

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2009-509496

(P2009-509496A)

(43) 公表日 平成21年3月12日(2009.3.12)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
C O 7 K 14/195 (2006.01)	C O 7 K 14/195	4 C O 8 4
A 6 1 K 39/106 (2006.01)	A 6 1 K 39/106	4 C O 8 5
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	4 H O 4 5
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 58 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2008-509226 (P2008-509226)
 (86) (22) 出願日 平成18年4月28日 (2006. 4. 28)
 (85) 翻訳文提出日 平成19年12月26日 (2007. 12. 26)
 (86) 国際出願番号 PCT/US2006/016559
 (87) 国際公開番号 W02006/116763
 (87) 国際公開日 平成18年11月2日 (2006. 11. 2)
 (31) 優先権主張番号 60/675, 806
 (32) 優先日 平成17年4月28日 (2005. 4. 28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)
 (31) 優先権主張番号 11/414, 764
 (32) 優先日 平成18年4月28日 (2006. 4. 28)
 (33) 優先権主張国 米国 (US)

(71) 出願人 503345374
 ベーリンガー インゲルハイム フェトメ
 ディカ インコーポレイテッド
 アメリカ合衆国 ミズーリ州 6 4 5 0 6
 - 2 0 0 2 セント ジョセフ ノース
 ベルト ハイウェイ 2 6 2 1
 (74) 代理人 100082005
 弁理士 熊倉 禎男
 (74) 代理人 100084009
 弁理士 小川 信夫
 (74) 代理人 100084663
 弁理士 箱田 篤
 (74) 代理人 100093300
 弁理士 浅井 賢治

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ローソニアイントラセルラリスの免疫学的タンパク

(57) 【要約】

本発明は、ローソニアイントラセルラリス感染に関連する臨床症状の重症度を軽減するために又は当該感染の影響を受けやすい動物へ防御免疫を与えるために有効なワクチン若しくは免疫原性組成物の免疫原性一部分として有用な塩基配列及びアミノ酸配列を提供する。好ましいアミノ酸配列は、1) 配列番号：1~455、配列番号：466又は配列番号：456、配列番号：457若しくは配列番号：466 にコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；2) 1) のポリペプチドと少なくとも85%の配列相同性、より好ましくは少なくとも約90%の配列相同性、さらにより好ましくは少なくとも約95%の配列相同性、さらにより好ましくは約97%の配列相同性、さらにより好ましくは少なくとも約98%の配列相同性、またさらにより好ましくは少なくとも約99%の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；3) 1) 及び/又は2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；4) 配列番号：1~455、配列番号：456又は配列番号：457若しくは配列番号：466にコードされるアミノ酸配列の配列に包含される少なくとも300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは少なくとも9個の連続するアミノ酸を含む3) の免疫原性一部分；及び/又は5) 配列番号：1~455又は配列番号：466の配列を含むペプチドをコードするDNAによってコードされるポリペプチド、からなる群より選択される。従って、当該タンパクをコードする塩基配列又はそれらのタンパク自身がワクチン組成物中に獣医学的に許容されるキャリ

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

- 1) 配列番号：1～455、配列番号：466又は配列番号：456若しくは配列番号：457によってコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；
 - 2) 前記 1) のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；
 - 3) 前記 1) 及び/又は 2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；
 - 4) 配列番号：1～455、配列番号：466又は配列番号：456若しくは配列番号：457によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも 9 個の連続するアミノ酸を含む前記 3) の免疫原性一部分；及び
 - 5) 配列番号：1～455又は配列番号：466のいずれか 1 つの配列を含むペプチドをコードする DNA によってコードされるポリペプチド；
- の群より選択される単離型又は組み換え型の免疫学的タンパク。

10

【請求項 2】

- 1) 配列番号：1～455、配列番号：466又は配列番号：456若しくは配列番号：457によってコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；
 - 2) 前記 1) のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；
 - 3) 前記 1) 及び/又は 2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；
 - 4) 配列番号：1～455、配列番号：466又は配列番号：456若しくは配列番号：457によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも 9 個の連続するアミノ酸を含む前記 3) の免疫原性一部分；及び
 - 5) 配列番号：1～455又は配列番号：466のいずれか 1 つの配列を含むペプチドをコードする DNA によってコードされるポリペプチド；
- からなる群より選択される免疫学的タンパクをコードするヌクレオチド配列を含む単離型又は組み換え型の DNA 分子。

20

【請求項 3】

請求項 2 記載の DNA 分子又は請求項 1 記載のタンパクを含むベクター。

【請求項 4】

請求項 2 記載の DNA 分子又は請求項 1 記載のタンパクを含む免疫学的組成物。

30

【請求項 5】

獣医学的に許容されるキャリアをさらに含む、請求項 4 記載の組成物。

【請求項 6】

動物に請求項 1 記載の免疫学的タンパク、請求項 2 記載の DNA 分子、請求項 3 記載のベクター又は請求項 4 記載の免疫学的組成物からなる群より選択される生産物を接種することを含む、ローソニアイントラセルラリス感染に対する前記動物の予防方法又は治療方法。

【請求項 7】

前記接種が筋肉内に、経口的に又は鼻腔内に行われる、請求項 6 記載の方法。

【請求項 8】

ローソニアイントラセルラリス感染に対する動物の予防又は治療のための医薬の製造のための請求項 1 記載の免疫学的タンパク、請求項 2 記載の DNA 分子、請求項 3 記載のベクター又は請求項 4 記載の免疫学的組成物の使用。

40

【請求項 9】

- 1) ローソニアイントラセルラリス細菌に対する抗体を含むサンプルを請求項 1 記載のタンパクと接触させること；
- 2) 請求項 1 記載のタンパクが前記サンプルのローソニア特異的抗体へ結合することを可能にしかつローソニア特異的抗体及び請求項 1 記載のタンパクの複合体を生成することを可能にする条件下で前記 1) の混合物をインキュベートすること；及び、
- 3) 前記 2) の複合体の存在を検出すること；

50

を含む、サンプル中の抗体の検出方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本出願は、ローソニアイントラセルラリス (*Lawsonia intracellularis*) の抗原及びそれらの使用に関係する。よりとりわけ、本出願は、免疫学的に関連するタンパクである抗原及びそれらのタンパクをコードする塩基配列又はDNA分子及びローソニアイントラセルラリスの免疫学的タンパクをコードするDNA分子を含むベクターに関係する。さらによりとりわけ、本発明は、当該タンパク及び塩基配列の同定に関係する。さらによりとりわけ、本発明は、当該タンパク又は塩基配列がサブユニットワクチンでの使用のための優れた候補であるかどうかをそれらの位置によって判定することに関係する。さらによりとりわけ、本発明は、宿主動物における免疫応答を発動することのできる当該タンパク及び塩基配列に関係する。さらによりとりわけ、本出願は、当該タンパク及び塩基配列及びそれらの免疫原性組成物への組み込みそしてそれに引き続く当該組成物の宿主動物への投与に関係する。当該タンパク及び/又は塩基配列はワクチン中の構成成分として用いることができ、当該ワクチンはローソニアイントラセルラリスによる感染に対する防御免疫の地位及び/又はローソニアイントラセルラリスによる感染に関連する臨床症状を軽減することを提供するために用いられる。本出願はまた、当該塩基配列又はそれによってコードされる当該タンパクを含むワクチンの製造方法及び投与方法にも関係する。最終的に、本出願は、当該ローソニアイントラセルラリス抗原を組み込むワクチンの製造方法及び投与方法だけでなく、ローソニアイントラセルラリスの検出のための診断検査にも関係する。

10

20

【背景技術】

【0002】

(関連出願)

本出願は、2005年4月28日に出願された仮出願シリアル番号：60/675,806の利益を主張し、その教示及び内容は参照によって本明細書に取り込まれる。

(配列表)

本出願は、コンピュータ可読フォーマットの配列表を含み、その教示及び内容は参照によって本明細書に取り込まれる。

(従来技術の説明)

30

ローソニアイントラセルラリスはブタの増殖性腸疾患 (interopathy) (“PPE”) の病原因子であり、ヒト、ウサギ、フェレット、ハムスター、キツネ、ウマ及びダチョウとエミュー位に多様性のある他の動物を含む実質的に全ての動物に作用する。PPEは、回腸及び結腸の過形成及び炎症を特徴とする肥育ブタ (growing-finishing pigs) 及び種子ブタ (young breeding pigs) の一般的な下痢性疾患である。それは多くの場合軽度かつ自己限定的であるが、時々、下痢、鬱状態、食欲不振、動きたがらないこと、遅れた成長及び上昇したFCR、重症の壊死性腸炎又は高い死亡率を伴う出血性腸炎を引き起こす。当該細菌それ自身は、必須の細胞内細菌である。

【0003】

PPEに関連する当該細菌は、“カンピロバクター様生物体”として言及されてきた (S. McOrist et al., *Vet. Pathol.*, Vol. 26, 260-264 (1989))。その後、当該病原細菌は、俗名イレアルシムピオント (ileal symbiont) (IS) イントラセルラリス (*intracellularis*) と称される新たな分類学的な属及び種として、同定された (C. Gebhart et al., *Int'l. J. of Systemic Bacteriology*, Vol. 43, No.3, 533-538 (1993))。つい最近、これらの新たな細菌は、ローソニア (L.) イントラセルラリスという分類学的名称を与えられた (S. McOrist et al., *Int'l. J. of Systemic Bacteriology*, Vol. 45, No.4, 820-825 (1995))。これらの3つの名称は、さらに同定されるとおり及び本明細書に記載されるとおり、同一の生物体について言及するために互換的に用いられてきた。コッホの仮説は、従来法で飼育されたブタへのLイントラセルラリスの純粋培養物の接種によって満たされた；当該疾患の典型的な病変を引き起こし、Lイントラセルラリスを当該

40

50

病変から再単離した。当該疾患のより一般的な非出血型は、多くの場合 18 kg ~ 36 kg のブタに影響を及ぼし、突然の下痢の発症を特徴とする。当該糞便は、水性から粥状で、茶色がかったり又はかすかに血液染色されている。~ 2 日後に、ブタは、回腸で形成された黄色の繊維素壊死性 (fibrinonecrotic) の円柱 (casts) を経過するかもしれない。ほとんどの影響されたブタは自然に回復するが、かなりの数が進行性の衰弱を伴う慢性的な壊死性腸炎を進展させる。出血型は、皮膚蒼白、脱力及び出血性若しくは黒色のタール状糞便の経過を特徴とする。妊娠中のメスブタは、流産するかもしれない。病変は、小腸、盲腸若しくは血漿の下側半分のどこにでも起こり得るが、回腸において最も頻発しかつ明らかである。腸壁は厚くなり、腸間膜は水腫状になるかもしれない。腸間膜リンパ節は、拡張される。腸粘膜は、厚くしわが多いように見え、茶色がかった若しくは黄色の繊維素壊死性膜で覆われているのかもしれない、時々点状出血を有する。黄色の壊死性円柱が、回腸中又は結腸の全体を通して発見されるかもしれない。慢性的な症例における広範性の完全な壊死は、小腸をガーデンホースに似た硬い状態にする。増殖性粘膜病変は、多くの場合結腸中にあるが、死体解剖時の入念な検査によってのみ検出される。過度の出血性型においては、結腸中に赤色若しくは黒色のタール状糞便が存在し、回腸中に血餅が存在する。つまるところ、L. イントラセルラリスは、アメリカ合衆国におけるのと同様にヨーロッパにおけるブタの群れの損失のとりわけ重大な原因である。

10

【0004】

L. イントラセルラリスは、従来は無細胞培地上で標準的な細菌学的方法によって培養することができない必須の細胞内細菌であり、増殖のために細胞を必要とすると考えられてきた。S. McOrist et al., *Infection and Immunity*, Vol. 61, No. 19, 4286-4292(1993) 及び G. Lawson et al., *J. of Clinical Microbiology*, Vol. 31, No.5, 1136-1142 (1993) は、従来組織培養フラスコ中で I E C - 18 ラット腸上皮細胞の単層を用いる L. イントラセルラリスの培養を明らかにする。その両方が参照によって完全に本明細書に取り込まれる米国特許 Nos. 5,714,375 及び 5,885,823 では、浮遊させた宿主細胞での L. イントラセルラリスの培養が記載された。

20

【0005】

L. イントラセルラリスの病原性細菌株及び非病原性の弱毒化した細菌株は、最新技術においてよく知られる。例えば、WO96/39629 及び WO05/011731 は、L. イントラセルラリスの非病原性の弱毒化株を記載する。L. イントラセルラリスのさらに弱毒化した細菌株は、WO02/26250 及び WO03/00665 から知られる。

30

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

当業界で必要とされるものは、ローソニアイントラセルラリス感染に対して有効なワクチンであり、当該ワクチンは、動物に防御免疫を提供する若しくは与える及び/又はローソニアイントラセルラリス感染に関連する臨床症状の重症度を軽減する。さらに必要とされることは、当該ワクチンの製造方法及び投与方法である。

【課題を解決するための手段】

【0007】

(発明の要約)

本発明は、従来技術に内在する課題を克服し、最新技術における注目すべき進歩を提供する。とりわけ、本発明は、ローソニアイントラセルラリスに由来する免疫学的タンパクを含む抗原及びローソニアイントラセルラリスによる感染に対するブタのワクチン接種におけるそれらの使用に関する。好ましくは、当該タンパクは、ブタでの感染の標準的な経過の間に体液性免疫応答を誘発する。これらのタンパクは、両方共単独で及び組み合わせで、免疫応答を引き起こしローソニアイントラセルラリス感染に対する防御免疫又はローソニアイントラセルラリス感染に関連する臨床症状の軽減を提供するタンパクサブユニットワクチン中の構成成分として有用である。当該同定されたタンパクはその後、いかなる従来法によっても生成することができ、ワクチン中で用いることができる。

40

50

【 0 0 0 8 】

ローソニアイントラセルラリスDK15540のゲノムのヌクレオチド配列を、300個のアミノ酸の最小長さを有するタンパクをコードするヌクレオチド配列の存在に関して解析した。つまるところ、少なくとも300個のアミノ酸を有する456個のタンパク配列を同定した。これらの配列は、配列番号：1~455 及び配列番号：466 に一致した。これらのタンパク配列を、2つの別個のコンピュータプログラムであるPSORT及びCELLOを用いてさらに解析した。当該解析の目的は、300個以上のアミノ酸である所定のタンパクを同定し、ローソニアイントラセルラリスにおけるそれらの位置を見出す又は予測することであった。タンパクの当該位置の知見は、当業者へサブユニットワクチンでの使用に関するタンパクの適合性を示唆する。当該PSORTプログラムは、細胞内局在を予測するために用い、サイモン
 フレーザー大学 (Simon Fraser University) のブリンクマン研究所 (Brinkman Laboratory) によって主催され、psort.orgで見つけることができる。当該CELLOプログラムは、グラム陰性タンパクを細胞質、内膜、周辺質、外膜又は細胞外空間へ割り当てるためにn-ペプチド組成物を基盤とするSupport Vector Machineを用い、cello.life.nctu.edu.twで見つけることができる。概して、サブユニットワクチン中の構成成分としてのタンパクの適合性は、適合性の低い順に、細胞質内、内膜、周辺質、外膜及び細胞外である。つまり、細胞質タンパクが最小の適合性を見込みを提供する一方で、細胞外タンパクはワクチンに関する有効性の最大の見込みを提供する。これは、当該タンパクがより曝露され免疫応答の誘導のために利用しやすいからである。CELLOを用いて、細胞外タンパクは、配列
 番号：. 6, 329, 296, 413, 194, 143, 146, 333, 438, 188, 261, 237, 336, 291, 151, 26, 139, 333, 444, 308, 131, 284 及び 340 又はそれらの免疫原性一部分 (portion) を含んでおり；外膜タンパクは、配列番号：355, 11, 378, 50, 35, 231, 4, 328, 313, 27, 172, 275, 387, 134, 201, 256, 2, 12, 404, 388, 327, 306, 415, 343, 373, 214, 330, 316, 428, 190, 129, 320, 381, 9, 292, 158, 270, 336, 423, 211, 178, 430, 77, 186, 264, 140, 193, 192, 208, 183, 108, 109, 87, 253, 379, 243, 364, 51, 99, 419, 278, 295, 349, 219, 127, 389, 254, 263, 294, 315, 257, 443, 403, 76, 75, 73, 344, 74 及び 238 又はそれらの免疫原性一部分を含んでおり；周辺質タンパクは、配列番号：6, 132, 421, 112, 110, 310, 247, 205 及び 7 又はそれらの免疫原性一部分を含んでおり；内膜タンパクは、配列番号：. 228, 452, 144, 323, 305, 357, 360, 95, 130, 34, 405, 118, 451, 299, 48, 376, 358, 377, 352, 39, 106, 258, 309, 445, 19
 5, 311, 179, 410, 265, 249, 354, 398, 408, 20, 44, 68, 31, 153, 187, 345, 69, 36
 6, 348, 1, 324, 281, 88, 239, 36, 276, 29, 104, 70, 426, 302, 314, 369, 418, 58, 166, 384, 107, 18, 272, 41, 200, 180, 92, 386, 156, 455, 383, 361, 116, 277, 55, 252, 32, 93, 241, 120, 229, 121, 89, 382 及び 250 又はそれらの免疫原性一部分を含んでおり；さらに細胞質タンパクは、配列番号：6, 79, 346, 332, 11, 53, 81, 8, 21, 435, 234, 185, 450, 347, 424, 326, 155, 215, 399, 209, 216, 416, 147, 313, 157, 342, 343, 293, 271, 337, 72, 269, 103, 64, 425, 148, 341, 24, 285, 289, 429, 2
 68, 177, 405, 260, 407, 100, 442, 321, 370, 47, 353, 80, 67, 436, 30, 220, 397, 212, 96, 149, 119, 273, 105, 85, 15, 3, 232, 40, 225, 420, 19, 286, 259, 196, 20
 7, 176, 280, 431, 160, 367, 168, 128, 124, 394, 126, 5, 255, 242, 46, 152, 16, 6
 5, 433, 167, 221, 414, 287, 412, 111, 303, 449, 114, 233, 406, 25, 210, 61, 203, 86, 141, 171, 447, 266, 437, 173, 78, 199, 319, 400, 392, 351, 184, 43, 217, 18
 9, 174, 409, 204, 396, 83, 335, 98, 224, 113, 372, 301, 164, 246, 56, 175, 262, 226, 17, 362, 338, 267, 356, 251, 300, 62, 14, 350, 37, 202, 159, 115, 331, 317, 163, 38, 240, 318, 236, 304, 439, 191, 244, 97, 417, 133, 123, 22, 359, 165, 38
 5, 218, 162, 102, 223, 283, 453, 290, 402, 71, 446, 380, 339, 122, 161, 117, 390, 82, 427, 371, 454, 49, 368, 28, 10, 42, 63, 57, 59, 54, 136, 84, 181, 60, 90, 52, 125, 230, 142, 440, 197, 363, 23, 325, 154, 227, 282, 213, 33, 391, 91, 312, 198, 101, 45, 422, 298, 448, 375, 274, 150, 206, 374, 248, 393, 222, 288, 235, 66, 182, 307, 334, 322, 169, 279, 13, 395, 434, 365, 137, 145, 170, 401, 441, 13

10

20

30

40

50

8, 94, 245, 411 及び 135 又はそれらの免疫原性一部分を含んでいた。さらに、上記のCELLO予測リストの各々で提供される順番は、当該グループのワクチン目的に関して最も適切でないものから最も適切なものまで順番に当該タンパクを提供する。従って、本発明の目的のために、ローソニアイントラセルラリスタンパクを用いるのが好ましい。より好ましくは、配列番号：456及び457によってコードされるタンパクと同様に、配列番号：1~455及び466からなる群より選択される配列を用いるのが好ましい。さらにより好ましくは、細胞外タンパク又は外膜タンパク、さらにより好ましくは、配列番号：355, 11, 378, 50, 35, 231, 4, 328, 313, 27, 172, 275, 387, 134, 201, 256, 2, 12, 404, 388, 327, 306, 415, 343, 373, 214, 330, 316, 428, 190, 129, 320, 381, 9, 292, 158, 270, 336, 423, 211, 178, 430, 77, 186, 264, 140, 193, 192, 208, 183, 108, 109, 87, 253, 379, 243, 364, 51, 99, 419, 278, 295, 349, 219, 127, 389, 254, 263, 294, 315, 257, 443, 403, 76, 75, 73, 344, 74, 238, 6, 329, 296, 413, 194, 143, 146, 333, 438, 188, 261, 237, 336, 291, 151, 26, 139, 333, 444, 308, 131, 284 及び 340 又は上述のローソニアタンパクのいずれの免疫原性一部分又は上述のローソニアタンパクのいずれのホモログ又は前記ホモログのいずれの免疫原性一部分からなる群より選択されるタンパクを用いるのが好ましい。さらに、これらのタンパクは、サブユニットワクチンでの使用に関して適合性の低い順にリストアップされる。さらにより好ましくは、細胞外タンパクが用いられ、さらにより好ましくは、当該タンパクは、配列番号：6, 329, 296, 413, 194, 143, 146, 333, 438, 188, 261, 237, 336, 291, 151, 26, 139, 333, 444, 308, 131, 284 及び 340 又は 上述のローソニアタンパクのいずれの免疫原性一部分、上述のローソニアタンパクのいずれのホモログ又は前記ホモログのいずれの免疫原性一部分からなる群より選択される。当該完全なCELLO結果は、その利益が本明細書で主張される出願である米国シリアル番号：60/675,806 の表 1 に盛り込まれる。

【 0 0 0 9 】

PSORTを用いて、細胞外タンパク (ECSVM-Localization) は、配列番号：237, 292 及び 327 を含んでおり；外膜タンパク (OMSVM-Localization) は、配列番号：51, 108, 140, 193, 194, 211, 217, 219, 237, 256, 257, 269, 278, 284, 292, 294, 315, 327, 329, 344, 349, 389 及び 403 を含んでおり；Motif-Localization によって同定される外膜タンパクは、配列番号：32, 70 及び 155 を含んでおり；PPSVM-Localization を用いて何らの周辺質タンパクも同定されず；Motif-Localization を用いて同定される周辺質タンパクは、配列番号：187, 250, 272 及び 303 を含んでおり；CMSVN-Localization によって同定される内膜タンパクは、配列番号：1, 16, 18, 20, 29, 31, 32, 41, 44, 55, 58, 68, 69, 70, 88, 89, 92, 93, 104, 107, 116, 120, 121, 153, 156, 166, 179, 180, 187, 195, 200, 229, 239, 241, 250, 252, 272, 276, 277, 300, 302, 314, 324, 345, 348, 361, 366, 369, 382, 383, 384, 386, 408, 410, 418, 426, 432 及び 455 を含んでおり；HMMTOP-Localization を用いて同定される内膜タンパクは、配列番号：16, 18, 20, 29, 31, 32, 36, 41, 44, 53, 55, 58, 67, 68, 69, 70, 74, 77, 88, 89, 92, 93, 104, 107, 114, 116, 120, 121, 140, 146, 153, 156, 166, 179, 180, 187, 195, 200, 201, 211, 229, 239, 241, 242, 250, 252, 265, 272, 276, 277, 278, 281, 292, 302, 310, 311, 314, 324, 341, 345, 348, 354, 355, 361, 366, 369, 382, 383, 384, 386, 404, 408, 410, 418, 424, 426, 427, 432, 443 及び 455 を含んでおり；さらに、CytosVM-Localization を用いて同定される細胞質タンパクは、配列番号：5, 8, 10, 13, 17, 22, 23, 24, 30, 33, 37, 38, 42, 43, 45, 49, 52, 54, 60, 62, 63, 64, 84, 85, 86, 90, 91, 94, 98, 101, 113, 125, 133, 135, 136, 137, 138, 142, 145, 150, 152, 154, 155, 165, 168, 169, 170, 171, 173, 174, 175, 176, 181, 182, 189, 197, 198, 202, 206, 213, 214, 218, 220, 221, 222, 223, 224, 226, 227, 230, 235, 236, 240, 242, 245, 247, 248, 254, 255, 268, 274, 279, 282, 288, 293, 295, 298, 303, 304, 307, 312, 313, 317, 325, 330, 334, 338, 350, 352, 353, 356, 362, 363, 365, 368, 371, 372, 374, 375, 380, 385, 390, 392, 394, 395, 400, 401, 402, 406, 407, 409, 411, 412, 417, 420, 422, 431, 433, 434, 437, 439, 440, 441, 443, 448, 453 及び 454

