

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第6092933号
(P6092933)

(45) 発行日 平成29年3月8日(2017.3.8)

(24) 登録日 平成29年2月17日(2017.2.17)

(51) Int.Cl.	F I
A 6 1 K 39/085 (2006.01)	A 6 1 K 39/085 Z N A
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D
G O 1 N 33/531 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N
請求項の数 14 外国語出願 (全 159 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2015-98351 (P2015-98351)	(73) 特許権者	507246198
(22) 出願日	平成27年5月13日 (2015.5.13)		エビトピックス、リミテッド ライアビリ
(62) 分割の表示	特願2012-502164 (P2012-502164)		ティ カンパニー
原出願日	平成22年3月23日 (2010.3.23)		アメリカ合衆国, ミネソタ 56201,
(65) 公開番号	特開2015-164949 (P2015-164949A)		ウィルマー, カウンティー ロード 5
(43) 公開日	平成27年9月17日 (2015.9.17)	(74) 代理人	100099759
審査請求日	平成27年6月11日 (2015.6.11)		弁理士 青木 篤
(31) 優先権主張番号	61/210,772	(74) 代理人	100077517
(32) 優先日	平成21年3月23日 (2009.3.23)		弁理士 石田 敬
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100087871
			弁理士 福本 積
		(74) 代理人	100087413
			弁理士 古賀 哲次
最終頁に続く			

(54) 【発明の名称】 ポリペプチド及びグラム陽性ポリペプチドを含有する免疫化組成物並びにこれらの使用方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号397のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有する第一の免疫原性単離ポリペプチドであって、但し、該第一の免疫原性単離ポリペプチドがアミノ末端においてさらなるアミノ酸を含む場合には、該さらなるアミノ酸が配列番号399のN末端アミノ酸1~26と比較して、少なくとも2つのアミノ酸修飾を含むことを条件とする、第一の免疫原性単離ポリペプチド、及び

少なくとも1つの第二のポリペプチドであって、鉄キレート剤を含んでなる培地においてインキュベートさせた場合に、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) から単離可能であり、そして鉄キレート剤非含有の培地中で成長させた場合に、単離不可能であり、88kDa、55kDa、38kDa、37kDa、36kDa、35kDa、又は33kDaの分子量を有する、第二のポリペプチド、を含んでなる、組成物。

【請求項2】

鉄キレート剤非含有の培地において成長させた場合に、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) から単離可能であり、且つ150kDa、132kDa、120kDa、75kDa、58kDa、50kDa、44kDa、43kDa、41kDa、40kDaの分子量を有する単離ポリペプチド；又はこのような単離ポリペプチドの組合せをさらに含んでなる、請求項1に記載の組成物。

【請求項3】

ブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) によって生じる感染症に罹患している又は罹患するリスクがある対象における感染症の治療のための医薬組成物であって、

有効量の第一の免疫原性単離ポリペプチドであって、ここで該第一の免疫原性単離ポリペプチドが配列番号397のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有し、但し、該第一の免疫原性単離ポリペプチドがアミノ末端においてさらなるアミノ酸を含む場合には、該さらなるアミノ酸が配列番号399のN末端アミノ酸1~26と比較して、少なくとも2つのアミノ酸修飾を含むことを条件とする、第一の免疫原性単離ポリペプチド、及び

有効量の第二のポリペプチドであって、鉄キレート剤を含んでなる培地においてインキュベートさせた場合に、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) から単離可能であり、そして鉄キレート剤非含有の培地中で成長させた場合に、単離不可能であり、88 kDa、55 kDa、38 kDa、37 kDa、36 kDa、35 kDa、又は33 kDaの分子量を有する、第二のポリペプチド、を含んでなる、医薬組成物。

10

【請求項4】

ブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) によって生じる感染症に罹患している対象における症状の治療のための医薬組成物であって、

有効量の第一の免疫原性単離ポリペプチドであって、ここで該第一の免疫原性単離ポリペプチドが配列番号397のアミノ酸配列と少なくとも95%の配列同一性を有し、但し、該第一の免疫原性単離ポリペプチドがアミノ末端においてさらなるアミノ酸を含む場合には、該さらなるアミノ酸が配列番号399のN末端アミノ酸1~26と比較して、少なくとも2つのアミノ酸修飾を含むことを条件とする、第一の免疫原性単離ポリペプチド、及び

20

少なくとも1つの第二のポリペプチドであって、鉄キレート剤を含んでなる培地においてインキュベートさせた場合に、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) から単離可能であり、そして鉄キレート剤非含有の培地中で成長させた場合に、単離不可能であり、88 kDa、55 kDa、38 kDa、37 kDa、36 kDa、35 kDa、又は33 kDaの分子量を有する、第二のポリペプチド、を含んでなる、医薬組成物。

【請求項5】

30

前記医薬組成物が：鉄キレート剤非含有の培地中で成長させた場合に黄色ブドウ球菌 (S. aureus) から単離可能であり、且つドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル上における電気泳動によって決定される場合、150 kDa、132 kDa、120 kDa、75 kDa、58 kDa、50 kDa、44 kDa、43 kDa、41 kDa、40 kDaの分子量を有する単離ポリペプチド；又はこのような単離ポリペプチドの組合せをさらに含んでなる、請求項3又は4に記載の医薬組成物。

【請求項6】

ブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) によって生じる感染症に罹患している又は罹患するリスクがある対象における感染症の治療のための医薬組成物であって、

配列番号397のアミノ酸配列からなる第一のポリペプチドに特異的に結合する有効量の第一の抗体、及び

40

第二のポリペプチドに特異的に結合する有効量の第二の抗体であって、ここで第二のポリペプチドが鉄キレート剤を含んでなる培地においてインキュベートさせた場合に、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) から単離可能であり、そして鉄キレート剤非含有の培地中で成長させた場合に、単離不可能であり、88 kDa、55 kDa、38 kDa、37 kDa、36 kDa、35 kDa、又は33 kDaの分子量を有する、第二の抗体、を含んでなる、医薬組成物。

【請求項7】

ブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) によって生じる感染症に罹患している対象にお

50

ける症状の治療のための医薬組成物であって、

配列番号 397 のアミノ酸配列からなる第一のポリペプチドに特異的に結合する有効量の第一の抗体、及び

第二のポリペプチドに特異的に結合する有効量の第二の抗体であって、ここで第二のポリペプチドが鉄キレート剤を含んでなる培地においてインキュベートさせた場合に、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) から単離可能であり、そして鉄キレート剤非含有の培地中で成長させた場合に、単離不可能であり、88 kDa、55 kDa、38 kDa、37 kDa、36 kDa、35 kDa、又は33 kDaの分子量を有する、第二の抗体、
を含んでなる、医薬組成物。

10

【請求項 8】

ブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) によってコロニー形成された対象におけるコロニー形成を減少するための医薬組成物であって、

有効量の第一の免疫原性単離ポリペプチドであって、ここで上記第一の免疫原性単離ポリペプチドが配列番号 397 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有し、但し、該第一の免疫原性単離ポリペプチドがアミノ末端においてさらなるアミノ酸を含む場合には、該さらなるアミノ酸が配列番号 399 の N 末端アミノ酸 1 ~ 26 と比較して、少なくとも 2 つのアミノ酸修飾を含むことを条件とする、第一の免疫原性単離ポリペプチド、及び

有効量の少なくとも 1 つの第二のポリペプチドであって、鉄キレート剤を含んでなる培地においてインキュベートさせた場合に、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) から単離可能であり、そして鉄キレート剤非含有の培地中で成長させた場合に、単離不可能であり、88 kDa、55 kDa、38 kDa、37 kDa、36 kDa、35 kDa、又は33 kDaの分子量を有する、第二のポリペプチド、
を含んでなる、医薬組成物。

20

【請求項 9】

前記医薬組成物が：鉄キレート剤非含有の培地中で成長させた場合に黄色ブドウ球菌 (S. aureus) から単離可能であり、且つドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル上における電気泳動によって決定される場合、150 kDa、292 kDa、120 kDa、75 kDa、58 kDa、50 kDa、44 kDa、43 kDa、41 kDa、40 kDaの分子量を有するポリペプチド；又はこのような単離ポリペプチドの組合せに特異的に結合する抗体をさらに含んでなる、請求項 6 又は 7 に記載の医薬組成物。

30

【請求項 10】

前記抗体がポリクローナル抗体である、請求項 6 又は 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 11】

前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項 6 又は 7 に記載の医薬組成物。

【請求項 12】

ポリペプチドに特異的に結合する抗体を検出するためのキットであって、別々の容器中に：

配列番号 397 のアミノ酸配列と少なくとも 95% の配列同一性を有し、但し、該単離ポリペプチドがアミノ末端においてさらなるアミノ酸を含む場合には、該さらなるアミノ酸が配列番号 399 の N 末端アミノ酸 1 ~ 26 と比較して、少なくとも 2 つのアミノ酸修飾を含むことを条件とする、単離ポリペプチド；及び、

40

ポリペプチドに特異的に結合する抗体を検出する試薬、
を含んでなるキット。

【請求項 13】

配列番号 397 のアミノ酸配列からなる単離ポリペプチドに特異的に結合する第一の抗体、及び

第二のポリペプチドに特異的に結合する第二の抗体であって、ここで第二のポリペプチドが鉄キレート剤を含んでなる培地においてインキュベートさせた場合に、黄色ブドウ球

50

菌 (*Staphylococcus aureus*) から単離可能であり、そして鉄キレート剤非含有の培地中で成長させた場合に、単離不可能であり、88 kDa、55 kDa、38 kDa、37 kDa、36 kDa、35 kDa、又は33 kDaの分子量を有する、第二の抗体、を含んでなる、組成物。

【請求項14】

ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) によってコロニーを形成された対象においてコロニー形成を減少するための医薬組成物であって、

配列番号397のアミノ酸配列からなる第一のポリペプチドに特異的に結合する有効量の第一の抗体、及び

第二のポリペプチドに特異的に結合する有効量の第二の抗体であって、ここで第二のポリペプチドが鉄キレート剤を含んでなる培地においてインキュベートさせた場合に、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) から単離可能であり、そして鉄キレート剤非含有の培地中で成長させた場合に、単離不可能であり、88 kDa、55 kDa、38 kDa、37 kDa、36 kDa、35 kDa、又は33 kDaの分子量を有する、第二の抗体、を含んでなる、医薬組成物。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願の相互参照

本出願は、2009年3月23日に出願された米国仮出願第61/210,772号の優先権を主張する。

【背景技術】

【0002】

グラム陽性菌は、ヒト及び動物のいずれにおいても種々の疾患を生じる生物の非常に多様な群である。ヒト及び/又は動物の健康における重大性が認識されている病原体の中には、コリネバクテリアセエ科 (*Corynebacteriaceae*)、エンテロコッカス科 (*Enterococaceae*)、ミクロコッカス科 (*Micrococcaceae*)、マイコバクテリア科 (*Mycobacteriaceae*)、ノカルジア科 (*Nocardiaceae*)、及びペプトコッカス科 (*Peptococcaceae*) に属する細菌が含まれ、アクチノミセス菌属 (*Actinomyces* spp.)、ビフィズス菌属 (*Bifidobacterium* spp.)、コリネバクテリウム菌属 (*Corynebacterium* spp.)、エンテロコッカス菌属 (*Enterococcus* spp.)、エリシペロスリクス菌属 (*Erysipelothrix* spp.)、ユーバクテリウム菌属 (*Eubacterium* spp.)、キトコッカス属 (*Kytococcus* spp.)、ラクトバチルス菌属 (*Lactobacillus* spp.)、ミクロコッカス菌属 (*Micrococcus* spp.)、モビルンカス菌属 (*Mobiluncus* spp.)、マイコバクテリア菌属 (*Mycobacteria* spp.)、ペプトストレプトコッカス菌属 (*Peptostreptococcus* spp.)、プロピオニバクテリウム菌属 (*Propionibacterium* spp.)、及びブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) 等の細菌が含まれる。これらの病原体は、多くの異なる動物種において多くの臨床症状を生じる。このような感染症のための治療は、歴史的にはグラム陽性生物の共通構造及び機能を攻撃する抗生物質であった。しかしながら、多くのより広範に存在するグラム陽性生物は、抗生物質の一部のクラスに対する耐性を発達させて、感染症の治療が困難である。ヒト及び食物生産動物のいずれにおける細菌疾患の治療での抗生物質の広範囲に及ぶ使用は、グラム陽性生物の多くの種の抗生物質耐性株の増殖の主たる要因である可能性が高い。従って、動物及びヒトにおけるグラム陽性生物による感染を予防又は排除する別の治療を発見することが非常に必要である。

【0003】

農業動物におけるブドウ球菌感染症

農産業において、多数の重大な疾患がグラム陽性生物によって生じる。グラム陽性菌感染症によって生じる臨床症状の例は、乳腺炎、敗血症、肺炎、骨髄炎、髄膜脳炎、リンパ管炎、皮膚炎、生殖器感染症、子宮炎、周産期疾患、下垂体膿瘍、関節炎、滑液包炎、精

10

20

30

40

50

巢炎、膀胱炎及び腎盂腎炎、リンパ節炎、結核、潰瘍性リンパ管炎、丹毒、蹄葉炎、チザー病、破傷風、ポツリヌス症、腸炎、悪性水腫、ブラクシー病 (braxy)、桿菌性ヘモグロビン尿症、腸毒血症が含まれる。ブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) は、特に農業動物の多くの異なる種に感染することができ、膨大な経済的損失を生じ得る。例えば、米国酪農業において、乳腺炎、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) によって度々生じる疾患に起因して、毎年乳牛1頭当たり約\$185を損出すると見積もられている。米国では9.500万頭の乳牛が飼育されているので、乳腺炎の年間コストは約\$18億である。これは、農家の牛乳販売の総売上げの約10%であり、この損失の約3分の2は、準臨床的に(無症状に)感染した乳牛における牛乳の生産の減少に起因する。他の損失は、異常乳の廃棄及び抗生物質で治療された乳牛由来の乳の保留、発症した乳牛の早期差し替えコスト、選別された乳牛の売却価額の低下、薬及び獣医サービスのコスト及び人件費の増加に起因する。ウシ酪農業内のこの蔓延に加えて、グラム陽性球菌によって生じる乳腺炎はまた、ヤギ及びヒツジの間で共通する。黄色ブドウ球菌 (S. aureus) によって生じるさらなる動物疾患には、ウマにおけるポトリオミセス症、家禽における化膿性滑膜炎及び骨髄炎、ウサギにおけるスナッフ、ブタにおける流産、及び子ヒツジにおけるダニ性膿血が含まれる。ブドウ球菌の他の種は、イヌ及びブタの主たる皮膚病原体である{イヌ:(ストレプトコッカス・インターメディウス (S. intermedius))}{ブタ:スタフィロコッカス・ヒカス (S. hycius)}。家禽種において、ブドウ球菌病原体は心膜炎及び敗血症を生じる。

10

【0004】

20

ヒトにおけるブドウ球菌感染症

ブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) はまた、多種多様な感染症を生じるヒト病原体である。ヒト粘膜及び皮膚の共通の生着菌である、種黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) は、様々なヒト感染症を生じうる日和見病原体である。例えば、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) は、膿痂疹、せつ腫症、蜂窩織炎、及び熱傷様皮膚症候群、並びに潜在的に致命的な手術後の創傷感染症を含む一部の皮膚感染症の原因病原体である。加えて、病院内 (hospital settings) での易感染性個人の黄色ブドウ球菌 (S. aureus) への曝露は、結果、器官感染症、例えば肺炎、尿路感染症、骨髄炎、関節炎、菌血、及び心内膜炎を生じている。黄色ブドウ球菌 (S. aureus) はまた、中毒症、最も顕著な毒素性ショック症候群及び食中毒の原因病原体である。ブドウ球菌エンテロトキシンBによって生じる食中毒は、食物由来の疾病、特にサルモネラ症、カンピロバクター症及びリステリア症の最も一般的な原因である。ブドウ球菌の他の種はまた、ヒト疾患を生じ; 表皮ブドウ球菌 (S. epidermidis)、スタフィロコッカス・ヘモリティカス (S. haemolyticus) 及びスタフィロコッカス・ホミニス (S. hominis) は通常埋め込み医療機器に感染し、並びに腐生ブドウ球菌 (S. saprophyticus) は、女性における尿路感染症と関連がある。

30

【0005】

ブドウ球菌の病原性機構

ブドウ球菌は、種々の宿主組織に感染し、宿主環境に関連する制限的な資源及び活発な防御の中で生存するためにデザインされた数種類のタイプの分泌タンパク質、細胞表面発現病原性因子の産生及び代謝系を介して、免疫系を回避する。コロニー形成は、感染の確立における必須の第一段階であり; 莢膜、リポテイコ酸、及びテイコ酸を含む多数の因子は、コロニー形成に寄与する共通の構成成分である。加えて、表面タンパク質、例えばブドウ球菌フィブロネクチン結合タンパク質及び骨シアロタンパク質結合タンパク質は、特異的に宿主組織構成成分に結合する。毒素は、通常ブドウ球菌病原体間で産生され、非常にダメージを与え; 食中毒、毒素性ショック症候群及び剥離性皮膚状態を含む一部のヒト疾患は、細胞外分泌毒素タンパク質の直接的な結果である。単一の単離株は、20~30種の異なる分泌毒素に関する遺伝子をコードする。分泌タンパク質生成物の一部は、抗原提示細胞のMHCクラスII分子、同時に、T細胞のT細胞受容体に非特異的に結合することができるスーパー抗原である。結合は、T細胞シグナル伝達を誘発し、高レベルの炎症誘発性因子の放出につながり、最終的に極度の免疫応答に起因する宿主のダメージを誘

40

50

発する。表面上に発現される病原性因子の他のクラスは、宿主免疫系から細菌を隠す。例えば、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 細胞表面発現タンパク質 A は、宿主抗体の Fc 構成成分の結合によってオプソニン作用及び食作用を抑制する。多数のプロテアーゼ、溶血素 (アルファ、ベータ、ガンマ及びデルタ)、ヌクレアーゼ、リパーゼ、ヒアルロニダーゼ、及びコラゲナーゼもまた、細菌を周囲細胞からの栄養分の抽出及び宿主防御からの保護において補助する。

【 0 0 0 6 】

ブドウ球菌間の抗生物質耐性

CDC の推定によれば、米国において毎年ほぼ 200 万人が院内感染症に罹患し、毎年 90,000 人が死亡している。これらの致命的な感染症のうち、70% は抗生物質耐性細菌によって生じる。微生物種間の抗生物質耐性の増加は、皮膚及び粘膜生着菌、例えば黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) において特に明白である。例えば、病院内から単離される大多数の黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) はペニシリンに耐性を示し、50% はまた半合成ペニシリン、例えばメチシリン、ナフシリン、及びオキサシリンに耐性を示す。MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*)) と呼ばれるこれらの単離株は、1970 代に初めて観察され、今日病院内において深く根付いてしまっている。近年、感染した個人は病院又は医療従事者への以前の曝露がないコミュニティにおける MRSA 感染症のケースが存在する。この驚くべき傾向は、MRSA を治療するために使用されるグリコペプチドであるバンコマイシンへの感受性がより低い MRSA 単離株の単離によって増強される。バンコマイシン耐性の CDC の定義によれば、本当にバンコマイシンに耐性を示すことが示されている株はほとんどないが、一部の MRSA 株は、バンコマイシンに対する感受性が低下した亜集団、又は VISA (バンコマイシン低感受性黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*)) から構成されると特徴付けられる。バンコマイシン耐性及びバンコマイシン低感受性株の単離は、相対的に新たに発展したものであるため、病院及び / 又はコミュニティ内におけるこれらの蔓延に関するデータがほとんどない。時折、バンコマイシンに対する完全な耐性を有し且つ恐らくエンテロコッカス菌属 (*Enterococcus* spp.) から得られる耐性プラスミドを運搬する VRSA (バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*)) もまた、ヒトから回収されている。

【 0 0 0 7 】

ブドウ球菌感染症の予防及び治療のためのストラテジー

複数の抗生物質に耐性を示す多数のグラム陽性病原体の出現によって、疾患から保護するための予防ワクチンの開発を目的とする研究努力が活発化されてきた。ワクチンは、免疫系からの長期記憶応答を誘発するために患者に投与されるようデザインされ、これにより将来病原体に遭遇した場合に、免疫系はより迅速且つ効率的に病原体を除去することができる。今日まで、グラム陽性病原体と関連がある多数の重度のヒト疾患、特にブドウ球菌感染症と関連がある疾患に対する広範の予防ワクチンは、利用できていない。ブドウ球菌感染症からの予防のためのワクチン開発のアプローチは、接着マトリックス分子 [MSCRAMMs (Nilsson et al. 1998. *J Clin Invest* 101 :2640-9; Menzies et al. 2002. *J Infect Dis* 185:937-43; Fattom et al. 2004. *Vaccine* 22:880-7)]、表面ポリサッカライド (McKenney et al. 2000; McKenzie et al. 1999. *Science* 284:1523-7; Maira-Litran et al. 2002. *Infect Immun* 70:4433-40; Maira-Litran et al. 2004. *Vaccine* 22:872-9; Maira-Litran et al. 2005. *Infect Immun* 73 : 6752-62) 及び変異細胞外タンパク質 (exoprotein) (Lowell et al. 1996. *Infect Immun* 64 :4686-93 ; Stiles et al. 2001. *Infect Immun* 69:2031-6; Gampfer et al. 2002. *Vaccine* 20:3675-84) を、サブユニットワクチン組成物、並びに 1 種の生弱毒性株 (Reinoso et al. 2002. *Can J Vet Res* 66:285-8) 及び一部の DNA ワクチンアプローチ (Ohwada et al. 1999. *J Antimicrob Chemother* 44:767-74 ; Brouillette et al. 2002. *Vaccine* 20:2348-57; Senna et al. 2003. *Vaccine* 21:2661-6) における抗原として認識している微生物表面の構成成分の使用を報告するものを含む。多くこれらの組成物はある程度の防御を示すにもかかわらず、様々なスタフィロコッカス・ヒカス株に対する交差防御をほとんど達成しておらず、さらに易

感染性患者、院内感染に関してリスクの高い集団において実質的に免疫応答を誘発することができていない。

【 0 0 0 8 】

最も重度のブドウ球菌疾患は、抗原提示とは無関係に非特異的にT細胞を刺激する上述のスーパー抗原発熱性外毒素(SPE)によって媒介されるものである。このような疾患は、毒素性ショック症候群、剥離性皮膚疾患、及び場合により川崎症候群を含む。これらのSPE媒介される疾患に関して、活発な感染中に免疫系を追加免疫する免疫療法剤は、典型的には感染の前に投与されるワクチンよりたびたびより効果的である。SPEへの免疫応答が強力なため、治療における第一の目的として毒素活性の迅速な低下を必要とする。今日まで、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)媒介疾患における毒素中和は、数千人のヒトドナー由来の静脈内ヒト免疫グロブリン(IVIG)、精製され、濃縮されたヒト抗体製剤の投与によって最も効果的に達成されている(Takei et al. 1993. *J Clin Invest* 91:602-7; Stohl and Elliot. 1996. *Clin Immunol Immunopathol* 79:122-33)。約30%の健康なヒト成人においてコロニーを形成する、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)の広範囲に及ぶ分布は、集団の大部分に対する高曝露率と一致し、よって、IVIGにおける抗ブドウ球菌抗毒素抗体のレベルは毒素を中和するのにたびたび十分であり、細菌負荷が抗生物質で低下するまで免疫応答を安定化する(Schlievert, 2001. *J Allergy Clin Immunol* 108(4 Suppl):S107-110)。複数の製造者からのrIVIG製剤は、ヒト抹消血単核細胞での増殖アッセイにおいて毒素を中和し、インビトロ(in vitro)で毒素誘発ヒトT細胞由来B細胞の分化を抑制し(Stohl and Elliot. 1996. *Clin Immunol Immunopathol* 79:122-33; Stohl and Elliott. 1995. *J Immunol* 155:1838-50; Stohl et al. 1994. *J Immunol* 153:117-27)、さらにブドウ球菌エンテロトキシンBで刺激されたPBMCにおけるIL-4及びIL-2分泌を減少することが示されている(Takei et al. 1993. *J Clin Invest* 91:602-7; Darenberg et al. 2004. *Clin Infect Dis* 38:836-42)。証明済みのSPEを中和する能力でのIVIG治療は、川崎症候群に対して今日推奨される治療であり、ブドウ球菌毒素性ショック症候群のための治療方法として支持される(Schlievert 2001. *J Allergy Clin Immunol* 108(4 Suppl):S107-110)。外科手術中の免疫防御創傷の洗浄としてのIVIGの使用はまた、マウスで調査されてきた(Poelstra et al. 2000. *Tissue Eng* 6(4):401-411)。標準的なIVIGはブドウ球菌SPE媒介疾患の進行を制限するのに有用であるが、数千の任意抽出されたヒトドナーから産生されたヒトIVIG製剤の安全性、有効性及び安定性は、議論の余地が残されたままである(Baker et al. 1992. *N Engl J Med* 327:213-9; Miller et al. 2001. *J Allergy Clin Immunol* 108:S91-4; Sacher, 2001. *J Allergy Clin Immunol* 108:S139-46; Darenberg et al. 2004. *Clin Infect Dis* 38:836-42)。さらに、ブドウ球菌感染症の予防におけるIVIGの利点は不確かである(Baker et al. 1992. *N Engl J Med* 327:213-9; Hill, H. R. 2000. *J Pediatr* 137:595-7; Darenberg et al. 2004. *Clin Infect Dis* 38:836-42)。一定のリスクがある集団においてブドウ球菌感染症を治療することにおいてIVIGの有効性を増加するために、血漿由来の、ドナー選択された、ブドウ球菌MSCRAMM凝集因子A(ClfA)及びフィブリノゲン結合タンパク質G(SdrG)に対する抗体の高抗体価のポリクローナル抗ブドウ球菌ヒトIgGを作製し試験したところ、出生時体重が非常に低い乳児においてブドウ球菌敗血症を予防することに成功した(Vernachio et al. 2003. *Antimicrob Agents Chemother* 47:3400-6; Bloom et al. 2005. *Pediatr Infect Dis J* 24:858-866; Capparelli et al. 2005. *Antimicrob Agents Chemother* 49:4121-7)。黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)MSCRAMM凝集因子Aに対して特異的なヒト化モノクローナル抗体もまた、開発されている。抗体を、ヒトフィブロネクチンに結合している黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)を抑制する態様でCIfAを結合するその能力のために数千のマウス抗CIfA抗体のプールから選択し、続いて相同ヒト生殖系列サブグループ抗体を模倣するよう、特異的な標的残基を変異することによってヒト化した(Hall et al. 2003. *Infect Immun* 71:6864-70; Domanski et al. 2005. *Infect Immun* 73:5229-32)。特異的抗体は、動物試験においてもまた予防的防御効果が証明されているが、重度の生命を危うくする黄色ブド

10

20

30

40

50

ウ球菌 (*S. aureus*) 感染症の治療のために抗生物質との併用使用に対してデザインされている。

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0009】

一態様において、本発明は、2又はそれ以上の単離ポリペプチドを含む組成物を提供する。組成物中の単離ポリペプチドは、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル上における電気泳動によって測定される場合、88kDa、55kDa、38kDa、37kDa、36kDa、35kDa、又は33kDaの分子量を有する。例えば、組成物は88kDa及び55kDaの単離タンパク質を含んでよい。一部の態様において、組成物は88kDa、55kDa、38kDa、37kDa、36kDa、35kDa、及び33kDaの分子量を有する単離ポリペプチドを含んでよい。ポリペプチドは、鉄キレート剤を含む培地中でインキュベートさせた場合は黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) から単離可能であり、そして鉄キレート剤非含有の培地で培養させた場合は単離不可能である。組成物は、動物、例えばマウス、乳牛又はヒトを、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株、例えばATCC株19636での攻撃 (challenge) から防御する。組成物は、医薬として許容される担体をさらに含んでよく、150kDa、132kDa、120kDa、75kDa、58kDa、50kDa、44kDa、43kDa、41kDa、又は40kDaの分子量を有し、鉄キレート剤非含有の培地で成長させた場合に黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) から単離可能な1又は複数の単離ポリペプチドをさらに含んでよい。一部の態様において、組成物のポリペプチドは、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ATCC株19636から単離されてよい。

【0010】

一部の実施形態において、組成物の各ポリペプチドは、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) ATCC株19636によって発現された同一分子量ポリペプチドのマスフィンガープリントと少なくとも80%類似性を有するマスフィンガープリントを有し、ここでポリペプチドは、鉄キレート剤を含んでなる培地においてインキュベートさせた場合に黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) から単離可能であり、そして鉄キレート剤非含有の培地で成長させた場合に単離不可能である。例えば、分子量88kDaの単離ポリペプチドは、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) ATCC株19636によって発現される88kDaのポリペプチドのマスフィンガープリントと少なくとも80%類似であるマスフィンガープリントを有し、分子量55kDaの単離ポリペプチドは、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) ATCC株19636によって発現される55kDaのポリペプチドのマスフィンガープリントと少なくとも80%類似であるマスフィンガープリントを有する。

【0011】

他の態様において、本発明は、配列番号408と配列番号397から選択されたアミノ酸配列と、少なくとも80%の配列類似性を有する単離ポリペプチドを含む組成物を提供する。組成物は、少なくとも1つの第二のポリペプチドをさらに含んでよく、ここで第二のポリペプチドは、鉄キレート剤を含んでなる培地においてインキュベートさせた場合に、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) から単離可能であるが、鉄キレート剤非含有培地において成長させた場合には単離不可能である。一部の態様において、第二のポリペプチドは、配列番号353、配列番号364、配列番号375、配列番号386、及び配列番号419から選択されたアミノ酸配列と少なくとも80%の類似性を有するアミノ酸配列を含むことができる。他の場合において、第二のポリペプチドは、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル上での電気泳動によって測定される場合、88kDa、55kDa、38kDa、37kDa、36kDa、35kDa、又は33kDaの分子量を有してよい。組成物は、鉄キレート剤非含有培地で成長させた場合に黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) から単離可能であり、且つ150kDa、132kDa、120kDa、75kDa、58kDa、50kDa、44kDa、43kDa、41kDa、40kD

10

20

30

40

50

aの分子量を有する1又は複数の単離ポリペプチドをさらに含んでよい。

【0012】

本発明はまた、組成物を使用するための方法を供する。一態様において、方法は、対象の感染症における治療用であり、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) によって生じる感染症に罹患している又は罹患するリスクのある対象に本発明の組成物の有効量を投与することを含む。他の態様において、方法は、対象における症状の治療用であり、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) によって生じる感染症に罹患している対象に本発明の組成物の有効量を投与することを含む。対象は、哺乳類、例えば、ヒト、ウマ、又は乳牛であってよい。ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) であってよい。

10

【0013】

本発明は、さらに本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体、例えばポリクローナル抗体を使用するための方法を供する。一態様において、方法は、対象における感染症の治療用であり、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) によって生じる感染症に罹患する又は罹患するリスクのある対象に組成物の有効量を投与することを含み、ここで、組成物は少なくとも1つ、場合によって1つ以上の、本発明の単離ポリペプチドに特異的に結合する抗体を含む。他の態様において、方法は、対象において症状を治療するためのものであり、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) によって生じる感染症に罹患する対象に組成物の有効量を投与することを含み、ここで組成物は、少なくとも1つ、場合によって1つ以上の、本発明の単離ポリペプチドに特異的に結合する抗体を含む。対象は、哺乳類、例えばヒト、ウマ、又は乳牛であってよい。ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) であってよい。

20

【0014】

本発明によって供される方法はまた、対象においてコロニー形成を減少するためのものである。一態様において、方法は、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) によってコロニー形成された対象に本発明の組成物の有効量を投与することを含む。他の態様において、方法は、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) によってコロニー形成された対象に組成物の有効量を投与することを含み、ここで組成物は少なくとも1つ、場合によって1つ以上の本発明の単離ポリペプチドに特異的に結合する抗体を含む。

【0015】

本発明は、ポリペプチドに特異的に結合する抗体を検出するためのキットを供する。キットは、別々の容器内の、本発明の単離ポリペプチド、及びポリペプチドに特異的に結合する抗体を検出する試薬を含む。

30

【図面の簡単な説明】

【0016】

【図1】図1は、鉄含有及び非含有で成長させた異種に由来する異種株の黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) のタンパク質の電気泳動プロファイルを示す(それぞれ、Fe及びDPで標識されたレーン)。

【図2】図2は、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) の相同種 (homologous) 及び異種攻撃後の、ワクチン接種された及びワクチン接種されていないマウス間の死亡率の違いを示す。

40

【図3】図3は、ワクチン接種及び黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ATCC 19636での相同種攻撃後の生存率を示している Kaplan-Meier 生存曲線である。

【図4】図4は、ワクチン接種及び黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ATCC 19636での異種攻撃後の生存率を示している Kaplan-Meier 生存曲線である。

【図5】図5は、受動免疫及び黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ATCC 19636での相同種攻撃後の生存率を示している Kaplan-Meier 生存曲線である。

【図6】図6は、受動免疫及び黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株 1477での異種攻撃後の生存率を示している Kaplan-Meier 生存曲線である。

【図7】図7は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ATCC 19636から得られる金属制

50

御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号353）を表す。

【図8】図8は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）R F 1 2 2 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号354）を表す。

【図9】図9は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M u 5 0 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号355）を表す。

【図10】図10は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M R S A 2 5 2 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号356）を表す。

【図11】図11は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M W 2 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号357）を表す。

【図12】図12は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）N e w m a n から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号358）を表す。

10

【図13】図13は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）J H 9 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号359）を表す。

【図14】図14は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）U S A 3 0 0 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号360）を表す。

【図15】図15は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）C O L から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号361）を表す。

【図16】図16は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）N C T C 8 3 2 5 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号362）を表す。

【図17】図17は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M S S A 4 7 6 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号363）を表す。

20

【図18】図18は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）A T C C 1 9 6 3 6 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号364）を表す。

【図19】図19は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）R F 1 2 2 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号365）を表す。

【図20】図20は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M u 5 0 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号366）を表す。

【図21】図21は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M R S A 2 5 2 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号367）を表す。

【図22】図22は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M W 2 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号368）を表す。

30

【図23】図23は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）N e w m a n から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号369）を表す。

【図24】図24は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）J H 9 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号370）を表す。

【図25】図25は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）U S A 3 0 0 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号371）を表す。

【図26】図26は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）C O L から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号372）を表す。

【図27】図27は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）N C T C 8 3 2 5 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号373）を表す。

40

【図28】図28は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M S S A 4 7 6 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号374）を表す。

【図29】図29は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）A T C C 1 9 6 3 6 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号375）を表す。

【図30】図30は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）R F 1 2 2 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号376）を表す。

【図31】図31は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M u 5 0 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号377）を表す。

【図32】図32は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M R S A 2 5 2 から得られる金属制

50

御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号378）を表す。

【図33】図33は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号379）を表す。

【図34】図34は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号380）を表す。

【図35】図35は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号381）を表す。

【図36】図36は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号382）を表す。

【図37】図37は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号383）を表す。

10

【図38】図38は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号384）を表す。

【図39】図39は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MSSA476から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号385）を表す。

【図40】図40は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）ATCC19636から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号386）を表す。

【図41】図41は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）RF122から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号387）を表す。

【図42】図42は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号388）を表す。

20

【図43】図43は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号389）を表す。

【図44】図44は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号390）を表す。

【図45】図45は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号391）を表す。

【図46】図46は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号392）を表す。

【図47】図47は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号393）を表す。

30

【図48】図48は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号394）を表す。

【図49】図49は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号395）を表す。

【図50】図50は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MSSA476から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号396）を表す。

【図51】図51は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）ATCC19636から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号397）を表す。

【図52】図52は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）RF122から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号398）を表す。

40

【図53】図53は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号399）を表す。

【図54】図54は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号400）を表す。

【図55】図55は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号401）を表す。

【図56】図56は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号402）を表す。

【図57】図57は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペ

50

プチドのアミノ酸配列（配列番号403）を表す。

【図58】図58は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号404）を表す。

【図59】図59は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号405）を表す。

【図60】図60は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号406）を表す。

【図61】図61は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MSSA476から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号407）を表す。

【図62】図62は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）ATCC19636から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号408）を表す。

10

【図63】図63は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）RF122から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号409）を表す。

【図64】図64は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号410）を表す。

【図65】図65は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（SEQ BD NO:411）を表す。

【図66】図66は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号412）を表す。

【図67】図67は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号413）を表す。

20

【図68】図68は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号414）を表す。

【図69】図69は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号415）を表す。

【図70】図70は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号416）を表す。

【図71】図71は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号417）を表す。

【図72】図72は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MSSA476から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号418）を表す。

30

【図73】図73は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）ATCC19636から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号419）を表す。

【図74】図74は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）RF122から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号420）を表す。

【図75】図75は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号421）を表す。

【図76】図76は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号422）を表す。

【図77】図77は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号423）を表す。

40

【図78】図78は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号424）を表す。

【図79】図79は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号425）を表す。

【図80】図80は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号426）を表す。

【図81】図81は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号427）を表す。

【図82】図82は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属

50

制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号428）を表す。

【図83】図83は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M S S A 4 7 6 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号429）を表す。

【図84】図84は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）A T C C 1 9 6 3 6 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号430）を表す。

【図85】図85は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）R F 1 2 2 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号431）を表す。

【図86】図86は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M u 5 0 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号432）を表す。

【図87】図87は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M R S A 2 5 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号433）を表す。

10

【図88】図88は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M W 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号434）を表す。

【図89】図89は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）N e w m a n から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号435）を表す。

【図90】図90は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）J H 9 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号436）を表す。

【図91】図91は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）U S A 3 0 0 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号437）を表す。

【図92】図92は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）C O L から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号438）を表す。

20

【図93】図93は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）N C T C 8 3 2 5 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号439）を表す。

【図94】図94は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M S S A 4 7 6 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号440）を表す。

【図95】図95は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）A T C C 1 9 6 3 6 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号441）を表す。

【図96】図96は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）R F 1 2 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号442）を表す。

【図97】図97は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M u 5 0 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号443）を表す。

30

【図98】図98は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M R S A 2 5 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号444）を表す。

【図99】図99は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M W 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号445）を表す。

【図100】図100は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）N e w m a n から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号446）を表す。

【図101】図101は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）J H 9 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号447）を表す。

【図102】図102は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）U S A 3 0 0 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号448）を表す。

40

【図103】図103は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）C O L から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号449）を表す。

【図104】図104は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）N C T C 8 3 2 5 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号450）を表す。

【図105】図105は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）M S S A 4 7 6 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号451）を表す。

【図106】図106は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）A T C C 1 9 6 3 6 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号452）を表す。

【図107】図107は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）R F 1 2 2 から得られる金属制

50

御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号453）を表す。

【図108】図108は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号454）を表す。

【図109】図109は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号455）を表す。

【図110】図110は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号456）を表す。

【図111】図111は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号457）を表す。

【図112】図112は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号458）を表す。

10

【図113】図113は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号459）を表す。

【図114】図114は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号460）を表す。

【図115】図115は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号461）を表す。

【図116】図116は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MSSA476から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号462）を表す。

【図117】図117は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）ATCC19636から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号463）を表す。

20

【図118】図118は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）RF122から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号464）を表す。

【図119】図119は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号465）を表す。

【図120】図120は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号466）を表す。

【図121】図121は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号467）を表す。

【図122】図122は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号468）を表す。

30

【図123】図123は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号469）を表す。

【図124】図124は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号470）を表す。

【図125】図125は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号471）を表す。

【図126】図126は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号472）を表す。

【図127】図127は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MSSA476から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号473）を表す。

