌の接種物で動物を静脈感染させ、感染から 4 日後に屠殺した。脾臓細胞を単離し、組換え抗原の認識について試験した。

表 8 から明らかであるように、rCFP17、rCFP21 及び rCFP25 での刺激後の IFN- の放出は、ST-CF で刺激した脾臓細胞で見られるのと同じレベルだった。rCFP7、rCFP7A 及び rCFP29 での刺激は、全て ST-CF で見られた応答の 1/3 に満たない IFN- を生じた。rCFP22 は、IFN- 産生細胞により認識されなかった。抗原のいずれも、天然のマウスでの IFN- の放出を刺

40

50

激しなかった。さらに、抗原のいずれも細胞培養液に毒性でなかった。

表7 TB一次感染でのT細胞の応答

名称	c57BL/6J(H2 <sup>b</sup> )	DBA.2(H2 <sup>d</sup> )	CBA/J(H2 <sup>k</sup> )	A.SW(H2 <sup>a</sup> )	
rCFP7	+	+	-	-	
rCFP7A	+++	+++	+++	+	
rCFP17	+++	+	+++	+	
rCFP20	-	-	-	-	
rCFP21	+++	+++	+++	+	10
rCFP22	-	-	-	-	
rCFP25	+++	++	+++	+	
rCFP29	+++	+++	+++	++	
rMPT51	+	-	-	-	

結核菌に対する免疫記憶の回復のあいだのマウスのIFN-γの放出

- : 応答なし、+ : ST-CF の 1/3、++ : ST-CF の 2/3、+++ : ST-CF レベル

表8 免疫記憶動物でのT細胞の応答

名称	免疫記憶	
rCFP7	+	
rCFP7A	++	
rCFP17	+++	30
rCFP21	+++	
rCFP22	-	
rCFP29	+	
rCFP25	+++	
rMPT51	+	

結核菌の一次感染から14日後のマウスのIFN-γの放出

- : 応答なし、+ : ST-CF の 1/3、++ : ST-CF の 2/3、+++ : ST-CF レベル

ヒトTB患者及びBCG予防接種を受けたヒトでのインターフェロン-γの誘導

ヒトドナー：PBMCは、TB患者への暴露が知られていない健康なBCG予防接種を受けたドナーから、及び結核菌感染が培養又は顕微鏡で分かった患者から得た。血液サンプルは、診断から1~4ヶ月後にTB患者から得た。

リンパ球調製及び細胞培養：PBMCは、リンホプレップ(Lymphoprep) [Nycomed、オスロ、ノルウェー]でヘパリン化した血液を勾配遠心分離により用時に単離した。細胞は、完全培地：ストレプトマイシン40 μg/ml、ペニシリン40U/ml及びグルタミン0.04mM/ml[全

10

20

30

40

50

てGibco Laboratories, Paisley, スコットランド] 及び10%の通常のヒトABO血清 (NHS) [local blood bank] を補足したRPMI 1640 [Gibco, Grand Island, N.Y.] で再懸濁した。細胞数と生存度は、トリパンブルー染色で測定した。培養は、マイクロタイタープレート [Nunc, Roskilde, デンマーク] で200 μl中の $2.5 \times 10^5$  PBMCを用いて行い、最終濃度5 μg/mlで、抗原なし、ST-CF、PPD (2.5 μg/ml) ; rCFP7、rCFP7A、rCFP17、rCFP20、rCFP21、rCFP22、rCFP25、rCFP26、rCFP29で刺激した。フィトヘマグルチニン1 μg/ml [PHA, Difcolaboratories, Dertoit, MI.] は、ポジティブコントロールとして用いた。サイトカインの検出のために、培養から5日後に上清を回収してプールし、-80°で使用するまで保存した。

サイトカイン分析：インターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) は、市場で入手可能なmAbのペア [Endogen] を用いる標準的なELISA技法で測定し、使用の指示に従って用いた。組換えIFN- $\gamma$  [Gibco Laboratories] は、標準として用いた。アッセイについての検出レベルは、50 pg/mlだった。デュプリケートのウェル間の変化は、平均の10%を超えてなかった。9人の個々のドナーの応答を表9に示す。

表9から明らかであるように、IFN- $\gamma$  の高レベルな放出は、幾つかの組換え抗原で刺激した後に得られる。rCFP7a及びrCFP17は、ほぼ全てのドナーでST-CFに匹敵する応答を生じる。rCFP7は、BCG予防接種した健康なドナーにより、おっとも強力に認識されるようである。rCFP21、rCFP25、rCFP26及びrCFP29は、各群での中間的な応答と合わさった現象を生じるが、rCFP20及びrCFP22により生じる応答は低い。

表9. 7人のBCG予防接種者及び組換え抗原を有する7人のTB患者由来のヒト

10

20

血液細胞の刺激から得られる結果の平均値。SE値は、各抗原について示す。

ST-CF及びマイコバクテリウム・アビウム培養ろ液は、比較用に示す。

#### 対照、健常者、BCG予防接種者、公知のTB暴露なし

ドナー:	no ag	PHA	PPD	STCF	CFP7	CFP17	CFP7A	CFP20	CFP21
1	6	9564	6774	3966	7034	69	1799	58	152
2	48	12486	6603	8067	3146	10044	5267	29	6149
3	190	11929	10000	8299	8015	11563	8641	437	3194
4	10	21029	4106	3537	1323	1939	5211	1	284
5	1	18750	14209	13027	17725	8038	19002	1	3008

30

#### 診断から1~4カ月後のTB患者

	no ag	PHA	PPD	STCF	CFP7	CFP17	CFP7A	CFP20	CFP21
6	9	8973	5096	6145	852	4250	4019	284	1131
7	1	12413	6281	3393	168	6375	4505	11	4335
8	4	11915	7671	7375	104	2753	3356	119	407
9	32	22130	16417	17213	8450	9783	16319	91	5957

40

#### 実施例6A

4群の6~8週齢のメスのC57Bl/6Jマウス [Bomholtegaard, デンマーク] を、以下のワクチン組成物で尾の基部に皮下で免疫化した。

1群：ESAT-6/DDA (250 μg) 10 μg

2群：MPT59/DDA (250 μg) 10 μg

3群：MPT59-ESAT-6/DDA (250 μg) 10 μg

4群：アジュバント对照群：NaCl中のDDA (250 μg)

動物は、0.2mlの容量で注射した。最初の注射から2週間後及び二回目の注射から3週間

50

後に、マウスの背の上部をわずかにブースターに付した。

最後の免疫化から1週間後にマウスを交配させ、血液細胞を単離した。関連する抗原で生体外で刺激した際の培養上清へのIFN- $\gamma$ の放出により、誘導される免疫応答をモニターした（下記の表参照）。

免疫原 10 µg/服用	再刺激用：生体外でのAG <sup>a)</sup>			
	抗原なし	ST-CF	ESAT-6	MPT59
ESAT-6	219 ± 219	569 ± 569	835 ± 633	-
MPT59	0	802 ± 182	-	5647 ± 159
ハイブリッド： MPT59-ESAT-6	127 ± 127	7453 ± 581	15133 ± 661	16363 ± 1002

10

<sup>a)</sup> 血液細胞は、最後の免疫化から1週間後に単離し、抗原の刺激（5µg/ml）から72時間後にIFN- $\gamma$ の放出(pg/ml)を測定した。

示した値は、3匹のマウスからプールした細胞について行ったトリプリケートの平均±SEMである。

#### b) 測定せず

実験は、ハイブリッドでの免疫化が、単一抗原での免疫化後より強力にESAT-6及びMPT59を認識するT細胞を刺激していることを立証している。特に、ESAT-6の認識は、MPT59-ESAT-6ハイブリッドでの免疫化で促進された。DDAで免疫化した対照のマウスでのIFN- $\gamma$ の放出は、1000pg/mlを超えてなかった。

20

#### 実施例6B

組換え抗原は、マウスでのサブユニットワクチンとして個々に試験した。11群の6~8週齢のメスのC57BL/6Jマウス [Bomholtegaard, デンマーク] を、以下のワクチン組成物で尾の基部に皮下で免疫化した。

1群：CFP7 10 µg

2群：CFP17 10 µg

30

3群：CFP21 10 µg

4群：CFP22 10 µg

5群：CFP25 10 µg

6群：CFP29 10 µg

7群：MPT51 10 µg

8群：ST-CF 50 µg

9群：アジュバント対照群

10群：BCG 2.5x10<sup>5</sup>/ml, 0.2ml

11群：対照群：未処理

全てのサブユニットワクチンは、アジュバントとしてDDAとともに与えた。動物は、0.2mlの容量で予防接種した。最初の注射から2週間後、及び二回目の注射から3週間後に、1~9群の背の上部をわずかにブースターに付した。最後の注射から1週間後にマウスを交配させ、血液細胞を単離した。相同なタンパク質で生体外で刺激された際の培養上清へのIFN- $\gamma$ の放出により、誘導される免疫応答をモニターした。

40

最後の免疫化から6週間後に、生存能力のある結核菌5x10<sup>6</sup>/mlを有するエアロゾルにマウスを付した。感染から6週間後にマウスを屠殺し、感染したマウスの肺及び脾臓で生存している細菌数を、7H11プレートで3連続希釈した器官のホモジネートをプレートして測定した。コロニーは、インキュベーションから2~3週間後に計測した。防護効率は、関連する5群のマウスから得られる数の幾何学上(geometric)の平均と、関連する対照の群の5匹のマウスから得られる数の幾何学上の平均のlog<sub>10</sub>値の違いとして示す。

実験の結果は、以下の表に示す。

50

## ST-CF及び7個のサブユニットワクチンのマウスでの免疫原性及び防護効率

サブユニット ワクチン	免疫原性	防護効率
ST-CF	+++	+++
CFP7	++	-
CFP17	+++	+++
CFP21	+++	++
CFP22	-	-
CFP25	+++	+++
CFP29	+++	+++
MPT51	+++	++

+++ 強力な免疫原性/高防護 (BCG レベル)

10

++ 中間的な免疫原性/中間的な防護

- 認識せず／防護せず

この結果、高レベルの防護を誘導する幾つかのタンパク質が同定された。これらのうちCFP17、CFP25及びCFP29の3つは、ST-CF及びBCGと同様の防護レベルを生じるが、2つのタンパク質CFP21とMPT51は、BCGとST-CFレベルの約2/3の防護を誘導する。CFP7及びCFP22の2つのタンパク質は、マウスモデルで防護を誘導しなかった。

実施例7 : cfp7、cfp9、mpt51、rd1-orf2、rd1-orf3、rd1-orf4、rd1-orf5、rd1-orf8、rd1-orf9a及びrd1-orf9bならびにcfp7a、cfp7b、cfp10a、cfp17、cfp20、cfp21、cfp22、cfp22a、cfp23、cfp25及びcfp25aの種の分布

20

異なるマイコバクテリア種でのcfp7、cfp9、mpt51、rd1-orf2、rd1-orf3、rd1-orf4、rd1-orf5、rd1-orf8、rd1-orf9a及びrd1-orf9bの存在

結核菌 - 複合体に属する種及び他のマイコバクテリアでのcfp7、cfp9、mpt51、rd1-orf2、rd1-orf3、rd1-orf4、rd1-orf5、rd1-orf8、rd1-orf9a及びrd1-orf9b遺伝子の分布を決定するために、PCR及び/又はサザンプロットティングを用いた。用いた細菌株は、表10に挙げている。ゲノムDNAは、前述のようにマイコバクテリア細胞から調製した [Andersenら、1992]。

PCR分析は、結核菌 - 複合体に属する種及び他のマイコバクテリアでのcfp7、cfp9及びmpt51遺伝子の分布を決定するために用いた。用いた細菌株は、表10に挙げている。PCRは、前述のようにマイコバクテリア細胞から調製したゲノムDNAについて行った [Andersenら、1992]。

30

用いたオリゴヌクレオチドプライマーは、DNAシンセサイザーで自動合成し [Applied Bio systems, Forster City, CA, ABI-391, PCRモード]、脱阻害し、エタノール沈殿で精製した。分析に用いたプライマーは、表11に示す。

PCR増幅は、染色体20ngを、マスターMix (各オリゴヌクレオチドプライマー0.5 μM、BSA [Stratagene] 0.25 μM、低塩緩衝液 (20mM Tris-HCl (pH8.8)、KCl 10mM、(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10mM、MgSO<sub>4</sub> 2mM及びTriton X-100 0.1%) [Stratagene]、各デオキシヌクレオシド三リン酸0.25mM及びTaq Plus Long DNAポリメラーゼ [Stratagene] 0.5U) )と混合して、サーマル反応機 [Rapid Cycler, Idaho Technology, Idaho] で行った。最終容量は、10 μlとした (示した濃度は、全て最終容量での濃度である)。予備変性は、30秒間94℃で行った。変性30秒間94℃、アニーリング30秒間55℃及び伸長1分間72℃で、30サイクル行った。

40

以下のプライマーの組み合わせも用いた (増幅した産物の長さを括弧で示す)。mpt51 : MPT51-3及びMPT51-2 (820bp)、MPT51-3及びMPT51-6 (108bp)、MPT51-5及びMPT51-4 (415bp)、MPT51-7及びMPT51-4 (325bp) cfp7:pVF1及びPVR1 (274bp)、pVF1及びPVR2 (197bp)、pVF3及びPVR1 (302bp)、pVF3及びPVR2 (125bp)

cfp9 : stR3及びstF1 (351bp)

表 10. この実施例で用いたマイコバクテリア株

種及び株	由来
1. <i>M. tuberculosis</i>	H37Rv (ATCC 27294)
2.	ATCC
3.	A. Lazlo, Ottawa, Canada から入手
4. <i>M. bovis</i> BCG substrain: Danish 1331	SSI <sup>a</sup>
5.	SSI <sup>b</sup>
6.	SSI <sup>b</sup>
7.	SSI <sup>b</sup>
8.	SSI <sup>b</sup>
9.	SSI <sup>b</sup>
10.	WHO <sup>c</sup>
11. <i>M. bovis</i> MNC 27	SSI <sup>b</sup>
12. <i>M. africanum</i>	Danish の患者より単離
13. <i>M. leprae</i> (アルマジロ由来)	J. M. Colston, London, UK から入手
14. <i>M. avium</i> (ATCC 15769)	ATCC
15. <i>M. kansasi</i> (ATCC 12478)	ATCC
16. <i>M. marinum</i> (ATCC 927)	ATCC
17. <i>M. scrofulaceum</i> (ATCC 19275)	ATCC
18. <i>M. intercellulare</i> (ATCC 15985)	ATCC
19. <i>M. fortuitum</i> (ATCC 6841)	ATCC
20. <i>M. xenopi</i>	Danish の患者より単離
21. <i>M. flavescens</i>	Danish の患者より単離
22. <i>M. szulgai</i>	Danish の患者より単離
23. <i>M. terrae</i>	SSI <sup>b</sup>
24. <i>E. coli</i>	SSI <sup>b</sup>
25. <i>S. aureus</i>	SSI <sup>b</sup>

<sup>a</sup> American Type Culture Collection、合衆国<sup>b</sup> Statens Serum Institut、コペンハーゲン、デンマーク<sup>c</sup> Statens Serum Institut (コペンハーゲン、デンマーク) 微生物部の我々のコレクション<sup>d</sup> Statens Serum Institut (デンマーク) 臨床微生物部<sup>e</sup> Statens Serum Institut (コペンハーゲン、デンマーク) 生物基準のための WHO 国際研究所

10

20

30

表 11. *mpt51*、*cfp7*及び*cfp9*オリゴヌクレオチドの配列

方向及び オリゴヌクレオチド	配列 (5'→3') <sup>a</sup>	位置 (ヌクレオチド)
センス		
MPT51- 1	<u>CTCGAATTTCGCCCCGGTGCACACAG</u> (SEQ ID NO: 28)	6 - 21 (SEQ ID NO: 41)
MPT51- 3	<u>CTCGAATTTCGCCCCATACGAGAAC</u> (SEQ ID NO: 29)	143 - 158 (SEQ ID NO: 41)
MPT51- 5	<u>GTGTATCTGCTGGAC</u> (SEQ ID NO: 30)	228 - 242 (SEQ ID NO: 41)
MPT51- 7	<u>CCGACTGGCTGGCCG</u> (SEQ ID NO: 31)	418 - 432 (SEQ ID NO: 41)
pvR1	<u>GTACGAGAAATTCA</u> <u>TGTCGCAAATCATG</u> (SEQ ID NO: 35)	91 - 105 (SEQ ID NO: 1)
pvR2	<u>GTACGAGAAATT</u> <u>CGAGCTGGGGTGCCG</u> (SEQ ID NO: 36)	168 - 181 (SEQ ID NO: 1)
stR3	<u>CGATTCCAAGCTTGTGCCGCCGACCCG</u> (SEQ ID NO: 37)	141 - 155 (SEQ ID NO: 3)
アンチセンス		
MPT51- 2	<u>GAGGAATT</u> <u>CGCTTAGCGGATCGCA</u> (SEQ ID NO: 32)	946 - 932 (SEQ ID NO: 41)
MPT51- 4	<u>CCCACATTCCGTTGG</u> (SEQ ID NO: 33)	642 - 628 (SEQ ID NO: 41)
MPT51- 6	<u>GTCCAGCAGATAACAC</u> (SEQ ID NO: 34)	242 - 228 (SEQ ID NO: 41)
pvF1	<u>CGTTAGGGATCCTCATCGCCATGGTGTTGG</u> (SEQ ID NO: 38)	340 - 323 (SEQ ID NO: 1)
pvF3	<u>CGTTAGGGATCCGGTTCCACTGTGCC</u> (SEQ ID NO: 39)	268 - 255 (SEQ ID NO: 1)
stF1	<u>CGTTAGGGATCCTCAGGTCTTTCGATG</u> (SEQ ID NO: 40)	467 - 452 (SEQ ID NO: 3)

<sup>a</sup> 下線を付したヌクレオチドは、*mpt51*、*cfp7*及び*cfp9*のヌクレオチド配列に含まれない。

示している位置は、プライマーの下線を付していない部分であって、*mpt51*、*cfp7*及び*cfp9*のそれぞれについて SEQ ID NO:41、1 及び 3 に示すヌクレオチド配列に相当する。

サンプルティングは、以下の点を変えるほかは、前述 [Oettinger及びAnderse, 1994] のようにして行った：ゲノムDNA2 μgはPvuIIで消化し、0.8%アガロースゲルで電気泳動し、真空転移装置 [Milliblot, TM-v; Millipore Corp., Bedford, MA] を用いてナイロンメンブレン (Hybond N-プラス; Amersham International plc, Little Chalfont, 英国) に移した。*cfp7*、*cfp9*、*mpt51*、*rd1-orf2*、*rd1-orf3*、*rd1-orf4*、*rd1-orf5*、*rd1-orf8*、*rd1-orf9a*及び*rd1-orf9b*遺伝子フラグメントは、プラスミドpRVN01、pRVN02、pT052、pT087、pT088、pT089、pT090、pT091、pT096又はpT098に表11及び表2（実施例2a）に示すプライマーを用いるPCRにより増幅した。プローブは、改良されたケミルミネッセンスキット [ECL; Amersham International plc, Little Chalfont, 英国] で放射活性なしで標識した。ハイブリダイゼーション及び検出は、製品に添付されている指示書にしたがって行った。結果を表12及び13に要約する。

表 12

PCR 及び／又はサザンプロットティングによる *cfp7*、*cfp9* 及び *mpt51* 遺伝子及びウェスタンプロットティングによる MPT51 タンパク質の種内(intraspecies)解析

種及び株	PCR			サザン プロット			ウェスタン プロット MPT51
	<i>cfp7</i>	<i>cfp9</i>	<i>mpt51</i>	<i>cfp7</i>	<i>cfp9</i>	<i>mpt51</i>	
1. <i>M. tub.</i> H37Rv	+	+	+	+	+	+	+
2. <i>M. tub.</i> H37Ra	+	+	+	N.D.	N.D.	+	+
3. <i>M. tub.</i> Erdmann	+	+	+	+	+	+	+
4. <i>M. bovis</i>	+	+	+			+	+
5. <i>M. bovis</i> BCG Danish 1331	+	+	+	+	+	+	+
6. <i>M. bovis</i> BCG Japan	+	+	N.D.	+	+	+	N.D.
7. <i>M. bovis</i> BCG Chinese	+	+	N.D.	+	+	N.D.	N.D.
8. <i>M. bovis</i> BCG Canadian	+	+	N.D.	+	+	N.D.	N.D.
9. <i>M. bovis</i> BCG Claxo	+	+	N.D.	+	+	N.D.	N.D.
10. <i>M. bovis</i> BCG Russia	+	+	N.D.	+	+	N.D.	N.D.
11. <i>M. bovis</i> BCG Pasteur	+	+	N.D.	+	+	N.D.	N.D.
12. <i>M. africanum</i>	+	+	+	+	+	+	+
13. <i>M. leprae</i>	-	-	-	-	-	-	-
14. <i>M. avium</i>	+	+	-	+	+	+	-
15. <i>M. kansasii</i>	+	-	-	+	+	+	-
16. <i>M. marinum</i>	-	(+)	-	+	+	+	-
17. <i>M. scrofulaceum</i>	-	-	-	-	-	-	-
18. <i>M. intracellularare</i>	+	(+)	-	+	+	+	-
19. <i>M. fortuitum</i>	-	-	-	-	-	-	-
20. <i>M. flavescens</i>	+	(+)	-	+	+	+	N.D.
21. <i>M. xenopi</i>	-	-	-	N.D.	N.D.	+	-
22. <i>M. szulgai</i>	(+)	(+)	-	-	+	-	-
23. <i>M. terrae</i>	-	-	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

+ ; 陽性反応、- ; 反応なし、N.D. ; 測定せず

*cfp7*、*cfp9* 及び *mpt51* は、BCG 及びその環境マイコバクテリア、マイコバクテリウム・アビウム、マイコバクテリウム・カンサシイ (*M. kansasii*)、マイコバクテリウム・マリナム (*M. marinum*)、マイコバクテリウム・イントラセルラーレ (*M. intracellular*) 及びマイコバクテリウム・フラベッセンス (*M. flavescens*) を含む結核菌複合体に見出された。*cfp9* は、さらにマイコバクテリウム・シュルガイ (*M. szulgai*) に見られ、*mpt51* は、マイコバクテリウム・ゼノピ (*M. xenopi*) に見出された。

さらに、異なるマイコバクテリア株由来の培養ろ液中の天然の MPT51 の存在は、Mab HBT4 を用いて展開したウェスタンプロットティングで研究した。

結核菌 H37Rv、Ra、Erdman、マイコバクテリウム・ボビス AN5、マイコバクテリウム・ボビス BCG 亜株ダニシュ 1331 及びマイコバクテリウム・アフリカヌムには、約 26kDa に強力なバンドがある。いずれの他の試験されたマイコバクテリア株にも、バンドは見られなかった。

10

20

30

40

表 13a

サザンプロッティングによる *rdl-orf2*, *rdl-orf3*, *rdl-orf4*, *rdl-orf5*, *rdl-orf8*,  
*rdl-orf9a* 及び *rdl-orf9b* 遺伝子の種内解析

種及び株	<i>rdl-orf2</i>	<i>rdl-orf3</i>	<i>rdl-orf4</i>	<i>rdl-orf5</i>	<i>rdl-orf8</i>	<i>rdl-orf9a</i>	<i>rdl-orf9b</i>
1. <i>M. tub.</i> H37Rv	+	+	+	+	+	+	+
2. <i>M. bovis</i>	+	+	+	+	N.D.	+	+
3. <i>M. bovis</i> BCG	+	-	-	-	N.D.	-	-
Danish 1331							
4. <i>M. bovis</i>	+	-	-	-	N.D.	-	-
BCG Japan							
5. <i>M. avium</i>	-	-	-	-	N.D.	-	-
6. <i>M. kansasii</i>	-	-	-	-	N.D.	-	-
7. <i>M. marinum</i>	+	-	+	-	N.D.	-	-
8. <i>M. scrofulaceum</i>	+	-	-	-	N.D.	-	-
9. <i>M. intercellulare</i>	-	-	-	-	N.D.	-	-
10. <i>M. fortuitum</i>	-	-	-	-	N.D.	-	-
11. <i>M. xenopi</i>	-	-	-	-	N.D.	-	-
12. <i>M. szulgai</i>	+	-	-	-	N.D.	-	-

10

20

十；陽性反応、一；反応なし、N.D.；測定せず

*rdl-orf2*、*rdl-orf3*、*rdl-orf4*、*rdl-orf5*、*rdl-orf8*、*rdl-orf9a* 及び *rdl-orf9b*についての陽性の結果は、結核菌及びマイコバクテリウム・ボビス由来のゲノムDNAを用いた際にのみ得られ、*rdl-orf4*がマイコバクテリウム・マリナムにも見出された以外はマイコバクテリウム・ボビス又は分析された他のマイコバクテリアからも得られなかった。

異なるマイコバクテリア種でのcfp7a、cfp7b、cfp10a、cfp17、cfp20、cfp21、cfp22、cfp22a、cfp23、cfp25及びcfp25aの存在

サザンプロッティングは、*rdl-orf2*、*rdl-orf3*、*rdl-orf4*、*rdl-orf5*、*rdl-orf8*、*rdl-orf9a* 及び *rdl-orf9b*について記載しているようにして行った。cfp7a、cfp7b、cfp10a、cfp17、cfp20、cfp21、cfp22、cfp22a、cfp23、cfp25及びcfp25aの遺伝子フラグメントは、個々の遺伝子をエンコードする組換えpMCT6プラスミドからPCRにより増幅した。用いたプライマー（クローニングに用いたプライマーと同じ）は、実施例3、3A及び3Bに記載する。結果を表13bに要約する。

30

表 13b

サザンプロットティングによる *cfp7a*, *cfp7b*, *cfp10a*, *cfp17*, *cfp20*, *cfp21*, *cfp22*, *cfp22a*, *cfp23*, *cfp25* 及び *cfp25a* 遺伝子の種内解析

種及び株	<i>cfp7a</i>	<i>cfp7b</i>	<i>cfp10a</i>	<i>cfp17</i>	<i>cfp20</i>	<i>cfp21</i>	<i>cfp22</i>	<i>cfp22a</i>	<i>cfp23</i>	<i>cfp25</i>	<i>cfp25a</i>
1. <i>M. tuberculosis</i> H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. <i>M. bovis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3. <i>M. bovis</i> BCG Danish 1331	+	+	+	+	+	N.D.	+	+	+	+	+
4. <i>M. bovis</i> BCG Japan	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5. <i>M. avium</i>	+	N.D.	-	+	-	+	+	+	+	+	-
6. <i>M. kansasii</i>	-	N.D.	+	-	-	-	+	-	+	-	-
7. <i>M. marinum</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-
8. <i>M. scrofulaceum</i>	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+
9. <i>M. intercellulare</i>	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-
10. <i>M. fortuitum</i>	-	N.D.	-	-	-	-	-	+	-	-	-
11. <i>M. xenopi</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12. <i>M. szulgai</i>	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

10

20

+ ; 陽性反応、- ; 反応なし、N.D. ; 測定せず

## 参照文献リスト

- Andersen, P. 及び Heron, I., 1993, J. Immunol. Methods 161: 29-39.
- Andersen, A. B. et al., 1992, Infect. Immun. 60: 2317-2323.
- Andersen P., 1994, Infect. Immun. 62: 2536-44.
- Andersen P. et al., 1995, J. Immunol. 154: 3359-72
- Barkholt, V. 及び Jensen, A. L., 1989, Anal. Biochem. 177: 318-322.
- Borodovsky, M. 及び J. McIninch. 1993, Computers Chem. 17: 123-133. 10
- van Dyke M. W. et al., 1992. Gene pp. 99-104.
- Gosselin et al., 1992, J. Immunol. 149: 3477-3481.
- Harboe, M. et al., 1996, Infect. Immun. 64: 16-22.
- von Heijne, G., 1984, J. Mol. Biol. 173: 243-251.
- Hochstrasser, D.F. et al., 1988, Anal. Biochem. 173: 424-435
- Köhler, G. 及び Milstein, C., 1975, Nature 256: 495-497.
- Li, H. et al., 1993, Infect. Immun. 61: 1730-1734.
- Lindblad E.B. et al., 1997, Infect. Immun. 65: 623-629.
- Mahairas, G. G. et al., 1996, J. Bacteriol. 178: 1274-1282. 20
- Maniatis T. et al., 1989, "Molecular cloning: a laboratory manual", 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, N.Y.
- Nagai, S. et al., 1991, Infect. Immun. 59: 372-382.
- Oettinger, T. 及び Andersen, A. B., 1994, Infect. Immun. 62: 2058-2064.
- Ohara, N. et al., 1995, Scand. J. immunol. 41: 233-442.
- Pal P. G. 及び Horwitz M. A., 1992, Infect. Immun. 60: 4781-92.
- Pearson, W. R. 及び Lipman D. J., 1988. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85: 2444-2448.
- Ploug, M. et al., 1989, Anal. Biochem. 181: 33-39.
- Porath, J. et al., 1985, FEBS Lett. 185: 306-310. 30
- Roberts, A.D. et al., 1995, Immunol. 85: 502-508.
- Sørensen, A.L. et al., 1995, Infect. Immun. 63: 1710-1717.
- Theisen, M. et al., 1995, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2: 30-34.
- Valdés-Stauber, N. 及び Scherer, S., 1994, Appl. Environ. Microbiol. 60: 3809-3814.
- Valdés-Stauber, N. 及び Scherer, S., 1996, Appl. Environ. Microbiol. 62: 1283-1286.
- Williams, N., 1996, Science 272: 27.
- Young, R. A. et al., 1985, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82: 2583-2587.

## 配列リスト

- (1) 一般の情報 : 40
- (i) 出願人 :
- (A) 名称 : スタテンス セールム インスティトゥート
- (B) 通り : アルティラリイベイ 5
- (C) 都市 : コペンハーゲン
- (E) 国 : デンマーク
- (F) 郵便番号 (ZIP) : 2300 エス
- (ii) 発明の名称 : 結核菌由来の核酸フラグメント及びポリペプチドフラグメント
- (iii) 配列総数 : 173
- (iv) コンピューター読み取り可能なフォーム :
- (A) 媒体の型 : フロッピーディスク 50

(B) コンピューター : IBM PC コンパチブル  
 (C) 操作システム : PC-DOS/MS-DOS  
 (D) ソフトウェア : パテントインリリース #1.0 バージョン #1.30  
 (2) SEQ ID NO : 1 : の情報  
 (i) 配列の特徴 :  
 (A) 配列の長さ : 381 塩基対  
 (B) 配列の型 : 核酸  
 (C) 鎖 : 二本鎖  
 (D) トポロジー : 環状  
 (ii) 分子の型 : DNA (ゲノム) 10  
 (vi) 起源 :  
 (A) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローリス (Mycobacterium tuberculosis)  
 (B) 株名 : H37Rv  
 (ix) 配列の特徴 :  
 (A) 名称 / キー : CDS  
 (B) 存在位置 : 91..381  
 (ix) 配列の特徴 :  
 (A) 名称 / キー : -35\_signal  
 (B) 存在位置 : 14..19  
 (ix) 配列の特徴 : 20  
 (A) 名称 / キー : -10\_signal  
 (B) 存在位置 : 47..50  
 (ix) 配列の特徴 :  
 (A) 名称 / キー : RBS  
 (B) 存在位置 : 78..84  
 (ix) 配列の特徴 :  
 (A) 名称 / キー : mat\_peptide  
 (B) 存在位置 : 91..381  
 (xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 1  
 GGCGGCCGGT ACCTATGTGG CCGCCGATGC TCGGGACGCG TCGACCTATA CCGGGTTCTG 60 30  
 ATCGAACCT GCTGACCGAG AGGACTTGATG ATG TCG CAA ATC ATG TAC AAC TAC 114  
 Met Ser Gln Ile Met Tyr Asn Tyr  
 1 5  
 CCC GCG ATG TTG GGT CAC GCC GGG GAT ATG GCC GGA TAT GCC GGC ACG 162  
 Pro Ala Met Leu Gly His Ala Gly Asp Met Ala Gly Tyr Ala Gly Thr  
 10 15 20  
 CTG CAG AGC TTG GGT GCC GAG ATC GCC GTG GAG CAG GCC GCG TTG CAG 210  
 Leu Gln Ser Leu Gly Ala Glu Ile Ala Val Glu Gln Ala Ala Leu Gln  
 25 30 35 40  
 AGT GCG TGG CAG GGC GAT ACC GGG ATC ACG TAT CAG GCG TGG CAG GCA 258 40  
 Ser Ala Trp Gln Gly Asp Thr Gly Ile Thr Tyr Gln Ala Trp Gln Ala  
 45 50 55  
 CAG TGG AAC CAG GCC ATG GAA GAT TTG GTG CGG GCC TAT CAT GCG ATG 306  
 Gln Trp Asn Gln Ala Met Glu Asp Leu Val Arg Ala Tyr His Ala Met  
 60 65 70  
 TCC AGC ACC CAT GAA AAC ACC ATG GCG ATG ATG GCC CGC GAC ACC 354  
 Ser Ser Thr His Glu Ala Asn Thr Met Ala Met Met Ala Arg Asp Thr  
 75 80 85  
 GCC GAA GCC GCC AAA TGG GGC GGC TAG 381  
 Ala Glu Ala Ala Lys Trp Gly Gly  
 90 95  
 (2) SEQ ID NO : 2 : の情報 50

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 96 アミノ酸

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( D ) トポロジー : 環状

( ii ) 分子の型 : タンパク質

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 2 :

Met Ser Gln Ile Met Tyr Asn Tyr Pro Ala Met Leu Gly His Ala Gly	15	
1 5 10		
Asp Met Ala Gly Tyr Ala Gly Thr Leu Gln Ser Leu Gly Ala Glu Ile	10	
20 25 30		
Ala Val Glu Gln Ala Ala Leu Gln Ser Ala Trp Gln Gly Asp Thr Gly	45	
35 40		
Ile Thr Tyr Gln Ala Trp Gln Ala Gln Trp Asn Gln Ala Met Glu Asp	60	
50 55		
Leu Val Arg Ala Tyr His Ala Met Ser Ser Thr His Glu Ala Asn Thr	80	
65 70 75		
Met Ala Met Met Ala Arg Asp Thr Ala Glu Ala Ala Lys Trp Gly Gly	95	
85 90		
		20

( 2 ) SEQ ID NO : 3 : の情報

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 467 塩基対

( A ) 配列の型 : 核酸

( A ) 鎖 : 二本鎖

( B ) トポロジー : 環状

( ii ) 分子の型 : DNA ( ゲノム )

( vi ) 起源 :