を含んでいた。当該完全なPSORT結果は、米国シリアル番号：60/675,806 の表2に提供した。

【0010】

次に、当該配列の各々を、当該456個のローソニアタンパクと相同的な他のタンパクを発見するためにBLASTにより検索した。当該BLAST検索の結果を、図5として本明細書に含める。

最終的に、ローソニアDK15540ヘモリシンとデスルホビブリオ (*Desulfovibria*) のOmp-85様タンパク (Omp-85 like protein) との間のアミノ酸アライメントは、米国シリアル番号：60/675,806 の表3に提供した。

【0011】

本明細書で用いられるとおり、以下の定義が適用される：“配列同一性 (Sequence Identity)” は、当業界で知られるとおり、2つ以上のポリペプチド配列間又は2つ以上のポリヌクレオチド配列間、すなわち、参照配列及び当該参照配列と比較される所定の配列との間の関連性に言及する。配列同一性は、所定の配列及び参照配列を至適に整列させて最も高い程度の配列類似性 (当該配列の列間のマッチ (match) によって判断される) を引き起こした後に、当該所定の配列を当該参照配列と比較することによって判断される。当該アライメントにおいて、配列同一性は位置毎の基盤で確認され、例えば、特定の位置でヌクレオチド又はアミノ酸残基が同一である場合には、当該配列はその位置で同一である。当該位置同一性の総数を次に、当該参照配列中のヌクレオチド又は残基の総数で割って % 配列同一性が得られる。配列同一性は、それらの教示が参照によって本明細書に取り込まれる Computational Molecular Biology, Lesk, A. N., ed., Oxford University Press, New York (1988), Biocomputing: Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, New York (1993); Computer Analysis of Sequence Data, Part I, Griffin, A.M., and Griffin, H. G., eds., Humana Press, New Jersey (1994); Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinge, G., Academic Press (1987); Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. and Devereux, J., eds., M. Stockton Press, New York (1991); 及び Carillo, H., and Lipman, D., SIAM J. Applied Math., 48: 107-3 (1988) に記載されるものであってもよいがこれらに限定されない既知の方法によって容易に計算することができる。当該配列同一性を判断するための好ましい方法は、検証される当該配列間の最も大きなマッチを与えるように設計される。配列同一性を判断するための方法は、所定の配列間の配列同一性を判断する公的に入手可能なコンピュータプログラムにおいて体系化される。当該プログラムの例としては、GCGプログラムパッケージ (Devereux, J., et al., Nucleic Acids Research, 12(1):387 (1984)), BLASTP, BLASTN 及び FASTA (Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990)) が挙げられるが、これらに限定されない。BLASTプログラムは、NCBI及び他の出所から公的に入手可能である (その教示が参照によって本明細書に取り込まれる BLASTマニュアル, Altschul, S. et al., NCVI NLM NIH Bethesda, MD 20894, Altschul, S. F. et al., J. Molec. Biol., 215:403-410 (1990))。これらのプログラムは、所定の配列と参照配列との間の最も高いレベルの配列同一性を引き起こすためにデフォルトギャップウエイト (default gap weights) を用いて配列を至適に整列させる。例として、参照ヌクレオチド配列と少なくとも、例えば、95% の“配列同一性”を有するヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドによって、当該所定のポリヌクレオチド配列が当該参照ヌクレオチド配列の各々100個のヌクレオチド毎に5個までの点変異を含んでいてもよいことを除いて、当該所定のポリヌクレオチドのヌクレオチド配列は当該参照配列と同一であることが意図される。つまり、当該参照ヌクレオチド配列と少なくとも95%の同一性を有するヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドにおいては、当該参照配列中のヌクレオチドの5%までが欠失させられていてもよいし若しくは他のヌクレオチドで置換されていてもよく、又は当該参照配列中の総ヌクレオチドの5%までの数のヌクレオチドが当該参照配列へ挿入されてもよい。当該参照配列のこれらの変異は、当該参照ヌクレオチド配列の5'末端若しくは3'末端の位置又はそれらの末端の位置間のどこに存在していてもよく、当該参照配列

10

20

30

40

50

中のヌクレオチドの間に個別で散在させられるか又は当該参照配列内に1つ以上の連続するグループで散在させられてもよい。同じように、参照アミノ酸配列と少なくとも、例えば、95%の配列同一性を有する所定のアミノ酸配列を有するポリペプチドによって、当該所定のポリペプチド配列が当該参照アミノ酸配列の各々100個のアミノ酸毎に5個までのアミノ酸の変更を含んでいてもよいことを除いて、当該ポリペプチドの所定のアミノ酸配列は当該参照配列と同一であることが意図される。つまり、参照アミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する所定のポリペプチド配列を獲得するために、当該参照配列中の5%までのアミノ酸残基が欠失させられていてもよいし若しくは他のアミノ酸で置換されていてもよく、又は当該参照配列中のアミノ酸残基の総数の5%までの数のアミノ酸が当該参照配列へ挿入されてもよい。当該参照配列のこれらの変異は、当該参照アミノ酸配列のアミノ末端若しくはカルボキシ末端の位置又はそれらの末端の位置間のどこに存在していてもよく、当該参照配列中の残基間に個別で散在させられるか又は当該参照配列内に1つ以上の連続するグループで散在させられてもよい。好ましくは、同一でない残基の位置は、保存アミノ酸置換 (conservative amino acid substitutions) により異なる。しかしながら、保存置換 (conservative substitutions) は、配列同一性を判断する際に、マッチとして含まれない。

10

20

30

40

50

【0012】

同様に、“配列相同性 (sequence homology)” はまた、本明細書で用いられるとおり、2つの配列の関連性を判断する方法に言及する。配列相同性を判断するために、2つ以上の配列を上記に記載されるとおり至適に整列させて、必要であればギャップが導入される。しかしながら、“配列同一性” と対照的に、保存アミノ酸置換は、配列相同性を決定する際に、マッチとして数えられる。つまり、参照配列と95%の配列同一性を有するポリペプチド又はポリヌクレオチドを獲得するために、当該参照配列の95%のアミノ酸残基若しくはヌクレオチドがマッチしなければならない又は他のアミノ酸若しくはヌクレオチドでの保存置換を含む、又は保存置換を含めないで当該参照配列の総アミノ酸残基若しくはヌクレオチドの5%までの数のアミノ酸若しくはヌクレオチドが当該参照配列へ挿入されてもよい。

【0013】

“保存置換” は、全体的な機能性が著しく変わらないような、サイズ、疎水性などを含む類似の特性又は性質を有する他のアミノ酸残基又はヌクレオチドでのアミノ酸残基又はヌクレオチドの置換に言及する。

【0014】

“単離型” は、その自然状態から“ヒトの手によって” 変えられていることを意味し、つまり、それが自然に存在している場合には、その本来の環境から変更させられる若しくは移動させられる又はその両方をされている。例えば、生命体中に自然に存在するポリヌクレオチド又はポリペプチドは“単離型” ではなく、その自然状態の共存する物質から分離される同一のポリヌクレオチド又はポリペプチドが、当該用語が本明細書で採用されるとおり、“単離型” である。概して、タンパク配列及び当該タンパクをコードするDNAを含む本明細書に記載される各々の配列はまた、当該開示される配列に関連してあるパーセンテージの配列相同性又は配列同一性を有するタンパク及びDNA配列をも包含する。高いパーセンテージの配列相同性又は配列同一性を有することが好ましい一方で、当該配列そのものよりも特許請求の範囲に記載されている配列の機能を維持することがより好ましい。つまり、当業者は本明細書に開示される当該配列への軽微な変更を行うことができ、さらに当該開示される配列の機能性を当該の“類縁体 (derivative)” 配列に維持することができる。保存置換は、まだ機能性を維持する一方で、当該配列への変更を行う1つの好ましい方法である。好ましくは、本発明は、本明細書に開示される当該配列を基盤とする類縁体配列を含む他の配列を包含する。当該他の配列は、好ましくは、本明細書に開示される配列と少なくとも約85%の配列同一性又は配列相同性、より好ましくは、少なくとも約90%の配列同一性又は配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約95%の配列同一性又は配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約97%の配列同一

性又は配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 98 % の配列同一性又は配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 99 % の配列同一性又は配列相同性を有する。好ましくは、当該相同性は、少なくとも25個のアミノ酸/ヌクレオチド、より好ましくは、少なくとも50個のアミノ酸/ヌクレオチド、さらにより好ましくは、少なくとも75個のアミノ酸/ヌクレオチド、さらにより好ましくは、少なくとも150個のアミノ酸/ヌクレオチド、さらにより好ましくは、少なくとも200個のアミノ酸/ヌクレオチド、さらにより好ましくは、少なくとも250個のアミノ酸/ヌクレオチド、さらに最も好ましくは、少なくとも300個のアミノ酸/ヌクレオチドの長さを超えて存在する。さらに、本明細書に記載されるタンパク配列が免疫原性組成物中で有用であること及びこれらの配列のいくつかのストレッチ (stretches) 又は一部分が免疫応答を誘導するのに他のものよりもさらに重要な役割を果たすことが理解される。これは、選択される一部分が免疫応答を引き起こすのに十分な長さであるという条件で、十分な免疫応答がこれらのタンパクの当該選択される一部分だけを用いることによって誘導することができることを意味する。従って、本発明は、本明細書に記載される当該タンパクのいずれの免疫原性一部分をも包含する。さらに、本発明はまた、それらの免疫原性ストレッチ又は免疫原性一部分をコードするいずれの DNA 分子をも包含する。概して、当該ストレッチ又は一部分は、当該配列の全長までの連続するアミノ酸/ヌクレオチドの配列を含む。さらに好ましくは、当該ストレッチ又は一部分は、優先度の低い順に、当該開示される配列又はいずれのその相同体の少なくとも300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個、9個又は最も好ましくは8個の連続するアミノ酸を有する。DNA 分子に関係付けられる際には、当該ストレッチ又は一部分は、優先度の低い順に、当該開示される配列の少なくとも300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個、9個又は最も好ましくは8個の連続するアミノ酸をコードする。好ましくは、前記の相同体配列は、好ましくは、本明細書に開示される配列と少なくとも約 85 % の配列同一性又は配列相同性、より好ましくは、少なくとも約 90 % の配列同一性又は配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 95 % の配列同一性又は配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 97 % の配列同一性又は配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 98 % の配列同一性又は配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 99 % の配列同一性又は配列相同性を有する。当該配列それ自身と同様に、当該ストレッチもまた、機能を損なうことなく当業者によって操作可能である。従って、当該配列相同性及び配列同一性の定義はまた、当該開示されるタンパクのこれらのストレッチ又は一部分にも適用される。

【0015】

本明細書で用いられるとおり、“L. イントラセルラリス”又は“ローソニアイントラセルラリス”又は“ローソニア”という用語は、その各々が参照によって本明細書に完全に取り込まれる C. Gebhart et al., *Int'l. J. of Systemic Bacteriology*, Vol. 43, No. 3, 533-538 (1993) 及び S. McOrist et al., *Int'l. J. of Systemic Bacteriology*, Vol. 45, No. 4, 820-825 (1995) によって詳細に記載される細胞内の湾曲したグラム陰性菌並びに WO96/39629 及び WO05/011731 に記載される分離株であってもよいがこれらに限定されない分離株を意味する。とりわけ、“L. イントラセルラリス”という用語はまた、ブタベスト条約の下にアメリカンタイプカルチャーコレクション, 10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209 に寄託され、ATCC受入番号: PTA4926 又はATCC受入番号: 55783 を割り当てられた分離株をも意味するが、これらに限定されない。両方の分離株はそれぞれ、WO96/39629 及び WO05/011731 に記載される。“L. イントラセルラリス”という用語はまた、いずれの他の L. イントラセルラリス菌株又は好ましくは WO96/39629 及び WO05/011731 に記載される L. イントラセルラリス菌株の少なく

10

20

30

40

50

とも1つの免疫原性特性を有する分離株、とりわけ、ブタペスト条約の下にアメリカンタイブカルチャーコレクション、10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209 に寄託され、ATCC受入番号：PTA4926 又はATCC受入番号：55783 を割り当てられた分離株の少なくとも1つの免疫原性特性を有する分離株をも意味するが、これらに限定されない。

【0016】

さらに、“L. イントラセルラリス”という用語はまた、いずれの L. イントラセルラリス抗原をも意味する。“L. イントラセルラリス抗原”という用語は、本明細書で用いられるとおり、動物、好ましくはブタへ投与される際に L. イントラセルラリスが引き起こす感染に対する免疫応答を誘導する、刺激する又は増強することができる少なくとも1つの抗原を含む物質のいずれの組成物をも意味するが、これらに限定されない。好ましくは、前記 L. イントラセルラリス抗原は、完全な L. イントラセルラリス細菌、とりわけ、不活性型（いわゆる、死菌）の完全な L. イントラセルラリス細菌、生存修飾した（modified live）若しくは弱毒化した L. イントラセルラリス細菌（いわゆる、MLB）、L. イントラセルラリスの少なくとも1つの免疫原性アミノ酸配列を含むキメラベクター又は L. イントラセルラリスの少なくとも1つの免疫原性アミノ酸配列を含むいずれの他のポリペプチド若しくは構成成分である。“免疫原性タンパク”、“免疫原性ポリペプチド”又は“免疫原性アミノ酸配列”という用語は、本明細書で用いられるとおり、前記の免疫原性タンパク、免疫原性ポリペプチド又は免疫原性アミノ酸配列を含む病原体に対する宿主における免疫応答を誘発するいずれのアミノ酸配列について言及する。とりわけ、L. イントラセルラリスの“免疫原性タンパク”、“免疫原性ポリペプチド”又は“免疫原性アミノ酸配列”は、前記の“免疫原性タンパク”、“免疫原性ポリペプチド”又は“免疫原性アミノ酸配列”が投与される宿主における L. イントラセルラリスに対する免疫学的応答を誘発する抗原をコードするいずれのアミノ酸配列をも意味する。例えば、配列番号：1~455及び配列番号：466又はそれらのいずれの免疫原性一部分の配列を有する当該タンパクは、ローソニアイントラセルラリスの“免疫原性タンパク”、“免疫原性ポリペプチド”又は“免疫原性アミノ酸配列”であると考えられる。さらに、これらの用語は、いずれのタンパクの全長配列、それらのアナログ又はそれらの免疫原性フラグメント若しくは免疫原性一部分であってもよいが、これらに限定されない。“免疫原性フラグメント”又は“免疫原性一部分”という用語は、1つ以上のエピトープを含みそれによって関連する病原体に対する免疫学的応答を誘発するタンパクのフラグメントを意味する。例えば、Epitope Mapping Protocols in Methods in Molecular Biology, Vol. 66 (Glenn E. Morris, Ed., 1996) Human Press, Totowa, New Jersey を参照（その教示及び内容は、参照によって本明細書に取り込まれる）。例えば、直線状のエピトープを、例えば、固体支持体（supports）上で当該タンパク分子の一部に相当するペプチドを多数同時に合成し、当該ペプチドがまだ当該支持体に付属される間に当該ペプチドを抗体と反応させることによって同定してもよい。当該技術は当業界で知られ、例えば、米国特許No. 4,708,871；Geysen et al. (1984) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3998-4002；Geysen et al. (1986) Molec. Immunol. 23:709-715 に記載される（その教示及び内容は、参照によって本明細書に取り込まれる）。同様に、立体構造エピトープは、アミノ酸の空間的な立体構造を例えば、X線結晶構造解析及び2次元NMRによって決定することによって容易に同定される。例えば、Epitope Mapping Protocols, supra. を参照。合成抗原もまた、当該定義の範囲内に包含され、例えば、ポリエピトープ、フランキングエピトープ（flanking epitopes）及び他の組み換え型若しくは合成的に生成される抗原が挙げられる。例えば、Bergmann et al. (1993) Eur. J. Immunol. 23:2777-2781；Bergmann et al. (1996), J. Immunol. 157:3242-3249；Suhrbier, A. (1997), Immunol. 及び Cell Biol. 75:402-408；Gardner et al., (1998) 12th World AIDS Conference, Geneva, Switzerland, June 28-July 3, 1998 を参照（それらの教示及び内容は、参照によって本明細書に取り込まれる）。

【0017】

10

20

30

40

50

菌株又は分離株は、WO96/39629 及び WO05/011731 に記載される L. イントラセルラリス株の少なくとも1つの“免疫原性特性”、とりわけ、ATCC受入番号：PTA4926 又はATCC受入番号：55783 として寄託された分離株の“免疫原性特性”を有し、WO06/01294 に記載される抗L. イントラセルラリス特異的抗体の少なくとも1つでやはり WO06/01294 に記載される検出アッセイにおいて検出可能である。好ましくは、それらの抗体は、参照番号 301:39、287:6、268:29、110:9、113:2 及び 268:18 を有する抗体から選択される。好ましくは、当該検出アッセイは、WO06/12949 の実施例 2 及び実施例 3 に記載されるおりのサンドウィッチELISAであり、他方では、抗体 110:9 は捕捉抗体として用いられ、抗体 268:29 は抱合型抗体として用いられる。WO06/129449 に開示される全ての抗体は、ブタペスト条約に従う特許寄託物として Center for Applied Microbiology and Research (CAMR) 及びEuropean Collection of Cell Cultures (ECACC), Salisbury, Wilshire SP4 0JG, UK に寄託されるハイブリドーマ細胞によって産生される。寄託年月日は、2004年5月11日であった。ハイブリドーマ細胞株 110:9 は、ECACC Acc. No. 04092204 の下に首尾良く寄託される。ハイブリドーマ細胞株 113:2 は、ECACC Acc. No. 04092201 の下に首尾良く寄託される。ハイブリドーマ細胞株 268:18 は、ECACC Acc. No. 04092202 の下に首尾良く寄託される。ハイブリドーマ細胞株 268:29 は、ECACC Acc. No. 04092206 の下に首尾良く寄託される。ハイブリドーマ細胞株 287:6 は、ECACC Acc. No. 04092203 の下に首尾良く寄託される。ハイブリドーマ細胞株 301:39 は、ECACC Acc. No. 04092205 の下に首尾良く寄託される。

10

【0018】

20

ローソニアイントラセルラリスのゲノムを含むいくつかの配列はヨーロッパ特許：1094070 と同様に、PCT出願：WO0069903、WO0069904、WO0069905 及び WO0069906 に記載されており、それらの全ての教示及び内容は参照によって本明細書に取り込まれる。

【0019】

組成物又はワクチンに対する“免疫学的応答”又は“免疫応答”は、当該組成物又はワクチンに対する細胞介在性免疫応答及び/又は抗体介在性免疫応答の宿主における発生である。通常、“免疫応答”は、以下の効果の1つ以上であってもよいが、これらに限定されない：当該組成物中又はワクチン中に含まれる抗原又は抗原群に特に向けられる抗体、B細胞、ヘルパーT細胞、サブレッサーT細胞及び/又は細胞障害性T細胞及び/又は γ d T細胞 (γ d T cells) の産生又は活性化。好ましくは、当該宿主は、新たな感染に対する抵抗力が強化され及び/又は当該疾患の臨床的な重症度が軽減されるように治療的な免疫学的応答又は保護的な免疫学的応答のどちらかを示す。当該保護は、上記で記載されるとおり、宿主感染に関連する症状の軽減又は欠如のどちらかによって明らかにされる。

30

【0020】

さらに、本発明の免疫原性組成物及びワクチン組成物は、1つ以上の獣医学的に許容されるキャリアを含んでいてもよい。本明細書で用いられるとおり、“獣医学的に許容されるキャリア”には、いずれの及び全ての、溶媒、分散媒 (dispersion media)、コーティング、アジュバント、安定化剤、希釈剤、防腐剤、抗菌剤、抗真菌剤、等張剤、吸着遅延剤 (adsorption delaying agents) などが含まれる。

【0021】

40

“希釈剤”には例えば、水、生理食塩水、ブドウ糖、エタノール、グリセロールなどが含まれる。等張剤には例えば、塩化ナトリウム、ブドウ糖、マンニトール、ソルビトール及びラクトースが含まれる。安定化剤には例えば、アルブミンやエチレンジアミン四酢酸のアルカリ塩が含まれる。

【0022】

“アジュバント”は、本明細書で用いられるとおり、水酸化アルミニウム及びリン酸アルミニウム、例えば、Quil A、QS-21 (Cambridge Biotech Inc., Cambridge MA)、GPI-100 (Galenica Pharmaceuticals, Inc., Birmingham, AL)、ウォーターインオイルエマルジョン (water-in-oil emulsion)、オイルインウォーターエマルジョン (oil-in-water emulsion)、ウォーターインオイルインウォーターエマルジョン (water-in-oil-in-wa

50

ter emulsion) などのサポニンであってもよい。当該エマルションはとりわけ、軽質流動パラフィンオイル(欧州薬局方型);スクアラン若しくはスクアレンのようなイソプレノイドオイル;アルケン、とりわけイソブテン若しくはデセンのオリゴマー形成から結果として得られるオイル;直鎖アルキル基を含む酸のエステル若しくはアルコールのエステル、よりとりわけ、植物油、オレイン酸エチル、プロピレングリコールジ-(カプリラート/カプラート)、グリセリルトリ-(カプリラート/カプラート)又はプロピレングリコールジオレアート;分鎖の脂肪酸若しくはアルコールのエステル、とりわけ、イソステアリン酸エステルを基盤とすることができる。当該オイルを乳化剤と組み合わせて用いてエマルションを形成する。当該乳化剤は好ましくは、非イオン性界面活性剤、とりわけ、ソルビタンのエステル、マンニドのエステル(例えば、無水マンニトールオレアート)、グリコールのエステル、ポリグリセリンのエステル、プロピレングリコールのエステル及びオレイン酸、イソステアリン酸、リシノール酸又はヒドロキシステアリン酸のエステル(これらは、エトキシレート化されていてもよい)及びポリオキシプロピレン-ポリオキシエチレンブロック共重合体、とりわけ、プルロニック製品、特に、L121である。Hunter et al. *The theory and Practical Application of Adjuvants* (Ed. Stewart-Tull, D. E. S.), John Wiley and Sons, NY, pp51-94 (1995) 及び Todd et al., *Vaccine* 15:564-570 (1997) を参照。例えば、M. Powell and M. Newman, Plenum Press, 1995 によって編集された "Vaccine Design, The Subunit and Adjuvant Approach" の147頁に記載されるSPTエマルション及びこれと同じ本の183頁に記載されるエマルションMF59を用いることが可能である。

10

20

【0023】

アジュバントのさらなる例は、アクリル酸又はメタクリル酸のポリマー及び無水マレイン酸とアルケニル誘導体の共重合体から選択される化合物である。好都合なアジュバント化合物は、架橋されるアクリル酸又はメタクリル酸のポリマー、とりわけ、糖のポリアルケニルエーテル又はポリアルコールで架橋されるアクリル酸又はメタクリル酸のポリマーである。これらの化合物は、カルボマーという用語で知られる(Pharmeuropa Vol. 8, No. 2, June 1996)。当業者はまた、少なくとも3個の、好ましくは8個以下のヒドロキシル基を有するポリヒドロキシ化された化合物であって、当該少なくとも3個のヒドロキシルの水素原子が少なくとも2個の炭素原子を有する不飽和脂肪族のラジカルで置換される当該化合物で架橋される当該アクリルポリマーを記載する米国特許No. 2,909,462を参照することもできる。好ましいラジカルは、2個~4個の炭素原子を含むもの、例えば、ビニル基、アリル基及び他のエチレン的に不飽和な基である。当該不飽和ラジカルは、それら自身がメチルのような他の置換基を含んでいてもよい。Carbopol (BF Goodrich, Ohio, USA) の名称で販売される製品が、とりわけ適切である。それらは、アリルスクロース又はアリルペンタエリスリトールで架橋される。それらの中でも、Carbopol 974P、934P及び971Pが言及されてもよい。最も好ましいのは、Carbopol 971Pの使用である。無水マレイン酸とアルケニル誘導体の共重合体の中でも、無水マレイン酸とエチレンの共重合体である共重合体EMA (Monsanto) である。これらのポリマーの水中への溶解は結果として、免疫原性組成物、免疫学的組成物又はワクチン組成物それ自身が取り込まれるアジュバント溶液を与えるために中和することのできる、好ましくは、生理的pHまで中和することのできる酸性溶液をもたらす。