40

【図128】図128は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）ATCC19636から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号474）を表す。

【図129】図129は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）RF122から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号475）を表す。

【図130】図130は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号476）を表す。

【図131】図131は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号477）を表す。

【図132】図132は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号478）を表す。

50

リペプチドをコードしている核酸配列（配列番号478）を表す。

【図133】図133は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号479）を表す。

【図134】図134は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号480）を表す。

【図135】図135は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号481）を表す。

【図136】図136は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号482）を表す。

【図137】図137は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号483）を表す。

【図138】図138は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MSSA476から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号484）を表す。

【図139】図139は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）ATCC19636から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号485）を表す。

【図140】図140は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）RF122から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号486）を表す。

【図141】図141は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号487）を表す。

【図142】図142は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号488）を表す。

【図143】図143は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号489）を表す。

【図144】図144は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号490）を表す。

【図145】図145は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号491）を表す。

【図146】図146は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号492）を表す。

【図147】図147は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号493）を表す。

【図148】図148は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号494）を表す。

【図149】図149は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MSSA476から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号495）を表す。

【図150】図150は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）ATCC19636から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号496）を表す。

【図151】図151は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）RF122から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号497）を表す。

【図152】図152は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号498）を表す。

【図153】図153は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号499）を表す。

【図154】図154は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号500）を表す。

【図155】図155は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号501）を表す。

【図156】図156は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号502）を表す。

【図157】図157は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属

10

20

30

40

50

制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号503）を表す。

【図158】図158は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号504）を表す。

【図159】図159は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号505）を表す。

【図160】図160は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MSSA476から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列（配列番号506）を表す。

【図161】図161は、受動免疫及び黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）ATCC25904での相同種攻撃後の生存率を示しているカプラン・マイヤー生存曲線を表す。Aは、rMntCのワクチン接種後の静脈内攻撃；Bは、2×SBRP抽出物のワクチン接種、2×rSIRP7のワクチン接種、又は3×rSIRP7のワクチン接種後の腹腔内攻撃；Cは、rSIRP7のワクチン接種後の静脈内攻撃を表す。

【図162】図162は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）RP122から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号543）を表す。

【図163】図163は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号544）を表す。

【図164】図164は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号545）を表す。

【図165】図165は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号546）を表す。

【図166】図166は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号547）を表す。

【図167】図167は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号548）を表す。

【図168】図168は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号549）を表す。

【図169】図169は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号550）を表す。

【図170】図170は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号551）を表す。

【図171】図171は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MSSA476から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号552）を表す。

【図172】図172は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）RF122から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号553）を表す。

【図173】図173は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Mu50から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号554）を表す。

【図174】図174は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MRSA252から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号555）を表す。

【図175】図175は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）MW2から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号556）を表す。

【図176】図176は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）Newmanから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号557）を表す。

【図177】図177は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）JH9から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号558）を表す。

【図178】図178は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）USA300から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号559）を表す。

【図179】図179は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）COLから得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号560）を表す。

【図180】図180は、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）NCTC8325から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列（配列番号561）を表す。

10

20

30

40

50

【図181】図181は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M S S A 4 7 6 から得られる金属制御ポリペプチドのアミノ酸配列 (配列番号562) を表す。

【図182】図182は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) R F 1 2 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号563) を表す。

【図183】図183は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M u 5 0 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号564) を表す。

【図184】図184は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M R S A 2 5 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号565) を表す。

【図185】図185は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M W 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号566) を表す。

10

【図186】図186は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) N e w m a n から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号567) を表す。

【図187】図187は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) J H 9 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号568) を表す。

【図188】図188は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) U S A 3 0 0 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号569) を表す。

【図189】図189は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) C O L から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号570) を表す。

【図190】図190は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) N C T C 8 3 2 5 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号571) を表す。

20

【図191】図191は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M S S A 4 7 6 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号572) を表す。

【図192】図192は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) R F 1 2 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号573) を表す。

【図193】図193は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M u 5 0 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号574) を表す。

【図194】図194は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M R S A 2 5 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号575) を表す。

【図195】図195は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M W 2 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号576) を表す。

30

【図196】図196は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) N e w m a n から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号577) を表す。

【図197】図197は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) J H 9 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号578) を表す。

【図198】図198は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) U S A 3 0 0 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号579) を表す。

【図199】図199は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) C O L から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号580) を表す。

【図200】図200は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) N C T C 8 3 2 5 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号581) を表す。

40

【図201】図201は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M S S A 4 7 6 から得られる金属制御ポリペプチドをコードしている核酸配列 (配列番号582) を表す。

【図202】図202は、組換えで生成された金属制御ポリペプチドへのマウス回復期血清の結合を示しているウエスタンブロットを表す。

【図203】図203は、組換えで生成された金属制御ポリペプチドへの健康なヒト由来の血清の結合を示しているウエスタンブロットを表す。

【図204】図204は、組換えで生成された金属制御ポリペプチドへの回復期ヒト由来の血清の結合を示しているウエスタンブロットを表す。

【図205】図205は、金属制御ポリペプチドの黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) D U 5 8 7 5 表面発現を示しているフローサイトメトリーデータである。

50

【図206】図206は、rSIRP7のワクチン接種及びSIRP抽出物又はrSIRP7での再刺激後のサイトカイン誘導を示す。

【発明を実施するための形態】

【0017】

本発明の好適な実施形態の詳細な説明

本発明は、ポリペプチド及びポリペプチドを含む組成物を供する。本明細書で用いられる、「ポリペプチド」は、ペプチド結合によって結合されたアミノ酸のポリマーを意味する。従って、例えば、用語、ペプチド、オリゴペプチド、タンパク質、及び酵素は、ポリペプチドの定義内に含まれる。当該用語はまた、ポリペプチドの発現後の修飾、例えばグリコシル化、アセチル化、リン酸化等を含む。用語ポリペプチドは、特異的な長さのアミノ酸のポリマーを含まない。ポリペプチドは、自然のソースから直接的に単離可能、又は組換え、酵素、又は化学技術を用いて調製することが可能である。自然由来のポリペプチドの場合、このようなポリペプチドは典型的には単離により得られる。

10

【0018】

「単離」ポリペプチドは、その自然環境から取り出されるものである。例えば、単離ポリペプチドは、細胞質又は細胞膜から取り出されたポリペプチドであり、その自然環境におけるポリペプチド、核酸、及び他の細胞物質の大半がもはや存在しないものが挙げられる。

【0019】

特定のソース由来の「単離可能な」ものとして特徴付けられるポリペプチドは、適当な条件下で、特定のソースによって生成されるポリペプチドであるが、例えば、当業者に周知の組換え、化学、又は酵素技術を使用して代替りのソースから得られて良い。従って、ポリペプチドを特定のソース由来の「単離可能な」ものとし特徴付けることは、ポリペプチドが得られるに違いない何か特定のソース、又はポリペプチドが得られるに違いない何か特定の条件又は工程を意味するものではない。

20

【0020】

「精製された」ポリペプチドは、それらが自然に結合する他の構成成分を、少なくとも60%、好適には少なくとも75%、及び最も好適には少なくとも90%含まない。例えば、化学又は組換え手段を介して、ポリペプチドが自然に生じる生物の外側で生成されるポリペプチドは、決して自然環境に存在しないので、定義上単離及び精製されたとみなす。

30

【0021】

本明細書で用いられる場合、「ポリペプチド断片」は、ポリペプチドのプロテアーゼでの分解に由来するポリペプチドの一部を意味する。

【0022】

他に特に定めない限り、「a」、「an」、「the」及び「少なくとも1つ」は、互換的に使用し、1又は2以上を意味する。用語「を含んでなる」及びこの変化形は、明細書の記載及び請求項において見られる場合、限定的な意味を有しない。本発明のポリペプチドは、分子量、マスフィンガープリント、アミノ酸配列、ポリペプチドをコードする核酸、免疫学的活性、又は2又はそれ以上のこれらの特徴の任意の組合せによって特徴付けられてよい。典型的にキロダルトン(kDa)で表されるポリペプチドの分子量は、例えば、ゲル濾過、ドデシル硫酸ナトリウム(SDS)ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)を含むゲル電気泳動、キャピラリー電気泳動、質量分析、(HPLCを含む)液体クロマトグラフィーを含む通常の方法を使用し、且つ観察又は予想されたアミノ酸配列から分子量を算出して決定することができる。他に示さない限り、分子量は、還元及び変性条件下で、約4%の濃縮用ゲルを有するSDSポリアクリルアミドゲル及び約10%の分解ゲルを使用してポリペプチドを分解することによって決定される分子量を意味する。本明細書で用いられる場合、「マスフィンガープリント」は、プロテアーゼでの分解後にポリペプチドから得られるポリペプチド断片の集団を意味する。典型的には、分解に由来するポリペプチド断片は、質量分析方法を使用して分析される。各ポリペプチド断片は、質量、又は「

40

50

m/z比」又は「m/z値」と呼ばれる質量(m)対電荷(z)比によって特徴付けられる。ポリペプチドのマスフィンガープリントを生じるための方法は、慣習的なものである。このような方法の例は、実施例13に開示する。

【0023】

本発明のポリペプチドは、金属制御ポリペプチドであってよい。本明細書で用いられる場合、「金属制御ポリペプチド」は、高金属条件における同じ微生物の成長に比べて、低金属条件において微生物を成長させる場合に、より高レベルで微生物によって発現されるポリペプチドである。低金属及び高金属条件を明細書中に記載する。例えば、ブドウ球菌属(*Staphylococcus* spp.)によって生成される金属制御ポリペプチドの1つのクラスは、高金属条件における微生物の成長中に検出可能なレベルで発現されないが、低金属条件における成長中に検出可能なレベルで発現される。

10

【0024】

低鉄条件における成長後に黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)から単離可能な金属制御ポリペプチドの例は、88kDa、55kDa、38kDa、37kDa、36kDa、35kDa、及び33kDaの分子量を有する。低亜鉛又は低銅条件における成長後に黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)から単離可能な金属制御ポリペプチドの例は、115kDa、88kDa、80kDa、71kDa、69kDa、35kDa、30kDa、29kDa、及び27kDaの分子量を有する。

【0025】

さらなる金属制御ポリペプチドの例は、明細書中で記載されるポリペプチドの組換えで生成されたバージョンを含む。組換えで生成されたポリペプチドは、mRNA転写物から翻訳可能なアミノ酸配列全体を含んでよい。あるいは、組換えで生成された金属制御ポリペプチドは、翻訳可能なアミノ酸配列全体の断片又は一部を含んでよい。例えば、組換えで生成された金属制御ポリペプチドは、ポリペプチドのいずれかの末端における切断可能な配列、例えば、ポリペプチドのアミノ末端における切断可能なシグナル配列を欠如してよい。

20

【0026】

したがって、金属制御ポリペプチドは、例えば、配列番号353、配列番号364、配列番号375、配列番号386、配列番号397、配列番号408、及び配列番号419に表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドとし得る。

30

【0027】

本発明はまた、金属制御されていないポリペプチドを含む。このようなポリペプチドは、金属イオン、例えば、塩化第二鉄の存在下で発現され、また低鉄条件において成長させた場合にもまた発現される。黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)から単離可能なこのようなポリペプチドの例は、150kDa、132kDa、120kDa、75kDa、58kDa、50kDa、44kDa、43kDa、41kDa、及び40kDaの分子量を有する。

【0028】

ポリペプチドが金属制御ポリペプチドであるかは、例えば、ゲル濾過、ドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動(SDS-PAGE)を含むゲル電気泳動、キャピラリー電気泳動、質量分析、及びHPLCを含む液体クロマトグラフィーを含むポリペプチドの存在を比較することに有用な方法によって決定することができる。微生物の別々の培養物を高金属条件及び低金属条件下で成長させ、明細書中で記載されるように本発明のポリペプチドを単離し、各培養物に存在するポリペプチドを分解し比較する。典型的には、各培養物由来の等量のポリペプチドを使用する。好適には、約4%の濃縮用ゲル及び約10%の分解ゲルを有するSDSポリアクリルアミドゲルを使用して、還元及び変性条件下でポリペプチドを分解する。例えば、各培養物由来の総ポリペプチド30マイクログラム(μg)を使用しゲルのウェルにロードしてよい。ゲルを流しポリペプチドをクーマシーブリリアントブルーで染色した後、2つのレーンを比較することができる。ポリペプチドが検出可能なレベルで発現されているかを決定する場合、培養物由来の総ポリペプチドの3

40

50

0 μg を SDS - PAGE ゲル上で分解し、当技術分野で周知の方法を使用してクーマシーブリリアントブルーで染色する。目視可能なポリペプチドは、検出可能なレベルで発現されているとみなし、一方目視できないポリペプチドは、検出可能なレベルで発現されていないとみなす。

【0029】

あるいは、ポリペプチドが金属制御されているかは、マイクロアレイに基づく遺伝子発現分析を使用して決定することができる。微生物の別々の培養物を高金属条件及び低金属条件下で成長させ、RNA を各培養物の細胞から抽出し、低金属条件において成長させた細胞中の RNA 発現に対する、高金属条件において成長させた細胞中の RNA 発現の差異を検出し且つ比較する。例えば、確立されたプロトコールを使用して、8 ~ 10 μg の細菌 RNA から標識 cDNA を調製することができる。標識 cDNA は、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) ゲノムのマイクロアレイに適用することができる。このようなマイクロアレイは、商業的に利用可能でありこのようなアレイを使用した遺伝子発現は通常行われるものである。

10

【0030】

本発明のポリペプチドは、免疫学的活性を有してよい。「免疫学的活性」は、動物において免疫応答を誘発するポリペプチドの能力を意味する。ポリペプチドへの免疫応答は、動物におけるポリペプチドへの細胞及び/又は抗体媒介による免疫応答の発達である。通常、免疫応答は、1又は複数の次の効果：エпитープ又はポリペプチドのエピトープに対する抗体、B細胞、ヘルパーT細胞、サブレッサーT細胞、及び/又は細胞傷害性T細胞の産生を含むが、これに限定されない。「エピトープ」は、特異的なB細胞及び/又はT細胞が応答し、これにより抗体が生成される抗原上の部位を意味する。免疫学的活性は、防御的であってよい。「防御的免疫学的活性」は、動物において、ブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.)、例えば黄色ブドウ球菌 (S. aureus) による感染症を予防又は抑制する免疫応答を誘発するポリペプチドの能力を意味する。ポリペプチドが防御的免疫学的活性を有するかは、当技術分野で周知の方法、例えば、実施例5、9、又は12に記載の方法によって決定することができる。例えば、本発明のポリペプチド又は本発明のポリペプチドの組合せは、げっ歯類、例えばマウスをブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) での攻撃から防御する。本発明のポリペプチドは、血清活動活性 (Seroactive activity) を有してよい。「血清活動活性」は、ブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.)、例えば、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) に感染した動物由来の回復期血清に存在する抗体と反応する候補ポリペプチドの能力を意味する。一部の態様において、回復期血清は、ATCC単離株19636、株SAAV1、株2176、又は株1477に感染した動物に由来してよい。本発明のポリペプチドは、免疫調節性活性を有してよい。「免疫調節性活性」は、特定の抗原に対する免疫応答を増強する非特異的な方法で作用するポリペプチドの能力を意味する。ポリペプチドが免疫調節性活性を有するかを決定するための方法は、当技術分野で周知である。

20

30

【0031】

本発明のポリペプチドは、参照微生物によって発現されるポリペプチド、例えば、参照ポリペプチドの特徴を有してよい。特徴は、例えば、分子量、マスフィンガープリント、アミノ酸配列、又はこれらの任意の組合せを含んでよい。参照微生物は、グラム陽性、好適にはマイクロコッカス科 (Micrococcaceae) のメンバー、好適にはブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.)、より好適には、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) としてよい。好適な株の例を表1に詳述する。

40

【0032】

【表 1】

表 1. 細菌株

細菌細胞	実験室称号
黄色ブドウ球菌 (<i>S. aureus</i>)	ATCC単離株19636
黄色ブドウ球菌 (<i>S. aureus</i>)	株SAAV1
黄色ブドウ球菌 (<i>S. aureus</i>)	株1477
黄色ブドウ球菌 (<i>S. aureus</i>)	株2176

10

【 0 0 3 3 】

参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) A T C C 単離株 1 9 6 3 6 の場合、8 8 k D a、5 5 k D a、3 8 k D a、3 7 k D a、3 6 k D a、3 5 k D a、又は 3 3 k D a の分子量を有し、そして参照微生物によって発現され且つ 8 8 k D a、5 5 k D a、3 8 k D a、3 7 k D a、3 6 k D a、3 5 k D a、又は 3 3 k D a の分子量を有する金属制御ポリペプチドのマスフィンガープリントと同様のマスフィンガープリントをそれぞれ有すると、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなすことができる。好適には、このようなポリペプチドは、金属制御される。例えば、候補ポリペプチドが、8 8 k D a の分子量を有し、且つ参照株の黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) A T C C 単離株 1 9 6 3 6 に

20

【 0 0 3 4 】

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) A T C C 単離株 1 9 6 3 6 である場合、以下に詳述するように、配列番号 3 5 3、配列番号 3 6 4、配列番号 3 7 5、配列番号 3 8 6、配列番号 3 9 7、配列番号 4 0 8、又は配列番号 4 1 9 のアミノ酸配列と構造上同様であるアミノ酸配列を有するなら、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドであるとみなしてよい。

【 0 0 3 5 】

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) R F 1 2 2 である場合、アミノ酸配列を有し、以下に詳述する通り、配列番号 3 5 4、配列番号 3 6 5、配列番号 3 7 6、配列番号 3 8 7、配列番号 3 9 8、配列番号 4 0 9、又は配列番号 4 2 0 のアミノ酸配列と構造上同様であるなら、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなしてよい。

30

【 0 0 3 6 】

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M u 5 0 である場合、以下に詳述する通り、配列番号 3 5 5、配列番号 3 6 6、配列番号 3 7 7、配列番号 3 8 8、配列番号 3 9 9、配列番号 4 1 0、又は配列番号 4 2 1 のアミノ酸配列と構造上同様であるアミノ酸配列を有するなら、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなしてよい。

【 0 0 3 7 】

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M R S A 2 5 2 である場合、以下に詳述する通り、配列番号 3 5 6、配列番号 3 6 7、配列番号 3 7 8、配列番号 3 8 9、配列番号 4 0 0、配列番号 4 1 1、又は配列番号 4 2 2 のアミノ酸配列と構造上同様であるアミノ酸配列を有するなら、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなしてよい。

40

【 0 0 3 8 】

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) M W 2 である場合、以下に詳述する通り、配列番号 3 5 7、配列番号 3 6 8、配列番号 3 7 9、配列番号 3 9 0、配列番号 4 0 1、配列番号 4 1 2、又は配列番号 4 2 3 のアミノ酸配列と構造上同様であるアミノ酸配列を有するなら、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなしてよい。

【 0 0 3 9 】

50

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) Newmanである場合、以下に詳述する通り、配列番号358、配列番号369、配列番号380、配列番号391、配列番号402、配列番号413、又は配列番号424のアミノ酸配列と構造上同様であるアミノ酸配列を有するならば、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなしてよい。

【0040】

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) JH9である場合、以下に詳述する通り、配列番号359、配列番号370、配列番号381、配列番号392、配列番号403、配列番号414、又は配列番号425のアミノ酸配列と構造上同様であるアミノ酸配列を有するならば、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなしてよい。

10

【0041】

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) USA300である場合、以下に詳述する通り、配列番号360、配列番号371、配列番号382、配列番号393、配列番号404、配列番号415、又は配列番号426のアミノ酸配列と構造上同様であるアミノ酸配列を有するならば、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなしてよい。

【0042】

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) COLである場合、以下に詳述する通り、配列番号361、配列番号372、配列番号383、配列番号394、配列番号405、配列番号416、又は配列番号427のアミノ酸配列と構造上同様であるアミノ酸配列を有するならば、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなしてよい。

20

【0043】

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) NCTC8325である場合、以下に詳述する通り、配列番号362、配列番号373、配列番号384、配列番号395、配列番号406、配列番号417、又は配列番号428のアミノ酸配列と構造上同様であるアミノ酸配列を有するならば、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなしてよい。

【0044】

あるいは、参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) MSSA476である場合、以下に詳述する通り、配列番号363、配列番号374、配列番号385、配列番号396、配列番号407、配列番号418、又は配列番号429のアミノ酸配列と構造上同様であるアミノ酸配列を有するならば、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなしてよい。

30

【0045】

参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 単離株SAAV1の場合、候補ポリペプチドが、88kDa、55kDa、38kDa、37kDa、36kDa、35kDa、又は33kDaの分子量を有し、そして参照微生物によって発現され且つ88kDa、55kDa、38kDa、37kDa、36kDa、35kDa、又は33kDaの分子量を有するポリペプチドのマスフィンガープリントとそれぞれ同様のマスフィンガープリントを有すると、候補ポリペプチドは本発明のポリペプチドとみなすことができる。好適には、このようなポリペプチドは、金属制御される。例えば、候補ポリペプチドが、分子量88kDaを有し、且つ参照株の黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 単離株SAAV1によって生成される88kDaの金属制御ポリペプチドのマスフィンガープリントと同様のマスフィンガープリントを有する場合、本発明のポリペプチドとすることができる。

40

【0046】

参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株2176の場合、88kDa、80kDa、65kDa、55kDa、37kDa、36kDa、35kDa、33kDa、又は32kDaの分子量を有し、そして参照微生物によって発現され且つ88kDa、80kDa、65kDa、55kDa、37kDa、36kDa、35kDa、33kDa、又は32kDaの分子量を有するポリペプチドのマスフィンガープリントと同様のマスフィ

50

ンガープリントをそれぞれ有すると、候補ポリペプチドを本発明のポリペプチドとみなしてよい。好適には、このようなポリペプチドは金属制御される。例えば、候補ポリペプチドが、分子量 88 kDa を有し、且つ参照株の黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 単離株 2176 によって生成される 88 kDa の金属制御ポリペプチドのマスフィンガープリントと同様のマスフィンガープリントを有する場合、本発明のポリペプチドであるとしてよい。

【0047】

参照微生物が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株 1477 の場合、88 kDa、80 kDa、65 kDa、55 kDa、37 kDa、36 kDa、35 kDa、33 kDa、又は 32 kDa の分子量を有し、そして参照微生物によって発現され且つ 88 kDa、80 kDa、65 kDa、55 kDa、37 kDa、36 kDa、35 kDa、33 kDa、又は 32 kDa の分子量を有するポリペプチドのマスフィンガープリントと同様のマスフィンガープリントをそれぞれ有すると、候補ポリペプチドを本発明のポリペプチドとみなしてよい。好適には、このようなポリペプチドは金属制御される。例えば、候補ポリペプチドが、分子量 88 kDa を有し、且つ参照株の黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 単離株 1477 によって生成される 88 kDa の金属制御ポリペプチドのマスフィンガープリントと同様のマスフィンガープリントを有する場合、本発明のポリペプチドであるとしてよい。

【0048】

本明細書で用いられる場合、ポリペプチドのアミノ酸配列が、参照ポリペプチドと比較して一定量の配列類似性及び/又は配列同一性を有する場合、ポリペプチドは、参照ポリペプチドと「構造上同様である」としてよい。ポリペプチドが、参照ポリペプチドの匹敵するマスフィンガープリントと比較して一定量の同一性を有しているマスフィンガープリントを示す場合、ポリペプチドはまた、参照ポリペプチドと「構造上同様である」としてよい。したがって、参照ポリペプチドと比較して、十分なレベルのアミノ酸配列同一性、アミノ酸配列類似性、マスフィンガープリント類似性、又はこれらの任意の組合せを有する場合、ポリペプチドは、参照ポリペプチドと「構造上同様である」としてよい。

【0049】

ポリペプチド配列類似性及びポリペプチド配列同一性

2つのポリペプチドの構造上類似性は、2つのポリペプチド(例えば、明細書中に記載される候補ポリペプチド及び任意の適当な参照ポリペプチド)の残基を、これらの配列の長さに沿って同一のアミノ酸の数が最大になるように整理させることによって決定することができ;各配列におけるアミノ酸は適切な順序を維持しなければならないが、どちらか一方又は両方の配列におけるギャップは、同一のアミノ酸の数を最大にするための整理化において容認される。参照ポリペプチドは、明細書中で記載されるポリペプチド又は適当なものとして既知の任意の金属制御ポリペプチドとしてよい。候補ポリペプチドは、参照ポリペプチドと比較されているポリペプチドである。候補ポリペプチドは、例えば微生物から単離することができる、又は組換え技術を使用して生成する、或いは化学的又は酵素的に合成することができる。

【0050】

明細書中で他に記載して変更しない限り、GCGパッケージ(version 10.2, Madison WI)を使ったBESTFITアルゴリズムを使用してアミノ酸配列の対比較分析を実施することができる。あるいは、ポリペプチドは、Tatiana等によって記載され(FEMS Microbiol Lett, 174, 247-250 (1999))、且つ全米バイオテクノロジー情報センター(NCBI)のウェブサイト上で利用可能な、BLAST2サーチアルゴリズムのblastp programを使用して比較してよい。全BLAST2サーチパラメータのためのデフォルト値を使用してよく、マトリックス=BLOSUM62;open gap penalty=11, extension gap penalty=1, gap x__{低下}off=50, expect=10, wordsize=3、及びfilter onを含む。

【0051】

2つのアミノ酸配列の比較において、構造上類似性は、「同一性」%又は「類似性」%

によって示されてよい。「同一性」は、同一のアミノ酸の存在を意味する。「類似性」は、同一のアミノ酸だけでなく保存的置換の存在を意味する。本発明のポリペプチドにおけるアミノ酸の保存的置換は、アミノ酸が属するクラスの他のメンバーから選択されてよい。例えば、特に生物学的活性と直接的に関連がないタンパク質の領域において、タンパク質の活性の変化なしに、特定のサイズ又は特徴（例えば、電荷、疎水性及び親水性）を有するアミノ酸の分類に属するアミノ酸を他のアミノ酸に置換することができることは、タンパク質生化学の技術分野で周知である。例えば、非極性（疎水性）アミノ酸は、アラニン、ロイシン、イソロイシン、バリン、プロリン、フェニルアラニン、トリプトファン、及びチロシンを含む。極性中性アミノ酸は、グリシン、セリン、スレオニン、システイン、チロシン、アスパラギン及びグルタミンを含む。プラスに帯電した（塩基性）アミノ酸は、アルギニン、リジン及びヒスチジンを含む。負に帯電した（酸性）アミノ酸は、アスパラギン酸及びグルタミン酸を含む。保存的置換は、例えば、正電荷を維持するための L y s の A r g への置換及び逆の置換；負電荷を維持するための G l u の A s p への置換及び逆の置換；遊離 - O H を維持するための S e r の T h r への置換；及び遊離 - N H ₂ を維持するための G l n の A s n への置換を含む。同様に、ポリペプチドの機能活性、例えば、免疫学的活性を排除しない 1 又は複数の近接又は非近接アミノ酸の欠失又は付加を含むポリペプチドの生物学的に活性のある類似体もまた意図する。

10

【0052】

したがって、本明細書で用いられる場合、本発明のポリペプチドへの言及及び/又は 1 又は複数の配列番号のアミノ酸配列への言及は、参照アミノ酸配列に対して少なくとも 5 0 %、少なくとも 5 5 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 6 5 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、又は少なくとも 9 9 % のアミノ酸配列類似性を有するポリペプチドを含んでよい。

20

【0053】

あるいは、本明細書で用いられる場合、本発明のポリペプチドへの言及及び/又は 1 又は複数の配列番号のアミノ酸配列への言及は、参照アミノ酸配列に対して少なくとも 5 0 %、少なくとも 5 5 %、少なくとも 6 0 %、少なくとも 6 5 %、少なくとも 7 0 %、少なくとも 7 5 %、少なくとも 8 0 %、少なくとも 8 5 %、少なくとも 8 6 %、少なくとも 8 7 %、少なくとも 8 8 %、少なくとも 8 9 %、少なくとも 9 0 %、少なくとも 9 1 %、少なくとも 9 2 %、少なくとも 9 3 %、少なくとも 9 4 %、少なくとも 9 5 %、少なくとも 9 6 %、少なくとも 9 7 %、少なくとも 9 8 %、又は少なくとも 9 9 % のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドを含んでよい。

30

【0054】

従って、本発明のポリペプチドは、例えば、ポリペプチドが元々単離及び/又は同定された微生物種又は株以外の微生物種又は株から生物学的及び/又は組換えで生じる相同種ポリペプチドを含む一定の変異体を含んでよい。

【0055】

例えば、本発明のポリペプチドは、ギ酸アセチルトランスフェラーゼ (PflB) として通常周知のポリペプチドを含んでよい。このポリペプチドの一形態は、配列番号 3 5 3 に示される。変異実施形態は、配列番号 3 5 4、配列番号 3 5 5、配列番号 3 5 6、配列番号 3 5 7、配列番号 3 5 8、配列番号 3 5 9、配列番号 3 6 0、配列番号 3 6 1、配列番号 3 6 2、及び配列番号 3 6 3 に示される。

40

【0056】

他の実施例として、本発明のポリペプチドは、通常オリゴペプチドパーミアーゼ、ペプチド結合タンパク質 (oligopeptide permease, peptide-binding protein) (Opp1A) として周知のポリペプチドを含んでよい。このポリペプチドの一実施形態は、配列番号 3 6 4 に示される。変異実施形態は、配列番号 3 6 5、配列番号 3 6 6、配列番号 3 6 7、配

50

列番号368、配列番号369、配列番号370、配列番号371、配列番号372、配列番号373、及び配列番号374に示される。

【0057】

他の実施例として、本発明のポリペプチドは、通常シデロホア化合物ABCトランスポーター結合タンパク質(SirA)として周知のポリペプチドを含んでよい。このポリペプチドの一実施形態は、配列番号375に示される。変異実施形態は、配列番号376、配列番号377、配列番号378、配列番号379、配列番号380、配列番号381、配列番号382、配列番号383、配列番号384、及び配列番号385に示される。

【0058】

他の実施例として、本発明のポリペプチドは、明細書中で場合によりSYN2と呼ぶポリペプチドを含んでよい。このポリペプチドの一実施形態は、配列番号386に示される。変異実施形態は、配列番号387、配列番号388、配列番号389、配列番号390、配列番号391、配列番号392、配列番号393、配列番号394、配列番号395、及び配列番号396に示される。

【0059】

他の実施例として、本発明のポリペプチドは、通常三価鉄ヒドロキサメート結合リポタンパク質(FhuD)として周知のポリペプチドを含んでよい。このポリペプチドの一実施形態は、配列番号397に示される。変異実施形態は、配列番号398、配列番号399、配列番号400、配列番号401、配列番号402、配列番号403、配列番号404、配列番号405、配列番号406、及び配列番号407に示される。

【0060】

他の実施例として、本発明のポリペプチドは、明細書中で時々SYN1と呼ぶポリペプチドを含んでよい。このポリペプチドの一実施形態は、配列番号408に示される。変異実施形態は、配列番号409、配列番号410、配列番号411、配列番号412、配列番号413、配列番号414、配列番号415、配列番号416、配列番号417、及び配列番号418に示される。

【0061】

他の実施例として、本発明のポリペプチドは、ポリペプチドとして周知のマンガン輸送システム膜タンパク質(manganese transport system membrane protein)(MntC)を含むことができる。このポリペプチドの一実施形態は、配列番号419に示される。変異実施形態は、配列番号420、配列番号421、配列番号422、配列番号423、配列番号424、配列番号425、配列番号426、配列番号427、配列番号428、及び配列番号429に示される。

【0062】

他の実施例として、本発明のポリペプチドは、通常フェリクロームABCトランスポーターリポタンパク質(SstD)として周知のポリペプチドを含んでよい。このポリペプチドの実施形態は、配列番号543、配列番号544、配列番号545、配列番号546、配列番号547、配列番号548、配列番号549、配列番号550、配列番号551、及び配列番号552に示される。

【0063】

他の実施例として、本発明のポリペプチドは、通常鉄化合物ABCトランスポーター(FhuD2)として周知のポリペプチドを含んでよい。このポリペプチドの実施形態は、配列番号553、配列番号554、配列番号555、配列番号556、配列番号557、配列番号558、配列番号559、配列番号560、配列番号561、及び配列番号562に示される。

【0064】

本発明のポリペプチドはまた、1又は複数のさらなる配列を供する、例えば、抗体のカラム上でのトラップ又は使用による精製を促進する付加C末端及び/又はN末端アミノ酸のコード配列を付加するようにデザインされてよい。このようなタグは、例えば、ポリペプチドのニッケルカラム上での精製を可能にするヒスチジンリッチなタグを含む。このよ

10

20

30

40

50

うな遺伝子修飾技術及び適当な付加配列は、分子生物学分野において周知である。

【0065】

本発明のポリペプチドはまた、C末端及び/又はN末端における一部のアミノ酸が欠失されるようにデザインされてよい。例えば、配列番号364のアミノ酸配列と配列番号365のアミノ酸配列との間の1つの差異が、配列番号364の参照ポリペプチドのアミノ酸配列に存在しない、配列番号365が有するN末端29のアミノ酸付加である。同様の好例のN末端付加、典型的には約20個のアミノ酸～約35個のアミノ酸付加は、例えば、参照ペプチド配列番号353、配列番号364、配列番号375、配列番号386、配列番号397、配列番号408、又は配列番号419のアミノ酸配列を、各参照ポリペプチドの一定の変異実施形態と比較した場合に明らかである。N末端又はC末端における他のアミノ酸付加及び/又は欠失が可能である。本発明のポリペプチドの「修飾」は、1又は複数の構成アミノ酸において化学的に又は酵素的に誘導体化されるポリペプチド(又はこの類似体、例えば、この断片)を含む。このような修飾は、例えば、側鎖修飾、骨格修飾、及びN及びC末端修飾、例えば、アセチル化、水酸化、メチル化、アミド化、及び炭水化物又は脂質部分の付着、補助因子等、並びにこれらの組合せを含んでよい。本発明の修飾ポリペプチドは、生物学的活性、例えば、無修飾ポリペプチドの免疫学的活性を保持する、又は低下又は増加した生物学的活性を示してよい。

10

【0066】

(生物学的に活性のある類似体及びこの修飾を含む)本発明のポリペプチドは、天然由来の(自然に生じる)、組換え、及び化学的又は酵素的に合成されたポリペプチドを含む。例えば、本発明のポリペプチドは、ポリペプチドを自然のソースから単離することによって、又は周知な方法による組換えで調製されてよく、例えば細菌又は他の宿主細胞における融合タンパク質としての製剤を含む。

20

【0067】

参照微生物によって発現されるポリペプチドは、低金属条件下における参照微生物の成長及び明細書中に開示される工程によるポリペプチドの続く単離によって得られてよい。あるいは、参照微生物によって発現されるポリペプチドは、低金属条件において微生物を成長させる場合に高レベルで発現される遺伝子、すなわち、金属制御遺伝子を同定することによって得られてよい。金属制御遺伝子は、クローン化され且つ発現されてよく、発現金属制御ポリペプチドは、明細書中に記載の工程によって特定されてよい。候補ポリペプチドは、微生物から単離可能であるか又は微生物、好適にはグラム陽性微生物、より好適には、ミクロコッカス科(Micrococcaceae)のメンバー、好適にはブドウ球菌属(Staphylococcus spp.)、より好適には黄色ブドウ球菌(Staphylococcus aureus)から特定される。ポリペプチドが単離及び/又は特定可能である他のグラム陽性微生物は、コリネバクテリウム菌属(Corynebacterium spp.)、エンテロコッカス菌属(Enterococcus spp.)、エリシペロスリクス属(Erysipelothrix spp.)、キトコッカス属(Kytococcus spp.)及びミクロコッカス菌属(Micrococcus spp.)、マイコバクテリウム属(Mycobacterium spp.)、及びエリシペロスリクス属(Erysipelothrix spp.)を含む。候補ポリペプチドはまた、酵素又は化学的技術を使用して生成されてよい。

30

【0068】

マスフィンガープリント類似性

候補ポリペプチドは、参照微生物によって発現され、且つ分子量によって上記で言及されるポリペプチドの1つと同様の候補ポリペプチドがマスフィンガープリントを有するかを決定するために、質量分光分析によって評価されてよい。典型的には、候補ポリペプチドは、例えばゲル電気泳動によって候補ポリペプチドを分解すること及び候補ポリペプチドを含むゲル部分を切り取ることによって単離されてよい。異なる特徴に基づいてポリペプチドを分離する任意のゲル電気泳動方法を使用することができ、例えば、疎水性、pI、又はサイズに基づく1次元又は2次元ゲル電気泳動、及び液体クロマトグラフィー分離を含む。候補ポリペプチドは、例えば、プロテアーゼでの分解によって断片化することができる。好適には、リジン又はアルギニンに続くアミノ酸がプロリンである場合を除いて

40

50

、プロテアーゼは、アミノ酸リジン及びアミノ酸アルギニンのカルボキシ末端側上でペプチド結合を切断することができる。このようなプロテアーゼの例は、トリプシンである。ポリペプチドのトリプシンでの分解のための方法は、通常且つ当技術分野で周知の方法である。このような方法の例は、実施例 13 において開示される。

【0069】

ポリペプチドの質量分光分析のための方法は、通常且つ当技術分野で周知の方法であり、マトリックス支援レーザー脱離/イオン化飛行時間質量分析(MALDI-TOF MS)を含むが、これに限定されない。典型的には、候補ポリペプチドから得られるポリペプチド断片を含む混合物は、レーザーエネルギーを試料へ変換しイオン化、好適にはモノアイソトピック性、ポリペプチド断片を生成する働きをするマトリックスと混合する。使用することができるマトリックスの例は、例えば、シナピン酸又はシアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸を含む。MALDI-TOF MSによるポリペプチドの分析のための方法の例は、実施例 13 に記載される。イオン化ポリペプチド断片は、これらの m/z 比に従って分離され、検出され強度に対する m/z 比のスペクトルが得られる。スペクトルは、候補ポリペプチドに由来するポリペプチド断片を表す m/z 値を含む。任意の所定のポリペプチドに関して、トリプシン分解に由来する各ポリペプチド断片の量は等モルであるべきである。しかしながら、トリプシン分解は常に100%効率でなく、例えば、一部の部位がより効率的に切断されることが知られている。したがって、 m/z 値を決定するためにMALDI-TOF MSを使用する場合、各 m/z 値の強度は典型的には同一でない。一般的に、スペクトルは、大抵の x 軸(すなわち、 m/z 比の値を有する軸)に渡って存在するバックグラウンドレベルのノイズを有する。このノイズのバックグラウンドレベルは実施条件及び使用される機械によって変化し、スペクトルの目視検査によって容易に特定される。

【0070】

m/z 値において、強度がノイズのバックグラウンドレベルの少なくとも2倍、少なくとも3倍、又は少なくとも4倍である場合、通常その m/z 値はポリペプチド断片を表すとみなされる。スペクトルは通常、人為産物、例えば、不完全な分解、過剰分解、混合物に存在する他のポリペプチド、又はポリペプチドの分解に使用されるプロテアーゼに由来する他の m/z 値を含み、例えばプロテアーゼの自己分解に由来する m/z 値が含まれる。プロテアーゼでポリペプチドを分解する方法は、ポリペプチドを正確に特徴付け、且つ他のポリペプチドから識別するために使用できる重要な特異性のマスフィンガープリントをもたらす方法として技術分野で認められる。