( A ) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローシス

( B ) 株名 : H37Rv

30

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : CDS

( B ) 存在位置 : 141..467

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : - 10\_signal

( B ) 存在位置 : 73..78

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : - 35\_signal

( B ) 存在位置 : 4..9

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : RBS

( B ) 存在位置 : 123..130

40

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : mat\_peptide

( B ) 存在位置 : 141..467

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 3

GGGTAGCCGG ACCACGGCTG GGCAAAGATG TGCAGGCCGC CATCAAGGCG GTCAAGGCCG 60  
 GCGACGGCGT CATAAACCCG GACGGCACCT TGTTGGCGGG CCCCGCGGTG CTGACGCCCG 120  
 ACGAGTACAA CTCCCGCTG GTG GCC GCC GAC CCG GAG TCC ACC GCG GCG 170  
     Met Ala Ala Asp Pro Glu Ser Thr Ala Ala  
     1                 5                 10  
 TTG CCC GAC GGC GCC GGG CTG GTC GTT CTG GAT GGC ACC GTC ACT GCC 218  
 Leu Pro Asp Gly Ala Gly Leu Val Val Leu Asp Gly Thr Val Thr Ala  
     15                 20                 25  
 GAA CTC GAA GCC GAG GGC TGG GCC AAA GAT CGC ATC CGC GAA CTG CAA 266  
 Glu Leu Glu Ala Glu Gly Trp Ala Lys Asp Arg Ile Arg Glu Leu Gln 10  
     30                 35                 40  
 GAG CTG CGT AAG TCG ACC GGG CTG GAC GTT TCC GAC CGC ATC CGG GTG 314  
 Glu Leu Arg Lys Ser Thr Gly Leu Asp Val Ser Asp Arg Ile Arg Val  
     45                 50                 55  
 GTG ATG TCG GTG CCT GCG GAA CGC GAA GAC TGG GCG CGC ACC CAT CGC 362  
 Val Met Ser Val Pro Ala Glu Arg Glu Asp Trp Ala Arg Thr His Arg  
     60                 65                 70  
 GAC CTC ATT GCC GGA GAA ATC TTG GCT ACC GAC TTC GAA TTC GCC GAC 410  
 Asp Leu Ile Ala Gly Glu Ile Leu Ala Thr Asp Phe Glu Phe Ala Asp  
     75                 80                 85                 90  
 CTC GCC GAT GGT GTG GCC ATC GGC GAC GGC GTG CGG GTA AGC ATC GAA 458  
 Leu Ala Asp Gly Val Ala Ile Gly Asp Gly Val Arg Val Ser Ile Glu 20  
     95                 100                 105  
 AAG ACC TGA  
 Lys Thr 467  
 (2) SEQ ID NO: 4 の情報 :  
 (i) 配列の特徴 :  
 (A) 配列の長さ : 108 アミノ酸  
 (B) 配列の型 : アミノ酸  
 (D) トポロジー : 直鎖状  
 (ii) 分子の型 : タンパク質  
 (xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 4 : 30  
 Met Ala Ala Asp Pro Glu Ser Thr Ala Ala Leu Pro Asp Gly Ala Gly  
     1                 5                 10                 15  
 Leu Val Val Leu Asp Gly Thr Val Thr Ala Glu Leu Glu Ala Glu Gly  
     20                 25                 30  
 Trp Ala Lys Asp Arg Ile Arg Glu Leu Gln Glu Leu Arg Lys Ser Thr  
     35                 40                 45  
 Gly Leu Asp Val Ser Asp Arg Ile Arg Val Val Met Ser Val Pro Ala  
     50                 55                 60  
 Glu Arg Glu Asp Trp Ala Arg Thr His Arg Asp Leu Ile Ala Gly Glu 40  
     65                 70                 75                 80  
 Ile Leu Ala Thr Asp Phe Glu Phe Ala Asp Leu Ala Asp Gly Val Ala  
     85                 90                 95  
 Ile Gly Asp Gly Val Arg Val Ser Ile Glu Lys Thr  
     100                 105  
 (2) SEQ ID NO: 5 の情報  
 (i) 配列の特徴 :  
 (A) 配列の長さ : 889 塩基対  
 (B) 配列の型 : 核酸 50

(C)鎖：二本鎖

(D)トポロジー：環状

(ii)分子の型：DNA(ゲノム)

(vi)起源：

(A)生物名：マイコバクテリウム・ツベルクローシス

(B)株名：H37Rv

(ix)配列の特徴：

(A)名称/キー：CDS

(B)存在位置：201..689

(ix)配列の特徴：

(A)名称/キー：sig\_peptide

(B)存在位置：201..290

(ix)配列の特徴：

(A)名称/キー：mat\_peptide

(B)存在位置：291..689

(xi)配列の記載：SEQ ID NO: 5:

CGGGTCTGCA CGGATCCGGG CCGGGCAGGG CAATCGAGCC TGGGATCCGC TGCGCG	60
ACATCGCGGA CCCGTGCGCG GTACGGTCGA GACAGCGGCA CGAGAAAGTA GTAAGGGCGA	120
TAATAGGCCG TAAAGAGTAG CGGGAAAGCCG GCCGAACGAC TCGGTCAGAC AACGCCACAG	180
CGGCCAGTGA GGAGCAGCGG GTG ACG GAC ATG AAC CCG GAT ATT GAG AAG Met Thr Asp Met Asn Pro Asp Ile Glu Lys -30 -25	230
GAC CAG ACC TCC GAT GAA GTC ACG GTA GAG ACG ACC TCC GTC TTC CGC Asp Gln Thr Ser Asp Glu Val Thr Val Glu Thr Thr Ser Val Phe Arg -20 -15 -10 -5	278
GCA GAC TTC CTC AGC GAG CTG GAC GCT CCT GCG CAA GCG GGT ACG GAG Ala Asp Phe Leu Ser Glu Leu Asp Ala Pro Ala Gln Ala Gly Thr Glu 1 5 10	326
AGC GCG GTC TCC GGG GTG GAA GGG CTC CCG CCG GGC TCG GCG TTG CTG Ser Ala Val Ser Gly Val Glu Gly Leu Pro Pro Gly Ser Ala Leu Leu 15 20 25	374
GTA GTC AAA CGA GGC CCC AAC GCC GGG TCC CGG TTC CTA CTC GAC CAA Val Val Lys Arg Gly Pro Asn Ala Gly Ser Arg Phe Leu Leu Asp Gln 30 35 40	422
GCC ATC ACG TCG GCT GGT CGG CAT CCC GAC AGC GAC ATA TTT CTC GAC Ala Ile Thr Ser Ala Gly Arg His Pro Asp Ser Asp Ile Phe Leu Asp 45 50 55 60	470
GAC GTG ACC GTG AGC CGT CGC CAT GCT GAA TTC CGG TTG GAA AAC AAC Asp Val Thr Val Ser Arg Arg His Ala Glu Phe Arg Leu Glu Asn Asn 65 70 75	518
GAA TTC AAT GTC GTC GAT GTC GGG AGT CTC AAC GGC ACC TAC GTC AAC Glu Phe Asn Val Val Asp Val Gly Ser Leu Asn Gly Thr Tyr Val Asn 80 85 90	566
CGC GAG CCC GTG GAT TCG GCG GTG CTG GCG AAC GGC GAC GAG GTC CAG Arg Glu Pro Val Asp Ser Ala Val Leu Ala Asn Gly Asp Glu Val Gln 95 100 105	614
ATC GGC AAG TTC CGG TTG GTG TTC TTG ACC GGA CCC AAG CAA GGC GAG Ile Gly Lys Phe Arg Leu Val Phe Leu Thr Gly Pro Lys Gln Gly Glu 110 115 120	662
GAT GAC GGG AGT ACC GGG GGC CCG TGA GCGCACCGA TAGCCCCGCG Asp Asp Gly Ser Thr Gly Gly Pro	709
125 130	
CTGGCCGGGA TGTCGATCGG GGCGGTCTC GACCTGCTAC GACCGGATTG TCCTGATGTC	769
ACCATCTCCA AGATTCGATT CTTGGAGGCT GAGGGTCTGG TGACGCCCG GCGGGCCTCA	829
TCGGGGTATC GGCGGTTAC CGCATACGAC TGCCACGGC TGCGATTGAT TCTCACTGCC	889

10

20

30

40

50

(2) SEQ ID NO: 6 の情報

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 162アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : タンパク質

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 6 :

Met	Thr	Asp	Met	Asn	Pro	Asp	Ile	Glu	Lys	Asp	Gln	Thr	Ser	Asp	Glu
-30															-15

Val	Thr	Val	Glu	Thr	Thr	Ser	Val	Phe	Arg	Ala	Asp	Phe	Leu	Ser	Glu
-10															10
															-5

Leu	Asp	Ala	Pro	Ala	Gln	Ala	Gly	Thr	Glu	Ser	Ala	Val	Ser	Gly	Val
5															15

Glu	Gly	Leu	Pro	Pro	Gly	Ser	Ala	Leu	Leu	Val	Val	Lys	Arg	Gly	Pro
20															30

Asn	Ala	Gly	Ser	Arg	Phe	Leu	Leu	Asp	Gln	Ala	Ile	Thr	Ser	Ala	Gly
35															50
															-5

Arg	His	Pro	Asp	Ser	Asp	Ile	Phe	Leu	Asp	Asp	Val	Thr	Val	Ser	Arg
55															65

Arg	His	Ala	Glu	Phe	Arg	Leu	Glu	Asn	Asn	Glu	Phe	Asn	Val	Val	Asp
70															80

Val	Gly	Ser	Leu	Asn	Gly	Thr	Tyr	Val	Asn	Arg	Glu	Pro	Val	Asp	Ser
85															95

Ala	Val	Leu	Ala	Asn	Gly	Asp	Glu	Val	Gln	Ile	Gly	Lys	Phe	Arg	Leu
100															110

Val	Phe	Leu	Thr	Gly	Pro	Lys	Gln	Gly	Glu	Asp	Asp	Gly	Ser	Thr	Gly
115															130

Gly Pro

(2) SEQ ID NO: 7 の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 898塩基対

30

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 二本鎖

(D) トポロジー : 環状

(ii) 分子の型 : DNA (ゲノム)

(vi) 起源 :

(A) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローザス

(B) 株名 : H37Rv

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : CDS

(B) 存在位置 : 201..698

40

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : mat\_peptide

(B) 存在位置 : 201..698

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 7 :

TCGACTCCGG CGCCACCGGG CAGGATCACG GTGTCGACGG GGTGCCGGG GAATCCCACG	60
ATAACCACTC TTGGGCCAT GAATGCCAGT GTTGGCCAGG CGCTGGCTG GCGTCCACGC	120
CACACACCGC ACAGATTAGG ACACGCCGGC GGCGCAGCCC TGCCCGAAAG ACCGTGCACC	180
GGTCTGGCA GACTGTGCC ATG GCA CAG ATA ACC CTG CGA GGA AAC GCG Met Ala Gin Ile Thr Leu Arg Gly Asn Ala 1 5 10	230
ATC AAT ACC GTC GGT GAG CTA CCT GCT GTC GGA TCC CCG GCC CCG GCC Ile Asn Thr Val Gly Glu Leu Pro Ala Val Gly Ser Pro Ala Pro Ala 15 20 25	278
TTC ACC CTG ACC GGG GGC GAT CTG GGG GTG ATC AGC AGC GAC CAG TTC Phe Thr Leu Thr Gly Gly Asp Leu Gly Val Ile Ser Ser Asp Gln Phe 30 35 40	326
CGG GGT AAG TCC GTG TTG CTG AAC ATC TTT CCA TCC GTG GAC ACA CCG Arg Gly Lys Ser Val Leu Leu Asn Ile Phe Pro Ser Val Asp Thr Pro 45 50 55	374
10	
GTG TGC GCG ACG AGT GTG CGA ACC TTC GAC GAG CGT GCG GCG GCA AGT Val Cys Ala Thr Ser Val Arg Thr Phe Asp Glu Arg Ala Ala Ala Ser 60 65 70	422
GGC GCT ACC GTG CTG TGT GTC TCG AAG GAT CTG CCG TTC GCC CAG AAG Gly Ala Thr Val Leu Cys Val Ser Lys Asp Leu Pro Phe Ala Gln Lys 75 80 85 90	470
CGC TTC TGC GGC GCC GAG GGC ACC GAA AAC GTC ATG CCC GCG TCG GCA Arg Phe Cys Gly Ala Glu Gly Thr Glu Asn Val Met Pro Ala Ser Ala 95 100 105	518
TTC CGG GAC AGC TTC GGC GAG GAT TAC GGC GTG ACC ATC GCC GAC GGG Phe Arg Asp Ser Phe Gly Glu Asp Tyr Gly Val Thr Ile Ala Asp Gly 110 115 120	566
20	
CCG ATG GCC GGG CTG CTC GCC CGC GCA ATC GTG GTG ATC GGC GCG GAC Pro Met Ala Gly Leu Leu Ala Arg Ala Ile Val Val Ile Gly Ala Asp 125 130 135	614
GGC AAC GTC GCC TAC ACG GAA TTG GTG CCG GAA ATC GCG CAA GAA CCC Gly Asn Val Ala Tyr Thr Glu Leu Val Pro Glu Ile Ala Gln Glu Pro 140 145 150	662
AAC TAC GAA GCG GCG CTG GCC GCG CTG GGC GCC TAG GCTTCACAA Asn Tyr Glu Ala Ala Leu Ala Leu Gly Ala 155 160 165	708
GCCCCGGCGC TTGGCGAGC AGCGCACGAT TTGGAGCGCT GCTCCGAAA AGCGCCCTCGG	768
TGGTCTGGC CGGGCGTAA TACAGGTGCA GTGCGTGCTC CCACGTGAAG GCGATGGCAC	828
CGTGGATCTG AAGAGCGGAG CGGGCGCATA ACACAAAGGT TTCCGGGTC TGCGCCCTCG	888
CCAGCGGCGC	898
30	

( 2 ) SEQ ID NO : 8 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 165 アミノ酸

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : タンパク質

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 8 :

Met Ala Gln Ile Thr Leu Arg Gly Asn Ala Ile Asn Thr Val Gly Glu			
1	5	10	15
Leu Pro Ala Val Gly Ser Pro Ala Pro Ala Phe Thr Leu Thr Gly Gly			
20	25	30	
Asp Leu Gly Val Ile Ser Ser Asp Gln Phe Arg Gly Lys Ser Val Leu			
35	40	45	
Leu Asn Ile Phe Pro Ser Val Asp Thr Pro Val Cys Ala Thr Ser Val			
50	55	60	
Arg Thr Phe Asp Glu Arg Ala Ala Ser Gly Ala Thr Val Leu Cys			10
65	70	75	80
Val Ser Lys Asp Leu Pro Phe Ala Gln Lys Arg Phe Cys Gly Ala Glu			
85	90	95	
Gly Thr Glu Asn Val Met Pro Ala Ser Ala Phe Arg Asp Ser Phe Gly			
100	105	110	
Glu Asp Tyr Gly Val Thr Ile Ala Asp Gly Pro Met Ala Gly Leu Leu			
115	120	125	
Ala Arg Ala Ile Val Val Ile Gly Ala Asp Gly Asn Val Ala Tyr Thr			20
130	135	140	
Glu Leu Val Pro Glu Ile Ala Gln Glu Pro Asn Tyr Glu Ala Ala Leu			
145	150	155	160
Ala Ala Leu Gly Ala			
165			

(2) SEQ ID NO: 9 の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 1054 塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

30

(C) 鎖 : 二本鎖

(D) トポロジー : 環状

(ii) 分子の型 : DNA (ゲノム)

(vi) 起源 :

(A) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローシス

(B) 株名 : H37Rv

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : CDS

(B) 存在位置 : 201..854

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : sig\_peptide

(B) 存在位置 : 201..296

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : mat\_peptide

(B) 存在位置 : 297..854

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 9 :

40

ATAATCAGCT CACCGTTGGG ACCGACCTCG ACCAGGGGTC CTTTGTGACT GCCGGGCTTG	60
ACGCGGACGA CCACAGAGTC GGTCATGCC TAAGGCTACC GTTCTGACCT GGGGCTGCGT	120
GGGCGCCGAC GACGTGAGGC ACGTCATGTC TCAGCGGCC ACCGCCACCT CGGTCGCCGG	180
CAGTATGTCA GCATGTGCAG ATG ACT CCA CGC AGC CTT GTT CGC ATC GTT	230
Met Thr Pro Arg Ser Leu Val Arg Ile Val	
-32 -30 -25	
GGT GTC GTG GTT GCG ACG ACC TTG GCG CTG GTG AGC GCA CCC GCC GGC	278
Gly Val Val Val Ala Thr Thr Leu Ala Leu Val Ser Ala Pro Ala Gly	
-20 -15 -10	
GGT CGT GCC GCG CAT GCG GAT CCG TGT TCG GAC ATC GCG GTC GTT TTC	326
Gly Arg Ala Ala His Ala Asp Pro Cys Ser Asp Ile Ala Val Val Phe	
-5 1 5 10	
GCT CGC GGC ACG CAT CAG GCT TCT GGT CTT GGC GAC GTC GGT GAG GCG	374
Ala Arg Gly Thr His Gln Ala Ser Gly Leu Gly Asp Val Gly Glu Ala	
15 20 25	
TTC GTC GAC TCG CTT ACC TCG CAA GTT GGC GGG CGG TCG ATT GGG GTC	422
Phe Val Asp Ser Leu Thr Ser Gln Val Gly Gly Arg Ser Ile Gly Val	
30 35 40	
TAC GCG GTG AAC TAC CCA GCA AGC GAC TAC CGC GCG AGC GCG TCA	470
Tyr Ala Val Asn Tyr Pro Ala Ser Asp Asp Tyr Arg Ala Ser Ala Ser	
45 50 55	

10

20

422

470

AAC GGT TCC GAT GAT GCG AGC GCC CAC ATC CAG CGC ACC GTC GCC AGC Asn Gly Ser Asp Asp Ala Ser Ala His Ile Gln Arg Thr Val Ala Ser 60 65 70	518
TGC CCG AAC ACC AGG ATT GTG CTT GGT GGC TAT TCG CAG GGT GCG ACG Cys Pro Asn Thr Arg Ile Val Leu Gly Gly Tyr Ser Gln Gly Ala Thr 75 80 85 90	566
GTC ATC GAT TTG TCC ACC TCG GCG ATG CCG CCC GCG GTG GCA GAT CAT Val Ile Asp Leu Ser Thr Ser Ala Met Pro Pro Ala Val Ala Asp His 95 100 105	614
GTC GCC GCT GTC GCC CTT TTC GGC GAG CCA TCC AGT GGT TTC TCC AGC Val Ala Ala Val Ala Leu Phe Gly Glu Pro Ser Ser Gly Phe Ser Ser 110 115 120	662
ATG TTG TGG GGC GGG TCG TTG CCG ACA ATC GGT CCG CTG TAT AGC Met Leu Trp Gly Gly Ser Leu Pro Thr Ile Gly Pro Leu Tyr Ser 125 130 135	710
TCT AAG ACC ATA AAC TTG TGT GCT CCC GAC GAT CCA ATA TGC ACC GGA Ser Lys Thr Ile Asn Leu Cys Ala Pro Asp Asp Pro Ile Cys Thr Gly 140 145 150	758
GGC GGC AAT ATT ATG GCG CAT GTT TCG TAT GTT CAG TCG GGG ATG ACA Gly Gly Asn Ile Met Ala His Val Ser Tyr Val Gln Ser Gly Met Thr 155 160 165 170	806 20
AGC CAG GCG GCG ACA TTC GCG GCG AAC AGG CTC GAT CAC GCC GGA TGA Ser Gln Ala Ala Thr Phe Ala Ala Asn Arg Leu Asp His Ala Gly 175 180 185	854
TCAAAGACTG TTGTCCCTAT ACCGCTGGGG CTGTAGTCGA TGTACACCGG CTGGAATCTG AAGGGCAAGA ACCCGGTATT CATCAGGCCG GATGAAATGA CGGTGGGCG GTAATCGTTT	914 974
GTGTTGAACG CGTAGAGCCG ATCACCGCCG GGGCTGGTGT AGACCTCAAT GTTTGTGTTC GCCGGCAGGG TTCCGGATCC	1034 30 1054

(2) SEQ ID NO : 10の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 217アミノ酸

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : タンパク質

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 10 :

Met Thr Pro Arg Ser Leu Val Arg Ile Val Gly Val Val Val Ala Thr  
 -32 -30 -25 -20

Thr Leu Ala Leu Val Ser Ala Pro Ala Gly Gly Arg Ala Ala His Ala  
 -15 -10 -5

Asp Pro Cys Ser Asp Ile Ala Val Val Phe Ala Arg Gly Thr His Gln  
 1 5 10 15

Ala Ser Gly Leu Gly Asp Val Gly Glu Ala Phe Val Asp Ser Leu Thr  
 20 25 30

10

Ser Gln Val Gly Gly Arg Ser Ile Gly Val Tyr Ala Val Asn Tyr Pro  
 35 40 45

Ala Ser Asp Asp Tyr Arg Ala Ser Ala Ser Asn Gly Ser Asp Asp Ala  
 50 55 60

Ser Ala His Ile Gln Arg Thr Val Ala Ser Cys Pro Asn Thr Arg Ile  
 65 70 75 80

Val Leu Gly Gly Tyr Ser Gln Gly Ala Thr Val Ile Asp Leu Ser Thr  
 85 90 95

20

Ser Ala Met Pro Pro Ala Val Ala Asp His Val Ala Ala Val Ala Leu  
 100 105 110

Phe Gly Glu Pro Ser Ser Gly Phe Ser Ser Met Leu Trp Gly Gly Gly  
 115 120 125

Ser Leu Pro Thr Ile Gly Pro Leu Tyr Ser Ser Lys Thr Ile Asn Leu  
 130 135 140

Cys Ala Pro Asp Asp Pro Ile Cys Thr Gly Gly Asn Ile Met Ala  
 145 150 155 160

His Val Ser Tyr Val Gln Ser Gly Met Thr Ser Gln Ala Ala Thr Phe  
 165 170 175

30

Ala Ala Asn Arg Leu Asp His Ala Gly  
 180 185

(2) SEQ ID NO: 11の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 949塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 二本鎖

(D) トポロジー : 環状

(ii) 分子の型 : DNA (ゲノム)

(vi) 起源 :

(A) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローザス

(B) 株名 : H37Rv

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : CDS

(B) 存在位置 : 201..749

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : mat\_peptide

(B) 存在位置 : 224..749

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 11 :

40

50

AGCCGCTCGC GTGGGGTCAA CGGGTTCC ACCTGCTCAC TCATTTGCC GCCTTCTGT	60	
GTCCGGGCCG AGGCTTGCAC TCAATAACTC GGTCAAGTTC CTTCACAGAC TGCCATCACT	120	
GGCCCGTCGG CGGGCTCGTT CGGGTGCAC CGCGTGCACGGG TTGTTGTTCC GGGCACCGGG	180	
TGGGGGCCCG CCCGGCGTA ATG GCA GAC TGT GAT TCC GTG ACT AAC AGC Met Ala Asp Cys Asp Ser Val Thr Asn Ser -7 -5 1	230	
CCC CTT GCG ACC GCT ACC GCC ACG CTG CAC ACT AAC CGC GGC GAC ATC Pro Leu Ala Thr Ala Thr Ala Thr Leu His Thr Asn Arg Gly Asp Ile 5 10 15	278	
AAG ATC GCC CTG TTC GGA AAC CAT GCG CCC AAG ACC GTC GCC AAT TTT Lys Ile Ala Leu Phe Gly Asn His Ala Pro Lys Thr Val Ala Asn Phe 20 25 30 35	326	10
G TG GGC CTT GCG CAG GGC ACC AAG GAC TAT TCG ACC CAA AAC GCA TCA Val Gly Leu Ala Gln Gly Thr Lys Asp Tyr Ser Thr Gln Asn Ala Ser 40 45 50	374	
GGT GGC CCG TCC GGC CCG TTC TAC GAC GGC GCG GTC TTT CAC CGG GTG Gly Gly Pro Ser Gly Pro Phe Tyr Asp Gly Ala Val Phe His Arg Val 55 60 65	422	
ATC CAG GGC TTC ATG ATC CAG GGT GGC GAT CCA ACC GGG ACG GGT CGC Ile Gln Gly Phe Met Ile Gln Gly Gly Asp Pro Thr Gly Thr Gly Arg 70 75 80	470	
GGC GGA CCC GGC TAC AAG TTC GCC GAC GAG TTC CAC CCC GAG CTG CAA Gly Gly Pro Gly Tyr Lys Phe Ala Asp Glu Phe His Pro Glu Leu Gln 85 90 95	518	20
TTC GAC AAG CCC TAT CTG CTC GCG ATG GCC AAC GCC GGT CCG GGC ACC Phe Asp Lys Pro Tyr Leu Leu Ala Met Ala Asn Ala Gly Pro Gly Thr 100 105 110 115	566	
AAC GGC TCA CAG TTT TTC ATC ACC GTC GGC AAG ACT CCG CAC CTG AAC Asn Gly Ser Gln Phe Phe Ile Thr Val Gly Lys Thr Pro His Leu Asn 120 125 130	614	
CGG CGC CAC ATT TTC GGT GAA GTG ATC GAC GCG GAG TCA CAG CGG Arg Arg His Thr Ile Phe Gly Glu Val Ile Asp Ala Glu Ser Gln Arg 135 140 145	662	
GTT GTG GAG GCG ATC TCC AAG ACG GCC ACC GAC GGC AAC GAT CGG CCG Val Val Glu Ala Ile Ser Lys Thr Ala Thr Asp Gly Asn Asp Arg Pro 150 155 160	710	
ACG GAC CCG GTG GTG ATC GAG TCG ATC ACC ATC TCC TGA CCCGAAGCTA Thr Asp Pro Val Val Ile Glu Ser Ile Thr Ile Ser 165 170 175	759	30
CGTCGGCTCG TCGCTCGAAT ACACCTTG TG GACCCGCCAG GGCACGTGGC GGTACACCGA	819	
CACGCCGTTG GGGCCGTTCA ACCGGACGCC CTCACGCCAA GTCCGCTCAC CTTGGCCGC	879	
GACCGGGCGTA ACCGGCAGCG GTAAGCGCAT CGAGCACCTC CACTGGTGC GTGCCGAGAT	939	
CCCAGCGGGA	949	

(2) SEQ ID NO: 12の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 182アミノ酸

40

(B) 配列の型: アミノ酸

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: タンパク質

(xi) 配列の記載: SEQ ID NO: 12:

Met Ala Asp Cys Asp Ser Val Thr Asn Ser Pro Leu Ala Thr Ala Thr  
 -7 -5 1 5  
 Ala Thr Leu His Thr Asn Arg Gly Asp Ile Lys Ile Ala Leu Phe Gly  
 '10 15 20 25  
 Asn His Ala Pro Lys Thr Val Ala Asn Phe Val Gly Leu Ala Gln Gly  
 30 35 40  
 Thr Lys Asp Tyr Ser Thr Gln Asn Ala Ser Gly Gly Pro Ser Gly Pro  
 45 50 55  
 Phe Tyr Asp Gly Ala Val Phe His Arg Val Ile Gln Gly Phe Met Ile  
 60 65 70 10  
 Gln Gly Gly Asp Pro Thr Gly Thr Gly Arg Gly Pro Gly Tyr Lys  
 75 80 85  
 Phe Ala Asp Glu Phe His Pro Glu Leu Gln Phe Asp Lys Pro Tyr Leu  
 90 95 100 105  
 Leu Ala Met Ala Asn Ala Gly Pro Gly Thr Asn Gly Ser Gln Phe Phe  
 110 115 120  
 Ile Thr Val Gly Lys Thr Pro His Leu Asn Arg Arg His Thr Ile Phe  
 125 130 135 20  
 Gly Glu Val Ile Asp Ala Glu Ser Gln Arg Val Val Glu Ala Ile Ser  
 140 145 150  
 Lys Thr Ala Thr Asp Gly Asn Asp Arg Pro Thr Asp Pro Val Val Ile  
 155 160 165  
 Glu Ser Ile Thr Ile Ser  
 170 175  
 (2) SEQ ID NO: 13の情報：  
 (i) 配列の特徴：  
 (A) 配列の長さ：1060塩基対  
 (B) 配列の型：核酸  
 (C) 鎖：二本鎖 30  
 (D) トポロジー：環状  
 (ii) 分子の型：DNA(ゲノム)  
 (vi) 起源：  
 (A) 生物名：マイコバクテリウム・ツベルクローキス  
 (B) 株名：H37Rv  
 (ix) 配列の特徴：  
 (A) 名称 / キー : CDS  
 (B) 存在位置 : 201..860  
 (ix) 配列の特徴：  
 (A) 名称 / キー : sig\_peptide 40  
 (B) 存在位置 : 201..296  
 (ix) 配列の特徴：  
 (A) 名称 / キー : mat\_peptide  
 (B) 存在位置 : 297..860  
 (xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 13 :

TGGACCTTCA CCGGCGGTCC CTTCGCTTCG GGGGGACAC CTAAACATACT GGTCGTCAC	60	
CTACCGCGAC ACCGCTGGGA CTTTGCCA TTGGGGGCCA CTCGGGGCCG CTGGGGCTG	120	
GAAAAATTGG TCGGGCACGG CGGGCCGGG GTCGCTACCA TCCCACGTG AATGATTAC	180	
TGACCCGCCG ACTGCTCACC ATG GGC GCG GCC GCA ATG CTG GCC GCG Met Gly Ala Ala Ala Ala Met Leu Ala Ala -32 -30 -25	230	
GTG CTT CTG CTT ACT CCC ATC ACC GTT CCC GCC GGC TAC CCC GGT GCC Val Leu Leu Thr Pro Ile Thr Val Pro Ala Gly Tyr Pro Gly Ala -20 -15 -10	278	
GTT GCA CGG GCC ACT GCA GCC TGC CCC GAC GCC GAA GTG GTG TTC GCC Val Ala Pro Ala Thr Ala Ala Cys Pro Asp Ala Glu Val Val Phe Ala -5 1 5 10	326	
CGC CGC CGC TTC GAA CGG CCC GGG ATT GGC ACG GTC GGC AAC GCA TTC Arg Gly Arg Phe Glu Pro Pro Gly Ile Gly Thr Val Gly Asn Ala Phe 15 20 25	374	10
GTC AGC GCG CTG CGC TCG AAG GTC AAC AAG AAT GTC GGG GTC TAC GCG Val Ser Ala Leu Arg Ser Lys Val Asn Lys Asn Val Gly Val Tyr Ala 30 35 40	422	
GTC AAA TAC CCC GCC GAC AAT CAG ATC GAT GTG GGC GCC AAC GAC ATG Val Lys Tyr Pro Ala Asp Asn Gln Ile Asp Val Gly Ala Asn Asp Met 45 50 55	470	
AGC GCC CAC ATT CAG AGC ATG GCC AAC AGC TGT CCG AAT ACC CGC CTG Ser Ala His Ile Gln Ser Met Ala Asn Ser Cys Pro Asn Thr Arg Leu 60 65 70	518	
GTG CCC GGC GGT TAC TCG CTG GGC GCG GTC ACC GAC GTG GTA CTC Val Pro Gly Gly Tyr Ser Leu Gly Ala Ala Val Thr Asp Val Val Leu 75 80 85 90	566	
GCG GTG CCC ACC CAG ATG TGG GGC TTC ACC AAT CCC CTG CCT CCC GGC Ala Val Pro Thr Gln Met Trp Gly Phe Thr Asn Pro Leu Pro Pro Gly 95 100 105	614	20
AGT GAT GAG CAC ATC GCC GCG GTC GCG CTG TTC GGC AAT GGC AGT CAG Ser Asp Glu His Ile Ala Ala Val Ala Leu Phe Gly Asn Gly Ser Gln 110 115 120	662	
TGG GTC GGC CCC ATC ACC AAC TTC AGC CCC GCC TAC AAC GAT CGG ACC Trp Val Gly Pro Ile Thr Asn Phe Ser Pro Ala Tyr Asn Asp Arg Thr 125 130 135	710	
ATC GAG TTG TGT CAC GGC GAC GAC CCC GTC TGC CAC CCT GCC GAC CCC Ile Glu Leu Cys His Gly Asp Asp Pro Val Cys His Pro Ala Asp Pro 140 145 150	758	
AAC ACC TGG GAG GCC AAC TGG CCC CAG CAC CTC GCC GGG GCC TAT GTC Asn Thr Trp Glu Ala Asn Trp Pro Gln His Leu Ala Gly Ala Tyr Val 155 160 165 170	806	30
TCG TCG GGC ATG GTC AAC CAG GCG GCT GAC TTC GTT GCC GGA AAG CTG Ser Ser Gly Met Val Asn Gln Ala Ala Asp Phe Val Ala Gly Lys Leu 175 180 185	854	
CAA TAG CCACCTAGCC CGTGCACGAG TCTTTGCTTC ACGCTTCGC TAACCGACCA Gln	910	
ACGCGCGCAC GATGGAGGGG TCCGTGGTCA TATCAAGACA AGAAGGGAGT AGGCGATGCA	970	
CGCAAAAGTC GGCGACTACC TCGTGGTGAA GGGCACAAACC ACGGAACGGC ATGATCAACA	1030	40
TGCTGAGATC ATCGAGGTGC GCTCCGCAGA	1060	
(2) SEQ ID NO: 14 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 219 アミノ酸		
(B) 配列の型 : アミノ酸		
(D) トポロジー : 直鎖状		
(ii) 分子の型 : タンパク質		
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 14 :		

Met Gly Ala Ala Ala Ala Met Leu Ala Ala Val Leu Leu Thr Pro  
 -32 -30 -25 -20  
 Ile Thr Val Pro Ala Gly Tyr Pro Gly Ala Val Ala Pro Ala Thr Ala  
 -15 -10 -5  
 Ala Cys Pro Asp Ala Glu Val Val Phe Ala Arg Gly Arg Phe Glu Pro  
 1 5 10 15  
 Pro Gly Ile Gly Thr Val Gly Asn Ala Phe Val Ser Ala Leu Arg Ser  
 20 25 30  
 Lys Val Asn Lys Asn Val Gly Val Tyr Ala Val Lys Tyr Pro Ala Asp  
 35 40 45 10  
 Asn Gln Ile Asp Val Gly Ala Asn Asp Met Ser Ala His Ile Gln Ser  
 50 55 60  
 Met Ala Asn Ser Cys Pro Asn Thr Arg Leu Val Pro Gly Gly Tyr Ser  
 65 70 75 80  
 Leu Gly Ala Ala Val Thr Asp Val Val Leu Ala Val Pro Thr Gln Met  
 85 90 95  
 Trp Gly Phe Thr Asn Pro Leu Pro Pro Gly Ser Asp Glu His Ile Ala  
 100 105 110  
 Ala Val Ala Leu Phe Gly Asn Gly Ser Gln Trp Val Gly Pro Ile Thr  
 115 120 125 20  
 Asn Phe Ser Pro Ala Tyr Asn Asp Arg Thr Ile Glu Leu Cys His Gly  
 130 135 140  
 Asp Asp Pro Val Cys His Pro Ala Asp Pro Asn Thr Trp Glu Ala Asn  
 145 150 155 160  
 Trp Pro Gln His Leu Ala Gly Ala Tyr Val Ser Ser Gly Met Val Asn  
 165 170 175  
 Gln Ala Ala Asp Phe Val Ala Gly Lys Leu Gln  
 180 185  
 (2) SEQ ID NO : 15の情報 : 30  
 (i) 配列の特徴 :  
 (A) 配列の長さ : 1198 塩基対  
 (B) 配列の型 : 核酸  
 (C) 鎖 : 二本鎖  
 (D) トポロジー : 環状  
 (ii) 分子の型 : DNA (ゲノム)  
 (vi) 起源 :  
 (A) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローキス  
 (B) 株名 : H37Rv  
 (ix) 配列の特徴 : 40  
 (A) 名称 / キー : CDS  
 (B) 存在位置 : 201..998  
 (ix) 配列の特徴 :  
 (A) 名称 / キー : mat\_peptide  
 (B) 存在位置 : 201..998  
 (xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 15 :