30

40

【0024】

さらなる適切なアジュバントとしては他の多くの中で、RIBIアジュバントシステム(Ribi Inc.)、ブロック共重合体(CytRx, Atlanta GA)、SAF-M(Chiron, Emryville CA)、モノホスホリル脂質A、アブリジン(Avridine)脂質-アミンアジュバント、E. Coli(組み換え型又は別のやり方)の熱不安定性エンテロトキシン、コレラトキシン、IMS1314又はムラミルジペプチドが挙げられるが、これらに限定されない。

【0025】

好ましくは、当該アジュバントは、投与量あたり、約100 µg ~ 約10 mgの量で加えられる。さらにより好ましくは、当該アジュバントは、投与量あたり、約100 µg ~

50

約 10 mg の量で加えられる。さらにより好ましくは、当該アジュバントは、投与量あたり、約 500 μg ~ 約 5 mg の量で加えられる。さらにより好ましくは、当該アジュバントは、投与量あたり、約 750 μg ~ 約 2.5 mg の量で加えられる。最も好ましくは、当該アジュバントは、投与量あたり約 1 mg の量で加えられる。

【0026】

遺伝暗号の縮重が原因で、核酸の種々のバリエーションが同一のタンパクをコードすることが知られる。アミノ酸及び遺伝暗号のコード化の両方が当業界においてよく知られているので、結果として同一のアミノ酸をもたらす塩基配列における当該バリエーションの全ては、本発明によってカバーされる。

【0027】

本発明のある実施態様において、ローソニアイントラセルラリスに由来する免疫学的タンパクが提供される。“免疫原性”及び“免疫学的”という用語が本明細書において同義語として用いられることが本明細書と共に理解される。好ましくは、当該タンパクは、ローソニアタンパクからなる群より選択される。より好ましくは、当該免疫学的タンパクは、配列番号：1~455 及び466及びそれらの組み合わせからなる群より選択される配列と少なくとも 85 %、より好ましくは 90 %、さらにより好ましくは 93 %、さらにより好ましくは 95 %、さらにより好ましくは 97 %、さらにより好ましくは 98 %、さらにより好ましくは 99 %、さらに最も好ましくは 100 % の配列相同性を有するタンパクをコードする DNA 配列によりコードされる。あるいは、当該タンパクは、配列番号：456 及び配列番号：457 からなる群より選択される配列と少なくとも約 85 %、より好ましくは 90 %、さらにより好ましくは 93 %、さらにより好ましくは 95 %、さらにより好ましくは 97 %、さらにより好ましくは 98 %、さらにより好ましくは 99 %、さらに最も好ましくは 100 % の配列相同性を有する DNA 配列によってコードされる。より好ましくは、当該タンパクは、細胞外ローソニアタンパク及び外膜ローソニアタンパクからなる群より選択される。さらにより好ましくは、当該タンパクは、配列番号：355, 11, 378, 50, 35, 231, 4, 328, 313, 27, 172, 275, 387, 134, 201, 256, 2, 12, 404, 388, 327, 306, 415, 343, 373, 214, 330, 316, 428, 190, 129, 320, 381, 9, 292, 158, 270, 336, 423, 211, 178, 430, 77, 186, 264, 140, 193, 192, 208, 183, 108, 109, 87, 253, 379, 243, 364, 51, 99, 419, 278, 295, 349, 219, 127, 389, 254, 263, 294, 315, 257, 443, 403, 76, 75, 73, 344, 74, 238, 6, 329, 296, 413, 194, 143, 146, 333, 438, 188, 261, 237, 336, 291, 151, 26, 139, 333, 444, 308, 131, 284, 340, 466 及びそれらの組み合わせからなる群より選択される。さらにより好ましくは、当該タンパクは、配列番号：344, 466 及びそれらの組み合わせからなる群より選択される。本明細書で用いられるとおり、配列番号：1~455の当該配列への言及は、各々個別の配列への言及を含む、つまり、例えば、配列番号：1、配列番号：2、配列番号：3、配列番号：4、配列番号：5、...、配列番号：450、配列番号：451、配列番号：452、配列番号：453、配列番号：454 及び配列番号：455 を意味することがさらに理解される。より好ましくは、当該免疫学的タンパク又はタンパクの組み合わせは、ウェスタンブロットにおいて回復期ブタ血清と反応する。本発明の他の実施態様において、当該免疫学的タンパクは、配列番号：456 若しくは配列番号：457 のどちらかにコードされるタンパク又は配列番号：1~455 及び 466 (例えば、“参照タンパク”) からなる群より選択されるタンパクと同様の機能を有する及び/又は同様の免疫応答を引き起こす。“配列番号：456 若しくは配列番号：457 のどちらかにコードされる参照タンパク又は配列番号：1~455 及び 466 からなる群より選択されるタンパクと同様の免疫応答を引き起こす”ことは、本明細書で用いられるとおり、当該免疫学的タンパクが標準化検出アッセイ、例えば ELISA において、当該対応する参照タンパクに関して検出される振幅 (amplitude) と比較して、同一条件下の当該検出アッセイで用いられる際に少なくとも 20 %、好ましくは 50 %、さらにより好ましくは 75 %、最も好ましくは 100 % の振幅で反応することを意味する。タンパクの組み合わせが 1 つのタンパクよりも大きな免疫応答を誘発し、それによってより大きな防御免疫を提供することがさらに理解される。

10

20

30

40

50

【0028】

本発明の他の実施態様は、上記に記載されるとおりのタンパク配列、そのホモログ若しくは免疫原性一部分又は前記の免疫原性一部分のホモログの少なくとも8個の連続するアミノ酸を有するアミノ酸配列を含む免疫原性タンパク又はワクチン組成物を提供する。さらにより好ましくは、必須の連続するアミノ酸を含む当該アミノ酸配列は、長さで8個までのアミノ酸、より好ましくは、長さで14個までのアミノ酸、さらにより好ましくは、長さで23個までのアミノ酸、さらにより好ましくは、長さで40個までのアミノ酸、さらにより好ましくは、少なくとも長さで70個までのアミノ酸、さらにより好ましくは、長さで100個までのアミノ酸、さらにより好ましくは、長さで200個までのアミノ酸、さらにより好ましくは、長さで300個までのアミノ酸である。好ましい形態において、本発明の免疫原性組成物又はワクチン組成物は、上記で説明されるとおり、獣医学的に許容されるキャリアをさらに含む。

10

【0029】

本発明の他の実施態様において、動物、好ましくはブタにローソニアイントラセルラリス由来の免疫学的タンパクを接種することによる当該動物にワクチン接種する方法が提供される。好ましくは、当該タンパクは上記に記載されるとおりのものである。

【0030】

本発明の他の実施態様において、当該ワクチンは、配列番号：1~455及び466のいずれか1つ、配列番号：456にコードされるタンパク、配列番号：457にコードされるタンパク、配列番号：1~455及び466のいずれか1つと同様の機能を有し同様の免疫応答を誘発するタンパク又はそれらのいずれの一部分、配列番号：456にコードされるタンパクと同様の機能を有し同様の免疫応答を誘発するタンパク、配列番号：457にコードされるタンパクと同様の機能を有し同様の免疫応答を誘発するタンパク、それらの免疫原性一部分、及びそれらの組み合わせからなる群より選択されるタンパクを含む。

20

【0031】

本発明の他の実施態様において、当該動物は、ローソニアイントラセルラリス由来の免疫学的タンパクをコードするDNAをベクターへ挿入することによって調製されるワクチンを当該動物に接種すること及び当該ベクターをいずれの従来の方法で投与することによってワクチン接種される。1つの好ましい投与方法は経口である。好ましくは、当該ベクターは細菌である。より好ましくは、当該ベクターはサルモネラである。好ましくは、当該タンパクはローソニアタンパクからなる群より選択される。より好ましくは、DNAにコードされる当該タンパクは、配列番号：1~455及び466、それらのホモログ、それらの免疫原性一部分、前記の免疫原性一部分のホモログ、配列番号：1~455及び466のいずれか1つと同様の機能を有し同様の免疫応答を誘発するタンパク、配列番号：457にコードされるタンパクと同様の機能を有し同様の免疫応答を誘発するタンパク及びそれらの組み合わせからなる群より選択される。より好ましくは、当該免疫学的タンパクは、配列番号：1~455及び466及びそれらの組み合わせからなる群より選択される配列と少なくとも85%、より好ましくは90%、さらにより好ましくは93%、さらにより好ましくは95%、さらにより好ましくは97%、さらにより好ましくは98%、さらにより好ましくは99%、さらに最も好ましくは100%の配列相同性を有するタンパクをコードするDNA配列にコードされる。あるいは、当該タンパクは、配列番号：456及び配列番号：457からなる群より選択される配列と少なくとも約85%、より好ましくは90%、さらにより好ましくは93%、さらにより好ましくは95%、さらにより好ましくは97%、さらにより好ましくは98%、さらにより好ましくは99%、さらに最も好ましくは100%の配列相同性を有するDNA配列又は配列番号：456及び配列番号：457の配列にコードされる当該タンパクの免疫原性一部分をコードするその一部分にコードされる。より好ましくは、当該タンパクは、細胞外ローソニアタンパク及び外膜ローソニアタンパクからなる群より選択される。さらにより好ましくは、当該タンパクは、配列番号：355, 11, 378, 50, 35, 231, 4, 328, 313, 27, 172, 275, 387, 134, 201, 256, 2, 12, 404, 388, 327, 306, 415, 343, 373, 214, 330, 316, 428, 190, 129, 320, 381, 9, 292, 158, 270, 336,

30

40

50

423, 211, 178, 430, 77, 186, 264, 140, 193, 192, 208, 183, 108, 109, 87, 253, 37
9, 243, 364, 51, 99, 419, 278, 295, 349, 219, 127, 389, 254, 263, 294, 315, 257
, 443, 403, 76, 75, 73, 344, 74, 238, 6, 329, 296, 413, 194, 143, 146, 333, 438,
188, 261, 237, 336, 291, 151, 26, 139, 333, 444, 308, 131, 284, 340, 466 及びそ
れらの組み合わせからなる群より選択される。さらにより好ましくは、当該タンパクは、
配列番号：344、466 及びそれらの組み合わせからなる群より選択される。より好ましく
は、当該免疫学的タンパク又はタンパクの組み合わせは、ウェスタンブロットにおいて回
復期ブタ血清と反応する。本発明の他の実施態様において、当該免疫学的タンパクは、配
列番号：456 若しくは配列番号：457 のどちらかにコードされるタンパク又は配列番号：
1~455 及び 466 からなる群より選択されるタンパク又はそれらの一部分、又は配列番号
：456 及び配列番号：457 の配列にコードされるタンパクの免疫原性一部分をコードする
ヌクレオチド配列又はそれらの一部分と同様の機能を有し同様の免疫応答を引き起こす。

10

【0032】

本発明の他の実施態様において、ローソニアイントラセルラリス由来の免疫学的タンパ
クをコードする当該DNAは、DNAワクチンを用いて好ましい宿主へ送達される。好ま
しくは、当該タンパクは、ローソニアタンパクからなる群より選択される。より好ましく
は、当該免疫学的タンパクは、配列番号：1~455 及び 466、それらのホモログ、それら
の免疫原性一部分、前記の免疫原性一部分のホモログ、配列番号：1~455 及び 466 のい
ずれか1つと同様の機能を有し同様の免疫応答を誘発するタンパク並びにそれらの組み合
わせからなる群より選択される配列と少なくとも85%、より好ましくは90%、さらにより
好ましくは93%、さらにより好ましくは95%、さらにより好ましくは97%、さらにより
好ましくは98%、さらにより好ましくは99%、さらにも最も好ましくは100%の配
列相同性を有するタンパクをコードするDNA配列にコードされる。あるいは、当該タン
パクは、配列番号：456 及び配列番号：457 からなる群より選択される配列と少なくとも
約85%、より好ましくは90%、さらにより好ましくは93%、さらにより好ましくは95
%、さらにより好ましくは97%、さらにより好ましくは98%、さらにより好ましくは9
9%、さらにも最も好ましくは100%の配列相同性を有するDNA配列、又は配列番号：45
6 及び配列番号：457 の配列にコードされる当該タンパクの免疫原性一部分をコードする
その一部分にコードされる。より好ましくは、当該タンパクは、細胞外ローソニアタンパ
ク及び外膜ローソニアタンパクからなる群より選択される。さらにより好ましくは、当該
タンパクは、配列番号：355, 11, 378, 50, 35, 231, 4, 328, 313, 27, 172, 275, 387
, 134, 201, 256, 2, 12, 404, 388, 327, 306, 415, 343, 373, 214, 330, 316, 428, 1
90, 129, 320, 381, 9, 292, 158, 270, 336, 423, 211, 178, 430, 77, 186, 264, 140,
193, 192, 208, 183, 108, 109, 87, 253, 379, 243, 364, 51, 99, 419, 278, 295, 34
9, 219, 127, 389, 254, 263, 294, 315, 257, 443, 403, 76, 75, 73, 344, 74, 238, 6
, 329, 296, 413, 194, 143, 146, 333, 438, 188, 261, 237, 336, 291, 151, 26, 139,
333, 444, 308, 131, 284, 340, 466 及びそれらの組み合わせからなる群より選択され
る。さらにより好ましくは、当該タンパクは、配列番号：344、466 及びそれらの組み合
わせからなる群より選択される。より好ましくは、当該免疫学的タンパクは又はタンパク
の組み合わせは、ウェスタンブロットにおいて回復期ブタ血清と反応する。本発明の他の
実施態様において、当該免疫学的タンパクは、配列番号：456 若しくは配列番号：457 の
どちらかにコードされるタンパク又は配列番号：1~455 及び 466 からなる群より選択さ
れるタンパクと同様の機能を有する及び/又は同様の免疫応答を引き起こす。

20

30

40

【0033】

本発明のさらに他の実施態様において、ローソニアイントラセルラリス由来の免疫学的
タンパクをコードする当該DNAは、原核生物系又は真核生物系で発現させて、次に精製
して当該好ましい宿主へ送達することができる。好ましくは、当該タンパクは、ローソニ
アタンパクからなる群より選択される。より好ましくは、当該免疫学的タンパクは、配列
番号：1~455 及び 466 及びそれらの組み合わせからなる群より選択される配列と少なく
とも85%、より好ましくは90%、さらにより好ましくは93%、さらにより好ましくは

50

95 %、さらにより好ましくは 97 %、さらにより好ましくは 98 %、さらにより好ましくは 99 %、さらに最も好ましくは 100 % の配列相同性を有するタンパクをコードする DNA 配列にコードされる。あるいは、当該タンパクは、配列番号：456 及び 配列番号：457 からなる群より選択される配列と少なくとも約 85 %、より好ましくは 90 %、さらにより好ましくは 93 %、さらにより好ましくは 95 %、さらにより好ましくは 97 %、さらにより好ましくは 98 %、さらにより好ましくは 99 %、さらに最も好ましくは 100 % の配列相同性を有する DNA 配列にコードされる。より好ましくは、当該タンパクは、細胞外ローソニアタンパク及び外膜ローソニアタンパクからなる群より選択される。さらにより好ましくは、当該タンパクは、配列番号：355, 11, 378, 50, 35, 231, 4, 328, 313, 27, 172, 275, 387, 134, 201, 256, 2, 12, 404, 388, 327, 306, 415, 343, 373, 214, 330, 316, 428, 190, 129, 320, 381, 9, 292, 158, 270, 336, 423, 211, 178, 430, 77, 186, 264, 140, 193, 192, 208, 183, 108, 109, 87, 253, 379, 243, 364, 51, 99, 419, 278, 295, 349, 219, 127, 389, 254, 263, 294, 315, 257, 443, 403, 76, 75, 73, 344, 74, 238, 6, 329, 296, 413, 194, 143, 146, 333, 438, 188, 261, 237, 336, 291, 151, 26, 139, 333, 444, 308, 131, 284, 340, 466 及びそれらの組み合わせからなる群より選択される。さらにより好ましくは、当該タンパクは、配列番号：344, 466 及びそれらの組み合わせからなる群より選択される。より好ましくは、当該免疫学的タンパク又はタンパクの組み合わせは、ウェスタンブロットにおいて回復期ブタ血清と反応する。本発明の他の実施態様において、当該免疫学的タンパクは、配列番号：456 若しくは配列番号：457 のどちらかにコードされるタンパク又は配列番号：1~455 及び 466 からなる群より選択されるタンパクと同様の機能を有する及び/又は同様の免疫応答を誘発する。

【0034】

さらに、例えば、IM注射、生分解性マイクロスフェア又は吸入のような当業界で知られる他のワクチン接種方法を、本発明に従う免疫学的タンパクの送達のために用いてもよい。

【発明を実施するための最良の形態】

【0035】

従って、本発明は、免疫学的タンパク又は免疫原性タンパク、好ましくは、

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 にコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記 1) のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列相同性、より好ましくは、少なくとも約 90 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 95 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 97 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 98 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 99 % の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記 1) 及び/又は 2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも 300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個、9個又は最も好ましくは 8 個の連続するアミノ酸を含む前記 3) の免疫原性一部分；及び/又は

5) 配列番号：1~455 又は配列番号：466 の配列を含むペプチドをコードする DNA によってコードされるポリペプチド；
の群より選択されるローソニアイントラセルラリスの免疫学的タンパク又は免疫原性タンパクに関する。

【0036】

本明細書に記載される当該免疫原性タンパクは、単離及び/又は精製によってローソニアイントラセルラリスから獲得することができる又は当該免疫原若しくはその一部分若し

くはそのエピトープをコードする核酸のインビトロ組み換え発現から獲得することができる。既知タンパクの単離及び/又は精製のための方法は、当業者によく知られる。さらに、既知配列のタンパクを組み換え的に発現するための種々の方法は、当業者に知られる。

【0037】

本発明のさらなる側面は、上記に記載される当該免疫学的タンパクの少なくとも1つをコードするヌクレオチド配列を含むDNA分子に関する。好ましくは、当該DNA分子は、

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記1)のポリペプチドと少なくとも85%の配列同一性、より好ましくは、少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約99%の配列同一性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記1)及び/又は2)のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；及び/又は

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個、9個又は最も好ましくは8個の連続するアミノ酸を含む前記3)の免疫原性一部分；
からなる群より選択される免疫学的タンパクを少なくとも1つコードするヌクレオチド配列を含む。

【0038】

本発明のさらなる他の実施態様において、ローソニアイントラセルラリス由来の免疫学的タンパクをコードするDNAが、原核生物系、真核生物系で発現され、次に精製されて好ましい宿主へ送達される。好ましくは、当該タンパクは、

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記1)のポリペプチドと少なくとも85%の配列同一性、より好ましくは、少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約99%の配列同一性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記1)及び/又は2)のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；及び/又は

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは9個の連続するアミノ酸を含む前記3)の免疫原性一部分；
からなる群より選択される。

【0039】

さらなる側面に従って、本発明はまた、本明細書に記載されるいずれのDNA分子を含むベクターに関する。好ましくは、当該DNA分子は、

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記 1) のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列相同性、より好ましくは、少なくとも約 90 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 95 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 97 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 98 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 99 % の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記 1) 及び/又は 2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；及び/又は

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも 300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは 9 個の連続するアミノ酸を含む前記 3) の免疫原性一部分；

からなる群より選択される免疫学的タンパクを少なくとも 1 つコードするヌクレオチド配列を含む。

【 0 0 4 0 】

発現用のベクター（又は組み換え体）の製造方法及び/又は使用法はとりわけ以下に開示される方法によって又は以下に開示される方法に類似したものによって行うことができる：米国特許：Nos. 4,603,112, 4,769,330, 5,174,993, 5,505,941, 5,338,683, 5,494,807, 4,722,848, 5,942,235, 5,364,773, 5,762,938, 5,770,212, 5,942,235, 382,425, PCT公開：WO 94/16716, WO 96/39491, WO 95/30018, Paoletti, "Applications of pox virus vectors to vaccination: An update," PNAS USA 93: 11349-11353, October 1996, Moss, "Genetically engineered poxviruses for recombinant gene expression, vaccination, and safety," PNAS USA 93: 11341-11348, October 1996, Smith et al., U. S. Patent No. 4,745,051, (組み換えバキュロウイルス), Richardson, C.D. (編集者), Methods in Molecular Biology 39, "Baculovirus Expression Protocols" (1995 Humana Press Inc.), Smith et al., "Production of Human Beta Interferon in Insect Cells Infected with a Baculovirus Expression Vector", Molecular and Cellular Biology, Dec., 1983, Vol. 3, No. 12, p. 2156-2165; Pennock et al., "Strong and Regulated Expression of Escherichia coli B-Galactosidase in Infect Cells with a Baculovirus vector," Molecular and Cellular Biology Mar. 1984, Vol. 4, No. 3, p. 399-406; EPA 0 370 573, 1986年10月16日に出願された米国出願 No. 920,197, 欧州特許公開 No. 265785, 米国特許 No. 4,769,331 (組み換えヘルペスウイルス), Roizman, "The function of herpes simplex virus genes: A primer for genetic engineering of novel vectors," PNAS USA 93:11307-11312, October 1996, Andreansky et al., "The application of genetically engineered herpes simplex viruses to the treatment of experimental brain tumors," PNAS USA 93: 11313-11318, October 1996, Robertson et al. "Epstein-Barr virus vectors for gene delivery to B lymphocytes", PNAS USA 93: 11334-11340, October 1996, Frolov et al., "Alphavirus-based expression vectors: Strategies and applications," PNAS USA 93: 11371-11377, October 1996, Kitson et al., J. Virol. 65,3068-3075,1991; 米国特許 Nos. 5,591,439, 5,552,143, WO 98/00166, 両方共に1996年7月3日に出願された許可された (allowed) 米国出願シリアル Nos. 08/675,556, 及び 08/675,566 (組み換えアデノウイルス), Grunhaus et al., 1992, "Adenovirus as cloning vectors," Seminars in Virology (Vol. 3) p. 237-52, 1993, Ballay et al. EMBO Journal, vol. 4, p. 3861-65, Graham, Tibtech 8,85-87, April, 1990, Prevec et al., J. Gen Virol. 70,42434, PCT WO 91/11525, Felgner et al. (1994), J. Biol. Chem. 269,2550-2561, Science, 259: 1745-49,1993 and McClements et al., "Immunization with DNA vaccines encoding glycoprotein D or glycoprotein B, alone or in combination, induces protective immunity in animal models of herpes simplex virus-2 disease", PNAS USA 93: 11414-11420, October 1996, 及び 米国特許 Nos. 5,591,639, 5,589,466, 及び 5,580,859 に加えて WO 90/11092, WO93/19183, WO94/21797, WO95/11307,