【0071】

本発明のこの態様において、候補ポリペプチドを質量分析によって分析する場合、好適には候補ポリペプチド及び参照微生物由来のポリペプチドの双方を調製且つ分析し、これにより試料の処理及び実施条件における差異に由来する任意の潜在的な人為産物を減少する。好適には、2つのポリペプチドを調製し分析するために使用される全試薬は同一である。例えば、参照微生物由来のポリペプチド及び候補ポリペプチドは、実質的に同一の条件下で単離され、実質的に同一の条件下で断片化され、実質的に同一の条件下で同一の機械上でMALDI-TOF MSによって分析される。候補ポリペプチドが、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%を有しているマスフィンガープリントを示す、又は参照微生物ポリペプチドのスペクトル中に存在する実質的に全 m/z 値及び上記のノイズバックグラウンドレベルが候補ポリペプチドのスペクトル中にもまた存在する場合、参照ポリペプチドと「構造上同様である」とみなしてよい。(例えば、United States Patent Application Publication No. 2006/0233824 AIを参照されたい)。

【0072】

他の態様において、ポリペプチドが、表2、3、4、又は5に記載される参照ポリペプチドの分子量を有し、表2、3、4、又は5に記載される参照ポリペプチドのポリペプチド断片の少なくとも特定の割合を含む亜集団を含むマスフィンガープリントを有する場合、本発明のポリペプチドとみなしてよい。例えば、本発明のポリペプチドは、88kDaのポリペプチド、及びHVDVR(配列番号1)、YSYER(配列番号2)、IIGDY

10

20

30

40

50

RR (配列番号3)、IFTDYRK (配列番号4)、ELKELGQK (配列番号5)、YAQVKPIR (配列番号6)、QMQFFGAR (配列番号7)、SMQPFGGIR (配列番号8)、VSGYAVNFIK (配列番号9)、NHATAWQGFK (配列番号10)、LWEQVMQLSK (配列番号11)、SLGKEPEDQNR (配列番号12)、DGISNTFSIVPK (配列番号13)、AGVITGLPDAYGR (配列番号14)、TSTFLDIYAER (配列番号15)、SMQPFGGIRMAK (配列番号16)、THNQGVFDAYS R (配列番号17)、KAGVITGLPDAYGR (配列番号18)、TLLYAINGGKDEK (配列番号19)、IEMALHDTEIVR (配列番号20)、AGEPFAPGANPMHGR (配列番号21)、VALYGVDFLMEEK (配列番号22)、KTHNQGVFDAYS R (配列番号23)、YGFDSLSPAENFK (配列番号24)、TSSIQYENDDIMR (配列番号25)、KAGEPFAPGANPMHGR (配列番号26)、RVALYGVDFLMEEK (配列番号27)、LWEQVMQLSKEER (配列番号28)、MLETNKNHATAWQGFK (配列番号29)、MHDFNTMSTEMSEDVIR (配列番号30)、YGNNDDRVDDIAVDLVER (配列番号31)、ETLIDAMEHPEEYPQLTIR (配列番号32)、YAQVKPIRNEEGLVVDFEIEGDFPK (配列番号33)の質量を有するポリペプチド断片の特定の割合を含むマスフィンガープリントを含む。候補ポリペプチドのマスフィンガープリントは、質量分析方法、例えばMALDI-TOFMSによって決定することができる。候補ポリペプチドのマスフィンガープリントは、通常さらなるポリペプチド断片を有し、従って、表2、3、4、又は5においてポリペプチドに関して収載されるもの以外のさらなるm/z値を有することができる。候補ポリペプチドを表2、3、4、又は5中のポリペプチドと比較する場合、候補ポリペプチドは、微生物、好適にはグラム陽性微生物、より好適には、ミクロコッカス科 (Micrococaceae) のメンバー、好適にはブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.)、より好適には、黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) から単離可能である。他のグラム陽性微生物は、コリネバクテリウム属 (Corynebacterium spp.)、エンテロコッカス菌属 (Enterococcus spp.)、エリシペロスリクス属 (Erysipelothrix spp.)、キトコッカス属 (Kytococcus spp.)、リステリア属 (Listeria spp.)、ミクロコッカス菌属 (Micrococcus spp.)、及びマイコバクテリウム属 (Mycobacterium spp.)、及びエリシペロスリクス属 (Erysipelothrix spp.)を含む。

【0073】

候補ポリペプチドは、明細書中に記載される工程によって低金属条件下での微生物の成長、続いてポリペプチドの単離によって得られる。あるいは、候補ポリペプチドは、候補ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの組換え発現によって得ることができる。試料処理、例えば酸化、及びカルバミドメチル誘導体の形成中にアミノ酸の修飾は偶発的に導入され得ることは当技術分野で周知である。さらに、これらのタイプの修飾は、ポリペプチド断片のm/z値を変更する。例えば、ポリペプチド断片が酸化されたメチオニンを含む場合、m/z値は酸化メチオニンを含まない同一断片と比較して、16増加するであろう。従って、注釈「酸化(M)」を有する表2、3、4、又は5のこれらのポリペプチド断片は、酸化メチオニンを含まない同一断片と比較して、16増加したm/z値を有する。表2、3、4、又は5のポリペプチド断片は、試料処理中に修飾され得ることが分かる。

【0074】

ポリヌクレオチド配列類似性及びポリヌクレオチド配列同一性

本発明のポリペプチドはまた、ポリペプチドをコードする用語ポリヌクレオチドで特定されてよい。したがって、本発明は、本発明のポリペプチドをコードする、又はスタンダードハイブリダイゼーション条件下で、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、及びこのようなポリヌクレオチド配列の補体とハイブリッド形成するポリヌクレオチドを含む。

【0075】

本明細書で用いられる場合、本発明のポリヌクレオチドへの言及及び／又は1又は複数の配列番号の核酸配列への言及は、特定の参照ポリヌクレオチド配列と少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の配列同一性を有するポリヌクレオチドを含むことができる。

【0076】

表2．黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ATCC 単離株 19636 から得られたポリペプチドの特徴

【0077】

【表 2 - 1】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値?	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
P23	88	625.4	HVDVR	1
		717.3	YSYER	2
		892.5	IIGDYRR	3
		942.5	IFTDYRK	4
		944.5	ELKELGQK	5
		974.6	YAQVKPIR	6
		984.5	QMPPFGAR	7
		992.5	SMQPPGGIR	8
		1097.6	VSGYAVNFIK	9
		1159.5	NHATAWQGFK	10
		1261.7	LWEQVMQLSK	11
		1272.7	SLGKEPEDQNR	12
		1277.7	DGISNTFSIVPK	13
		1289.7	AGVITGLPDAYGR	14
		1315.7	TSTFLDIYAER	15
		1322.7	SMQPPGGIRMAK	16
		1394.7	THNQGVFDAYS	17
		1417.8	KAGVITGLPDAYGR	18
		1421.8	TLLYAINGGKDEK	19
		1426.8	IEMALHDTEIVR	20
		1508.8	AGEPFAPGANPMHGR	21
		1513.9	VALYGVDFLMEEK	22
		1522.8	KTHNQGVFDAYS	23
		1543.9	YGFDLSPAEFIK	24

10

20

30

40

【表 2 - 2】

ポリペプチド の名称	キロダルトン(kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1571.8	TSSIQYENDDIMR	25
		1636.9	KAGEPFAPGANPMHGR	26
		1670.0	RVALYGVDFLMBEK	27
		1676.0	LWEQVMQLSKBER	28
		1876.2	MLETNKNHATAWQGFK	29
		2043.1	MHDFNTMSTEMSEDVIR	30
		2078.2	YGNNDDRVDDIAVDLVER	31
		2285.5	ETLDIAMEHPPEEYPQLTIR	32
		2892.9	YAQVKPIRNEEGLVDFEIEGDFPK	33
P25	55	783.6	LHSWLK	34
		911.7	KLHSWLK	35
		937.6	TYTFHLR	36
		996.6	KFDGTGPFK	37
		1025.6	QAIGHMVNR	38
		1063.6	KWDVSEIDGK	39
		1185.6	IYNSIDDAFK	40
		1277.6	NLEMAMYYDK	41
		1324.7	ENKQLTYITVK	42
		1346.7	AESLLDEAGWKK	43
		1381.8	TVRQAIGHMVNR	44
		1394.8	TYTFHLRDDVK	45

10

20

30

40

【表 2 - 3】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹⁾ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²⁾	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1400.7	KGETNEAFTDDR	46
		1419.7	FHDGTFPDADAVK	47
		1422.8	NVTDINFDMPTR	48
		1428.8	DKIYNSIDDAFK	49
		1483.8	EQAEYLQAEFKK	50
		1509.8	VMPAGETAFLSMKK	51
		1547.9	FHDGTFPDADAVKK	52
		1550.9	NVTDINFDMPTRK	53
		1559.9	LNINGETSDKIAER	54
		1788.1	EILDGQEKPATQLFAK	55
		1930.1	GSSSQKQAEYLAQAEFK	56
		1946.0	DESADFNKNDQYWGEK	57
		2100.4	IAKEILDGQEKPATQLFAK	58
		2239.3	VSFTQSQYELPFNEMQYK	59
		2493.5	EAYQPALAEAMPFRPYVFSFK + 酸化 (M)	60
		2900.6	DIGDMNPHVYGGMSAESMIYEPLVR + 2 酸化 (M)	61
		2916.6	DIGDMNPHVYGGMSAESMIYEPLVR + 3 酸化 (M)	62

10

20

30

40

【表 2 - 4】

ポリペプチド の名称	キロダルトン(kDa) ¹⁾ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²⁾	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
P26	38	993.6	IVYVGADEK	63
		996.7	QALNPNVLK	64
		1237.7	ETVKIENNYK	65
		1272.7	ENPDVILAMDR	66
		1502.0	IAATKPEVIFISGR	67
		1507.9	NAVLDYGALDVMK	68
		1523.9	ALPNFLESFKDDK	69
		1559.9	LWYFAAGSTTTIK	70
		1716.0	FGGLVYDTLGFNAVDK	71
		1737.0	IVYVGADEKNLIGSMK	72
		1844.1	FGGLVYDTLGFNAVDK	73
		1929.1	GRFGGLVYDTLGFNAVDK	74
		1998.2	TVMYLLVNEGELSTFGPK	75
		2234.4	EVNFDKIAATKPEVIFISGR	76
		3143.8	VSNSNHGQNVSNYYVKNENPDVILAMDR	77
P27	37	699.5	FEYK	78
		729.4	DAWPLK	79
		792.5	ASVYVNR	80
		852.4	VYDQLSK	81
		987.5	HAMGTTEIK	82
		1008.5	LIDDLYEK	83
		1020.5	YKDAWPLK	84
		1074.5	EKEAEDLLK	85
		1083.6	LKPDILVASK	86
		1169.5	FEYIKNDLK	87
		1182.5	KTESEWTSSK	88

10

20

30

40

【表 2 - 5】

ポリペプチド の名称	キロダルトン(kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1184.5	YDDKVAAFQK	89
		1223.5	NEKVVYDQLSK	90
		1278.6	IAPTVSTDTVFK	91
		1497.6	TESEWTSKKEWK	92
		1502.7	DAWPLKASVVNFR	93
		1558.8	QVDNGKDIQLTSK	94
		1605.8	LIDDLYEKLNIEK	95
		1623.8	IVGQEPAPNLEEISK	96
		1712.8	ESIPLMNADHIFVVK	97
		1800.9	IYAGGYAGEILNDLGFK	98
		1957.0	IYAGGYAGEILNDLGFKR	99
		2252.0	NNQVSDDLDEITWNLGGYK	100
		3383.9	RVVTLYQGATDVAVSLGVPVGAVESWTQKPK	101
P28	36	646.4	DVWAR	102
		725.5	IHKPVR	103
		1068.4	IGDYTSVGTTR	104
		1185.5	KQPNLEEISK	105
		1327.6	LKPDLIIADSSR	106
		1343.6	VDIVDRDVWAR	107
		2080.9	GPYLQDTEHLADLNPER	108
		2438.1	AGLLAHPNYSYVGQFLNELGFK	109
		2789.4	IVVLEYSFADALAAALDVKPVGIADDDGK	110

10

20

30

40

【表 2 - 6】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
P29	35	760.5	AGWAEVK	111
		1012.6	TVDFKDPK	112
		1107.6	KDWEETAK	113
		1204.7	VPTVVVDYNK	114
		1238.6	YLEQQEMLGK	115
		1244.6	LYTYGDNWGR	116
		1259.7	LAVVAPTYAGGLK	117
		1281.7	GGEVLYQAFGLK	118
		1516.8	AGWAEVKQEEIEK	119
		1683.9	LGANIVAVNQVDQSK	120
		1877.1	EKPDLIIVYSTDKDIK	121
		1884.0	AIGQDATVSLDFEFDKIK	122
		2227.1	VDAGTYWYNDPYTLDFMR	123
		2781.4	YAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWK	124
P30	33	834.5	QAIEFVK	125
		864.5	YIAQLEK	126
		946.5	QGTPEQMR	127
		962.5	QAIEFVKK	128
		976.5	DKFNDIPK	129
		1054.5	AMTSEGAFK	130
		1202.5	SNIETVHGSMDK	131
		1268.6	HLLVETSVDDK	132

10

20

30

40

【表 2 - 7】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1443.6	DIFGEVYTDISIGK	133
		1450.7	TIQQTIDNDKK	134
		1454.7	VVTNSILYDMAK	135
		1571.7	KDIFGEVYTDISIGK	136
		1593.7	QDPHAWLSLDNGIK	137
		1818.9	DVKPIYLNGBEGNKDK	138
		1836.9	DKQDPHAWLSLDNGIK	139
		1911.9	QYGITPGYIWEINTEK	140
		2382.3	LITDADVILYNGLNLETGNGWFEK	141
		2710.2	KLTDADVILYNGLNLETGNGWFEK	142
		2942.4	NVGGDNVDIHSIVFVGQDPHEYEYKPK	143

10

20

30

40

【0078】

1. SDS-PAGEによって決定される分子量
2. ポリペプチド断片のm/z値は、m/z値から1を減算することによって質量に換算できる。各質量は、プラス又はマイナス300 ppm、或いはプラス又はマイナス1 Daの範囲を含む。

【0079】

50

表3．黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）単離株 S A A V 1 から得られたポリペプチドの特徴
 【0080】
 【表3-1】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹⁾ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片の m/z 値?	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
P33A	55	783.4	LHSWLK	144
		911.5	KLHSWLK	145
		937.5	TYTFHLR	146

10

20

30

40

【表 3 - 2】

ポリペプチド の名称	キロダルトン(kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		996.5	KFDGTGPFK	147
		1025.5	QAIGHMVMNR	148
		1039.4	NDOYWGEK	149
		1178.5	GTDSLDKDSLK	150
		1185.5	IYNSIDDAFK	151
		1222.6	DKYTVELNLK	152
		1229.5	ISTLIDNVKVK	153
		1346.6	AESLLDEAGWKK	154
		1355.5	EQAYLQAEFK	155
		1381.6	VMPAGETAFLSMK	156
		1400.5	KGETNFAFTDDR	157
		1419.6	FHDGTPFDADAVK	158
		1422.6	NVIDINFDMPTR	159
		1483.6	EQAYLQAEFK	160
		1547.7	FHDGTPFDADAVK	161
		1550.6	NVIDINFDMPTRK	162
		1559.7	LNINGETSDKIAER	163
		1787.9	EILDGQEKPATQLFAK	164
		1945.8	DESADFNKNDQYWGEK	165
		2239.0	VSFTQSQYELPFNEMQYK	166
		2354.1	QIDDEGIFPISHGSMIVVAPK	167
		2868.1	DIGDMNPHVYGGSMSAESMIYEPLVR	168
P33B	55	895.4	FPYAANGR	169
		904.5	ALLHASHR	170
		1045.5	EEGLAIKASK	171
		1384.5	GEAYFVDNNSLR	172

10

20

30

40

【 表 3 - 3 】

ポリペプチド の名称	キロダルトン(kDa) ¹⁾ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²⁾	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1435.7	TIEADYVLVTVGR	173
		1669.8	RPNTDELGLEELGVK	174
		1841.0	NAIATGSRPIEIPNFK	175
		2179.2	TSISNIYAIGDIVPGLPLAHK	176
		2546.2	FVEAQHSENLGVIAESVSLNFQK	177
		2587.3	VVGDFPIETDITVIGAGPGGYVAAIR	178
P35	37	699.4	FEYIK	179
		729.4	DAWPLK	180
		792.4	ASVVNFR	181
		852.4	VYDQLSK	182
		1008.4	LIDDLYEK	183
		1020.4	YKDAWPLK	184
		1074.4	EKEAEDLLK	185
		1083.5	LKPDLLVASK	186
		1169.5	FEYIKNDLK	187
		1182.4	KTESEWTSSK	188
		1184.4	YDDKVAAFQK	189
		1278.5	LPTVSTDTIVRFK	190
		1558.7	QVDNGKDIQLTSK	191
		1623.7	IVGQEPAPNLEISK	192
		1712.7	ESIPLMNADHIFVVK	193
		1800.7	IYAGGYAGEILNDLGFK	194
		1956.8	IYAGGYAGEILNDLGFKR	195
		2251.9	NNQVSDDDLDEITWNLGGYK	196
		3227.5	VVTLYQGATDVAVSLGVKPVGAVESWTQKPK	197
P38	33	864.5	YIAQLEK	198

10

20

30

40

【表 3 - 4】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹⁾ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²⁾	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		946.4	QGTFEQMR	199
		976.5	DKFNDEPK	200
		1034.5	AMITSEGAFK	201
		1146.5	FNDIPKEQR	202
		1268.6	HLLVETSYDKK	203
		1322.5	TIQTFIDNDK	204
		1443.6	DFGEVYTDGK	205
		1450.6	TIQTFIDNDKK	206
		1454.6	VVTNSILYDMAK	207
		1593.7	QDPHAWLSLDNGIK	208
		1818.9	DVKPIYLNAGEGNKDK	209
		1836.8	DKQDPHAWLSLDNGIK	210
		1911.9	QYGITPGYIWEINTEK	211
		2942.4	NVGGDNVDIHSIVPGQDPHEYEYKPK	212

10

20

30

40

【0081】

1. SDS-PAGEによって決定される分子量
2. ポリペプチド断片のm/z値は、m/z値から1を減算することによって質量に換算できる。各質量は、プラス又はマイナス300ppm、或いはプラス又はマイナス1Daの範囲を含む。

【0082】

表4. 黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 単離株 2176 から得られたポリペプチドの特徴

50

【 0 0 8 3 】

【 表 4 - 1 】

ポリペプチド の名称	キロダルトン(kDa) ¹⁾ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値?	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
P478	88	736.35	IIGDYR	213
		814.49	IFTDYR	214
		942.42	IFTDYRK	4
		945.36	TGNTPDGRK	215
		974.40	YAVKPIR	6
		984.27	QMQFFGAR	7
		992.41	SMQFFGIR	8
		1087.31	EQQLDVISR	216
		1097.31	VSGYAVNFIK	9
		1159.37	NHATAWQGFK	10
		1261.37	LWEQVMQLSK	11
		1289.46	AGVITGLPDAYGR	14
		1315.42	TSTFLDIYAER	15
		1322.39	LRBELSEQYR	217
		1394.37	THNQGVEDAYS	17
		1417.52	KAGVITGLPDAYGR	18
		1426.36	IEMALHDTEIVR	20
		1487.39	NHATAWQGFKNGR	218
		1508.42	AGEFFAPGANPMHGR	21
		1513.52	VALYGVDFLMEBK	22
		1543.43	YGFDLSRPAENFIK	24
		1571.50	TSSIQYENDDIMR	25
		1636.56	KAGEFFAPGANPMHGR	26
		1859.80	DLETIVGVQTEKPFKR	219

10

20

30

40

【表 4 - 2】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片の m/z 値 ²	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1876.77	TMATGIAGLSVAADSLSAIK	220
		2042.57	MHDFNTMSTEMSESDVIR	30
		2077.68	YGNNDRRVDDIAVDLVER	31
		2158.88	AGVITSEVQEIIDHFIMK	221
		2284.90	ETLDAMEHPPEYQLTIR	32
		2575.08	FLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVR	222
		2628.01	SGAQVGNFEGINSEVLEYDEVFK	223
		2756.06	SGAQVGNFEGINSEVLEYDEVFKK	224
		3262.33	VASTTSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPEK	225
P479	80	625.27	HVDVR	1
		736.26	IIGDYR	226
		814.22	IFIDYR	227
		942.27	IFTDYRK	4
		974.26	YAQVKPIR	6
		984.18	QMQLFGAR	7
		992.23	SMQPFGGIR	8
		1087.16	EQQLDVISR	228
		1097.24	VSGYAVNFIK	9
		1159.12	NHATAWQGFK	10
		1243.14	VDDIAVDLVER	229
		1261.22	LWEQVMQLSK	11
		1272.24	SLGKEPEDQNR	12
		1277.18	DGISNTFSIVPK	13
		1289.21	AGVITGLPDAYGR	14
		1315.19	TSTFLDIYAER	15
		1322.21	LREELSEQYR	230

10

20

30

40

【表 4 - 3】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹⁾ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²⁾	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1394.16	THNQGVFDAYS	17
		1417.32	KAGVITGLPDAYGR	18
		1426.23	IEMALHDTEIVR	20
		1487.19	NHATAWQGFKNGR	231
		1508.25	AGEFFAPGANPMHGR	21
		1513.21	VALYGVDFLMBEK	22
		1522.25	KTHNQGVFDAYS	23
		1543.26	YGFDSLSPAENFK	24
		1571.23	TSSIQYENDDIMR	25
		1636.29	KAGEFFAPGANPMHGR	26
		1703.43	DLETTIVGVQTEKPFK	232
		1751.45	EAVQWLYLAYLAAIK	233
		1859.53	DLETTIVGVQTEKPFK	234
		1876.50	TMATGIAGLSVAADSLSAIK	235
		1936.37	NEEGLVVDPEIEGDFPK	236
		2042.43	MHDFNTMSTEMSESVIR	30
		2077.45	YGNNDRRVDDIAVDLVER	31
		2158.57	AGVITSEVQEIIDHFIMK	237
		2284.61	ETLDAMEHPPEYPLIIR	32
		2574.77	FLHSLDNLGPAPEPNIIVLWSVR	238
		2627.61	SGAQVGNPFGINSEVLEYDEVFK	239
		2755.70	SGAQVGNPFGINSEVLEYDEVFK	240
		2907.65	EFQLNYTLYEGNDSFLAGPTEATSK	241
		3261.91	VASTIISHDAGYLDKDLTIVGVQTEKPFK	242
		3421.02	TPDYNELFSGDPTWVTESIGGVGIDGRPLVTK	243
P480	65	625.35	HVDVIR	1

10

20

30

40

【表 4 - 4】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		717.38	YSYER	2
		733.42	LPDNFK	244
		736.44	IIGDYR	245
		814.33	IETDYR	246
		853.31	YGNNDLR	247
		942.33	IETDYR	4
		944.39	ELKELGQK	5
		974.52	YAQVKPIR	6
		984.36	QMQLFFGAR	7
		992.44	SMQPFGGIR	8
		1049.44	TLLYAINGGK	248
		1087.43	EQQLDVISR	249
		1097.51	VSGYAVNFIK	9
		1159.52	NHATAWQGFK	10
		1289.53	AGVITGLPDAYGR	14
		1315.51	TSTFLDIYAEK	15
		1322.46	LREELSEQYR	250
		1394.50	THNQGVFDAYSR	17
		1417.65	KAGVITGLPDAYGR	18
		1442.56	IEMALHDTIVR + 酸化 (M)	251
		1467.60	VSGYAVNFIKLR	252
		1522.61	KTHNQGVFDAYSR	23
		1524.55	AGEPFAPGANPMHGR + 酸化 (M)	253
		1529.64	VALYGVDFLMBEK + 酸化 (M)	254
		1543.62	YGFDLSRPAENFK	24
		1652.68	KAGEPFAPGANPMHGR + 酸化 (M)	255

10

20

30

40

【表 4 - 5】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値?	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1671.76	TSTFLDIYAERDLK	256
		1766.76	VDDIAVDLVERFMTK + 酸化 (M)	257
		1876.86	TMATGIAGLSVAADSLSAIK	258
		2077.93	YGNDDRVDVDDIAVDLVER	31
		2225.07	DSEHTMSVLITISNVVYGGK + 酸化 (M)	259
		2375.33	FLHSLDNLGPAPEPNTLVWSVR	260
		2628.25	SGAQVGNFEGINSEVLEYDEVFK	261
		2748.36	NLTSMLDGYAMQCQHHLNINVFNR	262
		2756.63	SGAQVGNFEGINSEVLEYDEVFKK	263
		3001.02	DEKSGAQVGNFEGINSEVLEYDEVFK	264
		3420.75	TPDYNELFSGDPTWYTESIGGVGIDGRPLVTK	265
P481	55	634.33	AKSNSK	266
		883.24	TFYPEAR	267
		1014.24	QFWGHLVK	268
		1131.17	WPLMMKGR	269
		1207.21	VINEEFEISK	270
		1324.10	NEDWQLYTAGK	271
		1360.28	TLLFGPFANVGPK	272
		1386.31	LDRPAIESSNER	273
		1565.30	IDEGTDVNFGELTR	274
		1584.34	EFINPLPHISYVR	275
		1699.29	EIEPDWNIHVYER	276
		1744.36	EPPGTPMTVPHLDTR	277
		2046.52	QVTDYVFVIGAGGGAIPLLQK	278
		2189.43	TFYPEARNEDWQLYTAGK	279

10

20

30

40

【表 4 - 6】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片の m/z 値?	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
P482	37	2806.58	HLGGFPISGQFLACTINPQVIEQHDAK	280
		699.28	FEYIK	281
		729.26	DAWPLK	282
		792.33	ASVYVNR	283
		852.28	VYDQLSK	284
		1008.30	LDDLVEK	285
		1020.31	YKDAWPLK	286
		1083.43	LKPDLLIVASK	287
		1278.36	IAPTVDSTDTVFK	288
		1623.44	IVGQEPAPNLEEISK	289
		1712.62	ESPLMNADHIFVVK	290
		1800.61	IYAGGYAGEILNDLGFK	291
		1956.77	IYAGGYAGEILNDLGFKR	292
P483	36	2251.77	NNQVSDLLDEITWNLGGYK	293
		3227.44	VVTLYQGATDVAVSLGKPVGAVESWTQKPK	294
		646.50	DVWAR	295
		672.41	KLNAVK	296
		716.41	VDIVDR	297
		725.61	IHKPYR	298
		842.50	IAPTLSLK	299
		850.47	QNINSFK	300
		1068.50	IGDYTSVGTR	301
		1075.42	MIMTDHAK + 酸化 (M)	302
		1185.53	KQPNLEEISK	303
		1327.59	LKPDLLIADSSR	304
1343.58	VDIVDRDVYWAR	305		

10

20

30

40

【表 4 - 7】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹⁾ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²⁾	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1592.76	LKPDLLIADSSRHK	306
		2081.00	GPYLQLDTEHLADLNPER	307
		2438.24	AGLLAHPNYSYVQGFLNELGFK	308
		2789.48	IVVLEYSFADALAAALDVKPVGIADDGK	309
		2917.60	IVVLEYSFADALAAALDVKPVGIADDGKK	310
P484	35	857.38	AAAIIDLAGR	311
		1022.23	NIEADTGMR + 酸化 (M)	312
		1056.32	VVDANIAAQR	313
		1075.36	ADIDLPPER	314
		1285.44	LYGGAGEETIAR	315
		1435.44	AMAVATEQEMKAR	316
		1632.50	HHTEVLENPDNISK	317
		1813.65	VVEAESEVPLAMAEALR	318
		1887.67	VIETPIAGVAMNGIEVK	319
		2299.85	AGLALITNQLSHYLAGGNVDR	320
		2806.95	TVLSKGLDSGTAFELSIDIADVDSK	321
		3337.42	AGLALITNQLSHYLAGGNVDRVVDANIAAQR	322
P485	33	625.28	ADYEK	323
		864.28	YIAQLEK	324
		946.23	QGTPEQMR	325
		1045.26	ALEQAGKSLK	326
		1268.35	HLLVETSVDKK	327
		1443.34	DIFGEVYTDISIGK	328
		1450.40	TIQQTIFDNDKK	329
		1454.37	VVTTNSILYDMAK	330
		1571.45	KDIFGEVYTDISIGK	331

10

20

30

40

【表 4 - 8】

ポリペプチド の名称	キロダルトン(kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1576.44	DVKPIYLNAGEGK	332
		1593.47	QDPHAWLSLDNGIK	333
		1819.59	DVKPIYLNAGEGKDK	334
		1836.62	DKQDPHAWLSLDNGIK	335
		1911.66	QYGITPGYWEINTEK	336
		2172.83	VIAVSKDVKPIYLNAGEGK	337
		2382.00	LTDADVILYNGLNLETGNGWFEK	338
		2942.26	NVGGDNVDIHSIVPVGQDPHEYEKPK	339
P486	32	625.42	ADYEK	340
		864.41	YIAQLEK	341
		1268.48	HLLVETSVDDK	342
		1443.49	DIFGEVYTDISIGK	343
		1450.53	TIQQTFFDNDKK	344
		1454.61	VVITNSILYDMAK	345
		1576.64	DVKPIYLNAGEGK	346
		1593.57	QDPHAWLSLDNGIK	347
		1818.77	DVKPIYLNAGEGKDK	348
		1836.78	DKQDPHAWLSLDNGIK	349
		1911.81	QYGITPGYWEINTEK	350
		2382.18	LTDADVILYNGLNLETGNGWFEK	351
		2942.32	NVGGDNVDIHSIVPVGQDPHEYEKPK	352

【0084】

1. SDS-PAGEによって決定される分子量
2. ポリペプチド断片のm/z値は、m/z値から1を減算することによって質量に換算できる。各質量は、プラス又はマイナス400ppm、或いはプラス又はマイナス1Daの範囲を含む。

【0085】

10

20

30

40

50

表5. 黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ウシ単離株 1477 から得られたポリペプチドの特徴

【0086】

【表5-1】

ポリペプチド の名称	キロダルトン(kDa) 単位の概算分子量	トリブシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値?	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
P487	88	717.39	YSYER	2
		736.52	IIGDYR	583
		814.46	IFTDYR	584
		942.46	IFTDYRK	4
		974.54	YAQVKPIR	6
		984.41	QMRFEGAR	7
		992.40	SMQPFGGIR	8
		1087.49	EQQLDVISR	585
		1097.50	VSGYAVNFIK	9
		1159.39	NHATAWQGFK	10
		1261.45	LWEQVMQLSK	11
		1272.50	SLGKEPEDQNR	12
		1277.50	DGISNTFSIVPK	13
		1289.54	AGVITGLPDAYGR	14
		1315.54	TSTFLDIYAER	15
		1322.53	LRBELSEQYR	586
		1394.50	THNQGVFDAYS	17
		1417.62	KAGVITGLPDAYGR	18
		1426.65	IEMALHDTEIVR	20
		1508.59	AGEPFAPGANPMHGR	21
		1522.61	KTHNQGVFDAYS	23
		1543.68	YGFDLRPAENFK	24
		1877.74	TMATGIAGLSVAADLSAIK	587
		2077.86	YGNNDDRVDDIAVDLVER	31

10

20

30

40

【表 5 - 2】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		2159.08	AGVTESEVQEIDHFMK	588
		2285.07	ETLIDAMEHPPEYQLTIR	32
		2575.32	FLHSLDNLGPAPFNLTVLWSVR	589
		2628.24	SGAQVGNFEGINSEVLEYDEVFK	590
		2756.41	SGAQVGNFEGINSEVLEYDEVFKK	591
		3262.68	VASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPKK	592
P488	80	625.49	HVDYR	1
		814.54	IFTDYR	593
		942.66	IFTDYRK	4
		974.69	YQVKPIR	6
		984.59	QMQLFGAR	7
		992.55	SMQPFGGIR	8
		1159.64	NHATAWQGFK	10
		1261.63	LWEQVMQLSK	11
		1272.74	SLGKEPEDQNR	12
		1277.69	DGISTNFSIVPK	13
		1289.76	AGVTIIGLPDAYGR	14
		1315.73	TSIFLDIYAER	15
		1322.72	SMQPFGGIRMAK	16
		1394.73	THNQGVFDAYS	17
		1417.86	KAGVTIGLPDAYGR	18
		1422.76	LLYAINGGKDEK	19
		1426.80	IEMALHDTEIVR	20
		1508.82	AGEPFAPGANPMHGR	21
		1513.80	VALYGVDFLMEEK	22
		1543.82	YGFDSLSPAENFK	24

10

20

30

40

【表 5 - 3】

ポリペプチド の名称	キロダルトン(kDa) ¹⁾ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²⁾	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1571.82	TSSIQYENDDIMR	25
		1703.99	DLETIVGVQTEKPFK	594
		1860.23	DLETIVGVQTEKPFKR	595
		1877.07	TMATGIAGLSVAADSLSAIK	596
		1937.09	NEEGLVDFEIEGDFPK	597
		2078.13	YGNNDRRVDDIAVDLVER	31
		2575.56	FLHSLDNLGPAPENLTVLWSYR	598
		2628.30	SGAQVGFNFEINSEVLEYDFK	599
		2908.63	EPIQLNYTLYEGNDSFLAGPTEATSK	600
P489	65	733.67	IVKFAK	601
		944.71	ELKELGQK	5
		974.79	YAOVKPIK	6
		984.69	QMQLFFGAR	7
		1049.83	TLLYAINGGK	602
		1087.78	EQQLDVISR	603
		1097.79	VSGYAVNFIK	9
		1243.80	VDDIAVDLVER	604
		1272.82	SLGKEPEDQNR	12
		1289.87	AGVITGLPDAYGR	14
		1299.92	LPDNFKTYCAK	605
		1315.83	TSTFLDIYAER	15
		1322.84	SMQPFGGIRMAK	16
		1390.93	DQKGLSSLSSVAK	606
		1394.84	THNQGVEDAYS	17
		1577.94	VASTTSHDAGYLDK	607
		1637.09	KAGEPFAPGANPMHGR	26

10

20

30

40

【表 5 - 4】

ポリペプチド の名称	キロダルトン (kDa) ¹ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1704.16	DLEIVGVQIEKPFK	608
		2030.42	MSKTSIIQYENDDIMR	608
		2078.34	YGNNDLDRVDDIAVDLYER	31
		2284.60	ETLIDAMEHEPEEYQLTIR	32
		2575.77	FLHSLDNLGPAPERNLIVLWSYR	610
		2628.64	SGAQVGNFEGINSEVLEYDEVFK	611
P490	55	883.81	TFYPEAR	612
		1014.87	QFWGHLVK	613
		1131.97	WPLMMKGR	614
		1207.99	VINEFEISK	615
		1231.97	YSFDQVIMTK	616
		1325.02	NEDWQLYTAGK	617
		1361.17	TLLFGPEANVGPVK	618
		1362.14	GRDNPFGIMAAASK + 酸化 (M)	619
		1387.14	LDRPAIESSNER	620
		1481.24	NEDWQLYTAGKR	621
		1566.28	IDEGIDVNFGLTR	622
		1585.34	EFINPLPHISYVR	623
		1700.36	EIEPDWNIHVIYER	624
		1761.49	EPPGTPPMTVPHLDTR + 酸化 (M)	625
		2047.67	QVIDVYFIGAGGGAIPLLQK	626
		2208.82	VYKKEPPGTPPMTVPHLDTR + 酸化 (M)	627
		2865.21	HLGGFPISGQFLACTNPQVIEQHDAK	628
P492	36	857.57	AAADLAGR	629
		1056.59	VYDANIAAQR	630
		1075.61	ADIDLPPER	631

10

20

30

40

【表 5 - 5】

ポリペプチド の名称	キロダルトン(kDa) ¹⁾ 単位の概算分子量	トリプシン分解から生じる ポリペプチド断片のm/z値 ²⁾	ポリペプチド断片の予想アミノ酸配列	配列番号
		1285.74	LYGGAGEETLIAR	632
		1632.95	HHTEVLENDNISK	633
		1814.09	VVEAESEVPLAMAEALR	634
		2284.45	AAADLAGRDVLEAVQMSVNPk + 酸化 (M)	635
		2300.40	AGLALTTNQLSHYLAGGNVDR	636
		2807.80	TVLSKGLDSGTAFELSIDIADVDISK	637
P493	35	762.46	FVFHGR	638
		964.39	DGFNNIER	639
		1363.56	GHVYNGISGGQFK	640
		1443.56	YTPTSILYFNPK	641
		1450.64	QLAEDLQKHLGAK	642
		1819.88	NHSEYVTDMLIGIR + 酸化 (M)	643
		1875.84	DLPPMBQVFDLDDK	644
		1941.00	IRPEDMHMANIFLPK + 酸化 (M)	645
		2081.10	RURPEDMHMANIFLPK	646
P495	32	2283.30	ISHLVLRTRTGLYHDSQLLK	647

10

20

30

40

【0087】

1. SDS - PAGEによって決定される分子量
2. ポリペプチド断片のm/z値は、m/z値から1を減算することによって質量に換算できる。各質量は、プラス又はマイナス430ppm、或いはプラス又はマイナス1Daの範囲を含む。

【0088】

本明細書において、「配列同一性」は、2つのポリヌクレオチド配列間の同一性を意味

50

する。配列同一性は、同一のヌクレオチドの数が最大になるようにこれらの配列の長さに沿って2つのポリヌクレオチドの塩基を整列させること（例えば、候補配列のヌクレオチド配列と、例えば、配列番号474又は配列番号485のヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列とを整列させること）によって一般的に決定され；各配列中のヌクレオチドは適切な順序を維持しなければならないが、どちらか一方又は両方の配列中のギャップは、共有ヌクレオチドの数を最大にするようにするために、配列比較において容認される。候補配列は、周知の配列、例えば、配列番号474又は配列番号485のヌクレオチド配列を含むヌクレオチド配列と比較される配列である。例えば、2つのポリヌクレオチド配列は、T a t i a n a等の、F E M S M i c r o b i o l L e t t .、1999；174：247～250に記載され、n c b i . n l m . n i h . g o v / B L A S T / のワールドワイドウェブ上で利用可能であるBLAST2サーチアルゴリズムのB l a s t n p r o g r a mを使用して比較することができる。全BLAST2サーチパラメータのためのデフォルト値を使用してよく、r e w a r d フォーマットch = 1, p e n a l t y f o r m i s m a t c h = - 2, o p e n g a p p e n a l t y = 5, e x t e n s i o n g a p p e n a l t y = 2, g a p x _ _ d r o p o f f = 50, e x p e c t = 10, w o r d s i z e = 11, 及びf i l t e r o nが含まれる。

例えば、本発明のポリヌクレオチドは、通常ギ酸アセチルトランスフェラーゼ (PfIB) として周知のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むことができる。このようなポリヌクレオチドの一実施形態は、配列番号430に示される。変異実施形態は、配列番号431、配列番号432、配列番号433、配列番号434、配列番号435、配列番号436、配列番号437、配列番号438、配列番号439、及び配列番号440に示される。

【0089】

他の実施例として、本発明のポリヌクレオチドは、オリゴペプチドパーミアーゼ、ペプチド結合タンパク質 (Opp1A) として周知のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むことができる。このようなポリヌクレオチドの一実施形態は、配列番号441に示される。変異実施形態は、配列番号442、配列番号443、配列番号444、配列番号445、配列番号446、配列番号447、配列番号448、配列番号449、配列番号450、及び配列番号451に示される。