CAGATGCTGC GCAACATGTT TCTCGGCGAT CCGGCAGGCA ACACCGATCG AGTGCTTGAC	60
TTTCCACCG CGGTGACCGG CGGACTGTT TTCTCACCCA CCATCGACTT TCTCGACCAT	120
CCACCGCCCC TACCGCAGGC GGCGACGCCA ACTCTGGCAG CCGGGTCGCT ATCGATCGGC	180
AGCTTGAAAG GAAGCCCCCG ATG AAC AAT CTC TAC CGC GAT TTG GCA CCG Met Asn Asn Leu Tyr Arg Asp Leu Ala Pro	230
1                   5                   10	
GTC ACC GAA GCC GCT TGG GCG GAA ATC GAA TTG GAG GCG GCG CGG ACG Val Thr Glu Ala Ala Trp Ala Glu Ile Glu Leu Glu Ala Ala Arg Thr	278
15                 20                 25	10
TTC AAG CGA CAC ATC GCC GGG CGC CGG GTG GTC GAT GTC AGT GAT CCC Phe Lys Arg His Ile Ala Gly Arg Arg Val Val Asp Val Ser Asp Pro	326
30                 35                 40	
GGG GGG CCC GTC ACC GCG GCG GTC AGC ACC GGC CGG CTG ATC GAT GTT Gly Gly Pro Val Thr Ala Ala Val Ser Thr Gly Arg Leu Ile Asp Val	374
45                 50                 55	
AAG GCA CCA ACC AAC GGC GTG ATC GCC CAC CTG CGG GCC AGC AAA CCC Lys Ala Pro Thr Asn Gly Val Ile Ala His Leu Arg Ala Ser Lys Pro	422
60                 65                 70	
CTT GTC CGG CTA CGG GTT CCG TTT ACC CTG TCG CGC AAC GAG ATC GAC Leu Val Arg Leu Arg Val Pro Phe Thr Leu Ser Arg Asn Glu Ile Asp	470
75                 80                 85                 90	
GAC GTG GAA CGT GGC TCT AAG GAC TCC GAT TGG GAA CCG GTA AAG GAG Asp Val Glu Arg Gly Ser Lys Asp Ser Asp Trp Glu Pro Val Lys Glu	518
95                 100                 105	
GCG GCC AAG AAG CTG GCC TTC GTC GAG GAC CGC ACA ATA TTC GAA GGC Ala Ala Lys Lys Leu Ala Phe Val Glu Asp Arg Thr Ile Phe Glu Gly	566
110                 115                 120	
TAC AGC GCC GCA TCA ATC GAA GGG ATC CGC AGC GCG AGT TCG AAC CCG Tyr Ser Ala Ala Ser Ile Glu Gly Ile Arg Ser Ala Ser Ser Asn Pro	614
125                 130                 135	
GCG CTG ACG TTG CCC GAG GAT CCC CGT GAA ATC CCT GAT GTC ATC TCC Ala Leu Thr Leu Pro Glu Asp Pro Arg Glu Ile Pro Asp Val Ile Ser	662
140                 145                 150	
CAG GCA TTG TCC GAA CTG CGG TTG GCC GGT GTG GAC GGA CCG TAT TCG Gln Ala Leu Ser Glu Leu Arg Leu Ala Gly Val Asp Gly Pro Tyr Ser	710
155                 160                 165                 170	
GTG TTG CTC TCT GCT GAC GTC TAC ACC AAG GTT AGC GAG ACT TCC GAT Val Leu Leu Ser Ala Asp Val Tyr Thr Lys Val Ser Glu Thr Ser Asp	758
175                 180                 185	

CAC GGC TAT CCC ATC CGT GAG CAT CTG AAC CGG CTG GTG GAC GGG GAC	806
His Gly Tyr Pro Ile Arg Glu His Leu Asn Arg Leu Val Asp Gly Asp	
190 195 200	
ATC ATT TGG GCC CCG GCC ATC GAC GGC GCG TTC GTG CTG ACC ACT CGA	854
Ile Ile Trp Ala Pro Ala Ile Asp. Gly Ala Phe Val Leu Thr Thr Arg	
205 210 215	
GGC GGC GAC TTC GAC CTA CAG CTG GGC ACC GAC GTT GCA ATC GGG TAC	902
Gly Gly Asp Phe Asp Leu Gln Leu Gly Thr Asp Val Ala Ile Gly Tyr	
220 225 230	
GCC AGC CAC GAC ACG GAC ACC GAG CGC CTC TAC CTG CAG GAG ACG CTG	950 10
Ala Ser His Asp Thr Asp Thr Glu Arg Leu Tyr Leu Gln Glu Thr Leu	
235 240 245 250	
ACG TTC CTT TGC TAC ACC GCC GAG GCG TCG GTC GCG CTC AGC CAC TAA	998
Thr Phe Leu Cys Tyr Thr Ala Glu Ala Ser Val Ala Leu Ser His	
255 260 265	
GGCACGAGCG CGAGCAATAG CTCCTATGGC AAGCGGCCGC GGGTTGGGTG TGTCGGAGC	1058
TGGGCTGGTG GACGGTGCAG AGGGCCTGGA AGACGGTGCG GGCTAGGCAG CGTTTGAGGC	1118
AGCGTAGTGC TGCGCGTTG GTTTCCCGG CGTCTTGCAG CCTTTGGTAG TAGGCCTGGC	1178
CCCGGCTGTC GGTCATCCGG	20 1198

( 2 ) SEQ ID NO : 16 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 265 アミノ酸

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : タンパク質

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 16 :

Met Asn Asn Leu Tyr Arg Asp Leu Ala Pro Val Thr Glu Ala Ala Trp  
 1 5 10 15

Ala Glu Ile Glu Leu Glu Ala Ala Arg Thr Phe Lys Arg His Ile Ala  
 20 25 30

Gly Arg Arg Val Val Asp Val Ser Asp Pro Gly Gly Pro Val Thr Ala  
 35 40 45

Ala Val Ser Thr Gly Arg Leu Asp Val Lys Ala Pro Thr Asn Gly  
 50 55 60

Val Ile Ala His Leu Arg Ala Ser Lys Pro Leu Val Arg Leu Arg Val  
 65 70 75 80 10

Pro Phe Thr Leu Ser Arg Asn Glu Ile Asp Asp Val Glu Arg Gly Ser  
 85 90 95

Lys Asp Ser Asp Trp Glu Pro Val Lys Glu Ala Ala Lys Lys Leu Ala  
 100 105 110

Phe Val Glu Asp Arg Thr Ile Phe Glu Gly Tyr Ser Ala Ala Ser Ile  
 115 120 125

Glu Gly Ile Arg Ser Ala Ser Ser Asn Pro Ala Leu Thr Leu Pro Glu  
 130 135 140

Asp Pro Arg Glu Ile Pro Asp Val Ile Ser Gln Ala Leu Ser Glu Leu  
 145 150 155 160

Arg Leu Ala Gly Val Asp Gly Pro Tyr Ser Val Leu Leu Ser Ala Asp  
 165 170 175

Val Tyr Thr Lys Val Ser Glu Thr Ser Asp His Gly Tyr Pro Ile Arg  
 180 185 190

Glu His Leu Asn Arg Leu Val Asp Gly Asp Ile Ile Trp Ala Pro Ala  
 195 200 205

Ile Asp Gly Ala Phe Val Leu Thr Thr Arg Gly Gly Asp Phe Asp Leu  
 210 215 220

Gln Leu Gly Thr Asp Val Ala Ile Gly Tyr Ala Ser His Asp Thr Asp  
 225 230 235 240

Thr Glu Arg Leu Tyr Leu Gln Glu Thr Leu Thr Phe Leu Cys Tyr Thr  
 245 250 255

Ala Glu Ala Ser Val Ala Leu Ser His  
 260 265

(2) SEQ ID NO : 17の情報 :

30

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 15アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : ペプチド

(v) フラグメントの型 : N-terminal

(vi) 起源 :

(A) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローキス

(B) 株名 : H37Rv

40

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : duplication

(B) 存在位置 : 1

(D) 他の情報 : AlaはAlaまたはSer

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : duplication

(B) 存在位置 : 13

(D) 他の情報 : Xaaは不明

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 17 :

Ala Glu Leu Asp Ala Pro Ala Gln Ala Gly Thr Glu Xaa Ala Val  
 1 5 10 15

(2) SEQ ID NO: 18の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 15アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : ペプチド

(v) フラグメントの型 : N-terminal

(vi) 起源 :

(A) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローシス

(B) 株名 : H37Rv

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 18 :

Ala Gln Ile Thr Leu Arg Gly Asn Ala Ile Asn Thr Val Gly Glu  
 1 5 10 15

(2) SEQ ID NO: 19の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 15アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : ペプチド

(v) フラグメントの型 : N-terminal

(vi) 起源 :

(A) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローシス

(B) 株名 : H37Rv

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : その他

(B) 存在位置 : 3

(C) 他の情報 : Xaaは不明

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 19 :

Asp Pro Xaa Ser Asp Ile Ala Val Val Phe Ala Arg Gly Thr His  
 1 5 10 15

(2) SEQ ID NO: 20の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 15アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : ペプチド

(v) フラグメントの型 : N-terminal

(vi) 起源 :

(A) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローシス

(B) 株名 : H37Rv

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 20 :

Thr Asn Ser Pro Leu Ala Thr Ala Thr Ala Thr Leu His Thr Asn  
 1 5 10 15

(2) SEQ ID NO: 21の情報 :

(i) 配列の特徴 :

10

20

30

40

50

- (A) 配列の長さ : 15アミノ酸
- (B) 配列の型 : アミノ酸
- (C) 鎖 : 一本鎖
- (D) トポロジー : 直鎖状
- (ii) 分子の型 : ペプチド
- (v) フラグメントの型 : N-terminal
- (vi) 起源 :

(A) 生物名 :マイコバクテリウム・ツベルクローシス

(B) 株名 : H37Rv

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : その他

(B) 存在位置 : 2

(C) 他の情報 : Xaaは不明

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 21 :

Ala	Xaa	Pro	Asp	Ala	Glu	Val	Val	Phe	Ala	Arg	Gly	Arg	Phe	Glu
1				5				10					15	

(2) SEQ ID NO : 22の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 15アミノ酸

(B) 配列の型、アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : ペプチド

(v) フラグメントの型 : N-terminal

(vi) 起源 :

(A) 生物名 :マイコバクテリウム・ツベルクローシス

(B) 株名 : H37Rv

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : その他

(B) 存在位置 : 1

(C) 他の情報 : Xaaは不明

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : duplication

(B) 存在位置 : 2

(D) 他の情報 : IleはIleまたはVal

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : duplication

(B) 存在位置 : 10

(D) 他の情報 : ValはValまたはThr

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : duplication

(B) 存在位置 : 11

(D) 他の情報 : ValはValまたはPhe

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : duplication

(B) 存在位置 : 14

(D) 他の情報 : AspはAspまたはGln

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 22 :

Xaa	Ile	Gln	Lys	Ser	Leu	Glu	Leu	Ile	Val	Val	Thr	Ala	Asp	Glu
1				5				10				15		

10

20

30

40

50

(2) SEQ ID NO: 23の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 19アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : ペプチド

(v) フラグメントの型 : N-terminal

(vi) 起源 :

(A) 生物名 : マイコバクテリウム・ツベルクローシス

10

(B) 株名 : H37Rv

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 23:

Met Asn Asn Leu Tyr Arg Asp Leu Ala Pro Val Thr Glu Ala Ala Trp  
1 5 10 15

Ala Glu Ile

(2) SEQ ID NO: 24の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 34塩基対

20

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : DNA(合成)

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 24:

CCCGGCTCGA GAACCTSTAC CGCGACCTSG CSCC

34

(2) SEQ ID NO: 25の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 37塩基対

30

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : DNA(合成)

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 25:

GGGCCGGATC CGASGCSGCG TCCTTSACSG GYTGCCA

37

(2) SEQ ID NO: 26の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 28塩基対

40

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : DNA(合成)

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 26:

GGAAAGCCCCA TATGAACAAT CTCTACCG

28

(2) SEQ ID NO: 27の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 32塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

50

(D) トポロジー：直鎖状	
(ii) 分子の型：DNA(合成)	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO:27: CGCGCTCAGC CCTTAGTGAC TGAGCGCGAC CG	32
(2) SEQ ID NO:28の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：24塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	10
(ii) 分子の型：DNA(合成)	
(iv) アンチセンス：なし	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO:28: CTCGAATTG CCGGGTGCAC ACAG	24
(2) SEQ ID NO:29の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：25塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	20
(ii) 分子の型：DNA(合成)	
(iv) アンチセンス：なし	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO:29: CTCGAATTG CCCCCATACG AGAAC	25
(2) SEQ ID NO:30の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：15塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	30
(ii) 分子の型：DNA(合成)	
(iv) アンチセンス：なし	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO:30: GTGTATCTGC TGGAC	15
(2) SEQ ID NO:31の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：15塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	40
(ii) 分子の型：DNA(合成)	
(iv) アンチセンス：なし	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO:31: CCGACTGGCT GGCG	15
(2) SEQ ID NO:32の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：24塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	50

( iii ) 分子の型 : DNA ( 合成 )  
 ( iv ) アンチセンス : あり  
 ( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 32 :  
**GAGGAATTCTG CTTAGCGGAT CGCA**

24

( 2 ) SEQ ID NO : 33 の情報 :

- ( i ) 配列の特徴 :  
 ( A ) 配列の長さ : 15 塩基対  
 ( B ) 配列の型 : 核酸  
 ( C ) 鎖 : 一本鎖  
 ( D ) トポロジー : 直鎖状

10

( iii ) 分子の型 : DNA ( 合成 )  
 ( iv ) アンチセンス : あり  
 ( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 33 :  
**CCCACACATTCC GTTGG**

15

( 2 ) SEQ ID NO : 34 の情報 :

- ( i ) 配列の特徴 :  
 ( A ) 配列の長さ : 15 塩基対  
 ( B ) 配列の型 : 核酸  
 ( C ) 鎖 : 一本鎖  
 ( D ) トポロジー : 直鎖状

20

( iii ) 分子の型 : DNA ( 合成 )  
 ( iv ) アンチセンス : あり  
 ( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 34 :  
**GTCCAGCAGA TACAC**

15

( 2 ) SEQ ID NO : 35 の情報 :

- ( i ) 配列の特徴 :  
 ( A ) 配列の長さ : 27 塩基対  
 ( B ) 配列の型 : 核酸  
 ( C ) 鎖 : 一本鎖  
 ( D ) トポロジー : 直鎖状

30

( iii ) 分子の型 : DNA ( 合成 )  
 ( iv ) アンチセンス : なし  
 ( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 35 :  
**GTACGAGAAT TCATGTCGCA AATCATG**

27

( 2 ) SEQ ID NO : 36 の情報 :

- ( i ) 配列の特徴 :  
 ( A ) 配列の長さ : 27 塩基対  
 ( B ) 配列の型 : 核酸  
 ( C ) 鎖 : 一本鎖  
 ( D ) トポロジー : 直鎖状

40

( iii ) 分子の型 : DNA ( 合成 )  
 ( iv ) アンチセンス : なし  
 ( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 36 :  
**GTACGAGAAT TCGAGCTTGG GGTGCCG**

27

( 2 ) SEQ ID NO : 37 の情報 :

- ( i ) 配列の特徴 :  
 ( A ) 配列の長さ : 28 塩基対  
 ( B ) 配列の型 : 核酸

50

- (C) 鎖：一本鎖  
 (D) トポロジー：直鎖状  
 (ii) 分子の型：DNA（合成）  
 (iv) アンチセンス：なし  
 (xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 37 :  
 CGATTCCAAG CTTGTGGCCG CCGACCCG 28
- (2) SEQ ID NO : 38の情報：  
 (i) 配列の特徴：  
 (A) 配列の長さ：30塩基対  
 (B) 配列の型：核酸 10  
 (C) 鎖：一本鎖  
 (D) トポロジー：直鎖状  
 (ii) 分子の型：DNA（合成）  
 (iv) アンチセンス：あり  
 (xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 38 :  
 CGTTAGGGAT CCTCATCGCC ATGGTGTTGG 30
- (2) SEQ ID NO : 39の情報：  
 (i) 配列の特徴：  
 (A) 配列の長さ：26塩基対  
 (B) 配列の型：核酸 20  
 (C) 鎖：一本鎖  
 (D) トポロジー：直鎖状  
 (ii) 分子の型：DNA（合成）  
 (iv) アンチセンス：あり  
 (xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 39 :  
 CGTTAGGGAT CCGGTTCCAC TGTGCC 26
- (2) SEQ ID NO : 40の情報：  
 (i) 配列の特徴：  
 (A) 配列の長さ：28塩基対  
 (B) 配列の型：核酸 30  
 (C) 鎖：一本鎖  
 (D) トポロジー：直鎖状  
 (ii) 分子の型：DNA（合成）  
 (iv) アンチセンス：あり  
 (xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 40 :  
 CGTTAGGGAT CCTCAGGTCT TTTCGATG 28
- (2) SEQ ID NO : 41の情報：  
 (i) 配列の特徴：  
 (A) 配列の長さ：952塩基対  
 (B) 配列の型：核酸 40  
 (C) 鎖：二本鎖  
 (D) トポロジー：環状  
 (ii) 分子の型：DNA（ゲノム）  
 (vi) 起源：  
 (A) 生物名：マイコバクテリウム・ツベルクローリス  
 (B) 株名：H37Rv  
 (ix) 配列の特徴：  
 (A) 名称 / キー：CDS  
 (B) 存在位置：45..944  
 (ix) 配列の特徴： 50

(A) 名称 / キー : sig\_peptide

(B) 存在位置 : 45..143

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : mat\_peptide

(B) 存在位置 : 144..941

(xi) 配列の記載 : SEQ\_ID NO : 41 :

GAATTGCCCG GGTGCACACA GCCTTACACG ACGGAGGTGG ACAC ATG AAG GGT CGG Met Lys Gly Arg	56
-33 -30	
TCG GCG CTG CTG CGG GCG CTC TGG ATT GCC GCA CTG TCA TTC GGG TTG Ser Ala Leu Leu Arg Ala Leu Trp Ile Ala Ala Leu Ser Phe Gly Leu	104 10
-25 -20 -15	
Gly Gly Val Ala Val Ala Ala Glu Pro Thr Ala Lys Ala Ala Pro Tyr -10 -5 1	152
GAG AAC CTG ATG GTG CCG TCG CCC TCG ATG GGC CGG GAC ATC CCG GTG Glu Asn Leu Met Val Pro Ser Pro Ser Met Gly Arg Asp Ile Pro Val	200
5 10 15	
GCC TTC CTA GCC GGT GGG CCG CAC GCG GTG TAT CTG CTG GAC GCC TTC Ala Phe Leu Ala Gly Gly Pro His Ala Val Tyr Leu Leu Asp Ala Phe	248
20 25 30 35	
AAC GCC GGC CCG GAT GTC AGT AAC TGG GTC ACC GCG GGT AAC GCG ATG Asn Ala Gly Pro Asp Val Ser Asn Trp Val Thr Ala Gly Asn Ala Met	296 20
40 45 50	
AAC ACG TTG GCG GGC AAG GGG ATT TCG GTG GTG GCA CCG GCC GGT GGT Asn Thr Leu Ala Gly Lys Gly Ile Ser Val Val Ala Pro Ala Gly Gly	344
55 60 65	
GCG TAC AGC ATG TAC ACC AAC TGG GAG CAG GAT GGC AGC AAG CAG TGG Ala Tyr Ser Met Tyr Thr Asn Trp Glu Gln Asp Gly Ser Lys Gln Trp	392
70 75 80	
GAC ACC TTC TTG TCC GCT GAG CTG CCC GAC TGG CTG GCC GCT AAC CGG Asp Thr Phe Leu Ser Ala Glu Leu Pro Asp Trp Leu Ala Ala Asn Arg	440
85 90 95	
GGC TTG GCC CCC GGT GGC CAT GCG GCC GTT GGC GCC GCT CAG GGC GGT Gly Leu Ala Pro Gly Gly His Ala Ala Val Gly Ala Ala Gln Gly Gly	488
100 105 110 115	30
TAC GGG GCG ATG GCG CTG GCG GCC TTC CAC CCC GAC CGC TTC GGC TTC Tyr Gly Ala Met Ala Leu Ala Ala Phe His Pro Asp Arg Phe Gly Phe	536
120 125 130	
GCT GGC TCG ATG TCG GGC TTT TTG TAC CCG TCG AAC ACC ACC ACC AAC Ala Gly Ser Met Ser Gly Phe Leu Tyr Pro Ser Asn Thr Thr Thr Asn	584
135 140 145	
GGT GCG ATC GCG GCG GGC ATG CAG CAA TTC GGC GGT GTG GAC ACC AAC Gly Ala Ile Ala Ala Gly Met Gln Gln Phe Gly Gly Val Asp Thr Asn	632
150 155 160	40
GGA ATG TGG GGA GCA CCA CAG CTG GGT CGG TGG AAG TGG CAC GAC CCG Gly Met Trp Gly Ala Pro Gln Leu Gly Arg Trp Lys Trp His Asp Pro	680
165 170 175	
TGG GTG CAT GCC AGC CTG CTG GCG CAA AAC AAC ACC CGG GTG TGG GTG Trp Val His Ala Ser Leu Leu Ala Gln Asn Asn Thr Arg Val Trp Val	728
180 185 190 195	
TGG AGC CCG ACC AAC CCG GGA GCC AGC GAT CCC GCC GCC ATG ATC GGC	776

Trp Ser Pro Thr Asn Pro Gly Ala Ser Asp Pro Ala Ala Met Ile Gly		
200	205	210
CAA ACC GCC GAG GCG ATG GGT AAC AGC CGC ATG TTC TAC AAC CAG TAT		824
Gln Thr Ala Glu Ala Met Gly Asn Ser Arg Met Phe Tyr Asn Gln Tyr		
215	220	225
CGC AGC GTC GGC GGG CAC AAC GGA CAC TTC GAC TTC CCA GCC AGC GGT		872
Arg Ser Val Gly Gly His Asn Gly His Phe Asp Phe Pro Ala Ser Gly		
230	235	240
GAC AAC GGC TGG GGC TCG TGG GCG CCC CAG CTG GGC GCT ATG TCG GGC		920
Asp Asn Gly Trp Gly Ser Trp Ala Pro Gln Leu Gly Ala Met Ser Gly		
245	250	255
GAT ATC GTC GGT GCG ATC CGC TAA GCGAATTG		952
Asp Ile Val Gly Ala Ile Arg		
260	265	
(2) SEQ ID NO: 42の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 299アミノ酸		
(B) 配列の型 : アミノ酸		
(D) トポロジー : 直鎖状		
(ii) 分子の型 : タンパク質		
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 42 :		

10

20

Met Lys Gly Arg Ser Ala Leu Leu Arg Ala Leu Trp Ile Ala Ala Leu  
 -33 -30 -25 -20  
 Ser Phe Gly Leu Gly Gly Val Ala Val Ala Ala Glu Pro Thr Ala Lys  
 -15 -10 -5  
 Ala Ala Pro Tyr Glu Asn Leu Met Val Pro Ser Pro Ser Met Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Asp Ile Pro Val Ala Phe Leu Ala Gly Gly Pro His Ala Val Tyr Leu  
 20 25 30  
 Leu Asp Ala Phe Asn Ala Gly Pro Asp Val Ser Asn Trp Val Thr Ala  
 35 40 45  
 Gly Asn Ala Met Asn Thr Leu Ala Gly Lys Gly Ile Ser Val Val Ala  
 50 55 60 10  
 Pro Ala Gly Gly Ala Tyr Ser Met Tyr Thr Asn Trp Glu Gln Asp Gly  
 65 70 75  
 Ala Ala Asn Arg Gly Leu Ala Pro Gly Gly His Ala Ala Val Gly Ala  
 100 105 110  
 Ser Lys Gln Trp Asp Thr Phe Leu Ser Ala Glu Leu Pro Asp Trp Leu  
 80 85 90 95  
 Ala Gln Gly Gly Tyr Gly Ala Met Ala Leu Ala Ala Phe His Pro Asp  
 115 120 125  
 Arg Phe Gly Phe Ala Gly Ser Met Ser Gly Phe Leu Tyr Pro Ser Asn  
 130 135 140 20  
 Thr Thr Thr Asn Gly Ala Ile Ala Ala Gly Met Gln Gln Phe Gly Gly  
 145 150 155  
 Val Asp Thr Asn Gly Met Trp Gly Ala Pro Gln Leu Gly Arg Trp Lys  
 160 165 170 175  
 Trp His Asp Pro Trp Val His Ala Ser Leu Leu Ala Gln Asn Asn Thr  
 180 185 190  
 Arg Val Trp Val Trp Ser Pro Thr Asn Pro Gly Ala Ser Asp Pro Ala  
 195 200 205  
 Ala Met Ile Gly Gln Thr Ala Glu Ala Met Gly Asn Ser Arg Met Phe  
 210 215 220 30  
 Tyr Asn Gln Tyr Arg Ser Val Gly Gly His Asn Gly His Phe Asp Phe  
 225 230 235  
 Pro Ala Ser Gly Asp Asn Gly Trp Gly Ser Trp Ala Pro Gln Leu Gly  
 240 245 250 255  
 Ala Met Ser Gly Asp Ile Val Gly Ala Ile Arg  
 260 265

(2) SEQ ID NO:43の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 27 塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型、DNA(合成)

(iv) アンチセンス : なし

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO:43 :

GCAACACCCG GGATGTCGCA AATCATG

27

(2) SEQ ID NO:44の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 27 塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

50

(D) トポロジー：直鎖状  
 (ii) 分子の型：DNA（合成）  
 (iv) アンチセンス：なし  
 (xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 44 :  
 GTAACACCCG GGGTGGCCGC CGACCCG

27

(2) SEQ ID NO : 45 の情報：  
 (i) 配列の特徴：  
 (A) 配列の長さ：37 塩基対  
 (B) 配列の型：核酸  
 (C) 鎖：一本鎖  
 (D) トポロジー：直鎖状  
 (ii) 分子の型：DNA（合成）  
 (iv) アンチセンス：あり  
 (xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 45 :

CTACTAAGCT TGGATCCCTA GCCGCCCAT TTGGCGG

37

(2) SEQ ID NO : 46 の情報：  
 (i) 配列の特徴：  
 (A) 配列の長さ：38 塩基対  
 (B) 配列の型：核酸  
 (C) 鎖：一本鎖  
 (D) トポロジー：直鎖状  
 (ii) 分子の型：DNA（合成）  
 (iv) アンチセンス：あり  
 (xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 46 :

CTACTAAGCT TCCATGGTCA GGTCTTTCG ATGCTTAC

38

(2) SEQ ID NO : 47 の情報：  
 (i) 配列の特徴：  
 (A) 配列の長さ：450 塩基対  
 (B) 配列の型：核酸  
 (C) 鎖：一本鎖  
 (D) トポロジー：直鎖状  
 (ix) 配列の特徴：  
 (A) 名称 / キー：Coding Sequence  
 (B) 存在位置：105...320  
 (xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 47 :

10

20

30

GTCGCCGCT	CCCCAGGGTT	CTTATGGTTC	GATATAACCTG	AGTTTGATGG	AAGTCCGATG	60
ACCAGCAGTC	AGCATACGGC	ATGGCCGAAA	AGAGTGGGGT	GATG ATG	GCC GAG GAT	116
				Met Ala	Glu Asp	
GTT CGC	GCC GAG	ATC GTG	GCC AGC	GTT CTC	GAA GTC	1
Val Arg	Ala Glu	Ile Val	Ala Ser	Val Leu	Glu Val	164
5	10			15	Val Val Asn Glu	
					20	
GGC GAT	CAG ATC	GAC AAG	GGC GAC	GTC GTG	GTG CTG	212
Gly Asp	Gln Ile	Asp Lys	Gly Asp	Val Val	Val Leu Glu	
25			30		Ser Met	10
AAG ATG GAG	ATC CCC	GTC CTG	GCC GAA	GCT GCC	GGA ACG	260
Lys Met	Glu Ile	Pro Val	Leu Ala	Glu Ala	Gly Thr	
40			45		Val Ser Lys	
GTG GCG GTA TCG	GTG GGC GAT	GTC ATT	CAG GCC	GGC GAC	CTT ATC	308
Val Ala Val	Ser Val	Gly Asp	Val Ile	Gln Ala	Gly Asp	
55			60		Leu Ile Ala	
					65	
GTG ATC AGC TAGTCGTTGA	TAGTCACTCA	TGTCCACACT	CGGTGATCTG	CTCGCCGAA		366
Val Ile Ser						20
70						
CACACGGTGC	TGCCGGGCAG	CGCGGTGGAC	CACCTGCATG	CGGTGGTCGG	GGAGTGGCAG	426
CTCCTTGCCG	ACTTGTGTT	TGCC				450
(2) SEQ ID NO: 48の情報:						
(i) 配列の特徴:						
(A) 配列の長さ: 71アミノ酸						
(B) 配列の型: アミノ酸						
(C) 鎮: 一本鎮						
(D) トポロジー: 直鎖状						
(ii) 分子の型: タンパク質						30
(v) フラグメントの型: internal						
(xi) 配列の記載: SEQ ID NO: 48:						
Met Ala Glu Asp Val Arg	Ala Glu Ile Val	Ala Ser Val	Leu Glu Val			
1	5	10	15			
Val Val Asn Glu Gly Asp	Gln Ile Asp Lys	Gly Asp Val Val	Val Val Leu			
20	25	30				
Leu Glu Ser Met Lys Met	Glu Ile Pro Val	Leu Ala Glu	Ala Ala Gly			
35	40	45				
Thr Val Ser Lys Val	Ala Val Ser Val	Gly Asp Val Ile	Gln Ala Gly			40
50	55	60				
Asp Leu Ile Ala Val	Ile Ser					
65	70					
(2) SEQ ID NO: 49の情報:						
(i) 配列の特徴:						
(A) 配列の長さ: 750塩基対						
(B) 配列の型: 核酸						
(C) 鎮: 一本鎮						
(D) トポロジー: 直鎖状						
(ix) 配列の特徴:						50

(A) 名称 / キー : Coding Sequence

(B) 存在位置 : 113...640

(D) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 49 :

GGGTACCCAT CGATGGGTTG CGGTTCGGCA CCGAGGTGCT AACGCACCTG CTGACACACT	60
GCTAGTCGAA AACGAGGCTA GTCGCAACGT CGATCACACG AGAGGACTGA CC ATG ACA	118
Met Thr	
1	
ACT TCA CCC GAC CCG TAT GCC GCG CTG CCC AAG CTG CCG TCC TTC AGC	166
Thr Ser Pro Asp Pro Tyr Ala Ala Leu Pro Lys Leu Pro Ser Phe Ser	10
5 10 15	
CTG ACG TCA ACC TCG ATC ACC GAT GGG CAG CCG CTG GCT ACA CCC CAG	214
Leu Thr Ser Thr Ser Ile Thr Asp Gly Gln Pro Leu Ala Thr Pro Gln	
20 25 30	
GTC AGC GGG ATC ATG GGT GCG GGC GGG GCG GAT GCC AGT CCG CAG CTG	262
Val Ser Gly Ile Met Gly Ala Gly Ala Asp Ala Ser Pro Gln Leu	
35 40 45 50	
AGG TGG TCG GGA TTT CCC AGC GAG ACC CGC AGC TTC GCG GTA ACC GTC	310
Arg Trp Ser Gly Phe Pro Ser Glu Thr Arg Ser Phe Ala Val Thr Val	
55 60 65	
TAC GAC CCT GAT GCC CCC ACC CTG TCC GGG TTC TGG CAC TGG GCG GTG	358
Tyr Asp Pro Asp Ala Pro Thr Leu Ser Gly Phe Trp His Trp Ala Val	20
70 75 80	
GCC AAC CTG CCT GCC AAC GTC ACC GAG TTG CCC GAG GGT GTC GGC GAT	406
Ala Asn Leu Pro Ala Asn Val Thr Glu Leu Pro Glu Gly Val Gly Asp	
85 90 95	
GGC CGC GAA CTG CCG GGC GCA CTG ACA TTG GTC AAC GAC GCC GGT	454
Gly Arg Glu Leu Pro Gly Gly Ala Leu Thr Leu Val Asn Asp Ala Gly	
100 105 110	
ATG CGC CGG TAT GTG GGT GCG GCG CCG CCT CCC GGT CAT GGG GTG CAT	502
Met Arg Arg Tyr Val Gly Ala Ala Pro Pro Pro Gly His Gly Val His	
115 120 125 130	
CGC TAC TAC GTC GCG GTA CAC GCG GTG AAG GTC GAA AAG CTC GAC CTC	550
Arg Tyr Tyr Val Ala Val His Ala Val Lys Val Glu Lys Leu Asp Leu	
135 140 145	
CCC GAG GAC GCG AGT CCT GCA TAT CTG GGA TTC AAC CTG TTC CAG CAC	598
Pro Glu Asp Ala Ser Pro Ala Tyr Leu Gly Phe Asn Leu Phe Gln His	
150 155 160	
GCG ATT GCA CGA GCG GTC ATC TTC GGC ACC TAC GAG CAG CGT TAGCGCTTT	649
Ala Ile Ala Arg Ala Val Ile Phe Gly Thr Tyr Glu Gln Arg	
165 170 175	
AGCTGGGTTG CCGACGTCTT GCCGAGCCGA CCGCTTCGTG CAGCGAGCCG AACCCGCCGT	709
CATGCAGCCT GCGGGCAATG CCTTCATGGA TGTCCCTGGC C	750 40
(2) SEQ ID NO : 50 の情報 :	
(i) 配列の特徴 :	
(A) 配列の長さ : 176 アミノ酸	
(B) 配列の型 : アミノ酸	
(C) 鎮 : 一本鎮	
(D) トポロジー : 直鎮状	
(ii) 分子の型 : タンパク質	
(v) フラグメントの型 : internal	
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 50 :	

Met Thr Thr Ser Pro Asp Pro Tyr Ala Ala Leu Pro Lys Leu Pro Ser				
1	5	10	15	
Phe Ser Leu Thr Ser Thr Ser Ile Thr Asp Gly Gln Pro Leu Ala Thr				
20	25	30		
Pro Gln Val Ser Gly Ile Met Gly Ala Gly Gly Ala Asp Ala Ser Pro				
35	40	45		
Gln Leu Arg Trp Ser Gly Phe Pro Ser Glu Thr Arg Ser Phe Ala Val				
50	55	60		10
Thr Val Tyr Asp Pro Asp Ala Pro Thr Leu Ser Gly Phe Trp His Trp				
65	70	75	80	
Ala Val Ala Asn Leu Pro Ala Asn Val Thr Glu Leu Pro Glu Gly Val				
85	90	95		
Gly Asp Gly Arg Glu Leu Pro Gly Gly Ala Leu Thr Leu Val Asn Asp				
100	105	110		
Ala Gly Met Arg Arg Tyr Val Gly Ala Ala Pro Pro Pro Gly His Gly				
115	120	125		20
Val His Arg Tyr Tyr Val Ala Val His Ala Val Lys Val Glu Lys Leu				
130	135	140		
Asp Leu Pro Glu Asp Ala Ser Pro Ala Tyr Leu Gly Phe Asn Leu Phe				
145	150	155	160	
Gln His Ala Ile Ala Arg Ala Val Ile Phe Gly Thr Tyr Glu Gln Arg				
165	170	175		

(2) SEQ ID NO: 51の情報 :

(i) 配列の特徴 :

30

(A) 配列の長さ : 800塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : Cording Sequence

(B) 存在位置 : 18...695

(C) 他の情報 :

(A) 名称 / キー : Signal Sequence

(B) 存在位置 : 18...134

40

(C) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 51 :