10

20

30

40

50

WO95/20660, Tang et al., Nature and Furth et al. Analytical Biochemistry (特に、DNA発現ベクターに関する)。さらにまた、WO 98/33510; Ju et al., Diabetologia, 41: 736-739, 1998 (レンチウイルス発現系); Sanford et al., 米国特許 No. 4,945,050; Fischbach et al. (イントラセル (Intracel)), WO 90/01543; Robinson et al., seminars in Immunology vol. 9, pp. 271-283 (1997), (DNAベクターシステム); Szoka et al., U. S. Patent No. (生細胞へDNAを挿入する方法); McCormick et al., 米国特許 No. 5,677,178 (細胞壊死性ウイルスの使用); 及び米国特許 No. 5,928,913 (遺伝子運搬用ベクター), さらに本明細書で引用される他の文献も参照のこと。DNAベクター (DNAプラスミド) だけでなく、例えば、オーエスキー病ウイルスのようなブタヘルペスウイルス、ブタアデノウイルス、ボックスウイルス、とりわけワクチニアウイルス、トリボックスウイルス (avipox virus)、カナリアボックスウイルス及びブタ痘ウイルスから選択されるウイルスベクターが、本発明の実施において有利に採用される。

10

【0041】

さらなる側面に従って、本発明は、ローソニアイントラセルラリス感染に関連する臨床症状の重症度を軽減するために有効な免疫学的組成物、好ましくはワクチン組成物に関する。好ましくは、当該免疫学的組成物は、本明細書に開示されるとおりの免疫学的タンパク、免疫学的タンパクをコードするDNA分子及び/又は免疫学的タンパクをコードするDNAを含むベクターを含む。好ましくは、前記免疫学的タンパクは：

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 にコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

20

2) 前記1) のポリペプチドと少なくとも85%の配列同一性、より好ましくは、少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約95%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約97%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約98%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約99%の配列同一性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記1) 及び/又は2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは9個の連続するアミノ酸を含む前記3) の免疫原性一部分；及び/又は

30

5) 配列番号：1~455 又は配列番号：466 の配列を含むペプチドをコードするDNAによってコードされるポリペプチド；
である。

【0042】

本発明の免疫原性組成物及びワクチン組成物は、希釈剤、等張剤、安定化剤及び/又はアジュバントを含むことができ、好ましくは、本明細書に開示されるものから選択される。

40

【0043】

従って、さらなる側面に従って、本発明は、本明細書に記載される免疫学的タンパク、免疫学的タンパクをコードするDNA分子及び/又は免疫学的タンパクをコードするDNAを含むベクター及び希釈剤、等張剤、安定化剤又はアジュバントを含む免疫学的組成物に関する。好ましくは、前記免疫学的タンパクは：

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 にコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記1) のポリペプチドと少なくとも85%の配列同一性、より好ましくは、少なくとも約90%の配列同一性、さらにより好ましくは、少なくとも約95%の配列同一性

50

、さらにより好ましくは、少なくとも約 97 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 98 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 99 % の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記 1) 及び/又は 2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも 300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは 9 個の連続するアミノ酸を含む前記 3) の免疫原性一部分；及び/又は

5) 配列番号：1~455 又は配列番号：466 の配列を含むペプチドをコードする DNA によってコードされるポリペプチド；
である。

【0044】

好ましくは、前記希釈剤、等張剤、安定化剤又はアジュバントは、上記に記載されるもののいずれの 1 つである。

【0045】

本発明の他の実施態様において、動物にローソニアイントラセルラリス由来の免疫学的タンパクを接種することによる、ローソニアイントラセルラリス感染に対する前記動物の予防方法又は治療方法が提供される。好ましくは、前記タンパク又は免疫学的組成物は、上記に記載されるもののいずれの 1 つである。好ましくは、前記免疫学的タンパクは：

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 にコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記 1) のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列相同性、より好ましくは、少なくとも約 90 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 95 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 97 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 98 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 99 % の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記 1) 及び/又は 2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも 300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは 9 個の連続するアミノ酸を含む前記 3) の免疫原性一部分；及び/又は

5) 配列番号：1~455 又は配列番号：466 の配列を含むペプチドをコードする DNA によってコードされるポリペプチド；
である。

【0046】

本発明の他の実施態様において、当該動物は、ローソニアイントラセルラリス由来の免疫学的タンパクをコードする DNA をベクターへ挿入することによって調製されるワクチンを当該動物に接種すること及び当該ベクターをいずれの従来の方法で投与することによってワクチン接種される。1 つの好ましい投与方法は経口である。好ましくは、当該ベクターは細菌である。より好ましくは、当該ベクターはサルモネラである。好ましくは、当該 DNA は、

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 にコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記 1) のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列相同性、より好ましくは、少な

10

20

30

40

50

くとも約 90 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 95 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 97 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 98 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 99 % の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記 1) 及び/又は 2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に含まれる少なくとも 300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは 9 個の連続するアミノ酸を含む前記 3) の免疫原性一部分；及び/又は

5) 配列番号：1~455 又は配列番号：466 の配列を含むペプチドをコードする DNA によってコードされるポリペプチド；

からなる群より選択されるタンパクをコードする。

【0047】

より好ましくは、当該免疫学的タンパク又は前記 DNA 分子にコードされるタンパクの組み合わせは、ウェスタンブロットにおいて回復期ブタ血清と反応する。

【0048】

本発明の他の実施態様において、ローソニアイントラセルラリス由来の免疫学的タンパクをコードする DNA 分子は、DNA 分子ワクチンを用いて好ましい宿主へ送達される。好ましくは、当該 DNA 分子は、宿主細胞へ入った際に、当該免疫学的タンパクを発現する。好ましくは、当該 DNA 分子にコードされる免疫学的タンパクは、

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記 1) のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列相同性、より好ましくは、少なくとも約 90 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 95 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 97 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 98 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 99 % の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記 1) 及び/又は 2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；及び/又は

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に含まれる少なくとも 300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは 9 個の連続するアミノ酸を含む前記 3) の免疫原性一部分；

からなる群より選択される。

【0049】

より好ましくは、当該免疫学的タンパク又はタンパクの組み合わせは、ウェスタンブロットにおいて回復期ブタ血清と反応する。

本明細書に記載されるとおり、本発明のワクチン組成物は、例えば、インターロイキン、インターフェロン又は他のサイトカインのような 1 つ以上の他の免疫調節剤をさらに含むことができる。当該ワクチン組成物はまた、ゲンタマイシン及びメルチオラート (Mertiolate) を含むこともできる。本発明との関連で有用なアジュバント及び添加剤の量及び濃度を当業者が容易に決定することができる一方で、本発明は、当該ワクチン組成物の投与量 1 mL あたり約 50 µg ~ 約 2000 µg のアジュバント、好ましくは当該ワクチン組成物の投与量 1 mL あたり約 250 µg のアジュバントを含む組成物を熟慮する。他の好ましい実施態様において、本発明は、約 1 µg/mL ~ 約 60 µg/mL の抗生物質及び/又は免疫調節剤、より好ましくは、約 30 µg/mL 未満の抗生物質及び/又は免疫調節剤を含む

10

20

30

40

50

ワクチン組成物を熟慮する。

【0050】

さらなる実施態様に従って、本発明に従うワクチン組成物は、第1に脱水することができる。当該組成物が第1に他の方法によって凍結乾燥される又は脱水される場合には、次に、ワクチン接種前に、前記組成物は水溶液（例えば、生理食塩水、PBS（リン酸緩衝食塩水））中又は非水溶液（例えば、オイルエマルジョン（ミネラルオイル、又は植物性の/代謝可能なオイルを基盤とする/シングル若しくはダブルのエマルジョンを基盤とする）、アルミニウムを基盤とするアジュバント、カルボマーを基盤とするアジュバント）中で再水和される。

【0051】

本発明に従うワクチン組成物又は免疫原性組成物は、筋肉内に、鼻腔内に、経口的に、皮内に、気管内に又は腔内に投与されてもよい。好ましくは、当該組成物は、筋肉内に、経口的に又は鼻腔内に投与される。動物の体内において、上記で記載されるとおりの当該組成物を静脈内注射によって又は標的組織中への直接的な注射によって適用することが有利になり得る。全身適用に関しては、静脈内経路、血管内経路、筋肉内経路、鼻腔内経路、動脈内経路、腹腔内経路、経口経路又は髄腔内経路が好ましい。より局所的な適用は、皮下に、皮内に、皮膚内に、心臓内に、局所内に（intralobally）、随内に（intramedullarily）、肺内に（intrapulmonarily）又は処理される組織（結合性組織、骨組織、筋肉組織、神経組織、上皮組織）の中又は近くで直接的にもたらされ得る。当該処理の好ましい持続時間及び有効性に応じて、本発明に従う当該組成物は、1回又は数回投与されてもよく、さらに断続的に投与されてもよく、例えば、数日、数週間又は数ヶ月の間に毎日基盤で投与されてもよく、さらに種々の投与量で投与されてもよい。

【0052】

本発明の他の側面は、本発明に従うタンパクを利用する診断/検出アッセイを提供する。好ましくは、当該診断/検出アッセイは、サンプル中の抗体の検出に関して特異的であり、ローソニアイントラセルラリスの抗原と特異的に反応する。好ましくは、当該診断/検出アッセイは、サンプル中の抗体の検出に関して特異的であり、それらの抗体は、ローソニアイントラセルラリス感染の原因で生成される。好ましくは、当該タンパクは、

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 にコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記1)のポリペプチドと少なくとも85%の配列相同性、より好ましくは、少なくとも約90%の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約95%の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約97%の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約98%の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約99%の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記1)及び/又は2)のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは9個の連続するアミノ酸を含む前記3)の免疫原性一部分；及び/又は

5) 配列番号：1~455 又は配列番号：466 の配列を含むペプチドをコードするDNAによってコードされるポリペプチド；

からなる群より選択される。

【0053】

当該タンパクは、ELISAを基盤とする試験で用いることができる。当該タンパクはまた、動物（例えば、ウサギ）へ注射して抗体又は抗原を検出するために有用な抗血清を作成することができる。当該アッセイは、ローソニア感染を確認する又は除外するのに有用で

ある。

【0054】

好ましくは、当該検出アッセイ、好ましくは、ELISAを基盤とする試験は、

1) ローソニアイントラセルラリス細菌に対する抗体を含むサンプルを本明細書に記載されるとおりのローソニアの免疫原性タンパクと接触させること；

2) ローソニアの当該免疫原性タンパクが当該サンプルのローソニア特異的抗体へ結合することを可能にしかつローソニア特異的抗体及び当該免疫原性タンパクの複合体を生成することを可能にする条件下で前記1)の混合物をインキュベートすること；及び、

3) 前記2)の複合体の存在を検出すること；

を含む。

10

【0055】

本発明の他の側面は、

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 にコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記1)のポリペプチドと少なくとも85%の配列相同性、より好ましくは、少なくとも約90%の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約95%の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約97%の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約98%の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約99%の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；

20

3) 前記1)及び/又は2)のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは9個の連続するアミノ酸を含む前記3)の免疫原性一部分；及び/又は

5) 配列番号：1~455 又は配列番号：466 の配列を含むペプチドをコードするDNAによってコードされるポリペプチド；

からなる群より選択されるタンパクを含む部分キット(kit in parts)に関係する。

30

【0056】

好ましくは、当該部分キットは、サンプル中の抗体の検出のための検出キットであり、ローソニアイントラセルラリスの抗原と特異的に反応する。好ましくは、当該検出キットは、サンプル中の抗体の検出に関して特異的であり、それらの抗体はローソニアイントラセルラリス感染の原因で生成される。

【0057】

本発明の他の側面は、本発明の目的のために有用なタンパクを発現するための発現系を提供する。当業者は、当該発現系に精通している。この関連で好ましい発現系は、E. Coli又は組み換え型バキュロウイルスを利用して組み換え型タンパクを発現する又は生成する。好ましくは、当該E. Coli又はバキュロウイルスは、上記に記載されるとおりのタンパクをコードしE. Coli又はバキュロウイルスの中に挿入される塩基配列を有する。発現系の当該例が模範的な様式で上記に記載されることが理解される。

40

【0058】

本発明の他の側面において、融合タンパク及びキメラが提供される。好ましくは、存在する又は発現される当該融合タンパク又はキメラは、

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 にコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記1)のポリペプチドと少なくとも85%の配列相同性、より好ましくは、少なくとも約90%の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約95%の配列相同性

50

、さらにより好ましくは、少なくとも約 97 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 98 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 99 % の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記 1) 及び/又は 2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも 300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは 9 個の連続するアミノ酸を含む前記 3) の免疫原性一部分；及び/又は

5) 配列番号：1~455 又は配列番号：466 の配列を含むペプチドをコードする DNA によってコードされるポリペプチド；

のいずれの 1 つを含む。

【0059】

(好ましい実施態様の詳細な説明)

以下の実施例は、本発明に従う好ましい材料及び方法を説明する。しかしながら、これらの実施例が例証のみを目的として提供され、その中のいずれも本発明の全体の範囲を限定するものとみなされるべきではないことが理解されるべきである。

【実施例】

【0060】

(実施例 1)

本実施例は、原核生物融合タンパクとして発現されるローソニアイントラセルラリスDK15540ヘモリシン A (HlyA) タンパク及びOmp85タンパクの免疫学的検出を実証する。

材料及び方法

(E. Coli 菌株のトランスフォーメーション)

初めに、ローソニアイントラセルラリス (“ローソニア”) 細胞ペレットから McCoy 細胞 DNA を取り除いた。これは、初めに McCoy 細胞懸濁培養中でローソニアの DK15540 菌株を増殖させることによって行った。ローソニアが感染した McCoy 細胞を次に、JA-17 ローター (Beckman Coulter, Fullerton, CA) を用いて 4、10,000 rpm で 30 分間遠心分離することによってペレット化した。当該上清を除去し、当該ペレット化された細胞を次に、2 つのシリンジを用いる 22G のダブルハブ (double-hub) の乳化針を繰り返し通過させることによってバラバラにした。当該バラバラにした細胞混合物を次に、35 mL の Percoll/N a C l 溶液と混合した。結果として得られた溶液を次に、4、14,000 rpm で 45 分間遠心分離した。遠心分離後、デブリ (debris) の上層をピペットで除去し、細菌バンドを回収した。当該細菌バンドを次に、14,000 rpm で 15 分間遠心分離した。結果として得られたローソニアペレットを次に、35 mL の PBS 中に当該ペレットを再懸濁することによって 3 回洗浄した。結果として得られた懸濁液を次に、14,000 rpm で 15 分間遠心分離した。上清を廃棄し、当該ペレットを 3 mL の PBS 中に再懸濁した。次に、30 μ L の 1 M M g S O₄ 及び 30 μ L の DNase A を当該懸濁液に加えた。結果として得られた混合物を次に、37 で 2 時間インキュベートした。当該混合物を次に、Percoll/N a C l で 35 mL まで希釈し、上記のとおり (4、14,000 rpm で 15 分間) 遠心分離した。結果として得られたペレットを PBS 中で 3 回洗浄し、次に 4 で一晩保管した。

【0061】

ローソニア細胞ペレットからゲノム DNA を抽出するために、一晩の保管の後に、当該ペレットを Qiagen ゲノム DNA キット (Qiagen, Valencia, CA) の 3.5 mL のバッファ B 1 中に再懸濁した。次に、10 μ L の RNase A (5 μ g/ μ L)、80 μ L の リゾチーム溶液 (100 mg/mL) 及び 100 μ L の プロテイナーゼ K (20 mg/mL)。結果として得られた混合物を 37 で 1 時間インキュベートし、Qiagen ゲノム DNA キットの 1.2 mL のバッファ B 2 をそれに加えた。結果として得られた溶液を次に、転置によって穏やかに混合した。混合に続いて、当該溶液を次に、50 で 30 分間インキュベートした。当該溶液をインキ

10

20

30

40

50

ユベートしている間、ゲノムチップ (genomic-tip) 500G (QiagenゲノムDNAキットから) を 10 mL のQBTバッファーで平衡化した。インキュベーション後、結果として得られた溶液を最高速度 (14,000 rpm) で10秒間ボルテックスして、平衡化しておいたチップへ注いだ。全ての溶液を当該チップに入れた後、30 mL のバッファーQCで2回洗浄し、DNAを 15 mL のバッファーQFで溶出した。溶出されたDNAへ 10.5 mL のイソプロパノールを加え、当該チューブを次に、穏やかな転置によって混合した。結果として得られた混合物を次に、別々の 1.5 mL のマイクロチューブへ分注し、14,000 rpm で15分間遠心分離した。結果として得られた上清を次にデカントして、当該ペレットを 0.5 mL の 70 % エタノールですすいだ。当該チューブ遠心分離して、上清を再びデカントし、当該ペレットを短時間乾燥した。12.5 μ L のTEバッファーを次に、各々のチューブへ加えた。当該チューブを次に、37 で穏やかに振盪しながら一晩インキュベートした。当該溶液を次に1つのチューブへプールし、55 で2時間インキュベートし、次に、UV分光法によって定量化した。

10

【0062】

次に、PCRをローソニア遺伝子で行い、次にBLAST検索データを含むゲノム配列解析を用いて興味の対象となる2つの遺伝子：Omp85 (配列番号：456) 及びHlyA (配列番号：457) を同定した。結果として得られたDNA配列データを用いて各々の遺伝子に関する潜在的なオープンリーディングフレーム (“ORFs”) を特定し、各々個別のプライマーの5'末端へ付加された付加的なライゲーション非依存性クローニング (“LIC”) オーバーハングを有する好ましい遺伝子の5'末端及び3'末端に対応するPCRプライマーを設計した (各々、pET-32Xa/LIC へのLIMOP85プライマー用に 配列番号：458 GGTATTGAGG GTCGCATGACAAAACGCCTGAATATATT 及び配列番号：459 AGAGGAGAGTTAGAGCCTTATTAGAAGAATTG CCCCA 並びに pET-32Xa.LIC ベクターのヘモリシンプライマー用に 配列番号：460 GGTA TTGAGGGTTCGCATGGCCAAACATAAAGTACGTGC 及び配列番号：461 AGAGGAGAGTTAGAGCCTTATTAACG TTTTTTCAAGTAAA)。これらのプライマーの各々に関して、下線部分は、LICプロセスに必要とされるプライマー特異的配列を表す。これらの配列をまた本明細書において、それぞれ、配列番号：462、463、464及び465としても提供する。PCRを次に、ローソニアDK15540ゲノムDNAをテンプレートとして行った。

20

【0063】

HlyAのPCRサイクルに関して、当該PCR反応物を、95 まで5分間加熱した。当該反応を次に、95 で1分間、55 で1分間及び72 で1分間の35サイクルまで続けた。72 で10分間の最終サイクルに続いて、PCRサイクルを完結させた。

30

Omp85のPCRサイクルに関して、当該PCR反応物を、95 まで5分間加熱した。当該反応を次に、95 で1分間、55 で1分間及び72 で1.83分間の35サイクルまで続けた。72 で10分間の最終サイクルに続いて、PCRサイクルを完結させた。

両方のPCRサイクルに関して、当該反応混合物は、1 μ L のDNA、5 μ L のExTaq バッファー、4 μ L の 2.5 mM dNTP、1 μ L の 10pm プライマーL、1 μ L の 10pm プライマーR、0.5 μ L のEqTaq 及び 38.5 μ L の蒸留水を含んでいた。ExTaqバッファー、dNTP及びExTaqは、Takara Bio, Inc. (日本) から提供された。

【0064】

40

発現解析のためのローソニアDK15540ヘモリシン及びOmp85 ORFをクローン化するために、結果として得られたPCR産物を次に、Qiagen MiniElute Gel Purificationキットを用いてゲル精製し、pET-32Xa LIC プラスミドと混合して、製造業者の説明書 (Novagen, Madison, WI) に従いライゲーションした。当該ライゲーション混合物を用いてNovaBlue (登録商標) E. coli (Novagen) のコンピテント細胞をトランスフォームし、アンピシリン耐性プレートに蒔いた。トランスフォームしたコロニーを用いて3mLのLBプロス及びアンピシリンに接種し、37 で一晩培養した。次に、当該一晩培養物の 1.5 mL の一定量を、14,000 \times g で2分間の遠心分離によって回収した。当該プラスミドDNAを次に、Qiagen Mini-Prepプラスミドキットによって抽出した。精製したプラスミドDNAを次に、デオキシヌクレオチドシーケンシングによって確認した。それぞれのプラスミドを

50

次に、原核生物の融合タンパク発現研究用にE. ColiのBL21 (DE3) 菌株にトランスフォームした。

【0065】

(発現解析)

トランスフォームしたE. Coliの発現解析を行うために、E. Coliのトランスフォームした各々の菌株(1つの菌株はヘモリシンAを生成し、1つの菌株はOmp85を生成する)の10 mLを、コニカルチューブ中の2% グルコースw/v及びアンピシリン(50 µg/mL)を含むLB培地中で、37 °Cにおいて225rpmで振盪しながら一晩インキュベートした。翌朝、これらの2つの培養物を用いて、コニカルチューブ中の2% グルコース及びアンピシリン(50 µg/mL)を含むLB培地の2つの別個の10 mLの温めておいた培養液に、37 °Cにおいて225rpmで振盪しながら接種した。当該培養物を次に、37 °Cで約0.8~約1.0のOD600nmまで増殖させた。これには約3時間~4時間かかった。各々の菌株の1つのチューブに次に、1mMのイソプロピル-beta-D-チオガラクトピラノシド(IPTG)で37 °Cにおいて3時間誘導させた。各々の菌株の2つ目のチューブは、非誘導のままにしておいた。

10

【0066】

次に、各々の培養物の2つの1mLのサンプルを採取し、次に20,000 × gで1分間の遠心分離によってペレット化した。これにより、各々の菌株に関して2つの非誘導サンプルと2つの誘導性サンプルを作成した。各々のサンプルの1つ(つまり、各々の菌株の1つの非誘導サンプルと1つの誘導サンプル)を次に、10 mMの2-MEを含む400 µLの1 × SDS-Pageバッファー中に懸濁した。当該懸濁液を次に、85 °Cまで5分間加熱した。次に、残りのサンプル(つまり、各々の菌株の1つの誘導サンプルと1つの非誘導サンプル)を、50 mM リン酸ナトリウム、0.5 M NaCl、5 mM 2-ME 及び1% テルギトールの200 µL中に懸濁した。当該サンプルの全てを次に、75%の振幅で0.5秒間の負荷サイクルを用いて4分間超音波処理した。テルギトールを含むバッファー中に懸濁した当該サンプルを20,000 × gで5分間遠心分離して、次に、ペレットを廃棄する一方で、上清を採取した。

20

【0067】

一度このように調製したら、次に、当該サンプルの各々のウェスタンブロット解析を行った。結果として得られたゲルは、図1として見ることができる。

当該ゲル中に見ることができるとおり、HlyAタンパク発現は、総細胞タンパクの約20%~約30%に達する。しかしながら、Omp85様タンパクは同様には発現しなかった。さらに、両方のタンパクは共に総タンパクの誘導されたサンプルレーンでのみ観察され、その結果、これらのタンパクは1% テルギトールバッファーに可溶性でないことが示唆された。

30

【0068】

(実施例2)

本実施例は、E. Coli細胞において発現されるヘモリシンAローソニアタンパク及びOmp85ローソニアタンパクの精製を実証する。

材料及び方法

E. Coliの各々のトランスフォームした菌株の10 mLを、LB、2%のグルコース及び50 µg/mLのアンピシリンの培地中で一晩増殖させた。翌朝、当該一晩培養物を用いて1Lの温めておいたLB、グルコース及びアンピシリンのプロスに接種した。これらの培養物を、それらが約0.8~約1.0のOD600nmに達するまで37 °Cで約3時間~4時間増殖させた。次に、当該培養物に0.5 mMのIPTGで各々誘導した。誘導後、当該細胞を採取し、20,000 × gで20分間の遠心分離によってペレット化した。当該ペレットを次に、50 mMのリン酸ナトリウム、0.5 Mの塩化ナトリウム、8 Mの尿素、5 mMの2-ME及び10 mMのイミダゾールを含む33 mLのバッファー中に懸濁させた。結果として得られた懸濁液を次に一晩抽出して細胞を破壊し、タンパクを変性させ、それによって4 °Cにおける溶解性を増加させた。抽出したサンプルを次に、20,000 × gで20分間遠心分離した。次に、結果として得られた上清を採取し、0.2 µmのシリンジフィルターを用いて濾過した。次に、各々のサンプルの16 mLをサンプルループ上にロードし、固定化金属アフィニティー