【0090】

他の実施例として、本発明のポリヌクレオチドは、シデロホア化合物ABCトランスポーター結合タンパク質 (SirA) として周知のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含んでよい。このようなポリヌクレオチドの一実施形態は、配列番号452に示される。変異実施形態は、配列番号453、配列番号454、配列番号455、配列番号456、配列番号457、配列番号458、配列番号459、配列番号460、配列番号461、及び配列番号462に示される。

【0091】

他の実施例として、本発明のポリヌクレオチドは、明細書中でSYN2と呼ぶポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含んでよい。このようなポリヌクレオチドの一実施形態は、配列番号463に示される。変異実施形態は、配列番号464、配列番号465、配列番号466、配列番号467、配列番号468、配列番号469、配列番号470、配列番号471、配列番号472、及び配列番号473に示される。

【0092】

他の実施例として、本発明のポリヌクレオチドは、FhuDとして周知のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むことができる。このようなポリヌクレオチドの一実施形態は、配列番号474に示される。変異実施形態は、配列番号475、配列番号476、配列番号477、配列番号478、配列番号479、配列番号480、配列番号481、配列番号482、配列番号483、及び配列番号484に示される。

【0093】

他の実施例として、本発明のポリヌクレオチドは、明細書中でSYN1と呼ぶポリペ

チドをコードするポリヌクレオチドを含むことができる。このようなポリヌクレオチドの一実施形態は、配列番号485に示される。変異実施形態は、配列番号486、配列番号487、配列番号488、配列番号489、配列番号490、配列番号491、配列番号492、配列番号493、配列番号494、及び配列番号495に示される。

【0094】

他の実施例として、本発明のポリヌクレオチドは、MntCとして周知のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むことができる。このようなポリヌクレオチドの一実施形態は、配列番号496に示される。変異実施形態は、配列番号497、配列番号498、配列番号499、配列番号500、配列番号501、配列番号502、配列番号503、配列番号504、配列番号505、及び配列番号506に示される。

10

【0095】

他の実施例として、本発明のポリヌクレオチドは、フェリクロームABCトランスポーターリポタンパク質(SstD)として周知のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むことができる。このようなポリヌクレオチドの実施形態は、配列番号563、配列番号564、配列番号565、配列番号566、配列番号567、配列番号568、配列番号569、配列番号570、配列番号571、及び配列番号572に示される。

【0096】

他の実施例として、本発明のポリヌクレオチドは、鉄化合物ABCトランスポーター(FhuD2)として周知のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むことができる。このようなポリヌクレオチドの実施形態は、配列番号573、配列番号574、配列番号575、配列番号576、配列番号577、配列番号578、配列番号579、配列番号580、配列番号581、及び配列番号582に示される。

20

【0097】

本発明はまた、微生物の全細胞製剤も供し、この中で微生物は1又は複数の本発明のポリペプチドを発現する。全細胞製剤中に存在する細胞は、好適には不活性化され、従って細胞は複製することができないが、微生物によって発現される本発明のポリペプチドの免疫学的活性は維持される。典型的には、薬剤、例えばグルタルアルデヒド、ホルマリン、又はホルムアルデヒドへの曝露によって細胞を死滅させる。

【0098】

組成物

本発明の組成物は、明細書中で記載される少なくとも1つの単離ポリペプチド、又は1以上の(例えば、少なくとも2、少なくとも3、少なくとも4個の)多数のポリペプチドを含んでよい。例えば、組成物は、配列番号408のアミノ酸配列を含む単離ポリペプチド及び/又は配列番号397のアミノ酸配列を含む単離ポリペプチドを含むことができる。配列類似性及び/又は同一性の特定のレベル(例えば、少なくとも80%の配列類似性、少なくとも90%の配列同一性等)を明細書中に明確に示さない限り、特定の配列番号のアミノ酸配列への言及は、「ポリペプチド配列類似性及びポリペプチド配列同一性」との見出しのセクションにおいて記載される配列類似性のレベル及び/又は配列同一性のレベルを有する変異体を含む。

30

【0099】

一部の実施形態において、組成物は、1又は複数のさらなる単離ポリペプチドを含むことができる。一部の実施形態において、さらなる単離ポリペプチド又はポリペプチドは、1又は複数の金属制御ポリペプチドを含んでよい。したがって、組成物は、配列番号353~配列番号429の1又は複数の配列及び/又は配列番号543~配列番号562の1又は複数の配列に表されるアミノ酸配列を含む少なくとも1つの単離金属制御ポリペプチドを含むことができる。加えて又は代わりに、組成物は、88kDa、55kDa、38kDa、37kDa、36kDa、35kDa、又は33kDaの分子量を有する少なくとも1つの単離金属制御ポリペプチドを含むことができる。加えて又は代わりに、組成物は、配列番号430~配列番号506の1又は複数の配列及び/又は配列番号563~配列番号582の1又は複数の配列に表されるヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドに

40

50

よってコードされたアミノ酸配列を含む少なくとも1つの金属制御単離ポリペプチドを含むことができる。

【0100】

一実施形態において、組成物は、配列番号397に表されるアミノ酸配列（又はこの変異体、例えば、配列番号398、配列番号399、配列番号400、配列番号401、配列番号402、配列番号403、配列番号404、配列番号405、配列番号406、若しくは配列番号407に表される任意の1つのアミノ酸配列）を含むポリペプチドを含む。

【0101】

他の実施形態において、組成物は、配列番号408に表されるアミノ酸配列（又はこの変異体、例えば、配列番号409、配列番号410、配列番号411、配列番号412、配列番号413、配列番号414、配列番号415、配列番号416、配列番号417、若しくは配列番号418に表される任意の1つのアミノ酸配列）を含むポリペプチドを含む。

10

【0102】

他の実施形態において、組成物は、配列番号419に表されるアミノ酸配列（又はこの変異体、例えば、配列番号420、配列番号421、配列番号422、配列番号423、配列番号424、配列番号425、配列番号426、配列番号427、配列番号428、若しくは配列番号429に表される任意の1つのアミノ酸配列）を含むポリペプチドを含む。

20

【0103】

他の実施形態において、組成物は、配列番号375に表されるアミノ酸配列（又はこの変異体、例えば、配列番号376、配列番号377、配列番号378、配列番号379、配列番号380、配列番号381、配列番号382、配列番号383、配列番号384、若しくは配列番号385に表される任意の1つのアミノ酸配列）を含むポリペプチドを含む。

【0104】

他の実施形態において、組成物は、配列番号386に表されるアミノ酸配列（又はこの変異体、例えば、配列番号387、配列番号388、配列番号389、配列番号390、配列番号391、配列番号392、配列番号393、配列番号394、配列番号395、若しくは配列番号396に表される任意の1つのアミノ酸配列）を含むポリペプチドを含む。

30

【0105】

他の実施形態において、組成物は、配列番号364に表されるアミノ酸配列（又はこの変異体、例えば、配列番号365、配列番号366、配列番号367、配列番号368、配列番号369、配列番号370、配列番号371、配列番号372、配列番号373、若しくは配列番号374に表される任意の1つのアミノ酸配列）を含むポリペプチドを含む。

【0106】

他の実施形態において、組成物は、配列番号353に表されるアミノ酸配列（又はこの変異体、例えば、配列番号354、配列番号355、配列番号356、配列番号357、配列番号358、配列番号359、配列番号360、配列番号361、配列番号362、若しくは配列番号363に表される任意の1つのアミノ酸配列）を含むポリペプチドを含む。

40

【0107】

他の実施形態において、組成物は、配列番号543、配列番号544、配列番号545、配列番号546、配列番号547、配列番号548、配列番号549、配列番号550、配列番号551、又は配列番号552に表される任意の1つのアミノ酸配列のアミノ酸配列、又はこの変異体を含むポリペプチドを含む。

【0108】

50

他の実施形態において、組成物は、配列番号553、配列番号554、配列番号555、配列番号556、配列番号557、配列番号558、配列番号559、配列番号560、配列番号561、又は配列番号562に表される任意の1つのアミノ酸配列のアミノ酸配列、又はこの変異体を含むポリペプチドを含む。

【0109】

一部の実施形態において、組成物は、SYN1ポリペプチド、MntCポリペプチド、FhuDポリペプチド、SYN2ポリペプチド、SirAポリペプチド、Opp1Aポリペプチド、及びPflbポリペプチドから選択された2又はそれ以上のポリペプチドの組合せを含むことができる。

【0110】

したがって、組成物は、SYN1ポリペプチド、MntCポリペプチド、FhuDポリペプチド、SYN2ポリペプチド、SirAポリペプチド、Opp1Aポリペプチド、及びPflbポリペプチドの少なくとも1つ、又は少なくとも2つ、少なくとも3つ、少なくとも4つの、少なくとも5つ、少なくとも6つ、若しくは7つ全てを含む任意の組合せを含むことができる。ポリペプチドの組合せを含む好例の組成物は、表6において確認される。

【0111】

【表6-1】

組成物	SYN1	MntC	FhuD	SYN2	SirA	Opp1A	Pflb
2つのpペプチド*							
1	X	X					
2	X		X				
3	X			X			
4	X				X		
5	X					X	
6	X						X
7		X	X				
8		X		X			
9		X			X		
10		X				X	
11		X					X
12			X	X			
13			X		X		
14			X			X	
15			X				X
16				X	X		
17				X		X	
18				X			X
19					X	X	
20					X		X
21						X	X
3つのpペプチド*							
22	X	X	X				

10

20

30

40

50

【表 6 - 2】

23	X	X		X			
24	X	X			X		
25	X	X				X	
26	X	X					X
27	X		X	X			
28	X		X		X		
29	X		X			X	
30	X		X				X
31	X			X	X		
32	X			X		X	
33	X			X			X
34	X				X	X	
35	X				X		X
36	X					X	X
37		X	X	X			
38		X	X		X		
39		X	X			X	
40		X	X				X
41		X		X	X		
42		X		X		X	
43		X		X			X
44		X			X	X	
45		X			X		X
46		X				X	X
47			X	X	X		
48			X	X		X	
49			X	X			X
50			X		X	X	
51			X		X		X
52			X			X	X
53				X	X	X	
54				X	X		X
55				X		X	X
56					X	X	X
4つのペプチド ¹	X	X	X	X			

10

20

30

40

【表 6 - 3】

57	X	X	X		X		
58	X	X	X			X	
59	X	X	X				X
60	X	X		X	X		
61	X	X		X		X	
62	X	X		X			X
63	X	X			X		
64	X	X			X	X	
65	X	X			X		X
67	X	X				X	X
68	X		X	X	X		
69	X		X	X		X	
70	X		X	X			X
71	X		X		X	X	
72	X		X		X		X
73	X		X			X	X
74	X			X	X	X	
75	X			X	X		X
76	X				X	X	X
77		X	X	X	X		
78		X	X	X		X	
79		X	X	X			X
80		X	X		X	X	
81		X	X		X		X
82		X	X			X	X
83		X		X	X	X	
84		X		X	X		X
85		X		X		X	X
86		X			X	X	X
87			X	X	X	X	
88			X	X	X		X
89			X	X		X	X
90			X		X	X	X
91				X	X	X	X
5つのpペプチド*							

10

20

30

40

【表 6 - 4】

92	X	X	X	X	X		
93	X	X	X	X		X	
94	X	X	X	X			X
95	X	X	X		X	X	
96	X	X	X		X		X
97	X	X	X			X	X
98	X	X		X	X	X	
99	X	X		X	X		X
100	X	X		X		X	X
101	X	X			X	X	X
102	X		X	X	X	X	
103	X		X	X	X		X
104	X		X	X		X	X
105	X		X		X	X	X
106	X			X	X	X	X
107		X	X	X	X	X	
108		X	X	X	X		X
109		X	X	X		X	X
110		X	X		X	X	X
111		X		X	X	X	X
112			X	X	X	X	X
6つのpペプチド*							
113	X	X	X	X	X	X	
114	X	X	X	X	X		X
115	X	X	X	X		X	X
116	X	X	X		X	X	X
117	X	X		X	X	X	X
118	X		X	X	X	X	X
119		X	X	X	X	X	X

10

20

30

【 0 1 1 2 】

* p ペプチド = ポリペプチド

「 X 」は、特定の組成物に含まれるポリペプチドを特定する。

40

【 0 1 1 3 】

本明細書を通して、SYN1ポリペプチドは、1又は複数の以下の特徴：配列番号408、配列番号409、配列番号410、配列番号411、配列番号412、配列番号413、配列番号414、配列番号415、配列番号416、配列番号417、又は配列番号418のいずれか1つに表されるアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号485、配列番号486、配列番号487、配列番号488、配列番号489、配列番号490、配列番号491、配列番号492、配列番号493、配列番号494、配列番号495のいずれか1つに表される核酸配列を含むポリヌクレオチドによってコードされること、及び/又は約33.1kDaの算出分子量によって特徴付けられる。

50

【 0 1 1 4 】

本明細書を通して、M n t Cポリペプチドは、1又は複数の以下の特徴：S D S - P A G Eによって決定される場合、3 3 k D aの分子量を有していること、参照株黄色ブドウ球菌 (S. aureus) A T C C単離株 1 9 6 3 6によって生成される3 3 k D aの金属制御ポリペプチドのマスフィンガープリントと少なくとも8 0 %類似のマスフィンガープリント、配列番号4 1 9、配列番号4 2 0、配列番号4 2 1、配列番号4 2 2、配列番号4 2 3、配列番号4 2 4、配列番号4 2 5、配列番号4 2 6、配列番号4 2 7、配列番号4 2 8、又は配列番号4 2 9のいずれか1つに表されるアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号4 9 6、配列番号4 9 7、配列番号4 9 8、配列番号4 9 9、配列番号5 0 0、配列番号5 0 1、配列番号5 0 2、配列番号5 0 3、配列番号5 0 4、配列番号5 0 5、又は配列番号5 0 6のいずれか1つに表される核酸配列を含むポリヌクレオチドによってコードされること、及び/又は約3 4 . 6 k D aの算出分子量によって特徴付けられてよい。

10

【 0 1 1 5 】

本明細書を通して、F h u Dポリペプチドは、1又は複数の以下の特徴：配列番号3 9 7、配列番号3 9 8、配列番号3 9 9、配列番号4 0 0、配列番号4 0 1、配列番号4 0 2、配列番号4 0 3、配列番号4 0 4、配列番号4 0 5、配列番号4 0 6、又は配列番号4 0 7のいずれか1つに表されるアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号4 7 4、配列番号4 7 5、配列番号4 7 6、配列番号4 7 7、配列番号4 7 8、配列番号4 7 9、配列番号4 8 0、配列番号4 8 1、配列番号4 8 2、配列番号4 8 3又は配列番号4 8 4のいずれか1つに表される核酸配列を含むポリヌクレオチドによってコードされること、及び/又は約3 5 . 4 k D aの算出分子量によって特徴付けられてよい。

20

【 0 1 1 6 】

本明細書を通して、S Y N 2ポリペプチドは、1又は複数の以下の特徴：S D S - P A G Eによって決定される分子量3 6 k D a、参照株黄色ブドウ球菌 (S. aureus) A T C C単離株 1 9 6 3 6によって生成される3 6 k D aの金属制御ポリペプチドのマスフィンガープリントと少なくとも8 0 %類似のマスフィンガープリント、配列番号3 8 6、配列番号3 8 7、配列番号3 8 8、配列番号3 8 9、配列番号3 9 0、配列番号3 9 1、配列番号3 9 2、配列番号3 9 3、配列番号3 9 4、配列番号3 9 5、又は配列番号3 9 6のいずれか1つに表されるアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号4 6 3、配列番号4 6 4、配列番号4 6 5、配列番号4 6 6、配列番号4 6 7、配列番号4 6 8、配列番号4 6 9、配列番号4 7 0、配列番号4 7 1、配列番号4 7 2、又は配列番号4 7 3のいずれか1つに表される核酸配列を含むポリヌクレオチドによってコードされること、及び/又は約3 6 . 5 k D aの算出分子量を有することによって特徴付けられてよい。

30

【 0 1 1 7 】

本明細書を通して、S i r Aポリペプチドは、1又は複数の以下の特徴：S D S - P A G Eによって決定される分子量3 7 k D a、参照株黄色ブドウ球菌 (S. aureus) A T C C単離株 1 9 6 3 6によって生成される3 7 k D aの金属制御ポリペプチドのマスフィンガープリントと少なくとも8 0 %類似のマスフィンガープリント、配列番号3 7 5、配列番号3 7 6、配列番号3 7 7、配列番号3 7 8、配列番号3 7 9、配列番号3 8 0、配列番号3 8 1、配列番号3 8 2、配列番号3 8 3、配列番号3 8 4、又は配列番号3 8 5のいずれか1つに表されるアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号4 5 2、配列番号4 5 3、配列番号4 5 4、配列番号4 5 5、配列番号4 5 6、配列番号4 5 7、配列番号4 5 8、配列番号4 5 9、配列番号4 6 0、配列番号4 6 1、又は配列番号4 6 2のいずれか1つに表される核酸配列を含むポリヌクレオチドによってコードされること、及び/又は約3 6 . 6 k D aの算出分子量を有することによって特徴付けられてよい。

40

【 0 1 1 8 】

本明細書を通して、O p p 1 Aポリペプチドは、1又は複数の以下の特徴：S D S - P A G Eによって決定される分子量5 5 k D a、参照株黄色ブドウ球菌 (S. aureus) A T C C単離株 1 9 6 3 6によって生成される5 5 k D aの金属制御ポリペプチドのマスフィ

50

ンガープリントと少なくとも80%類似のマスフィンガープリント、配列番号364、配列番号365、配列番号366、配列番号367、配列番号368、配列番号369、配列番号370、配列番号371、配列番号372、配列番号373、又は配列番号374のいずれか1つに表されるアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号441、配列番号442、配列番号443、配列番号444、配列番号445、配列番号446、配列番号447、配列番号448、配列番号449、配列番号450、又は列番号451のいずれか1つに表される核酸配列を含むポリヌクレオチドによってコードされること、及び/又は約59.9kDaの算出分子量によって特徴付けられる。

【0119】

本明細書を通して、PflBポリペプチドは、1又は複数の以下の特徴：SDS-PAGEによって決定される分子量88kDa、参照株黄色ブドウ球菌(*S. aureus*) ATCC単離株19636によって生成される88kDaの金属制御ポリペプチドのマスフィンガープリントと少なくとも80%類似のマスフィンガープリント、配列番号353、配列番号354、配列番号355、配列番号356、配列番号357、配列番号358、配列番号359、配列番号360、配列番号361、配列番号362、又は配列番号363のいずれか1つに表されるアミノ酸配列を含むアミノ酸配列、配列番号430、配列番号431、配列番号432、配列番号433、配列番号434、配列番号435、配列番号436、配列番号437、配列番号438、配列番号439、又は配列番号440のいずれか1つに表される核酸配列を含むポリヌクレオチドによってコードされること、及び/又は約84.7kDaの算出分子量によって特徴付けられる。

【0120】

他の特定の実施形態において、組成物は、ポリペプチド、例えば、直前に記載の通り特徴付けられる各ポリペプチドMntCポリペプチド、FhuDポリペプチド、SirAポリペプチド、及びSYN2ポリペプチドの組合せ(表6の組成物77)を含むことができる。

【0121】

一部の実施形態において、組成物は、組換えで生成される1又は複数のポリペプチドを含むことができる。例えば、組換えで生成されたPflbポリペプチドは、組換えで生成されることに加えて、上記の通り特徴付けられてよいが、組成物は、組換えで生成されたPflbポリペプチド、例えば、配列番号353に表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含むことができる。これらの組成物は、1又は複数の組換えで生成されたポリペプチド、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)から単離された1又は複数のポリペプチド、あるいはこれらの任意の組合せを含むことができる。

【0122】

他の例として、組換えで生成されたOpp1Aポリペプチドは、組換えで生成されることに加えて、上記の通り特徴付けられてよいが、組成物は、組換えで生成されたOpp1Aポリペプチド、例えば、配列番号364に表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含むことができる。このような組成物は、1又は複数の組換えで生成されたポリペプチド、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)から単離された1又は複数のポリペプチド、あるいはこれらの任意の組合せをさらに含むことができる。

【0123】

他の実施例として、組換えで生成されたSirAポリペプチドは、組換えで生成されることに加えて、上記の通り特徴付けられてよいが、組成物は、組換えで生成されたSirAポリペプチド、例えば、配列番号375に表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含むことができる。このような組成物は、1又は複数の組換えで生成されたポリペプチド、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)から単離された1又は複数のポリペプチド、あるいはこれらの任意の組合せをさらに含むことができる。

【0124】

他の実施例として、組換えで生成されたSYN2ポリペプチドは、組換えで生成されることに加えて、上記の通り特徴付けられてよいが、組成物は、組換えで生成されたSYN

10

20

30

40

50

2 ポリペプチド、例えば配列番号 386 に表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含むことができる。このような組成物は、1 又は複数の組換えで生成されたポリペプチド、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) から単離された 1 又は複数のポリペプチド、あるいはこれらの任意の組合せをさらに含むことができる。

【0125】

他の実施例として、組換えで生成された F h u D ポリペプチドは、組換えで生成されることに加えて、上記の通り特徴付けられてよいが、組成物は、組換えで生成された F h u D ポリペプチド、例えば、配列番号 397 に表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含むことができる。このような組成物は、1 又は複数の組換えで生成されたポリペプチド、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) から単離された 1 又は複数のポリペプチド、あるいはこれらの任意の組合せをさらに含むことができる。

10

【0126】

他の実施例として、組換えで生成された S Y N 1 ポリペプチドは、組換えで生成されることに加えて、上記の通り特徴付けられてよいが、組成物は、組換えで生成された S Y N 1 ポリペプチド、例えば、配列番号 408 に表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含むことができる。このような組成物は、1 又は複数の組換えで生成されたポリペプチド、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) から単離された 1 又は複数のポリペプチド、あるいはこれらの任意の組合せをさらに含むことができる。

【0127】

他の実施例として、組換えで生成された M n t C ポリペプチドは、組換えで生成されることに加えて、上記の通り特徴付けられてよいが、組成物は、組換えで生成された M n t C ポリペプチド、例えば、配列番号 419 に表されるアミノ酸配列を含むポリペプチドを含むことができる。このような組成物は、1 又は複数の組換えで生成されたポリペプチド、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) から単離された 1 又は複数のポリペプチド、あるいはこれらの任意の組合せ、をさらに含むことができる。

20

【0128】

一実施形態において、組換えで生成されたポリペプチドは、当該ポリペプチドの天然バージョンの免疫学的に活性な断片を意味することができる。免疫学的に活性な断片は、免疫学的に活性な断片のコア（例えば、配列番号 353、配列番号 364、配列番号 375、配列番号 386、配列番号 397、配列番号 408、又は配列番号 419 のアミノ酸配列）のアミノ末端及び/又はカルボキシ末端へのアミノ酸付加を含んでよい。一定の実施形態において、免疫学的に活性な断片のコアのアミノ末端への任意の付加は、ポリペプチドのより長いバージョン、例えば、野生型又は他の天然形態と比較して、1 又は複数のアミノ酸付加、欠失、置換（まとめると、「修飾」）、又は修飾の任意の組合せを含むことができる。したがって、例えば、免疫学的に活性な断片が配列番号 397 を含む実施形態において、配列番号 397 のアミノ末端への付加は、例えば、配列番号 399 のアミノ酸 1 ~ 26 と比較して、アミノ末端付加において少なくとも 1、少なくとも 2、少なくとも 3、少なくとも 4、少なくとも 5、少なくとも 6、少なくとも 7、少なくとも 8、少なくとも 9、少なくとも 10、少なくとも 11、少なくとも 12、少なくとも 13、少なくとも 14、少なくとも 15、少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19、少なくとも 20、少なくとも 21、少なくとも 22、少なくとも 23、少なくとも 24、少なくとも 25、又は少なくとも 26 個の修飾を含むことができる。他の実施例として、免疫学的に活性な断片が配列番号 408 を含む実施形態において、配列番号 408 のアミノ末端への付加は、例えば、配列番号 415 のアミノ酸 1 ~ 26 と比較して、アミノ末端付加において、少なくとも 1、少なくとも 2、少なくとも 3、少なくとも 4、又は少なくとも 5 個の修飾を含むことができる。

30

40

【0129】

参照ポリペプチド及び異なる長さの候補ポリペプチド（例えば、参照ポリペプチドの免疫学的に活性な断片）のアミノ酸配列類似性及び/又はアミノ酸配列同一性を比較する場合、長い方のポリペプチド中のミスマッチとして寄与しているより長い長さの各アミノ酸

50

残基をカウントしながら、類似性及びノ又は同一性を長い方のポリペプチドの全長に渡って算出する。

【0130】

従って、一部の実施形態において、本発明の単離ポリペプチドは、配列番号397のアミノ酸配列と少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%の配列類似性及びノ又は同一性を有するポリペプチドを含むことができ、但し、当該単離ポリペプチドがアミノ末端において1又は複数のさらなるアミノ酸を含む場合には、該1又は複数のさらなるアミノ酸が、配列番号399のアミノ酸1~26と比較して少なくとも1つのアミノ酸の欠失又は少なくとも1つのアミノ酸の置換を含むことを条件とする。

10

【0131】

他の実施形態において、本発明の単離ポリペプチドは、配列番号408のアミノ酸配列と少なくとも98%又は少なくとも99%の配列類似性及びノ又は同一性を有するポリペプチドを含むことができ、但し、該単離ポリペプチドがアミノ末端において1又は複数のさらなるアミノ酸を含む場合には、該1又は複数のさらなるアミノ酸が、配列番号415のアミノ酸1~5と比較して少なくとも1つのアミノ酸の欠失又は少なくとも1つのアミノ酸の置換を含むことを条件とする。

【0132】

「ポリペプチド配列類似性及びポリペプチド配列同一性」との見出しのセクションにおいて記載するように、特定の配列番号のアミノ酸配列への言及によって特定されるポリペプチドは、参照アミノ酸配列（例えば、特定の配列番号において提供されるアミノ酸配列）と少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%のアミノ酸配列類似性を有するポリペプチド、及びノ又は参照アミノ酸配列（例えば、特定の配列番号において提供されるアミノ酸配列）と少なくとも50%、少なくとも55%、少なくとも60%、少なくとも65%、少なくとも70%、少なくとも75%、少なくとも80%、少なくとも85%、少なくとも86%、少なくとも87%、少なくとも88%、少なくとも89%、少なくとも90%、少なくとも91%、少なくとも92%、少なくとも93%、少なくとも94%、少なくとも95%、少なくとも96%、少なくとも97%、少なくとも98%、又は少なくとも99%のアミノ酸配列同一性を有するポリペプチドを含むことができる。

20

30

【0133】

組換えで生成されたポリペプチドは、ベクターが適当な宿主細胞中に導入される場合にポリペプチドの発現が可能なベクターから発現されてよい。宿主細胞は、本発明の1又は複数の組換えで生成されたポリペプチドを生成するために構築されてよく、従って、本発明のポリペプチドをコードする少なくとも1つのポリヌクレオチドを含む1又は複数のベクターを含むことができる。したがって、各ベクターは、本発明の1又は複数のポリヌクレオチド、すなわち、本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを含むことができる。

40

【0134】

一定の組成物、例えば、組換えで生成されたポリペプチドを含む組成物は、最大数のポリペプチドを含むことができる。一部の実施形態において、ポリペプチドの最大数は、ポリペプチドの最大総数を意味することができる。一定の組成物は、例えば、50以下のポリペプチド、例えば、40以下のポリペプチド、30以下のポリペプチド、25以下のポリペプチド、20以下のポリペプチド、15以下のポリペプチド、10以下のポリペプチド、8以下のポリペプチド、7以下のポリペプチド、6以下のポリペプチド、5以下のポリペプチド、4以下のポリペプチド、3以下のポリペプチド、2以下のポリペプチド、1

50

以下のポリペプチドを含むことができる。他の実施形態において、組換えで生成されたポリペプチドの最大数は、同様の方法で特定されてよい。さらに他の実施形態において、非組換え生成のポリペプチドの最大数は同様の方法で特定されてよい。

【0135】

組成物は、1つの微生物から単離可能なポリペプチドを含むことができるか、又は2又はそれ以上の微生物の組合せから単離可能である。例えば、組成物は、2又はそれ以上のブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp)、あるいはブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp) 及びブドウ球菌属のメンバーではない異種微生物から単離可能なポリペプチドを含むことができる。本発明は、全細胞が本発明の1又は複数のポリペプチドを発現する、全細胞製剤を含んでなる組成物もまた供する。例えば、全細胞は、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp) であってよい。一態様において、組成物は2、3、4、5、又は6つの株由来の全製剤を含むことができる。

10

【0136】

任意には、本発明のポリペプチドは、ポリペプチドの免疫学的特性を改良するために担体ポリペプチドに共有結合又は結合されてよい。有用な担体ポリペプチドは、当技術分野で周知である。本発明のポリペプチドの化学的結合は、周知且つ通常の方法を使用して行われてよい。例えば、様々なホモ二機能性 (homobifunctional) 及び/又はヘテロ二機能性 (heterobifunctional) 架橋剤試薬、例えばビス(スルホサクシニミジル)スベリン酸塩、ビス(ジアゾベンジジン)、アジブイミド酸ジメチル、ピメリミド酸ジメチル、スベルイミド酸ジメチル、スベリン酸塩ジサクシニミジル、グルタルアルデヒド、*m*-マレイミドベンゾイル-*N*-ヒドロキシスクシンイミド、スルホ-*m*-マレイミドベンゾイル-*N*-ヒドロキシスクシンイミド、スルホサクシニミジル4-(*N*-マレイミドメチル)シクロヘキサン-1-カルボキシレート、スルホサクシニミジル4-(*p*-マレイミド-フェニル)ブチレート及び(1-エチル-3-(ジメチル-アミノプロピル)カルボジイミドを使用することができる(例えば、Harlow and Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual*, generally and Chapter 5, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, New York, NY (1988)を参照されたい)。

20

【0137】

本発明の組成物は、任意には、医薬として許容される担体をさらに含む。「医薬として許容される」は、組成物の他の成分と適合し、且つこれらのレシピエントに有害でない、希釈剤、担体、賦形剤、塩等を意味する。典型的には、組成物は、組成物が明細書中で記載されるように使用される場合、医薬として許容される担体を含む。本発明の組成物は、抗原への免疫応答を刺激するために適当なルートを含む投与の選択されたルートに適合された種々の形態で医薬製剤中に製剤されてよい。したがって、本発明の組成物は、例えば、経口；皮内、経皮及び皮下を含む非経口；筋肉内、静脈内、腹腔内、等、並びに局所的に、例えば鼻腔内、肺内、乳房内、膈内、子宮内、皮内、経皮及び経直腸等を含む周知のルートを通じて投与することができる。組成物は、動物体中に粘膜免疫、例えば分泌型IgA抗体の産生を刺激するために、例えば(例えば、スプレー又はエアロゾルを介した)鼻又は呼吸粘膜への投与によって、粘膜表面に投与することができることが予測される。

30

【0138】

本発明の組成物はまた、持続又は遅延放出性インプラントを介して投与することができる。本発明の使用に適当なインプラントは、周知であり、例えば、Emery及びStraub (WO 01/37810 (2001))、並びにEmery等 (WO 96/01620 (1996)) において開示されるものを含む。インプラントは、エアロゾル又はスプレーによって投与される十分小さなサイズで生成することができる。インプラントはまた、ナノ粒子及び微粒子を含むことができる。

40

【0139】

本発明の組成物は、明細書中で記載されるように一定の疾患を治療するために十分な量で投与する。本発明の組成物中に存在するポリペプチド又は全細胞の量は変化してよい。例えば、ポリペプチドの用量は、0.01マイクログラム (μg) ~ 300 mg、典型的

50

には0.1mg~10mgとすることができる。組成物が全細胞製剤である場合、細胞は、例えば、 10^2 細菌/ml、 10^3 細菌/ml、 10^4 細菌/ml、 10^5 細菌/ml、 10^6 細菌/ml、 10^7 細菌/ml、 10^8 細菌/ml、又は 10^9 細菌/mlの濃度で存在し得る。(例えば、皮下、筋肉内等に)注射可能な組成物に関して、ポリペプチドは、投与される組成物の総量が0.5ml~5.0ml、典型的には1.0~2.0mlとなる量で組成物中に存在してよい。組成物が全細胞製剤である場合、細胞は好適には、投与される組成物の総量が0.5ml~5.0ml、典型的には1.0~2.0mlの量で組成物中に存在する。投与される量は、様々な因子に従って変化し、当該因子は、選択される特定のポリペプチド、動物の体重、健康状態及び年齢、ならびに投与ルートを含むがこれに限定されない。したがって、所定の単位用量形態中に含まれるポリペプチド絶対重量は、広範に変化し、因子、例えば動物の種、年齢、体重、及び健康状態、並びに投与方法によって決定されてよい。このような因子は、当業者によって決定されてよい。本発明に適当な用量の他の例は、Emery等(U.S. Patent 6,027,736)において開示される。

10

【0140】

製剤は、利便性のため単位用量形態で提示されてよく、医薬技術分野で周知の方法によって調製されてよい。医薬として許容される担体を有する組成物の調製の方法は、1又は複数の副成分を構成する担体と活性化合物(例えば、本発明のポリペプチド又は全細胞)を結合させる段階を含む。一般的に、製剤は、均一且つ本質的に活性な化合物を液体担体、細かく分割された固体担体、または両方と結合させ、そして、必要ならば、生成物を所望の製剤に成形することによって調製される。

20

【0141】

医薬として許容される担体を含む組成物はまた、アジュバントを含むことができる。「アジュバント」は、特定の抗原への免疫応答を増強するための非特異的な方法で機能する剤を意味し、したがって、アジュバントは潜在的に任意の所定の免疫化組成物において必要な抗原の量、及び/又は目的の抗原に対して適切な免疫応答を生じるために必要な注射の頻度を減少する。アジュバントは、例えば、IL-1、IL-2、乳化剤、ムラミルジペプチド、ジオクタデシルアンモニウムプロミド(DDA)、アブリジン、水酸化アルミニウム、油、サポニン、アルファ-トコフェロール、ポリサッカライド、(例えば、商標名EMULSIGENでMVP Laboratories, Ralston, Nebraskaから利用可能なものを含む)乳化パラフィン、ISA-70、RIBI及び当技術分野で周知の他の物質を含んでよい。本発明のポリペプチドが免疫調節性活性を有し、このようなポリペプチドが、直接的にT及び/又はB細胞活性として機能する、又は様々なサイトカインの合成を増強する特異的な細胞型に機能する、あるいは細胞内のシグナル伝達経路を活性化するアジュバントとして使用されることが期待される。これらのポリペプチドは、現存する組成物の防御指標を増加する免疫応答を増強することが期待される。

30

【0142】

他の実施形態において、医薬として許容される担体を含む本発明の組成物は、生物学的応答変更因子、例えば、免疫細胞に作用するIL-2、IL-4及び/又はIL-6、TNF、IFN-アルファ、IFN-ガンマ、及び他のサイトカインを含むことができる。免疫化組成物はまた、他の構成成分、当技術分野で周知の、例えば抗生物質、防腐剤、抗酸化剤、又はキレート剤を含むことができる。

40

【0143】

作製方法

本発明はまた、明細書中で記載されるポリペプチドを得るための方法を供する。本発明のポリペプチド及び全細胞は、ミクロコッカス科(Micrococcaceae)、好適にはブドウ球菌属(Staphylococcus spp.)、より好適には黄色ブドウ球菌属(Staphylococcus aureus)のメンバーから単離可能であってよい。

【0144】

ポリペプチドを単離することができる他のグラム陽性微生物は、コリネバクテリウム属(Corynebacterium spp.)、エリシペロスリクス属(Erysipelothrix spp.)、マイコバ

50

クテリウム属 (*Mycobacterium* spp.)、及びエリシペロスリクス属 (*Erysipelothrix* spp.) を含む。本発明のポリペプチドを得ること及び全細胞製剤を作製するのに有用な微生物は、保管所、例えば米国培養細胞系統保存機関 (American Type Culture Collection (ATCC)) から購入できる。加えて、例えば微生物は、当技術分野で通常かつ周知の技術によって容易に得られる。微生物は、フィールド分離株 (field isolate) としての感染した動物に由来し、本発明のポリペプチド及び/又は全細胞製剤を得るために使用する、又は、例えば、冷凍貯蔵所において、 $-20 \sim -95$ 、又は $-40 \sim -50$ で、20%グリセロールを含有する細菌学的培地、及び他の同様の培地中で後の使用のために貯蔵してよい。

【0145】

本発明のポリペプチドが微生物から得ることができる場合、微生物は低金属条件下でインキュベートすることができる。本明細書で用いられる場合、用語「低金属条件」は、環境、典型的には、検出可能なレベルで微生物に金属制御ポリペプチドを発現させる量の遊離金属を含有する、細菌学的培地を意味する。本明細書で用いられる場合、用語「高金属条件」は、微生物に明細書中で記載される1又は複数の金属制御ポリペプチドを検出可能なレベルで発現させない、又は低金属条件下の金属制御ポリペプチドの発現と比較して低下したレベルでこのようなポリペプチドを発現させる量の遊離金属を含有する環境を意味する。場合によって、「高金属条件」は、金属リッチな自然環境及び/又は金属キレート剤非含有の金属リッチな培地における培養物を含むことができる。対照的に、場合によって、「低金属条件」は、以下により詳細に記載される金属キレート剤を含む培地中の培養物を含むことができる。金属は、周期表の第1~17族 (IUPAC表記法; CAS表記法でそれぞれ、第I-A, II-A, III-B, IV-B, V-B, VI-B, VII-B, VIII, I-B, II-B, III-A, IV-A, V-A, VI-A, 及びVII-A族とも呼ばれる) に存在するものである。

【0146】

好適には、金属は第2~12族、より好適には、第3~12族のものである。さらにより好適には、金属は、鉄、亜鉛、銅、マグネシウム、ニッケル、コバルト、マンガン、モリブデン、又はセレン、最も好適には、鉄である。

【0147】

低金属条件は、通常金属キレート化合物の細菌学的培地への添加、少量の金属を含有する細菌学的培地の使用、又はこれらの組合せの結果得られる。高金属条件は、キレート剤が培地中に存在しない、金属を培地に添加する、又はこれらの組合せの場合に、通常生じる。金属キレート剤の例は、自然及び合成化合物を含む。自然化合物の例は、植物フェノール化合物、例えばフラボノイドを含む。フラボノイドの例は、銅キレート剤カテキン及びナリングニン、及び鉄キレート剤ミリセチン及びケルセチンを含む。合成銅キレート剤の例は、例えば、テトラチオモリブデートを、そして合成亜鉛キレート剤の例は、例えば、 N, N, N', N' -テトラキス(2-ピリジルメチル)-エチレンジアミンの例を含む。合成鉄キレート剤の例は、(当技術分野で、 $2, 2'$ -ジピリジルとも言及される) $2, 2'$ -ジピリジル、8-ヒドロキシキノリン、エチレンジアミン-ジ-O-ヒドロキシフェニル酢酸 (EDDHA)、デスフェリオキサミンアミンメタンスルホン酸塩 (デスフェロール)、トランスフェリン、ラクトフェリン、オボトランスフェリン、生物学的シデロホア、例えば、カテコラート及びヒドロキサメート、及びクエン酸塩を含む。一般的な二価カチオンキレート剤の例は、CHELEX樹脂である。好適には、 $2, 2'$ -ジピリジルが鉄キレート化のために使用される。典型的には、 $2, 2'$ -ジピリジルは、少なくとも $300 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、少なくとも $600 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、又は少なくとも $900 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度で培地に添加される。高レベルの $2, 2'$ -ジピリジルは、 $1200 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、 $1500 \mu\text{g}/\text{ml}$ 、又は $1800 \mu\text{g}/\text{ml}$ としてよい。