TCATGAGGTT CATCGGG GTG ATC CCA CGC CCG CAG CCG CAT TCG GGC CGC Met Ile Pro Arg Pro Gln Pro His Ser Gly Arg	50
-35 -30	
TGG CGA GCC GGT GCC GCA CGC CGC CTC ACC AGC CTG GTG GCC GCC Trp Arg Ala Gly Ala Ala Arg Arg Leu Thr Ser Leu Val Ala Ala Ala	98
-25 -20 -15	
TTT GCG GCG GCC ACA CTG TTG CTT ACC CCC GCG CTG GCA CCA CCG GCA Phe Ala Ala Ala Thr Leu Leu Thr Pro Ala Leu Ala Pro Pro Ala	146
-10 -5 1 5	
TCG GCG GGC TGC CCG GAT GCC GAG GTG GTG TTC GCC CGC GGA ACC GGC Ser Ala Gly Cys Pro Asp Ala Glu Val Val Phe Ala Arg Gly Thr Gly	194
10 15 20	10
GAA CCA CCT GGC CTC GGT CGG GTA GGC CAA GCT TTC GTC AGT TCA TTG Glu Pro Pro Gly Leu Gly Arg Val Gly Gln Ala Phe Val Ser Ser Leu	242
25 30 35	
CGC CAG CAG ACC AAC AAG AGC ATC GGG ACA TAC GGA GTC AAC TAC CCG Arg Gln Gln Thr Asn Lys Ser Ile Gly Thr Tyr Gly Val Asn Tyr Pro	290
40 45 50	
GCC AAC GGT GAT TTC TTG GCC GCT GAC GGC GCG AAC GAC GCC AGC Ala Asn Gly Asp Phe Leu Ala Ala Asp Gly Ala Asn Asp Ala Ser	338
55 60 65	
GAC CAC ATT CAG CAG ATG GCC AGC GCG TGC CGG GCC ACG AGG TTG GTG Asp His Ile Gln Gln Met Ala Ser Ala Cys Arg Ala Thr Arg Leu Val	386
70 75 80	20
CTC GGC TAC TCC CAG GGT GCG GCC GTG ATC GAC ATC GTC ACC GCC Leu Gly Gly Tyr Ser Gln Gly Ala Ala Val Ile Asp Ile Val Thr Ala	434
90 95 100	
GCA CCA CTG CCC GGC CTC GGG TTC ACG CAG CCG TTG CCG CCC GCA GCG Ala Pro Leu Pro Gly Leu Gly Phe Thr Gln Pro Leu Pro Pro Ala Ala	482
105 110 115	
GAC GAT CAC ATC GCC GCG ATC GCC CTG TTC GGG AAT CCC TCG GGC CGC Asp Asp His Ile Ala Ala Ile Ala Leu Phe Gly Asn Pro Ser Gly Arg	530
120 125 130	
GCT GGC GGG CTG ATG AGC GCC CTG ACC CCT CAA TTC GGG TCC AAG ACC Ala Gly Gly Leu Met Ser Ala Leu Thr Pro Gln Phe Gly Ser Lys Thr	578
135 140 145	
ATC AAC CTC TGC AAC AAC GGC GAC CCG ATT TGT TCG GAC GGC AAC CGG Ile Asn Leu Cys Asn Asn Gly Asp Pro Ile Cys Ser Asp Gly Asn Arg	626
150 155 160	30
TGG CGA GCG CAC CTA GGC TAC GTG CCC GGG ATG ACC AAC CAG GCG GCG Trp Arg Ala His Leu Gly Tyr Val Pro Gly Met Thr Asn Gln Ala Ala	674
170 175 180	
CGT TTC GTC GCG AGC AGG ATC TAACGCGAGC CGCCCCATAG ATTCCGGCTA AGCA Arg Phe Val Ala Ser Arg Ile	729
185	
ACGGCTGCGC CGCCGCCCGG CCACGAGTGA CCGCCGCCGA CTGGCACACC GCTTACCAAG	789
GCCTTATGCT G	800
	40

(2) SEQ ID NO: 52の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 226アミノ酸

(B) 配列の型: アミノ酸

(C) 鎮: 一本鎮

(D) トポロジー: 直鎮状

(ii) 分子の型: タンパク質

(v) フラグメントの型: internal

(ix) 配列の特徴:

(A) 名称 / キー: Signal Sequence

(B) 存在位置 : 11...38

(C) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 52 :

Met Ile Pro Arg Pro Gln Pro His Ser Gly Arg Trp Arg Ala Gly Ala	-35	-30	-25	
Ala Arg Arg Leu Thr Ser Leu Val Ala Ala Ala Phe Ala Ala Ala Thr	-20	-15	-10	
Leu Leu Leu Thr Pro Ala Leu Ala Pro Pro Ala Ser Ala Gly Cys Pro	-5	1	5	10
Asp Ala Glu Val Val Phe Ala Arg Gly Thr Gly Glu Pro Pro Gly Leu	15	20	25	
Gly Arg Val Gly Gln Ala Phe Val Ser Ser Leu Arg Gln Gln Thr Asn	30	35	40	
Lys Ser Ile Gly Thr Tyr Gly Val Asn Tyr Pro Ala Asn Gly Asp Phe	45	50	55	
Leu Ala Ala Ala Asp Gly Ala Asn Asp Ala Ser Asp His Ile Gln Gln	60	65	70	20
Met Ala Ser Ala Cys Arg Ala Thr Arg Leu Val Leu Gly Gly Tyr Ser	75	80	85	90
Gln Gly Ala Ala Val Ile Asp Ile Val Thr Ala Ala Pro Leu Pro Gly	95	100	105	
Leu Gly Phe Thr Gln Pro Leu Pro Pro Ala Ala Asp Asp His Ile Ala	110	115	120	
Ala Ile Ala Leu Phe Gly Asn Pro Ser Gly Arg Ala Gly Gly Leu Met	125	130	135	30
Ser Ala Leu Thr Pro Gln Phe Gly Ser Lys Thr Ile Asn Leu Cys Asn	140	145	150	
Asn Gly Asp Pro Ile Cys Ser Asp Gly Asn Arg Trp Arg Ala His Leu	155	160	165	170
Gly Tyr Val Pro Gly Met Thr Asn Gln Ala Ala Arg Phe Val Ala Ser	175	180	185	
Arg Ile				

(2) SEQ ID NO : 53の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 700塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : Cording Sequence

(B) 存在位置 : 73...615

(D) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 53 :

40

CTAGGAAAGC CTTCCCTGAG TAAGTATTGC CTTCGTTGCA TACCGCCCTT TACCTGCGTT 60  
 AATCTGCATT TT ATG ACA GAA TAC GAA GGG CCT AAG ACA AAA TTC CAC GCG 111  
 Met Thr Glu Tyr Glu Gly Pro Lys Thr Lys Phe His Ala  
 1 5 10

TTA ATG CAG GAA CAG ATT CAT AAC GAA TTC ACA GCG GCA CAA CAA TAT 159  
 Leu Met Gln Glu Gln Ile His Asn Glu Phe Thr Ala Ala Gln Gln Tyr  
 15 20 25

GTC GCG ATC GCG GTT TAT TTC GAC AGC GAA GAC CTG CCG CAG TTG GCG 207  
 Val Ala Ile Ala Val Tyr Phe Asp Ser Glu Asp Leu Pro Gln Leu Ala  
 30 35 40 45 10

AAG CAT TTT TAC AGC CAA GCG GTC GAG GAA CGA AAC CAT GCA ATG ATG 255  
 Lys His Phe Tyr Ser Gln Ala Val Glu Glu Arg Asn His Ala Met Met  
 50 55 60

CTC GTG CAA CAC CTG CTC GAC CGC GAC CTT CGT GTC GAA ATT CCC GGC 303  
 Leu Val Gln His Leu Leu Asp Arg Asp Leu Arg Val Glu Ile Pro Gly  
 65 70 75

GTA GAC ACG GTG CGA AAC CAG TTC GAC AGA CCC CGC GAG GCA CTG GCG 351  
 Val Asp Thr Val Arg Asn Gln Phe Asp Arg Pro Arg Glu Ala Leu Ala  
 80 85 90

CTG GCG CTC GAT CAG GAA CGC ACA GTC ACC GAC CAG GTC GGT CGG CTG 399  
 Leu Ala Leu Asp Gln Glu Arg Thr Val Thr Asp Gln Val Gly Arg Leu  
 95 100 105 20

ACA GCG GTG GCC CGC GAC GAG GGC GAT TTC CTC GGC GAG CAG TTC ATG 447  
 Thr Ala Val Ala Arg Asp Glu Gly Asp Phe Leu Gly Glu Gln Phe Met  
 110 115 120 125

CAG TGG TTC TTG CAG GAA CAG ATC GAA GAG GTG GCC TTG ATG GCA ACC 495  
 Gln Trp Phe Leu Gln Glu Gln Ile Glu Val Ala Leu Met Ala Thr  
 130 135 140

CTG GTG CGG GTT GCC GAT CGG GCC GGG GCC AAC CTG TTC GAG CTA GAG 543  
 Leu Val Arg Val Ala Asp Arg Ala Gly Ala Asn Leu Phe Glu Leu Glu  
 145 150 155

AAC TTC GTC GCA CGT GAA GTG GAT GTG GCG CCG GCC GCA TCA GGC GCC 591  
 Asn Phe Val Ala Arg Glu Val Asp Val Ala Pro Ala Ala Ser Gly Ala  
 160 165 170

CCG CAC GCT GCC GGG GGC CGC CTC TAGATCCCTG GCGGGGATCA GCGAGTGGTC 645  
 Pro His Ala Ala Gly Gly Arg Leu  
 175 180 30

CCGTTGCCCGCC GCCCCGTCTTC CAGCCAGGCC TTGGTGCGGC CGGGGTGGTG AGTAC 700

(2) SEQ ID NO: 54の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 181アミノ酸

(B) 配列の型: アミノ酸

(C) 鎖: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: タンパク質

(v) フラグメントの型: internal

(xi) 配列の記載: SEQ ID NO: 54:

Met Thr Glu Tyr Glu Glu Gly Pro Lys Thr Lys Phe His Ala Leu Met Gln  
 1 5 10 15

Glu Gln Ile His Asn Glu Phe Thr Ala Ala Gln Gln Tyr Val Ala Ile  
 20 25 30

Ala Val Tyr Phe Asp Ser Glu Asp Leu Pro Gln Leu Ala Lys His Phe  
 35 40 45

Tyr Ser Gln Ala Val Glu Glu Arg Asn His Ala Met Met Leu Val Gln  
 50 55 60

His Leu Leu Asp Arg Asp Leu Arg Val Glu Ile Pro Gly Val Asp Thr  
 65 70 75 80

Val Arg Asn Gln Phe Asp Arg Pro Arg Glu Ala Leu Ala Leu Ala Leu  
 85 90 95

Asp Gln Glu Arg Thr Val Thr Asp Gln Val Gly Arg Leu Thr Ala Val  
 100 105 110

Ala Arg Asp Glu Gly Asp Phe Leu Gly Glu Gln Phe Met Gln Trp Phe  
 115 120 125

Leu Gln Glu Gln Ile Glu Glu Val Ala Leu Met Ala Thr Leu Val Arg  
 130 135 140

Val Ala Asp Arg Ala Gly Ala Asn Leu Phe Glu Leu Glu Asn Phe Val  
 145 150 155 160

Ala Arg Glu Val Asp Val Ala Pro Ala Ala Ser Gly Ala Pro His Ala  
 165 170 175

Ala Gly Gly Arg Leu  
 180

( 2 ) SEQ ID NO : 55 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 950 塩基対

( B ) 配列の型 : 核酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : Coding Sequence

( B ) 存在位置 : 133...918

( D ) 他の情報 :

( A ) 名称 / キー : Signal Sequence

( B ) 存在位置 : 133...233

( D ) 他の情報 :

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 55 :

10

20

30

TGGGCTCGGC ACTGGCTCTC CCACGGTGGC GCGCTGATT CTCCCCACGG TAGGCGTTGC	60		
GACGCATGTT CTTCACCGTC TATCCACAGC TACCGACATT TGCTCCGGCT GGATCGCGGG	120		
TAAAATTCCG TC GTG AAC AAT CGA CCC ATC CGC CTG CTG ACA TCC GGC AGG Met Asn Asn Arg Pro Ile Arg Leu Leu Thr Ser Gly Arg	171		
-30	-25		
GCT GGT TTG GGT GCG GGC GCA TTG ATC ACC GCC GTC GTC CTG CTC ATC Ala Gly Leu Gly Ala Gly Ala Leu Ile Thr Ala Val Val Leu Leu Ile	219		
-20	-15	-10	-5
GCC TTG GGC GCT GTT TGG ACC CCG GTT GCC TTC GCC GAT GGA TGC CCG Ala Leu Gly Ala Val Trp Thr Pro Val Ala Phe Ala Asp Gly Cys Pro	267		
1	5	10	
GAC GCC GAA GTC ACG TTC GCC CGC GGC ACC GGC GAG CCG CCC GGA ATC Asp Ala Glu Val Thr Phe Ala Arg Gly Thr Gly Glu Pro Pro Gly Ile	315		
15	20	25	
GGG CGC GTT GGC CAG GCG TTC GTC GAC TCG CTG CGC CAG CAG ACT GGC Gly Arg Val Gly Gln Ala Phe Val Asp Ser Leu Arg Gln Gln Thr Gly	363		
30	35	40	
ATG GAG ATC GGA GTA TAC CCG GTG AAT TAC GCC GCC AGC CGC CTA CAG Met Glu Ile Gly Val Tyr Pro Val Asn Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Gln	411		
45	50	55	60
CTG CAC GGG GGA GAC GGC GCC AAC GAC GCC ATA TCG CAC ATT AAG TCC Leu His Gly Gly Asp Gly Ala Asn Asp Ala Ile Ser His Ile Lys Ser	459		
65	70	75	
ATG GCC TCG TCA TGC CCG AAC ACC AAG CTG GTC TTG GGC GGC TAT TCG Met Ala Ser Ser Cys Pro Asn Thr Lys Leu Val Leu Gly Gly Tyr Ser	507		
80	85	90	
CAG GGC GCA ACC GTG ATC GAT ATC GTG GCC GGG GTT CCG TTG GGC AGC Gln Gly Ala Thr Val Ile Asp Ile Val Ala Gly Val Pro Leu Gly Ser	555		
95	100	105	
ATC AGC TTT GGC AGT CCG CTA CCT GCG GCA TAC GCA GAC AAC GTC GCA Ile Ser Phe Gly Ser Pro Leu Pro Ala Ala Tyr Ala Asp Asn Val Ala	603		
110	115	120	
GCG GTC GCG GTC TTC GGC AAT CCG TCC AAC CGC GCC GGC GGA TCG CTG Ala Val Ala Val Phe Gly Asn Pro Ser Asn Arg Ala Gly Gly Ser Leu	651		
125	130	135	140

TCG AGC CTG AGC CCG CTA TTC GGT TCC AAG GCG ATT GAC CTG TGC AAT Ser Ser Leu Ser Pro Leu Phe Gly Ser Lys Ala Ile Asp Leu Cys Asn 145 150 155	699
CCC ACC GAT CCG ATC TGC CAT GTG GGC CCC GGC AAC GAA TTC AGC GGA Pro Thr Asp Pro Ile Cys His Val Gly Pro Gly Asn Glu Phe Ser Gly 160 165 170	747
CAC ATC GAC GGC TAC ATA CCC ACC TAC ACC ACC CAG GCG GCT AGT TTC His Ile Asp Gly Tyr Ile Pro Thr Tyr Thr Gln Ala Ala Ser Phe 175 180 185	795
GTC GTG CAG AGG CTC CGC GCC GGG TCG GTG CCA CAT CTG CCT GGA TCC Val Val Gln Arg Leu Arg Ala Gly Ser Val Pro His Leu Pro Gly Ser 190 195 200	843
GTC CCG CAG CTG CCC GGG TCT GTC CTT CAG ATG CCC GGC ACT GCC GCA Val Pro Gln Leu Pro Gly Ser Val Leu Gln Met Pro Gly Thr Ala Ala 205 210 215 220	891
CCG GCT CCC GAA TCG CTG CAC GGT CGC TGACGCTTG TCAGTAAGCC CATAAAA Pro Ala Pro Glu Ser Leu His Gly Arg 225	945
TCGCG	950
<p>( 2 ) SEQ ID NO : 56 の情報 :</p> <p>( i ) 配列の特徴 :</p> <p>( A ) 配列の長さ : 262 アミノ酸</p> <p>( B ) 配列の型 : アミノ酸</p> <p>( C ) 鎖 : 一本鎖</p> <p>( D ) トポロジー : 直鎖状</p> <p>( ii ) 分子の型 : タンパク質</p> <p>( v ) フラグメントの型 : internal</p> <p>( ix ) 配列の特徴 :</p> <p>( A ) 名称 / キー : Signal Sequence</p> <p>( B ) 存在位置 : 1...33</p> <p>( D ) 他の情報 :</p> <p>( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 57 :</p>	

10

20

30

Met Asn Asn Arg Pro Ile Arg Leu Leu Thr Ser Gly Arg Ala Gly Leu			
-30	-25	-20	
Gly Ala Gly Ala Leu Ile Thr Ala Val Val Leu Leu Ile Ala Leu Gly			
-15	-10	-5	
Ala Val Trp Thr Pro Val Ala Phe Ala Asp Gly Cys Pro Asp Ala Glu			
1	5	10	15
Val Thr Phe Ala Arg Gly Thr Gly Glu Pro Pro Gly Ile Gly Arg Val			
20	25	30	
Gly Gln Ala Phe Val Asp Ser Leu Arg Gln Gln Thr Gly Met Glu Ile			
35	40	45	
Gly Val Tyr Pro Val Asn Tyr Ala Ala Ser Arg Leu Gln Leu His Gly			
50	55	60	
Gly Asp Gly Ala Asn Asp Ala Ile Ser His Ile Lys Ser Met Ala Ser			
65	70	75	
Ser Cys Pro Asn Thr Lys Leu Val Leu Gly Gly Tyr Ser Gln Gly Ala			
80	85	90	95
Thr Val Ile Asp Ile Val Ala Gly Val Pro Leu Gly Ser Ile Ser Phe			
100	105	110	
Gly Ser Pro Leu Pro Ala Ala Tyr Ala Asp Asn Val Ala Ala Val Ala			
115	120	125	
Val Phe Gly Asn Pro Ser Asn Arg Ala Gly Gly Ser Leu Ser Ser Leu			
130	135	140	
Ser Pro Leu Phe Gly Ser Lys Ala Ile Asp Leu Cys Asn Pro Thr Asp			
145	150	155	
Pro Ile Cys His Val Gly Pro Gly Asn Glu Phe Ser Gly His Ile Asp			
160	165	170	175
Gly Tyr Ile Pro Thr Tyr Thr Thr Gln Ala Ala Ser Phe Val Val Gln			
180	185	190	
Arg Leu Arg Ala Gly Ser Val Pro His Leu Pro Gly Ser Val Pro Gln			
195	200	205	
Leu Pro Gly Ser Val Leu Gln Met Pro Gly Thr Ala Ala Pro Ala Pro			
210	215	220	
Glu Ser Leu His Gly Arg			
225			40
(2) SEQ ID NO: 57の情報:			
(i) 配列の特徴:			
(A) 配列の長さ: 1000塩基対			
(B) 配列の型: 核酸			
(C) 鎖: 一本鎖			
(D) トポロジー: 直鎖状			
(ix) 配列の特徴:			
(A) 名称 / キー: Cording Sequence			
(B) 存在位置: 94...966			50

(D) 他の情報 :

(A) 名称 / キー : Signal Sequence

(B) 存在位置 : 94...264

(D) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 57 :

CGAGGAGACC GACGATCTGC TCGACGAAAT CGACGACGTC CTCGAGGAGA ACGCCGAGGA	60	
CTTCGTCCGC GCATACGTCC AAAAGGGCGG ACA GTG ACC TGG CCG TTG CCC GAT Met Thr Trp Pro Leu.Pro Asp -55 -50	114	
CGC CTG TCC ATT AAT TCA CTC TCT GGA ACA CCC GCT GTA GAC CTA TCT Arg Leu Ser Ile Asn Ser Leu Ser Gly Thr Pro Ala Val Asp Leu Ser -45 -40 -35	162	
TCT TTC ACT GAC TTC CTG CGC CGC CAG GCG CCG GAG TTG CTG CCG GCA Ser Phe Thr Asp Phe Leu Arg Arg Gln Ala Pro Glu Leu Leu Pro Ala -30 -25 -20	210	
AGC ATC AGC GGC GGT GCG CCA CTC GCA GGC GGC GAT GCG CAA CTG CCG Ser Ile Ser Gly Gly Ala Pro Leu Ala Gly Gly Asp Ala Gln Leu Pro -15 -10 -5	258	10
CAC GGC ACC ACC ATT GTC GCG CTG AAA TAC CCC GGC GGT GTT GTC ATG His Gly Thr Thr Ile Val Ala Leu Lys Tyr Pro Gly Gly Val Val Met 1 5 10 15	306	
GCG GGT GAC CGG CGT TCG ACG CAG GGC AAC ATG ATT TCT GGG CGT GAT Ala Gly Asp Arg Arg Ser Thr Gln Gly Asn Met Ile Ser Gly Arg Asp 20 25 30	354	
GTG CGC AAG GTG TAT ATC ACC GAT GAC TAC ACC GCT ACC GGC ATC GCT Val Arg Lys Val Tyr Ile Thr Asp Asp Tyr Thr Ala Thr Gly Ile Ala 35 40 45	402	
GCC ACG GCT GCG GTC GCG GTT GAG TTT GCC CCG CTG TAT GCC GTG GAA Gly Thr Ala Ala Val Ala Val Glu Phe Ala Arg Leu Tyr Ala Val Glu 50 55 60	450	20
CTT GAG CAC TAC GAG AAG CTC GAG GGT GTG CCG CTG ACG TTT GCC GGC Leu His Tyr Glu Lys Leu Glu Gly Val Pro Leu Thr Phe Ala Gly 65 70 75	498	
AAA ATC AAC CGG CTG GCG ATT ATG GTG CGT GGC AAT CTG GCG GCC GCG Lys Ile Asn Arg Leu Ala Ile Met Val Arg Gly Asn Leu Ala Ala Ala 80 85 90 95	546	
ATG CAG GGT CTG CTG GCG TTG CCG TTG CTG GCG GGC TAC GAC ATT CAT Met Gln Gly Leu Leu Ala Leu Pro Leu Leu Ala Gly Tyr Asp Ile His 100 105 110	594	
GCG TCT GAC CCG CAG AGC GCG GGT CGT ATC GTT TCG TTC GAC GCC GCC Ala Ser Asp Pro Gln Ser Ala Gly Arg Ile Val Ser Phe Asp Ala Ala 115 120 125	642	
GGC GGT TGG AAC ATC GAG GAA GAG GGC TAT CAG GCG GTG GGC TCG GGT Gly Gly Trp Asn Ile Glu Glu Glu Gly Tyr Gln Ala Val Gly Ser Gly 130 135 140	690	30
TCG CTG TTC GCG AAG TCG TCG ATG AAG AAG TTG TAT TCG CAG GTT ACC Ser Leu Phe Ala Lys Ser Ser Met Lys Lys Leu Tyr Ser Gln Val Thr 145 150 155	738	
GAC GGT GAT TCG GGG CTG CCG GTG GCG GTC GAG GCG CTC TAC GAC GCC Asp Gly Asp Ser Gly Leu Arg Val Ala Val Glu Ala Leu Tyr Asp Ala 160 165 170 175	786	
GCC GAC GAC GAC TCC GCC ACC GGC GGT CCG GAC CTG GTG CGG GGC ATC Ala Asp Asp Asp Ser Ala Thr Gly Gly Pro Asp Leu Val Arg Gly Ile 180 185 190	834	
TTT CCG ACG GCG GTG ATC ATC GAC GCG GAC GGG GCG GTT GAC GTG CCG Phe Pro Thr Ala Val Ile Ile Asp Ala Asp Gly Ala Val Asp Val Pro 195 200 205	882	40
GAG AGC CGG ATT GCC GAA TTG GCC CGC GCG ATC ATC GAA AGC CGT TCG Glu Ser Arg Ile Ala Glu Leu Ala Arg Ala Ile Ile Glu Ser Arg Ser 210 215 220	930	
GGT GCG GAT ACT TTC GGC TCC GAT GGC GGT GAG AAG TGAGTTTCC GTATTT Gly Ala Asp Thr Phe Gly Ser Asp Gly Gly Glu Lys 225 230 235	982	
CATCTCGCCT GAGCAGGC	1000	

(2) SEQ ID NO: 58の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 291アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : タンパク質

(v) フラグメントの型 : internal

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : Signal Sequence

(B) 存在位置 : 1...56

(D) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 58 :

Met Thr Trp Pro Leu Pro Asp Arg Leu Ser Ile Asn Ser Leu Ser Gly -55                    -50                    -45	10
Thr Pro Ala Val Asp Leu Ser Ser Phe Thr Asp Phe Leu Arg Arg Gln -40                    -35                    -30                    -25	
Ala Pro Glu Leu Leu Pro Ala Ser Ile Ser Gly Gly Ala Pro Leu Ala -20                    -15                    -10	
Gly Gly Asp Ala Gln Leu Pro His Gly Thr Thr Ile Val Ala Leu Lys -5                    1                        5	
Tyr Pro Gly Gly Val Val Met Ala Gly Asp Arg Arg Ser Thr Gln Gly 10                    15                    20	
Asn Met Ile Ser Gly Arg Asp Val Arg Lys Val Tyr Ile Thr Asp Asp 25                    30                    35                    40	20
Tyr Thr Ala Thr Gly Ile Ala Gly Thr Ala Ala Val Ala Val Glu Phe 45                    50                    55	
Ala Arg Leu Tyr Ala Val Glu Leu Glu His Tyr Glu Lys Leu Glu Gly 60                    65                    70	
Val Pro Leu Thr Phe Ala Gly Lys Ile Asn Arg Leu Ala Ile Met Val 75                    80                    85	
Arg Gly Asn Leu Ala Ala Met Gln Gly Leu Leu Ala Leu Pro Leu 90                    95                    100	
Leu Ala Gly Tyr Asp Ile His Ala Ser Asp Pro Gln Ser Ala Gly Arg 105                    110                    115                    120	30
Ile Val Ser Phe Asp Ala Ala Gly Gly Trp Asn Ile Glu Glu Glu Gly 125                    130                    135	
Tyr Gln Ala Val Gly Ser Gly Ser Leu Phe Ala Lys Ser Ser Met Lys 140                    145                    150	
Lys Leu Tyr Ser Gln Val Thr Asp Gly Asp Ser Gly Leu Arg Val Ala 155                    160                    165	
Val Glu Ala Leu Tyr Asp Ala Ala Asp Asp Asp Ser Ala Thr Gly Gly 170                    175                    180	40
Pro Asp Leu Val Arg Gly Ile Phe Pro Thr Ala Val Ile Ile Asp Ala 185                    190                    195                    200	
Asp Gly Ala Val Asp Val Pro Glu Ser Arg Ile Ala Glu Leu Ala Arg 205                    210                    215	
Ala Ile Ile Glu Ser Arg Ser Gly Ala Asp Thr Phe Gly Ser Asp Gly 220                    225                    230	
Gly Glu Lys 235	

(2) SEQ ID NO : 59の情報 :

(i) 配列の特徴 :

- (A) 配列の長さ : 900 塩基対
- (B) 配列の型 : 核酸
- (C) 鎖 : 一本鎖
- (D) トポロジー : 直鎖状
- (ix) 配列の特徴 :
- (A) 名称 / キー : Coding Sequence
- (B) 存在位置 : 66...808
- (D) 他の情報 :
- (xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 59 :

TTGGCCCGCG CGATCATCGA AAGCCGTTCG GGTGCGGATA CTTTCGGCTC CGATGGCGGT GAGAA GTG AGT TTT CCG TAT TTC ATC TCG CCT GAG CAG GCG ATG CGC GAG Met Ser Phe Pro Tyr Phe Ile Ser Pro Glu Gln Ala Met Arg Glu 1 5 10 15	60 110 15
CGC AGC GAG TTG GCG CGT AAG GGC ATT GCG CGG GCC AAA AGC GTG GTG Arg Ser Glu Leu Ala Arg Lys Gly Ile Ala Arg Ala Lys Ser Val Val 20 25 30	158
GCG CTG GCC TAT GCC GGT GGT GTG CTG TTC GTC GCG GAG AAT CCG TCG Ala Leu Ala Tyr Ala Gly Gly Val Leu Phe Val Ala Glu Asn Pro Ser 35 40 45	206
CGG TCG CTG CAG AAG ATC AGT GAG CTC TAC GAT CGG GTG GGT TTT GCG Arg Ser Leu Gln Lys Ile Ser Glu Leu Tyr Asp Arg Val Gly Phe Ala 50 55 60	254 10
GCT GCG GGC AAG TTC AAC GAG TTC GAC AAT TTG CGC CGC GGC GGG ATC Ala Ala Gly Lys Phe Asn Glu Phe Asp Asn Leu Arg Arg Gly Gly Ile 65 70 75	302
CAG TTC GCC GAC ACC CGC GGT TAC GCC TAT GAC CGT CGT GAC GTC ACG Gln Phe Ala Asp Thr Arg Gly Tyr Ala Tyr Asp Arg Arg Asp Val Thr 80 85 90 95	350
GGT CGG CAG TTG GCC AAT GTC TAC GCG CAG ACT CTA GGC ACC ATC TTC Gly Arg Gln Leu Ala Asn Val Tyr Ala Gln Thr Leu Gly Thr Ile Phe 100 105 110	398
ACC GAA CAG GCC AAG CCC TAC GAG GTT GAG TTG TGT GTG GCC GAG GTG Thr Glu Gln Ala Lys Pro Tyr Glu Val Glu Leu Cys Val Ala Glu Val 115 120 125	446
GCG CAT TAC GGC GAG ACG AAA CGC CCT GAG TTG TAT CGT ATT ACC TAC Ala His Tyr Gly Glu Thr Lys Arg Pro Glu Leu Tyr Arg Ile Thr Tyr 130 135 140	494
GAC GGG TCG ATC GCC GAC GAG CCG CAT TTC GTG GTG ATG GGC GGC ACC Asp Gly Ser Ile Ala Asp Glu Pro His Phe Val Val Met Gly Gly Thr 145 150 155	542
ACG GAG CCG ATC GCC AAC GCG CTC AAA GAG TCG TAT GCC GAG AAC GCC Thr Glu Pro Ile Ala Asn Ala Leu Lys Glu Ser Tyr Ala Glu Asn Ala 160 165 170 175	590 30
AGC CTG ACC GAC GCC CTG CGT ATC GCG GTC GCT GCA TTG CGG GCC GGC Ser Leu Thr Asp Ala Leu Arg Ile Ala Val Ala Ala Leu Arg Ala Gly 180 185 190	638
AGT GCC GAC ACC TCG GGT GAT CAA CCC ACC CTT GGC GTG GCC AGC Ser Ala Asp Thr Ser Gly Gly Asp Gln Pro Thr Leu Gly Val Ala Ser 195 200 205	686
TTA GAG GTG GCC GTT CTC GAT GCC AAC CGG CCA CGG CGC GCG TTC CGG Leu Glu Val Ala Val Leu Asp Ala Asn Arg Pro Arg Arg Ala Phe Arg 210 215 220	734
CGC ATC ACC GGC TCC GCC CTG CAA GCG TTG CTG GTA GAC CAG GAA AGC Arg Ile Thr Gly Ser Ala Leu Gln Ala Leu Val Asp Gln Glu Ser 225 230 235	782 40
CCG CAG TCT GAC GGC GAA TCG TCG GG CTGAGTCCGA AAGTCCGACG CGTGTCTG Pro Gln Ser Asp Gly Glu Ser Ser Gly 240 245	836
GGACCCCGCT GCGACGTAA CTGCGCTAA CCCCCGGCTCG ACACCGTCGCC GGCGTCCTG	896
ACTT	900
(2) SEQ ID NO: 60の情報:	
(i) 配列の特徴:	
(A) 配列の長さ: 248アミノ酸	50

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：タンパク質

(v) フラグメントの型：internal

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO: 60 :

Met	Ser	Phe	Pro	Tyr	Phe	Ile	Ser	Pro	Glu	Gln	Ala	Met	Arg	Glu	Arg
1		5				10						15			

Ser	Glu	Leu	Ala	Arg	Lys	Gly	Ile	Ala	Arg	Ala	Lys	Ser	Val	Val	Ala
20						25						30			

Leu	Ala	Tyr	Ala	Gly	Gly	Val	Leu	Phe	Val	Ala	Glu	Asn	Pro	Ser	Arg
35						40					45				

Ser	Leu	Gln	Lys	Ile	Ser	Glu	Leu	Tyr	Asp	Arg	Val	Gly	Phe	Ala	Ala
50						55					60				

Ala	Gly	Lys	Phe	Asn	Glu	Phe	Asp	Asn	Leu	Arg	Arg	Gly	Gly	Ile	Gln
65					70				75			80			

Phe	Ala	Asp	Thr	Arg	Gly	Tyr	Ala	Tyr	Asp	Arg	Arg	Asp	Val	Thr	Gly
					85				90			95			

Arg	Gln	Leu	Ala	Asn	Val	Tyr	Ala	Gln	Thr	Leu	Gly	Thr	Ile	Phe	Thr
100					105				110						

Glu	Gln	Ala	Lys	Pro	Tyr	Glu	Val	Glu	Leu	Cys	Val	Ala	Glu	Val	Ala
115					120				125						

His	Tyr	Gly	Glu	Thr	Lys	Arg	Pro	Glu	Leu	Tyr	Arg	Ile	Thr	Tyr	Asp
130					135				140						

Gly	Ser	Ile	Ala	Asp	Glu	Pro	His	Phe	Val	Val	Met	Gly	Gly	Thr	Thr
145					150				155			160			

Glu	Pro	Ile	Ala	Asn	Ala	Leu	Lys	Glu	Ser	Tyr	Ala	Glu	Asn	Ala	Ser
165					170				175						

Leu	Thr	Asp	Ala	Leu	Arg	Ile	Ala	Val	Ala	Ala	Leu	Arg	Ala	Gly	Ser
180					185				190						

Ala	Asp	Thr	Ser	Gly	Gly	Asp	Gln	Pro	Thr	Leu	Gly	Val	Ala	Ser	Leu
195					200				205						

Glu	Val	Ala	Val	Leu	Asp	Ala	Asn	Arg	Pro	Arg	Arg	Ala	Phe	Arg	Arg
210					215				220						

Ile	Thr	Gly	Ser	Ala	Leu	Gln	Ala	Leu	Leu	Val	Asp	Gln	Glu	Ser	Pro
225					230				235			240			

Gln	Ser	Asp	Gly	Glu	Ser	Ser	Gly								
					245										

(2) SEQ ID NO: 61の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 1560 塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : Coding Sequence

(B) 存在位置 : 98...1487

(D) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 61 :

40

10

20

30

40

50

GAGTCATTGC CTGGTCGGCG TCATTCGTA CTAGTCGGTT GTCGGACTTG ACCTACTGGG TCAGGCCGAC GAGCACTCGA CCATTAGGGT AGGGGCC GTG ACC CAC TAT GAC GTC Met Thr His Tyr Asp Val	60 115
	1                           5
GTC GTT CTC GGA GCC GGT CCC GGC GGG TAT GTC GCG GCG ATT CGC GCC Val Val Leu Gly Ala Gly Pro Gly Gly Tyr Val Ala Ala Ile Arg Ala	163
	10                       15                       20
GCA CAG CTC GGC CTG AGC ACT GCA ATC GTC GAA CCC AAG TAC TGG GGC Ala Gln Leu Gly Leu Ser Thr Ala Ile Val Glu Pro Lys Tyr Trp Gly	211
	25                       30                       35
GGA GTA TGC CTC AAT GTC GGC TGT ATC CCA TCC AAG GCG CTG TTG CGC Gly Val Cys Leu Asn Val Gly Cys Ile Pro Ser Lys Ala Leu Leu Arg	259
	40                       45                       50
AAC GCC GAA CTG GTC CAC ATC TTC ACC AAG GAC GCC AAA GCA TTT GGC Asn Ala Glu Leu Val His Ile Phe Thr Lys Asp Ala Lys Ala Phe Gly	307
	55                       60                       65                       70
ATC AGC GGC GAG GTG ACC TTC GAC TAC GGC ATC GCC TAT GAC CGC AGC Ile Ser Gly Glu Val Thr Phe Asp Tyr Gly Ile Ala Tyr Asp Arg Ser	355
	75                       80                       85
CGA AAG GTA GCC GAG GGC AGG GTG GCC GGT GTG CAC TTC CTG ATG AAG Arg Lys Val Ala Glu Gly Arg Val Ala Gly Val His Phe Leu Met Lys	403 ..
	90                       95                       100
AAG AAC AAG ATC ACC GAG ATC CAC GGG TAC GGC ACA TTT GCC GAC GCC Lys Asn Lys Ile Thr Glu Ile His Gly Tyr Gly Thr Phe Ala Asp Ala	451
	105                      110                      115
AAC ACG TTG TTG GTT GAT CTC AAC GAC GGC GGT ACA GAA TCG GTC ACG Asn Thr Leu Leu Val Asp Leu Asn Asp Gly Gly Thr Glu Ser Val Thr	499
	120                      125                      130
TTC GAC AAC GCC ATC ATC GCG ACC GGC AGT AGC ACC CGG CTG GTT CCC Phe Asp Asn Ala Ile Ile Ala Thr Gly Ser Ser Thr Arg Leu Val Pro	547
	135                      140                      145                      150
GGC ACC TCA CTG TCG GCC AAC GTA GTC ACC TAC GAG GAA CAG ATC CTG Gly Thr Ser Leu Ser Ala Asn Val Val Thr Tyr Glu Glu Gln Ile Leu	595
	155                      160                      165
TCC CGA GAG CTG CCG AAA TCG ATC ATT ATT GCC GGA GCT GGT GCC ATT Ser Arg Glu Leu Pro Lys Ser Ile Ile Ala Gly Ala Gly Ala Ile	643
	170                      175                      180
GGC ATG GAG TTC GGC TAC GTG CTG AAG AAC TAC GGC GTT GAC GTG ACC Gly Met Glu Phe Gly Tyr Val Leu Lys Asn Tyr Gly Val Asp Val Thr	691
	30