40

50

クロマトグラフィーIMACを用いて部分精製を行った。精製の後、当該フラクションを採取し、標準的なSDS-PAGEを行った（MOPSバッファ中の4%～12%のBis-Trisゲル）。当該ゲルのランニングの後、クーマシーブルー染色を行った。

【0069】

結果及び考察

結果として得られたゲルは、図2として見る事ができる。見る事ができるとおり、1L培養物での発現はあまり良くなかった。しかしながら、乏しい発現産生量にもかかわらず、遅いグラジエントの溶離液ピークのレーン7～12においていくらかの約48kDaのタンパクが存在するようである。さらに、レーン9～12において高分子量タンパクのはっきりしたバンドパターンが存在するように見える。

【0070】

（実施例3）

本実施例は、Omp85様総タンパク及びヘモリシンA総タンパクの免疫学的検出を実証する。

材料及び方法

Omp85様タンパク、HlyAタンパク及びIMACフラクションA12タンパクを、3つのウェスタンプロットで使用した。第1のプロットは、前もってIFAT及びELISAによってローソニア感染に関してネガティブであることを検査しておいた9週齢のブタから回収した回復期ブタ血清から獲得したローソニアELISA抗体（“完全なコントロール”）で達成した。当該抗体は、TTBS+2%粉ミルクで1:50に希釈した。第2のプロットは、TTBS+2%粉ミルクで1:50に希釈したブタ抗ローソニア回復期血清で達成した。第3のプロットは、TTBS+2%粉ミルクで1:1000に希釈したヤギ抗ブタHRP（goat anti-swine HRP）（KPL, Inc., Gaithersburg, Maryland）を用いて達成した抱合体のみのプロットであった。

【0071】

初めに、当該タンパクを、SDS-PAGEゲル（MOPSバッファ中の10%Bis/Tris）を通してランさせた。次に、当該タンパクを、Novexプロットモジュール（Invitrogen）を用いて30Vの一定電圧で1時間ゲルからPVDF膜へ転写した。次に、当該タンパクを、50mL TTBS+2%粉ミルク（w/v）で少なくとも1時間ブロッキングした。次に、当該膜を、上記に記載される抗体と共にインキュベートした。次に、当該膜をTTBS（1×TBS+0.05%Tween20）で3回洗浄し、各々の洗浄は約2分間続けた。次に、当該膜を、TTBS+2%粉ミルクで1:1000に希釈した二次抗体（ヤギ抗ブタHRP（goat anti-swine HRP）、KPL）と共に各々1時間インキュベートした。インキュベーション後、当該膜をTTBSで2回洗浄し、各々の洗浄は約2分間続けた。次に、当該膜を、PBSで約2分間1回洗浄した。洗浄後、10mLのOpti-4CN（Bio-Rad, Hercules, CA）を基質として加えた。次に、当該膜を最大で30分間まで現像し、次に水ですすいで停止させた。

【0072】

結果及び考察

図3は、先の実施例のIMACフラクションA12から部分精製したHlyAタンパクに加えて総HlyAタンパクサンプル及び総Omp85様タンパクのクーマシー染色したゲル写真を示す。当該抱合体のみのプロットからの結果を図4Aに提供する；ブタ抗ローソニアプロットの結果は、図4Bとして見る事ができる；さらにネガティブコントロールプロットの結果は、図4Cとして見る事ができる。ほんの少しのバンドが当該抱合体のみのプロットで観察された。ブタ血清中の抗体のE. Coliタンパクへのバックグラウンドの反応性がいくらか存在した。HlyAタンパク及びOmp85様タンパクの反応性は、完全なコントロールとは対照的に、ブタ回復期血清においてよりもはるかに強いものであった。当該回復期血清はまた、HlyAサンプル中のユニークな高分子量バンドと反応した。HlyAバンド及びOmp85様バンドは完全なコントロールウェスタンプロットにおいて観察することができるが、それらは強くはない。このデータに基づいて、ローソニアでのブタの感染/チャレンジが結果としてHlyAタンパク及びOmp85様タンパクに対する抗体の産生をもたらすように見え、これらがワクチン用の有用なタンパクであり得ることを示唆する。

【 0 0 7 3 】

(実施例 4)

本実施例は、ワクチンの配合物を記載する。概して、

1) 配列番号：1~455、配列番号：466 又は配列番号：456、配列番号：457 若しくは配列番号：466 にコードされるポリペプチドからなる群より選択される配列を含むポリペプチド；

2) 前記 1) のポリペプチドと少なくとも 85 % の配列相同性、より好ましくは、少なくとも約 90 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 95 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 97 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 98 % の配列相同性、さらにより好ましくは、少なくとも約 99 % の配列相同性を有するいずれのポリペプチド；

3) 前記 1) 及び/又は 2) のポリペプチドのいずれの免疫原性一部分；

4) 配列番号：1~455、配列番号：456 又は配列番号：457 若しくは配列番号：466 によってコードされるアミノ酸配列の配列群に包含される少なくとも 300個、290個、280個、270個、260個、250個、240個、230個、220個、210個、200個、190個、180個、170個、160個、150個、140個、130個、120個、110個、100個、90個、80個、70個、60個、50個、45個、40個、35個、30個、25個、20個、18個、15個、13個、10個又は最も好ましくは 9 個の連続するアミノ酸を含む前記 3) の免疫原性一部分；及び/又は

5) 配列番号：1~455 又は配列番号：466 の配列を含むペプチドをコードする DNA によってコードされるポリペプチド；

からなる群より選択されるタンパクのいずれの 1 つ又は組み合わせが、ワクチンの免疫原性一部分としての使用のために提供される。

【 0 0 7 4 】

アジュバント、希釈剤などのような獣医学的に許容されるキャリアを当該ワクチンに加えることができ、当該ワクチンをいずれの従来の様式で投与することもできる。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 7 5 】

【図 1】図 1 は、Omp85様タンパクの発現を示すクーマシー染色ゲルの写真である。

【図 2】図 2 は、E. Coli (pET HlyA) のIMACフラクションの写真である。

【図 3】図 3 は、HlyA及びOmp85様タンパクのゲル写真である。

【図 4】図 4 の A - C は、本発明のHlyAタンパク及びOmp85様タンパクに対する反応性を示すウェスタンブロットの写真である。

【図 5】図 5 は、456個のローソニアタンパクに関する相同性データを示すBLAST検索の結果を提供する。

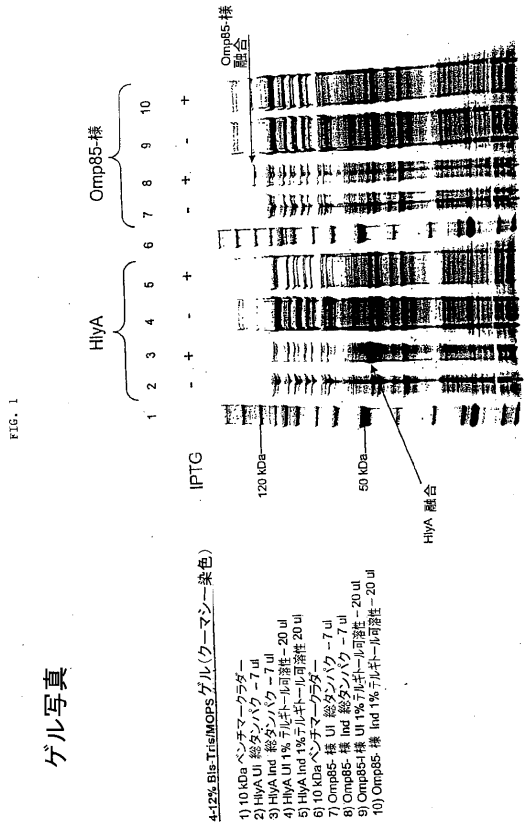
【図 6】図 6 は、456個のローソニアタンパクの一覧表であり、初めの 6 個のタンパクは当該タンパクの名称が前に付き、それぞれ配列番号：1~6であり、残りの450個のタンパクはそれらの対応する配列番号が前に付く。

10

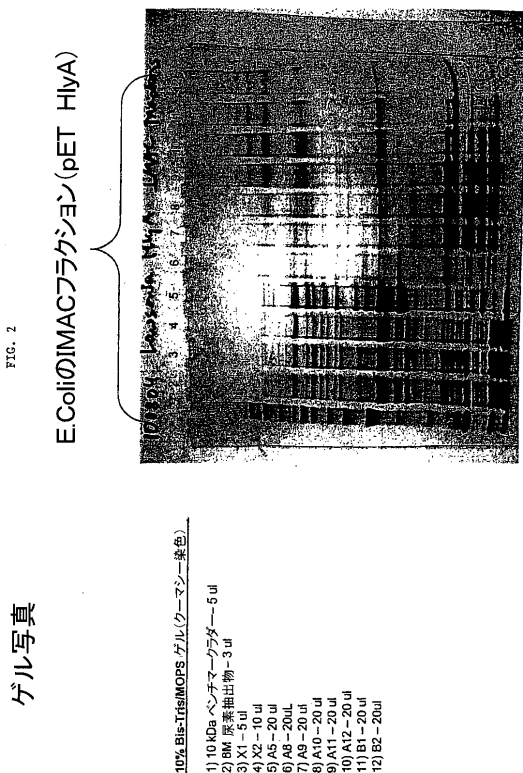
20

30

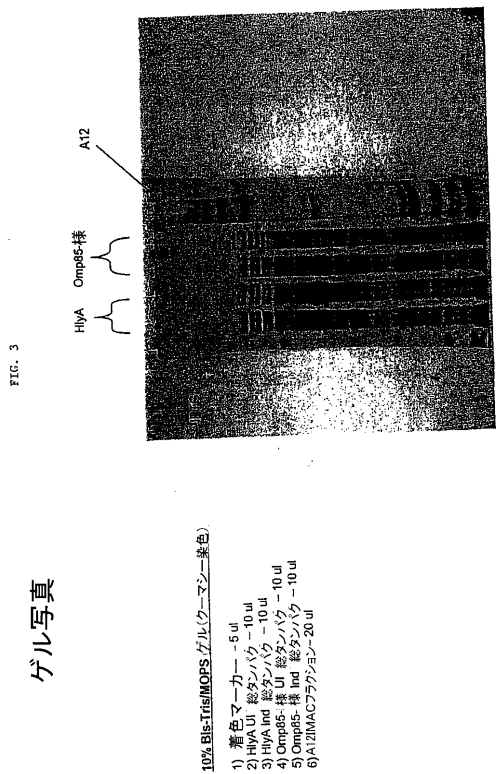
【 図 1 】



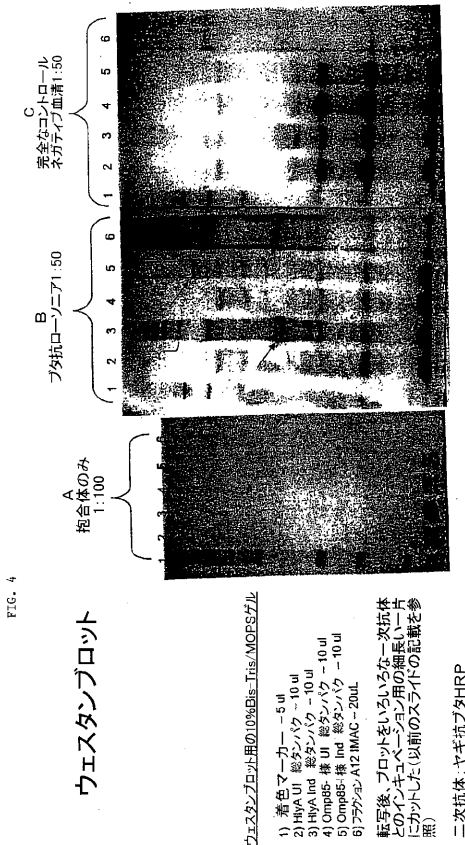
【 図 2 】



【 図 3 】



【 図 4 】



【 図 5 】

名称	識別子データベーススコアE値	説明	有機体
334	QZ2ER1	swiss 924 0 IF2_DESVH Translation initiation factor IF-2, beta chain (EC 6.1.1.20) (PheA) (PheRS)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
307	QZ2AL6	swiss 906 0 CH80_DESVH 60 kDa chaperonin (Protein Chn80) (groEL protein).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
282	P5287Z	swiss 818 0 LON_CAUCR ATP-dependent protease La (EC C) (Caubacter crescentus).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
304	Q82L57	swiss 821 0 SECA_HELPU Peptidase translocase secA subunit.	Helicobacter pylori J99 (Campylobacter pylori J99).
374	QZ2AR5	swiss 633 0 SVL_DESVH Isolation of RNA synthetase. Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
188	QZ2BS0	swiss 759 0 SVL_DESVH Phenylalanine-tRNA synthetase. Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
375	QZ2EH1	swiss 737 0 SAPHI_DESVH Adenosylhomocysteinase (EC 3.3.1.1) (S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase) (AdcHase).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
274	P56480	swiss 659 0 ATPB_MOUSE ATP synthase beta chain, mitochondrial precursor (EC 3.6.3.14).	Mus musculus (Mouse).
107	Q68460	swiss 914 0 HPPA_RHORT Pyrophosphatase-energized proton pump (EC 3.6.1.1) (Pyrophosphate-energized inorganic pyrophosphatase) (H-PPase) (Membrane-bound proton-translocating pyrophosphatase).	Rhodospirillum rubrum (strain ATCC 11170) / NCIB 8255.
422	QZ2E76	swiss 777 0 LEPA_DESVH GTP-binding protein lepA.	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.

Fig. 5

説明

有機体

【 図 5 - 2 】

名称	識別子データベーススコアE値	説明	有機体
70	P21210	swiss 700 0 LCRD_YEREN Low calcium response locus (beta-D).	Yersinia enterocolitica.
162	QZ2CT0	swiss 633 0 GLVA_DESVH Serine hydroxymethyltransferase (EC 2.1.2.1) (Serine methylase) (SHMT).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
135	P26184	swiss 621 0 EFTU_FILES Elongation factor Tu (EF-Tu).	Flavobacterium meningosepticum.
222	QZ25C6	swiss 565 0 RPOC_DESVH DNA-directed RNA polymerase beta' chain (EC 2.7.7.6) (RNAP beta' subunit) (Transcriptase beta' chain) (RNA polymerase beta' subunit).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
217	Q52236	swiss 583 0 MFD_MYXXA Transcription repair coupling factor (EC 3.6.1.1) (TRCF) (ATP-dependent helicase mfd).	Mycococcus xanthus.
43	QZ2BL6	swiss 577 0 GPMI_DESVH 2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate kinase (EC 2.7.1.1) (Phosphoglycerate kinase) (BPG-independent PGAM) (PGAM).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
17	QZ2BD3	swiss 576 0 MURA_DESVH UDP-N-acetylglucosamine 1-carboxymethyltransferase (EC 2.6.1.7) (UDP-N-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase) (EPT).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
109	QZ2BK4	swiss 577 0 TOLB_DESVH Protein tolB precursor.	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
223	QZ2C7	swiss 565 0 RPOB_DESVH DNA-directed RNA polymerase beta chain (EC 2.7.7.6) (RNAP beta subunit) (Transcriptase beta chain) (RNA polymerase beta subunit).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
317	QZ2EH6	swiss 582 0 SVS_DESVH Serine-tRNA synthetase (EC 6.1.1.11) (Serine-tRNA ligase) (SerRS).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
431	P0A3B4	swiss 560 0 TYPA_SHIFL GTP binding protein (p)AtpA (gamma phosphate) (TyrA) (pAtpA). Stigella flexneri.	Stigella flexneri.

説明

有機体

【 図 5 - 1 】

名称	識別子データベーススコアE値	説明	有機体
224	QZ2ZC7	swiss 1575 0 RPOB_DESVH DNA-directed RNA polymerase beta chain (EC 2.7.7.6) (RNAP beta subunit) (Transcriptase beta chain) (RNA polymerase beta subunit).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
288	P4512Z	swiss 659 0 Y1252_HAEIN ABC transporter ATP-binding protein HI252.	Haemophilus influenzae.
113	QZ2DX8	swiss 696 0 UVRC_DESVH UvrABC system protein C (protein UVC) (Excinuclease ABC subunit C).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
167	QZ2MD4	swiss 738 0 TKT2_VIBVY Transketolase 2 (EC 2.2.1.1) (TKVibrio vulnificus (strain YJ016)).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
145	QZ2C13	swiss 690 0 EFG_DESVH Elongation factor G (EF-G).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
165	QZ2BN0	swiss 1072 0 UVBR_DESVH UvrABC system protein B (protein UvB) (Excinuclease ABC subunit B).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
262	P0A3C9	swiss 833 0 MSHL_SHIFL Hydrogenase-1 large chain (EC 3.1.2.6) (NiFe hydrogenase) (Membrane-bound hydrogenase 1 large subunit) (HYD1).	Stigella flexneri.
392	P61686	swiss 829 0 MUTS_DESVH DNA mismatch repair protein mutS.	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
221	Q30X04	swiss 835 0 RPOC_DESDG DNA-directed RNA polymerase beta' chain (EC 2.7.7.6) (RNAP beta' subunit) (Transcriptase beta' chain) (RNA polymerase beta' subunit).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
77	GTP pyrophosphokinase	swiss 635 0 RELA_MYXXA GTP pyrophosphokinase (EC 2.7.6.5) (ATP-GTP 3-pyrophosphotransferase) (ppGpp synthetase 1) ((P)ppGpp synthetase).	Mycococcus xanthus.
98	Q8Z6S5	swiss 800 0 RIR1_CHILPN Ribonucleoside-diphosphate reductase alpha subunit (EC 1.17.4.1) (Ribonucleotide reductase).	Chlamydia pneumoniae (Chlamydia pneumoniae).

説明

有機体

【 図 5 - 3 】

名称	識別子データベーススコアE値	説明	有機体
409	P69912	swiss 568 0 DCEB_SHIFL Glutamate decarboxylase beta chain (EC 4.1.1.15) (GAD-beta).	Stigella flexneri.
372	P0A395	swiss 555 0 RHO_SALTY Transcription termination factor rho (EC 3.6.1.1) (ATP-dependent helicase rho).	Saimonella typhimurium.
300	QZ28C1	swiss 549 0 SYE_DESVH Glutamy-tRNA synthetase (EC 6.1.1.17) (Glutamate-tRNA ligase) (GluRS).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
49	QZ2B11	swiss 548 0 GIDA_DESVH tRNA uridine 5-carboxymethylamino methyl modification enzyme gidA (Glucose-inhibited division protein A).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
174	Q87F61	swiss 548 0 PYRG_CLOAB CTP synthase (EC 6.3.4.2) (UTP-ammonia ligase) (CTP synthetase).	Clostridium acetobutylicum.
128	QZ2CF4	swiss 537 0 RPOA_DESVH DNA-directed RNA polymerase alpha chain (EC 2.7.7.6) (RNAP alpha subunit) (Transcriptase alpha chain) (RNA polymerase alpha subunit).	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
276	Q59988	swiss 537 0 ATZN_SYNY3 Zinc-translocating ATPase (EC 3.6.3.5) (Zn(2+)-translocating P-type ATPase).	Synechocystis sp. (strain PCC 6803).
261	P68739	swiss 532 0 MBHS_ECOLI Hydrogenase-1 small chain precursor (EC 1.12.99.6) (NiFe hydrogenase) (Membrane-bound hydrogenase 1 small subunit) (HYD1).	Escherichia coli.
88	P59341	swiss 531 0 ATCU1_RHIME Copper-transporting ATPase 1 (Sinorhizobium meliloti) (EC 3.6.3.4).	Sinorhizobium meliloti.
390	Q56588	swiss 528 0 GMAD2_VIBCH Probable GDP-mannose 4,6-dehydratase (EC 4.2.1.47) (GDP-D-mannose dehydratase).	Vibrio cholerae.

説明

有機体

【 図 5 - 4 】

有機体

説明

名称 識別子 データベーススコア E値

210	Q880U2	swiss	523	0	GLM_CLOTE Glucosamine-fructose 6-phosphate aminotransferase [aspartate] (EC 2.6.1.16) (Hexosephosphate aminotransferase) (D-fructose 6-phosphate amidotransferase) (GFAT) (L-glutamine-D-fructose 6-phosphate amidotransferase) (Glucosamine-6-phosphate synthase)	Clostridium tetani.
368	P616Z2	swiss	523	0	ASSY_DESVH Argininosuccinate synthase (EC 2.3.1.15) (Chitinase-separate ligase)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
252	Q728U5	swiss	523	0	MRAT_DESVH Phosphoenolpyruvate permease-transferrase (EC 2.7.18.13) (UDP-MurNAc-pentapeptide phosphotransferase)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
312	Q31755	swiss	525	0	SYR_BACSU Prokaryotic RNA synthetase (EC 6.1.1.15) (Proline-RNA ligase) [ProRS]	Bacillus subtilis.
279	Q8EAS7	swiss	520	0	Y1572_THETN UDPFD4 protein T1E1372.	Thermotoga maritima.
181	Q2ZFE3	swiss	303	0	AMPA_DESVH P-ribosyl transferase (EC 2.4.2.29) (RNA-guanine transglycosylase) (Guanine insertion enzyme)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
484	P61631	swiss	493	0	RUVB_DESVH Holliday junction ATP-dependent DNA helicase ruvB (EC 3.6.1.1)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
273	Q68907	swiss	491	0	ATPA_AQUAE ATP synthase alpha chain (EC 3.6.3.14)	Aquaspirillum aerophilum.
417	Q7ZD86	swiss	487	0	GUAA_DESVH GMP synthase [glutamine-hydrolyzing] (EC 6.3.5.2) (Glutamine amidobiosynthase) (GMP synthetase)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
168	Q7Z659	swiss	478	0	SYFA_DESVH Phenylalanyl-RNA synthetase alpha chain (EC 6.1.1.20) (Phenylalanine-RNA ligase alpha chain) [PheRS]	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.

【 図 5 - 5 】

有機体

説明

名称 識別子 データベーススコア E値

143	Q7ZB11	swiss	463	0	GIDA_DESVH RNA uridine 5-carboxymethylammonium methyl modification enzyme gidA (GlcA) inhibited division protein A	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
13	Q7ZCD9	swiss	461	0	ISPG_DESVH 4-hydroxy-3-methyl-2-oxo-1-yl-diphosphate synthase (EC 1.17.4.3) (1-hydroxy-2-methyl-2-(E)-butenyl 4-diphosphate synthase)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
52	P12047	swiss	454	0	PIUR8_BACSU Adenylosuccinate lyase (EC 4.3.2.2) (Adenylosuccinase) (ASU) (Glutamyl-RNA synthetase regulatory factor)	Bacillus subtilis.
225	P30949	swiss	451	0	GSA_BACSU Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase (EC 5.4.3.8) (GSA) (Glutamate-1-semialdehyde aminotransferase) (GSA-AT)	Bacillus subtilis.
427	P43837	swiss	446	0	IMAO2_HAEN NADP-dependent malic enzyme-Haemophilus influenzae (EC 1.1.1.40) (NADP-ME)	Haemophilus influenzae.
127	P37753	swiss	447	0	MANCO_ECOLI Mannose-1-phosphate guanylyltransferase [GDP] (EC 2.7.2.2) (GDP-mannose pyrophosphorylase) (GMP)	Escherichia coli.
32	P0AGA5	swiss	438	0	SECY_SHIFL Preprotein translocase secY subunit	Shigella flexneri.
367	D9KAZ3	swiss	431	0	TOP1_BACHD DNA topoisomerase 1 (EC 5.99.1.2) (DNA topoisomerase I) (Omega-protein) (Relaxing enzyme) (Unwinding enzyme) (Swivlease)	Bacillus halodurans.
72	P38958	swiss	427	0	CAPL_STAOU Protein capI	Staphylococcus aureus.
454	Q7ZC23	swiss	424	0	HEM1_DESVH Glutamyl-RNA reductase (EC 1.2.1.70) (GluTR)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.