【0148】

黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ゲノムは、3つのFurホモログ: Fur、PerR、及びZurをコードする。Zur及びPerRタンパク質は、それぞれ主に亜鉛恒常性及び過酸化ストレス遺伝子の制御に関与するよう見えるが、Furタンパク質は、鉄制

10

20

30

40

50

限に応答した一部の鉄シデロホア取り込みシステムを制御することが証明されている。Furタンパク質はまた、酸化ストレス耐性及び毒性に関与する。グラム陽性生物、好適には、fur遺伝子中に突然変異のある黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）は、本発明の金属制御ポリペプチドの全てではないが多くの恒常的発現をもたらすことが期待される。グラム陽性、好適には黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）におけるfur突然変異の生成は、例えば、グラム陽性菌における遺伝子ノックアウト突然変異を生じるのに有用なトランスポゾン、化学、又は部位方向性変異原性を含む通常の方法を使用して生じることができる。

【0149】

微生物をインキュベートするために使用される培地及び微生物をインキュベートするために使用される培地の量は、変化させることができる。明細書中で記載される1又は複数のポリペプチドを生成する能力に関して微生物が評価されている場合、適当な量で、例えば培地10ミリリットル～1リットル中で微生物を成長させることができる。例えば、動物への投与における使用のためのポリペプチドを得るために微生物を成長させている場合、より多くの量のポリペプチドの単離を可能にするために微生物は発酵槽で成長させてよい。発酵槽において微生物を成長させるための方法は、当技術分野で通常且つ周知のものである。微生物の成長のために使用される条件は、好適には金属キレート剤、より好適には鉄キレート剤、例えば2,2'-ジピリジル、pH6.5～7.5、好適には6.9～7.1、及び温度37を含む。

【0150】

本発明の一部の態様において、微生物は、成長後回収されてよい。回収は、微生物をより小さな容積中で濃縮すること、及び成長培地と異なる培地中で懸濁することを含む。微生物を濃縮するための方法は、当技術分野で通常且つ周知のものであり、例えば、濾過又は遠心分離を含む。典型的には、濃縮された微生物を適当な緩衝液中で懸濁する。使用することができる緩衝液の例は、pH8.5のトリス塩基（7.3グラム/リットル）を含む。任意には、最終緩衝液はまた、タンパク質分解を最小化する。これは、最終緩衝液をpH8.0以上、好適には、少なくとも8.5とすること、及び/又は1又は複数のプロテアーゼ阻害剤（例えば、フェニルメタンシルホニルフッ化物）を含むことによって達成することができる。任意及び好適には、濃縮した微生物を破砕するまで-20又はそれ以下で凍結させる。

【0151】

微生物を全細胞製剤として使用できる場合、細胞を不活性化するための通常且つ周知の方法を使用して、回収した細胞を処理してよい。あるいは、本発明のポリペプチドを調製するために微生物を使用することができる場合、例えば、沸騰、フレンチプレス、超音波処理、（例えば、リゾチームでの分解による）ペプチドグリカンの分解、又はホモジナイズを含む技術分野で通常且つ周知の化学的、物理的、又は機械的方法を使用して微生物を破砕してよい。ホモジナイズに有用である適当な装置の例は、モデルC500-B A V E S T H Mホモジナイザー（Avestin Inc, Ottawa Canada）である。本明細書で用いられる「破砕」は、細胞をばらばらにすることを意味する。微生物の破砕は、当技術分野で通常且つ周知の方法によって測定することができ、例えば、光学濃度の変更が含まれる。典型的には、1:100希釈を測定する場合、透過パーセントが20%に増加するまで、微生物を破砕に供する。物理的又は機械的方法を使用する場合、破砕中の温度は、タンパク質分解をさらに最小化するために、典型的には低く、好適には4で維持する。化学的方法を使用する場合、細胞破砕を最適化するために温度を上昇させてよい。化学、物理、及び機械的方法の組合せを、微生物の細胞壁を可溶化するために使用してもよい。本明細書で用いられる用語「を可溶化する」は、細胞物質（例えば、ポリペプチド、核酸、炭水化物）を、微生物が破砕された緩衝液の水相中に溶解すること、及び不溶性細胞物質の凝集物の形成を意味する。理論によって限定されることを意図することなく、可溶化の条件によって、例えば、遠心分離によって容易に単離可能であるほど十分に大きい不溶性凝集物中への本発明のポリペプチドの凝集がもたらされると考えられる。

【0152】

1 又は複数の本発明のポリペプチドを含む不溶性凝集物は、当技術分野で通常且つ周知の方法によって単離されてよい。好適には、不溶性凝集物は、遠心分離によって単離されてよい。典型的には、ポリペプチド、例えば膜ポリペプチドの遠心分離は、遠心力 $100,000 \times g$ によって達成することができる。このような遠心力の使用は超遠心機の使用が必要であり、工程中の試料の大容積へのスケールアップはたびたび困難であり、これらのタイプの遠心機は経済的でない。明細書中で記載される方法は、大量の不溶性凝集物の産生を供することができ、連続流遠心機、例えば、遠心力 $46,000 \times g \sim 60,000 \times g$ 、 17 psi において流速 250 ml / 分 で使用することができる T - 1 Sharpies (Alfa Laval Separations, Warminster, PA) の使用が可能である。他の大規模遠心機、例えばチューブ状ボウル型、チャンパー型、及びディスク型の構造のものを使用することができる。このような遠心機は、通常使用され且つ当技術分野で周知であり、Pennwalt、Westfalia 及びアルファ - Laval 等の製造者から購入できる。

10

【0153】

最終的に回収されたタンパク質は、当技術分野で周知の方法、例えばダイアフィルトレーション、沈殿、疎水性クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、又は親和性クロマトグラフィー、又は超濾過及び例えば、ダイアフィルトレーションによるアルコール中でのポリペプチドの洗浄を使用して、洗浄且つ / 又は適当な緩衝液で透析する。単離後、ポリペプチドを緩衝液中で懸濁し、低温、例えば、 -20 又は以下で保存する。全細胞製剤を作製する本発明のこれらの態様において、微生物の成長後、薬剤、例えばグルタルアルデヒド、ホルマリン、又はホルムアルデヒドの培養物中の細胞を不活性化するのに十分な濃度での添加で微生物を死滅することができる。例えば、ホルマリンは、 0.3% (体積 / 体積) の濃度で添加することができる。細胞を不活性化するのに十分な時間の後、例えば、ダイアフィルトレーション及び / 又は遠心分離、並びに洗浄によって細胞を回収することができる。

20

【0154】

他の態様において、本発明の単離ポリペプチドは、組換えで調製されてよい。組換えで調製される場合、当該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、下記の実施例 14 のように特定され適当な発現宿主中にクローン化されてよい。組換え発現宿主は、適当な培地中に成長させ、破碎し、上記のようにポリペプチドは単離されてよい。

30

【0155】

使用方法

本発明の態様は、本発明の組成物の使用方法を目的とする。当該方法は、動物へ本発明の組成物の有効量を投与することを含む。動物は、例えば、鳥類 (例えば、ニワトリ又は七面鳥等)、ウシ属 (例えば、蓄牛等)、ヤギ属 (例えば、蓄山羊等)、ヒツジ属 (例えば、蓄羊等)、ブタ (例えば、蓄豚等)、バイソン (例えば、野牛等)、ウマ科 (例えば、ウマ等)、伴侶動物 (例えば、イヌ又はネコ等)、シカ科ノメンバー (例えば、シカ、エルク、ムース、カリブー及びトナカイ等)、又はヒトであってよい。

【0156】

一部の態様において、方法は、二次免疫応答を増強又は刺激するための、組成物の動物へのさらなる投与 (例えば、1 又は複数の追加免疫投与) をさらに含んでよい。追加免疫は、組成物の最初の投与の後に、例えば、1 ~ 8 週間後に、好適には 2 ~ 4 週間後に、投与することができる。続く追加免疫は、毎年 1、2、3、4 回又はそれ以上投与することができる。理論に限定されることを意図するものではないが、本発明の一部の態様において、動物は野外で、動物に投与された組成物のポリペプチド上に存在するエピトープと同一又は構造上関係するエピトープを有する組成物中に存在するポリペプチドを発現している微生物に曝露されるので、毎年の追加免疫は必要でないことが期待される。

40

【0157】

一態様において、本発明は、例えば動物において抗体の産生を誘発すること、又は組換え技術によって抗体を作製するための方法を目的とする。生成される抗体は、組成物中に

50

存在する少なくとも1つのポリペプチドに特異的に結合する抗体を含む。本発明のこの態様において、「有効量」は、動物において抗体の産生をもたらすことに効果的な量である。本発明の組成物中に存在するポリペプチドに特異的に結合する抗体を動物が生成したかを決定するための方法は、明細書中で記載されるように決定することができる。本発明は、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体、及びこのような抗体を含む組成物をさらに含む。

【0158】

当該方法は、組成物のポリペプチドが単離された微生物以外の微生物によって発現されたポリペプチドに特異的に結合する抗体を産生するために使用してよい。本明細書で用いられる場合、ポリペプチド「に特異的に結合する」ことができる抗体は、抗体の合成を誘発した抗原のエピトープと相互作用する、又は構造上関連のあるエピトープと相互作用する抗体である。本発明の組成物中に存在する少なくとも一部のポリペプチドは、典型的には異種及び異なる属の微生物のポリペプチド中に保存されたエピトープを含む。従って、一微生物に由来する組成物を使用して生成された抗体は、他の微生物によって発現されたポリペプチドに結合し、グラム陽性生物に対する防御のスペクトルを拡大することが期待される。抗体が特異的に結合するグラム陽性微生物の例は、ミクロコッカス科 (*Micrococ*
caceae)、好適にはブドウ球菌属 (*Staphylococcus spp.*)、より好適には黄色ブドウ球
菌 (*Staphylococcus aureus*) ; ストレプトコッカス科 (*Streptococcaceae*) のメンバ
ー、好適には、化膿性ストレプトコッカス (*Streptococcus pyogenes*)、肺炎球菌 (*Strept*
ococcus pneumoniae)、ストレプトコッカス・アガラクチア (*Streptococcus agalactiae*)
、ストレプトコッカス・ウベリス (*Streptococcus uberis*)、ストレプトコッカス・ボ
ビス (*Streptococcus bovis*)、腺疫菌 (*Streptococcus equi*)、又は減乳ストレプトコ
ッカス (*Streptococcus dysgalactiae*) ; 及びパチルス属 (*Bacillus spp.*)、クロスト
リジウム属 (*Clostridium spp.*)、コリネバクテリウム属 (*Corynebacterium spp.*)、エン
テロコッカス菌属 (*Enterococcus spp.*)、エリシペロスリクス属 (*Erysipelothrix sp*
p.)、リステリア属 (*Listeria spp.*)、ミクロコッカス菌属 (*Micrococcus spp.*)、及
びマイコバクテリウム属 (*Mycobacterium spp.*)、キトコッカス属 (*Kytococcus spp.*)
、及びエリシペロスリクス属 (*Erysipelothrix spp.*) である。従って、本発明のポリペ
プチドの組成物を使用して生成された抗体は、ポリペプチドを得るオリジン、ソース及び
/又は方法とは無関係な本発明のポリペプチドを同定し特徴付けるために使用してよい。

【0159】

本発明はまた、本発明のポリペプチド又は本発明のポリペプチド上に存在するエピトープに構造上関連するエピトープを有するポリペプチドを発現している微生物を標的とするためのこのような抗体の使用を目的とする。抗体は化合物と共有結合することができ、化合物は、例えば、毒素であり得る。同様に、このような化合物は、微生物を標的とするために細菌シデロホアと共有結合することができる。化学的結合又は本発明の抗体、又はこの部分 (例えばFab断片) の結合は、周知且つ通常の方法を使用して行うことができる。

【0160】

一態様において、本発明は、グラム陽性微生物、好適にはミクロコッカス科 (*Micrococ*
caceae) のメンバー、好適には、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus spp.*)、より好適には
黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ; ストレプトコッカス科 (*Streptococcaceae*) のメンバ
ー、好適には、化膿性ストレプトコッカス (*Streptococcus pyogenes*)、肺炎球菌 (*Strept*
ococcus pneumoniae)、ストレプトコッカス・アガラクチア (*Streptococcus agalactiae*)
、ストレプトコッカス・ウベリス (*Streptococcus uberis*)、ストレプトコッカス・ボ
ビス (*Streptococcus bovis*)、腺疫菌 (*Streptococcus equi*)、又は減乳ストレプトコ
ッカス (*Streptococcus dysgalactiae*) ; パチルス属 (*Bacillus spp.*)、クロストリジ
ウム属 (*Clostridium spp.*)、コリネバクテリウム属 (*Corynebacterium spp.*)、エンテ
ロコッカス菌属 (*Enterococcus spp.*)、エリシペロスリクス属 (*Erysipelothrix spp.*)
、キトコッカス属 (*Kytococcus spp.*)、リステリア属 (*Listeria spp.*)、ミクロコッカ
ス菌属 (*Micrococcus spp.*)、マイコバクテリウム属 (*Mycobacterium spp.*)、及びエリ

10

20

30

40

50

シペロスリクス属 (*Erysipelothrix* spp.) によって生じる感染症を動物、例えばヒト等において治療することもまた目的とする。本明細書で用いられる場合、用語「感染症」は、臨床的に顕在化している又は顕在化していない、動物体中のグラム陽性微生物の存在を意味する。臨床的に顕在化していないブドウ球菌属のメンバーによる感染症に罹患する動物は度々、無症候性キャリアと呼ばれる。

【0161】

感染症の治療は予防的とすることができ、あるいは動物が微生物に感染した後に開始されるものとしてすることができる。予防的である、例えば、対象が微生物に感染する前に又は任意の感染症が無症状である間に開始される治療は、感染症の「リスクがある」対象の治療と明細書中で呼ぶ。本明細書で用いられる場合、用語「リスクがある」は、実際は記載したリスクを有するかもしれない動物を意味する。したがって、典型的には、微生物による感染症の「リスクがある」動物は、例え微生物による感染症の任意の検出可能な兆候を動物がまだ顕在化していなくても、また動物が無症状の量の微生物を保有するにかかわらず、動物が微生物に感染していると特定される及び/又は微生物に曝され得る範囲に存在する動物である。従って、動物の微生物との最初の接触前、中、又は後に、組成物の投与を実施することができる。動物の最初の微生物との接触後に開始される治療は、微生物による感染症の症状の重症度及び/又は臨床徴候の減少、完全に微生物を除去すること、及び/又は組成物を投与していない動物と比較して感染症を経験する可能性を臨床的に明らかに減少することをもたらす。当該方法は、本発明の組成物の有効量をグラム陽性微生物によって生じる感染症を有する、又は有するリスクがある動物へ投与すること、及び感染症を生じている微生物の数が減少したかを決定することを含む。本発明のこの態様において、「有効量」は、組成物を投与していない動物と比較して、動物中の特定の微生物の数を減少する、又は動物が臨床的に明らかな感染症を経験する可能性を低下する効果的な量である。感染症が減少しているかを決定するための方法と同様に、グラム陽性微生物によって感染症が生じているかを決定するための方法は、当技術分野で通常且つ周知である。

【0162】

他の態様において、本発明は、グラム陽性微生物、好適にはミクロコッカス科 (*Micrococcaceae*) のメンバー、好適にはブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.)、より好適には、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ; ストレプトコッカス科 (*Streptococcaceae*) のメンバー、好適には、化膿性ストレプトコッカス (*Streptococcus pyogenes*)、肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、ストレプトコッカス・アガラクチア (*Streptococcus agalactiae*)、ストレプトコッカス・ウベリス (*Streptococcus uberis*)、ストレプトコッカス・ボビス (*Streptococcus bovis*)、腺疫菌 (*Streptococcus equi*)、又は滅乳ストレプトコッカス (*Streptococcus dysgalactiae*) ; パチルス属 (*Bacillus* spp.)、クロストリジウム属 (*Clostridium* spp.)、コリネバクテリウム属 (*Corynebacterium* spp.)、エンテロコッカス菌属 (*Enterococcus* spp.)、エリシペロスリクス属 (*Erysipelothrix* spp.)、キトコッカス属 (*Kytococcus* spp.)、リステリア属 (*Listeria* spp.)、ミクロコッカス菌属 (*Micrococcus* spp.)、マイコバクテリウム属 (*Mycobacterium* spp.)、及びエリシペロスリクス属 (*Erysipelothrix* spp.) による感染症によって生じる、動物における一定の疾病の1又は複数の症状或いは臨床徴候を治療するための方法を目的とする。当該方法は、本発明の組成物の有効量を、疾病を有する又は有するリスクがある、又は疾病の症状及び/又は臨床徴候を示している動物に投与すること、及び少なくとも疾病の一症状及び/又は臨床徴候が変化したか、好適には低減されたかを決定することを含む。微生物感染症によって生じる疾病及び/又は臨床徴候の例は、例えば、乳腺炎、敗血症、肺炎、髄膜脳炎、リンパ管炎、皮膚炎、生殖器感染症、腺疫、子宮炎、周産期疾病、下垂体膿瘍、関節炎、滑液包炎、精巣炎、膀胱炎及び腎盂腎炎、リンパ節炎、結核、潰瘍性リンパ管炎、リステリア症、丹毒、蹄葉炎、炭疽病、チザー疾病、破傷風、ボツリヌス症、腸炎、悪性水腫、ブラクシー病 (braxy)、桿菌性ヘモグロビン尿症、腸毒血症、壊死性皮膚病変、及び院内感染症を含む。黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) によって生じる疾病

10

20

30

40

50

の例は、例えば、ウマにおけるボトリオミセス症、家禽における化膿性滑膜炎及び骨髄炎、ブタにおける流産、及び仔ヒツジにおけるダニ性膿血もまた含む。ストレプトコッカス属 (*Streptococcus* spp.) によって生じる疾病の例は、例えば、咽頭炎、猩紅熱、膿痂疹、潰瘍性心内膜炎、リウマチ熱及び連鎖球菌感染後糸球体腎炎、ヒトにおける子宮頸管炎、ウマ及びブタにおける子宮頸管炎、並びにブタにおける髄膜炎及び顎膿瘍もまた含む。

【0163】

これらの疾病と関連がある症状及び/又は臨床徴候の治療は、予防的である、または明細書中で記載される疾病の進行後に開始することができる。本明細書で用いられる場合、用語「症状」は、微生物によって患者によって経験され、そして微生物による感染症によって生じる疾患又は疾病の主観的な証拠を意味する。本明細書で用いられる場合、用語「臨床徴候」又は「徴候」は、微生物の感染症によって生じる疾患又は疾病の客観的証拠を意味する。明細書中で言及する疾病と関連がある症状及び/又は臨床徴候、ならびにこのような症状の評価は、当技術分野で通常且つ周知である。予防的、例えば、対象が微生物によって生じる疾病の症状又は徴候を顕在化させる前に開始される治療は、当該疾病を進行する「リスクがある」対象の治療と明細書中で呼ぶ。したがって、典型的には、疾病を進行する「リスクがある」動物は、疾病に罹患していると診断されている且つ/又は動物が微生物によって生じる任意の疾病の症状又は徴候をまだ顕在化していなくても疾病を生じる微生物に曝露されそうである範囲に存在する動物である。従って、組成物の投与は、明細書中で記載される疾病の発生前、中、又は後に実施することができる。疾病の進行後に開始される治療は、疾病の一つの症状の重症度の減少、又は完全な症状の除去をもたらす。本発明のこの態様において、「有効量」は、疾患の症状の顕在化を予防する、疾患の症状の重症度を軽減する、及び/又は完全に症状を除去するのに効果的な量である。動物におけるグラム陽性微生物の感染症の治療の成功は、実施例5において開示され、本発明の組成物を投与することによって、マウスモデルにおいて黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) によって生じる疾患に対する防御を証明する。当該マウスモデルは、これらの微生物によって生じるヒト疾患の研究に関して通常認容されるモデルである。動物におけるグラム陽性微生物感染症の治療の成功はまた、実施例10~12に開示され、本発明の組成物を投与することによって、乳牛において黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) によって生じる疾患に対する防御を供することを証明する。

【0164】

本発明はまた、グラム陽性微生物によるコロニー形成を減少するための方法、例えば、骨格系 (例えば、骨、軟骨、腱及び靭帯)、筋系 (例えば、骨格筋及び平滑筋)、循環系 (例えば、心臓、血管、毛細血管及び血液)、神経系 (例えば、脳、脊髄、及び末梢神経)、呼吸系 (例えば、鼻、気管肺、気管支、細気管支、肺胞)、消化系 (例えば、口、唾液腺、食道、肝臓、胃、大腸及び小腸)、排泄系 (例えば、腎臓、尿管、膀胱及び尿道)、内分泌系 (例えば、視床下部、下垂体、甲状腺、膵臓及び副腎)、生殖系 (例えば、卵巣、卵管、子宮、膣、乳腺、精巣、及び精嚢)、リンパ/免疫系 (例えば、リンパ液、リンパ節及び管、単核又は白血球、例えばマクロファージ、好中球、単球、好酸球、好塩基球、及びリンパ球、例えばT細胞及びB細胞等)、及び特異的な細胞系 (例えば、前駆細胞、上皮細胞、幹細胞) 等の組織を含むグラム陽性微生物の付着部位をブロックすることを供する。好適には、グラム陽性微生物は、マイクロコッカス科 (*Micrococcaceae*) のメンバー、好適にはブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.)、より好適には黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ; ストレプトコッカス科 (*Streptococcaceae*) のメンバー、好適には化膿性ストレプトコッカス (*Streptococcus pyogenes*)、肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*)、ストレプトコッカス・アガラクチア (*Streptococcus agalactiae*)、ストレプトコッカス・ウベリス (*Streptococcus uberis*)、ストレプトコッカス・ボビス (*Streptococcus bovis*)、腺疫菌 (*Streptococcus equi*)、又は滅乳ストレプトコッカス (*Streptococcus dysgalactiae*) ; バチルス属 (*Bacillus* spp.)、クロストリジウム属 (*Clostridium* spp.)、コリネバクテリウム属 (*Corynebacterium* spp.)、腸球菌属 (*Enterococcus* spp.)、エリシペロスリクス属 (*Erysipelothrix* spp.)、キトコッカス属 (*Kytococcus* spp.)

、リステリア属 (*Listeria* spp.)、ミクロコッカス菌属 (*Micrococcus* spp.)、マイコバクテリウム属 (*Mycobacterium* spp.)、及びエリシペロスリクス属 (*Erysipelothrix* spp.) である。

【0165】

動物においてコロニー形成を減少することは、予防的に実施される、又は微生物によって動物にコロニー形成された後に開始されてよい。予防的な治療、例えば、微生物によって対象にコロニー形成される前に、又は任意のコロニー形成が検出されない状態の中で開始される治療は、微生物によるコロニー形成の「リスクがある」対象の治療と明細書中で呼ぶ。したがって、典型的には、微生物によるコロニー形成の「リスクがある」動物は、動物がまだ微生物によるコロニー形成の検出可能な兆候が顕在化していなくても、また動物が微生物のサブコロニー形成数を保有するにかかわらず、微生物によって動物にコロニー形成されたと特定されている及び/又は微生物に曝露されそうである範囲に存在する動物である。従って、動物の微生物との最初の接触の前、中、又は後で、組成物の投与を実施することができる。動物の微生物との最初の接触後に開始される治療は、組成物が投与されていない動物と比較して、微生物によるコロニー形成の程度を減少すること、完全に微生物を除去すること、及び/又は微生物によって動物にコロニー形成される可能性を減少することをもたらす。したがって、当該方法は、本発明の組成物の有効量を、グラム陽性微生物によってコロニー形成された又はコロニー形成されるリスクがある動物に投与することを含む。本発明のこの態様において、「有効量」は、微生物による動物中のコロニー形成を減少するために十分な量であり、コロニー形成を減少することは：組成物が投与されていない動物と比較して、微生物によるコロニー形成の程度を減少すること、完全に微生物を除去すること、及び/又は微生物によって動物にコロニー形成される可能性を減少することのうち、1つ又は複数を意味する。微生物による動物のコロニー形成を評価するための方法は、当技術分野で通常且つ周知である。例えば、微生物による動物の腸管のコロニー形成は、動物の糞便中の微生物の存在を測定することによって決定することができる。微生物による動物におけるコロニー形成を減少することは、微生物のヒトへの伝染を減少することが期待される。

【0166】

本発明の組成物は、細菌感染症に対する能動又は受動免疫を提供するために使用することができる。通常、組成物は、能動免疫を供するために動物に投与される。しかしながら、組成物は、免疫生成物、産生している動物から回収及び受動免疫を提供するために他の動物に投与することができる例えば抗体の産生を誘発するために使用することもまた可能である。免疫成分、例えば抗体は、組成物(好適には、抗体を含有する組成物)を調製するために、血清、血漿、血液、初乳等から受動免疫治療のために回収することができる。モノクローナル抗体及び/又は抗イディオタイプを含む抗体組成物はまた、周知の方法を使用して調製することができる。キメラ抗体は、ヒト由来のH鎖及びL鎖両方の定常部、マウス由来の抗原特異的な可変領域を含む(Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1984, 81(21):6851-5; LoBuglio et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86(11):4220-4; Boulianne et al., Nature, 1984, 312(5995):643-6)。ヒト化抗体は、(可変領域の)マウスの定常部及びフレームワーク(FR)をヒトの対応物と置換する(Jones et al., Nature, 1986, 321(6069):522-5; Riechmann et al., Nature, 1988, 332(6162):323-7; Verhoeyen et al., Science, 1988, 239(4847):1534-6; Queen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1989, 86(24):10029-33; Daugherty et al., Nucleic Acids Res., 1991, 19(9):2471-6)。あるいは、ヒトオリジンとほぼ完全である抗体を産生するよう遺伝的に操作された一部のマウス株を使用することができ;免疫化に続いて、ヒトモノクローナル抗体の産生のためにこれらのマウスのB細胞を回収し不死化する(Bruggeman and Taussig, Curr. Opin. Biotechnol., 1997, 8(4):455-8; Lonberg and Huszar, Int. Rev. Immunol., 1995;13(1):65-93; Lonberg et al., Nature, 1994, 368:856-9; Taylor et al., Nucleic Acids Res., 1992, 20:6287-95)。受動抗体組成物及びこの断片、例えば、scFv、Fab、F(ab')₂又はFv或いはこれらの

他の修飾形態は、血清、血漿、血液、初乳等の形態でレシピエントに投与されてよい。しかしながら、抗体は、後の使用のために、周知の方法を使用して、血清、血漿、血液、初乳等から、濃縮又は再構成形態、例えば洗浄液、浸透性ドレッシング及び/又は局所剤等中に単離されてもよい。受動免疫製剤は、急性全身性疾病の治療、又は母性初乳を介して適切なレベルの受動免疫を受けることができない若齢の動物の受動免疫に特に好適である。受動免疫に有用な抗体は、全身性又は局所的感染症中に、本発明のポリペプチド又は本発明のポリペプチド上に存在するエピトープと構造上関連するエピトープを有するポリペプチドの細菌の発現を直接的に標的とすることができる様々な薬剤又は抗生物質に結合することにも有用である。

【0167】

動物モデル、特にマウスモデルは、本発明の組成物を実験上評価するために利用可能である。これらのマウスモデルは、ブドウ球菌属のメンバー、特に黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) によって生じるヒト疾患の研究に通常容認されるモデルである。ブドウ球菌属のメンバーが動物、例えば乳牛において疾患を生じるこれらの場合において、本発明の組成物を実験上評価するために自然宿主を使用することができる。

【0168】

しかしながら、マウスモデルにおける防御は、組成物がブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) による感染症に対する防御を動物に与えることができるかを評価するための唯一の方法ではない。適応免疫応答は、2つの主要な応答：体液性（抗体）応答及び細胞性（T細胞）応答から成る。細菌病原体による感染症に続いて、感染部位における樹状細胞は、微生物抗原と遭遇し、シグナル伝達分子、例えば、表面受容体及び特有の細菌と関連がある保存された分子パターンに反応したサイトカインを生成する。これらのシグナルは、病原体の性質によって成形され、理想的には宿主を疾患から防御する適当な抗体及びT細胞応答に繋がる。一部の細菌性疾患は最初に抗体機能を介して制御される一方で、他のものは防御のためにT細胞応答又は抗体及びT細胞応答の双方を必要とする。ワクチンの生物学的な目的は、防御を提供する免疫応答を同定し、そしてヒトにおいて1又は複数のこれらの応答を再現するためのワクチンをデザインすることである。

【0169】

抗体は、感染症に対する防御の付与において多くの異なる機能、例えば、補体固定、オプソニン作用、中和、及び/又は凝集機能を有してよい。さらに、抗体の一部のサブクラスは、特異的な機能において他のものより良く；例えば、補体固定に関して、ヒトIgGサブクラスについて次の順位が存在する：

$IgG3 > IgG1 > IgG2 > IgG4$ 。

【0170】

抗体免疫学的機能は種々の方法で試験することができる。例えば、ウエスタンブロットは、分離タンパク質のサイズに基づく抗原特異的な結合を同定するために使用することができる。一方標準的な酵素結合免疫吸着アッセイ (ELISA) は、血清内の抗体価についての定量的情報を生じるために使用される。抗体表面結合試験は、抗体が生体内 (*in vivo*) で機能する潜在能力を有するかの重要な指標である、血清中の抗体がインタクト細菌の表面上の抗原を認識できるか、を決定するために使用される。したがって、当業者によって、抗体結合アッセイ、例えば、ウエスタンブロット、(例えば、ヒト抗血清を使用した) ELISA、及び/又は表面結合は、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) による感染症に対する免疫学的活性を供する特異的結合抗原と確実に関連があると認識されている (Vytvytska et al. 2002, *Proteomics* 2:580-590; Kuklin et al. 2006, *Infect. Immun.* 74(4):2215-2223; Dryla et al. 2005, *Clin. Diag. Lab. Immunol.* 12(3):387-398)。また、さらに当業者によって、アッセイ、例えば、ウエスタンブロット、ELISA、又は表面結合アッセイにおける抗体結合の欠如が、アッセイされた抗原がブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) による感染症に対する免疫学的活性を提供できない、ということの意味するのではないとも認識されている (Kim HK et al. *IsdA and IsdB antibody protect mice against Staphylococcus aureus abscess formation and lethal challenge.*

10

20

30

40

50

Vaccine (2010), doi:10.1016/j.vaccine.2010.02.097)。

【0171】

図202は、回復期のマウス血清が、少なくとも組換えで生成されたM n t C (配列番号419)、組換えで生成されたS Y N 2 (配列番号386)、組換えで生成されたS i r A (配列番号375)、及び組換えで生成されたO p p 1 A (配列番号364)に結合することを示し、結合された組換えで生成された各ポリペプチドがブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) による感染症に対する免疫学的活性を誘発することができることを示している。

【0172】

図204は、回復期のヒト血清が、組換えで生成されたP f l B (配列番号353)、組換えで生成されたO p p 1 A (配列番号364)、組換えで生成されたS i r A (配列番号375)、組換えで生成されたS Y N 2 (配列番号386)、組換えで生成されたF h u D (配列番号397)、組換えで生成されたS Y N 1 (配列番号408)、及び組換えで生成されたM n t C (配列番号419)に結合することを示し、組換えで生成された各ポリペプチドがブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) による感染症に対して免疫学的活性を誘発することができることを示している。

【0173】

図205は、組換えで生成されたF h u D (配列番号397)、組換えで生成されたO p p 1 A (配列番号364)、及び組換えで生成されたP f l B (配列番号353)に対して産生された抗体がブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) 細胞の表面に結合することを示し、細胞結合抗体の各ポリペプチド標的は、ブドウ球菌属 (Staphylococcus spp.) による感染症に対する免疫学的活性を誘発することができることを示している。

【0174】

細菌の死滅レベルを決定するために抗体及び補体結合細菌がヒト又はマウス貪食細胞と結合される、オプソニン化貪食作用アッセイ (OPA) 等の技術は、抗体機能を試験するために有用である。陽性O P A 結果は、マウスモデルにおいてワクチン誘発された防御と関連がある (Stranger-Jones et al. 2006, Proc. Natl. Acad. Sci. 103 (45):16942-16947)。同様の酸化バーストアッセイは、抗体及び補体結合細菌との相互作用に続くフレッシュなヒト又はマウス好中球による活性酸素種 (ROS) のレベルを評価するために使用できる。

【0175】

場合によっては、候補ポリペプチドが細胞媒介の免疫学的活性を有し、従って、抗体産生の誘発の非存在下で、候補ポリペプチドが免疫学的活性を提示するかもしれないことを決定することができる (Spellberg et al. 2008, Infect. Immun. 76 (10):4575-4580)。細胞傷害性又はC D 8 T細胞が、様々なエフェクターメカニズムを介して最初に感染した細胞を直接的に死滅し、一方ヘルパーC D 4 T細胞はサイトカインに関して重要なシグナル伝達を提供するよう機能する。これらのT細胞クラスは、産生するサイトカインに基づいてさらに細分化することができ、異なるサブクラスは異種細菌病原体に対して効果的である。T細胞は、フローサイトメトリーでこれらの表現型を評価することによって度々試験され、この中では抗体は、T細胞、例えば、活性化されたばかりのC D 4⁺T細胞、メモリーC D 8 T細胞等の分類を可能にする特異的な表面マーカーのレベルを可視化するために使用される。さらに、サイトカイン及びT細胞の他の生成物はリンパ組織からT細胞を単離しこれらを同族抗原で再刺激することによって試験することができる。抗原の刺激後に、T細胞は、例えば、フローサイトメトリーで結合される細胞内サイトカイン染色、又は細胞上清の回収及び15~25個のサイトカインを同時に測定するためのルミネックスビーズ技術の使用によって可視化されるサイトカインを産生する。

【0176】

図206は、組換えで生成されたP f l B (配列番号353)、組換えで生成されたO p p 1 A (配列番号364)、組換えで生成されたS i r A (配列番号375)、組換えで生成されたS Y N 2 (配列番号386)、組換えで生成されたF h u D (配列番号397)、組換えで生成されたS Y N 1 (配列番号408)、及び組換えで生成されたM n t C (配列番号419)

を含む組成物 (rSERP7) が、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) による感染症に対して免疫学的活性を供することが証明された S I R P 抽出物によって誘発されるサイトカインプロファイルと同様のサイトカインプロファイルを誘発することを示す。r S I R P 7 組成物は、例えば、I L - 2、I L - 6、I L - 17、I F N - 、M I P - 2、及び G M - C S F の産生を誘発した。

【 0 1 7 7 】

したがって、マウスモデルに加えて、当業者は、明細書中で記載される方法に相応する免疫学的活性は、任意の 1 又は複数の以下のもの：ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) に曝された動物由来の血清が、候補ポリペプチドに特異的に結合する抗体を含有することを示しているウエスタンブロットデータ、候補ポリペプチドに特異的に結合する抗体が、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.) に特異的に結合することを示している細胞表面結合アッセイ、オプソニン化貪食作用データ、及びサイトカイン誘導、と相関があると認識する。

10

【 0 1 7 8 】

本発明の他の態様は、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体を検出するための方法を供する。これらの方法は、例えば、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体を動物が有するかを検出すること、及び動物が明細書中で記載されるポリペプチドを発現している、又は明細書中で記載されるポリペプチドとエピトープを共有するポリペプチドを発現している微生物によって生じる疾病を有するかを診断することにおいて有用である。このような診断システムは、キット形態であってよい。当該方法は、混合物をもたらすために本発明のポリペプチドを含む製剤と抗体とを接触させることを含む。抗体は、生物学的試料、例えば、血液、乳、又は初乳中に存在してよい。当該方法は、ポリペプチド：抗体複合体を形成するために抗体が特異的にポリペプチドに結合することを可能にする条件下で混合物をインキュベートすることをさらに含む。本明細書で用いられる場合、用語「ポリペプチド：抗体複合体」は、抗体がポリペプチドに特異的に結合する場合に、結果として生じる複合体を意味する。本発明のポリペプチドを含む製剤は、ポリペプチド：抗体複合体の形成に適切な条件を供する試薬、例えば緩衝液もまた含む。ポリペプチド：抗体複合体は、続いて検出される。抗体の検出は、当技術分野で周知の、例えば、免疫蛍光又はペルオキシダーゼを含むことができる。本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体の存在を検出するための方法は、抗体を検出するために使用されている様々なフォーマット、例えばラジオイムノアッセイ及び酵素結合免疫吸着アッセイで使用することができる。

20

30

【 0 1 7 9 】

本発明はまた、特異的に本発明のポリペプチドに結合する抗体を検出するためのキットを供する。検出される抗体は、グラム陽性微生物、より好適には、ミクロコッカス科 (*Micrococcaceae*) のメンバー、好適には、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* spp.)、より好適には、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ; ストレプトコッカス属 (*Streptococcus* spp.)、バチルス属 (*Bacillus* spp.)、クロストリジウム属 (*Clostridium* spp.)、コリネバクテリウム属 (*Corynebacterium* spp.)、腸球菌属 (*Enterococcus* spp.)、エリシペロスリクス属 (*Erysipelothrix* spp.)、キトコッカス (*Kytococcus* spp.)、リステリア属 (*Listeria* spp.)、ミクロコッカス菌属 (*Micrococcus* spp.)、マイコバクテリウム属 (*Mycobacterium* spp.)、及びエリシペロスリクス属 (*Erysipelothrix* spp.) によって生じる感染症に罹患していると思われる動物から得られてよい。

40

【 0 1 8 0 】

キットは、少なくとも 1 つのアッセイに十分な量で適当なパッケージング材料中に、少なくとも 1 つ (例えば、1 つ、少なくとも 2 つ、少なくとも 3 つ等) の本発明のポリペプチドを含む。任意には、他の試薬、例えば本発明の実行に必要な緩衝液及び溶液もまた含まれる。例えば、キットは、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体、例えば、動物から得られる抗体に特異的に結合するようデザインされた検出可能な程度に標識された二次抗体の検出を可能にする試薬もまた含む。パッケージされたポリペプチドの使用説明

50

書もまた、典型的に含まれる。本明細書で用いられる場合、用語「パッケージング材料」は、キットの内容物を収容するために使用される1又は複数の物理的構造を意味する。パッケージング材料は、通常無菌、混入物を含まない環境を供するために周知の方法によって構築される。パッケージング材料は、本発明のポリペプチドに特異的に結合する抗体を検出するためにポリペプチドを使用することができることを示す標識を有してよい。さらに、パッケージング材料は、キット内の材料が抗体を検出するためにどのように使用されるかを示す説明書を含む。本明細書で用いられる場合、用語「パッケージ」は、固定された限度内でポリペプチド、及び他の試薬、例えば二次抗体を保持することができる、容器、例えばガラス、プラスチック、紙、ホイル等を意味する。したがって、例えば、パッケージは、マイクログラム量のポリペプチドが添加されたマイクロタイタープレートウェルとし得る。パッケージは、二次抗体もまた含んでよい。「使用のための説明書」は、典型的には試薬濃度又は少なくとも1つのアッセイ方法パラメータ、例えば混合される試薬及び試料の相対量、試薬/試料混合物の保持時間、温度、緩衝液条件等を記載する具体的な表現を含む。