185	190	195	
ATC GTG GAA TTC CTT CCG CGG GCG CTG CCC AAC GAG GAC GCC GAT GTG Ile Val Glu Phe Leu Pro Arg Ala Leu Pro Asn Glu Asp Ala Asp Val 200 205 210			739
TCC AAG GAG ATC GAG AAG CAG TTC AAA AAG CTG GGT GTC ACG ATC CTG Ser Lys Glu Ile Glu Lys Gln Phe Lys Lys Leu Gly Val Thr Ile Leu 215 220 225 230			787
ACC GCC ACG AAG GTC GAG TCC ATC GCC GAT GGC GGG TCG CAG GTC ACC Thr Ala Thr Lys Val Glu Ser Ile Ala Asp Gly Gly Ser Gln Val Thr 235 240 245			835
GTG ACC GTC ACC AAG GAC GGC GTG GCG CAA GAG CTT AAG GCG GAA AAG Val Thr Val Thr Lys Asp Gly Val Ala Gln Glu Leu Lys Ala Glu Lys 250 255 260			883
GTG TTG CAG GCC ATC GGA TTT GCG CCC AAC GTC GAA GGG TAC GGG CTG Val Leu Gln Ala Ile Gly Phe Ala Pro Asn Val Glu Gly Tyr Gly Leu 265 270 275			931
GAC AAG GCA GGC GTC GCG CTG ACC GAC CGC AAG GCT ATC GGT GTC GAC Asp Lys Ala Gly Val Ala Leu Thr Asp Arg Lys Ala Ile Gly Val Asp 280 285 290			979
GAC TAC ATG CGT ACC AAC GTG GGC CAC ATC TAC GCT ATC GGC GAT GTC Asp Tyr Met Arg Thr Asn Val Gly His Ile Tyr Ala Ile Gly Asp Val 295 300 305 310			1027
AAT GGA TTA CTG CAG CTG GCG CAC GTC GCC GAG GCA CAA GGC GTG GTA Asn Gly Leu Leu Gln Leu Ala His Val Ala Glu Ala Gln Gly Val Val 315 320 325			1075
GCC GCC GAA ACC ATT GCC GGT GCA GAG ACT TTG ACG CTG GGC GAC CAT Ala Ala Glu Thr Ile Ala Gly Ala Glu Thr Leu Thr Leu Gly Asp His 330 335 340			1123
CGG ATG TTG CCG CGC GCG ACG TTC TGT CAG CCA AAC GTT GCC AGC TTC Arg Met Leu Pro Arg Ala Thr Phe Cys Gln Pro Asn Val Ala Ser Phe 345 350 355			1171
GGG CTC ACC GAG CAG CAA GCC CGC AAC GAA GGT TAC GAC GTG GTG GTG Gly Leu Thr Glu Gln Gln Ala Arg Asn Glu Gly Tyr Asp Val Val Val 360 365 370			1219
GCC AAG TTC CCG TTC ACG GCC AAC GGC AAG GCG CAC GGC GTG GGT GAC Ala Lys Phe Pro Phe Thr Ala Asn Ala Lys Ala His Gly Val Gly Asp 375 380 385 390			1267
CCC AGT GGG TTC GTC AAG CTG GTG GCC GAC GGC AAG CAC GGC GAG CTA Pro Ser Gly Phe Val Lys Leu Val Ala Asp Ala Lys His Gly Glu Leu 395 400 405			1315
CTG GGT GGG CAC CTG GTC GGC CAC GAC GTG GCC GAG CTG CTG CCG GAG Leu Gly His Leu Val Gly His Asp Val Ala Glu Leu Leu Pro Glu 410 415 420			1363
CTC ACG CTG GCG CAG AGG TGG GAC CTG ACC GCC AGC GAG CTG GCT CGC Leu Thr Leu Ala Gln Arg Trp Asp Leu Thr Ala Ser Glu Leu Ala Arg 425 430 435			1411
AAC GTC CAC ACC CAC CCA ACG ATG TCT GAG GCG CTG CAG GAG TGC TTC Asn Val His Thr His Pro Thr Met Ser Glu Ala Leu Gln Glu Cys Phe 440 445 450			1459
CAC GGC CTG GTT GGC CAC ATG ATC AAT T TCTGAGCGGC TCATGACGAG GCGCG His Gly Leu Val Gly His Met Ile Asn Phe			1512
455 460			
CGAGCACTGA CACCCCCCAG ATCATCATGG GTGCCATCGG TGGTGTGG			1560

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 464 アミノ酸

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : タンパク質

( v ) フラグメントの型 : internal

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 62 :

Met Thr His Tyr Asp Val Val Val Leu Gly Ala Gly Pro Gly Gly Tyr  
 1 5 10 15  
 Val Ala Ala Ile Arg Ala Ala Gln Leu Gly Leu Ser Thr Ala Ile Val  
 20 25 30  
 Glu Pro Lys Tyr Trp Gly Gly Val Cys Leu Asn Val Gly Cys Ile Pro  
 35 40 45  
 Ser Lys Ala Leu Leu Arg Asn Ala Glu Leu Val His Ile Phe Thr Lys  
 50 55 60  
 Asp Ala Lys Ala Phe Gly Ile Ser Gly Glu Val Thr Phe Asp Tyr Gly  
 65 70 75 80  
 Ile Ala Tyr Asp Arg Ser Arg Lys Val Ala Glu Gly Arg Val Ala Gly  
 85 90 95  
 Val His Phe Leu Met Lys Lys Asn Lys Ile Thr Glu Ile His Gly Tyr  
 100 105 110  
 Gly Thr Phe Ala Asp Ala Asn Thr Leu Leu Val Asp Leu Asn Asp Gly  
 115 120 125  
 Gly Thr Glu Ser Val Thr Phe Asp Asn Ala Ile Ile Ala Thr Gly Ser  
 130 135 140  
 Ser Thr Arg Leu Val Pro Gly Thr Ser Leu Ser Ala Asn Val Val Thr  
 145 150 155 160  
 Tyr Glu Glu Gln Ile Leu Ser Arg Glu Leu Pro Lys Ser Ile Ile  
 165 170 175  
 Ala Gly Ala Gly Ala Ile Gly Met Glu Phe Gly Tyr Val Leu Lys Asn  
 180 185 190  
 Tyr Gly Val Asp Val Thr Ile Val Glu Phe Leu Pro Arg Ala Leu Pro  
 195 200 205  
 Asn Glu Asp Ala Asp Val Ser Lys Glu Ile Glu Lys Gln Phe Lys Lys  
 210 215 220  
 Leu Gly Val Thr Ile Leu Thr Ala Thr Lys Val Glu Ser Ile Ala Asp  
 225 230 235 240  
 Gly Gly Ser Gln Val Thr Val Thr Val Thr Lys Asp Gly Val Ala Gln  
 245 250 255  
 Glu Leu Lys Ala Glu Lys Val Leu Gln Ala Ile Gly Phe Ala Pro Asn  
 260 265 270  
 Val Glu Gly Tyr Gly Leu Asp Lys Ala Gly Val Ala Leu Thr Asp Arg  
 275 280 285  
 Lys Ala Ile Gly Val Asp Asp Tyr Met Arg Thr Asn Val Gly His Ile  
 290 295 300  
 Tyr Ala Ile Gly Asp Val Asn Gly Leu Leu Gln Leu Ala His Val Ala  
 305 310 315 320  
 Glu Ala Gln Gly Val Val Ala Ala Glu Thr Ile Ala Gly Ala Glu Thr  
 325 330 335  
 Leu Thr Leu Gly Asp His Arg Met Leu Pro Arg Ala Thr Phe Cys Gln  
 340 345 350  
 Pro Asn Val Ala Ser Phe Gly Leu Thr Glu Gln Gln Ala Arg Asn Glu  
 355 360 365  
 Gly Tyr Asp Val Val Val Ala Lys Phe Pro Phe Thr Ala Asn Ala Lys  
 370 375 380  
 Ala His Gly Val Gly Asp Pro Ser Gly Phe Val Lys Leu Val Ala Asp  
 385 390 395 400  
 Ala Lys His Gly Glu Leu Leu Gly Gly His Leu Val Gly His Asp Val  
 405 410 415  
 Ala Glu Leu Leu Pro Glu Leu Thr Leu Ala Gln Arg Trp Asp Leu Thr  
 420 425 430  
 Ala Ser Glu Leu Ala Arg Asn Val His Thr His Pro Thr Met Ser Glu  
 435 440 445  
 Ala Leu Gln Glu Cys Phe His Gly Leu Val Gly His Met Ile Asn Phe  
 450 455 460

(2) SEQ ID NO: 63の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ : 550塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : Coding Sequence

(B) 存在位置 : 101...490

(D) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 63 :

GGCCCGGCTC CGGGCCGCC TGCAAGAAAA GAAGGCCTGC CCAGGCCAG ACTCAGCCGA	60	10
GTAGTCACCC AGTACCCCCAC ACCAGGAAGG ACCGCCATC ATG GCA AAG CTC TCC Met Ala Lys Leu Ser 1 5		115
ACC GAC GAA CTG CTG GAC GCG TTC AAG GAA ATG ACC CTG TTG GAG CTC Thr Asp Glu Leu Leu Asp Ala Phe Lys Glu Met Thr Leu Leu Glu Leu 10 15 20		163
TCC GAC TTC GTC AAG AAG TTC GAG GAG ACC TTC GAG GTC ACC GCC GCC Ser Asp Phe Val Lys Lys Phe Glu Glu Thr Phe Glu Val Thr Ala Ala 25 30 35		211
GCT CCA GTC GCC GTC GCC GCC GGT GCC GCC CCG GCC GGT GCC GCC Ala Pro Val Ala Val Ala Ala Gly Ala Ala Pro Ala Gly Ala Ala 40 45 50		259
GTC GAG GCT GCC GAG GAG CAG TCC GAG TTC GAC GTG ATC CTT GAG GCC Val Glu Ala Ala Glu Glu Gln Ser Glu Phe Asp Val Ile Leu Glu Ala 55 60 65		307
GCC GGC GAC AAG AAG ATC GGC GTC ATC AAG GTG GTC CGG GAG ATC GTT Ala Gly Asp Lys Lys Ile Gly Val Ile Lys Val Val Arg Glu Ile Val 70 75 80 85		355
TCC GGC CTG GGC CTC AAG GAG GCC AAG GAC CTG GTC GAC GGC GCG CCC Ser Gly Leu Gly Leu Lys Glu Ala Lys Asp Leu Val Asp Gly Ala Pro 90 95 100		403
AAG CCG CTG CTG GAG AAG GTC GCC AAG GAG GCC GCC GAC GAG GCC AAG Lys Pro Leu Leu Glu Lys Val Ala Lys Glu Ala Ala Asp Glu Ala Lys 105 110 115		451
GCC AAG CTG GAG GCC GCC GGC ACC GTC ACC GTC AAG TAGCTCTGCC CA Ala Lys Leu Glu Ala Ala Gly Ala Thr Val Thr Val Lys 120 125 130		502
GCCTGTTCTT TTGCGTCTGC TCGGCCGTA GCGAACACTG CGCCCGCT		550
(2) SEQ ID NO : 64の情報 :		40
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 130アミノ酸		
(B) 配列の型 : アミノ酸		
(C) 鎖 : 一本鎖		
(D) トポロジー : 直鎖状		
(ii) 分子の型 : タンパク質		
(v) フラグメントの型 : internal		
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 64 :		50

Met Ala Lys Leu Ser Thr Asp Glu Leu Leu Asp Ala Phe Lys Glu Met			
1	5	10	15
Thr Leu Leu Glu Leu Ser Asp Phe Val Lys Lys Phe Glu Glu Thr Phe			
20	25	30	
Glu Val Thr Ala Ala Ala Pro Val Ala Val Ala Ala Gly Ala Ala			
35	40	45	
Pro Ala Gly Ala Ala Val Glu Ala Ala Glu Glu Gln Ser Glu Phe Asp			
50	55	60	10
Val Ile Leu Glu Ala Ala Gly Asp Lys Lys Ile Gly Val Ile Lys Val			
65	70	75	80
Val Arg Glu Ile Val Ser Gly Leu Gly Leu Lys Glu Ala Lys Asp Leu			
85	90	95	
Val Asp Gly Ala Pro Lys Pro Leu Leu Glu Lys Val Ala Lys Glu Ala			
100	105	110	
Ala Asp Glu Ala Lys Ala Lys Leu Glu Ala Ala Gly Ala Thr Val Thr			
115	120	125	20
Val Lys			
130			
(2) SEQ ID NO: 65の情報 :			
(i) 配列の特徴 :			
(A) 配列の長さ : 900塩基対			
(B) 配列の型 : 核酸			
(C) 鎖 : 一本鎖			
(D) トポロジー : 直鎖状			
(ix) 配列の特徴 :			
(A) 名称 / キー : Coding Sequence			30
(B) 存在位置 : 87...770			
(D) 他の情報 :			
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 65 :			

TGAACGCCAT CGGGTCCAAC GAACGCAGCG CTACCTGATC ACCACCGGGT CTGTTAGGGC	60
TCTTCCCCAG GTCGTACAGT CGGGCC ATG GCC ATT GAG GTT TCG GTG TTG CGG Met Ala Ile Glu Val Ser Val Leu Arg 1 5	113
GTT TTC ACC GAT TCA GAC GGG AAT TTC GGT AAT CCG CTG GGG GTG ATC Val Phe Thr Asp Ser Asp Gly Asn Phe Gly Asn Pro Leu Gly Val Ile 10 15 20 25	161
AAC GCC AGC AAG GTC GAA CAC CGC GAC AGG CAG CAG CTG GCA GCC CAA Asn Ala Ser Lys Val Glu His Arg Asp Arg Gln Gln Leu Ala Ala Gln 30 35 40	209
TCG GGC TAC AGC GAA ACC ATA TTC GTC GAT CTT CCC AGC CCC GGC TCA Ser Gly Tyr Ser Glu Thr Ile Phe Val Asp Leu Pro Ser Pro Gly Ser 45 50 55	257
ACC ACC GCA CAC GCC ACC ATC CAT ACT CCC CGC ACC GAA ATT CCG TTC Thr Thr Ala His Ala Thr Ile His Thr Pro Arg Thr Glu Ile Pro Phe 60 65 70	305
GCC GGA CAC CCG ACC GTG GGA GCG TCC TGG TGG CTG CGC GAG AGG GGG Ala Gly His Pro Thr Val Gly Ala Ser Trp Trp Leu Arg Glu Arg Gly 75 80 85	353
ACG CCA ATT AAC ACG CTG CAG GTG CCG GCC GGC ATC GTC CAG GTG AGC Thr Pro Ile Asn Thr Leu Gln Val Pro Ala Gly Ile Val Gln Val Ser 90 95 100 105	401
TAC CAC GGT GAT CTC ACC GCC ATC AGC GCC CGC TCG GAA TGG GCA CCC Tyr His Gly Asp Leu Thr Ala Ile Ser Ala Arg Ser Glu Trp Ala Pro 110 115 120	449
GAG TTC GCC ATC CAC GAC CTG GAT TCA CTT GAT GCG CTT GCC GCC Glu Phe Ala Ile His Asp Leu Asp Ser Leu Asp Ala Leu Ala Ala Ala 125 130 135	497
GAC CCC GCC GAC TTT CCG GAC GAC ATC GCG CAC TAC CTC TGG ACC TGG Asp Pro Ala Asp Phe Pro Asp Asp Ile Ala His Tyr Leu Trp Thr Trp 140 145 150	545
ACC GAC CGC TCC GCT GGC TCG CTG CGC GCC CGC ATG TTT GCC GCC AAC Thr Asp Arg Ser Ala Gly Ser Leu Arg Ala Arg Met Phe Ala Ala Asn 155 160 165	593
TTG GGC GTC ACC GAA GAC GAA GCG ACC GGT GCC GCG GGC ATC CGG ATT Leu Gly Val Thr Glu Asp Glu Ala Thr Gly Ala Ala Ala Ile Arg Ile 170 175 180 185	641
ACC GAT TAC CTC AGC CGT GAC CTC ACC ATC ACC CAG GGC AAA GGA TCG Thr Asp Tyr Leu Ser Arg Asp Leu Thr Ile Thr Gln Gly Lys Gly Ser 190 195 200	689
TTG ATC CAC ACC ACC TGG AGT CCC GAG GGC TGG GTT CGG GTA GCC GGC Leu Ile His Thr Thr Trp Ser Pro Glu Gly Trp Val Arg Val Ala Gly 205 210 215	737
CGA GTT GTC AGC GAC GGT GTG GCA CAA CTC GAC TGACGTAGAG CTCAGCGCTG Arg Val Val Ser Asp Gly Val Ala Gln Leu Asp 220 225	790
CCGATGCAAC ACGGCGGCAA GGTGATCCTG CAGGGTTGC CCGACCGCGC GCATCTGCAA	850
CGAGTACGAA AGCTCGTCGC CGTCGATGCG GTAGGAACGG TCAAGGGCGG	900
(2) SEQ ID NO: 66の情報:	
(i) 配列の特徴:	
(A) 配列の長さ: 228アミノ酸	
(B) 配列の型: アミノ酸	
(C) 鎖: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 分子の型: タンパク質	50

( v ) フラグメントの型 : internal

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 66 :

Met Ala Ile Glu Val Ser Val Leu Arg Val Phe Thr Asp Ser Asp Gly				
1	5	10	15	
Asn Phe Gly Asn Pro Leu Gly Val Ile Asn Ala Ser Lys Val Glu His				
20 25 30				
Arg Asp Arg Gln Gln Leu Ala Ala Gln Ser Gly Tyr Ser Glu Thr Ile				
35 40 45				
Phe Val Asp Leu Pro Ser Pro Gly Ser Thr Thr Ala His Ala Thr Ile				
50 55 60				
His Thr Pro Arg Thr Glu Ile Pro Phe Ala Gly His Pro Thr Val Gly				
65 70 75 80				
Ala Ser Trp Trp Leu Arg Glu Arg Gly Thr Pro Ile Asn Thr Leu Gln				
85 90 95				
Val Pro Ala Gly Ile Val Gln Val Ser Tyr His Gly Asp Leu Thr Ala				
100 105 110				
Ile Ser Ala Arg Ser Glu Trp Ala Pro Glu Phe Ala Ile His Asp Leu				
115 120 125				
Asp Ser Leu Asp Ala Leu Ala Ala Asp Pro Ala Asp Phe Pro Asp				
130 135 140				
Asp Ile Ala His Tyr Leu Trp Thr Trp Thr Asp Arg Ser Ala Gly Ser				
145 150 155 160				
Leu Arg Ala Arg Met Phe Ala Ala Asn Leu Gly Val Thr Glu Asp Glu				
165 170 175				
Ala Thr Gly Ala Ala Ala Ile Arg Ile Thr Asp Tyr Leu Ser Arg Asp				
180 185 190				
Leu Thr Ile Thr Gln Gly Lys Gly Ser Leu Ile His Thr Thr Trp Ser				
195 200 205				
Pro Glu Gly Trp Val Arg Val Ala Gly Arg Val Val Ser Asp Gly Val				
210 215 220				
Ala Gln Leu Asp				
225				
( 2 ) SEQ ID NO : 67 の情報 :				
( i ) 配列の特徴 :				
( A ) 配列の長さ : 500 塩基対				
( B ) 配列の型 : 核酸				
( C ) 鎖 : 一本鎖				
( D ) トポロジー : 直鎖状				
( ix ) 配列の特徴 :				
( A ) 名称 / キー : Coding Sequence				
( B ) 存在位置 : 49...465				
( D ) 他の情報 :				
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 67 :				

10

20

30

40



Met Gly Ala Gly Pro Ala Met Gly Ile Gly Gly Val Gly Gly Leu Gly  
 1 5 10 15

Gly Ala Gly Ser Gly Pro Ala Met Gly Met Gly Gly Val Gly Gly Leu  
 20 25 30

Gly Gly Ala Gly Ser Gly Pro Ala Met Gly Met Gly Gly Val Gly Gly  
 35 40 45

Leu Asp Ala Ala Gly Ser Gly Glu Gly Ser Pro Ala Ala Ile Gly  
 50 55 60

10

Ile Gly Val Gly  
 65 70 75 80

Ala Asp Thr Asn Arg Ser Asp Arg Ser Ser Asp Val Gly Gly Val  
 85 90 95

Trp Pro Leu Gly Phe Gly Arg Phe Ala Asp Ala Gly Ala Gly Gly Asn  
 100 105 110

Glu Ala Leu Gly Ser Lys Asn Gly Cys Ala Ala Ile Ser Ser Gly Ala  
 115 120 125

20

Ser Ile Pro Ser Cys Gly Arg Lys Ser Leu Ser  
 130 135

(2) SEQ ID NO: 69の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 2050 塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : Coding Sequence

30

(B) 存在位置 : 22...2019

(D) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 69 :

AGCGCACTCT GAGAGGTTGT C ATG GCG`GCC GAC TAC GAC AAG CTC TTC CGG Met Ala Ala Asp Tyr Asp Lys Leu Phe Arg 1 5 10	51
CCG CAC GAA GGT ATG GAA GCT CCG GAC GAT ATG GCA GCG CAG CCG TTC Pro His Glu Gly Met Glu Ala Pro Asp Asp Met Ala Ala Gln Pro Phe 15 20 25	99
TTC GAC CCC AGT GCT TCG TTT CCG CCG GCG CCC GCA TCG GCA AAC CTA Phe Asp Pro Ser Ala Ser Phe Pro Ala Pro Ala Ser Ala Asn Leu 30 35 40	147
CCG AAG CCC AAC GGC CAG ACT CCG CCC CCG ACG TCC GAC GAC CTG TCG Pro Lys Pro Asn Gly Gln Thr Pro Pro Pro Thr Ser Asp Asp Leu Ser 45 50 55	195
GAG CGG TTC GTG TCG GCC CCG CCG CCA CCC CCA CCC CCT CCG Glu Arg Phe Val Ser Ala Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro 60 65 70	243
CCT CCG CCA ACT CCG ATG CCG ATC GCC GCA GGA GAG CCG CCC TCG CCG Pro Pro Pro Thr Pro Met Pro Ile Ala Ala Gly Glu Pro Pro Ser Pro 75 80 85 90	291
GAA CCG GCC GCA TCT AAA CCA CCC ACA CCC CCC ATG CCC ATC GCC GGA Glu Pro Ala Ala Ser Lys Pro Pro Thr Pro Pro Met Pro Ile Ala Gly 95 100 105	339
CCC GAA CCG GCC CCA CCC AAA CCA CCC ACA CCC CCC ATG CCC ATC GCC Pro Glu Pro Ala Pro Pro Lys Pro Pro Thr Pro Pro Met Pro Ile Ala 110 115 120	387
GGA CCC GAA CCG GCC CCA CCC AAA CCA CCC ACA CCT CCG ATG CCC ATC Gly Pro Glu Pro Ala Pro Pro Lys Pro Pro Thr Pro Pro Met Pro Ile 125 130 135	435

10

20

GCC GGA CCT GCA CCC ACC CCA ACC GAA TCC CAG TTG GCG CCC CCC AGA Ala Gly Pro Ala Pro Thr Pro Thr Glu Ser Gln Leu Ala Pro Pro Arg 140 145 150	483	
CCA CCG ACA CCA CAA ACG CCA ACC GGA GCG CCG CAG CAA CCG GAA TCA Pro Pro Thr Pro Gln Thr Pro Thr Gly Ala Pro Gln Gln Pro Glu Ser 155 160 165 170	531	
CCG GCG CCC CAC GTA CCC TCG CAC GGG CCA CAT CAA CCC CGG CGC ACC Pro Ala Pro His Val Pro Ser His Gly Pro His Gln Pro Arg Arg Thr 175 180 185	579	
GCA CCA GCA CCG CCC TGG GCA AAG ATG CCA ATC GGC GAA CCC CCG CCC Ala Pro Ala Pro Pro Trp Ala Lys Met Pro Ile Gly Glu Pro Pro Pro 190 195 200	627	
GCT CCG TCC AGA CCG TCT GCG TCC CCG GCC GAA CCA CCG ACC CGG CCT Ala Pro Ser Arg Pro Ser Ala Ser Pro Ala Glu Pro Pro Thr Arg Pro 205 210 215	675	10
GCC CCC CAA CAC TCC CGA CGT GCG CGC CGG GGT CAC CGC TAT CGC ACA Ala Pro Gln His Ser Arg Arg Ala Arg Arg Gly His Arg Tyr Arg Thr 220 225 230	723	
GAC ACC GAA CGA AAC GTC GGG AAG GTA GCA ACT GGT CCA TCC ATC CAG Asp Thr Glu Arg Asn Val Gly Lys Val Ala Thr Gly Pro Ser Ile Gln 235 240 245 250	771	
GCG CGG CTG CGG GCA GAG GCA TCC GGC GCG CAG CTC GCC CCC GGA Ala Arg Leu Arg Ala Glu Glu Ala Ser Gly Ala Gln Leu Ala Pro Gly 255 260 265	819	
ACG GAG CCC TCG CCA GCG CCG TTG GGC CAA CCG AGA TCG TAT CTG GCT Thr Glu Pro Ser Pro Ala Pro Leu Gly Gln Pro Arg Ser Tyr Leu Ala 270 275 280	867	20
CCG CCC ACC CGC CCC GCG CCG ACA GAA CCT CCC CCC AGC CCC TCG CCG Pro Pro Thr Arg Pro Ala Pro Thr Glu Pro Pro Ser Pro Ser Pro 285 290 295	915	
CAG CGC AAC TCC GGT CGG CGT GCC GAG CGA CGC GTC CAC CCC GAT TTA Gln Arg Asn Ser Gly Arg Arg Ala Glu Arg Arg Val His Pro Asp Leu 300 305 310	963	
GCC GCC CAA CAT GCC GCG GCG CAA CCT GAT TCA ATT ACG GCC GCA ACC Ala Ala Gln His Ala Ala Gln Pro Asp Ser Ile Thr Ala Ala Thr 315 320 325 330	1011	
ACT GGC GGT CGT CGC CGC AAG CGT GCA GCG CCG GAT CTC GAC GCG ACA Thr Gly Arg Arg Lys Arg Ala Ala Pro Asp Leu Asp Ala Thr 335 340 345	1059	30
CAG AAA TCC TTA AGG CCG GCG GCC AAG GGG CCG AAG GTG AAG AAG GTG Gln Lys Ser Leu Arg Pro Ala Ala Lys Gly Pro Lys Val Lys Lys Val 350 355 360	1107	
AAG CCC CAG AAA CCG AAG GCC ACG AAG CCG CCC AAA GTG GTG TCG CAG Lys Pro Gln Lys Pro Lys Ala Thr Lys Pro Pro Lys Val Val Ser Gln 365 370 375	1155	
CGC GGC TGG CGA CAT TGG GTG CAT GCG TTG ACG CGA ATC AAC CTG GGC Arg Gly Trp Arg His Trp Val His Ala Leu Thr Arg Ile Asn Leu Gly 380 385 390	1203	
CTG TCA CCC GAC GAG AAG TAC GAG CTG GAC CTG CAC GCT CGA GTC CGC Leu Ser Pro Asp Glu Lys Tyr Glu Leu Asp Leu His Ala Arg Val Arg 395 400 405 410	1251	
CGC AAT CCC CGC GGG TCG TAT CAG ATC GCC GTC GTC GGT CTC AAA GGT Arg Asn Pro Arg Gly Ser Tyr Gln Ile Ala Val Val Gly Leu Lys Gly 415 420 425	1299	40
GGG GCT GGC AAA ACC ACG CTG ACA GCA GCG TTG GGG TCG ACG TTG GCT Gly Ala Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Ala Leu Gly Ser Thr Leu Ala 430 435 440	1347	
CAG GTG CGG GCC GAC CGG ATC CTG GCT CTA GAC GCG GAT CCA GGC GCC Gln Val Arg Ala Asp Arg Ile Leu Ala Leu Asp Ala Asp Pro Gly Ala 445 450 455	1395	
GGA AAC CTC GCC GAT CGG GTA GGG CGA CAA TCG GGC GCG ACC ATC GCT Gly Asn Leu Ala Asp Arg Val Gly Arg Gln Ser Gly Ala Thr Ile Ala 460 465 470	1443	

GAT GTG CTT GCA GAA AAA GAG CTG TCG CAC TAC AAC GAC ATC CGC GCA Asp Val Leu Ala Glu Lys Glu Leu Ser His Tyr Asn Asp Ile Arg Ala 475 480 485 490	1491
CAC ACT AGC GTC AAT GCG GTC AAT CTG GAA GTG CTG CCG GCA CCG GAA His Thr Ser Val Asn Ala Val Asn Leu Glu Val Leu Pro Ala Pro Glu 495 500 505 505	1539
TAC AGC TCG GCG CAG CGC GCG CTC AGC GAC GCC GAC TGG CAT TTC ATC Tyr Ser Ser Ala Gln Arg Ala Leu Ser Asp Ala Asp Trp His Phe Ile 510 515 520	1587
GCC GAT CCT GCG TCG AGG TTT TAC AAC CTC GTC TTG GCT GAT TGT GGG Ala Asp Pro Ala Ser Arg Phe Tyr Asn Leu Val Leu Ala Asp Cys Gly 525 530 535	1635
GCC GGC TTC TTC GAC CCG CTG ACC CGC GGC GTG CTG TCC ACG GTG TCC Ala Gly Phe Phe Asp Pro Leu Thr Arg Gly Val Leu Ser Thr Val Ser 540 545 550	1683
GGT GTC GTG GTC GTG GCA AGT GTC TCA ATC GAC GGC GCA CAA CAG GCG Gly Val Val Val Ala Ser Val Ser Ile Asp Gly Ala Gln Gln Ala 555 560 565 570	1731
TCG GTC GCG TTG GAC TGG TTG CGC AAC AAC GGT TAC CAA GAT TTG GCG Ser Val Ala Leu Asp Trp Leu Arg Asn Gly Tyr Gln Asp Leu Ala 575 580 585	1779
AGC CGC GCA TGC GTG GTC ATC AAT CAC ATC ATG CCG GGA GAA CCC AAT Ser Arg Ala Cys Val Val Ile Asn His Ile Met Pro Gly Glu Pro Asn 590 595 600	1827
GTC GCA GTT AAA GAC CTG GTG CGG CAT TTC GAA CAG CAA GTT CAA CCC Val Ala Val Lys Asp Leu Val Arg His Phe Glu Gln Gln Val Gln Pro 605 610 615	1875
GCC CGG GTC GTG GTC ATG CCG TGG GAC AGG CAC ATT GCG GCC GGA ACC Gly Arg Val Val Val Met Pro Trp Asp Arg His Ile Ala Ala Gly Thr 620 625 630	1923
GAG ATT TCA CTC GAC TTG CTC GAC CCT ATC TAC AAG CGC AAG GTC CTC Glu Ile Ser Leu Asp Leu Leu Asp Pro Ile Tyr Lys Arg Lys Val Leu 635 640 645 650	1971
GAA TTG GCC GCA GCG CTA TCC GAC GAT TTC GAG AGG GCT GGA CGT CGT T Glu Leu Ala Ala Leu Ser Asp Asp Phe Glu Arg Ala Gly Arg Arg 655 660 665	2020
GAGCGCACCT GCTGTTGCTG CTGGTCCTAC	2050

(2) SEQ ID NO:70の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 666アミノ酸

(B) 配列の型: アミノ酸

(C) 鎖: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 分子の型: タンパク質

(v) フラグメントの型: internal

(xi) 配列の記載: SEQ ID NO: 70:

Met Ala Ala Asp Tyr Asp Lys Leu Phe Arg Pro His Glu Gly Met Glu			
1	5	10	15
Ala Pro Asp Asp Met Ala Ala Gln Pro Phe Phe Asp Pro Ser Ala Ser			
20	25	30	
Phe Pro Pro Ala Pro Ala Ser Ala Asn Leu Pro Lys Pro Asn Gly Gln			
35	40	45	
Thr Pro Pro Pro Thr Ser Asp Asp Leu Ser Glu Arg Phe Val Ser Ala			
50	55	60	
Pro Thr Pro Met			10
65	70	75	80
Pro Ile Ala Ala Gly Glu Pro Pro Ser Pro Glu Pro Ala Ala Ser Lys			
85	90	95	
Pro Pro Thr Pro Pro Met Pro Ile Ala Gly Pro Glu Pro Ala Pro Pro			
100	105	110	
Lys Pro Pro Thr Pro Pro Met Pro Ile Ala Gly Pro Glu Pro Ala Pro			
115	120	125	
Pro Lys Pro Pro Thr Pro Pro Met Pro Ile Ala Gly Pro Ala Pro Thr			
130	135	140	
Pro Thr Glu Ser Gln Leu Ala Pro Pro Arg Pro Pro Thr Pro Gln Thr			20
145	150	155	160
Pro Thr Gly Ala Pro Gln Gln Pro Glu Ser Pro Ala Pro His Val Pro			
165	170	175	
Ser His Gly Pro His Gln Pro Arg Arg Thr Ala Pro Ala Pro Pro Trp			
180	185	190	
Ala Lys Met Pro Ile Gly Glu Pro Pro Pro Ala Pro Ser Arg Pro Ser			
195	200	205	
Ala Ser Pro Ala Glu Pro Pro Thr Arg Pro Ala Pro Gln His Ser Arg			
210	215	220	30
Arg Ala Arg Arg Gly His Arg Tyr Arg Thr Asp Thr Glu Arg Asn Val			
225	230	235	240
Gly Lys Val Ala Thr Gly Pro Ser Ile Gln Ala Arg Leu Arg Ala Glu			
245	250	255	
Glu Ala Ser Gly Ala Gln Leu Ala Pro Gly Thr Glu Pro Ser Pro Ala			
260	265	270	
Pro Leu Gly Gln Pro Arg Ser Tyr Leu Ala Pro Pro Thr Arg Pro Ala			
275	280	285	
Pro Thr Glu Pro Pro Pro Ser Pro Ser Pro Gln Arg Asn Ser Gly Arg			40
290	295	300	
Arg Ala Glu Arg Arg Val His Pro Asp Leu Ala Ala Gln His Ala Ala			
305	310	315	320
Ala Gln Pro Asp Ser Ile Thr Ala Ala Thr Thr Gly Gly Arg Arg Arg			
325	330	335	
Lys Arg Ala Ala Pro Asp Leu Asp Ala Thr Gln Lys Ser Leu Arg Pro			
340	345	350	

Ala Ala Lys Gly Pro Lys Val Lys Lys Val Lys Pro Gln Lys Pro Lys  
 355 360 365

Ala Thr Lys Pro Pro Lys Val Val Ser Gln Arg Gly Trp Arg His Trp  
 370 375 380

Val His Ala Leu Thr Arg Ile Asn Leu Gly Leu Ser Pro Asp Glu Lys  
 385 390 395 400

Tyr Glu Leu Asp Leu His Ala Arg Val Arg Arg Asn Pro Arg Gly Ser  
 405 410 415

Tyr Gln Ile Ala Val Val Gly Leu Lys Gly Gly Ala Gly Lys Thr Thr  
 420 425 430

Leu Thr Ala Ala Leu Gly Ser Thr Leu Ala Gln Val Arg Ala Asp Arg  
 435 440 445

Ile Leu Ala Leu Asp Ala Asp Pro Gly Ala Gly Asn Leu Ala Asp Arg  
 450 455 460

Val Gly Arg Gln Ser Gly Ala Thr Ile Ala Asp Val Leu Ala Glu Lys  
 465 470 475 480