【 図 5 - 6 】

有機体

説明

名称 識別子 データベーススコア E値

235	Q7Z5Q7	swiss	420	0	SYD_DESVH Aspartyl-RNA synthetase (EC 6.1.1.12) (Aspartate-RNA ligase) (AspRS)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
95	Q10639	swiss	414	0	PHSG_MYCTU Glycogen phosphorylase (EC 2.4.1.1)	Mycobacterium tuberculosis.
14	P43636	swiss	409	0	SVY_HAEN Tyrosyl-RNA synthetase (EC 6.1.1.1) (Tyrosine-RNA ligase) (TyrRS)	Haemophilus influenzae.
283	Q6C2B1	swiss	402	0	PIUR2_BRUSU Phosphoribosyl-glycine ligase (EC 6.3.4.13) (GARS) (Chloramphenicol ribosuccinate synthetase)	Brucella suis.
220	P45651	swiss	400	0	SYGB_COXBU Glycyl-RNA synthetase beta chain (EC 6.1.1.14) (Glycine-RNA ligase beta chain) (GlyRS)	Coxiella burnetii.
161	Q8RAM9	swiss	402	0	TGT_THETN OsuIins RNA-ribosyltransferase (EC 2.4.2.29) (RNA-guanine transglycosylase)	Thermotoga maritima.
446	Q66679	swiss	398	0	RIBAB_AQUAE Riboflavin biosynthesis protein Aquifex aceticus. ribAB (ribA) CTP-cydidylyltransferase 2 (EC 3.5.4.25) (GTP-cydidylyltransferase 2) (DHPB synthase)	Aquaspirillum aerophilum.
342	Q7Z912	swiss	392	0	LPXD_DESVH UDP-3-O-(3-hydroxymethyl)-glucosamine N-acetyltransferase (EC 2.3.1.3)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
338	Q55538	swiss	391	0	HYPF_SYNY3 Carbamoyltransferase hypF (EC 2.3.1.3) (Carbamoyl phosphate-converting enzyme hypF) (HypF-hydrogenase maturation factor hypF) (Hydrogenase maturation protein hypF)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.

【 図 5 - 7 】

有機体

説明

名称 識別子 データベーススコア E値

10	Q8K9P1	swiss	388	0	BIOB_BUCAP Biotin synthase (EC 2.8.1.6) (Biotin synthetase)	Buchnera aphidicola subsp. Schizaphis graminum.
171	P62637	swiss	380	0	CHEB2_DESVH Chemotaxis response regulator protein-glutamate methyltransferase of group 2 operon (EC 3.1.1.61)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
85	P00362	swiss	380	0	G3P_BACST Glyceroldehyde-3-phosphate dehydrogenase (EC 1.2.1.12) (GAPDH)	Bacillus stearothermophilus.
133	Q8FRP1	swiss	381	0	THIC_THETN Thiamine biosynthesis protein thic	Thermotoga maritima.
410	Q6A1W3	swiss	380	0	MSBA_DESPS Lipid A export ATP-binding/permease protein msbA	Desulfohalobium psychrophilum.
138	P17531	swiss	381	0	RPOD_MYXXA RNA polymerase sigma factor rhoD (Sigma-80)	Mycococcus xenobius.
251	Q7Z8U6	swiss	372	0	MURD_DESVH UDP-N-acetylmuramoylalanine-D-glutamate ligase (EC 6.3.2.9) (UDP-N-acetylmuramoyl-L-alanyl-D-glutamate synthetase) (D-glutamic acid-adding enzyme)	Desulfovibrio vulgaris (strain Hildenborough) / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303.
41	P0AEZ9	swiss	373	0	TRKH_SHIFL Trk system potassium uptake protein tRH	Shigella flexneri.
170	Q74DD4	swiss	375	0	SYT_GEOSL Threonine-RNA synthetase (EC 6.1.1.3) (Threonine-RNA ligase) (ThrRS)	Geobacter sulfurreducens.
246	Q8K6G2	swiss	369	0	HEM2_BACHD Delta-aminolevulinic acid dehydratase (EC 4.2.1.24) (Porphobilinogen synthase) (ALAD) (ALADH)	Bacillus halodurans.
60	P0A8C2	swiss	368	0	GLPA_SHIFL Anaerobic glycerol-3-phosphate dehydrogenase subunit A (EC 1.1.99.5) (G-3-P dehydrogenase)	Shigella flexneri.
290	Q8EM45	swiss	363	0	SYR_OCEIH Arginyl-RNA synthetase (EC 6.1.1.19) (Arginine-RNA ligase) (ArgRS)	Oceanobacillus thelyensis.

【 図 5 - 8 】

名称	識別子	データベース	E値	説明	有機体
73	P55255	swiss	359	0 RMLA_NEIMB Glucose-1-phosphate thymidyltransferase (EC 2.7.7.24) (dTDP-glucose synthase) (dTDP-glucose pyrophosphorylase).	Neisseria meningitidis serogroup B.
182	Q04849	swiss	355	0 NTRX_AZOCA Nitrogen assimilation regulatoryAzorhizobium caulimodans.	
212	Q8P205	swiss	353	0 RADA_STRP8 DNA repair protein radA . Streptococcus pyogenes serotype M18. homolog (DNA repair protein sms homolog).	
141	Q8DL74	swiss	346	0 DXS_SYNEL_1-deoxy-D-xylulose-5-phosphate synthase (EC 2.2.1.7) (1-deoxyxylulose-5-phosphate synthase) (DXP synthase) (DXPS).	Synecochoccus elongatus (Thermosynechococcus elongatus).
132	Q54431	swiss	346	0 SRP54_STRMU Signal recognition particle protein (Fifty-four homolog).	Streptococcus mutans.
346	P55295	swiss	343	0 RFBB_XANCP dTDP-glucose 4,6-dehydratase Xanthomonas campestris pv. campestris. (EC 4.2.1.46).	Xanthomonas campestris pv. campestris.
268	Q749X0	swiss	336	0 ARGC_GEOSL N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase (EC 1.2.1.38) (AGPR) (N-acetyl-glutamate semialdehyde dehydrogenase) (NAGSA dehydrogenase).	Geobacter sulfurreducens.
231	P74292	swiss	333	0 NADE_SYNY3 Probable glutamine-dependent Synecochystis sp. (strain PCC 6803). NAD(+) synthase (EC 6.3.5.1) (NAD(+) synthase [glutamine-hydrolyzing]).	Synecochystis sp. (strain PCC 6803).
287	Q84903	swiss	330	0 GALE_LACCA UDP-glucose 4-epimerase (EC Lactobacillus casei. 5.1.3.2) (Galactosyltransferase) (UDP-galactose 4-epimerase).	Lactobacillus casei.
414	Q8R753	swiss	330	0 KPRS_THETM Ribose-phosphate pyrophosphokinase (EC 2.7.6.1) (RPPK) (Phosphoribosyl pyrophosphate synthetase) (P-Rib-PP synthetase) (P-RPP synthetase).	Thermoanaerobacter tengcongensis.

【 図 5 - 9 】

名称	識別子	データベース	E値	説明	有機体
232	Q31498	swiss	330	0 DNLL_BACSU DNA ligase (EC 6.5.1.2) (Polydeoxyribonucleotide synthase (NAD+)).	Bacillus subtilis.
243	Q72553	swiss	328	0 QUEA_DESVH S-adenosylmethionine:RNA ribosyltransferase-isomerase (EC 5.-.-.-) (Queuosine biosynthesis protein queA).	Desulfotribio vulgaris (strain Hildenborough / ATCC 29579 / NCIMB05_8303).
202	Ftk_SpoIIIE	swiss	327	0 FTSK_AGRTS DNA translocase ftsK. COG1674	Agrobacterium tumefaciens (strain C58 / ATCC 33970).
163	Q86428	swiss	323	0 ILVE_PSEAE Branched-chain-amino-acid aminotransferase (EC 2.6.1.42) (BCAT).	Pseudomonas aeruginosa.
433	P20352	swiss	325	0 GSP_BACST Glyoxaldehyde-3-phosphate dehydrogenase (EC 1.2.1.12) (GAPDH).	Bacillus stearothermophilus.
289	Q03224	swiss	323	0 YWJ_BACSU Hypothetical protein ywJ.	Bacillus subtilis.
199	Q08553	swiss	320	0 ILVB_METAO Probable acetoacetate synthase Methanococcus aeolicus large subunit (EC 2.2.1.6) (AHAS) (Acetoacetyl-CoA synthase large subunit) (ALS).	Methanococcus aeolicus.
124	F0A0CZ	swiss	318	0 POTD_SALTY Spermidine/putrescine-binding penicillamine protein precursor (SPBP).	Salmonella typhimurium.
303	F31695	swiss	315	0 HYPE_RALEU Hydrogenase expression/formation protein type.	Raistonia eutropha (Alcaligenes eutroplus).
382	Q86233	swiss	315	0 Y112P_HAEIN Hypothetical protein H1126.1.	Haemophilus influenzae.
310	Seqences_7	swiss	312	0 DEGP_CHLPH Probable serine protease do- line precursor (EC 3.4.21.-).	Chlamydia pneumoniae (Chlamydia pneumoniae).
301	Q05311	swiss	312	0 UVRD_SALTY DNA helicase II (EC 3.6.1.-).	Salmonella typhimurium.

【 図 5 - 1 0 】

名称	識別子	データベース	E値	説明	有機体
189	P36620	swiss	309	0 FLHA_BACSU Flagellar biosynthesis protein. Bacillus subtilis. fliA.	Bacillus subtilis.
59	Q27BK4	swiss	307	0 Y1631_DESVH UPR042 protein DUU1631. Desulfotribio vulgaris (strain Hildenborough / ATCC 29579 / NCIMB05_8303).	Desulfotribio vulgaris (strain Hildenborough / ATCC 29579 / NCIMB05_8303).
56	P42064	swiss	306	0 APPD_BACSU Oligopeptide transport ATP-binding protein appD. Bacillus subtilis.	Bacillus subtilis.
87	Q44879	swiss	306	0 CTPA_BABEA Carboxy-terminal-processing protease pcpA (EC 3.4.21.102) (C-terminal-processing protease). Bartonella bacilliformis.	Bartonella bacilliformis.
213	P06444	swiss	305	0 CLPA_RHOBL ClpA homolog protein. Rhodospseudomonas biastata.	Rhodospseudomonas biastata.
204	Q04421	swiss	304	0 F16P2_ORYSA Fructose 6-phosphatase, cyta saiva (Rice). bisphosphate 1-phosphohydrolyase) (FBPase).	Cyrtospora saiva (Rice).
45	P44975	swiss	305	0 Y877_HAEIN Hypothetical GTP-binding protein:Haemophilus influenzae. HI0877	Haemophilus influenzae.
236	P42095	swiss	303	0 APPF_BACSU Oligopeptide transport ATP-binding protein appF. Bacillus subtilis.	Bacillus subtilis.
101	Q69990	swiss	304	0 PYRC_AQUJAE Dihydroxycase (EC 3.5.2.3) Aquifex aeolicus. (DHOase).	Aquifex aeolicus.
350	Q8RHA2	swiss	300	0 TRME_FUSNN Penicillin-binding protein 2. Fusobacterium nucleatum subsp. nucleatum. trmE	Fusobacterium nucleatum subsp. nucleatum.
271	P44469	swiss	300	0 PBP2_HAEIN Penicillin-binding protein 2. Haemophilus influenzae. p29.	Haemophilus influenzae.
123	P44425	swiss	295	0 VG29_HAEIN Muc-like prophage FluM protein Haemophilus influenzae. gp29.	Haemophilus influenzae.
glutamyliRNA synthase	Q8D065	swiss	288	0 GATA_SYNEL GlutamyliRNA(Gin) amidotransferase subunit A (EC 6.3.5.-) (Glu-ADT subunit A). Synecochoccus elongatus (Thermosynechococcus elongatus).	Synecochoccus elongatus (Thermosynechococcus elongatus).
137	P17531	swiss	286	0 RPOD_MYXXA RNA polymerase sigma factor Myxococcus xanthus. rpoD (Sigma-80).	Myxococcus xanthus.

【 図 5 - 1 1 】

名称	識別子	データベース	E値	説明	有機体
147	Q8PBY1	swiss	285	0 FABH_XANCP 3-oxoacyl-acyl-carrier-protein synthase 3 (EC 2.3.1.41) (3-oxoacyl-acyl-carrier-protein synthase III) (Beta-ketoacyl-ACP synthase III) (KAS III).	Xanthomonas campestris pv. campestris.
98	OZ7249	swiss	285	0 Y1505_METTH Hypothetical protein MTH1505. Methanobacterium thermoautotrophicum.	Methanobacterium thermoautotrophicum.
diaminopimelate decarboxylase	OZ7390	swiss	281	0 DCDA_METTH Diaminopimelate decarboxylase (EC 4.1.1.20) (DAP decarboxylase).	Methanobacterium thermoautotrophicum.
331	E37127	swiss	281	0 AEGA_ECOLI Protein aega. Escherichia coli.	Escherichia coli.
346	Q2YPM2	swiss	281	0 OXAA_HAEDU Inner membrane protein oxaA. Haemophilus ducreyi.	Haemophilus ducreyi.
116	P0AEP2	swiss	277	0 YOHM_ECOLI P-putative sulfate transporter yohM. Escherichia coli.	Escherichia coli.
408	Q04850	swiss	274	0 NTRY_AZOCA Nitrogen regulation protein ntry Azorhizobium caulimodans. (EC 2.7.13.3).	Azorhizobium caulimodans.
226	Q07125	swiss	270	0 DPO3A_AQUJAE DNA polymerase III alpha subunit (EC 2.7.7.7).	Aquifex aeolicus.
383	Q62356	swiss	270	0 TERC_SERMA Tellurium resistance protein terC. Serratia marcescens.	Serratia marcescens.
229	P42062	swiss	268	0 APPB_BACSU Oligopeptide transport system permease protein appB. Bacillus subtilis.	Bacillus subtilis.
115	P45049	swiss	268	0 COMM_HAEIN Competence protein comM. Haemophilus influenzae.	Haemophilus influenzae.
440	P34420	swiss	268	0 ASNB_BACSU Asparagine synthetase [glutamine-hydrolyzing] 1 (EC 6.3.5.4).	Bacillus subtilis.
319	P42437	swiss	266	0 NASF_BACSU Uroporphyrin-III C-methyltransferase (EC 2.1.1.107) (Urogen III methylase) (UROM).	Bacillus subtilis.
156	P23910	swiss	264	0 ARAJ_ECOLI Protein araJ. Escherichia coli.	Escherichia coli.
437	Q30107	swiss	264	0 Y130_ARCFU Hypothetical protein AF0130. Archaeoglobus fulgidus.	Archaeoglobus fulgidus.

【 図 5 - 1 2 】

名称	識別子	データベース	E値	説明	有機体
92	E27162Z	swiss	263	BRAD_PSEAE High-affinity branched-chain amino acid transport system permease protein brAD.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
89	P99987	swiss	261	YSCU_YERPS Yop proteins translocation protein U.	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> .
36	Q8U150	swiss	260	HTPX_PYRPU Probable protease htpX homolog (EC 3.4.24.-)	<i>Pyrococcus furiosus</i> .
164	P43746	swiss	261	DPO3X_HAEIN DNA polymerase III gamma1 subunit (EC 2.7.7.7).	<i>Haemophilus influenzae</i> .
117	Q7ZBV1	swiss	259	MIAA_DESVH RNA delta(2)-isopenicillin N acyltransferase (EC 2.3.1.8) (IP-transferase) (isopenicillin-N-acyltransferase) (isopenicillinase)	<i>Desulfotribio vulgaris</i> (strain Hildenborough / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303).
344	Sequence 5 from patent US 6605983	swiss	258	YAE1_SALCH Outer membrane protein assembly factor yae1 precursor.	<i>Salmonella choleraesuis</i> .
370	B47204	swiss	258	FTSZ_PSEAE Cell division protein ftsZ.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
272	P0A699	swiss	255	RODA_SHHL Rod shape-determining protein Shigella flexneri.	<i>Shigella flexneri</i> .
120	P0A8K2	swiss	263	CYDB_ECOLI Cytochrome b ubiquinol oxidase subunit 2 (EC 1.10.3.3) (Cytochrome b ubiquinol oxidase subunit II) (Cytochrome b-oxidase subunit II)	<i>Escherichia coli</i> .
436	P44685	swiss	263	Y365_HAEIN Hypothetical UPF0093 protein H10365	<i>Haemophilus influenzae</i> .
105	P30140	swiss	263	THH_ECOLI Thiazole bisynthesis protein thH.	<i>Escherichia coli</i> .
254	Q8659Z	swiss	254	FTSI_BUCAP Penicillin acyltransferase ftsI (EC 2.4.1.129) (Penicillin acyltransferase 3) (PBP-3) (PBP-3 glycosyltransferase)	<i>Buchnera aphidicola</i> subsp. <i>Schizaphis graminum</i> .

【 図 5 - 1 3 】

名称	識別子	データベース	E値	説明	有機体
250	P07373	swiss	252	SPBE_BACSU Stage V sporulation protein E.	<i>Bacillus subtilis</i> .
96	Q06065	swiss	252	ATOC_ECOLI Acetoacetate metabolism regulatory protein atoc (Ornithine/arginine decarboxylase inhibitor) (Ornithine decarboxylase antizyme).	<i>Escherichia coli</i> .
78	P43901	swiss	246	GLFC_HAEIN Anaerobic glycerol-3-phosphate dehydrogenase subunit C (G-3-P dehydrogenase).	<i>Haemophilus influenzae</i> .
401	Q8WY63	swiss	246	FLIG_THEMEA Flagellar motor switch protein flIG.	<i>Thermotoga maritima</i> .
455	D1770p16 transporter COG3104	swiss	244	TPPB_SALTI Tripeptide permease tppB.	<i>Salmonella typhi</i> .
58	P4503Z	swiss	244	COMF_HAEIN Cytochrome c-type biogenesis protein comF.	<i>Haemophilus influenzae</i> .
91	Q51465	swiss	240	FLIM_PSEAE Flagellar motor switch protein flIM.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
308	P44494	swiss	241	MUTL_HAEIN DNA mismatch repair protein mutL.	<i>Haemophilus influenzae</i> .
100	P15263	swiss	239	DEGT_BACST Pleiotropic regulatory protein.	<i>Bacillus stearothermophilus</i> .
314	Q8UJELZ	swiss	237	Y1380_AGR15 Hypothetical zinc metalloprotease Atr1380/AGR_C_2553 (EC 3.4.24.-)	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (strain C58 / ATCC 33970).
203	P50971	swiss	236	TRXB_EUBAC Thioredoxin reductase (EC 1.8.1.9) (TRXR).	<i>Eubacterium acidaminophilum</i> .
97	Q8PL92	swiss	237	R1R2_CHLMU Ribonucleoside-diphosphate reductase beta subunit (EC 1.17.4.1) (Ribonucleotide reductase small subunit).	<i>Chlamydia muridarum</i> .
51	Q8CWA4	swiss	236	CUSC_ECOLI6 Cation efflux system protein cusc precursor.	<i>Escherichia coli</i> O6

【 図 5 - 1 4 】

名称	識別子	データベース	E値	説明	有機体
309	Sequence 6 from patent US 6605983	swiss	238	PBPA_NEIFL Penicillin-binding protein-1A (PBP-1a) [Includes Penicillin-insensitive transglycosylase (EC 2.4.2.-) (Peptidoglycan TGase); Penicillin-sensitive transpeptidase (EC 3.4.-.) (DD-transpeptidase)].	<i>Neisseria flavescens</i> .
151	O86524	swiss	234	RIBD_AQUAE Riboflavin biosynthesis protein ribD [Includes: Diaminohydroxyphosphoribosylaminylpyrimidine deaminase (EC 3.5.4.26) (Riboflavin-specific deaminase); 5-amino-6-(5-phosphoribosylamino)uracil reductase (EC 1.1.1.193) (HTP reductase)].	<i>Aquifex aeolicus</i> .
11	P22806	swiss	227	BIOF_BACSH 8-amino-7-oxononanoate synthase (EC 2.3.1.47) (AO NS) (8-amino-7-oxononanoate synthase) (7-keto-8-amino-pelergonic acid synthetase) (7-KAP synthetase) (L-alanine-pyruvyl CoA ligase)	<i>Bacillus sphaericus</i> .
413	S7ZB08	swiss	224	ISPE_DESVH 4-diphosphocytidylyl-2-C-methyl-D-erythroid kinase (EC 2.7.1.148) (CMK) (4-29579 / NCIMBOS 8303).	<i>Desulfotribio vulgaris</i> (strain Hildenborough / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303).
399	Q8Z874	swiss	220	Y477_CHLPH Hypothetical UPF004 protein CPH0477/CP0277/CP10477/CP0496.	<i>Chlamydia pneumoniae</i> (Chlamydia pneumoniae).
381	O58308	swiss	220	CDR_PYRHO Coenzyme A disulfide reductase (EC 1.8.1.14) (Co-disulfide reductase)	<i>Pyrococcus horikoshii</i> .
428	P21179	swiss	218	CATE_ECOLI Catalase catE.	<i>Escherichia coli</i> .
448	O87137	swiss	217	GYRB_AQUAE DNA gyrase subunit B (EC 5.99.1.3).	<i>Aquifex aeolicus</i> .

【 図 5 - 1 5 】

名称	識別子	データベース	E値	説明	有機体
384	P26406	swiss	217	RFBP_SALTY Undecaprenyl-phosphate galactose phosphotransferase (EC 2.7.8.6) (Galactosyl-P-p-undecaprenol synthetase).	<i>Salmonella typhimurium</i> .
433	P37541	swiss	216	YAAT_BACSU Stage 0 sporulation protein yaaT.	<i>Bacillus subtilis</i> .
275	Q9K98Z	swiss	214	EXTL_BACHD Probable exodeoxyribonuclease VII large subunit (EC 3.1.11.6) (Exonuclease VII large subunit).	<i>Bacillus halodurans</i> .
230	P17894	swiss	212	RECN_BACSU DNA repair protein recN (Recombination protein N).	<i>Bacillus subtilis</i> .
93	P21628	swiss	211	BRAE_PSEAE High-affinity branched-chain amino acid transport system permease protein brae.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
142	Q7ZC25	swiss	210	TILS_DESVH RNA (lipo)-lysine synthase (EC 6.3.4.-) (RNA(lipo)-lysine synthase) (RNA(lipo)-2-lysyl-oxyline synthase).	<i>Desulfotribio vulgaris</i> (strain Hildenborough / ATCC 29579 / NCIMBOS 8303).
148	P17802	swiss	205	IMUTY_ECOLI A/G-specific adenine glycosylase (EC 3.2.3.-)	<i>Escherichia coli</i> .
308	O56326	swiss	204	FLGE_TREPH Flagellar hook protein flGE.	<i>Trigonema phagedenis</i> .
214	P44623	swiss	203	YPL_HAEIN Mu-like prophage FlimA tail sheath protein.	<i>Haemophilus influenzae</i> .
369	O56833	swiss	202	Y1236_METUA Hypothetical protein MJ1236.	<i>Methanococcus jannaschii</i> .
153	Q88ND2	swiss	202	ALGI_PSEPH Probable poly(beta-D-mannuronate) O-acetylase (EC 2.3.1.-) (Alginate biosynthesis protein algI).	<i>Pseudomonas putida</i> (strain KT2440).
411	P37589	swiss	202	CHEV_BACSU Chemotaxis protein cheV.	<i>Bacillus subtilis</i> .
337	Q86021	swiss	202	R1BF_BUCAP Riboflavin biosynthesis protein r1bf [Includes: Riboflavin kinase (EC 2.7.1.26) (Flavokinase); FMN adenylyltransferase (EC 2.7.7.2) (FAD pyrophosphorylase) (FAD synthetase)].	<i>Buchnera aphidicola</i> subsp. <i>Schizaphis graminum</i> .