10

【0181】

本発明は、以下の実施例によって説明される。明細書中に記載の本発明の範囲及び趣旨に従って、個々の実施例、材料、量、及び手順は、広義に解釈すべきである。

【実施例】

【0182】

実施例1

20

鉄制御タンパク質の製剤

実験室規模

鉄制限及び/又は他の程度の金属イオンキレート化の元で発現された新規タンパク質を含む、黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) の異種株に由来する組成物を、マウスにおける弱毒性攻撃に対する有効性に関して評価した。組成物の有効性を、次のパラメータ(1)マウスにおいて生病原性攻撃に対して相同種及び異種性防御を供する各組成物の有効性、(2)壊死性皮膚病変を低減する各組成物の有効性、及び(3)豊富及び欠乏した鉄条件中で成長させたブドウ球菌に由来する、防御を供する組成物の有効性、に関するデータを収集することによって評価した。

【0183】

30

この試験において評価した黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) 株は、3種の動物種; トリ、ヒト及びウシに由来した。トリ分離株 S A A V 1 は、高度の骨髄炎及び滑膜炎に罹患する七面鳥のグループに由来するフィールド分離株であった。ウシ分離株 (株 1477 及び株 2176) は、臨床乳腺炎が高発生率である2つの異なる市販の乳牛グループから単離した。ヒト分離株は、A T C C (株 19636) から得たもの、及び/又は臨床骨髄炎に罹患する患者に由来するものであった。

【0184】

適当な分離株を、300 μ M の 2, 2 - ジピリジル (Sigma-Aldrich St. Louis, MO) を含有する 200 ml のトリプチックソイブロス (TSB, Difco Laboratories, Detroit, MI) 中に播種することによって、各分離株のマスター種のストック (Master seed stock) を調製した。37、200 rpm で6時間攪拌しながら、培養物を成長させ、10,000 \times g における遠心分離によって回収した。細菌ペレットを20%グリセロール含有の100 ml の T S B プロス中に再懸濁し、無菌状態で2 ml の低温貯蔵バイアル (バイアル当り 1ml) 中に分注し、使用まで - 90 で保存した。

40

【0185】

各マスター種のストックを展開し作用用種 (working seed) とした。各マスター種分離株の1つのバイアルを、1000 μ M の 2, 2 - ジピリジル (Sigma-Aldrich St. Louis, MO) 含有の 200 ml のトリプチックソイブロス (TSB, Difco Laboratories, Detroit, MI) 中に播種した。37 で6時間、200 rpm で攪拌しながら、培養物を成長させ、10,000 \times g での遠心分離によって回収した。細菌ペレットを20%グリセロール

50

を含有する100mlのTSBブロス中に懸濁し、2mlの低温貯蔵バイアル無菌状態で分注し(バイアル当り1ml)、使用まで-90で保存した。鉄制御膜タンパク質を含む、鉄制御膜タンパク質で濃縮された組成物の産生のために作用用種を使用した。

【0186】

全株を、高鉄欠乏の培地(すなわち、非常に低レベルの遊離鉄を含有する培地)中で成長するように適応させた。これは、増加濃度の2,2'-ジピリジル(300~1600 μ M)を含有するTSB中で、細菌を継代培養することによって達成した。

【0187】

次の通り、細菌からタンパク質を調製した。継代培養による凍結作用用種ストックから、25mlの(1000 μ Mの2,2'-ジピリジルを含有する)鉄欠乏培地及び鉄豊富培地中に細菌を成長させ、続いて400rpmで振盪しながら37でインキュベートした。12時間のインキュベーション後、37でプレインキュベートした500mlの鉄欠乏又は鉄豊富培地中に5mlの各培養物を移送した。100rpmで振盪しながら、37で8時間培養物をインキュベートし、続いて細胞を20分間の10,000 \times gでの遠心分離によってペレット化した。細菌ペレットを100mlの無菌生理食塩水中で再懸濁し、10,000 \times gで10分間遠心分離した。続いてペレットを45mlのトリス緩衝生理食塩水、pH7.2(TBS; 25mMトリス, 150mM NaCl)中で再懸濁し、生じた細菌懸濁液を9mlの一定分量ずつ5個のチューブ中にそれぞれ分注した。最終量が5ユニット/mlを示すように、リゾスタフィン(Sigma, St. Louis, MO)を50ユニット含有のTBSの1ミリリットルを各チューブに添加した。200rpmで振盪しながら37で30分間のインキュベーションの後に、0.1mgのリゾチーム(Sigma)含有の1mlのTBSを各チューブに添加した。続いて、200rpmで振盪しながら、細菌懸濁液をさらに45分間インキュベートした。次に、大きな細胞のデブリをペレット化するために、懸濁液を4で12分間3050 \times gで遠心分離した。ペレットをかき乱すことなく吸引によって上清を回収した。続いて、2.5時間、39,000 \times gで上清を遠心分離した。生理食塩水を含まない、200 μ lのトリス緩衝液、pH7.2中に、タンパク質を含有する生じたペレットを再懸濁した。各分離株のタンパク質溶液を総量1mlに混合し、-90で保存した。

【0188】

黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)に由来するタンパク質濃縮抽出物を、4%濃縮用ゲル及び10%分解ゲルを使用してSDS-PAGEゲル上でサイズ分画した。電気泳動のための試料を10 μ lの試料を30 μ lのSDS還元試料緩衝液(62.5mMトリス-HCL pH 6.8, 20%グリセロール, 2% SDS, 5% β -メルカプトエタノール)と混合することによって調製し、4分間煮沸した。Protein IIXI cell power supply (BioRad Laboratories, Richmond, CA, model 1000/500)を使用して、4で18mAの一定電流で5時間試料を電気泳動した。

【0189】

SDS-PAGEゲル中で視覚的に確認される個々のタンパク質の分子量を、標準試料としての広範囲の分子量マーカー(BioRad)を使用して、GS-800 densitometer (BioRad)を使用して推定した。

【0190】

1600 μ Mのジピリジルの存在下で成長させた場合、各分離株由来のタンパク質のSDS-PAGEパターンは、300 μ Mのジピリジルの存在下で成長させた場合の同一株と比較して、非常に異なるタンパク質発現パターンを示した。例えば、300 μ Mのジピリジル中で成長させた場合、分離株SAAV1は金属制御タンパク質90kDa、84kDa、72kDa、66kDa、36kDa、32kDa、及び22kDaを生じ、一方1600 μ Mのジピリジル中で成長させた場合、金属制御タンパク質87.73kDa、54.53kDa、38.42kDa、37.37kDa、35.70kDa、34.91kDa、及び33.0kDaを生じた。同様に、300 μ Mのジピリジル中で成長させた場合、分離株19636は、タンパク質42kDa及び36kDaを生じ、一方160

10

20

30

40

50

0 μMジピリジル中で成長させた場合、金属制御タンパク質 87.73 kDa、54.53 kDa、38.42 kDa、37.37 kDa、35.70 kDa、34.91 kDa、及び33.0 kDaを生じた。鉄豊富培地における成長を含む全ての条件において、おそらく金属制御されていない次のタンパク質の発現が生じた：150 kDa、132 kDa、120 kDa、75 kDa、58 kDa、50 kDa、44 kDa、43 kDa、41 kDa、及び40 kDa。

【0191】

さらに、1600 μMのジピリジル中における黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 異種株の成長は、同様のタンパク質発現パターンを生じた。トリ分離株 (SAAV1) 由来の鉄制御膜タンパク質の濃縮組成物は、87.73 kDa、54.53 kDa、38.42 kDa、37.37 kDa、35.70 kDa、34.91 kDa、及び33.0 kDaの分子量のタンパク質を含んだ。ATCC単離株19636由来のタンパク質の分子量は、トリ分離株由来のものと同質的に同一であった。いずれのウシ分離株も、1600 μMの2, 2-ジピリジルで成長させた場合、タンパク質の大部分 (87.73kDa, 54.53 kDa, 37.7 kDa, 35.70 kDa, 34.91 kDa, 及び33.0 kDa) に関して、トリ及びATCC分離株と同様のバンド形成プロファイルを発現した。しかしながら、ウシ分離株のいずれも、トリ及びATCC分離株で見られる38.42 kDaタンパク質を生成せず、ウシ分離株はトリ及びATCC株で観察されない3つのタンパク質 (80.46 kDa, 65.08 kDa, 及び31.83kDa) を発現した (図1及び表7を参照されたい)。全ての条件において、金属制御されていない次のタンパク質の発現が生じた：150 kDa、132 kDa、120 kDa、75 kDa、58 kDa、50 kDa、44 kDa、43 kDa、41 kDa、及び40 kDa。

10

20

【0192】

表7. 黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) 分離株から得られる、金属制御ポリペプチドの分子量。

【0193】

【表7】

トリ SAAV1	ヒト 19636	ウシ 1477	ウシ 2176
87.73	87.73	87.73	87.73
-	-	80.46	80.46
-	-	65.08	65.08
54.53	54.53	54.53	54.53
38.42	38.42	-	-
37.37	37.37	37.37	37.37
35.70	35.70	35.70	35.70
34.91	34.91	34.91	34.91
33.0	33.0	33.0	33.0
		31.83	31.83

30

40

【0194】

興味深いことに、細菌をリゾスタフィン/リゾチームで処理した後、精製した上清及び細菌ペレット間で、SDS-PAGEによって試験したタンパク質プロファイルにおいて差異はなかった。抽出した細菌ペレットと上清いずれもまさにSDS-PAGEによって観察された同一のタンパク質プロファイルを有した。この同一の観察は、AVESTIN ホモジナイザーを30,000 psiで使用して細菌細胞をばらばらにした場合にも確認された。低速度遠心分離後に得られた細菌ペレットは、4、30,000 × gで2時間の高速遠心分離後に、精製した上清と比較したタンパク質プロファイルで同一であった。

【0195】

50

実施例 2

黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) に由来する免疫化組成物の製剤

実施例 1 に記載されるように鉄欠乏条件において成長させ調製したヒト分離株 ATCC 19636 及びウシ分離株 1477 由来のタンパク質を、2つのワクチン組成物を製剤するために使用した。ATCC 分離株由来のタンパク質は、87.73 kDa、54.53 kDa、38.42 kDa、37.37 kDa、35.70 kDa、34.91 kDa、及び 33.0 kDa の分子量を有し、一方ウシ分離株は、87.73 kDa、80.46 kDa、65.08 kDa、54.53 kDa、37.37 kDa、35.70 kDa、34.91 kDa、33.0 kDa、及び 31.83 の分子量を有するタンパク質を発現した。各組成物はまた、金属制御されていない次のタンパク質を含有した：150 kDa、132 kDa、120 kDa、75 kDa、58 kDa、50 kDa、44 kDa、43 kDa、41 kDa、及び 40 kDa。アジュバント濃度 22.5% 体積/体積の 0.1 ml の注射可能な量中に総タンパク質 50 µg の最終用量を示すように、IKA Ultra Turrax T-50 ホモジナイジング容器 (IKA, Cincinnati, OH) を使用して、各水性タンパク質懸濁液 (総タンパク質 500 µg/ml) を商業的アジュバント (EMULSIFOL, MVP Laboratories, Ralston, Nebraska) 中に乳化することによって、ストックワクチンを 2 つの株から調製した。実施例 1 に記載されるように、鉄豊富条件 (300 µM 塩化第二鉄を追加した TSB) 下で成長させたウシ分離株 1477 から、対照ワクチン接種として、タンパク質組成物を調製した。上記プロトコール中で水性タンパク質懸濁液の代わりに生理食塩水を使用することによってプラセボワクチンを調製した。

【0196】

実施例 3

マウスへのワクチン接種

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した、体重 16 ~ 22 グラムの 70 匹 (N=70) のメス CF-1 マウスを、等しく 7 個のグループに分配した (10 匹のマウス/グループ)。マウスをポリカーボネートマウスケージ (Ancore Corporation, Bellmore, NY) 中で飼育した。各処理グループに関して 1 つのケージを使用し、餌及び水を全マウスに自由に供給した。全マウスに、次のように 14 日の間隔をあけて 2 回、0.1 ml の適当な組成物を腹腔内にワクチン接種した：

グループ 1：プラセボワクチン接種

グループ 2：鉄制限下で発現された ATCC 19636 タンパク質のワクチン接種

グループ 3：プラセボワクチン接種

グループ 4：鉄制限下で発現されたウシ 1477 タンパク質のワクチン接種

グループ 5：鉄制限下で発現されたウシ 1477 タンパク質のワクチン接種

グループ 6：鉄制限下で発現された ATCC 19636 タンパク質のワクチン接種

グループ 7：ウシ 1477 FeCl₃ のワクチン接種、ここで「ウシ 1477 FeCl₃」は 300 µM の塩化第二鉄を追加した TSB 中で成長させたウシ 1477 から得られたタンパク質を意味する。

【0197】

実施例 4

攻撃生物の調製

前記黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) 株 ATCC 19636 及び株 1477 を攻撃生物として使用した。簡潔に言うと、(前記の)凍結ストック由来の分離株を血液寒天プレート上に画線し、37 °C で 18 時間インキュベートした。1600 µM の 2,2-ジピリジル含有の 50 ml のトリブチックソイブロス (Difco) 中で、各分離株の単独のコロニーを継代した。200 rpm で回転させながら培養物を 37 °C で 6 時間インキュベートし、続いて細菌をペレット化するために、10,000 × g、4 °C で 10 分間遠心分離した。細菌ペレットを、4 °C の TBS 中で遠心分離によって 2 度洗浄した。最終ペレットを、約 25 ml の TBS の量で 562 nm で 42% 透過率 (T) の光学濃度まで TBS 中で再懸濁し、攻撃のために使用した。攻撃の直前に、1 ml のこれらの細菌懸濁液を

段階希釈し、そして寒天上に蒔きマウス用量当たりのコロニー形成ユニット (CFU) の数を数えた。

【0198】

実施例 5

攻撃

2 回目のワクチン接種の 14 日後に、全グループ (1~7) 中のマウスに背面頸部の皮下に 0.1 ml の適当な生物を攻撃した。次の通り、マウスの 7 つのグループを攻撃した：

グループ 1 (プラセボワクチン接種) : ATCC 19636 での攻撃

グループ 2 (鉄制限下で発現された ATCC19636 タンパク質のワクチン接種) : ATCC 19636 での攻撃

グループ 3 (プラセボワクチン接種) : ウシ 1477 での攻撃

グループ 4 (鉄制限下で発現された ウシ 1477 タンパク質のワクチン接種) : ウシ 1477 での攻撃

グループ 5 (鉄制限下で発現された ウシ 1477 タンパク質のワクチン接種) : ATCC 19636 での攻撃

グループ 6 (鉄制限下で発現された ATCC 19636 タンパク質のワクチン接種) : ウシ 1477 での攻撃

グループ 7 (ウシ 1477 FeCl₃ のワクチン接種) : ウシ 1477 での攻撃

【0199】

実施例 4 に記載される数え上げプロトコールによって決定されるように、攻撃のために使用した黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 19636 の濃度は、マウス用量当り 1.35×10^8 CFU であり、攻撃に使用した黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 1477 の濃度は、マウス用量当り 1.65×10^8 コロニー CFU であった。攻撃後 7 日間、罹患率、死亡率及び肉眼所見を毎日記録した。

【0200】

ATCC 19636 分離株で攻撃したマウスを比較した場合、70% のプラセボワクチン接種したグループ 1 のマウスは攻撃 7 日以内に死亡した (表 8 及び図 2)。これは、株 19636 は、投与した用量レベルでマウスにおいて高い死亡率を生じることを証明した。グループ 1 のマウスと対照的に、攻撃後 7 日以内にグループ 2 においてわずか 10% のマウスが死亡した。これらの結果は、株 19636 で攻撃したマウスは、19636 組成物のワクチン接種によって有意に防御されたことを説明する ($p=0.020$, フィッシャー直接検定)。さらに、死亡までの時間のデータの Kaplan-Meier 分析は、ワクチンによって相同種 (homologous) 攻撃に対して有意な防御が可能であることを示した ($p=0.0042$, ログランク検定) (図 3)。さらに、グループ 5 においてわずか 20% のマウスが攻撃後 7 日以内に死亡し、これはウシ 1477 組成物が ATCC 19636 株での攻撃に対して有意な防御を提供することを示している ($p=0.015$, 死亡率に関するログランク検定)。データを Kaplan-Meier 生存曲線及びログランク検定分析した場合 (図 4)、死亡率に対する防御が有意であることが決定され ($p=0.015$, 死亡率に関するログランク検定)、株 1477 に由来するワクチン組成物が株 19636 での攻撃に対して異種防御を供することを示している。

【0201】

表 8 . 黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) での攻撃後のワクチン接種及びワクチン接種していないマウスの死亡率 (ヒト ATCC 単離株 19636 及びウシ分離株 1477)。

【0202】

10

20

30

40

【表 8】

グループ	#マウス	#死亡数	死亡率 (%)
グループ-1* (プラセボ, ATCC 19636 攻撃)	10	7/10	70
グループ-2* (ATCC 19636, 相同種攻撃)	10	1/10	10
グループ-3* (プラセボ, ウシ1477 攻撃)	10	2/10	20
グループ-4* (ウシ1477, 相同種攻撃)	10	1/10	10
グループ-5* (ウシ1477, 異種攻撃)	10	2/10	20
グループ-6* (ATCC 19636, 異種攻撃)	10	0/10	0
グループ-7* (ウシ1477 FeCl ₃ , ウシ1477攻撃)	10	2/10	20

10

20

【0203】

- *グループ1 (プラセボワクチン接種 / ATCC 19636 での攻撃)
- *グループ2 (鉄制限下で発現された ATCC 19636 タンパク質のワクチン接種 / ATCC 19636 での攻撃)
- *グループ3 (プラセボワクチン接種 / ウシ1477 での攻撃)
- *グループ4 (鉄制限下で発現されたウシ1477 タンパク質のワクチン接種 / ウシ1477 での攻撃)
- *グループ5 (鉄制限下で発現されたウシ1477 タンパク質のワクチン接種 / ATCC 19636 での攻撃)
- *グループ6 (鉄制限下で発現された ATCC 19636 タンパク質ワクチン接種 / ウシ1477 での攻撃)
- *グループ7 (ウシ1477 FeCl₃ ワクチン接種 / ウシ1477 での攻撃)

30

【0204】

ウシ1477分離株で攻撃したマウスを比較する場合、プラセボワクチン接種したグループ (グループ3) において、わずか20%のマウスが攻撃後7日以内に死亡した。しかしながら、ウシ1477分離株での攻撃は、グループ3の生存しているマウスの6匹 (75%) において壊死性皮膚病変の進行を誘発した。これらの病変を測定し、生存しているマウス上の病変の平均サイズは18.5mmであった (表9)。対照的に、グループ4の20%のマウスが攻撃後7日以内に死亡したが、生存しているマウスのわずか3匹 (38%) において病変が進行した (平均直径, 2.7mm)。これらの結果は、ウシ株1477で攻撃したマウスにおいて、ウシ1477組成物は病変の進行に対して有意な相同性防御を提供したことを示す (p=0.009, スチューデントt検定)。さらに、グループ6においてマウスは死亡せずわずか3匹のマウス (30%) が皮膚病変を進行した (平均直径, 3.7mm) ので、ATCC 19636組成物のワクチン接種は、株1477での攻撃から防御した。まとめると、グループ5及び6のマウスにおける低減された死亡率及び/又は病変進行は、株19636及び1477に由来する組成物の有意な交差防御的性質を証明した (p=0.012, 病変サイズに基づいたスチューデントt検定)。非鉄制御タンパク質と比較した組成物の有効性の証明において、グループ7において20%のマウスが死亡し、生存したマウスの中の4匹において皮膚病変が進行した (平均直径, 15.8mm)。グループ7のマウスは、プラセボワクチン接種のグループ3と比較してほとんど病変を進行しなかったため、147

40

50

7分離株のタンパク質のワクチン接種によるある程度の防御を証明した。しかしながら、グループ7の Maus 上の皮膚病変はより頻繁に観察され、グループ4の Maus 上の病変よりも直径は大きく、鉄豊富条件下で成長させた細胞から単離されたタンパク質と比べて、鉄制限下で成長させた細菌から単離されたタンパク質は同一の攻撃に対して優れた防御を供したことを示している。

【0205】

Maus 攻撃試験において観察されるタンパク質の交差防御的性質は、実施例1に記載される黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株由来のタンパク質の同様の分子量によってサポートされる (図1)。ウシ由来の分離株に由来するタンパク質の SDS-PAGE プロファイルにおいて、特に 38.4 kDa のタンパク質が欠損し、3つのさらなるタンパク質が存在するという顕著な差異が存在するにも係わらず、株 1477 及び ATCC 19636 どちらにも由来するタンパク質は異種の防御を誘発した。これらの結果は、株 19636 と 1477 との間の同様のタンパク質は、おそらくグループ5及び6において観察された交差防御に関与していることを示す。一方、鉄欠乏及び鉄豊富条件下で成長させた株 1477 由来のタンパク質プロファイルは、観察可能なほど異なる。鉄欠乏条件下で単離されるそれらのタンパク質は、鉄豊富条件下で単離されるタンパク質と比較してより防御性があり、グループ7の Maus と比較したグループ4の Maus の病変進行の低下によって証明される。

10

【0206】

表9. 黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) (ATCC 単離株 19636 及び / 又はウシ分離株 1477) での攻撃 7 日後の Maus における壊死性病変の誘発

20

【0207】

【表9】

マウス当たりの病変直径(ミリメートル)									
グループ-1	グループ-2	グループ-3	グループ-4	グループ-5	グループ-6	グループ-7			
病変なし	病変なし	26	5	5	5	25			
病変なし	病変なし	25	2	病変なし	5	25			
病変なし	病変なし	24	1	病変なし	1	10			
死亡	病変なし	24	病変なし	病変なし	病変なし	3			
死亡	病変なし	7	病変なし	病変なし	病変なし	病変なし			
死亡	病変なし	5	病変なし	病変なし	病変なし	病変なし			
死亡	病変なし	病変なし	病変なし	病変なし	病変なし	病変なし			
死亡	病変なし	病変なし	病変なし	病変なし	病変なし	病変なし			
死亡	病変なし	死亡	病変なし	死亡	病変なし	死亡			
死亡	死亡	死亡	死亡	死亡	病変なし	死亡			
生存マウスにおける平均病変直径 (mm)									
0	0	18.5	2.7	5	3.7	15.8			

【0208】

*グループ1 (プラセボワクチン接種 / ATCC19636での攻撃)

*グループ2 (鉄制限下で発現されたATCC19636タンパク質のワクチン接種 / ATCC19636での攻撃)

*グループ3 (プラセボワクチン接種 / ウシ1477での攻撃)

*グループ4 (鉄制限下で発現されたウシ1477タンパク質のワクチン接種 / ウシ14

10

20

30

40

50

77での攻撃)

*グループ5(鉄制限下で発現されたウシ1477タンパク質のワクチン接種/ATCC19636での攻撃)

*グループ6(鉄制限下で発現されたATCC19636タンパク質のワクチン接種/ウシ1477での攻撃)

*グループ7(ウシ1477FeCl₃ワクチン接種/ウシ1477での攻撃)

【0209】

実施例6

哺乳類において、組織損傷又は細菌感染症への応答が急性炎症反応をもたらすことが示されている。この応答は、炎症；膨潤、熱、疼痛及び発赤として認識される臨床徴候を生じることになる毛細血管透過性及び食作用性浸潤を増加し；放置されたままであると、死に至るかもしれない。体液性因子の活性化及びサイトカインの放出は、まとめると、生理及び生化学イベントのカスケードをもたらす急性期タンパク質応答として周知の全身性イベントを媒介する。この応答の持続時間は、全身性感染症の損傷の重症度及び規模に直接的に関係する。細菌敗血症、主な外科手術、熱傷及び他の身体上の外傷中において、血清中の多数の金属、例えば、鉄、銅、及び亜鉛のイオン濃度変化が生じることが十分に実証されている。例えば、感染症の急性期中、鉄及び亜鉛の血漿レベルの低下及び銅の血漿レベルの増加が生じる。血清中のこれらのトレース金属イオンの変化は、任意の細菌感染症の重症度又は進行に直接的に影響を及ぼすかもしれない。

【0210】

本試験において、全身性浸潤中に発現されるかもしれない新規タンパク質の発現を再現するために、金属イオン制限の様々な条件下で、黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)のタンパク質の発現を試験した。本試験において評価した黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)株は、3つの異種動物；トリ(株SAAVI)、ヒト(株19636)、及びウシ(株1477及び2176)の臨床試料に由来した。簡潔に言うと、各分離株の培養物は、200mlのトリプチックソイブロス(TSB)中でマスター種のストックから調製した。37℃、200rpmで6時間攪拌しながら各培養物を成長させた。10mlの各培養物を、4つの金属イオンキレート剤；2,2-ジピリジル(Dp)、2-ピリジルメチル-エチレンジアミン(TPEN)、カテキン、及びナリングニン(いずれもSigma, St. Louis, MOから得られる)の1つを含有する500mlの欠乏TSB中に移送した。さらに、300µM濃度に調製した塩化第二鉄、塩化亜鉛及び/又は塩化銅を含有するカチオン豊富培地中で各培養物を成長させた。金属イオンキレート剤を次の濃度；2,2-ジピリジルを800µM、カテキン及びナリングニンを300µM、2-ピリジルメチル-エチレンジアミンを100µMの濃度で使用した。培養物を各キレート剤で8時間成長、そして培養物の2度目の継代培養をさらに12時間した。各培養物を12時間の間隔をあけて3回連続的継代培養した。3度目の継代培養の終了時に、10,000×gでの20分間の遠心分離によって各培養物を回収した。10,000×gでの遠心分離によって各培養物を2度洗浄し、4℃の20mlのトリス緩衝生理食塩水、pH7.2中で再懸濁した。

【0211】

各細菌ペレットを45mlのトリス緩衝生理食塩水、pH7.2(25mMトリス及び150mM NaCl)中で再懸濁し、生じた細菌懸濁液をそれぞれ5個のチューブ、計20個のチューブ中に9mlの一定分量分注した。50ユニットのリゾスタフィン(Sigma, St. Louis, MO)を含有するTBSの1ミリリットルを、最終濃度5ユニット/mlを示すように各チューブに添加した。200rpmで振盪しながら、37℃で30分間のインキュベーション後に、0.1mgのリゾチーム(Sigma)を含有するTBSの1mlを各チューブに添加した。続いて、200rpmで振盪しながら細菌懸濁液をさらに45分間インキュベートした。次に、懸濁液を4℃、3050×gで12分間遠心分離し、大きな細胞デブリをペレット化した。ペレットをかき乱すことなく吸引によって上清を回収した。続いて、上清を39,000×gで2.5時間遠心分離した。金属制御膜タンパク質に関して濃縮された生じたペレットを、200µlトリス緩衝液、pH7.2中で再懸濁した。各分離株

10

20

30

40

50

に関するタンパク質溶液を混合して総量 1 ml とし - 90 で保存した。

【 0 2 1 2 】

鉄、亜鉛及び銅欠乏条件下で成長させた S A A V 1、1 9 6 3 6、1 4 7 7 及び 2 1 7 6 黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 単離株から得られるタンパク質は、金属制御ポリペプチドを含んだ。

【 0 2 1 3 】

各分離株に由来する細胞抽出物を、4%濃縮用ゲル及び10%分解ゲルを使用して SDS - PAGE ゲル上でサイズ分画した。10 µl の試料を、4 分間煮沸した 30 µl の SDS 還元試料緩衝液 (62.5mM トリス-HCL pH6.8, 20%グリセロール, 2%SDS, 5%ベータ-メルカプトエタノール) と混合することによって、電気泳動のための試料を調製した。タンパク質 I I x i c e l l p o w e r s u p p l y (BioRad Laboratories, Richmond, CA, model 1000/500) を使用して、4、5 時間、18 mA の一定電流で試料を電気泳動した。

【 0 2 1 4 】

2, 2' - ジピリジルの存在中の鉄制限下で成長させた同一の分離株と比較した場合に異なる全ての分離株において、亜鉛及び/又は銅キレート化の下で成長させたタンパク質の SDS - PAGE パターンは、特有のバンド形成パターンを示した。例えば、19636 分離株を鉄制限下又はキレート剤 2, 2' - ジピリジルの存在下で成長させた場合、87.73 kDa、54.53 kDa、38.42 kDa、37.37 kDa、35.70 kDa、34.91 kDa 及び 33.0 kDa の領域において特有の鉄制御タンパク質が発現された。これらのタンパク質は、分離株を塩化第二鉄の存在下で成長させた場合に下方制御された。しかしながら、亜鉛及び/又は銅キレート剤の存在下で同一の分離株を成長させた場合、鉄制限下で発現されたタンパク質と比べて新規のタンパク質; 約 115 kDa、88 kDa、80 kDa、71 kDa、69 kDa、35 kDa、30 kDa、29 kDa 及び 27 kDa の分子量を有する新たなタンパク質のサブセットが発現された。さらに、培養物を亜鉛制限下以外の鉄制限又は銅制限の条件下で 87.73 kDa のタンパク質が発現された。鉄制限下で発現されたタンパク質は、亜鉛制限及び/又は銅制限いずれかの下で成長させた場合、下方制御されるようだが、分離株を塩化第二鉄の存在下で成長させた場合に見られるように、完全に遮断されることはなかった。

【 0 2 1 5 】

同一の分離株を鉄制限下で成長させた場合に発現されず、生物を銅制限及び/又は亜鉛制限下で成長させた場合に発現される、新規のタンパク質が存在するように思われる。様々な生化学反応を触媒する酵素を形成するために遷移金属は生物によって使用されるので、全身性感染症中に金属イオンは微生物の生存において重要な機能を果たすかもしれない。敗血症中にこれらの遷移金属の利用能において一過性の低下が生じ、生物の成長のために金属を利用できないのは、これが原因かもしれない。これらの新規のタンパク質はまた、全身性浸潤中に経験される金属イオン制限の下で細菌によって発現されるかもしれないので、新規のタンパク質は鉄制限下で成長させた現存の組成物の防御的有効性を極めて増強するかもしれない。

【 0 2 1 6 】

実施例 7

本発明の組成物は、大規模な商業的条件下でも生成され得る。

発酵

実施例 1 に記載されるような作用用種の低温貯蔵バイアル (2ml, 10⁹CFU/rnl) を使用して、ブドウ糖 (Difco) を含まず、0.125 g / l の 2, 2 - ジピリジル (Sigma)、2.7 グラムの B i T e k 酵母抽出物 (Difco) 及びグリセロール (3% 体積/体積) を含有する、37 まで予熱した 500 ml のトリブチックソイブロス (TSB) 中に播種した。200 rpm で攪拌しながら培養物を 37 で 12 時間インキュベートし、これを使用して 2 リットルの上記の培地に播種し、37 でさらに 4 時間成長させた。この培養物を使用し、13 リットルの上記の培地を充填した 20 リットルの V E R T I S 卓上発酵槽 (

Virtis, Gardiner, NY) に播種した。50% NaOH及び10% HClでの自動滴定によって、pHを6.9~7.1で一定に保持した。攪拌速度を400回転/分に調整し、培養物を37で11リットル/分まで通気した。11mlの消泡剤(Mazu DF 204 Chem/Serv, Minneapolis, MN)の添加によって、自動的に起泡を制御した。これらの条件下で4時間培養物を連続して成長させ、無菌状態で150リットルの発酵槽(W. B. Moore, Easton, PA)中に注ぎ込んだ。発酵槽を、ブドウ糖非含有の120リットルのトリブチックソイブロス(3,600.0グラム)、Bitek酵母抽出物(600グラム)、グリセロール(3,600ml)、2,2-ジピリジル(3.0グラム)及びMazu DF 204消泡剤(60ml)で充填した。発酵のパラメータは、次の通りであった: 60リットル/分及び平方インチ当り10ポンド(psi)の背圧で分散させ攪拌を220回転/分まで増加することによって、溶存酸素(DO)を30% +/- 10%に維持した。50% NaOH及び10% HClでの自動滴定によって6.9~7.1にpHを一定に維持し、温度を37に維持した。発酵の4.5時間後に(OD₅₄₀ 8-9)、ブドウ糖非含有の1200リットルのトリブチックソイブロス(36,000グラム)、Bitek酵母抽出物(6,000グラム)、グリセロール(36,000ml)、2,2-ジピリジル(30.0グラム)及びMazu DF 204消泡剤(600ml)を充填した1,500リットルのNew Brunswick Scientific発酵槽IF-15000に培養物を移送した。発酵のパラメータは、次の通りであった: 300~1100リットル/分及び平方インチ当り5ポンド(psi)の背圧で分散させ攪拌を300回転/分まで増加することによって酸素補給し、60% +/- 10%に溶存酸素(DO)を維持した。発酵の進行に伴い、溶存酸素の制御において補助するために0~90リットル/分の酸素補給を行った。50% NaOH及び10% HClで自動滴定することによってpHを6.9~7.4に一定に保持し、温度を37に維持した。

【0217】

大発酵槽への播種の約5時間後に、ブドウ糖非含有の18,000グラムTSB、3,000グラム酵母抽出物30.0グラム、2,2-ジピリジル及び18,000mlのグリセロールを含有する70リットルの培地を供給することによって、培養物にさらなる栄養分を追加した。攪拌を増加しながら、供給速度を約28リットル/時に調整した。供給の終了後、発酵をさらに4時間継続させ、発酵槽の温度を18まで低下させることによって発酵を終了した(1:100希釈でOD₅₄₀35-40)。

【0218】

回収

Waukesha Model U-60供給ポンプ(Waukesha Cherry-Burrell, Delevan, WI)に接続された、カタログ番号AS300C5(Pall Filtron)の、3つの30ft²アルファ300-Kオープンチャネルフィルターを備えた、Pall Filtron接線流Maxiset-25(Pall Filtron Corporation, Northboro, MA)を使用して細菌発酵物を濃縮し洗浄した。1250リットルの元々の培養物体積を、30psiのフィルター入口圧及び5~6psiの残余圧力(retentate pressure)を使用して(2.5リットル/分)50リットルまで減少した。いずれの混入している外来性のタンパク質も、例えば分泌毒素及びプロテアーゼを含むことになる細胞外タンパク質も除去するために、トリス緩衝生理食塩水pH8.5を使用して細菌残余物(retentate)を調整して150リットルまで戻し、続いて50リットルに再濃縮した。トリス緩衝生理食塩水の上昇したpHは、全細胞懸濁液の保存中に生じ得る多くのタンパク質分解を防止するのに役立つ。プロテアーゼ阻害剤は、上昇されたpHに代えて、又は加えて使用してよい。200リットルタンク中の底部に装着した磁気駆動のミキサーを使用して、残余物を十分に混合した。残余物を無菌の4リットルのNalgene容器No. 2122中に無菌で分注し(3.5リットル)、保存のために製造中の限界点(breaking point)として-20の冷凍室の中に入れる、又はさらに処理してよい。発酵させた培養物及び最終回収物の30mlの試料を遠心分離することによって、ペレット質量を算出した。簡潔に言うと、予め重さを測定した50mlのNalgene conicalチューブを、JA-21ロータ

ー (Beckman Instruments, Palo Alto CA) を使用して Beckman J2 - 21 遠心分離機中で $39,000 \times g$ で 90 分間遠心分離した。運転終了後、上清を捨て、再度チューブの重さを測定した。ペレット質量を各ステージに関して計測した。発酵工程によって、ウェットペレットの質量約 60 キログラムが得られた。

【0219】

破碎

トリス緩衝生理食塩水 pH 8.5 中の 80 キログラムの細菌細胞スラリーを、900 リットルの TBS pH 8.5 を含有する、上方にミキサー (Eastern, Model TME-1/2, EMI Incorporated, Clinton, CT) を装着した定置蒸気滅菌の 1000 リットルの jacketed プロセスタンク (Lee, Model 259LU) 中に無菌で移送した。200 rpm、18 時間の連続的な混合によりパルクの細菌懸濁液を 4 まで冷却した後、ホモジナイズにより破碎した。簡潔に言うと、細菌懸濁液を含有する 1000 リットルタンクはモデル C-500-B AVESTIN ホモジナイザー (Avestin Inc, Ottawa Canada) に接続していた。第二の 1000 リットルの jacketed プロセスタンク (空) をホモジナイザーに接続し、プロセスタンク中の液体はホモジナイザーを通して空のタンク中に再度移すことができ、クローズドシステムを維持しながらホモジナイズの通過を複数回可能にした。ホモジナイズ中の温度を 4 に維持した。最初の通過の開始時に、ホモジナイザー圧を 30,000 psi まで調整して、ホモジナイザーを通して Waukesha モデル 10DO ポンプ (Waukesha) を介して液体を 70 psi で循環させた (500 ガロン/時)。最初の通過前に、2 つのホモジナイズ前の試料をホモジナイザーから回収し、破碎程度を決定し pH をモニターするためにベースラインを設定した。透過率 (1:100 希釈での 540nm における %T) で破碎程度をモニターし、ホモジナイズしていない試料と比較した。ホモジナイザーの通過数を最終透過パーセントが 1:100 希釈で 78~91% T、好適には 86~91% を示すように標準化した。ホモジナイズ後、タンクをホモジナイザーから取り除き、4 のチラーループ (chiller loop) 上に置き、240 rpm で混合した。

【0220】

タンパク質の回収

図 1 に説明される鉄制御タンパク質を含有する破碎した細菌懸濁液を、T-1 Sharples (Alfa Laval Separations, Warminster, PA) を使用して遠心分離によって回収した。簡潔に言うと、破碎した細菌ホモジネートを含有する 1000 リットルの jacketed プロセスタンクを、遠心力 $60,000 \times g$ 、17 psi で供給速度 250 ml/分によって、12 台の Sharples 中に注いだ。流出液を第二の 1000 リットルの jacketed プロセスタンク中にクローズド無菌ループを介して回収し、クローズドシステムを維持しながら遠心機を介して複数回通過できるようにした。遠心分離中の温度を 4 に維持した。ホモジネートを遠心機を介して 8 回通過させた。タンパク質の約 50% を 2 回目の通過後に回収し、その後ホモジネート液体を元の体積の 1/3 まで濃縮し、その後の 6 回の通過に関しては工程時間を短縮した。ホモジネートタンクを遠心機から無菌で切断し、濃縮用の Waukesha モデル U30 供給ポンプに接続された 25 ft² screen-channel series アルファ 30K Centrasett フィルター (Pall Filtron) を備えた Millipore Pellicon 接線流フィルター アセンブリー (Millipore Corporation, Bedford, MA) に接続した。濃縮後、工程が完了するまで遠心分離を継続した。各通過後にタンパク質を回収した。タンパク質を回収し、再懸濁し、防腐剤として 0.15% の formulin (Sigma) を含有する 50 リットルのトリス緩衝生理食塩水 pH 8.5 中に分注した。

【0221】

ダイアフィルトレーション

タンパク質懸濁液を、いずれの外來性タンパク質 (プロテアーゼ, 毒素, 細胞質及び代謝酵素等) も除去するためにダイアフィルトレーションによって 4 で洗浄した。簡潔に言うと、50 リットルのタンパク質を、Dayton ミキサー、Model 2Z846 (Dayton Electric, Chicago, IL) を装着した底部を備えた、150 リットルの無菌トリ