Glu Leu Ser His Tyr Asn Asp Ile Arg Ala His Thr Ser Val Asn Ala  
 485 490 495

Val Asn Leu Glu Val Leu Pro Ala Pro Glu Tyr Ser Ser Ala Gln Arg  
 500 505 510

Ala Leu Ser Asp Ala Asp Trp His Phe Ile Ala Asp Pro Ala Ser Arg  
 515 520 525

Phe Tyr Asn Leu Val Leu Ala Asp Cys Gly Ala Gly Phe Phe Asp Pro  
 530 535 540

Leu Thr Arg Gly Val Leu Ser Thr Val Ser Gly Val Val Val Val Ala  
 545 550 555 560

Ser Val Ser Ile Asp Gly Ala Gln Gln Ala Ser Val Ala Leu Asp Trp  
 565 570 575

Leu Arg Asn Asn Gly Tyr Gln Asp Leu Ala Ser Arg Ala Cys Val Val  
 580 585 590

Ile Asn His Ile Met Pro Gly Glu Pro Asn Val Ala Val Lys Asp Leu  
 595 600 605

Val Arg His Phe Glu Gln Gln Val Gln Pro Gly Arg Val Val Val Met  
 610 615 620

Pro Trp Asp Arg His Ile Ala Ala Gly Thr Glu Ile Ser Leu Asp Leu  
 625 630 635 640

Leu Asp Pro Ile Tyr Lys Arg Lys Val Leu Glu Leu Ala Ala Leu  
 645 650 655

Ser Asp Asp Phe Glu Arg Ala Gly Arg Arg  
 660 665

(2) SEQ ID NO: 71の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 1890塩基対

(B) 配列の型: 核酸

(C) 鎖: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ix) 配列の特徴:

(A) 名称 / キー : Coding Sequence

(B) 存在位置 : 79...1851

(D) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 71 :

GCAGCGATGA GGAGGAGCGG CGCCAACGGC CCGCGCCGGC GACGATGCAA AGCGCAGCGA	60	
TGAGGAGGAG CGGCGCGC ATG ACT GCT GAA CCG GAA GTA CGG ACG CTG CGC Met Thr Ala Glu Pro Glu Val Arg Thr Leu Arg	111	
1 5 10		
GAG GTT GTG CTG GAC CAG CTC GGC ACT GCT GAA TCG CGT GCG TAC AAG Glu Val Val Leu Asp Gln Leu Gly Thr Ala Glu Ser Arg Ala Tyr Lys	159	10
15 20 25		
ATG TGG CTG CCG CCG TTG ACC AAT CCG GTC CCG CTC AAC GAG CTC ATC Met Trp Leu Pro Pro Leu Thr Asn Pro Val Pro Leu Asn Glu Leu Ile	207	
30 35 40		
GCC CGT GAT CGG CGA CAA CCC CTG CGA TTT GCC CTG GGG ATC ATG GAT Ala Arg Asp Arg Arg Gln Pro Leu Arg Phe Ala Leu Gly Ile Met Asp	255	
45 50 55		
GAA CCG CGC CGC CAT CTA CAG GAT GTG TGG GGC GTA GAC GTT TCC GGG Glu Pro Arg Arg His Leu Gln Asp Val Trp Gly Val Asp Val Ser Gly	303	
60 65 70 75		20
GCC GGC GGC AAC ATC GGT ATT GGG GGC GCA CCT CAA ACC GGG AAG TCG Ala Gly Gly Asn Ile Gly Gly Ala Pro Gln Thr Gly Lys Ser	351	

	80	85	90	
ACG CTA CTG CAG ACG ATG GTG ATG TCG GCC GCC GCC ACA CAC TCA CCG Thr Leu Leu Gln Thr Met Val Met Ser Ala Ala Ala Thr His Ser Pro	95	100	105	399
CGC AAC GTT CAG TTC TAT TGC ATC GAC CTA GGT GGC GGC GGG CTG ATC Arg Asn Val Gln Phe Tyr Cys Ile Asp Leu Gly Gly Gly Gly Leu Ile	110	115	120	447
TAT CTC GAA AAC CTT CCA CAC GTC GGT GGG GTA GCC AAT CGG TCC GAG Tyr Leu Glu Asn Leu Pro His Val Gly Gly Val Ala Asn Arg Ser Glu	125	130	135	495
CCC GAC AAG GTC AAC CGG GTG GTC GCA GAG ATG CAA GCC GTC ATG CGG Pro Asp Lys Val Asn Arg Val Val Ala Glu Met Gln Ala Val Met Arg	140	145	150	543
CAA CGG GAA ACC ACC TTC AAG GAA CAC CGA GTG GGC TCG ATC GGG ATG Gln Arg Glu Thr Thr Phe Lys Glu His Arg Val Gly Ser Ile Gly Met	160	165	170	591
TAC CGG CAG CTG CGT GAC GAT CCA AGT CAA CCC GTT GCG TCC GAT CCA Tyr Arg Gln Leu Arg Asp Asp Pro Ser Gln Pro Val Ala Ser Asp Pro	175	180	185	639
TAC GGC GAC GTC TTT CTG ATC ATC GAC GGA TGG CCC GGT TTT GTC GGC Tyr Gly Asp Val Phe Leu Ile Ile Asp Gly Trp Pro Gly Phe Val Gly	190	195	200	687
GAG TTC CCC GAC CTT GAG GGG CAG GTT CAA GAT CTG GCC GCC CAG GGG Glu Phe Pro Asp Leu Glu Gly Gln Val Gln Asp Leu Ala Ala Gln Gly	205	210	215	735
CTG GGG TTC GGC GTC CAC GTC ATC ATC TCC ACG CCA CGC TGG ACA GAG Leu Gly Phe Gly Val His Val Ile Ile Ser Thr Pro Arg Trp Thr Glu	220	225	230	783
CTG AAG TCG CGT GTT CGC GAC TAC CTC GGC ACC AAG ATC GAG TTC CGG Leu Lys Ser Arg Val Arg Asp Tyr Leu Gly Thr Lys Ile Glu Phe Arg	240	245	250	831
CTT GGT GAC GTC AAT GAA ACC CAG ATC GAC CGG ATT ACC CGC GAG ATC Leu Gly Asp Val Asn Glu Thr Gln Ile Asp Arg Ile Thr Arg Glu Ile	255	260	265	879
CCG GCG AAT CGT CCG GGT CGG GCA GTG TCG ATG GAA AAG CAC CAT CTG Pro Ala Asn Arg Pro Gly Arg Ala Val Ser Met Glu Lys His His Leu	270	275	280	927
ATG ATC GGC GTG CCC AGG TTC GAC GGC GTG CAC AGC GCC GAT AAC CTG Met Ile Gly Val Pro Arg Phe Asp Gly Val His Ser Ala Asp Asn Leu	285	290	295	975
GTG GAG GCG ATC ACC GCG GGG GTG ACG CAG ATC GCT TCC CAG CAC ACC Val Glu Ala Ile Thr Ala Gly Val Thr Gln Ile Ala Ser Gln His Thr	300	305	310	1023
GAA CAG GCA CCT CCG GTG CGG GTC CTG CCG GAG CGT ATC CAC CTG CAC Glu Gln Ala Pro Pro Val Arg Val Leu Pro Glu Arg Ile His Leu His	320	325	330	1071
GAA CTC GAC CCG AAC CCG CCG GGA CCA GAG TCC GAC TAC CGC ACT CGC Glu Leu Asp Pro Asn Pro Pro Gly Pro Glu Ser Asp Tyr Arg Thr Arg	335	340	345	1119

TGG GAG ATT CCG ATC GGC TTG CGC GAG ACG GAC CTG ACG CCG GCT CAC Trp Glu Ile Pro Ile Gly Leu Arg Glu Thr Asp Leu Thr Pro Ala His 350 355 360	1167	
TGC CAC ATG CAC ACG AAC CCG CAC CTA CTG ATC TTC GGT GCG GCC AAA Cys His Met His Thr Asn Pro His Leu Leu Ile Phe Gly Ala Ala Lys 365 370 375	1215	
TCG GGC AAG ACG ACC ATT GCC CAC GCG ATC GCG CGC GCC ATT TGT GCC Ser Gly Lys Thr Thr Ile Ala His Ala Ile Ala Arg Ala Ile Cys Ala 380 385 390 395	1263	
CGA AAC AGT CCC CAG CAG GTG CGG TTC ATG CTC GCG GAC TAC CGC TCG Arg Asn Ser Pro Gln Gln Val Arg Phe Met Leu Ala Asp Tyr Arg Ser 400 405 410	1311	10
GGC CTG CTG GAC GCG GTG CCG GAC ACC CAT CTG CTG GGC GCC GGC GCG Gly Leu Leu Asp Ala Val Pro Asp Thr His Leu Leu Gly Ala Gly Ala 415 420 425	1359	
ATC AAC CGC AAC AGC GCG TCG CTA GAC GAG GCC GCT CAA GCA CTG GCG Ile Asn Arg Asn Ser Ala Ser Leu Asp Glu Ala Ala Gln Ala Leu Ala 430 435 440	1407	
GTC AAC CTG AAG AAG CGG TTG CCG CCG ACC GAC CTG ACG ACG GCG CAG Val Asn Leu Lys Lys Arg Leu Pro Pro Thr Asp Leu Thr Thr Ala Gln 445 450 455	1455	20
CTA CGC TCG CGT TCG TGG TGG AGC GGA TTT GAC GTC GTG CTT CTG GTC Leu Arg Ser Arg Ser Trp Trp Ser Gly Phe Asp Val Val Leu Leu Val 460 465 470 475	1503	
GAC GAT TGG CAC ATG ATC GTG GGT GCC GCC GGG GGG ATG CCG CCG ATG Asp Asp Trp His Met Ile Val Gly Ala Ala Gly Gly Met Pro Pro Met 480 485 490	1551	
GCA CCG CTG GCC CCG TTA TTG CCG GCG GCG GCA GAT ATC GGG TTG CAC Ala Pro Leu Ala Pro Leu Leu Pro Ala Ala Asp Ile Gly Leu His 495 500 505	1599	
ATC ATT GTC ACC TGT CAG ATG AGC CAG GCT TAC AAG GCA ACC ATG GAC Ile Ile Val Thr Cys Gln Met Ser Gln Ala Tyr Lys Ala Thr Met Asp 510 515 520	1647	30
AAG TTC GTC GGC GCC GCA TTC GGG TCG GGC GCT CCG ACA ATG TTC CTT Lys Phe Val Gly Ala Ala Phe Gly Ser Gly Ala Pro Thr Met Phe Leu 525 530 535	1695	
TCG GGC GAG AAG CAG GAA TTC CCA TCC AGT GAG TTC AAG GTC AAG CGG Ser Gly Glu Lys Gln Glu Phe Pro Ser Ser Glu Phe Lys Val Lys Arg 540 545 550 555	1743	
CGC CCC CCT GGC CAG GCA TTT CTC GTC TCG CCA GAC GGC AAA GAG GTC Arg Pro Pro Gly Gln Ala Phe Leu Val Ser Pro Asp Gly Lys Glu Val 560 565 570	1791	40
ATC CAG GCC CCC TAC ATC GAG CCT CCA GAA GAA GTG TTC GCA GCA CCC Ile Gln Ala Pro Tyr Ile Glu Pro Pro Glu Glu Val Phe Ala Ala Pro 575 580 585	1839	
CCA AGC GCC GGT TAAGATTATT TCATTGCCGG TGTAGCAGGA CCCGAGCTC Pro Ser Ala Gly 590	1890	

(2) SEQ ID NO: 72の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 591アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：タンパク質

(v) フラグメントの型：internal

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO: 72:

Met Thr Ala Glu Pro Glu Val Arg Thr Leu Arg Glu Val Val Leu Asp  
1 5 10 15

Gln Leu Gly Thr Ala Glu Ser Arg Ala Tyr Lys Met Trp Leu Pro Pro  
20 25 30

10

Leu Thr Asn Pro Val Pro Leu Asn Glu Leu Ile Ala Arg Asp Arg Arg  
35 40 45

Gln Pro Leu Arg Phe Ala Leu Gly Ile Met Asp Glu Pro Arg Arg His  
50 55 60

Leu Gln Asp Val Trp Gly Val Asp Val Ser Gly Ala Gly Gly Asn Ile  
65 70 75 80

Gly Ile Gly Gly Ala Pro Gln Thr Gly Lys Ser Thr Leu Leu Gln Thr  
85 90 95

20

Met Val Met Ser Ala Ala Ala Thr His Ser Pro Arg Asn Val Gln Phe  
100 105 110

Tyr Cys Ile Asp Leu Gly Gly Gly Leu Ile Tyr Leu Glu Asn Leu  
115 120 125

Pro His Val Gly Gly Val Ala Asn Arg Ser Glu Pro Asp Lys Val Asn  
130 135 140

Arg Val Val Ala Glu Met Gln Ala Val Met Arg Gln Arg Glu Thr Thr			
145	150	155	160
Phe Lys Glu His Arg Val Gly Ser Ile Gly Met Tyr Arg Gln Leu Arg			
165	170	175	
Asp Asp Pro Ser Gln Pro Val Ala Ser Asp Pro Tyr Gly Asp Val Phe			
180	185	190	
Leu Ile Ile Asp Gly Trp Pro Gly Phe Val Gly Glu Phe Pro Asp Leu			
195	200	205	
Glu Gly Gln Val Gln Asp Leu Ala Ala Gln Gly Leu Gly Phe Gly Val			
210	215	220	
His Val Ile Ile Ser Thr Pro Arg Trp Thr Glu Leu Lys Ser Arg Val			
225	230	235	240
Arg Asp Tyr Leu Gly Thr Lys Ile Glu Phe Arg Leu Gly Asp Val Asn			
245	250	255	
Glu Thr Gln Ile Asp Arg Ile Thr Arg Glu Ile Pro Ala Asn Arg Pro			
260	265	270	
Gly Arg Ala Val Ser Met Glu Lys His His Leu Met Ile Gly Val Pro			
275	280	285	
Arg Phe Asp Gly Val His Ser Ala Asp Asn Leu Val Glu Ala Ile Thr			
290	295	300	
Ala Gly Val Thr Gln Ile Ala Ser Gln His Thr Glu Gln Ala Pro Pro			
305	310	315	320
Val Arg Val Leu Pro Glu Arg Ile His Leu His Glu Leu Asp Pro Asn			
325	330	335	
Pro Pro Gly Pro Glu Ser Asp Tyr Arg Thr Arg Trp Glu Ile Pro Ile			
340	345	350	
Gly Leu Arg Glu Thr Asp Leu Thr Pro Ala His Cys His Met His Thr			
355	360	365	
Asn Pro His Leu Leu Ile Phe Gly Ala Ala Lys Ser Gly Lys Thr Thr			
370	375	380	
Ile Ala His Ala Ile Ala Arg Ala Ile Cys Ala Arg Asn Ser Pro Gln			
385	390	395	400
Gln Val Arg Phe Met Leu Ala Asp Tyr Arg Ser Gly Leu Leu Asp Ala			
405	410	415	
Val Pro Asp Thr His Leu Leu Gly Ala Gly Ala Ile Asn Arg Asn Ser			
420	425	430	
Ala Ser Leu Asp Glu Ala Ala Gln Ala Leu Ala Val Asn Leu Lys Lys			
435	440	445	

10

20

30

40

Arg Leu Pro Pro Thr Asp Leu Thr Thr Ala Gln Leu Arg Ser Arg Ser  
 450 455 460

Trp Trp Ser Gly Phe Asp Val Val Leu Leu Val Asp Asp Trp His Met  
 465 470 475 480

Ile Val Gly Ala Ala Gly Gly Met Pro Pro Met Ala Pro Leu Ala Pro  
 485 490 495

Leu Leu Pro Ala Ala Asp Ile Gly Leu His Ile Ile Val Thr Cys  
 500 505 510

Gln Met Ser Gln Ala Tyr Lys Ala Thr Met Asp Lys Phe Val Gly Ala  
 515 520 525

Ala Phe Gly Ser Gly Ala Pro Thr Met Phe Leu Ser Gly Glu Lys Gln  
 530 535 540

Glu Phe Pro Ser Ser Glu Phe Lys Val Lys Arg Arg Pro Pro Gly Gln  
 545 550 555 560

Ala Phe Leu Val Ser Pro Asp Gly Lys Glu Val Ile Gln Ala Pro Tyr  
 565 570 575

Ile Glu Pro Pro Glu Glu Val Phe Ala Ala Pro Pro Ser Ala Gly  
 580 585 590

(2) SEQ ID NO: 73の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 15アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : なし

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 73 :

Asp Pro Val Asp Asp Ala Phe Ile Ala Lys Leu Asn Thr Ala Gly  
 1 5 10 15

(2) SEQ ID NO: 74の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 14アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : なし

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : その他

(B) 存在位置 : 14

(D) 他の情報 : Xaaは不明

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 74 :

Asp Pro Val Asp Ala Ile Ile Asn Leu Asp Asn Tyr Gly Xaa  
 1 5 10

(2) SEQ ID NO: 75の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ、 15アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

10

20

30

40

50

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：なし

(ix) 配列の特徴：

(A) 名称 / キー：その他

(B) 存在位置：5

(D) 他の情報：Xaaは不明

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO: 75:

Ala	Glu	Met	Lys	Xaa	Phe	Lys	Asn	Ala	Ile	Val	Gln	Glu	Ile	Asp
1				5					10			15		

10

(2) SEQ ID NO: 76の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：14アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：なし

(ix) 配列の特徴：

(A) 名称 / キー：その他

(B) 存在位置：3...3

20

(D) 他の情報：AlaはAlaまたはGln

(A) 名称 / キー：その他

(B) 存在位置：7...7

(D) 他の情報：ThrはGlyまたはThr

(ix) 配列の特徴：

(A) 名称 / キー：その他

(B) 存在位置：11

(D) 他の情報：Xaaは不明

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO: 76:

Val	Ile	Ala	Gly	Met	Val	Thr	His	Ile	His	Xaa	Val	Ala	Gly
1				5				10					

30

(2) SEQ ID NO: 77の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：15アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：ペプチド

(v) フラグメントの型：N-terminal

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO: 77:

40

Thr	Asn	Ile	Val	Val	Leu	Ile	Lys	Gln	Val	Pro	Asp	Thr	Trp	Ser
1				5					10				15	

(2) SEQ ID NO: 78の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：15アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：ペプチド

(v) フラグメントの型：N-terminal

50

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 78 :

Ala Ile Glu Val Ser Val Leu Arg Val Phe Thr Asp Ser Asp Gly  
 1 5 10 15

(2) SEQ ID NO : 79 の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 15アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : ペプチド

10

(v) フラグメントの型 : N-terminal

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 79 :

Ala Lys Leu Ser Thr Asp Glu Leu Leu Asp Ala Phe Lys Glu Met  
 1 5 10 15

(2) SEQ ID NO : 80 の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 15アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

20

(ii) 分子の型 : ペプチド

(v) フラグメントの型 : N-terminal

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : その他

(B) 存在位置 : 4...4

(D) 他の情報 : AspはAspまたはGlu

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 80 :

Asp Pro Ala Asp Ala Pro Asp Val Pro Thr Ala Ala Gln Leu Thr  
 1 5 10 15

(2) SEQ ID NO : 81 の情報 :

30

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 50アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : ペプチド

(v) フラグメントの型 : N-terminal

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 81 :

Ala Glu Asp Val Arg Ala Glu Ile Val Ala Ser Val Leu Glu Val Val  
 1 5 10 15

40

Val Asn Glu Gly Asp Gln Ile Asp Lys Gly Asp Val Val Val Leu Leu  
 20 25 30

Glu Ser Met Tyr Met Glu Ile Pro Val Leu Ala Glu Ala Ala Gly Thr  
 35 40 45

Val Ser

50

(2) SEQ ID NO : 82 の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 15アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

50

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：ペプチド

(v) フラグメントの型：N-terminal

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 82 :

Thr	Thr	Ser	Pro	Asp	Pro	Tyr	Ala	Ala	Leu	Pro	Lys	Leu	Pro	Ser
1				5					10				15	

(2) SEQ ID NO : 83 の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：15アミノ酸

10

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：ペプチド

(v) フラグメントの型：N-terminal

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 83 :

Thr	Glu	Tyr	Glu	Gly	Pro	Lys	Thr	Lys	Phe	His	Ala	Leu	Met	Gln
1				5					10				15	

(2) SEQ ID NO : 84 の情報：

(i) 配列の特徴：

20

(A) 配列の長さ：15アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：ペプチド

(v) フラグメントの型：N-terminal

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 84 :

Thr	Thr	Ile	Val	Ala	Leu	Lys	Tyr	Pro	Gly	Gly	Val	Val	Met	Ala
1				5					10				15	

(2) SEQ ID NO : 85 の情報：

30

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：15アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：ペプチド

(v) フラグメントの型：N-terminal

(ix) 配列の特徴：

(A) 名称 / キー：その他

(B) 存在位置：15

40

(D) 他の情報：Xaaは不明

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 85 :

Ser	Phe	Pro	Tyr	Phe	Ile	Ser	Pro	Glu	Xaa	Ala	Met	Arg	Glu	Xaa
1				5					10				15	

(2) SEQ ID NO : 86 の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：15アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

50

( ii ) 分子の型 : ペプチド

( v ) フラグメントの型 : N-terminal

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 86 :

Thr His Tyr Asp Val Val Val Leu Gly Ala Gly Pro Gly Gly Tyr  
 1                5                10                15

( 2 ) SEQ ID NO : 87 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 450 塩基対

( B ) 配列の型 : 核酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

10

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : その他

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : Coding Sequence

( B ) 存在位置 : 107...400

( D ) 他の情報 :

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 87 :

AGCCCGGTAA TCGAGTCGG GCAATGCTGA CCATCGGGTT TGTTTCCGGC TATAACCGAA      60

CGGTTTGTGT ACGGGATACA AATACAGGGA GGGAAAGAAGT AGGC AA ATG GAA AAA      115      20  
 Met Glu Lys  
 1

ATG TCA CAT GAT CCG ATC GCT GCC GAC ATT GGC ACG CAA GTG AGC GAC      163  
 Met Ser His Asp Pro Ile Ala Ala Asp Ile Gly Thr Gln Val Ser Asp  
 5                10                15

AAC GCT CTG CAC GGC GTG ACG GCC GGC TCG ACG GCG CTG ACG TCG GTG      211  
 Asn Ala Leu His Gly Val Thr Ala Gly Ser Thr Ala Leu Thr Ser Val  
 20                25                30                35

ACC GGG CTG GTT CCC GCG GGG GCC GAT GAG GTC TCC GCC CAA GCG GCG      259      30  
 Thr Gly Leu Val Pro Ala Gly Ala Asp Glu Val Ser Ala Gln Ala Ala  
 40                45                50

ACG GCG TTC ACA TCG GAG GGC ATC CAA TTG CTG GCT TCC AAT GCA TCG      307  
 Thr Ala Phe Thr Ser Glu Gly Ile Gln Leu Ala Ser Asn Ala Ser  
 55                60                65

GCC CAA GAC CAG CTC CAC CGT GCG GGC GAA GCG GTC CAG GAC GTC GCC      355  
 Ala Gln Asp Gln Leu His Arg Ala Gly Glu Ala Val Gln Asp Val Ala  
 70                75                80

CGC ACC TAT TCG CAA ATC GAC GAC GGC GCC GGC GGC GTC TTC GCC TAATA      405      40  
 Arg Thr Tyr Ser Gln Ile Asp Asp Gly Ala Ala Gly Val Phe Ala  
 85                90                95

GGCCCCAAC ACATCGGAGG GAGTGATCAC CATGCTGTGG CACGC      450

( 2 ) SEQ ID NO : 88 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 98 アミノ酸

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : タンパク質

50

( v ) フラグメントの型 : internal

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 88 :

Met	Glu	Lys	Met	Ser	His	Asp	Pro	Ile	Ala	Ala	Asp	Ile	Gly	Thr	Gln
1				5				10						15	

Val	Ser	Asp	Asn	Ala	Leu	His	Gly	Val	Thr	Ala	Gly	Ser	Thr	Ala	Leu
				20				25					30		

Thr	Ser	Val	Thr	Gly	Leu	Val	Pro	Ala	Gly	Ala	Asp	Glu	Val	Ser	Ala
			35				40						45		

Gln	Ala	Ala	Thr	Ala	Phe	Thr	Ser	Glu	Gly	Ile	Gln	Leu	Leu	Ala	Ser	10
			50				55				60					

Asn	Ala	Ser	Ala	Gln	Asp	Gln	Leu	His	Arg	Ala	Gly	Glu	Ala	Val	Gln
			65			70			75				80		

Asp	Val	Ala	Arg	Thr	Tyr	Ser	Gln	Ile	Asp	Asp	Gly	Ala	Ala	Gly	Val
			85					90					95		

Phe Ala

( 2 ) SEQ ID NO : 89 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 460 塩基対

20

( B ) 配列の型 : 核酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : Coding Sequence

( B ) 存在位置 : 37...453

( D ) 他の情報 :

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 89 :

GCAACCGGCT TTTCGATCAG CTGAGACATC AGCGGC GTG CGG GTC AAC GAC CCA Met Arg Val Asn Asp Pro	54
1 5	
CCT GCG CCA GGT AGC GAC TCC GCG CGC AGC AGG CCC GCG CCC GCG CTG Pro Ala Pro Gly Ser Asp Ser Ala Arg Ser Arg Pro Ala Pro Ala Leu	102
10 15 20	
GGG CCT GAT CCA CCA GCC AGC GGA TGG TTC GAC AGC GGA CTG GTG CCG Gly Pro Asp Pro Pro Ala Ser Gly Trp Phe Asp Ser Gly Leu Val Pro	150
25 30 35	
AGC AGG CCC ATC TGC GCG GCT TCC TCG TCG GCT GGG TTG CCG CCG CCG Ser Arg Pro Ile Cys Ala Ala Ser Ser Ser Ala Gly Leu Pro Pro Pro	198
40 45 50	
GTG CCG CCC ACC TGG CTG AAC AAC GAC GTC ACC TGC TGC AGC GGC TGG Val Pro Pro Thr Trp Leu Asn Asn Asp Val Thr Cys Cys Ser Gly Trp	246
55 60 65 70	
GTC AGC TGC TGC ATC GGG CCG CTC ATC TCA CCC AGT TGG CCG AGG GTC Val Ser Cys Cys Ile Gly Pro Leu Ile Ser Pro Ser Trp Pro Arg Val	294
75 80 85	
TGG GTA GCC GCC GGC AAC TGG CCA ACC GGT GTT GAG CTG CCA GGG Trp Val Ala Ala Gly Gly Asn Trp Pro Thr Gly Val Glu Leu Pro Gly	342
90 95 100	
GAG GGC ATT CCG AAG ATC GGG TTC GTC GTG CTC TGG CTC GCG CCG GGA Glu Gly Ile Pro Lys Ile Gly Phe Val Val Leu Trp Leu Ala Pro Gly	390
105 110 115	
TCA AGG ATC GAC GCC ATC GGC TCG AGC TTC TCG AAA AGC GTG TTA ACC Ser Arg Ile Asp Ala Ile Gly Ser Ser Phe Ser Lys Ser Val Leu Thr	438
120 125 130	
GCG GTC TCG GCC TGG TAGACCT Ala Val Ser Ala Trp	460
135	
(2) SEQ ID NO: 90の情報 :	
(i) 配列の特徴 :	
(A) 配列の長さ : 139アミノ酸	
(B) 配列の型 : アミノ酸	
(C) 鎖 : 一本鎖	
(D) トポロジー : 直鎖状	
(ii) 分子の型 : タンパク質	
(v) フラグメントの型 : internal	
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 90 :	

10

20

30

40

Met Arg Val Asn Asp Pro Pro Ala Pro Gly Ser Asp Ser Ala Arg Ser  
 1 5 10 15

Arg Pro Ala Pro Ala Leu Gly Pro Asp Pro Pro Ala Ser Gly Trp Phe  
 20 25 30

Asp Ser Gly Leu Val Pro Ser Arg Pro Ile Cys Ala Ala Ser Ser Ser  
 35 40 45

Ala Gly Leu Pro Pro Pro Val Pro Pro Thr Trp Leu Asn Asn Asp Val  
 50 55 60

Thr Cys Cys Ser Gly Trp Val Ser Cys Cys Ile Gly Pro Leu Ile Ser  
 65 70 75 80

Pro Ser Trp Pro Arg Val Trp Val Ala Ala Gly Gly Asn Trp Pro Thr  
 85 90 95

Gly Val Glu Leu Pro Gly Glu Gly Ile Pro Lys Ile Gly Phe Val Val  
 100 105 110

Leu Trp Leu Ala Pro Gly Ser Arg Ile Asp Ala Ile Gly Ser Ser Phe  
 115 120 125

Ser Lys Ser Val Leu Thr Ala Val Ser Ala Trp  
 130 135

( 2 ) SEQ ID NO : 91 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 1200 塩基対

( B ) 配列の型 : 核酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : Coding Sequence

( B ) 存在位置 : 28...1140

( D ) 他の情報 :

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 91 :

10

20

30

TAATAGGCC	CCAACACATC	GGAGGGA	GTG ATC ACC ATG CTG TGG CAC GCA ATG	54
			Met Ile Thr Met Leu Trp His Ala Met	
			1 5	
CCA CCG GAG CTA AAT ACC GCA CGG CTG ATG GCC GGC GCG GGT CCG GCT				102
Pro Pro Glu Leu Asn Thr Ala Arg Leu Met Ala Gly Ala Gly Pro Ala				
10 15	20	25		
CCA ATG CTT GCG GCG GCC GCG GGA TGG CAG ACG CTT TCG GCG GCT CTG				150
Pro Met Leu Ala Ala Ala Gly Trp Gln Thr Leu Ser Ala Ala Leu				10
30 35	40			
GAC GCT CAG GCC GTC GAG TTG ACC GCG CGC CTG AAC TCT CTG GGA GAA				198
Asp Ala Gln Ala Val Glu Leu Thr Ala Arg Leu Asn Ser Leu Gly Glu				
45 50	55			
GCC TGG ACT GGA GGT GGC AGC GAC AAG GCG CTT GCG GCT GCA ACG CCG				246
Ala Trp Thr Gly Gly Ser Asp Lys Ala Leu Ala Ala Ala Thr Pro				
60 65	70			
ATG GTG GTC TGG CTA CAA ACC GCG TCA ACA CAG GCC AAG ACC CGT GCG				294
Met Val Val Trp Leu Gln Thr Ala Ser Thr Gln Ala Lys Thr Arg Ala				
75 80	85			
ATG CAG GCG ACG GCG CAA GCC GCG GCA TAC ACC CAG GCC ATG GCC ACG				342
Met Gln Ala Thr Ala Gln Ala Ala Ala Tyr Thr Gln Ala Met Ala Thr				
90 95	100	105		

ACG CCG TCG CTG CCG GAG ATC GCC GCC AAC CAC ATC ACC CAG GCC GTC Thr Pro Ser Leu Pro Glu Ile Ala Ala Asn His Ile Thr Gln Ala Val 110 115 120	390
CTT ACG GCC ACC AAC TTC TTC GGT ATC AAC ACG ATC CCG ATC GCG TTG Leu Thr Ala Thr Asn Phe Phe Gly Ile Asn Thr Ile Pro Ile Ala Leu 125 130 135	438
ACC GAG ATG GAT TAT TTC ATC CGT ATG TGG AAC CAG GCA GCC CTG GCA Thr Glu Met Asp Tyr Phe Ile Arg Met Trp Asn Gln Ala Ala Leu Ala 140 145 150	486
ATG GAG GTC TAC CAG GCC GAG ACC GCG GTT AAC ACG CTT TTC GAG AAG Met Glu Val Tyr Gln Ala Glu Thr Ala Val Asn Thr Leu Phe Glu Lys 155 160 165	534
CTC GAG CCG ATG GCG TCG ATC CTT GAT CCC GGC GCG AGC CAG AGC ACG Leu Glu Pro Met Ala Ser Ile Leu Asp Pro Gly Ala Ser Gln Ser Thr 170 175 180 185	582
ACG AAC CCG ATC TTC GGA ATG CCC TCC CCT GGC AGC TCA ACA CCG GTT Thr Asn Pro Ile Phe Gly Met Pro Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Val 190 195 200	630
GCG CAG TTG CCG CCG GCG GCT ACC CAG ACC CTC GGC CAA CTG GGT GAG Gly Gln Leu Pro Pro Ala Ala Thr Gln Thr Leu Gly Gln Leu Gly Glu 205 210 215	678
ATG AGC GGC CCG ATG CAG CAG CTG ACC CAG CCG CTG CAG CAG GTG ACG Met Ser Gly Pro Met Gln Gln Leu Thr Gln Pro Leu Gln Gln Val Thr 220 225 230	726
TCG TTG TTC AGC CAG GTG GGC GGC ACC GGC GGC GGC AAC CCA GCC GAC Ser Leu Phe Ser Gln Val Gly Gly Thr Gly Gly Gly Asn Pro Ala Asp 235 240 245	774
GAG GAA GCC GCG CAG ATG GGC CTG CTC GGC ACC AGT CCG CTG TCG AAC Glu Glu Ala Ala Gln Met Gly Leu Leu Gly Thr Ser Pro Leu Ser Asn 250 255 260 265	822
CAT CCG CTG GCT GGT GGA TCA GGC CCC AGC GCG GGC GCG GGC CTG CTG His Pro Leu Ala Gly Gly Ser Gly Pro Ser Ala Gly Ala Gly Leu Leu 270 275 280	870
CGC GCG GAG TCG CTA CCT GGC GCA GGT GGG TCG TTG ACC CGC ACG CCG Arg Ala Glu Ser Leu Pro Gly Ala Gly Gly Ser Leu Thr Arg Thr Pro 285 290 295	918

CTG ATG TCT CAG CTG ATC GAA AAG CCG GTT GCC CCC TCG GTG ATG CCG  
 Leu Met Ser Gln Leu Ile Glu Lys Pro Val Ala Pro Ser Val Met Pro 966  
 300 305 310

GCG GCT GCT GCC GGA TCG TCG GCG ACG GGT GGC GCC GCT CCG GTG GGT  
 Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ser Ala Thr Gly Gly Ala Ala Pro Val Gly 1014  
 315 320 325

GCG GGA GCG ATG GGC CAG GGT GCG CAA TCC GGC GGC TCC ACC AGG CCG  
 Ala Gly Ala Met Gly Gln Gly Ala Gln Ser Gly Gly Ser Thr Arg Pro 1062  
 330 335 340 345

GGT CTG GTC GCG CCG GCA CCG CTC GCG CAG GAG CGT GAA GAA GAC GAC  
 Gly Leu Val Ala Pro Ala Pro Leu Ala Gln Glu Arg Glu Glu Asp Asp 1110  
 350 355 360

GAG GAC GAC TGG GAC GAA GAG GAC GAC TGG TGAGCTCCCG TAATGACAAC AGA 1163  
 Glu Asp Asp Trp Asp Glu Glu Asp Asp Trp  
 365 370

CTTCCCCGCC ACCCGGGCCG GAAGACTTGC CAACATT 1200

( 2 ) SEQ ID NO : 92 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

20

( A ) 配列の長さ : 371 アミノ酸

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : タンパク質

( v ) フラグメントの型 : internal

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 92 :

10

Met Ile Thr Met Leu Trp His Ala Met Pro Pro Glu Leu Asn Thr Ala  
 1 5 10 15

Arg Leu Met Ala Gly Ala Gly Pro Ala Pro Met Leu Ala Ala Ala Ala  
 20 25 30

Gly Trp Gln Thr Leu Ser Ala Ala Leu Asp Ala Gln Ala Val Glu Leu  
 35 40 45

Thr Ala Arg Leu Asn Ser Leu Gly Glu Ala Trp Thr Gly Gly Ser  
 50 55 60

Asp Lys Ala Leu Ala Ala Ala Thr Pro Met Val Val Trp Leu Gln Thr  
 65 70 75 80 10