【 図 5 - 1 6 】

有機体

名称	識別子データベースE値	説明	有機体
12	P25358 swiss	201 0 PPSA_ECOLI Phosphoenolpyruvate synthase Escherichia coli. (EC 2.7.9.2) (Pyruvate, water dikinase) (PEP synthase)	
197	P25114 swiss	198 0 F264_RAT 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-1,6-bisphosphatase 4 (PF-2-KFru-2,6-P2ASE) (PF-2-KFru-2,6-P2ASE)	
363	P54518 swiss	196 0 YOHT_BACSU Purative peptidase yohT (EC Bacillus subtilis. 3.4.-.-)	
429	Q09519 swiss	195 0 YDIF_BACSU Hypothetical ABC transporter Bacillus subtilis. ATP-binding protein ydF.	
322	P45250 swiss	193 0 Y1556_HAEIN Putative 2-hydroxyacid dehydrogenase H1556. Haemophilus influenzae. FLA_BACHD Flagellin.	
131	Q05203 swiss	190 0 GLPB_VIBCH Anaerobic glycerol-3-phosphate Vibrio cholerae. dehydrogenase subunit B (EC 1.1.99.5)	
79	Q8K1L6 swiss	190 0 (Anaerobic G-3-P dehydrogenase subunit B) (Anaerobic G3p-thase B).	
38	Q06631 swiss	183 0 Y274_AQUAE Hypothetical UPF0001 protein Aquifex aeolicus. at_274.	
197	P09348 swiss	183 0 MOTL_ECOLI Chemotaxis protein moA Escherichia coli. (Molality protein A)	
166	Q8AFL9 swiss	184 0 Y976_DESPS Hypothetical transport protein Desulfotalea psychrophila. DP0976.	
194	Q03553 swiss	181 0 PG64_MYCTU Hypothetical PE-PGRS family Mycobacterium tuberculosis. protein PE_PGRS54 precursor.	
126	Q81GK4 swiss	180 0 CLS2_BACCR Cardiolipin synthetase 2 (EC Bacillus cereus (strain ATCC 14579 / DSM 31). 2.7.8.-) (Cardiolipin synthase 2) (CL synthase 2).	

【 図 5 - 1 7 】

有機体

名称	識別子データベースE値	説明	有機体
53	Q6M0L0 swiss	177 0 PURQ_METMP Phosphoribosylformylglycinamide synthase I (EC 6.3.5.3) (FGAM synthase I).	Methanococcus maripaludis.
253	P57315 swiss	177 0 MURF_BUCAI UDP-N-acetylmuramoyl-tripeptide--D-alanyl-D-alanine ligase (EC 6.3.2.10) (UDP-MurNAc-pentapeptide synthetase) (D-alanyl-D- alanine-adding enzyme).	Buchnera aphidicola subsp. Acyrthosiphon pisum (Acyrthosiphon pisumOS symbiotic bacterium).
329	P37709 swiss	176 0 TRHY_RABIT Trichohyalin.	Oryctolagus cuniculus (Rabbit).
106	P44720 swiss	172 0 Y457_HAEIN Hypothetical protein H10457.	Haemophilus influenzae.
40	P83734 swiss	169 0 ADOK_MYCTU Adenosine kinase (EC 2.7.1.20).	Mycobacterium tuberculosis.
200	P0AA52 swiss	168 0 YFDV_SHIFL Hypothetical protein yfDV.	Shigella flexneri.
397	Q05985 swiss	167 0 FOLC_BACSU Folypolyglutamate synthase (EC 6.3.2.17) (Folypoly-gamma-glutamate synthetase) (FP-GS) (Tetrahydrofolate synthase) (Tetrahydrofolylpolyglutamate synthase).	Bacillus subtilis.
400	P45112 swiss	162 0 REJC_HAEIN Single-stranded-DNA-specific exonuclease recJ (EC 3.1.-.-).	Haemophilus influenzae.
260	P43689 swiss	159 0 GLMU_HAEIN Bifunctional gmu protein (Includes: UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase (EC 2.7.2.3) (N-acetylglucosamine-1-phosphate uridylyltransferase); Glucosamine-1-phosphate N-acetyltransferase (EC 2.3.1.157)).	Haemophilus influenzae.
356	P04993 swiss	160 0 EX5A_ECOLI Exodeoxyribonuclease V alpha chain (EC 3.1.11.5) (Excodeoxyribonuclease V 67 kDa polypeptide).	Escherichia coli.
160	P37567 swiss	157 0 DUS1_BACSU Probable (RNA-dihydrouridine) Bacillus subtilis. synthase 1 (EC 1.-.-.-).	

【 図 5 - 1 8 】

有機体

名称	識別子データベースE値	説明	有機体
260	P07102 swiss	153 0 FPA_ECOLI Periplasmic appA protein precursor (Includes: Phosphoanhydride phosphohydrolase (EC 3.1.3.2) (pH 2.5 acid phosphatase) (AP); +-phylase (EC 3.1.3.26)).	Escherichia coli.
369	P77638 swiss	150 0 KEFA_ECOLI Potassium efflux system kefA precursor (Protein kefA).	Escherichia coli.
244	Q8L3Z2 swiss	149 0 DNAA_GEOXA Chromosomal replication initiator protein dnaA.	Geobacillus kaustophilus.
25	Q8KY50 swiss	147 0 PUR9_STRCO Bifunctional purine biosynthesis/Streptomyces coelicolor. protein purH (Includes: Phosphoribosylaminoimidazolecarboxamide formyltransferase (EC 2.1.2.3) (AICAR transformylase); IMP cyclohydrolase (EC 3.5.4.10) (inosinicase) (IMP synthetase) (ATTC)).	Streptomyces coelicolor.
160	P57415 swiss	145 0 MVIN_BUCAI Virulence factor mvIN homolog. Buchnera aphidicola subsp. Acyrthosiphon pisum (Acyrthosiphon pisumOS symbiotic bacterium).	Buchnera aphidicola subsp. Acyrthosiphon pisum (Acyrthosiphon pisumOS symbiotic bacterium).
134	Q09945 swiss	145 0 Y219_RICPR Hypothetical zinc protease RP219 (EC 3.4.99.-).	Rickettsia prowazekii.
345	Q09EE2 swiss	144 0 LOLC_XYLFA Lipoprotein-releasing system transmembrane protein lolC.	Xylella fastidiosa.
102	Q57664 swiss	139 0 GALE_METJIA Putative UDP-glucose 4-epimerase (EC 5.1.3.2) (Galactovaldinate) (UDP- galactose 4-epimerase).	Methanococcus jannaschii.
207	Q57664 swiss	139 0 GALE_METJIA Putative UDP-glucose 4-epimerase (EC 5.1.3.2) (Galactovaldinate) (UDP- galactose 4-epimerase).	Methanococcus jannaschii.
158	P44443 swiss	140 0 RNE_HAEIN Ribonuclease E (EC 3.1.4.-) (RNase E).	Haemophilus influenzae.

【 図 5 - 1 9 】

有機体

名称	識別子データベースE値	説明	有機体
22	Q09126 swiss	135 0 PEP_ANNME Pyrophosphate-fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase (EC 2.7.4.90) (6-phosphofructokinase, pyrophosphate dependent) (Pyrophosphate- dependent 6-phosphofructose-1-kinase) (PPI-dependent phosphofructokinase) (PPI-PFK).	Amycolopsis methanocila.
8	P54576 swiss	136 0 MCPD_BACSU Methyl-accepting chemotaxis protein mcpC.	Bacillus subtilis.
302	P76289 swiss	135 0 YEBQ_ECOLI Hypothetical transport protein yebQ.	Escherichia coli.
164	P29240 swiss	134 0 5NTD_DISOM 5'-nucleotidase precursor (EC 3.1.3.3) (Ecto-nucleotidase).	Discopyge ommata (Electric ray).
269	P39643 swiss	134 0 AAT2_BACSU Probable aspartate aminotransferase (EC 2.6.1.1) (Transaminase A) (ASPAT).	Bacillus subtilis.
340	P50610 swiss	133 0 FLOG_HELPY Flagellar hook protein flogE.	Helicobacter pylori (Campylobacter pylori).
114	Q850Z7 swiss	132 0 Y1633_METJIA Hypothetical protein M11633.	Methanococcus jannaschii.
419	P03018 swiss	129 0 UVRD_ECOLI DNA helicase II (EC 3.6.1.-).	Escherichia coli.
421	S8K9J8 swiss	123 0 RLUO_BUCAP Ribosomal large subunit pseudouridine synthase C (EC 5.4.98.-) (RNA-uridine isomerase C) (RNA pseudouridylation synthase C).	Buchnera aphidicola subsp. Schizaphis graminum.
265	S01244 swiss	120 0 Y5CC_YEREN Yop proteins translocation protein C precursor.	Yersinia enterocolitica.
98	P37691 swiss	119 0 YIBQ_ECOLI Hypothetical protein yibQ precursor.	Escherichia coli.
328	P27293 swiss	120 0 TRHY_SHEEP Trichohyalin.	Ovis aries (Sheep).
436	P0AC75 swiss	116 0 KDTA_ECOLI 3-deoxy-D-manno-oxotulosonic acid transferase (EC 2.-.-.-) (KDO transferase).	Escherichia coli.

【 図 5 - 2 0 】

名称	識別子	データベース	スコア	E値	説明	有機体
450	Q6ALV8	swiss	115	0	LPXK_DESP5 Tetraacyl/diacetate 4'-kinase Desulfoalea psychrophila. (EC 2.7.1.30) (Lipid A 4'-kinase).	
	P39843	swiss	115	0	BMR2_BACSU Multidrug resistance protein 2. Bacillus subtilis. (Multidrug-efflux transporter 2).	major_facilitator
343	Q02114	swiss	114	0	CWLB_BACSU N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase cwlb precursor (EC 3.5.1.28) (Cell wall hydrolase) (Autolysin).	Bacillus subtilis.
247	Q9EJ08	swiss	109	0	PQOE_RHIME Coenzyme PQQ synthesis protein E (Pyrroquinoline quinone biosynthesis protein E).	Rhizobium meliloti (Sinorhizobium meliloti).
47	Q9L493	swiss	107	0	BCAL3_ARATH Branched-chain-amino-acid aminotransferase-like protein 3, chloroplast precursor.	Arabidopsis thaliana (Mouse-ear cress).
245	Q9L390	swiss	107	0	PQOE_GLUOX Coenzyme PQQ synthesis protein E (Pyrroquinoline quinone biosynthesis protein E).	Gluconobacter oxydans (Gluconobacter suboxydans).
35	Q01282	swiss	107	0	HYUA_PSESN Hydanion utilization protein A. Pseudomonas sp. (strain NS671). (ORF2).	
445	P44135	swiss	103	0	Y1246_HAEIN Hypothetical protein HT246. Haemophilus influenzae.	
24	P39820	swiss	95.9	0	TBTA_ALTSM Putative tributyltin chloride resistance protein.	Alteromonas sp. (strain M-1).
335	P22746	swiss	94.4	0	MGP1_MYCGE Mgp-opsin protein 1 (ORF-1 Mycoplasma genitalium. protein) (Mgp1).	
220	P16926	swiss	92.4	0	MREC_ECOLI Rod shape-determining protein. Escherichia coli. mreC.	
324	P45030	swiss	92.4	0	Y1088_HAEIN Hypothetical protein HT088. Haemophilus influenzae.	
283	Q01287	swiss	89.4	0	VPL_BPMU Protein gp32 [includes: 1 protein (gp); 2 protein. (gp2) (gp2)].	Bacteriophage Mu.
208	Q9GKL2	swiss	88.2	0	OSTA_PASMU Organic solvent tolerance protein precursor.	Pasteurella multocida.
284	P36501	swiss	86.6	0	FLGL_BACSU Flagellar hook-associated protein 3 (HAP3).	Bacillus subtilis.

【 図 5 - 2 1 】

名称	識別子	データベース	スコア	E値	説明	有機体
332	Q9GNT1	swiss	87.4	0	MTFA_PASMU Putative RNA 2'-O-ribose methyltransferase mfa (EC 2.1.1.3).	Pasteurella multocida.
136	P33655	swiss	87	0	PRM_GLOB DNA primase (EC 2.7.7.1).	Clostridium acetobutylicum.
179	P39695	swiss	85.9	0	COMEC_BACSU ComE operon protein 3.	Bacillus subtilis.
354	Q93151	swiss	85.9	0	HFLK_TREPA Protein hflK. Treponema pallidum.	
240	Q32223	swiss	84	0	YVAA_BACSU Hypothetical oxidoreductase yvaA (EC 1.1.1.1).	Bacillus subtilis.
188	Q9GJ12	swiss	84.3	0	ESTD_PIG Esterase D (EC 3.1.1.1).	Sus scrofa (Pig).
286	P46918	swiss	84	0	GGAB_BACSU Minor leucine acid biosynthesis protein ggab.	Bacillus subtilis.
190	Q67266	swiss	83.6	0	FLHF (Flagella-associated GTP-binding protein).	Aquifex aeolicus.
452	P56885	swiss	83.2	0	PYRK_THETN Dihydroxylate dehydrogenase. Thermococcus tengcongensis.	
373	Q06067	swiss	82.4	0	ATOS_ECOLI Sensor protein atos [EC 2.7.13.3].	Escherichia coli.
333	Q30WJ0	swiss	82	0	IFZ_DESDG Translation initiation factor IF-2. Desulfohalobium tengcongensis.	
349	Q9RC46	swiss	80.5	0	JAG_BACHD Protein jag.	Bacillus halodurans.
323	P43971	swiss	76.6	0	POIB_ECOLI Paracetamol-inducible protein B. Escherichia coli.	
205	P44693	swiss	75.5	0	Y409_HAEIN Hypothetical metalloprotease. Haemophilus influenzae.	
216	P08558	swiss	75.5	0	VPP_BPMU 43 kDa tail protein (gpP). Bacteriophage Mu.	
175	P42090	swiss	74.3	0	CGEB_BACSU Protein cgeB. Bacillus subtilis.	
256	Q06696	swiss	75.1	0	MSTZ_DROHY Avocado-associated protein. Drosophila hydei (Fruit fly). ms101(2).	
34	Q06974	swiss	73.2	0	YVCK_BACSU Hypothetical UPF052 protein. Bacillus subtilis. vck.	
420	Q58718	swiss	74.3	0	RAD50_METJA DNA double-strand break repair. rad50 ATPase.	Methanococcus jamaaschii.

【 図 5 - 2 2 】

名称	識別子	データベース	スコア	E値	説明	有機体
385	P49636	swiss	71.2	0	ALG2_YEAST Alpha-1,3-mannosyltransferase Saccharomyces cerevisiae (Baker's yeast). ALG2 (EC 2.4.1.1) (GDP-Mannyl(1')GlcNAc(2')PP-dolichol mannosyltransferase) (Asparagine-linked glycosylation protein 2).	
211	P32323	swiss	67.4	0	AGA1_YEAST A-agglutinin attachment subunit Saccharomyces cerevisiae (Baker's yeast) precursor.	
382	P71243	swiss	66.2	0	WCAL_ECOLI Putative colanic acid biosynthesis glycosyl transferase wcal. (EC 2.-.-.-).	Escherichia coli.
258	P39862	swiss	65.5	0	CAPM1_STAAU Capsular polysaccharide biosynthesis glycosyl transferase capM (EC 2.-.-.-).	Staphylococcus aureus.
241	Q55990	swiss	64.3	0	Y1595_METJA Hypothetical UPF0104 protein Methanococcus jamaaschii. Mj1595.	
44	P39398	swiss	65.5	0	YJLI_ECOLI Inner membrane transport protein Escherichia coli. yjli.	
295	Q07283	swiss	64.3	0	TRFY_HUMAN Trichomyalin. Homo sapiens (human).	
116	P45042	swiss	62.4	0	RFAF_HAEIN ADP-ribosyl-LPS biosynthesis 2 (EC 2.-.-.-) (ADP-ribosyltransferase II). Haemophilus influenzae.	
140	Q8JTK5	swiss	62.8	0	ALM1_SCHPO Amino acid binding morphology Schizosaccharomyces pombe (Fission yeast). protein 1 (Sfp1).	
341	Q06114	swiss	60.5	0	YOPB_YERPS Protein yopB. Yersinia pseudotuberculosis.	
242	Q52448	swiss	60.1	0	CPCE_PSEAB Phycocyanobilin lyase alpha subunit (EC 4.-.-.-) (Phycocyanin-1 operon protein, cpeE).	Pseudanabaena sp. (strain PCC 7409).
130	Q57336	swiss	58.2	0	Y261_HAEIN Putative glycosyl transferase. Haemophilus influenzae. HI0261 (EC 2.-.-.-).	
233	Q60301	swiss	57	0	Y3402_METJA Hypothetical adenine-specific methylase MJECS32 (EC 2.1.1.72).	Methanococcus jamaaschii.
110	Q51610	swiss	54.3	0	TONB_HAEDU Protein tonB. Haemophilus ducreyi.	

【 図 5 - 2 3 】

名称	識別子	データベース	スコア	E値	説明	有機体
444	Q53020	swiss	55.1	0	OMP6_RICRP Outer membrane protein B precursor (168 kDa surface-layer protein) (Surface protein antigen) (Cell surface antigen 5) (Omp6) (OmpB) (Omp B) [Contains: 120 kDa surface-exposed protein; Surface protein antigen (120 kDa outer membrane protein ompB) (P120); 32 kDa beta peptidog)].	Rickettsia prowazekii.
183	Q84955	swiss	54.7	0	Y231_BUCAP Hypothetical protein Bueg231 precursor.	Buchnera aphidicola subsp. Schizaphis graminum.
255	P12957	swiss	53.9	0	CALD1_CHICK Caldesmon (CDM).	Gallus gallus (Chicken).
352	P41717	swiss	53.5	0	Y18N_YEAST Hypothetical 45.1 kDa protein in Saccharomyces cerevisiae (Baker's yeast).	Saccharomyces sp. (strain PCC 6307) (Anacystis nidulans).
27	P58102	swiss	52.4	0	EYGS_ECOS7 Sensor protein evgS precursor. Escherichia coli O157:H7. (EC 2.7.13.3).	
321	Q0P2E2	swiss	52.4	0	KIF17_HUMAN Kinase-like protein KIF17 (KIF3-related motor protein). Homo sapiens (human).	
442	Q08917	swiss	52	0	Y263_METJA Hypothetical protein MJ0263. Methanococcus jamaaschii.	
439	P30442	swiss	51.6	0	Y1184_STNPP Hypothetical protein. Synchococcus sp. (strain PCC 6301) (Anacystis nidulans).	
281	P45386	swiss	51.2	0	IG44_HAEIN Immunoglobulin A1 protease precursor (EC 3.4.21.72) (IgA1 protease). Haemophilus influenzae.	
292	P146691	swiss	53.1	0	HYR1_CANVA Hyallyrin-regulated protein precursor. Candida albicans (Yeast).	
157	Q56214	swiss	50.8	0	Y804_METJA Hypothetical protein MJ0504. Methanococcus jamaaschii.	
177	Q69AB3	swiss	51.6	0	EX65_BUCBP Exy65 protein-exposed beta chain (EC 3.1.1.13). Buchnera aphidicola subsp. Baizhongling pistaciae.	
63	Q34262	swiss	51.2	0	WYCX_XANCP Xanthomonas campestris pv. campestris. Xanthomonas campestris pv. campestris.	
395	Q57486	swiss	51.2	0	Y608_HAEIN Hypothetical protein HI0608. Haemophilus influenzae.	
305	Q44400	swiss	50.8	0	F37CA_CAEEL Protein F37C4.5. Chaetomium elegans.	
108	Q57523	swiss	51.2	0	Y696_HAEIN Protein HI0696. Haemophilus influenzae.	
195	P40296	swiss	48.5	0	YSCQ_YERPS Yop proteins translocation protein Q. Yersinia pseudotuberculosis.	

【 図 5 - 2 4 】

名称	識別子	データベーススコア E 値	説明	有機体
31	<u>Q959C8</u>	swiss 46.2 0	NU2M_YARLI NADH-subunit oxidoreductase chain 2 (EC 1.6.5.3) (NADH dehydrogenase subunit 2)	Yarrowia lipolytica (Candida lipolytica)
218	<u>Q8X1K0</u>	swiss 46.2 0	PRSA_CLOPE Foldase protein prsA precursor (EC 5.2.1.8)	
386	<u>Q8DND3</u>	swiss 46.6 0	USGA_STRRE Dimethyladenosine transferase (EC 2.1.1.7) (S-adenosylmethionine-6-N ⁺ , N ⁺ -R6) RNA resistance protein (high level kasugamyacin resistance protein) (YsgA) (Kasugamyacin dimethyltransferase)	Streptococcus pneumoniae (strain ATCC BAA-235/)
387	<u>P237Z6</u>	swiss 46.6 0	PR68_BOVIN Phosphatidylinositol 3-kinase regulatory beta subunit (PI3K-kinase p85-beta subunit) (PtdIns-3-OH) (p85-beta)	Bos taurus (Bovine)
371	<u>Q8U4J5</u>	swiss 45.8 0	MOAA_PYREU Probable yeast cell wall glucan biosynthesis protein MOA	Pyrococcus furiosus
138	<u>S929Z4</u>	swiss 45.4 0	PRG4_HUMAN Proteoglycan-4 precursor (Lubrin) (Megakaryocyte stimulating factor) (Superficial zone proteoglycan) (Contains: Proteoglycan-4 C-terminal part)	Homo sapiens (Human)
81	<u>P546S7</u>	swiss 45.4 0	PTP3_DICD1 Tyrosine-protein phosphatase 3 (EC 3.1.3.48) (Protein-tyrosine-phosphatase phosphatidylase 3)	Dicystostellum discoideum (Slime mold)
46	<u>P51973</u>	swiss 44.7 0	YRGF_ECOLI Hypothetical protein yrgF precursor	Escherichia coli
192	<u>Q8N2W4</u>	swiss 44.3 0	COMA_NEIGO Competence protein comA precursor (Contains: Dentin alkalophilic protein (Dentin phosphoprotein) (DPP); Dentin alkaloprotein (DSP))	Neisseria gonorrhoeae (Human)
29	<u>P45570</u>	swiss 43.1 0	YBC1_ECOLI Inner membrane protein ybc1	Escherichia coli

【 図 5 - 2 5 】

名称	識別子	データベーススコア E 値	説明	有機体
219	<u>P27434</u>	swiss 43.1 0	YFGA_ECOLI Putative HTH-type transcriptional regulator YfgA	Escherichia coli
28	<u>P32334</u>	swiss 42.4 0	MSB2_TEAST Protein MSB2 (Multicopy suppressor of bud emergence 2)	Saccharomyces cerevisiae (Baker's yeast)
39	<u>Q8THH3</u>	swiss 43.5 0	ARQA_METAC Probable 3-phosphoshikimate 1-carboxymethyltransferase (EC 2.5.1.19) (5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase) (EPSP synthase) (EPSPS)	Methanosarcina acetivorans
316	<u>P35908</u>	swiss 42 0	KZ2E_HUMAN Keratin, type II cytoskeletal 2 (epidermal) (Cytokeratin-26) (K26)	Homo sapiens (Human)
388	<u>Q59037</u>	swiss 41.2 0.01	SMC_METJA Chromosome partition protein (sinc homolog)	Methanococcus jamastrichii
351	<u>P61184</u>	swiss 41.6 0.01	HTPG_BDEBA Chaperone protein htpG (Heat shock protein htpG) (high temperature protein G)	Bdellovibrio bacteriovorus
338	<u>P75905</u>	swiss 40.8 0.01	PGAC_ECOLI Biotinl PGA synthase N-glycosyltransferase pgac (EC 2.4.-.-)	Escherichia coli
358	<u>P96645</u>	swiss 38.9 0.02	YDDH_BACSU Hypothetical protein yddH precursor	Bacillus subtilis
239	<u>Q017Z7</u>	swiss 38.7 0.02	MSHR_MOUSE Melanocyte-stimulating hormone receptor (MSH-R) (Melanotropin receptor) (Melanocortin receptor 1) (MCR-1)	Mus musculus (Mouse)
129	<u>P55564</u>	swiss 38.9 0.02	CUTL1_MOUSE Homeobox protein cut-like 1 (COXAT displacement protein) (CDP) (Homeobox protein Cux)	Mus musculus (Mouse)
320	<u>P25391</u>	swiss 38.1 0.04	LAMA1_HUMAN Laminin alpha-1 chain precursor (Laminin A chain)	Homo sapiens (Human)
266	<u>Q8YQW3</u>	swiss 36.5 0.04	RPOB_ONYPE DNA-directed RNA polymerase beta chain (EC 2.7.7.6) (RNAP beta subunit) (Transcriptase beta chain) (RNA polymerase beta subunit)	Onchocerca volvulus (Yellow fever fly)

【 図 5 - 2 6 】

名称	識別子	データベーススコア E 値	説明	有機体
238	<u>P48608</u>	swiss 38.5 0.07	DIA_DROME Protein diaphanous	Drosophila melanogaster (Fruit fly)
407	<u>Q5FL66</u>	swiss 37 0.08	Y211_GLUOX UPF0271 protein GOX0211. Gluconobacter oxydans (Gluconobacter xyloxydans)	Gluconobacter oxydans (Gluconobacter xyloxydans)
74	<u>P09489</u>	swiss 37.7 0.11	PRTS_SERMA Extracellular serine protease precursor (EC 3.4.21.-)	Serratia marcescens
61	<u>Q8WVJ1</u>	swiss 36.6 0.11	CLPX_LESPL ATP-dependent Clp protease precursor (EC 3.4.21.-)	Legionella pneumophila (strain Lens)
379	<u>P37608</u>	swiss 37 0.17	LCX3_LACLA Lactacin 481 (lactococin transport) processing ATP-binding protein (lactacin)	Lactococcus lactis subsp. lactis (Streptococcus lactis)
154	<u>Q4L4H8</u>	swiss 36.2 0.17	SECA_STAHU Preproliferin translocase seaA subunit	Staphylococcus haemolyticus (strain JCSC1435)
16	<u>Q67178</u>	swiss 36.6 0.19	Y1088_AQUAE Hypothetical protein aq_1088	Aquifex aeolicus
453	<u>Hypothetical protein DVU1683</u>	swiss 36.2 0.2	GYRA_FIBSU DNA gyrase subunit A (EC 5.99.1.3) (Fragment)	Fibrobacter succinogenes (Bacteroides succinogenes)
144	<u>Q60963</u>	swiss 35.8 0.23	PAFA_MOUSE Platelet-activating factor acetylhydrolase precursor (EC 3.1.1.47) (PAF-associated phospholipase A2) (LDL-associated acyl-1-alkylglycerophosphocholine esterase) (1-alkyl-2-acetylphosphocholine esterase)	Mus musculus (Mouse)
311	<u>P72831</u>	swiss 35 0.33	Y1288_SVINY3 Hypothetical protein sir1288	Synechocystis sp. (strain PCC 6803)
403	<u>P12728</u>	swiss 36.2 0.33	PSA_DICD1 Prepsore-specific cell surface antigen PSA precursor (D19 protein)	Dicystostellum discoideum (Slime mold)
78	<u>P32773</u>	swiss 36.2 0.34	TOA1_YEAST Tyrosinase initiation factor IIA large chain (TFIIA-32 kDa subunit)	Saccharomyces cerevisiae (Baker's yeast)

【 図 5 - 2 7 】

名称	識別子	データベーススコア E 値	説明	有機体
326	<u>E32783</u>	swiss 35 0.37	YH46_YEAST Hypothetical 41.8 kDa protein in SPO13-ARG4 intergenic region	Saccharomyces cerevisiae (Baker's yeast)
209	<u>Q810S4</u>	swiss 34.7 0.43	TH11_METAC Probable thiamine biosynthesis protein th1	Methanosarcina acetivorans
112	<u>Q8QV85</u>	swiss 34.7 0.46	ADDG_MOUSE Gamma-adducin (Adducin-like) protein 70	Mus musculus (Mouse)
172	<u>Q7XQJ9</u>	swiss 34.7 0.47	UB202_RABIT Ubiquitin-conjugating enzyme O2 (EC 6.3.2.19) (Ubiquitin-protein ligase O2) (Ubiquitin carrier protein Q2) (Ubiquitin-conjugating enzyme UBCQ)	Oryctolagus cuniculus (Rabbit)
416	<u>P113688</u>	swiss 34.3 0.57	POL_IPMA Putative Pol polyprotein (Contains: integrase (IN); Reverse transcriptase/ribonuclease H (EC 2.7.7.49) (EC 3.1.26.4) (RT))	Mouse intracisternal A-particle MIA14 (IAP-MIA14)
440	<u>P460U7</u>	swiss 34.3 0.73	AGGA_ECOLI AAF1 fibrillar subunit precursor (Aggregative adherence fimbria 1)	Escherichia coli
234	<u>Q855K3</u>	swiss 35 0.79	UTP11_RAT Probable U3 small nuclear RNA-associated protein 11 (U3 snRNA-associated protein 11)	Rattus norvegicus (Rat)
281	<u>Q8JKU0</u>	swiss 33.5 0.98	TZR16_RAT Taste receptor type 2 member 16 (TZR16) (TZR16)	Rattus norvegicus (Rat)
451	<u>Q6CADD</u>	swiss 33.1 1.2	ATM_YARLI Serine/threonine-protein kinase TEL1 (EC 2.7.11.1) (DNA-damage checkpoint kinase TEL1) (Telomere length regulation protein 1) (ATM homolog)	Yarrowia lipolytica (Candida lipolytica)
360	<u>P49467</u>	swiss 32.7 1.7	AGAL1_PEDPE Alpha-galactosidase 1 (EC 3.2.1.22) (Melibiose)	Pentacoccus pentosaceus
278	<u>Unannotated protein product from the genome of Homo sapiens (intracellular)</u>	swiss 32.3 1.7	ADRO_HUMAN NADPH-adrenodoxin oxidoreductase, mitochondrial precursor (EC 1.18.1.2) (Adrenodoxin reductase) (AR) (Ferredoxin:nicotinamide (NADP+) reductase)	Homo sapiens (Human)

100 Glutamylyl- and glutaminyl-tRNA synthetases CO00008
101 ATP-dependent DNA helicase, UvrD/RBP family CO0210

102 Drug resistance transporter CO0477
103 HspE CO06309
104 Preproteasin translocase, SecA subunit CO0653

105 Hypothetical protein J00631
106 MtlL CO0323
107 GroEL/Hsp60 homolog CO0459

108 FigE COG1749
109 (Sequence 6 from patent US 6005696)
110 (Sequence 7 from patent US 6005696) peptidase protein

111 UNKNOWN
112 UNKNOWN
113 UNKNOWN
114 Membrane-associated zinc metalloprotease CO0750

115 UNKNOWN
116 COG4395
117 Seryl-tRNA synthetase CO0172

118 UNKNOWN
119 UNKNOWN
120 UNKNOWN
121 Lactate/glycerate dehydrogenase CO01052

122 UNKNOWN
123 UNKNOWN
124 ABC transporter permease CO00767
125 UDP-N-acetyl-D-mannose 6-phosphate dehydrogenase CO06677

126 PqaA
127 UNKNOWN
128 UNKNOWN
129 UNKNOWN

130 UNKNOWN
131 UNKNOWN
132 UNKNOWN
133 UNKNOWN

134 UNKNOWN
135 UNKNOWN
136 UNKNOWN
137 UNKNOWN

138 UNKNOWN
139 UNKNOWN
140 UNKNOWN
141 UNKNOWN

142 UNKNOWN
143 UNKNOWN
144 UNKNOWN
145 UNKNOWN

146 UNKNOWN
147 UNKNOWN
148 UNKNOWN
149 UNKNOWN

150 UNKNOWN
151 UNKNOWN
152 UNKNOWN
153 UNKNOWN

154 UNKNOWN
155 UNKNOWN
156 UNKNOWN
157 UNKNOWN

158 UNKNOWN
159 UNKNOWN
160 UNKNOWN
161 UNKNOWN

162 UNKNOWN
163 UNKNOWN
164 UNKNOWN
165 UNKNOWN

166 UNKNOWN
167 UNKNOWN
168 UNKNOWN
169 UNKNOWN

170 UNKNOWN
171 UNKNOWN
172 UNKNOWN
173 UNKNOWN

174 UNKNOWN
175 UNKNOWN
176 UNKNOWN
177 UNKNOWN

178 UNKNOWN
179 UNKNOWN
180 UNKNOWN
181 UNKNOWN

182 UNKNOWN
183 UNKNOWN
184 UNKNOWN
185 UNKNOWN

186 UNKNOWN
187 UNKNOWN
188 UNKNOWN
189 UNKNOWN

190 UNKNOWN
191 UNKNOWN
192 UNKNOWN
193 UNKNOWN

194 UNKNOWN
195 UNKNOWN
196 UNKNOWN
197 UNKNOWN

198 UNKNOWN
199 UNKNOWN
200 UNKNOWN
201 UNKNOWN

202 UNKNOWN
203 UNKNOWN
204 UNKNOWN
205 UNKNOWN

206 UNKNOWN
207 UNKNOWN
208 UNKNOWN
209 UNKNOWN

210 UNKNOWN
211 UNKNOWN
212 UNKNOWN
213 UNKNOWN

214 UNKNOWN
215 UNKNOWN
216 UNKNOWN
217 UNKNOWN

218 UNKNOWN
219 UNKNOWN
220 UNKNOWN
221 UNKNOWN

222 UNKNOWN
223 UNKNOWN
224 UNKNOWN
225 UNKNOWN

226 UNKNOWN
227 UNKNOWN
228 UNKNOWN
229 UNKNOWN

230 UNKNOWN
231 UNKNOWN
232 UNKNOWN
233 UNKNOWN

234 UNKNOWN
235 UNKNOWN
236 UNKNOWN
237 UNKNOWN

238 UNKNOWN
239 UNKNOWN
240 UNKNOWN
241 UNKNOWN

242 UNKNOWN
243 UNKNOWN
244 UNKNOWN
245 UNKNOWN

246 UNKNOWN
247 UNKNOWN
248 UNKNOWN
249 UNKNOWN

250 UNKNOWN
251 UNKNOWN
252 UNKNOWN
253 UNKNOWN

254 UNKNOWN
255 UNKNOWN
256 UNKNOWN
257 UNKNOWN

258 UNKNOWN
259 UNKNOWN
260 UNKNOWN
261 UNKNOWN

262 UNKNOWN
263 UNKNOWN
264 UNKNOWN
265 UNKNOWN

266 UNKNOWN
267 UNKNOWN
268 UNKNOWN
269 UNKNOWN

270 UNKNOWN
271 UNKNOWN
272 UNKNOWN
273 UNKNOWN

274 UNKNOWN
275 UNKNOWN
276 UNKNOWN
277 UNKNOWN

278 UNKNOWN
279 UNKNOWN
280 UNKNOWN
281 UNKNOWN

282 UNKNOWN
283 UNKNOWN
284 UNKNOWN
285 UNKNOWN

286 UNKNOWN
287 UNKNOWN
288 UNKNOWN
289 UNKNOWN

290 UNKNOWN
291 UNKNOWN
292 UNKNOWN
293 UNKNOWN

294 UNKNOWN
295 UNKNOWN
296 UNKNOWN
297 UNKNOWN

298 UNKNOWN
299 UNKNOWN
300 UNKNOWN
301 UNKNOWN

302 UNKNOWN
303 UNKNOWN
304 UNKNOWN
305 UNKNOWN

306 UNKNOWN
307 UNKNOWN
308 UNKNOWN
309 UNKNOWN

310 UNKNOWN
311 UNKNOWN
312 UNKNOWN
313 UNKNOWN

314 UNKNOWN
315 UNKNOWN
316 UNKNOWN
317 UNKNOWN

318 UNKNOWN
319 UNKNOWN
320 UNKNOWN
321 UNKNOWN

322 UNKNOWN
323 UNKNOWN
324 UNKNOWN
325 UNKNOWN

326 UNKNOWN
327 UNKNOWN
328 UNKNOWN
329 UNKNOWN

330 UNKNOWN
331 UNKNOWN
332 UNKNOWN
333 UNKNOWN

DFVYPNDSFFYDDLPGKALRLEQTOIMTY

32 318255-PD [Drosophila melanogaster]???

129 UNKNOWN

130 UNKNOWN

131 UNKNOWN

132 UNKNOWN

133 UNKNOWN

134 UNKNOWN

TGVSSPSSKVVYLLSSGSEATHWSSISMPVMBOSLSSGGKRTIYLSMVSGLISFGQDSSGSEASBNK

330 Chemotaxis protein COG0643

331 Glutamate synthase COG0493

332 Methyltransferase COG2933

333 UNKNOWN

334 Translation initiation factor IP-2 COG0532

335 UNKNOWN

336 UNKNOWN

337 UNKNOWN

338 UNKNOWN

339 UNKNOWN

330 Chemotaxis protein COG0643

331 Glutamate synthase COG0493

332 Methyltransferase COG2933

333 UNKNOWN

334 Translation initiation factor IP-2 COG0532

335 UNKNOWN

336 UNKNOWN

337 UNKNOWN

338 UNKNOWN

339 UNKNOWN

340 UNKNOWN

AVNHARAANVIMVAVNMDKPEANPDVRLBLSGLVDPWHDQDITVYKYSALSDILBLLLELALQDILELAKN

337 PAD synthase COG0196

338 Hsp COG0066

340 PlgB COG1749

341 UNKNOWN

335 UNKNOWN

336 UNKNOWN

337 UNKNOWN

338 UNKNOWN

339 UNKNOWN

340 UNKNOWN

341 UNKNOWN

342 UNKNOWN

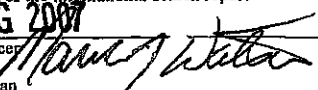
343 UNKNOWN

344 UNKNOWN

【配列表】

2009509496000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US06/16559		
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER				
IPC: C12Q 1/68(2006.01);C07H 21/04(2006.01);C12P 21/06(2006.01);C07K 14/195(2006.01);C12N 15/74(2006.01)				
USPC: 530/350;536/23.7;435/6,69.1,252.3,320.1 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC				
B. FIELDS SEARCHED				
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 530/350; 536/23.7; 435/6, 69.1, 252.3, 320.1				
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched				
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) STIC database search for SEQ ID NO:1				
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.		
X	WO 2004/033631 (KAPUR ET AL.) 22 April 2004 (22.04.2004), see entire document especially SEQ ID NO:10,801.	1 and 3-5		
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.				
* Special categories of cited documents: <table border="0" style="width: 100%;"> <tr> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier application or patent published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed </td> <td style="width: 50%; vertical-align: top;"> "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family </td> </tr> </table>			"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier application or patent published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier application or patent published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family			
Date of the actual completion of the international search 25 June 2007 (25.06.2007)		Date of mailing of the international search report 31 AUG 2007		
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (571) 273-3201		Authorized officer:  Robert A. Zeman Telephone No. (703) 308-0196		

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US06/16559

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

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

1. Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
Please See Continuation Sheet

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying additional fees, this Authority did not invite payment of any additional fees.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.: 1, 3-5 to the degree they read on SEQ ID NO:1

- Remark on Protest** The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
-

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No. PCT/US06/16559

BOX III. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING

This application contains the following inventions or groups of inventions which are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1. In order for all inventions to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid.

Groups 1-458, claim(s) 1, 3-5, drawn to polypeptides with the sequence of SEQ ID NO:1-455, SEQ ID NO:466 or encoded by a nucleic acid with the sequence of SEQ ID NO:456 or 457 respectively; vectors comprising said polypeptides; and immunological compositions comprising said polypeptides.

Groups 459-916, claim(s) 2-5, drawn to DNA molecules encoding polypeptides polypeptides with the sequence of SEQ ID NO:1-455, SEQ ID NO:466 or having the sequence of SEQ ID NO:456 or 457 respectively; vectors comprising said polypeptides; and immunological compositions comprising said polypeptides.

Groups 917-1374, claim(s) 6-7, drawn to methods of treating an animal against *Lawsonia intracellularis* using polypeptides with the sequence of SEQ ID NO:1-455, SEQ ID NO:466 or encoded by a nucleic acid with the sequence of SEQ ID NO:456 or 457 respectively.

Groups 1375-1832, claim(s) 6-7, drawn to drawn to methods of treating an animal against *Lawsonia intracellularis* using DNA molecules encoding polypeptides polypeptides with the sequence of SEQ ID NO:1-455, SEQ ID NO:466 or having the sequence of SEQ ID NO:456 or 457 respectively.

Groups 1833-2290, claim(s) 8, drawn to the use of polypeptides with the sequence of SEQ ID NO:1-455, SEQ ID NO:466 or encoded by a nucleic acid with the sequence of SEQ ID NO:456 or 457 respectively to prepare a medicament.

Groups 2291-2748, claim(s) 8, drawn to the use of DNA molecules encoding polypeptides polypeptides with the sequence of SEQ ID NO:1-455, SEQ ID NO:466 or having the sequence of SEQ ID NO:456 or 457 respectively, to prepare a medicament.

Groups 2749-3206, claim(s) 9, drawn to methods of detecting antibodies using polypeptides with the sequence of SEQ ID NO:1-455, SEQ ID NO:466 or encoded by a nucleic acid with the sequence of SEQ ID NO:456 or 457 respectively.

The inventions listed as Groups 1-3206 do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons:

Pursuant to 37 C.F.R. 1.475(d), the ISA/US considers that where multiple products and processes are claimed, the main invention shall consist of the first invention of the category first mentioned in the claims and the first recited invention of each of the other categories related thereto. Accordingly, the main invention (Group I) comprises the first recited product, a polypeptide with the sequence of SEQ ID NO:1. Further pursuant to 37 C.F.R. 1.475(d), the ISA/US considers that any feature which the subsequently recited products and methods share with the main invention does not constitute a special technical feature within the meaning of PCT rule 13.2 and that each of such products and methods accordingly defines a separate invention.

The special technical feature of each of groups 1-3206 are the biological and immunological properties engendered by the specific sequence of the polypeptide or DNA molecule.

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード(参考)
G 0 1 N 33/53 (2006.01)			G 0 1 N 33/53			N
G 0 1 N 33/569 (2006.01)			G 0 1 N 33/569			F

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

(74)代理人 100114007

弁理士 平山 孝二

(72)発明者 ヴォーン エリック

アメリカ合衆国 アイオワ州 5 0 0 1 4 エイムズ アッシュ アベニュー 5 0 9

(72)発明者 シェーファー メリル

アメリカ合衆国 ミズーリ州 6 4 5 0 7 セント ジョセフ ブルックヘヴン ドライヴ 5 3 0 2

(72)発明者 リャン ヤジー

アメリカ合衆国 アイオワ州 5 0 0 1 0 エイムズ ジェンセン アベニュー 2 5 1 7 アパートメント 3 2 8

Fターム(参考) 4B024 AA01 BA31 CA02 CA05 DA06 GA11

4C084 AA13 MA52 MA59 NA14 ZB352

4C085 AA03 BA02 BA20 GG08 GG10

4H045 AA11 AA20 AA30 BA10 CA11 DA86 EA29 EA52 FA74

【要約の続き】

アと共に含まれ、それを必要とする動物へ投与される。

专利名称(译)	细胞内劳索尼亚菌的免疫蛋白		
公开(公告)号	JP2009509496A	公开(公告)日	2009-03-12
申请号	JP2008509226	申请日	2006-04-28
[标]申请(专利权)人(译)	贝林格尔.英格海姆维特梅迪卡有限公司		
申请(专利权)人(译)	勃林格殷格翰胎儿本草公司		
[标]发明人	ヴォーンエリック シェーファーメリル リャンヤジー		
发明人	ヴォーン エリック シェーファー メリル リャン ヤジー		
IPC分类号	C12N15/09 C07K14/195 A61K39/106 A61K48/00 A61P31/04 G01N33/53 G01N33/569		
CPC分类号	C07K14/195 C07K16/12 G01N33/56911 G01N2469/20		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C07K14/195 A61K39/106 A61K48/00 A61P31/04 G01N33/53.N G01N33/569.F		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA31 4B024/CA02 4B024/CA05 4B024/DA06 4B024/GA11 4C084/AA13 4C084/MA52 4C084/MA59 4C084/NA14 4C084/ZB352 4C085/AA03 4C085/BA02 4C085/BA20 4C085/GG08 4C085/GG10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA11 4H045/DA86 4H045/EA29 4H045/EA52 4H045/FA74		
代理人(译)	小川伸男		
优先权	60/675806 2005-04-28 US 11/414764 2006-04-28 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明是一种有效的疫苗或免疫原性组合中以提供胞内劳森菌的保护性免疫，以减少与感染或感染易感动物的免疫原有关的临床症状的严重程度它提供了有用的碱基序列和氨基酸序列作为性别部分。优选的氨基酸序列是：1) SEQ ID NO：1-455，SEQ ID NO：466或SEQ ID NO：456，SEQ ID NO：457或SEQ ID NO：聚含选自由编码的多肽组成的组466的序列肽；2) 1种多肽具有至少85%序列同源性)，更优选至少约90%的序列同源性，甚至更优选至少约95%的序列同源性，甚至更优选从约97%甚至更优选至少约98%的序列同源性，甚至更优选至少约99%的序列同源性；3) 1) 的多肽和/或2) 的任何免疫原性部分；4) SEQ ID NO：1-455，SEQ ID NO：456或SEQ ID NO：457或SEQ ID NO：300至少包含氨基由466，290片编码的氨基酸序列的序列，280件，2件70,260,250,240,230,220,210,200,190,180,170,160,150,140,130,120,110，100,90,80,70,60,50,45,40,35,30,25,20,18,15,13,10或大多数优选的3的免疫原性部分)，包括至少9个连续氨基酸；和/或5) SEQ ID NO：1-455或SEQ ID NO：由DNA编码的多肽编码包含的466的序列的肽，从以下组成的组中选择：因此，编码蛋白质或蛋白质本身的核苷酸序列与兽医学上可接受的载体一起包含在疫苗组合中，并给于有需要的动物。

		特表2009-509 (P2009-5094)	
		(43) 公表日 平成21年3月12日(2009.3.)	
(51) Int. Cl.	F I	テーマコード (参考)	
C 1 2 N 1 5 / 0 9 (2006.01)	C 1 2 N 1 5 / 0 0 Z N A A	4 B 0 2 4	
C 0 7 K 1 4 / 1 9 5 (2006.01)	C 0 7 K 1 4 / 1 8 5	4 C 0 8 4	
A 6 1 K 3 9 / 1 0 6 (2006.01)	A 6 1 K 3 9 / 1 0 6	4 C 0 8 5	
A 6 1 K 4 8 / 0 0 (2006.01)	A 6 1 K 4 8 / 0 0	4 H 0 4 5	
A 6 1 P 3 1 / 0 4 (2006.01)	A 6 1 P 3 1 / 0 4		
		審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 58 頁) 最終頁に	
(21) 出願番号	特願2008-509226 (P2008-509226)	(71) 出願人	503345374
(86) (22) 出願日	平成18年4月28日(2006.4.28)		ベリンガー インゲルハイム フェト
(85) 翻訳文提出日	平成19年12月28日(2007.12.28)		ディカ インコーポレイテッド
(86) 国際出願番号	PCT/US2006/016559		アメリカ合衆国 ミズーリ州 6450
(87) 国際公開番号	W02006/116763		-2002 セント ジョセフ ノース
(87) 国際公開日	平成18年11月2日(2006.11.2)		ベルト ハイウェイ 2621
(31) 優先権主張番号	60/675,806	(74) 代理人	100082005
(32) 優先日	平成17年4月28日(2005.4.28)		弁理士 熊倉 慎男
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100084009
(31) 優先権主張番号	11/414,764		弁理士 小川 信夫
(32) 優先日	平成18年4月28日(2006.4.28)	(74) 代理人	100084663
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 箱田 篤
		(74) 代理人	100093300
			弁理士 浅井 賢治