Ala Ser Thr Gln Ala Lys Thr Arg Ala Met Gln Ala Thr Ala Gln Ala  
 85 90 95

Ala Ala Tyr Thr Gln Ala Met Ala Thr Thr Pro Ser Leu Pro Glu Ile  
 100 105 110

Ala Ala Asn His Ile Thr Gln Ala Val Leu Thr Ala Thr Asn Phe Phe  
 115 120 125

Gly Ile Asn Thr Ile Pro Ile Ala Leu Thr Glu Met Asp Tyr Phe Ile  
 130 135 140

Arg Met Trp Asn Gln Ala Ala Leu Ala Met Glu Val Tyr Gln Ala Glu  
 145 150 155 160 20

Thr Ala Val Asn Thr Leu Phe Glu Lys Leu Glu Pro Met Ala Ser Ile  
 165 170 175

Leu Asp Pro Gly Ala Ser Gln Ser Thr Thr Asn Pro Ile Phe Gly Met  
 180 185 190

Pro Ser Pro Gly Ser Ser Thr Pro Val Gly Gln Leu Pro Pro Ala Ala  
 195 200 205

Thr Gln Thr Leu Gly Gln Leu Gly Glu Met Ser Gly Pro Met Gln Gln  
 210 215 220

Leu Thr Gln Pro Leu Gln Gln Val Thr Ser Leu Phe Ser Gln Val Gly  
 225 230 235 240 30

Gly Thr Gly Gly Asn Pro Ala Asp Glu Glu Ala Ala Gln Met Gly  
 245 250 255

Leu Leu Gly Thr Ser Pro Leu Ser Asn His Pro Leu Ala Gly Gly Ser  
 260 265 270

Gly Pro Ser Ala Gly Ala Gly Leu Leu Arg Ala Glu Ser Leu Pro Gly  
 275 280 285

Ala Gly Gly Ser Leu Thr Arg Thr Pro Leu Met Ser Gln Leu Ile Glu  
 290 295 300

Lys Pro Val Ala Pro Ser Val Met Pro Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ser  
 305 310 315 320 40

Ala Thr Gly Gly Ala Ala Pro Val Gly Ala Gly Ala Met Gly Gln Gly  
 325 330 335

Ala Gln Ser Gly Gly Ser Thr Arg Pro Gly Leu Val Ala Pro Ala Pro  
 340 345 350

Leu Ala Gln Glu Arg Glu Glu Asp Asp Glu Asp Asp Trp Asp Glu Glu  
 355 360 365

Asp Asp Trp  
 370

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 1000 塩基対

( B ) 配列の型 : 核酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : Coding Sequence

( B ) 存在位置 : 46...969

( D ) 他の情報 :

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 93 :

GACGCGACAC AGAAATCCTT AAGGCCGGCG GCCAAGGGGC CGAACG GTG AAG AAG GTG Met Lys Lys Val 1	57	10
AAG CCC CAG AAA CCG AAG GCC ACG AAG CCG CCC AAA GTG GTG TCG CAG Lys Pro Gln Lys Pro Lys Ala Thr Lys Pro Pro Lys Val Val Ser Gln 5 10 15 20		105
CGC GGC TGG CGA CAT TGG GTG CAT GCG TTG ACG CGA ATC AAC CTG GGC Arg Gly Trp Arg His Trp Val His Ala Leu Thr Arg Ile Asn Leu Gly 25 30 35		153
CTG TCA CCC GAC GAG AAG TAC GAG CTG GAC CTG CAC GCT CGA GTC CGC Leu Ser Pro Asp Glu Lys Tyr Glu Leu Asp Leu His Ala Arg Val Arg 40 45 50		201
CGC AAT CCC CGC GGG TCG TAT CAG ATC GCC GTC GTC GGT CTC AAA GGT Arg Asn Pro Arg Gly Ser Tyr Gln Ile Ala Val Val Gly Leu Lys Gly 55 60 65		249
GGG GCT GGC AAA ACC ACG CTG ACA GCA GCG TTG GGG TCG ACG TTG GCT Gly Ala Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Ala Leu Gly Ser Thr Leu Ala 70 75 80		297
CAG GTG CGG GCC GAC CGG ATC CTG GCT CTA GAC GCG GAT CCA GGC GCC Gln Val Arg Ala Asp Arg Ile Leu Ala Leu Asp Ala Asp Pro Gly Ala 85 90 95 100		345
GGA AAC CTC GCC GAT CGG GTA GGG CGA CAA TCG GGC GCG ACC ATC GCT Gly Asn Leu Ala Asp Arg Val Gly Arg Gln Ser Gly Ala Thr Ile Ala 105 110 115		393
GAT GTG CTT GCA GAA AAA GAG CTG TCG CAC TAC AAC GAC ATC CGC GCA Asp Val Leu Ala Glu Lys Glu Leu Ser His Tyr Asn Asp Ile Arg Ala 120 125 130		441
CAC ACT AGC GTC AAT GCG GTC AAT CTG GAA GTG CTG CCG GCA CCG GAA His Thr Ser Val Asn Ala Val Asn Leu Glu Val Leu Pro Ala Pro Glu 135 140 145		489
TAC AGC TCG GCG CAG CGC GCG CTC AGC GAC GCC GAC TGG CAT TTC ATC Tyr Ser Ser Ala Gln Arg Ala Leu Ser Asp Ala Asp Trp His Phe Ile 150 155 160		537
		40

GCC GAT CCT GCG TCG AGG TTT TAC AAC CTC GTC TTG GCT GAT TGT GGG Ala Asp Pro Ala Ser Arg Phe Tyr Asn Leu Val Leu Ala Asp Cys Gly 165 170 175 180	585
GCC GGC TTC TTC GAC CCG CTG ACC CGC GGC GTG CTG TCC ACG GTG TCC Ala Gly Phe Phe Asp Pro Leu Thr Arg Gly Val Leu Ser Thr Val Ser 185 190 195	633
GGT GTC GTG GTC GTG GCA AGT GTC TCA ATC GAC GGC GCA CAA CAG GCG Gly Val Val Val Ala Ser Val Ser Ile Asp Gly Ala Gln Gln Ala 200 205 210	681
TCG GTC GCG TTG GAC TGG TTG CGC AAC AAC GGT TAC CAA GAT TTG GCG Ser Val Ala Leu Asp Trp Leu Arg Asn Asn Gly Tyr Gln Asp Leu Ala 215 220 225	729
AGC CGC GCA TGC GTG GTC ATC AAT CAC ATC ATG CCG GGA GAA CCC AAT Ser Arg Ala Cys Val Val Ile Asn His Ile Met Pro Gly Glu Pro Asn 230 235 240	777
GTC GCA GTT AAA GAC CTG GTG CGG CAT TTC GAA CAG CAA GTT CAA CCC Val Ala Val Lys Asp Leu Val Arg His Phe Glu Gln Gln Val Gln Pro 245 250 255 260	825
GGC CGG GTC GTG GTC ATG CCG TGG GAC AGG CAC ATT GCG GCC GGA ACC Gly Arg Val Val Val Met Pro Trp Asp Arg His Ile Ala Ala Gly Thr 265 270 275	873
GAG ATT TCA CTC GAC TTG CTC GAC CCT ATC TAC AAG CGC AAG GTC CTC Glu Ile Ser Leu Asp Leu Leu Asp Pro Ile Tyr Lys Arg Lys Val Leu 280 285 290	921
GAA TTG GCC GCA GCG CTA TCC GAC GAT TTC GAG AGG GCT GGA CGT CGT T Glu Leu Ala Ala Ala Leu Ser Asp Asp Phe Glu Arg Ala Gly Arg Arg 295 300 305	970
GAGCGCACCT GCTGTTGCTG CTGGTCCTAC	1000
(2) SEQ ID NO: 94の情報:	
(i) 配列の特徴:	
(A) 配列の長さ: 308アミノ酸	
(B) 配列の型: アミノ酸	30
(C) 鎖: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(iii) 分子の型: タンパク質	
(v) フラグメントの型: internal	
(xi) 配列の記載: SEQ ID NO: 94:	

Met Lys Lys Val Lys Pro Gln Lys Pro Lys Ala Thr Lys Pro Pro Lys  
 1 5 10 15

Val Val Ser Gln Arg Gly Trp Arg His Trp Val His Ala Leu Thr Arg  
 20 25 30

Ile Asn Leu Gly Leu Ser Pro Asp Glu Lys Tyr Glu Leu Asp Leu His  
 35 40 45

Ala Arg Val Arg Arg Asn Pro Arg Gly Ser Tyr Gln Ile Ala Val Val  
 50 55 60

10

Gly Leu Lys Gly Gly Ala Gly Lys Thr Thr Leu Thr Ala Ala Leu Gly  
 65 70 75 80

Ser Thr Leu Ala Gln Val Arg Ala Asp Arg Ile Leu Ala Leu Asp Ala  
 85 90 95

Asp Pro Gly Ala Gly Asn Leu Ala Asp Arg Val Gly Arg Gln Ser Gly  
 100 105 110

Ala Thr Ile Ala Asp Val Leu Ala Glu Lys Glu Leu Ser His Tyr Asn  
 115 120 125

20

Asp Ile Arg Ala His Thr Ser Val Asn Ala Val Asn Leu Glu Val Leu  
 130 135 140

Pro Ala Pro Glu Tyr Ser Ser Ala Gln Arg Ala Leu Ser Asp Ala Asp  
 145 150 155 160

Trp His Phe Ile Ala Asp Pro Ala Ser Arg Phe Tyr Asn Leu Val Leu  
 165 170 175

Ala Asp Cys Gly Ala Gly Phe Asp Pro Leu Thr Arg Gly Val Leu  
 180 185 190

Ser Thr Val Ser Gly Val Val Val Val Ala Ser Val Ser Ile Asp Gly  
 195 200 205

30

Ala Gln Gln Ala Ser Val Ala Leu Asp Trp Leu Arg Asn Asn Gly Tyr  
 210 215 220

Gln Asp Leu Ala Ser Arg Ala Cys Val Val Ile Asn His Ile Met Pro  
 225 230 235 240

Gly Glu Pro Asn Val Ala Val Lys Asp Leu Val Arg His Phe Glu Gln  
 245 250 255

Gln Val Gln Pro Gly Arg Val Val Val Met Pro Trp Asp Arg His Ile  
 260 265 270

40

Ala Ala Gly Thr Glu Ile Ser Leu Asp Leu Leu Asp Pro Ile Tyr Lys  
 275 280 285

Arg Lys Val Leu Glu Leu Ala Ala Ala Leu Ser Asp Asp Phe Glu Arg  
 290 295 300

Ala Gly Arg Arg  
 305

(2) SEQ ID NO: 95の情報:

(i) 配列の特徴:

(A) 配列の長さ: 34塩基対

50

(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 95 :	
AAGAGTAGAT CTATGATGGC CGAGGATGTT CGCG	34
(2) SEQ ID NO : 96の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：27塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	10
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 96 :	
CGGCGACGAC GGATCCTACC GCGTCGG	27
(2) SEQ ID NO : 97の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：28塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 97 :	20
CCTTGGGAGA TCTTGGAACC CCGGTTGC	28
(2) SEQ ID NO : 98の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：25塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 98 :	
GACGAGATCT TATGGGCTTA CTGAC	25
(2) SEQ ID NO : 99の情報：	30
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：33塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 99 :	
CCCCCCCAGAT CTGCACCAACC GGCATCGGCG GGC	33
(2) SEQ ID NO : 100の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：24塩基対	40
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 100 :	
GCGGCGGGATC CGTTGCTTAG CCGG	24
(2) SEQ ID NO : 101の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：32塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	50

(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 101 :	32
CCGGCTGAGA TCTATGACAG AATACGAAGG GC	
(2) SEQ ID NO : 102 の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：24 塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	10
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 102 :	24
CCCCGCCAGG GAACTAGAGG CGGC	
(2) SEQ ID NO : 103 の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：38 塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 103 :	20
CTGCCGAGAT CTACCACCAT TGTCGCGCTG AAATACCC	38
(2) SEQ ID NO : 104 の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：25 塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 104 :	
CGCCATGGCC TTACGGCCA ACTCG	25
(2) SEQ ID NO : 105 の情報：	30
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：32 塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 105 :	
GGCGGAGATC TGTGAGTTT CCGTATTCA TC	32
(2) SEQ ID NO : 106 の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：25 塩基対	40
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 106 :	
CGCGTCGAGC CATGGTTAGG CGCAG	25
(2) SEQ ID NO : 107 の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：32 塩基対	
(B) 配列の型：核酸	50

(C) 鎖：一本鎖		
(D) トポロジー：直鎖状		
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 107 :		
GAGGAAGATC TATGACAACT TCACCCGACC CG	32	
(2) SEQ ID NO : 108 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 28 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖：一本鎖		
(D) トポロジー：直鎖状	10	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 108 :		
CATGAAGCCA TGGCCCGCAG GCTGCATG	28	
(2) SEQ ID NO : 109 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 33 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖：一本鎖		
(D) トポロジー：直鎖状		
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 109 :		
GGCGGAGATC TGTGACCCAC TATGACGTCG TCG	33	20
(2) SEQ ID NO : 110 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 36 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖：一本鎖		
(D) トポロジー：直鎖状		
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 110 :		
GGCGCCCCATG GTCAGAAATT GATCATGTGG CCAACC	36	
(2) SEQ ID NO : 111 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		30
(A) 配列の長さ : 33 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖：一本鎖		
(D) トポロジー：直鎖状		
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 111 :		
CCGGGAGATC TATGGCAAAG CTCTCCACCG ACG	33	
(2) SEQ ID NO : 112 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 32 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		40
(C) 鎖：一本鎖		
(D) トポロジー：直鎖状		
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 112 :		
CGCTGGGCAG AGCTACTTGA CGGTGACGGT GG	32	
(2) SEQ ID NO : 113 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 36 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖：一本鎖		
(D) トポロジー：直鎖状	50	

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 113 :		
GGCCCAGATC TATGCCATT GAGGTTTCGG TGTTGC	36	
(2) SEQ ID NO : 114 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 26 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖 : 一本鎖		
(D) トポロジー : 直鎖状		
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 114 :		
CGCCGTGTTG CATGGCAGCG CTGAGC	26	10
(2) SEQ ID NO : 115 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 24 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖 : 一本鎖		
(D) トポロジー : 直鎖状		
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 115 :		
GGACGTTCAA GCGACACATC GCCG	24	
(2) SEQ ID NO : 116 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		20
(A) 配列の長さ : 24 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖 : 一本鎖		
(D) トポロジー : 直鎖状		
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 116 :		
CAGCACGAAC GCGCCGTCGA TGGC	24	
(2) SEQ ID NO : 117 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 26 塩基対		30
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖 : 一本鎖		
(D) トポロジー : 直鎖状		
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 117 :		
ACAGATCTGT GACGGACATG AACCCG	26	
(2) SEQ ID NO : 118 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 28 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖 : 一本鎖		40
(D) トポロジー : 直鎖状		
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 118 :		
TTTCCATGG TCACGGGCC CCGGTACT	28	
(2) SEQ ID NO : 119 の情報 :		
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 26 塩基対		
(B) 配列の型 : 核酸		
(C) 鎖 : 一本鎖		
(D) トポロジー : 直鎖状		
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 119 :		50

ACAGATCTGT GCCCATGGCA CAGATA	26
( 2 ) SEQ ID NO : 120 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 27 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 120 :	
TTTAAGCTTC TAGGCGCCCA GCGCGGC	27
( 2 ) SEQ ID NO : 121 の情報 :	10
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 26 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 121 :	
ACAGATCTGC GCATGCGGAT CCGTGT	26
( 2 ) SEQ ID NO : 122 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 28 塩基対	20
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 122 :	
TTTCCATGG TCATCCGGCG TGATCGAG	28
( 2 ) SEQ ID NO : 123 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 26 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	30
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 123 :	
ACAGATCTGT AATGGCAGAC TGTGAT	26
( 2 ) SEQ ID NO : 124 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 28 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 124 :	40
TTTCCATGG TCAGGAGATG GTGATCGA	28
( 2 ) SEQ ID NO : 125 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 26 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 125 :	
ACAGATCTGC CGGCTACCCC GGTGCC	26
( 2 ) SEQ ID NO : 126 の情報 :	50

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 28 塩基対

( B ) 配列の型 : 核酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 126 :

TTTTCCATGG CTATTGCAGC TTTCCGGC

28

( 2 ) SEQ ID NO : 127 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 50 アミノ酸

10

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : なし

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 127 :

Ala Glu Asp Val Arg Ala Glu Ile Val Ala Ser Val Leu Glu Val Val  
1 5 10 15

Val Asn Glu Gly Asp Gln Ile Asp Lys Gly Asp Val Val Val Leu Leu  
20 25 30

20

Glu Ser Met Tyr Met Glu Ile Pro Val Leu Ala Glu Ala Ala Gly Thr  
35 40 45

Val Ser

50

( 2 ) SEQ ID NO : 128 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 49 アミノ酸

30

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : なし

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 128 :

Ala Glu Asp Val Arg Ala Glu Ile Val Ala Ser Val Leu Glu Val Val  
1 5 10 15

Val Asn Glu Gly Asp Gln Ile Asp Lys Gly Asp Val Val Val Leu Leu  
20 25 30

Glu Ser Met Met Glu Ile Pro Val Leu Ala Glu Ala Ala Gly Thr Val  
35 40 45

Ser

( 2 ) SEQ ID NO : 129 の情報 :

40

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 50 アミノ酸

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : なし

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 129 :

Ala Glu Asp Val Arg Ala Glu Ile Val Ala Ser Val Leu Glu Val Val  
 1 5 10 15

Val Asn Glu Gly Asp Gln Ile Asp Lys Gly Asp Val Val Val Leu Leu  
 20 25 30

Glu Ser Met Lys Met Glu Ile Pro Val Leu Ala Glu Ala Ala Gly Thr  
 35 40 45

Val Ser  
 50

(2) SEQ ID NO : 130の情報 : 10

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 33塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 130 :

CCGGGAGATC TATGGCAAAG CTCTCCACCG ACG 33

(2) SEQ ID NO : 131の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 32塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 131 :

CGCTGGGCAG AGCTACTTGA CGGTGACGGT GG 32

(2) SEQ ID NO : 132の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 36塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 132 :

GGCGCCGGCA AGCTTGCCAT GACAGAGCAG CAGTGG 36

(2) SEQ ID NO : 133の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 26塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 133 :

CGAACTCGCC GGATCCCGTG TTTCGC 40

26

(2) SEQ ID NO : 134の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 32塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 134 :

GGCAACCGCG AGATCTTCT CCCGGCCGGG GC 32

(2) SEQ ID NO : 135の情報 :

50

( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 27 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 135 :	
GGCAAGCTTG CGCGCGCCTA ACGAACT	27
( 2 ) SEQ ID NO : 136 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 30 塩基対	10
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 136 :	
GGACCCAGAT CTATGACAGA GCAGCAGTGG	30
( 2 ) SEQ ID NO : 137 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 47 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	20
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 137 :	
CCGGCAGCCC CGGCCGGGAG AAAAGCTTG CGAACATCCC AGTGACG	47
( 2 ) SEQ ID NO : 138 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 44 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 138 :	30
GTCGCAGCAAAG CTTTCTCCCC GGCGGGGGCT GCCGGTCGAG TACC	44
( 2 ) SEQ ID NO : 139 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 20 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 139 :	
CCTTCGGTGG ATCCCGTCAG	20
( 2 ) SEQ ID NO : 140 の情報 :	40
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 450 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( ix ) 配列の特徴 :	
( A ) 名称 / キー : Coding Sequence	
( B ) 存在位置 : 68...346	
( D ) 他の情報 :	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 140 :	50

TGGCGCTGTC ACCGAGGAAC CTGTCAATGT CGTCGAGCAG TACTGAACCG TTCCGAGAAA 60

GGCCAGC ATG AAC GTC ACC GTA TCC ATT CCG ACC ATC CTG CGG CCC CAC 109  
Met Asn Val Thr Val Ser Ile Pro Thr Ile Leu Arg Pro His  
1 5 10

ACC GGC GGC CAG AAG AGT GTC TCG GCC AGC GGC GAT ACC TTG GGT GCC 157  
Thr Gly Gly Gln Lys Ser Val Ser Ala Ser Gly Asp Thr Leu Gly Ala  
15 20 25 30

GTC ATC AGC GAC CTG GAG GCC AAC TAT TCG GGC ATT TCC GAG CGC CTG 205  
Val Ile Ser Asp Leu Glu Ala Asn Tyr Ser Gly Ile Ser Glu Arg Leu  
35 40 45 10

ATG GAC CCG TCT TCC CCA GGT AAG TTG CAC CGC TTC GTG AAC ATC TAC 253  
Met Asp Pro Ser Ser Pro Gly Lys Leu His Arg Phe Val Asn Ile Tyr  
50 55 60

GTC AAC GAC GAG GAC GTG CGG TTC TCC GGC GGC TTG GCC ACC GCG ATC 301  
Val Asn Asp Glu Asp Val Arg Phe Ser Gly Gly Leu Ala Thr Ala Ile  
65 70 75

GCT GAC GGT GAC TCG GTC ACC ATC CTC CCC GCC GTG GCC GGT GGG TGAGC 351  
Ala Asp Gly Asp Ser Val Thr Ile Leu Pro Ala Val Ala Gly Gly  
80 85 90 20

GGAGCACATG ACACGATAACG ACTCGCTGTT GCAGGCCTTG GGCAACACGC CGCTGGTTGG 411

CCTGCAGCGA TTGTCGCCAC GCTGGGATGA CGGGCGAGA 450

(2) SEQ ID NO: 141の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 93アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状 30

(ii) 分子の型 : タンパク質

(v) フラグメントの型 : internal

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 141 :

Met Asn Val Thr Val Ser Ile Pro Thr Ile Leu Arg Pro His Thr Gly  
1 5 10 15

Gly Gln Lys Ser Val Ser Ala Ser Gly Asp Thr Leu Gly Ala Val Ile  
20 25 30

Ser Asp Leu Glu Ala Asn Tyr Ser Gly Ile Ser Glu Arg Leu Met Asp  
35 40 45 40

Pro Ser Ser Pro Gly Lys Leu His Arg Phe Val Asn Ile Tyr Val Asn  
50 55 60

Asp Glu Asp Val Arg Phe Ser Gly Gly Leu Ala Thr Ala Ile Ala Asp  
65 70 75 80

Gly Asp Ser Val Thr Ile Leu Pro Ala Val Ala Gly Gly  
85 90

(2) SEQ ID NO: 142の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 480塩基対 50

(B) 配列の型：核酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ix) 配列の特徴：

(A) 名称 / キー : Cording Sequence

(B) 存在位置 : 88...381

(D) 他の情報：

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 142 :

GGTGTCCCCG CGGCCGGCTA TGACAAACAGT CAATGTGCAT GACAAGTTAC AGGTATTAGG	60	
TCCAGGTTCA ACAAGGAGAC AGGCAAC ATG GCA ACA CGT TTT ATG ACG GAT CCG	10	
Met Ala Thr Arg Phe Met Thr Asp Pro		
1 5		
CAC GCG ATG CGG GAC ATG GCG GGC CGT TTT GAG GTG CAC GCC CAG ACG	162	
His Ala Met Arg Asp Met Ala Gly Arg Phe Glu Val His Ala Gln Thr		
10 15 20 25		
GTG GAG GAC GAG GCT CGC CGG ATG TGG GCG TCC GCG CAA AAC ATC TCG	210	
Val Glu Asp Glu Ala Arg Arg Met Trp Ala Ser Ala Gln Asn Ile Ser		
30 35 40		
GGC GCG GGC TGG AGT GGC ATG GCC GAG GCG ACC TCG CTA GAC ACC ATG	258	
Gly Ala Gly Trp Ser Gly Met Ala Glu Ala Thr Ser Leu Asp Thr Met		
45 50 55		
GCC CAG ATG AAT CAG GCG TTT CGC AAC ATC GTG AAC ATG CTG CAC GGG	306	
Ala Gln Met Asn Gln Ala Phe Arg Asn Ile Val Asn Met Leu His Gly		
60 65 70		
GTG CGT GAC GGG CTG GTT CGC GAC GCC AAC AAC TAC GAG CAG CAA GAG	354	
Val Arg Asp Gly Leu Val Arg Asp Ala Asn Asn Tyr Glu Gln Gln Glu		
75 80 85		
CAG GCC TCC CAG CAG ATC CTC AGC AGC TAACGTCAGC CGCTGCAGCA CAATACT	408	
Gln Ala Ser Gln Gln Ile Leu Ser Ser		
90 95		
TTTACAAGCG AAGGAGAAC A GGTCGATGA CCATCAACTA TCAGTCGGT GATGTCGACG	468	
CTCATGGCGC CA		
(2) SEQ ID NO : 143 の情報 :	480	
(i) 配列の特徴 :		
(A) 配列の長さ : 98 アミノ酸		
(B) 配列の型 : アミノ酸		
(C) 鎖 : 一本鎖		
(D) トポロジー : 直鎖状	40	
(ii) 分子の型 : タンパク質		
(v) フラグメントの型 : internal		
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 143 :		

Met Ala Thr Arg Phe Met Thr Asp Pro His Ala Met Arg Asp Met Ala  
1 5 10 15

Gly Arg Phe Glu Val His Ala Gln Thr Val Glu Asp Glu Ala Arg Arg  
20 25 30

Met Trp Ala Ser Ala Gln Asn Ile Ser Gly Ala Gly Trp Ser Gly Met  
35 40 45

Ala Glu Ala Thr Ser Leu Asp Thr Met Ala Gln Met Asn Gln Ala Phe  
50 55 60

Arg Asn Ile Val Asn Met Leu His Gly Val Arg Asp Gly Leu Val Arg  
65 70 75 80

Asp Ala Asn Asn Tyr Glu Gln Gln Glu Gln Ala Ser Gln Gln Ile Leu  
85 90 95

Ser Ser

( 2 ) SEQ ID NO : 144 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 940 塩基対

( B ) 配列の型 : 核酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : Coding Sequence

( B ) 存在位置 : 86...868

( D ) 他の情報 :

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 144 :

10

20

GCCCCAGTCC TCGATCGCCT CATCGCCTTC ACCGGCCGCC AGCCGACCGC AGGCCACGTG 60  
 TCCGCCACCT AACGAAAGGA TGATC ATG CCC AAG AGA AGC GAA TAC AGG CAA 112  
                   Met Pro Lys Arg Ser Glu Tyr Arg Gln  
                   1                 5  
 GGC ACG CCG AAC TGG GTC GAC CTT CAG ACC ACC GAT CAG TCC GCC GCC 160  
 Gly Thr Pro Asn Trp Val Asp Leu Gln Thr Thr Asp Gln Ser Ala Ala  
   10              15              20              25  
 AAA AAG TTC TAC ACA TCG TTG TTC GGC TGG GGT TAC GAC GAC AAC CCG 208  
 Lys Lys Phe Tyr Thr Ser Leu Phe Gly Trp Gly Tyr Asp Asp Asn Pro  
   30              35              40  
 GTC CCC GGA GGC GGT GGG GTC TAT TCC ATG GCC ACG CTG AAC GGC GAA 256  
 Val Pro Gly Gly Gly Val Tyr Ser Met Ala Thr Leu Asn Gly Glu  
   45              50              55  
 GCC GTG GCC GCC ATC GCA CCG ATG CCC CCG GGT GCA CCG GAG GGG ATG 304    10  
 Ala Val Ala Ala Ile Ala Pro Met Pro Pro Gly Ala Pro Glu Gly Met  
   60              65              70  
 CCG CCG ATC TGG AAC ACC TAT ATC GCG GTG GAC GAC GTC GAT GCG GTG 352  
 Pro Pro Ile Trp Asn Thr Tyr Ile Ala Val Asp Asp Val Asp Ala Val  
   75              80              85  
 GTG GAC AAG GTG GTG CCC GGG GGC GGG CAG GTG ATG CCG GCC TTC 400  
 Val Asp Lys Val Val Pro Gly Gly Gly Gln Val Met Met Pro Ala Phe  
   90              95              100              105  
 GAC ATC GGC GAT GCC GGC CGG ATG TCG TTC ATC ACC GAT CCG ACC GGC 448  
 Asp Ile Gly Asp Ala Gly Arg Met Ser Phe Ile Thr Asp Pro Thr Gly  
   110            115            120  
 GCT GCC GTG GGC CTA TGG CAG GCC AAT CGG CAC ATC GGA GCG ACG TTG 496  
 Ala Ala Val Gly Leu Trp Gln Ala Asn Arg His Ile Gly Ala Thr Leu  
   125            130            135  
 GTC AAC GAG ACG GGC ACG CTC ATC TGG AAC GAA CTG CTC ACG GAC AAG 544  
 Val Asn Glu Thr Gly Thr Leu Ile Trp Asn Glu Leu Leu Thr Asp Lys  
   140            145            150  
 CCG GAT TTG GCG CTA GCG TTC TAC GAG GCT GTG GTT GGC CTC ACC CAC 592  
 Pro Asp Leu Ala Leu Ala Phe Tyr Glu Ala Val Val Gly Leu Thr His  
   155            160            165  
 TCG AGC ATG GAG ATA GCT GCG GGC CAG AAC TAT CGG GTG CTC AAG GCC 640  
 Ser Ser Met Glu Ile Ala Ala Gly Gln Asn Tyr Arg Val Leu Lys Ala  
   170            175            180            185  
 GGC GAC GCG GAA GTC GGC GGC TGT ATG GAA CCG CCG ATG CCC GGC GTG 688  
 Gly Asp Ala Glu Val Gly Gly Cys Met Glu Pro Pro Met Pro Gly Val  
   190            195            200  
 CCG AAT CAT TGG CAC GTC TAC TTT GCG GTG GAT GAC GCC GAC GCC ACG 736    30  
 Pro Asn His Trp His Val Tyr Phe Ala Val Asp Asp Ala Asp Ala Thr  
   205            210            215  
 GCG GCC AAA GCC GCC GCA GCG GGC GGC CAG GTC ATT GCG GAA CCG GCT 784  
 Ala Ala Lys Ala Ala Ala Gly Gly Gln Val Ile Ala Glu Pro Ala  
   220            225            230  
 GAC ATT CCG TCG GTG GGC CGG TTC GCC GTG TTG TCC GAT CCG CAG GGC 832  
 Asp Ile Pro Ser Val Gly Arg Phe Ala Val Leu Ser Asp Pro Gln Gly  
   235            240            245  
 GCG ATC TTC AGT GTG TTG AAG CCC GCA CCG CAG CAA TAGGGAGCAT CCCGGG 884  
 Ala Ile Phe Ser Val Leu Lys Pro Ala Pro Gln Gln  
   250            255            260  
 CAGGCCGCCGGCC GGCGGGCAGA TTCCGGAGAAT GCTAGAAGCT GCCGCCGGCG CCGCCG 940

(2) SEQ ID NO: 145の情報 :

40

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 261アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : タンパク質

(v) フラグメントの型 : internal

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 145 :

Met Pro Lys Arg Ser Glu Tyr Arg Gln Gly Thr Pro Asn Trp Val Asp  
 1 5 10 15  
 Leu Gln Thr Thr Asp Gln Ser Ala Ala Lys Lys Phe Tyr Thr Ser Leu  
 20 25 30  
 Phe Gly Trp Gly Tyr Asp Asp Asn Pro Val Pro Gly Gly Gly Val  
 35 40 45  
 Tyr Ser Met Ala Thr Leu Asn Gly Glu Ala Val Ala Ala Ile Ala Pro  
 50 55 60  
 Met Pro Pro Gly Ala Pro Glu Gly Met Pro Pro Ile Trp Asn Thr Tyr  
 65 70 75 80  
 Ile Ala Val Asp Asp Val Asp Ala Val Val Asp Lys Val Val Pro Gly  
 85 90 95  
 Gly Gly Gln Val Met Met Pro Ala Phe Asp Ile Gly Asp Ala Gly Arg  
 100 105 110  
 Met Ser Phe Ile Thr Asp Pro Thr Gly Ala Ala Val Gly Leu Trp Gln  
 115 120 125  
 Ala Asn Arg His Ile Gly Ala Thr Leu Val Asn Glu Thr Gly Thr Leu  
 130 135 140  
 Ile Trp Asn Glu Leu Leu Thr Asp Lys Pro Asp Leu Ala Leu Ala Phe  
 145 150 155 160  
 Tyr Glu Ala Val Val Gly Leu Thr His Ser Ser Met Glu Ile Ala Ala  
 165 170 175  
 Gly Gln Asn Tyr Arg Val Leu Lys Ala Gly Asp Ala Glu Val Gly Gly  
 180 185 190  
 Cys Met Glu Pro Pro Met Pro Gly Val Pro Asn His Trp His Val Tyr  
 195 200 205  
 Phe Ala Val Asp Asp Ala Asp Ala Thr Ala Ala Lys Ala Ala Ala Ala  
 210 215 220  
 Gly Gly Gln Val Ile Ala Glu Pro Ala Asp Ile Pro Ser Val Gly Arg  
 225 230 235 240  
 Phe Ala Val Leu Ser Asp Pro Gln Gly Ala Ile Phe Ser Val Leu Lys  
 245 250 255  
 Pro Ala Pro Gln Gln  
 260

(2) SEQ ID NO: 146の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 280塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎮 : 一本鎮

(D) トポロジー : 直鎮状

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : Coding Sequence

(B) 存在位置 : 47...247

(D) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 146 :

10

20

30

40

CCGAAAGGCG GTGCACCGCA CCCAGAAGAA AAGGAAAGAT CGAGAA ATG CCA CAG Met Pro Gln 1	55
GGA ACT GTG AAG TGG TTC AAC GCG GAG AAG GGG TTC GGC TTT ATC GCC Gly Thr Val Lys Trp Phe Asn Ala Glu Lys Gly Phe Gly Phe Ile Ala 5 10 15	103
CCC GAA GAC GGT TCC GCG GAT GTA TTT GTC CAC TAC ACG GAG ATC CAG Pro Glu Asp Gly Ser Ala Asp Val Phe Val His Tyr Thr Glu Ile Gln 20 25 30 35	151
GGA ACG GGC TTC CGC ACC CTT GAA GAA AAC CAG AAG GTC GAG TTC GAG Gly Thr Gly Phe Arg Thr Leu Glu Glu Asn Gln Lys Val Glu Phe Glu 40 45 50	199
ATC GGC CAC AGC CCT AAG GGC CCC CAG GCC ACC GGA GTC CGC TCG CTC T Ile Gly His Ser Pro Lys Gly Pro Gln Ala Thr Gly Val Arg Ser Leu 55 60 65	248
GAGTTACCCC CGCGAGCAGA CGCAAAAAGC CC	280

(2) SEQ ID NO : 147の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 67アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

20

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ii) 分子の型 : タンパク質

(v) フラグメントの型 : internal

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 147 :

Met Pro Gln Gly Thr Val Lys Trp Phe Asn Ala Glu Lys Gly Phe Gly 1 5 10 15
--

Phe Ile Ala Pro Glu Asp Gly Ser Ala Asp Val Phe Val His Tyr Thr 20 25 30
---

30

Glu Ile Gln Gly Thr Gly Phe Arg Thr Leu Glu Glu Asn Gln Lys Val 35 40 45
---

Glu Phe Glu Ile Gly His Ser Pro Lys Gly Pro Gln Ala Thr Gly Val 50 55 60
---

Arg Ser Leu 65
-------------------

(2) SEQ ID NO : 148の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 540塩基対

40

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(ix) 配列の特徴 :

(A) 名称 / キー : Coding Sequence

(B) 存在位置 : 105...491

(D) 他の情報 :

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 148 :

ATCGTGTGTCGT ATCGAGAACCCGGCCGGTA TCAGAACGCG CCAGAGCGCA AACCTTTATA	60
ACTTCGTGTC CCAAATGTGA CGACCATGGA CCAAGGTTCC TGAG ATG AAC CTA CGG Met Asn Leu Arg	116
1	
CGC CAT CAG ACC CTG ACG CTG CGA CTG CTG GCG GCA TCC GCG GGC ATT Arg His Gln Thr Leu Thr Leu Arg Leu Leu Ala Ala Ser Ala Gly Ile	164
5 10 15 20	
CTC AGC GCC GCG GCC TTC GCC GCG CCA GCA CAG GCA AAC CCC GTC GAC Leu Ser Ala Ala Ala Phe Ala Ala Pro Ala Gln Ala Asn Pro Val Asp	212
25 30 35	
GAC GCG TTC ATC GCC GCG CTG AAC AAT GCC GGC GTC AAC TAC GGC GAT Asp Ala Phe Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ala Gly Val Asn Tyr Gly Asp	260
40 45 50	
CCG GTC GAC GCC AAA GCG CTG GGT CAG TCC GTC TGC CCG ATC CTG GCC Pro Val Asp Ala Lys Ala Leu Gly Gln Ser Val Cys Pro Ile Leu Ala	308
55 60 65	
GAG CCC GGC GGG TCG TTT AAC ACC GCG GTA GCC AGC GTT GTG GCG CGC Glu Pro Gly Gly Ser Phe Asn Thr Ala Val Ala Ser Val Val Ala Arg	356
70 75 80	
GCC CAA GGC ATG TCC CAG GAC ATG GCG CAA ACC TTC ACC AGT ATC GCG Ala Gln Gly Met Ser Gln Asp Met Ala Gln Thr Phe Thr Ser Ile Ala	404
85 90 95 100	
ATT TCG ATG TAC TGC CCC TCG GTG ATG GCA GAC GTC GCC AGC GGC AAC Ile Ser Met Tyr Cys Pro Ser Val Met Ala Asp Val Ala Ser Gly Asn	452
105 110 115	
CTG CCG GCC CTG CCA GAC ATG CCG GGG CTG CCC GGG TCC TAGGCGTGCG CG Leu Pro Ala Leu Pro Asp Met Pro Gly Leu Pro Gly Ser	503
120 125	
GCTCCTAGCC GGTCCCTAAC GGATCGATCG TGGATGC	540
	30

( 2 ) SEQ ID NO : 149 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 129 アミノ酸

( B ) 配列の型 : アミノ酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : タンパク質

( v ) フラグメントの型 : internal

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 149 :

Met Asn Leu Arg Arg His Gln Thr Leu Thr Leu Arg Leu Leu Ala Ala  
 1 5 10 15

Ser Ala Gly Ile Leu Ser Ala Ala Ala Phe Ala Ala Pro Ala Gln Ala  
 20 25 30

Asn Pro Val Asp Asp Ala Phe Ile Ala Ala Leu Asn Asn Ala Gly Val  
 35 40 45

Asn Tyr Gly Asp Pro Val Asp Ala Lys Ala Leu Gly Gln Ser Val Cys  
 50 55 60

Pro Ile Leu Ala Glu Pro Gly Gly Ser Phe Asn Thr Ala Val Ala Ser  
 65 70 75 80

Val Val Ala Arg Ala Gln Gly Met Ser Gln Asp Met Ala Gln Thr Phe  
 85 90 95

Thr Ser Ile Ala Ile Ser Met Tyr Cys Pro Ser Val Met Ala Asp Val  
 100 105 110

Ala Ser Gly Asn Leu Pro Ala Leu Pro Asp Met Pro Gly Leu Pro Gly  
 115 120 125

Ser

10

20

( 2 ) SEQ ID NO : 150 の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 400 塩基対

( B ) 配列の型 : 核酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : Coding Sequence

( B ) 存在位置 : 25...354

30

( D ) 他の情報 :

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : mat\_peptide

( B ) 存在位置 : 109...357

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 150 :

ATAGTTGGG GAAGGTGTCC ATAA ATG AGG CTG TCG TTG ACC GCA TTG AGC Met Arg Leu Ser Leu Thr Ala Leu Ser -28 -25 -20	51
GCC GGT GTA GGC GCC GTG GCA ATG TCG TTG ACC GTC GGG GCC GGG GTC Ala Gly Val Gly Ala Val Ala Met Ser Leu Thr Val Gly Ala Gly Val -15 -10 -5	99
GCC TCC GCA GAT CCC GTG GAC GCG GTC ATT AAC ACC ACC TGC AAT TAC Ala Ser Ala Asp Pro Val Asp Ala Val Ile Asn Thr Thr Cys Asn Tyr 1 5 10	147
GGG CAG GTA GTA GCT GCG CTC AAC GCG ACG GAT CCG GGG GCT GCC GCA Gly Gln Val Val Ala Ala Leu Asn Ala Thr Asp Pro Gly Ala Ala Ala 15 20 25	195
CAG TTC AAC GCC TCA CCG GTG GCG CAG TCC TAT TTG CGC AAT TTC CTC Gln Phe Asn Ala Ser Pro Val Ala Gln Ser Tyr Leu Arg Asn Phe Leu 30 35 40 45	243
GCC GCA CCG CCA CCT CAG CGC GCT GCC ATG GCC GCG CAA TTG CAA GCT Ala Ala Pro Pro Gln Arg Ala Ala Met Ala Ala Gln Leu Gln Ala 50 55 60	291
GTG CCG GGG GCG GCA CAG TAC ATC GGC CTT GTC GAG TCG GTT GCC GGC Val Pro Gly Ala Ala Gln Tyr Ile Gly Leu Val Glu Ser Val Ala Gly 65 70 75	339
TCC TGC AAC AAC TAT TAAGCCCCATG CGGGCCCCAT CCCGCGACCC GGCAATCGTCG Ser Cys Asn Asn Tyr 80	394
CCGGGG 400	
(2) SEQ ID NO : 151の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 110アミノ酸	30
( B ) 配列の型 : アミノ酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( ii ) 分子の型 : タンパク質	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 151 :	

Met Arg Leu Ser Leu Thr Ala Leu Ser Ala Gly Val Gly Ala Val Ala  
-28 -25 -20 -15

Met Ser Leu Thr Val Gly Ala Gly Val Ala Ser Ala Asp Pro Val Asp  
-10 -5 1

Ala Val Ile Asn Thr Thr Cys Asn Tyr Gly Gln Val Val Ala Ala Leu  
5 10 15 20

Asn Ala Thr Asp Pro Gly Ala Ala Gln Phe Asn Ala Ser Pro Val  
25 30 35

Ala Gln Ser Tyr Leu Arg Asn Phe Leu Ala Ala Pro Pro Pro Gln Arg  
40 45 50

Ala Ala Met Ala Ala Gln Leu Gln Ala Val Pro Gly Ala Ala Gln Tyr  
55 60 65

Ile Gly Leu Val Glu Ser Val Ala Gly Ser Cys Asn Asn Tyr  
70 75 80

(2) SEQ ID NO : 152の情報 :

( i ) 配列の特徴 :

( A ) 配列の長さ : 990塩基対

( B ) 配列の型 : 核酸

( C ) 鎖 : 一本鎖

( D ) トポロジー : 直鎖状

( ii ) 分子の型 : cDNA

( ix ) 配列の特徴 :

( A ) 名称 / キー : Coding Sequence

( B ) 存在位置 : 93...890

( D ) 他の情報 :

( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 152 :

10

20

AATAGTAATA TCGCTGTGCG GTTGCAAAAC GTGTGACCGA GGTTCCGCAG TCGAGCGCTG CGGGCCGCCT TCGAGGAGGA CGAACACAG TC ATG ACG AAC ATC GTG GTC CTG Met Thr Asn Ile Val Val Leu 1 5	60 113
ATC AAG CAG GTC CCA GAT ACC TGG TCG GAG CGC AAG CTG ACC GAC GGC Ile Lys Gln Val Pro Asp Thr Trp Ser Glu Arg Lys Leu Thr Asp Gly 10 15 20	161
GAT TTC ACG CTG GAC CGC GAG GCC GAC GCG GTG CTG GAC GAG ATC Asp Phe Thr Leu Asp Arg Glu Ala Ala Asp Ala Val Leu Asp Glu Ile 25 30 35	209
AAC GAG CGC GCC GTG GAG GAA GCG CTA CAG ATT CGG GAG AAA GAG GCC Asn Glu Arg Ala Val Glu Glu Ala Leu Gln Ile Arg Glu Lys Glu Ala 40 45 50 55	257 10
GCC GAC GGC ATC GAA GGG TCG GTA ACC GTG CTG ACG GCG GGC CCC GAG Ala Asp Gly Ile Glu Gly Ser Val Thr Val Leu Thr Ala Gly Pro Glu 60 65 70	305
CGC GCC ACC GAG GCG ATC CGC AAG GCG CTG TCG ATG GGT GCC GAC AAG Arg Ala Thr Glu Ala Ile Arg Lys Ala Leu Ser Met Gly Ala Asp Lys 75 80 85	353
GCC GTC CAC CTA AAG GAC GAC GGC ATG CAC GGC TCG GAC GTC ATC CAA Ala Val His Leu Lys Asp Asp Gly Met His Gly Ser Asp Val Ile Gln 90 95 100	401 20
ACC GGG TGG GCT TTG GCG CGC GCG TTG GGC ACC ATC GAG GGC ACC GAG Thr Gly Trp Ala Leu Ala Arg Ala Leu Gly Thr Ile Glu Gly Thr Glu 105 110 115	449
CTG GTG ATC GCA GGC AAC GAA TCG ACC GAC GGG GTG GGC GGT GCG GTG Leu Val Ile Ala Gly Asn Glu Ser Thr Asp Gly Val Gly Gly Ala Val 120 125 130 135	497

CCG GCC ATC ATC GCC GAG TAC CTG GGC CTG CCG CAG CTC ACC CAC CTG Pro Ala Ile Ile Ala Glu Tyr Leu Gly Leu Pro Gln Leu Thr His Leu 140 145 150	545
CGC AAA GTG TCG ATC GAG GGC AAG ATC ACC GGC GAG CGT GAG ACC Arg Lys Val Ser Ile Glu Gly Gly Lys Ile Thr Gly Glu Arg Glu Thr 155 160 165	593
GAT GAG GGC GTA TTC ACC CTC GAG GCC ACG CTG CCC GCG GTG ATC AGC Asp Glu Gly Val Phe Thr Leu Glu Ala Thr Leu Pro Ala Val Ile Ser 170 175 180	641
GTG AAC GAG AAG ATC AAC GAG CCG CGC TTC CCG TCC TTC AAA GGC ATC Val Asn Glu Lys Ile Asn Glu Pro Arg Phe Pro Ser Phe Lys Gly Ile 185 190 195	689
ATG GCC GCC AAG AAG GAA GTT ACC GTG CTG ACC CTG GCC GAG ATC Met Ala Ala Lys Lys Glu Val Thr Val Leu Thr Leu Ala Glu Ile 200 205 210 215	737
GGT GTC GAG AGC GAC GAG GTG GGG CTG GCC AAC GCC GGA TCC ACC GTG Gly Val Glu Ser Asp Glu Val Gly Leu Ala Asn Ala Gly Ser Thr Val 220 225 230	785
CTG GCG TCG ACG CCC AAA CCG GCC AAG ACT GCC GGG GAG AAG GTC ACC Leu Ala Ser Thr Pro Lys Pro Ala Lys Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr 235 240 245	833
GAC GAG GGT GAA GGC GGC AAC CAG ATC GTG CAG TAC CTG GTT GCC CAG Asp Glu Gly Glu Gly Asn Gln Ile Val Gln Tyr Leu Val Ala Gln 250 255 260	881
AAA ATC ATC TAAGACATAC GCACCTCCCA AAGACGAGAG CGATATAACC CATGGCTGA Lys Ile Ile 265	939
AGTACTGGTG CTCGTTGAGC ACGCTGAAGG CGCGTTAAAG AAGGTCAGCG C (2) SEQ ID NO: 153の情報 :	990
(i) 配列の特徴 :	
(A) 配列の長さ : 266アミノ酸	30
(B) 配列の型 : アミノ酸	
(C) 鎖 : 一本鎖	
(D) トポロジー : 直鎖状	
(ii) 分子の型 : タンパク質	
(v) フラグメントの型 : internal	
(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 153 :	

Met Thr Asn Ile Val Val Leu Ile Lys Gln Val Pro Asp Thr Trp Ser  
 1 5 10 15

Glu Arg Lys Leu Thr Asp Gly Asp Phe Thr Leu Asp Arg Glu Ala Ala  
 20 25 30

Asp Ala Val Leu Asp Glu Ile Asn Glu Arg Ala Val Glu Glu Ala Leu  
 35 40 45

Gln Ile Arg Glu Lys Glu Ala Ala Asp Gly Ile Glu Gly Ser Val Thr  
 50 55 60

Val Leu Thr Ala Gly Pro Glu Arg Ala Thr Glu Ala Ile Arg Lys Ala  
 65 70 75 80

Leu Ser Met Gly Ala Asp Lys Ala Val His Leu Lys Asp Asp Gly Met  
 85 90 95

His Gly Ser Asp Val Ile Gln Thr Gly Trp Ala Leu Ala Arg Ala Leu  
 100 105 110

Gly Thr Ile Glu Gly Thr Glu Leu Val Ile Ala Gly Asn Glu Ser Thr  
 115 120 125

Asp Gly Val Gly Gly Ala Val Pro Ala Ile Ile Ala Glu Tyr Leu Gly  
 130 135 140

Leu Pro Gln Leu Thr His Leu Arg Lys Val Ser Ile Glu Gly Gly Lys  
 145 150 155 160

Ile Thr Gly Glu Arg Glu Thr Asp Glu Gly Val Phe Thr Leu Glu Ala  
 165 170 175

Thr Leu Pro Ala Val Ile Ser Val Asn Glu Lys Ile Asn Glu Pro Arg  
 180 185 190

Phe Pro Ser Phe Lys Gly Ile Met Ala Ala Lys Lys Lys Glu Val Thr  
 195 200 205

Val Leu Thr Leu Ala Glu Ile Gly Val Glu Ser Asp Glu Val Gly Leu  
 210 215 220

Ala Asn Ala Gly Ser Thr Val Leu Ala Ser Thr Pro Lys Pro Ala Lys  
 225 230 235 240

Thr Ala Gly Glu Lys Val Thr Asp Glu Gly Glu Gly Asn Gln Ile  
 245 250 255

Val Gln Tyr Leu Val Ala Gln Lys Ile Ile  
 260 265

(2) SEQ ID NO: 154の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 25塩基対

(B) 配列の型 : 核酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 154 :

CTGAGATCTA TGAACCTACG GCGCC

(2) SEQ ID NO: 155の情報 :

25

50

( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 35 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 155 :	
CTCCCCATGGT ACCCTAGGAC CCGGGCAGCC CCGGC	35
( 2 ) SEQ ID NO : 156 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 29 塩基対	10
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 156 :	
CTGAGATCTA TGAGGCTGTC GTTGACCGC	29
( 2 ) SEQ ID NO : 157 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 30 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	20
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 157 :	
CTCCCCGGGC TTAATAGTTG TTGCAGGAGC	30
( 2 ) SEQ ID NO : 158 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 33 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 158 :	30
GCTTAGATCT ATGATTTCT GGGCAACCCAG GTA	33
( 2 ) SEQ ID NO : 159 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 30 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 159 :	
GCTTCCATGG GCGAGGCACA GGCGTGGGAA	30
( 2 ) SEQ ID NO : 160 の情報 :	40
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 30 塩基対	
( B ) 配列の型 : 核酸	
( C ) 鎖 : 一本鎖	
( D ) トポロジー : 直鎖状	
( xi ) 配列の記載 : SEQ ID NO : 160 :	
CTGAGATCTA GAATGCCACA GGGAACTGTG	30
( 2 ) SEQ ID NO : 161 の情報 :	
( i ) 配列の特徴 :	
( A ) 配列の長さ : 30 塩基対	50

(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 161 : TCTCCCAGGG GTAACTCAGA GCGAGCGGAC	30
(2) SEQ ID NO : 162 の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：27 塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	10
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 162 : CTGAGATCTA TGAACGTCAC CGTATCC	27
(2) SEQ ID NO : 163 の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：27 塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 163 : TCTCCCAGGG CTCACCCACC GGCCACG	20
(2) SEQ ID NO : 164 の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：30 塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 164 : CTGAGATCTA TGGCAACACG TTTTATGACG	30
(2) SEQ ID NO : 165 の情報：	30
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：30 塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	
(D) トポロジー：直鎖状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 165 : CTCCCCGGGT TAGCTGCTGA GGATCTGCTH	30
(2) SEQ ID NO : 166 の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：31 塩基対	40
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：二本鎖	
(D) トポロジー：環状	
(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 166 : CTGAAGATCT ATGCCAAGA GAAGCGAATA C	31
(2) SEQ ID NO : 167 の情報：	
(i) 配列の特徴：	
(A) 配列の長さ：31 塩基対	
(B) 配列の型：核酸	
(C) 鎖：一本鎖	50

(D) トポロジー：直鎖状

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 167 :  
CGGCAGCTGC TAGCATTCTC CGAATCTGCC G

31

(2) SEQ ID NO : 168 の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：15アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：なし

10

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 168 :

Pro Gln Gly Thr Val Lys Trp Phe Asn Ala Glu Lys Gly Phe Gly  
1 5 10 15

(2) SEQ ID NO : 169 の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：15アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：なし

20

(ix) 配列の特徴：

(A) 名称 / キー：その他

(B) 存在位置：15

(D) 他の情報：Xaaは不明

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 169 :

Asn Val Thr Val Ser Ile Pro Thr Ile Leu Arg Pro Xaa Xaa Xaa  
1 5 10 15

(2) SEQ ID NO : 170 の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：15アミノ酸

30

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：なし

(ix) 配列の特徴：

(A) 名称 / キー：その他

(B) 存在位置：1

(D) 他の情報：ThrはAlaでもよい

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 170 :

Thr Arg Phe Met Thr Asp Pro His Ala Met Arg Asp Met Ala Gly  
1 5 10 15

40

(2) SEQ ID NO : 171 の情報：

(i) 配列の特徴：

(A) 配列の長さ：15アミノ酸

(B) 配列の型：アミノ酸

(C) 鎖：一本鎖

(D) トポロジー：直鎖状

(ii) 分子の型：なし

(xi) 配列の記載：SEQ ID NO : 171 :

Pro Lys Arg Ser Glu Tyr Arg Gln Gly Thr Pro Asn Trp Val Asp  
1 5 10 15

(2) SEQ ID NO : 172の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 404アミノ酸

(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎖 : 一本鎖

(D) トポロジー : 直鎖状

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO : 172 :

Met Ala Thr Val Asn Arg Ser Arg His His His His His His His His  
 1 5 10 15  
 Ile Glu Gly Arg Ser Phe Ser Arg Pro Gly Leu Pro Val Glu Tyr Leu  
 20 25 30  
 Gln Val Pro Ser Pro Ser Met Gly Arg Asp Ile Lys Val Gln Phe Gln  
 35 40 45  
 Ser Gly Gly Asn Asn Ser Pro Ala Val Tyr Leu Leu Asp Gly Leu Arg  
 50 55 60  
 Ala Gln Asp Asp Tyr Asn Gly Trp Asp Ile Asn Thr Pro Ala Phe Glu  
 65 70 75 80  
 Trp Tyr Tyr Gln Ser Gly Leu Ser Ile Val Met Pro Val Gly Gly Gln  
 85 90 95  
 Ser Ser Phe Tyr Ser Asp Trp Tyr Ser Pro Ala Cys Gly Lys Ala Gly  
 100 105 110  
 Cys Gln Thr Tyr Lys Trp Glu Thr Phe Leu Thr Ser Glu Leu Pro Gln  
 115 120 125  
 Trp Leu Ser Ala Asn Arg Ala Val Lys Pro Thr Gly Ser Ala Ala Ile  
 130 135 140  
 Gly Leu Ser Met Ala Gly Ser Ser Ala Met Ile Leu Ala Ala Tyr His  
 145 150 155 160  
 Pro Gln Gln Phe Ile Tyr Ala Gly Ser Leu Ser Ala Leu Leu Asp Pro  
 165 170 175  
 Ser Gln Gly Met Gly Pro Ser Leu Ile Gly Leu Ala Met Gly Asp Ala  
 180 185 190  
 Gly Gly Tyr Lys Ala Ala Asp Met Trp Gly Pro Ser Ser Asp Pro Ala  
 195 200 205  
 Trp Glu Arg Asn Asp Pro Thr Gln Gln Ile Pro Lys Leu Val Ala Asn  
 210 215 220  
 Asn Thr Arg Leu Trp Val Tyr Cys Gly Asn Gly Thr Pro Asn Glu Leu  
 225 230 235 240  
 Gly Gly Ala Asn Ile Pro Ala Glu Phe Leu Glu Asn Phe Val Arg Ser  
 245 250 255  
 Ser Asn Leu Lys Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Ala Gly Gly His Asn  
 260 265 270  
 Ala Val Phe Asn Phe Pro Pro Asn Gly Thr His Ser Trp Glu Tyr Trp  
 275 280 285  
 Gly Ala Gln Leu Asn Ala Met Lys Gly Asp Leu Gln Ser Ser Leu Gly  
 290 295 300  
 Ala Gly Lys Leu Ala Met Thr Glu Gln Trp Asn Phe Ala Gly Ile  
 305 310 315 320  
 Glu Ala Ala Ala Ser Ala Ile Gln Gly Asn Val Thr Ser Ile His Ser  
 325 330 335  
 Leu Leu Asp Glu Gly Lys Gln Ser Leu Thr Lys Leu Ala Ala Ala Trp  
 340 345 350  
 Gly Gly Ser Gly Ser Glu Ala Tyr Gln Gly Val Gln Gln Lys Trp Asp  
 355 360 365  
 Ala Thr Ala Thr Glu Leu Asn Asn Ala Leu Gln Asn Leu Ala Arg Thr  
 370 375 380  
 Ile Ser Glu Ala Gly Gln Ala Met Ala Ser Thr Glu Gly Asn Val Thr  
 385 390 395 400  
 Gly Met Phe Ala

(2) SEQ ID NO: 173の情報 :

(i) 配列の特徴 :

(A) 配列の長さ : 403アミノ酸

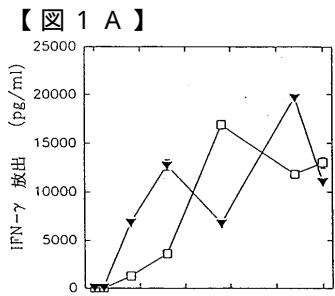
(B) 配列の型 : アミノ酸

(C) 鎮 : 一本鎮

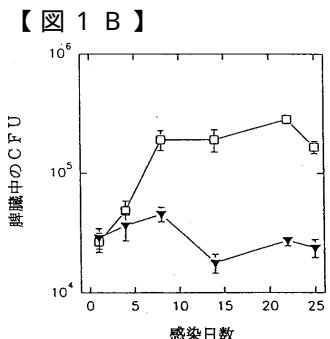
(D) トポロジー : 直鎮状

(xi) 配列の記載 : SEQ ID NO: 173 :

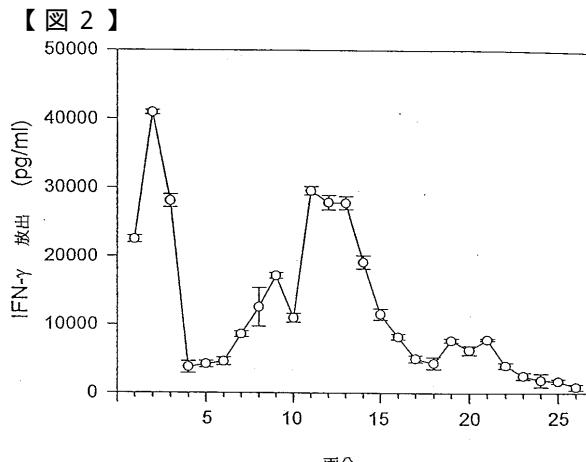
Met Ala Thr Val Asn Arg Ser Arg His His His His His His His His  
 1 5 10 15  
 Ile Glu Gly Arg Ser Met Thr Glu Gln Gln Trp Asn Phe Ala Gly Ile  
 20 25 30  
 Glu Ala Ala Ala Ser Ala Ile Gln Gly Asn Val Thr Ser Ile His Ser  
 35 40 45  
 Leu Leu Asp Glu Gly Lys Gln Ser Leu Thr Lys Leu Ala Ala Ala Trp  
 50 55 60  
 Gly Gly Ser Gly Ser Glu Ala Tyr Gln Gly Val Gln Gln Lys Trp Asp  
 65 70 75 80  
 Ala Thr Ala Thr Glu Leu Asn Asn Ala Leu Gln Asn Leu Ala Arg Thr  
 85 90 95  
 Ile Ser Glu Ala Gly Gln Ala Met Ala Ser Thr Glu Gly Asn Val Thr  
 100 105 110  
 Gly Met Phe Ala Lys Leu Phe Ser Arg Pro Gly Leu Pro Val Glu Tyr  
 115 120 125  
 Leu Gln Val Pro Ser Pro Ser Met Gly Arg Asp Ile Lys Val Gln Phe  
 130 135 140  
 Gln Ser Gly Gly Asn Asn Ser Pro Ala Val Tyr Leu Leu Asp Gly Leu  
 145 150 155 160  
 Arg Ala Gln Asp Asp Tyr Asn Gly Trp Asp Ile Asn Thr Pro Ala Phe  
 165 170 175  
 Glu Trp Tyr Tyr Gln Ser Gly Leu Ser Ile Val Met Pro Val Gly Gly  
 180 185 190  
 Gln Ser Ser Phe Tyr Ser Asp Trp Tyr Ser Pro Ala Cys Gly Lys Ala  
 195 200 205  
 Gly Cys Gln Thr Tyr Lys Trp Glu Thr Phe Leu Thr Ser Glu Leu Pro  
 210 215 220  
 Gln Trp Leu Ser Ala Asn Arg Ala Val Lys Pro Thr Gly Ser Ala Ala  
 225 230 235 240  
 Ile Gly Leu Ser Met Ala Gly Ser Ser Ala Met Ile Leu Ala Ala Tyr  
 245 250 255  
 His Pro Gln Gln Phe Ile Tyr Ala Gly Ser Leu Ser Ala Leu Leu Asp  
 260 265 270  
 Pro Ser Gln Gly Met Gly Pro Ser Leu Ile Gly Leu Ala Met Gly Asp  
 275 280 285  
 Ala Gly Gly Tyr Lys Ala Ala Asp Met Trp Gly Pro Ser Ser Asp Pro  
 290 295 300  
 Ala Trp Glu Arg Asn Asp Pro Thr Gln Gln Ile Pro Lys Leu Val Ala  
 305 310 315 320  
 Asn Asn Thr Arg Leu Trp Val Tyr Cys Gly Asn Gly Thr Pro Asn Glu  
 325 330 335  
 Leu Gly Gly Ala Asn Ile Pro Ala Glu Phe Leu Glu Asn Phe Val Arg  
 340 345 350  
 Ser Ser Asn Leu Lys Phe Gln Asp Ala Tyr Asn Ala Gly Gly His  
 355 360 365  
 Asn Ala Val Phe Asn Phe Pro Pro Asn Gly Thr His Ser Trp Glu Tyr  
 370 375 380  
 Trp Gly Ala Gln Leu Asn Ala Met Lys Gly Asp Leu Gln Ser Ser Leu  
 385 390 395 400  
 Gly Ala Gly



**Fig. 1A**



**Fig. 1B**



**Fig. 2**

	1	GGCGCGCGT ACCCTGGG CGCCCGATGC TCGGCGCG TGCACTATA CGCGGGTTCTG -25 領域	60	120
61	ATCGAACCTT GCTCGAGG AGGTTGTG	ATG TCG CRA ATC ATG TAC AAC TCG AGC TAC CCC GCG		
121	ATG TTG GTT CTC GCT GCG GTT	M S Q I M Y N Y P A		
181	ATG TTG GTT CTC GCT GCG GTT	GCC TGT AGC CTC CGG AGC TGT CCT GCG AGC TGT CCT GCC	180	
241	ATG TTG GTT CTC GCT GCG GTT	L Q S L G A		
301	ATG TTG GTT CTC GCT GCG GTT	A G D T G I T	240	
361	ATG TTG GTT CTC GCT GCG GTT	W Q G D T G I T		300
381	ATG TTG GTT CTC GCT GCG GTT	T W Q G D T G I T		360
	ATG TTG GTT CTC GCT GCG GTT	R A Y H		
	ATG TTG GTT CTC GCT GCG GTT	A M E D V R A Y		
	ATG TTG GTT CTC GCT GCG GTT	M M A R D T A E		
	ATG TTG GTT CTC GCT GCG GTT			

Fig. 3

1	GGAATCCG ACCAGGTG GCAAGANG TGGAGCCG CATAAGCG GTCAAGCCG -35 領域	60
61	GCGACGGCT CATAAACCG GACGGCCT TTTCGGGG CCCCGGTG CTGACGCCG -10 領域	120
121	ACGAGTACA CTCGGGCTG GAG GCC GGC GCG GAG TCC ACC GCG GCG ショットルガノ V A D P B S T A A	170
171	TTCG CGC GAC GGC GGG CTC GTC GTC GAT GGC ACC GTC ACT GCA GAA L P D G A G L V V L D G T V T A E L E A	230
231	GAG GCG TGG GCC AAA GAT CCC ATC GTC GAA CTC GCA CTC GAA CTC E G W A K D R I R E L Q B L R K S T G B	290
291	GAC GAT TCC GAC CGC ATC CGG GTC ATG ATG TCG GTC CTC GCG GAA GAC TGG D V S D R I R V V M S V P A E R E D W A	350
351	CGC ACT GAT GCG AAC TCC ATT GCG GCA ATC TGG GTC ACC GAC TGC GAA TTC GCG GAC R T H R G D C L T I A G E I L A T D F C A D F A D	410
411	CGC GCG GAT GTC GCG AAC ANC GCG GAC GCG GTC CCG GTC AGC GAA AAC ACC TGA L A D G V A I G D G V R V S I T E K T *	467

Fig. 4

【図5】

1 GAATTCGCCGGGTGCACACAGCCTAACCGACGGAGGTGGACACATGAAG  
M K  
51 GGTGGTCCGGCTGCTGCCGGCTCTGGATTGCGCACTGTCAATTCGG  
G R S A L L R A L W I A A L S F G  
101 GTGGGGGGTCTCGGGTAGCCCGGAACCCACCGCAAGGCCGGCAT  
L G G A V A A E P T A K A A P  
151 ACGAGAACCTGATGGTGCCTCGATGGCCGGACATCCGGT  
Y E N L M V P S P M G R D I P V  
201 GCCTCTAGCCGGTGGCGCACCGCGTGTATCTGCTGGACGCCCTCAA  
A F L A G G P H A V Y L L D A F N  
251 CGCCGGCCGGATGTCAGTAACGGTACCGCGGAAACCGATGAA  
A G P D V S N W V T A G N A M N  
301 CGTGGGGCAAGGGGATTCGGTGGCACCGCCGGTGGTGC  
T L A G K G I S V V A P A G G A Y  
351 AGCATGACACCAACTGGGAGCAGGATGGCAGCAAGCAGTGGACACCT  
S M Y T N W E Q D G S K Q W D T F  
401 CTGTCGCTGAGCTGCCGACTGGCTGCCGCTAACCGGGCTGGCC  
L S A E L P D W L A A N R G L A  
451 CCGGTGCCATGCCGGTGGCGCCCTCAGGGGTTACGGGATGTC  
P G G H A A V G A A Q G G Y G A M  
501 CGGCTGGCCCTCCACCCGACCCCTCGCTGGCTGGCATGTC  
A L A A F H P D R F G F A G S M S  
551 GGGCTTTTGACCCGTCGAACACCAACACGGTGCATGGCG  
G F L Y P S N T T N G A I A A  
601 GCATGCAGCAATTGGCGGTGGACACCAACGGAAATGGGGAGACCCA  
G M Q Q F G G V D T N G M W G A P  
651 CAGCTGGTGGTGGAAAGTGGCACGACCCGTGGTGCATGCCAGCCTGCT  
Q L G R W K P D W V H A S L L  
701 GGC GCAAACACACCCGGGTGGGTGGAGGCCGACCAACCGGGAG  
A Q N N T R V W V W S P T N P G  
751 CCAGCGATCCGCCCATGATGGCCTAACCGCCGAGGCATGGTAAC  
A S D P A A M I G Q T A E A M G N  
801 AGCCGATGTTACAACCAGATCGCACGCTGGGGCACACCGACA  
S R M F Y N Q R S V G G H N G H  
851 CTCGACTCCAGCCAGCGGTGACAACCGCTGGGGCTCGTGGCGCCC  
F D F P A S G D N G W G S W A P  
901 AGCTGGCGCTATGCGGGCATATCGCTGGTGGATCCGCTAACCGAAT  
Q L G A M S G D I V G A I R .  
951 TC 952

【図6】

ST-CFの2-D E参照マップ

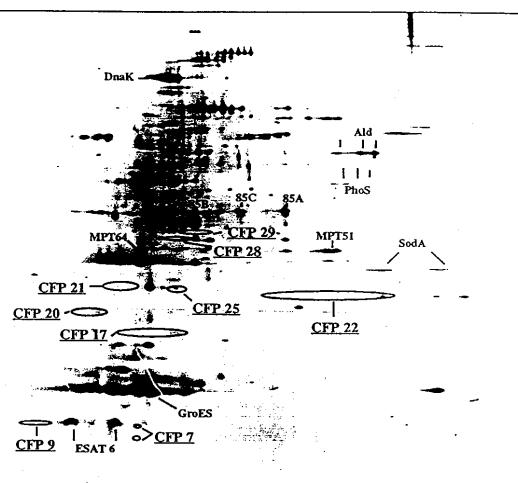


Fig. 6

Fig. 5

## フロントページの続き

		F I
C 0 7 K	14/35	(2006.01) C 0 7 K 14/35
C 0 7 K	16/12	(2006.01) C 0 7 K 16/12
C 0 7 K	19/00	(2006.01) C 0 7 K 19/00
C 1 2 P	21/02	(2006.01) C 1 2 P 21/02 C
C 1 2 P	21/08	(2006.01) C 1 2 P 21/08
C 1 2 R	1/32	(2006.01) C 1 2 N 1/21 C 1 2 R 1:32

(31)優先権主張番号 1277/97  
 (32)優先日 平成9年11月10日(1997.11.10)  
 (33)優先権主張国 デンマーク(DK)  
 (31)優先権主張番号 60/070,488  
 (32)優先日 平成10年1月5日(1998.1.5)  
 (33)優先権主張国 米国(US)

(74)代理人 100103920  
 弁理士 大崎 勝真  
 (74)代理人 100124855  
 弁理士 坪倉 道明  
 (72)発明者 アンデルセン,ペーター  
 デンマーク国、ブロンショイ ディーケイ 2700、リストルプヴェイ 7  
 (72)発明者 スクジヨト,リッケ  
 デンマーク国、フレデリクスベルグ シー ディーケイ 1871、サル 5.、ツアヴァルセン  
 スヴェイ 9  
 (72)発明者 ローゼンクランツ,イーダ  
 デンマーク国、コペンハーゲン オー ディーケイ 2100、ティーエイチ 1.、ラグンヒル  
 ドガード 70  
 (72)発明者 ヴエルディング,カーリン  
 デンマーク国、コペンハーゲン エヌ ディーケイ 2400、ティーブイ 3.、ノレプロガー  
 ド 224  
 (72)発明者 ラースムセン,ペータ,ビアク  
 デンマーク国、コペンハーゲン オー ディーケイ 2100、ルドルフ ベルグスガード 5  
 (72)発明者 エティンガ,トマス  
 デンマーク国、ヘレラップ ディーケイ 2900、エゲブジェルグ アレ 12  
 (72)発明者 フロリオ,ヴァルタ  
 デンマーク国、フレデリクスベルグ シー ディーケイ 1964、イングマンスヴェイ 21

審査官 柴原 直司

(56)参考文献 國際公開第97/009429 (WO, A1)  
 Infect. Immun., (1995), 63, [5], p.1710-1717  
 Infect. Immun., (1994), 62, [6], p.2536-2544  
 Infect. Immun., (1993), 61, [3], p.844-851  
 Scand. J. Immunol., (1994), 40, [3], p.345-349

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
 C12N 15/00 - 15/90

BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)  
GenBank/EMBL/DDBJ/GeneSeq  
SwissProt/PIR/GeneSeq  
PubMed