ス緩衝生理食塩水、pH 8.5を含有する200リットルのプロセスタンク中に、125回転/分で回転しながら無菌で移送した。プロセスタンクを、Waukesha Model U30供給ポンプに接続された25ft² screen-channel series アルファ30K Centrasetteフィルター(Pall Filtron)を備えたMillipore Pellicon 接線流 フィルターアSEMBリー(Millipore Corporation)に無菌で接続した。200リットルのタンパク質溶液を濾過によって目的の体積リットルまで濃縮し、その後150リットルの無菌生理食塩水を添加した。続いて、タンパク質懸濁液を約50リットルまで濃縮した。タンパク質濃縮物を上部に装着したミキサーを備えた50リットルのjacketedプロセスタンク中で保存し4で保存した。

【0222】

10

興味深いことに、破砕手段としてホモジナイズを使用した大規模工程に由来する組成物は、実施例1に記載されるより小さなスケール工程と比較すると、SDS-PAGEによって試験される場合と同様に同一のバンド形成プロファイルを形成した。これらの結果は、AVESTEMホモジナイザーC500-Bを使用してリゾスタフィン細菌溶解剤として取り換えることができることを示す。この発見によって、ブドウ球菌から大量の鉄制御タンパク質を低コストで生成可能である。

【0223】

実施例8

マウスの過剰免疫化及びポリクローナル抗体製剤

鉄制限条件下で成長させた黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)株ATCC19636に由来するタンパク質を接種したマウスワクチンから単離された精製抗体による受動免疫は、相同種及び異種の黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)での攻撃に対して防御的であった。15匹の成体CD1マウスに実施例3に記載の通り、実施例1及び2に記載されるように鉄欠乏条件下で成長させた黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)株ATCC19636に由来するタンパク質組成物をワクチン接種した。7日の間隔をあけて3回、各ワクチン接種において50µgのタンパク質組成物を、マウスに腹腔内にワクチン接種した。3回目の免疫化の7日後、マウスから心穿刺によって完全に採血した。血清をプールし、標準的な硫酸アンモニウム沈殿法を使用して抗体を精製した。0.5倍量の飽和硫酸アンモニウムpH7.2を添加することによって、外来性の血清タンパク質を抗体沈殿より前に最初に除去した。

20

【0224】

30

溶液を4で24時間、100rpmで攪拌した。溶液を3000×gで30分間再度遠心分離した。上清を回収し、最終濃度を55%飽和状態とするために飽和硫酸アンモニウムを十分に添加することによって再度沈殿させた。溶液を100rpm、4で24時間攪拌した。沈殿物を3000×gで30分間遠心分離した。

【0225】

各試料由来の最終ペレットを2mlのPBS、pH7.2中で再懸濁した。続いて、50,000分子量カットオフ透析チューブ(Pierce, Rockford IL)を使用して沈殿した抗体を30時間で1リットルのリン酸緩衝食塩水の交換を用いて3回透析し、硫酸アンモニウムを除去した。最初に交換した2リットルを0.02%のアジ化ナトリウムで保存した。最後の1リットル緩衝液の交換には防腐剤を含めなかった。透析液を回収し再度3000×gで30分間遠心分離し、残存するデブリを除去した。使用前に、抗体溶液を4で48時間以内保存した。注入前に無菌を確認するために、各試料を血液寒天上に蒔いた。

40

【0226】

実施例9

受動免疫及び攻撃

鉄制限中に発現された黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)タンパク質に対して産生された注入抗体の防御効果を評価するために、200µlの注入において精製抗体製剤(グループ1)又は生理生理食塩水(グループ2)のいずれかを15匹のマウスの2つのグループそれぞれに腹腔内に注入した。さらなる15匹のマウスの2つのグループそれぞれに精製抗体

50

製剤（グループ3）又は生理食塩水（グループ4）いずれかを皮下に注入した。60分後、腹腔内に注入した15匹のマウスの2グループに、 1.3×10^8 cfuの黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）株19636で腹腔内攻撃した。同様に、皮下注入した15匹のマウスの2グループに、異種黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）株による攻撃に対する交差防御を試験するために、 1.3×10^8 cfuの黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）株1477で皮下攻撃した。死亡率及び/又は病変サイズを5日間記録し、全マウスの肝臓を屠殺後取り除き、ホモジナイズし、全身性感染症の尺度として存在する黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）の数を測定するためにプレートに蒔いた。カプラン・マイヤー生存曲線（図5及び6）は、鉄制限中に発現された黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）タンパク質をワクチン接種したマウス由来の抗体の注入によって提供される防御効果を示す。ATCC19636攻撃グループに関して注入グループと対照グループとの間に有意な差は存在しないが（ $p=0.076$ 、ログランク検定）、1日目に死亡した抗体注入したグループ内の1匹のマウスの肝臓を血液寒天上で培養し、攻撃生物（黄色ブドウ球菌（*S. aureus*））の非存在及び/又は存在を決定した。当該マウスに由来する培養物は、ブドウ球菌に関して陰性であり、血液寒プレート又は培養物培地上で成長を示さなかった。対照的に、プラセボグループ内で死亡したマウスの肝臓は、ブドウ球菌の存在に関して全て陽性であり、実際にこれらのマウスの肝臓に由来する各血液寒天プレート上で純粋培養物を得た。肝臓のデータは抗体注入したグループ内の死亡したマウスが黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）感染症で死亡した可能性を排除できないが、感染症はプラセボグループ内のように全身性でなく、マウスは他の原因で死亡していたであろう。この抗体注入したマウスの死亡を除外すると、抗体注入及びプラセボ治療間で有意な差異が得られた（ $p = 0.015$ 、ログランク検定）。ATCC19636由来のタンパク質でのワクチン接種及び黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）株1477による攻撃後に生成された抗体をマウスに注入した交差攻撃に関するデータは、防御的傾向もまた示した。攻撃後7～14日に、注入及び非注入グループにおける全マウスは、壊死性皮膚病変を進行し始めた。しかしながら、マウスの肉眼検査は、グループ間において観察可能な病変の形成及び病変の重症度に明白な遅れを明らかに示した。注入したマウスは、より早い病変の進行を示し重症度の高い非注入対照マウスと比較して病変をゆっくりと進行した。注入マウスは、非注入マウスより早く治癒した。これは、攻撃後21～35日に明確である。攻撃後35日におけるマウスの肉眼検査は、非注入マウスは外観が著しく酷く、より大きい癬痕を呈することを示した。実際、非注入マウスにおいて広範囲な癬痕組織及び/又は進行した湾曲した外観によって説明される外観の悪化（disfigurement）を、ほとんど進行させなかった注入マウスと対照的に、これらの多くの非注入マウスは正常な姿勢を保てず、外見上湾曲して見えた。全体的に、これらのデータは、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）の鉄誘発タンパク質に対して産生される抗体の腹腔内の注入が、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）感染症から防御し重症度を制限することができることを示す。

【0227】

実施例10

慢性的に感染した乳牛グループにおける黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）に由来するワクチン組成物の評価

黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）に起因する慢性的に多い体細胞数の病歴を有する商業的な乳牛グループを、実施例1に記載されるようにワクチン組成物の評価のために選択した。本実験的試験のワクチン有効性を判定するための基準は、1) ワクチン接種していない対照と比較した、ワクチン接種グループにおける黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）によって生じる臨床乳腺炎の低下した発症率、2) 対照と比較したワクチン接種グループの体細胞数における改善（すなわち、減少）、及び3) ワクチン接種グループの非ワクチン接種対照に対する、黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）の培養物の陽性単離株の比率の低下、であった。ワクチン接種日（0日目）に血液を採取し、最初の免疫化から3週及び6週間後に再度血液を採取する。試験中、ワクチン接種後の注射部位反応又は全身性反応をモニターした。加えて、バルクのタンクの牛乳試料を培養し、ワクチン接種に培養した黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）のCFUの数が減少しているか

を決定するために定量的に数えた。

【0228】

このグループのうち、慢性的に感染した泌乳している乳牛に由来する3つのブドウ球菌分離株を、実施例1に記載されるように鉄制限条件下及び非鉄制限下で成長させた。3つの分離株は、デザインしたTTX101、TTX102、及びTTX103であった。分離株間でバンド形成プロファイルを比較するために、抽出した試料をSDS-PAGEで試験した。試験した分離株間で同一のバンド形成プロファイルが観察され；各分離株から作製した組成物は、87.73kDa、80.46kDa、65.08kDa、54.53kDa、37.37kDa、35.70kDa、34.91kDa、33.0kDa及び31.83kDaの分子量を有するタンパク質を含んだ。これらのタンパク質は、表7に記載したものと同一の分子量である。さらに、分離株を比較した場合、鉄が制御されていない全条件で発現されたタンパク質：150kDa、132kDa、120kDa、75kDa、58kDa、50kDa、44kDa、43kDa、41kDa、及び40kDaと同一のバンド形成プロファイルが確認された。これらの結果を、以前の観察と一致する。本試験で使用するための組成物を製造するための分離株として、TTX101とデザインした1つの分離株を選択した。

10

【0229】

実施例11

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) (TTX101) のワクチン製剤

分離株TTX101を使用して、実施例1に記載されるように組成物を調製した。組成物は、鉄欠乏条件下で発現された、87.73kDa、80.46kDa、65.08kDa、54.53kDa、37.37kDa、35.70kDa、34.91kDa、33.0kDa、及び31.83kDaの分子量を有するタンパク質、並びに150kDa、132kDa、120kDa、75kDa、58kDa、50kDa、44kDa、43kDa、41kDa、及び40kDaの分子量を有する非金属制御タンパク質を含んだ。アジュバント濃度が22.5%体積/体積である2.0mlの注射可能な体積中の最終用量が800µgの総タンパク質を示すように、IKA Ultra Turrax T-50 ホモジナイズ容器 (IKA, Cincinnati, OH) を使用して商業的アジュバント (EMULSIFOL, MVP Laboratories, Ralston NE) 中に、抽出されたタンパク質懸濁液を乳化することによって実験用ワクチンを調製するために (1ミリリットル当り400µgの総タンパク質)、株TTX101に由来する免疫化組成物を使用した。ワクチンを21日の間隔をあけて2回皮下に投与した。

20

30

【0230】

実施例12

実験デザイン及び集団ワクチン接種

最初のワクチン接種の18日前に、試験に登録した泌乳している乳牛全て (N=80) を黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) に関して、各泌乳の乳牛に由来する個々の牛乳試料を培養することによる、標準化された好気性細菌学的培養方法によって試験した。さらに、標準方法を使用して牛群改良協会 (Dairy Herd Improvement Association) によって体細胞数 (SCC) を数えた。80頭の乳牛中14頭が臨床的に乳腺炎と診断され、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) に関して培養物陽性であった。残りの乳牛 (N=66) は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) に関して陰性と判定された。80頭の乳牛を、ワクチン接種したグループ1 (N=40) 及び非ワクチン接種グループ2 (N=40) とデザインした2つのグループに平等に分けた。ブドウ球菌陽性と臨床的に診断された14頭の乳牛を両方のグループに等しく分配し、各試験グループは臨床的乳腺炎に罹患する7頭の乳牛を含んだ。最初のワクチン接種前のグループ間の平均SCCは、ワクチン接種されていない対照において203, 219であったのに対し、ワクチン接種グループでは240, 443であった (統計的差異無し, $p = 0.7$)。

40

【0231】

最初のサンプリングから18日後、グループ1中の全乳牛に、実施例11に記載される

50

ように2mlのワクチンを右肩上部の皮下に接種した。個々の乳牛由来の体細胞を数えるために、最初のワクチン接種の10日後、DHIAによってこの期間に牛乳試料を採取した。牛乳試料はこの期間に、ブドウ球菌の存在を決定するための細菌学的試験をしなかった。この期間のグループ間のSCCにおける差異は、125, 241(ワクチン接種)に対して196, 297(対照)であった。ワクチン接種グループをワクチン接種されていない対照と比較した差は、体細胞の数の36%の差異であった。このサンプリング期間における対照グループとワクチン接種グループとのSCCの差異は、統計的差異は無かった($p=0.5$)。いずれのサンプリング期間において、グループ間のSCCにおける統計上の差異が欠乏したのは、乳牛個体のSCCに大きなばらつきがあったからである。ワクチン接種した各乳牛の注射部位もまた同期間に試験した。試験したいずれの乳牛も、理学的検査によって注射部位に有害な組織反応を示さなかった。さらに、ワクチン接種に起因する牛乳の生産において測定可能な損失はなかった。

10

【0232】

最初のワクチン接種の21日後、グループ1(ワクチン接種)中の全乳牛に2回目のワクチン接種又は追加免疫を行った。1回目と2回目のワクチン接種の間の期間中、両グループ(ワクチン接種及び対照)中の乳牛において、環境温度の劇的な低下に起因する乳頭損傷が進行し、乳頭の端部に病変の形成が生じ、感染した乳頭が進行しサンプリング中のブドウ球菌の単離を潜在的に増加し、これは3回目のサンプリング期間に観察された。2度目のワクチン接種の23日後、個々の乳牛由来の体細胞数えるために、DHIAによって牛乳試料を取り出した。黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)の存在の確認のために、牛乳試料を細菌学的にもまた試験した。最初のサンプリング期間に陰性と判定された乳牛中のこの期間における黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)の単離比で、劇的な増加が存在した。ワクチン接種されていない対照において、これらの乳牛の42.9%が黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)に対して陽性を示し、対照的にワクチン接種グループは、35.5%の増加しか示さなかった。ワクチン接種されていない対照に対するワクチン接種グループの差は7.4%であった。ワクチン接種したグループにおける黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)の単離比の改善は、ワクチン単独の効果に起因したということは困難である。試料を得る場合に、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)による牛乳の潜在的な汚染を増加し得る乳頭損傷を有した乳牛から、クリーンな牛乳試料を得る困難性を見過ごすことはできない。それにもかかわらず、ワクチン接種グループと対照グループの間で、平均SCCにおいて有意な差が存在した。ワクチン接種したグループの平均SCCは、222, 679であったのに対して、対照グループの体細胞数は404, 278であった。ワクチン接種されていない対照と比較したワクチン接種グループの差異は44.9%であった。これらのグループ間のSCCにおいて確認される差異が、グループ間の黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)の単離比の差異ともまた一致することについて深く考えることは興味深い。しかしながら、個々の動物間のSCCの大きなばらつき及び実験動物の試料数の少なさのため、この差異は統計的差異は無かった($p=0.28$)。

20

30

【0233】

同一期間に、ワクチン組成物によって生じている有害な組織反応に関して、各ワクチン接種した乳牛の注射部位を試験した。試験した乳牛中に、理学的検査によって注射部位に有害な反応を示したものはいなかった。ワクチン組成物は、高い組織適合性を有するように思われ、各ワクチン接種後に牛乳の生産において測定可能な損失は生じなかった。

40

【0234】

黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)の存否のために、SCC及び牛乳試料を測定することによって乳牛のモニターを継続している。各グループの一部の乳牛に、2回目のワクチン接種の42日後に3回目のワクチンを接種した。見られた違いは、ワクチン組成物の使用が体細胞数を減少し黄色ブドウ球菌(*Staphylococcus aureus*)によって生じる感染症を制御することを支持するものであった。さらに、モニタリングには、ワクチン組成物に対する抗体価に基づく血清学検査、健康状態の改善に起因するワクチン接種した乳牛の牛乳の生産における変化、及びワクチン接種していない対照と比較したワクチン接

50

種した動物のSCCの減少を含む。さらに、弱毒性黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) での攻撃後の用量応答に基づくワクチンの防御指数を検討する他の実験も行った。

【0235】

実施例13

異種黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株間のタンパク質の分子量は同様であることが証明されており、マウス攻撃試験において異種の防御が観察されたので、図1の分子量と共通するタンパク質が同様のタンパク質であるかを決定しようと試みた。タンパク質を特徴付けるために選択した技術は、マトリックス支援レーザー脱離/イオン化質量分析 (MALDI-MS) であった。実施例1に記載されるSDS-PAGEを使用して組成物の一部を分離し、タンパク質を可視化するためにゲルをクーマシーブリリアントブルーで染色した。

10

【0236】

材料及び方法

切除及び洗浄。ゲルを10分間水で2度洗浄した。試料中に存在するゲルの量を低減するために、可能な限りタンパク質バンド付近でカットすることによって、目的の各タンパク質バンドを切除した。

【0237】

各ゲルスライスを1×1mmの立方体にカットし、1.5mlのチューブ中においた。ゲル断片を水で15分間洗浄した。洗浄段階で使用した全溶媒量は、ゲルスライス量のほぼ2倍であった。ゲルスライスを次に水/アセトニトリル(1:1)で15分間洗浄した。タンパク質が銀染色されている場合、水/アセトニトリル混合物を除去し、SPEED VACの真空濃縮器/乾燥機 (ThermoSavant, Holbrook, NY) 中でゲル断片を乾燥し、続いて下記のように還元しアルキル化した。ゲル断片がシルバー染色でない場合、水/アセトニトリル混合物を除去し、ゲル断片が白色粘着物となるまでカバーのためにアセトニトリルを添加し、その後アセトニトリルを除去した。ゲル断片を100mMのNH₄HCO₃中で再水和し、5分後、ゲル断片の体積の2倍の体積のアセトニトリルを添加した。これを15分間インキュベートし、液体を取り除き、そしてゲル断片をSPEED VAC中で乾燥した。

20

【0238】

還元及びアルキル化。10mMのDTT及び100mMのNH₄HCO₃中で乾燥ゲル断片を再水和し、45分間56℃でインキュベートした。チューブを室温まで冷却した後、液体を取り除き、同体積の55mMのヨードアセトアミド及び100mMのNH₄HCO₃の混合物を直ちに添加した。これを暗所において30分間室温でインキュベートした。液体を取り除き、ゲル断片が白色粘着物となるまで、カバーのためにアセトニトリルを添加し、その後アセトニトリルを取り除いた。ゲル断片を100mMのNH₄HCO₃中で再水和し、5分後、ゲル断片の体積の2倍の体積のアセトニトリルを添加した。これを15分間インキュベートし、液体を取り除き、ゲル断片をSpeed vac中で乾燥した。ゲルをクーマシーブルーで染色し、クーマシーがまだ残っている場合、100mMのNH₄HCO₃/アセトニトリルでの洗浄を繰り返した。

30

【0239】

ゲル内の分解。ゲル断片をSpeed vac中で完全に乾燥させた。4℃の分解緩衝液(50mMのNH₄HCO₃, 5mM CaCl₂, 12.5ナノグラム per マイクロリットル (ng/μl) トリプシン) 中で、断片を再水和した。十分な緩衝液を、ゲル断片をカバーするために添加し、必要であればさらに添加した。ゲル断片を氷上で45分間インキュベートし、上清を取り除き5~2μlのトリプシン非含有の同一緩衝液で取り換えた。これを37℃でオーバーナイトでエアークューベーター内でインキュベートした。

40

【0240】

ペプチドの抽出。十分な体積の25mMのNH₄HCO₃を、ゲル断片をカバーするために添加し、(典型的には、超音波処理槽内で) 15分間インキュベートした。同一体積のアセトニトリルを添加し、(可能であれば、超音波処理槽内で) 15分間インキュベートし、そして上清を回収した。NH₄HCO₃の代わりに5%のギ酸を使用して、抽出を2度

50

繰り返した。十分な体積の5%ギ酸をゲル断片をカバーするために添加し、(典型的には、超音波処理槽内で)15分間インキュベートした。同一体積のアセトニトリルを添加し、(典型的には、超音波処理槽内で)15分間インキュベートし、上清を回収した。抽出物をプールし、10mMのDTTを最終濃度が1mMのDTTとなるまで添加した。SP E E D V A C 真空濃縮器/乾燥機中で試料を最終体積約5 μ lまで乾燥させた。

【0241】

ペプチドの脱塩。製造者によって提案されるようにZ I P T I Pのピペットチップ(C18, Millipore, Billerica, MA)を使用して試料を脱塩した。簡潔に言うと、再構成溶液(5:95アセトニトリル:H₂O, 0.1%-0.5%トリフルオロ酢酸)中で試料を再構成し、遠心分離し、pHが3未満であることを確認するためにpHをチェックした。10 μ lの溶液1(50:50アセトニトリル:H₂O, 0.1%トリフルオロ酢酸)を吸引し、吸引した一定分量を廃棄することによって、Z I P T I Pを水和した。これに続いて、10 μ lの溶液2(脱イオン化したH₂O中の0.1%トリフルオロ酢酸)を吸引し、吸引した一定分量を廃棄した。10 μ lの試料をゆっくりチップの中に吸引し、これを試料チューブ中に排出し、これを5~6回繰り返すことによって、試料をチップ中にロードした。10マイクロリットルの溶液2をチップ中に吸引し、排出することによって溶液を廃棄し、この工程を洗浄のために5~7回繰り返した。ペプチドを、2.5 μ lの氷冷の溶液3(60:40, アセトニトリル:H₂O, 0.1%トリフルオロ酢酸)を吸引し、排出し、続いて3回再度チップに同一の一定分量を吸引及び排出することによって溶出した。溶液をチップから排出した後、チューブをキャップし、氷上で保存した。

【0242】

質量分析のペプチドマッピング。ペプチドを10 μ l ~ ~ 30 μ lの5%ギ酸中で懸濁し、M A L D I - T O F M S (Bruker Daltonics Inc., Billerica, MA)によって分析した。ペプチド断片の質量スペクトルを製造者の指示通りに測定した。簡潔に言うと、トリプシンによる分解に由来するペプチドを含有する試料をマトリックスのシアノ-4-ヒドロキシケイ皮酸と混合し、標的へ移送し、乾燥させた。乾燥試料を質量分析計に置き、照射し、そして各イオンの飛行時間を検出し、組成物中に存在する各タンパク質のペプチドマスフィンガープリントを決定するために使用した。周知のポリペプチドは、機器を標準化するために使用した。

【0243】

データ分析。M a s c o t s e a r c h e n g i n eのペプチドマスフィンガープリントサーチ方法(Matrix Science Ltd., London, UK, and www.matrixscience.com, see Perkins et al., Electrophoresis 20, 3551-3567 (1999))を使用して、各質量スペクトルにおいて実験上観察されたペプチドの質量を、タンパク質の予測される質量と比較した。サーチパラメータは、以下を含んだ: データベース、M S D B 又はN C B I n r ; 分類、細菌(真正細菌)又はファーミキューテス(グラム陽性菌); サーチのタイプ、ペプチドマスフィンガープリント; 酵素、トリプシン; 固定修飾、カルバミドメチル(C)又は無し; 可変修飾、酸化(M)、カルバミドメチル(C)、組合せ、又は無し; 質量値、モノアイソトピック; タンパク質質量、無制限; ペプチド質量許容度、 ± 150 ppm ~ ± 430 ppm、又は ± 1 Da; ペプチド荷電状態、M r ; 最大欠失切断、0又は1; クエリー数、20。

【0244】

結果

このサーチ結果は、組成物中に存在する各タンパク質のマスフィンガープリントであり、表2、3、4、及び5に示す。

【0245】

実施例14

低鉄条件下で成長させた黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)のマイクロアレイに基づく遺伝子発現分析を使用した鉄制御タンパク質ファミリーの同定

マイクロアレイ分析に関して、個々のストック溶液から作製した化学的限定培地(CDM

) (表10) 中で細菌を培養した。

【0246】

表10：黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) のための化学的限定培地 (CDM)

【0247】

【表10-1】

	[最終]	ストックの組成	1L中への添加量	
塩 (20X)	g/L	g/500ml	50ml	
K ₂ HPO ₄	7	70		10
KH ₂ PO ₄	2	20		
Na ₃ クエン酸塩	1.47	14.7		
(NH ₄) ₂ SO ₄	1	10		
炭水化物 (40X)	g/L	g/500ml	25ml	
グルコース	5	100		
ビタミン (1000X)	mg/L	mg/100ml	1ml	
チアミン	1	100		
ニコチン酸	0.5	50		20
ビオチン	0.005	希釈*		
パントテン酸カルシウム	0.25	25		

【表 10 - 2】

ヌクレオチド (100X)	mg/L	mg/100ml*	10ml
*100ml 2N HCl中に溶解			
アデニン	5	50	
グアニン	5	50	
シトシン	5	50	
ウラシル	5	50	
チミン	10	200	
微量栄養素 (1000X)	μM	mg/100mlストックAB*	1ml
*ストックA及びBを作成し、続いてそれぞれ1mlを98mlのddH2Oへ添加し、最終ストックを作成する			
(A)			10
CaCl ₂	0.5	735	
H ₃ BO ₃	0.5	309	
CoCl ₂	0.05	118	
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	0.005	62	
(B)			
CuSO ₄	0.1	125	
MnSO ₄	0.1	169	
ZnSO ₄	0.05	144	
それぞれ			
MgSO ₄	100		
FeSO ₄ 又はその他	10-50		20
アミノ酸 (200X)	mg/L	g/100ml	5ml
*特に断りのない限りオートクレーブする			
冷蔵			
アスパラギン酸 (0.1M HCl)	90	1.8	
プロリン	80	1.6	
アラニン	60	1.2	
ヒスチジン	20	0.4	
バリン	80	1.6	
アルギニン	50	1.0	
セリン	30	0.6	
メチオニン	3	0.06	30
イソロイシン	30	0.6	
暗冷蔵濾過			
トリプトファン	10	0.2	
チロシン (0.5M NaOH)	50	1.0	
室温			
グルタミン酸	100	2.0	
ロイシン	90	1.8	
フェニルアラニン	40	0.8	
グリシン	50	1.0	
スレオニン	30	0.6	
リジン	50	1.0	40
フレッシュ			
システイン	20	0.4	

【0248】

作製方法。鉄欠乏培地を作製するために、カチオン及び微量栄養素を除いて全ストック溶液を混合し、Mi I I i Q精製水を使用し、カチオンを添加するための十分な空隙容量を残したまま、容量フラスコ中の適当量へ移した。培地 1 L 当り 15 g の C H E L E X 樹脂を添加し、室温で少なくとも 2 時間攪拌する。2 μm のボトル上部フィルターを使用して、溶液を硫酸 (10%) 処理したガラスビンに濾過した。フィルター処理したカチオンスト

ック溶液を添加し、最大2週間、4の暗所において保存した。

【0249】

(ウシ乳腺炎から単離した)黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)株RF122及び(ヒト毒素性ショック症候群から単離した)MSA553を使用した。いずれの分離株も、実験の使用前に第二継代の冷凍室ストックから直接的にトリブチックソイブロス寒天上に画線した。CDMは、ウシ牛乳中のもの(5mM)とほぼ等価の最終クエン酸塩濃度を含有した。鉄を含まないCDMに関して、次の構成成分を混合し(0.998L総量)、15gのCHELEX樹脂(BioRad Laboratories, Hercules, CA)に添加し、続いて室温で1.5時間攪拌した:塩、グルコース、アミノ酸、ビタミン、及びヌクレオチド。続いて、硫酸処理したボトル中で2µmのボトル上部のフィルター(Nalgene Nunc International, Rochester NY)を使用して鉄酸塩非含有の(deferrated)塩基培地を濾過し、その後微量栄養素及び100µMのMgCl₂(両溶液は水を含む酸処理ガラス製品中で調製した)を添加した。使用まで、CDMを4の暗所において保存した。

10

【0250】

単独の細菌コロニーを25mlの酸処理したガラス培養物チューブ中の3mlの鉄欠乏CDM中に播種し、37のインキュベーター中で250rpmでオーバーナイトで振盪した。続いて、1ミリリットルの継代培養物を使用し、翌日2500mlのErlenmeyerフラスコ内の500mlのCDM中に播種した。37で250rpmで振盪しながら培養物をインキュベートした。CDM+50µMのFeSO₄のODが1.0に達する限り(18時間対36時間)、鉄欠乏CDM培養物を約2回取り出した。対数期の中間部(OD=0.600)で、4×100mlの培養物一定分量を500mlのErlenmeyerフラスコ中に分配し、実験用鉄溶液の添加前に10分間インキュベーター中で振盪した。1つのフラスコに、300µlのウシラクトフェリン(50mg/ml, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)を最終濃度150µg/mlとなるように添加した。他のフラスコには、50µlのクエン酸第二鉄(100mM)を添加した。残りの2つの対照フラスコには、追加をしなかった。5、30、60及び120分に、7.5mlの培養物を回収し、-メルカプトエタノール含有の5mlのグアニジンチオシアン酸塩溶液及び0.5%ナトリウムラウリルサルコシンへ添加した。溶液を十分に混合して転写を停止し、8で4,000×gで8分間遠心分離し;上清を捨て、エタノール/ドライアイス槽を使用して250µlのトリゾール(Invitrogen)中で細胞を凍結した、続いてRNAの抽出まで-80で保存した。

20

30

【0251】

RNA抽出のために、細胞ペレットを氷上で解凍し、750µlのトリゾール(Invitrogen, Carlsbad CA)を添加した。細胞をボルテックスによって再懸濁し、スラリーを0.1mmのシリカジルコニウムビーズを含有する2mlのねじ口チューブに移送し、続いて繰り返しの間はアイスインキュベーションしてBeadBeater(Biospec Products, Inc., Bartlesville, OK)中でビート3×2分間を行った。スラリーをさらに室温で20分インキュベートし、遠心分離してビーズ及び細胞構成成分をペレット化した。400µlのクロロホルムを添加しインバージョン(inversion)によって混合し、室温で10分間インキュベートし、8、12,000×gでチューブを8分間遠心分離した。水層を取り除き、RNAを400µlのイソプロパノールで沈殿させ、続いて1mlの70%エタノールで洗浄した。クリアなRNAペレットを短時間風乾し、100µlのリボヌクレアーゼを含まないH₂O中で再懸濁した。標準的なデオキシリボヌクレアーゼキット(Qiagen, Valencia CA)を使用してDNAを分解し、続いてRNeasyカラム(Qiagen)上で製造者の推奨に従って精製した。最終的に、TurboのDNA非含有キット(Ambion, Austin TX)を使用して、製剤からのDNAの除去を確実にした。RNAを分光光度計上で測定し、Agilent Bioanalyzer(Agilent, Palo Alto CA)上で流し、マイクロアレイハイブリダイゼーションのためのcDNAの生成前に質及び量を確認した。

40

【0252】

50

樹立されたプロトコールに従って、マイクロアレイ分析を行った。RF122及びMSA553を含む9個の配列決定された黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) のゲノム由来の翻訳領域 (ORF) を表す384170塩基長のオリゴヌクレオチド (IUmina, San Diego CA) を特徴とするアレイは、BioRobotics Microgrid II Array Spotter (BioRobotics, Cambridge UK) を使用して、Gaps II アミノ生理食塩水コーティングしたスライド (Corning, Acton MA) 上で3通りにスポットされた。スライドを再水和し、UV交差結合しそして乾燥下で保存した。ハイブリダイゼーション前に直ちに、25mlのホルムアミド、12.5mlの20X SSC、12mlのdH20、500 μ lの10% SDS及び0.5gのBSAから構成されるハイブリダイゼーション前緩衝液中で42 $^{\circ}$ Cで1時間スライドをインキュベートした。スライドを2LのMiIQ水でリンスし、遠心分離によって乾燥した。試料を調製するために、8~10 μ g総細菌RNAを20 μ gのランダム六量体 (Random hexamer) で70 $^{\circ}$ Cで10分間インキュベートし、その後Superscript II (Invitrogen) 及びアミノアリルのカップルしたdUTP (Sigma) を使用してアミノアリル取り込みによる逆転写を行った。標識cDNAを中和し、精製し、乾燥しCy3又はCy5蛍光染料 (Amersham Biosciences Corp., Piscataway NJ) で再懸濁し; カップリングを2時間進めた。蛍光で標識したcDNA試料 (各12 μ l) を、Qiagen PCR精製キットを使用して洗浄し、混合し、9.8 μ lのホルムアミド、6.8 μ lの20X SSC、3.4 μ lのサケの精子DNA (10mg/ml, Invitrogen) 及び1 μ lの10% SDSに添加した。試料をサーマルサイクラー中で99.9 $^{\circ}$ Cで2分間インキュベートし、アレイ適用の前に冷却した。続いてプローブをアレイに適用し、ガラスカバースリップでカバーし、42 $^{\circ}$ Cの水槽中でオーバーナイトでインキュベートした。インキュベーションの12~16時間後に、スライドを希釈SSC緩衝液中で十分に洗浄し、Axon 4100B Scanner及びAxon GenePix Software (Axon Instruments, Union City CA) を使用してスキャンした。標準化及びフィルタリングのために、低強度データをGeneSpring (Agilent Technologies, [Silicon Genetics], Palo Alto CA) へエクスポートした。スポットを全体的に標準化し、最小の (>1500) 低強度値に基づいてフィルタリングし、3通りのものを平均した。各実験を2回行い、dye-swapを使用して適合している時点間で単独のスライドにそれぞれ流した。したがって、少なくとも6つのdye-swapされたデータポイントを各遺伝子に関して各時点において生じ、これは少なくとも2つの生物学的複製を表している。EPClust (Jaak Vilo, EBI) 及びSpotFire (SpotFire, Somerville, MA) を使用して、階層的クラスター形成 (Euclidian distance, average linkage, UPGMA) 及びK平均法クラスター形成 (uncentered correlation based measured distance) によって、データをさらに分析した。遺伝子の発現が0とは有意に異なる場合、測定的全時点に渡って1つのクラスモデルを使用して、中央値合わせ (median-centered) のログ比で、マイクロアレイの有意性分析 (SAM, (157)) を行った。ストリンジェントなデルタ値を使用し、これにより偽陽性のパーセンテージは0と推定される。表11はSAM分析によって同様の上方又は下方制御を示しているオペロンの概要を示しており、これは生物学的応答を検出するアレイの能力をサポートしている。

【0253】

表11. 黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) の遺伝子発現のマイクロアレイ分析を使用して特定された、協調した転写応答を有するオペロンクラスター

【0254】

【表 1 1】

オペロンID	機能	応答	協調的に発現された プローブの番号	
			近接の未制御 遺伝子	機能上関連するが 近接しない遺伝子
Sir	カチオン 輸送	低鉄における 上方制御	3	0
Fhu	カチオン 輸送	低鉄における 上方制御	3	1
Opp	オリゴペプチド 輸送	低鉄における 上方制御	9	N/A
Mnt	カチオン 輸送	低鉄における 上方制御	3	1
Pfl (ギ酸アセチル トランスフェラー ゼ)	発酵	ラクトフェリン 存在下における 上方制御	2	4

10

【 0 2 5 5 】

20

タンパク質の標準的なクローニングのために、標準的なポリメラーゼ連鎖反応によって黄色ブドウ球菌 (S. aureus) (株ATCC19636) から抽出したDNAから適当な遺伝子を増幅した。プライマーをStuI及びKpnI制限エンドヌクレアーゼ部位を組み込むようにデザインし、以下に示す。

【 0 2 5 6 】

表 1 2 . クローニングプライマー :

【 0 2 5 7 】

【表 1 2】

遺伝子(プライマー)	プライマー配列	配列番号
Pflb (5' から3' へ)	GCAGGCCTTTAGAAACAAATAAAAAATCATG	507
Pflb (3' から5' へ)	TATGGTACCTTACATACTTTCATGGAATGTACG	508
Opp1A (5' から3' へ)	GCAGGCCTAAAAAAGAAAAACAAGCAATTAA	509
Opp1A (3' から5' へ)	TATGGTACCTTATTTATACTGCATTTTCATTGAA	510
SirA (5' から3' へ)	GCAGGCCTTCATCTGATAGCA AAGATAAGG	511
SirA (3' から5' へ)	TATGGTACCTTATTTTGATTGTTTTTCAATATT	512
SYN2 (5' から3' へ)	GCAGGCCTAAAGAATCATCAACTAAA	513
SYN2 (3' から5' へ)	TATGGTACCCTTTTGTTCTTTTTTTGA	514
FhuD (5' から3' へ)	GCAGGCCTACTGAAGAGAAAAGTAAATGA	515
FhuD (3' から5' へ)	TATGGTACCTTATTTTGCTTTTTCTGCAATTTT	516
SYN1 (5' から3' へ)	GCAGGCCTGGTAGCGACGATAATGGCTCGT	517
SYN1 (3' から5' へ)	TATGGTACCTTATTTTCTATAAAATGCATCTCT	518
MntC (5' から3' へ)	GCAGGCCTAGTGATAAGTCAAATGGCAAATA	519
MntC (3' から5' へ)	TATGGTACCTTATTTTCATGCTTCCGTGTACAG	520
SstD (5' から3' へ)	GCAGGCCTTCAGAAACTAAAGGTTCTAAAGAT	521
SstD (3' から5' へ)	TATGGTACCTTATTTTACAACCTTTTCAAGTT	522
FhuD2 (5' から3' へ)	GCAGGCCTACTAAATCTTATAAAATGGACGAT	523
FhuD2 (3' から5' へ)	TATGGTACCTTATTTTGCAGCTTAATTAAT	524

10

20

【 0 2 5 8 】

鑄型として、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) ATCC 19636 から抽出した DNA を使用した。DNA 増幅産物をゲル電気泳動によって確認し、DNA の増幅したバンドを切除し、精製し、分解しそしてカット pQE30-Xa ベクターの中に連結させ、コンピテントな XL-I 大腸菌中に転換し、そしてアンピシリン耐性に関してスクリーニングした。コロニー PCR を使用して、耐性クローンをプラスミド挿入に関してスクリーニングした。

30

【 0 2 5 9 】

実施例 15

防御タンパク質の候補の免疫活性のスクリーニング

MALDI-TOF 分析 (実施例 13) 及び/又はマイクロアレイ及びゲノム分析 (実施例 14) から特定されるタンパク質の抗体反応を評価するために、2 パートスクリーンを使用して個々に発現されたブドウ球菌タンパク質を評価した。急速な第一スクリーンでは、細胞を含まない大腸菌溶解物を使用して発現された少量の候補タンパク質に結合した抗体を調査するために転写活性 PCR 断片を使用した。第一スクリーン由来のポジティブ候補を確認するために、第二スクリーンは、商業的ベクター (pQE30Xa, Qiagen, Valencia CA) を使用した大腸菌中のタンパク質の、標準的な PCR に基づくクローニング、発現及び精製を使用した。第二スクリーンはまた、ワクチン接種及び実験法のための十分なタンパク質の産生及び精製のための各免疫反応性タンパク質の候補に対応する発現ベクターを含有する大腸菌宿主細胞のマスター種のストックを生成した。

40

【 0 2 6 0 】

50

個々のSIRP抗原を生成するためのハイスループット方法を、金属代謝に關与する黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) タンパク質をコードする一部の候補遺伝子を試験するために使用した。この方法は、プロモーター、ターミネーター及びC末端His₆タグを添加するプライマーでの2段階PCR反応を使用して、転写活性PCR (TAP) 増幅産物を生じる。生じた転写活性増幅産物を、大腸菌細胞溶解物、アミノ酸及び緩衝液から構成される細胞を含まないインビトロ (*in vitro*) での転写/翻訳反応におけるタンパク質産生のための鑄型として使用した。当該2段階PCR反応は、プライマーの第二セットにマッチするリンカー配列もまた含む目的の遺伝子に特異的なプライマーの第一セットが必要であった。PCRの第一段階のための各プライマーセットを、細胞膜中への組み込みを防止する膜プロセシングのシグナル配列を除外するようにデザインし、これらを以下に示す。

【0261】

表13. TAPプライマー:

【0262】

【表13】

遺伝子(プライマー)	プライマー配列	配列番号
Pflb (5' から3' へ)	AGAAGGAGATATACCATGTTAGAAACAAAT	525
Pflb (3' から5' へ)	TTAATGATGATGATGATGATGCATACITTCATG	526
Opp1A(5' から3' へ)	AGAAGGAGATATACCATGAGAAAACCTAACT	527
Opp1A(3' から5' へ)	TTAATGATGATGATGATGATGTTTATACTGCAT	528
SirA (5' から3' へ)	ATAAGGAGATATACCATGAATAAAGTAATT	529
SirA (3' から5' へ)	TTAATGATGATGATGATGATGTTTIGATTGTTT	530
SYN2 (5' から3' へ)	AGAAGGAGGATATACCATGAGAGGTCTAAAACTTTT	531
SYN2 (3' から5' へ)	TTAATGATGATGATGATGATGCCTTTTGTTCITTTTTTGA	532
FhuD (5' から3' へ)	AGAAGGAGGATATACCATGAATAGGAATATCGTTAAA	533
FhuD (3' から5' へ)	TTAATGATGATGATGATGATGTTTTGCTTTTTCTGCAAT	534
SYN1 (5' から3' へ)	AGAAGGAGGATATACCATGAAGAAATCGTTAATGCT	535
SYN1 (3' から5' へ)	TTAATGATGATGATGATGATGTTTTCTATAAATTCATC	536
MntC (5' から3' へ)	AGAAGGAGATATACCAAAAAATTAGTA	537
MntC (3' から5' へ)	TTAATGATGATGATGATGATGTTTCATGCTTCC	538
SstD (5' から3' へ)	AGAAGGAGATATACCATGAAGAAAACAGTC	539
SstD (3' から5' へ)	TTAATGATGATGATGATGATGTTTACAACITTT	540
FhuD2(5' から3' へ)	AGAAGGAGATATACCATGAAAAAACTATTA	541
FhuD2(3' から5' へ)	TTAATGATGATGATGATGATGTTTTGCAGCITTT	542

【0263】

1ユニットHigh Fidelity Taq DNAポリメラーゼ (Invitrogen)、0.2 μMプライマー、2 mM dNTP (各)、2 mM最終Mg⁺⁺、及び60 mMトリスSO₄ (pH8.9) 及び18 mMの硫酸アンモニウムに緩衝した約5 ngの出発DNA鑄型を使用して、標準的な50 μlのPCR反応を実施した。PCRサイクリングプロトコールは、94 °Cでの1分の最初の变性、続いて次の30サイクルを含んだ: 变性/94 °C / 30秒; アニール化/55 °C / 30秒; 伸展/68 °C、90秒。適当な重複部分を有する同一のプライマーを第二段階のPCR反応に利用し、これらは製造者 (Genlantis) から

供給された。生じたDNA PCR生成物を、残存プライマー、塩及びDNA断片を排除するために精製し、同様の条件を使用したプロモーター及びターミネーター配列を添加するためのプライマーの標準的なセットでの第二反応のための鋳型として使用した。続いて、DNA鋳型を精製し、大腸菌細胞を含まないRapid Translation System RTS 100反応ミックス(Roche)に添加し、これは12 μ lの大腸菌溶解物、12 μ lのアミノ酸、10 μ lの反応ミックス、1 μ lの添加メチオニン、5 μ lの再構成緩衝液及び2段階PCR反応由来の10 μ lの精製DNA鋳型を含有した。30での5時間のインキュベーションに続いて、メタノール飽和後に1マイクロリットルの各タンパク質試料(約0.5 μ g/ μ l総タンパク質)をポリピニリデンフッ化物(PVDF)膜に適用した。プロットをオーバーナイトで5%NFDM/TTBSでブロックし、鉄制限タンパク質、増強した(IRPE)1:500希釈した超免疫化マウス血清又は抗His₆抗体(1:500)でインキュベートし、洗浄し、二次ヤギ抗マウスのアルカリフォスファターゼ(AP)複合体(1:3000)でインキュベートし、洗浄し、20分間発色的に展開した(Bio-Rad AP color development kit)。血清反応性ポリペプチドを含有する溶解物を特定した。

10

【0264】

実施例14に記載されるように生成されたクローンを対数期の中間部まで成長させ、1mMのIPTGで誘導し、4時間成長させた。細胞をペレット化し、洗浄し、そして沸騰したSDS-PAGE添加緩衝液中に溶解した。未精製の溶解物をSDS-PAGEによって分離し、クーマシー染色した。分離タンパク質の第二セットをPVDF膜に移送し、IRPEワクチンで超免疫化したマウスの、1%NFDM/TTBS中で1:500に希釈した血清で免疫プロットした。プロットを洗浄し、アルカリフォスファターゼ(AP)結合したヤギの抗マウス二次抗体でインキュベートし、洗浄し、発色基質で展開した。

20

【0265】

実施例16

組換えで生成されたポリペプチド由来の免疫化組成物製剤

ワクチンを製剤するための組換え黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)ポリペプチドを分離するために、実施例14に記載される大腸菌クローンを37(225rpm)で対数期の中間部($OD_{600} = 0.4-0.6$)まで1Lのトリプチックソイブロス中で成長させ、続いて1mMのイソプロピル-D-1-チオガラクトピラノシド(IPTG)で4時間誘導した。培養物をSorvallの遠心分離機(4000 \times g)中で4で10分間ペレット化し、精製手順の実行前に-80で凍結した。続いて、過剰発現された黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)のポリペプチドの溶解性に依りて、2つの異なる方法によって細菌ペレットを処理した。

30

【0266】

可溶性ポリペプチド(例えば、MntC, FhuD, SYN2, SirA,又はSYN1)に関して、細菌ペレットを25mlのBUGBUSTER試薬(Novagen)中で再懸濁し、マイクロチップが取り付けられたBransonのsonifier(65%デュティサイクル, 5出力)を使用して氷上での15分の超音波処理に供した。10分の遠心分離(4000 \times g)によって不溶性材料を取り除いた。可溶性上清を濾過し(0.2 μ m)、製造者によって供される説明書に従って金属親和性クロマトグラフィー(Ni-NTA His-Bind, Novagen)に供した。

40

【0267】

不溶性ポリペプチド(例えば、Pf1B,又はOpp1A)に関して、25mlのBUGBUSTER試薬(Novagen)中で細菌ペレットを再懸濁し、10分間ロッキングプラットフォーム上に置き、続いて遠心分離(15,000 \times gで12分間)に供した。生じたペレットを20mlの希釈BUGBUSTER(PBS中で1:10)を加えた10mlのBUGBUSTER中に再懸濁し、遠心分離(5000 \times gで12分間)に供した。続いてペレットを20mlの希釈BUGBUSTER中で再懸濁し、遠心分離(15,000 \times gで12分間)の最終段階に供した。最終ペレットを10mlの緩衝液A(0.1M NaH₂PO₄, 0.01トリス-HCl, 8M 尿素, pH8.0)中で再懸濁し、室温でロッキングプラットフォーム上で10分間インキュベートした。続いて試料を遠心分離(12,000 \times gで20分間)に供し、生じた上清を製造者の提供する説明

50

書に従って、しかしながら以下の変更を加えて、金属親和性クロマトグラフィー (Ni-NTA His-Bind, Novagen) によって分離した。カラムを荷電後、10 ml の緩衝液 A を使用して樹脂を平衡化した。ポリペプチドの結合後、カラムを 15 ml の緩衝液 B (0.1M NaH₂PO₄, 0.01 トリス-HCl, 8M 尿素, pH6.0) で洗浄し、15 ml の緩衝液 C (0.1M NaH₂PO₄, 0.01 トリス-HCl, 8M 尿素, pH 4.5) を使用して溶出した。

【0268】

単離した組換えポリペプチドを体積 15 ml 中にカラムから溶出し、2 L のリン酸緩衝食塩水 (PBS) での透析のために 20 kDa のカットオフ透析カセット (Pierce) 中に置いた。30 時間の過程に渡る 3 つの緩衝液変化の後、ポリペプチドを取り除き、濾過し (0.2 μm)、そして 20 kDa のカットオフ Centricon 装置 (Millipore) を使用して 2 ~ 3 ml の体積に濃縮した。精製されたポリペプチドの濃度を標準的な BCA 方法 (Pierce) を使用して測定した。

10 μg の各ポリペプチドを混合し、体積を PBS で 100 μl に調整し、免疫化組成物を形成した。

【0269】

実施例 17

マウスのワクチン接種

IV 攻撃 (試験 A)

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重 16 ~ 22 グラムの 50 匹 (N=50) のメスの BALB/C マウスを 3 つのグループ (10 ~ 20 マウス/グループ) に分配した。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育した (ケージ当り、N=5 マウス)。全マウスに餌及び水を自由に供給した。全ワクチンを 50% IFA でアジュバントとして製剤した。次の通り 14 日の間隔をあけて 0.1 ml の適当な組成物を 2 回マウスの皮下にワクチン接種した：

グループ 1 : オボアルブミン (70 μg / 100 μl) をワクチン接種したプラセボ (プラセボ, 20 匹のマウス)。

グループ 2 : 鉄制限下で発現された ATCC 25904 タンパク質 (70 μg / 100 μl) をワクチン接種したもの (SIRP 抽出物, 20 匹のマウス)。

グループ 3 : 組換えポリペプチド MntC (10 μg / 100 μl) をワクチン接種したもの (rMntC, 10 匹のマウス)。

【0270】

IP 攻撃 (試験 B)

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重 16 ~ 22 グラムの 40 匹 (N=40) のメスの BALB/C マウスを、4 グループに等しく分配した (10 匹マウス/グループ)。ポリカーボネートマウスケージ中でマウスを飼育した (ケージ当り、N=5 マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給した。全ワクチンをアジュバントとして 50% IFA で製剤した。次の通り、2 つのワクチン接種 (グループ 1 ~ 3) 又は 3 つのワクチン接種 (グループ 4) を使用して、マウスの皮下に 0.1 ml の適当な組成物を 14 日の間隔をあけてワクチン接種した：

グループ 1 : オボアルブミン (70 μg / 100 μl) (プラセボ) を 2 回ワクチン接種したプラセボ。

グループ 2 : 鉄制限下で発現された ATCC 25904 タンパク質 (70 μg / 100 μl) (SIRP 抽出物) を 2 回ワクチン接種したもの。

グループ 3 : 組換えポリペプチド PflB、Opp1A、SirA、SYN2、FhuD、SYN1、及び MntC (各 10 μg / 100 μl, 総タンパク質 70 μg / 100 μl) を 2 回ワクチン接種したもの (rSIRP7 (2x))。

グループ 4 : 組換えポリペプチド PflB、Opp1A、SirA、SYN2、FhuD、SYN1、及び MntC (各 10 μg / 100 μl, 総タンパク質 70 μg / 100 μl) を 3 回ワクチン接種したもの (rSIRP7 (3x))。

【0271】

I C 攻撃 (試験C)

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重 16 ~ 22 グラムの 30 匹 (N=30) のメスの BALB/C マウスを、3 グループ (10 マウス/グループ) に等しく分配した。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育した (ケージ当り、N=5 マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給した。次の通り、0.1 ml の適当な組成物を 14 日の間隔をあけて 2 回マウスの皮下にワクチン接種した:

グループ 1: オボアルブミン (70 μ g / 100 μ l) (プラセボ) をワクチン接種したプラセボ。

グループ 2: 鉄制限下で発現された ATCC 25904 タンパク質 (70 μ g / 100 μ l) をワクチン接種したもの (SBRP 抽出物)。

グループ 3: 組換えポリペプチド Pf1B、Opp1A、SirA、SYN2、FhuD、SYN1、及び MntC (各 10 μ g / 100 μ l, 総タンパク質 70 μ g / 100 μ l) をワクチン接種したもの (rSIRP7)。

【0272】

実施例 18

攻撃生物の製剤

I V 攻撃 (試験A)

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) 株 ATCC 25904 を攻撃生物として使用した。簡潔に言うと、標準的な TSB (鉄非制限) 中で成長させた凍結グリセロールストック由来の 1 μ l のループを使用して TSB の 20 ml の培養物を播種し、37 °C で 18 時間インキュベートした。2.5 ml のこの培養物を 500 ml のフレッシュな TSB 中に継代培養した。0.4 (吸光度) の光学濃度 (OD_{600}) が達成されるまで (対数期の中間部)、培養物を 250 rpm で回転しながら 37 °C で約 2 時間インキュベートし、続いて細胞を 10,000 \times g、4 °C で 10 分間遠心分離し、細菌をペレット化した。細菌ペレットを遠心分離によって PBS 中で 4 °C で洗浄した。最終ペレットを 20 ml の PBS 中で再懸濁した。最終攻撃用量を一定分量のこの濃縮細菌培養物の PBS への添加によって調製し、4.0 が OD_{600} である溶液を生じ (A)、これは約 6.67×10^8 CFU / ml に相当する。攻撃の直前に、1 ml のこれらの細菌懸濁液を段階希釈し、寒天上に蒔き、マウス用量当りのコロニー形成ユニット (CFU) の数を数えた。

【0273】

I P 攻撃 (試験B)

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) 株 ATCC 25904 を攻撃生物として使用した。簡潔に言うと、標準的な TSB (鉄非制限) で成長させた凍結グリセロールストック由来の細菌の 1 μ l のループを使用し、TSB の 20 ml の培養物を播種し 37 °C で 18 時間インキュベートした。2.5 ml のこの培養物を 500 ml のフレッシュな TSB 中に継代培養した。0.4 (吸光度) の光学濃度 (OD_{600}) が達成されるまで (対数期の中間部)、培養物を 250 rpm で回転しながら 37 °C で約 2 時間インキュベートし、続いて細胞を 10,000 \times g、4 °C で 10 分間遠心分離し、細菌をペレット化した。細菌ペレットを遠心分離によって PBS 中で 4 °C で洗浄した。最終ペレットを 20 ml の PBS 中で再懸濁した。最終攻撃用量を一定分量のこの濃縮細菌培養物の PBS への添加によって調製し、6.0 が OD_{600} である溶液を生じ (A)、これは約 3.33×10^9 CFU / ml に相当する。攻撃の直前に、1 ml のこれらの細菌懸濁液を段階希釈し、寒天上に蒔き、マウス用量当りのコロニー形成ユニット (CFU) の数を数えた。

【0274】

I V 攻撃 (試験C)

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) 株 ATCC 25904 を攻撃生物として使用した。簡潔に言うと、標準的な TSB (鉄非制限) 中で成長させた凍結グリセロールストック由来の細菌の 1 μ l のループを使用し、TSB の 20 ml の培養物を播種し 37 °C で 18 時間インキュベートした。2.5 ml のこの培養物を 500 ml のフレッシュな T

S B中に継代培養した。0.4 (吸光度)の光学濃度 (OD_{600}) が達成されるまで (対数期の中間部)、250 rpmで回転しながら培養物を37 で約2時間インキュベートし、続いて細胞を10,000 × g、4 で10分間遠心分離し、細菌をペレット化した。細菌ペレットを遠心分離によってPBS中で4 で洗浄した。最終ペレットを20 mlのPBS中で再懸濁した。最終攻撃用量を一定分量のこの濃縮細菌培養物をPBSへ添加することによって調製し、4.0が OD_{600} である溶液を生じ(A)、これは約 6.67×10^8 CFU/mlに相当する。攻撃の直前に、1 mlのこれらの細菌懸濁液を階希釈し、寒天上に蒔き、マウス用量当りのコロニー形成ユニット (CFU) の数を数えた。

【0275】

実施例19

10

攻撃

IV攻撃 (試験A)

二回目のワクチン接種の14日後に、全グループ (1~3) 中のマウスの外側尾 (lateral tail) 静脈中に0.3 mlの適当な生物で静脈内攻撃した。マウス当り 2×10^8 CFUの黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株ATCC25904で3つのグループのマウスに同様に攻撃した。攻撃後10日間死亡率を毎日記録した。ATCC25904分離株で攻撃したマウスを比較する場合、80%のプラセボワクチン接種したグループ1のマウスは攻撃の10日以内に死亡した (表14)。これは、株ATCC25904が投与した用量レベルでマウスにおいて高い死亡率を生じたことを証明した。グループ1のマウスとは対照的に、(鉄欠乏条件での成長後に、株ATCC25904から抽出されたタンパク質、SIRP抽出物をワクチン接種した) グループ2のわずか25%のマウスが攻撃後の10日以内に死亡した。これらの結果は、鉄欠乏ATCC25904に由来するタンパク質組成物のワクチン接種によって、株ATCC25904で攻撃したマウスを有意に防御することを説明した ($p=0.0006$, 死亡率に関するログランク検定)。加えて、(組換えMntCポリペプチド, rMntCをワクチン接種した) グループ3のわずか50%のマウスが、攻撃の10日以内に死亡し、これは、組換えタンパク質によってATCC25904株での攻撃に対する防御が提供されたことを示している ($p=0.100$, 死亡率に関するログランク検定)。

20

【0276】

IP攻撃 (試験B)

二回目のワクチン接種の14日後、全グループ (1~4) 中のマウスに、0.5 mlの適当な生物で腹腔内攻撃した。マウスの3つのグループに、マウス当り 1×10^9 CFUの黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株ATCC25904で同様に攻撃した。攻撃後10日間、死亡率を毎日記録した。

30

【0277】

ATCC25904分離株で攻撃したマウスを比較する場合、60%のプラセボワクチン接種したグループ1マウスは、攻撃の10日以内に死亡した (表14)。これは、投与した用量レベルでマウスにおいて株ATCC25904が中等度の死亡率を生じることを証明した。グループ1のマウスと対照的に、(鉄欠乏条件下で成長後に株ATCC25904から抽出されたタンパク質、SIRP抽出物をワクチン接種した) グループ2のわずか30%のマウスが、攻撃後10日以内に死亡した。これらの結果は、株ATCC25904で攻撃した場合に、鉄欠乏のATCC25904に由来するタンパク質組成物をワクチン接種したマウスは、プラセボワクチン接種したマウスの半分の割合で死亡することを説明した ($p=0.143$, 死亡率に関するログランク検定)。7つの組換えタンパク質の組合せをワクチン接種したマウスは、プラセボと比べて高レベルの防御を示した。(組換えポリペプチド, rSIRP7を2回ワクチン接種した) グループ3のわずか20%のマウスが攻撃の10日以内に死亡し、(組換えポリペプチド, rSIRP7を3回ワクチン接種した) グループ4のわずか10%のマウスが、攻撃の10日以内に死亡し、ATCC25904株での攻撃に対して組換えタンパク質の3回のワクチン接種によって有意な防御が提供されることを示している ($p=0.040$, 死亡率に関するログランク検定)。

40

【0278】

50

I V 攻撃 (試験C)

2 回目のワクチン接種の 14 日後、全グループ (1~3) のマウスの外側尾静脈に、0.3 ml の適当な生物で静脈内攻撃した。マウスの 3 グループに、 2×10^8 CFU の黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 株 ATCC 25904 で同様に攻撃した。死亡率を攻撃後 10 日間毎日記録した。

【0279】

ATCC 25904 分離株で攻撃したマウスを比較する場合、プラセボワクチン接種したグループ 1 のマウスの 90% が、攻撃後 10 日以内に死亡した (表14)。これは、株 ATCC 25904 が、投与した用量レベルでマウスにおいて高い死亡率を生じることを証明した。グループ 1 のマウスと対照的に、(鉄欠乏条件での成長後に、株 ATCC 25904 から抽出されたタンパク質、SIRP抽出物をワクチン接種した) グループ 2 のわずか 40% のマウスが、攻撃後 10 日以内に死亡した。これらの結果は、株 ATCC 25904 で攻撃したマウスは、鉄欠乏 ATCC 25904 に由来するタンパク質組成物のワクチン接種によって有意に防御される ($p = 0.0164$, 死亡率に関するログランク検定) ことを説明した。さらに、(組換えポリペプチド, rSIRP7 をワクチン接種した) グループ 3 のわずか 40% のマウスが、攻撃後 10 日以内に死亡し、組換えタンパク質は、ATCC 25904 株での攻撃に対して有意な防御を提供することを示した ($p = 0.0255$, 死亡率に関するログランク検定)。

【0280】

結果を表 14 及び図 161 に示す。

表 14 . 黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) ATCC 分離株 25904 での攻撃後の、ワクチン接種したマウス及びワクチン接種していないマウスの死亡率。

【0281】

【表 14】

グループ	#マウス	#死亡数	死亡率 (%)
IV攻撃 (試験A)			
グループ1 (プラセボ)	20	16/20	80
グループ2 (SIRP抽出物)	10	5/20	25
グループ3 (rMntC)	10	5/10	50
IP攻撃 (試験B)			
グループ1 (プラセボ)	10	6/10	60
グループ2 (SIRP抽出物)	10	3/10	30
グループ3 (rSIRP (2x))	10	2/10	20
グループ4 (rSIRP (3x))	10	1/10	10
IV攻撃 (試験C)			
グループ1 (プラセボ)	10	9/10	90
グループ2 (SIRP抽出物)	10	4/10	40
グループ3 (rMntC)	10	4/10	40

【0282】

実施例 20

組換えで調製したポリペプチドを使用した受動免疫

実施例 16 に記載されるように調製した組換えポリペプチドの組成物をマウスにワクチン接種したことを除いて、実施例 8 に記載されるように、ポリクローナル抗体組成物を調製した。

【0283】

実施例 9 に記載されるように、生じた抗体組成物をマウスを受動免疫化するために使用した。免疫化したマウスを、実施例 9 に記載されるように攻撃した。

【0284】

免疫化したマウスは、ワクチン接種していないマウス及びプラセボワクチン接種したマウスと比較して死亡率の減少を示すであろう。

【0285】

実施例 2 1

組換え生成されたポリペプチドの大規模発酵及び単離

実施例 1 4 の組換え大腸菌のマスター種のストックを、2000 ml の無菌 RM 培地 (1 リットル当り 20g の カザミノ酸, 60g Na_2HPO_4 , 30g KH_2PO_4 , 5g NaCl 10g NH_4Cl 及び 0.1 $\mu\text{g/ml}$ アンピシリン) 中で 37 °C で 8 時間生物を成長させることによって調製することができる。10,000 × g、30 分間の遠心分離によって、細菌を回収することができる。培養物を遠心分離 (10,000 × g) によって 2 回洗浄することができ、20% 無菌グリセロールを含有する 500 ml の無菌 RM 培地中で最終細菌ペレットを再懸濁する。1 ミリリットルの培養物を 2 ml の cryovial に移送し、-85 °C で保存する。

10

【0286】

2 g の カザミノ酸及び 0.5% グルコースを含有することを除いて、上記培地を含有する 100 ml の培養物フラスコに播種するために、cryovial (1 ml) の組換えマスター種のストックを使用することができる (「修飾 RM 培地」)。培養物を 37 °C で 7 時間インキュベートした後、2 リットルの修飾 RM 培地中に播種し、さらに 4 時間 37 °C で成長させる。この培養物を使用し、カザミノ酸の最終濃度が 20 g / リットルとなることを除いて、20 リットルの修飾 RM 培地を充填した 30 リットルの New Brunswick BIOFLOW 4 の卓上発酵槽に播種することができる (「発酵 RM 培地」)。30% NaOH 及び 10% HCl での自動滴定によって pH の発酵培地を 6.9 ~ 7.2 に維持する。発酵培養物を 350 回転 / 分で攪拌し、培養物を 37 °C で 11 リットル / 分で通気する。起泡を 0.4% のシリコン消泡剤 (Antifoam-B, J. T. Baker, NJ) の添加によって自動的に制御する。これらの条件において 4 時間、培養物を連続して成長させた後 ($\text{OD}_{600} = 4.0 - 6.0$)、培養物を、110 リットルの発酵 RM 培地及び 0.2% 消泡剤を充填した 150 リットルの発酵槽 (W. B. Moore, Easton PN) 中に注ぎ込む。発酵のパラメータを次の通りとする: 650 rpm、60% DO 、50 slpm エアー、10 psi 背圧、37 °C、及び NaOH で 7.2 に維持した pH。対数期の後半の成長に達した後 (約 6 時間、 $\text{OD}_{600} = 15.0$)、150 $\mu\text{g/ml}$ の IPTG の添加によって組換えタンパク質を誘発する。発酵をさらに 3 時間成長させ、発酵槽の温度を 18 °C まで低下させることによって発酵を終了する (1:100 希釈で $\text{OD}_{600} = 20 - 25$)。

20

30

【0287】

発酵後、組換えで生成されたポリペプチドを、従来の方法によって回収する。細胞を (例えば、ホモジナイズによって) 破碎し、組換えで生成されたポリペプチドが放出され、これらの一部は可溶性であり他の一部は不溶性である。

【0288】

可溶性ポリペプチドを接線流濾過によって濃縮し、界面活性剤で可溶化し、金属親和性クロマトグラフィーによって回収した。回収した可溶性ポリペプチドを、実施例 1 6 において可溶性ポリペプチドの単離に関して記載されるように単離する。

40

【0289】

不溶性タンパク質を高速遠心分離によって回収する。不溶性ポリペプチドのペレットを回収し、続いて実施例 1 6 において不溶性ポリペプチドの単離に関して記載されるように単離する。

【0290】

実施例 2 2

マウスのワクチン接種

実施例 1 6 に記載されるように、組換えで生成された SirA、SYN2、FhuD、及び MntC ポリペプチドを調製し単離する。

【0291】

50

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重 16 ~ 22 グラムの 30 匹 (N=30) のメスの BALB / C マウスを、3 つのグループに等しく分配する (10 マウス / グループ)。ポリカーボネートマウスケージ中でマウスを飼育する (ケージ当り、N =5 マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給する。マウスに皮下に 0.1 ml の適当な組成物を 14 日の間隔をあけて 2 回次の通りワクチン接種する :

グループ 1 : オボアルブミン (40 μ g / 100 μ l) をワクチン接種したプラセボ。

グループ 2 : 鉄制限下で発現された ATCC 25904 タンパク質をワクチン接種したものの (40 μ g / 100 μ l) 。

グループ 3 : 組換えポリペプチド SirA、SYN2、FhuD、及び MntC (各 10 μ g / 100 μ l, 総タンパク質 40 μ g / 100 μ l) をワクチン接種したものの。

10

【0292】

実施例 19 に記載されるように、マウスに攻撃する。グループ 3 のマウスは、グループ 1 のマウスと比較して死亡率の低下を示す。

【0293】

実施例 23

マウスのワクチン接種

実施例 16 に記載されるように、組換えで生成された Pf1B ポリペプチドを調製し、単離する。

【0294】

20

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重 16 ~ 22 グラムの 30 匹 (N=30) のメスの BALB / C マウスを、3 つのグループ中に等しく分配する (10 マウス / グループ)。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育する (ケージ当り、N =5 マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給する。次の通り、0.1 ml の適当な組成物を 14 日の間隔をあけて 2 回マウスの皮下にワクチン接種する :

グループ 1 : オボアルブミン (10 μ g / 100 μ l) をワクチン接種したプラセボ。

グループ 2 : 鉄制限下で発現された ATCC 25904 タンパク質 (10 μ g / 100 μ l) をワクチン接種したものの。

グループ 3 : 組換えポリペプチド Pf1B (各 10 μ g / 100 μ l) をワクチン接種したものの。

30

【0295】

実施例 19 に記載されるように、マウスに攻撃する。グループ 3 のマウスは、グループ 1 のマウスと比較して、死亡率の低下を示す。

【0296】

実施例 24

マウスのワクチン接種

実施例 16 に記載されるように、組換えで生成された Opp1A ポリペプチドを調製し、単離する。

【0297】

40

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重 16 ~ 22 グラムの 30 匹 (N=30) のメスの BALB / C マウスを、3 つのグループに等しく分配する (10 マウス / グループ)。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育する (ケージ当り、N =5 マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給する。次の通り、マウスの皮下に 0.1 ml の適当な組成物を、14 日の間隔をあけて 2 回ワクチン接種する :

グループ 1 : オボアルブミン (10 μ g / 100 μ l) をワクチン接種したプラセボ。

グループ 2 : 鉄制限下で発現された ATCC 25904 タンパク質 (10 μ g / 100 μ l) をワクチン接種したものの。

グループ 3 : 組換えポリペプチド Opp1A (各 10 μ g / 100 μ l) をワクチン接種したも

50

の。

【0298】

実施例19に記載されるように、マウスに攻撃する。グループ3のマウスは、グループ1のマウスと比較して死亡率の低下を示す。

【0299】

実施例25

マウスのワクチン接種

実施例16に記載されるように、組換えで生成されたSirAポリペプチドを調製し単離する。

【0300】

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重16~22グラムの30匹 (N=30) のメスのBALB/Cマウスを、3つのグループ (10マウス/グループ) に等しく分配する。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育する (ケージ当り、N=5マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給する。次の通り、マウスの皮下に0.1mlの適当な組成物を14日の間隔をあけて2回ワクチン接種する：

グループ1：オボアルブミン (10µg/100µl) ワクチン接種したプラセボ。

グループ2：鉄制限下で発現されたATCC25904タンパク質 (10µg/100µl) をワクチン接種したもの。

グループ3：組換えポリペプチドSirA (各10µg/100µl) をワクチン接種したもの

10

20

【0301】

実施例19に記載されるように、マウスに攻撃する。グループ3のマウスは、グループ1のマウスと比較して死亡率の低下を示す。

【0302】

実施例26

マウスのワクチン接種

実施例16に記載されるように、組換えで生成されたSYN2ポリペプチドを調製し単離する。

【0303】

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重16~22グラムの30匹 (N=30) のメスのBALB/Cマウスを、3つのグループ (10マウス/グループ) に等しく分配する。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育する (ケージ当り、N=5マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給する。次の通り、マウスの皮下に0.1mlの適当な組成物を14日の間隔をあけて2回ワクチン接種する：

グループ1：オボアルブミン (10µg/100µl) をワクチン接種したプラセボ。

グループ2：鉄制限下で発現されたATCC25904タンパク質 (10µg/100µl) をワクチン接種したもの。

グループ3：組換えポリペプチドSYN2 (各10µg/100µl) をワクチン接種したもの

30

40

【0304】

実施例19に記載されるように、マウスに攻撃する。グループ3のマウスは、グループ1のマウスと比較して死亡率の低下を示す。

【0305】

実施例27

マウスのワクチン接種

実施例16に記載されるように、組換えで生成されたFhUDポリペプチドを調製し単離する。

【0306】

50

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重 16 ~ 22 グラムの 30 匹 (N=30) のメスの BALB / C マウスを、3 つのグループ (10 マウス / グループ) に等しく分配する。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育する (ケージ当り、N = 5 マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給する。次の通り、マウスの皮下に 0.1 ml の適当な組成物を 14 日の間隔をあけて 2 回ワクチン接種する：

グループ 1 : オボアルブミン (10 µg / 100 µl) をワクチン接種したプラセボ。

グループ 2 : 鉄制限下で発現された ATCC 25904 タンパク質 (10 µg / 100 µl) をワクチン接種したもの。

グループ 3 : 組換えポリペプチド FhuD (各 10 µg / 100 µl) をワクチン接種したもの。

10

【0307】

実施例 19 に記載されるように、マウスに攻撃する。グループ 3 のマウスは、グループ 1 のマウスと比較して死亡率の低下を示す。

【0308】

実施例 28

マウスのワクチン接種

実施例 16 に記載されるように、組換えで生成された SYN1 ポリペプチドを調製し単離する。

【0309】

20

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重 16 ~ 22 グラムの 30 匹 (N=30) のメスの BALB / C マウスを、3 つのグループ (10 マウス / グループ) に等しく分配する。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育する (ケージ当り、N = 5 マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給する。次の通り、マウスの皮下に 0.1 ml の適当な組成物を 14 日の間隔をあけて 2 回ワクチン接種する：

グループ 1 : オボアルブミン (10 µg / 100 µl) をワクチン接種したプラセボ。

グループ 2 : 鉄制限下で発現された ATCC 25904 タンパク質 (10 µg / 100 µl) をワクチン接種したもの。

グループ 3 : 組換えポリペプチド SYN1 (各 10 µg / 100 µl) をワクチン接種したもの。

30

【0310】

実施例 19 に記載されるように、マウスに攻撃する。グループ 3 のマウスは、グループ 1 のマウスと比較して死亡率の低下を示す。

【0311】

実施例 29

マウスのワクチン接種

実施例 16 に記載されるように、組換えで生成された MntC ポリペプチドを調製し単離する。

【0312】

40

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重 16 ~ 22 グラムの 30 匹 (N=30) のメスの BALB / C マウスを、3 つのグループ (10 マウス / グループ) に等しく分配する。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育する (ケージ当り、N = 5 マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給する。次の通り、マウスの皮下に 0.1 ml の適当な組成物を、14 日の間隔をあけて 2 回ワクチン接種する：

グループ 1 : オボアルブミン (10 µg / 100 µl) をワクチン接種したプラセボ。

グループ 2 : 鉄制限下で発現された ATCC 25904 タンパク質 (10 µg / 100 µl) をワクチン接種したもの。

グループ 3 : 組換えポリペプチド MntC (各 10 µg / 100 µl) をワクチン接種したもの。

50

。

【0313】

実施例19に記載されるように、マウスに攻撃する。グループ3のマウスは、グループ1のマウスと比較して死亡率の低下を示す。

【0314】

実施例30

マウスのワクチン接種

実施例16に記載されるように、組換えで生成されたS s t Dポリペプチドを調製し単離する。

【0315】

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重16~22グラムの30匹 (N=30) のメスのBALB/Cマウスを、3つのグループに等しく分配する (10マウス/グループ)。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育する (ケージ当り、N=5マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給する。次の通り、マウスの皮下に0.1mlの適当な組成物を14日の間隔をあけて2回ワクチン接種する：

グループ1：オボアルブミン (10µg/100µl) をワクチン接種したプラセボ。

グループ2：鉄制限下で発現されたATCC25904タンパク質 (10µg/100µl) をワクチン接種したもの。

グループ3：組換えポリペプチドS s t D (各10µg/100µl) をワクチン接種したもの。

。

【0316】

実施例19に記載されるように、マウスに攻撃する。グループ3のマウスは、グループ1のマウスと比較して死亡率の低下を示す。

【0317】

実施例31

マウスのワクチン接種

実施例16に記載されるように、組換えで生成されたF h u D 2ポリペプチドを調製し単離する。

【0318】

Harlan Breeding Laboratories (Indianapolis, IN) から入手した体重16~22グラムの30匹 (N=30) のメスのBALB/Cマウスを、3つのグループに等しく分配する (10マウス/グループ)。マウスをポリカーボネートマウスケージ中で飼育する (ケージ当り、N=5マウス)。餌及び水を全マウスに自由に供給する。次の通り、マウスの皮下に0.1mlの適当な組成物を14日の間隔をあけて2回ワクチン接種する：

グループ1：オボアルブミン (10µg/100µl) をワクチン接種したプラセボ

グループ2：鉄制限下で発現されたATCC25904タンパク質 (10µg/100µl) をワクチン接種したもの。

グループ3：組換えポリペプチドF h u D 2 (各10µg/100µl) をワクチン接種したもの。

【0319】

実施例19に記載されるように、マウスに攻撃する。グループ3のマウスは、グループ1のマウスと比較して死亡率の低下を示す。

【0320】

実施例32

組換えポリペプチドは、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 感染で生じる血清によって特異的に結合される。

【0321】

実施例4に記載されるように、黄色ブドウ球菌 (S. aureus) を攻撃生物として調製し

10

20

30

40

50

、実施例 5 又は 19 に記載されるようにマウスに攻撃するために使用した。攻撃前のマウス又はプラセボワクチンを受け、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) Newman で攻撃し回復した (回復期) マウスから血清を入手した。攻撃したマウス及び攻撃していないマウスから血液を回収し、遠心分離によって血清を得た。実施例 15 に記載されるように免疫プロット方法を使用して、血清を使用して、個々の組換えで生成されたポリペプチドの反応性を評価した。

【0322】

攻撃前にマウスから回収した血清は、いずれの組換えポリペプチドとも反応しなかった。黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) での攻撃の結果として生成された血清中の抗体は、図 202 に示すように組換えで生成されたポリペプチドと反応した。黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) の感染中に発現されるポリペプチドに対して産生される抗体は、ポリペプチドの組換えで生成された変異体を認識する。したがって、組換えポリペプチドは、例えば、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) での攻撃によって発現される免疫学的ポリペプチドの免疫学的断片に関する免疫学的置換体である。

【0323】

実施例 33

組換えで生成されたポリペプチド及び黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 細胞から直接的に抽出された鉄制御膜ポリペプチドに対する抗体は交差反応する。

【0324】

実施例 16 に記載されるように、組換え鉄制御ポリペプチドは発現され精製される。鉄制御膜ポリペプチドは、実施例 1 に記載されるように、低鉄条件で成長させた黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 細胞から直接的に抽出される。組換えポリペプチドは、実施例 16 に記載されるようにワクチン中に製剤され、実施例 17 に記載されるようにマウスにワクチン接種するために使用される。実施例 2 に記載されるように黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 抽出ポリペプチドをワクチン中に製剤し、実施例 3 に記載されるようにマウスにワクチン接種するために使用する。組換えポリペプチドワクチンのために、単一の組換えポリペプチドをワクチン中に製剤する。実施例 15 に記載されるようにワクチン接種したマウス由来の抗血清を回収し、免疫プロットのために使用する。

【0325】

組換えで生成された鉄制御ポリペプチドをワクチン接種した動物由来の抗血清は、SDS-PAGE による抽出した鉄制御ポリペプチドの分離の後、抽出した鉄制御ポリペプチドとの反応性を評価するためにさらに使用する。組換えポリペプチドをワクチン接種した動物由来の抗血清は、抽出したポリペプチドと組換えで生成したポリペプチドとの間に抗体エピトープが保存される、適当な SDS-PAGE 分離し抽出したポリペプチドに結合するであろう。

【0326】

抽出した鉄制御ポリペプチドをワクチン接種した動物由来の抗血清を、SDS-PAGE による組換え鉄制御ポリペプチドの分離の後に、個々の組換えで生成した鉄制御ポリペプチドとの反応性を評価するためにさらに使用する。抽出したポリペプチドをワクチン接種した動物由来の抗血清は、組換えで生成したポリペプチドと抽出したポリペプチドとの間に抗体エピトープが保存される、適当な SDS-PAGE - 分離した組換えポリペプチドに結合するであろう。

【0327】

実施例 34

組換え黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) タンパク質のウエスタンブロット分析

実施例 16 に記載されるように、組換え黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) タンパク質を調製し、続いてドデシル硫酸ナトリウムの 10% のポリアクリルアミドゲル電気泳動に供し、ウエスタンブロット分析のためにニトロセルロース膜 (BioRad, Hercules, CA) に移送した。個々のプロットを、(ブドウ球菌感染症が報告されていない) 健康なヒトドナー又は回復期 (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*)) のヒトドナー由来の血清と反

10

20

30

40

50

応させた。

【0328】

各組換えのヒスチジンタグが付けられたタンパク質を同定するための対照として、各ロットを抗ヒスチジン抗体 (Rockland Immunochemicals, Inc., Gilbertsville, PA and Qiagen GmbH, Hilden, Germany) で共インキュベートし、2色分析を使用して組換えタンパク質を同定した。全ての一次抗血清を1:1000希釈で使用し、ロッカー上で1時間インキュベートした。非結合抗体を除去するための数回のTBS+0.05%ツイーンでの洗浄後に、続いて膜を800CW色素結合ヒト二次抗体 (Rockland Immunochemicals, Inc., Gilbertsville, PA)、680色素結合マウス二次抗体 (Li-cor Biosciences, Lincoln, NE) 又は800CW色素結合ウサギ二次抗体 (Li-Cor Biosciences) で、製造者に推奨される希釈で、1時間、暗所においてインキュベートした。膜をさらに3~5回、TBS+0.05%ツイーンで、最後の洗浄はTBSのみの中で洗浄した。オデッセイ赤外線イメージングシステム (Li-Cor Biosciences) を使用して、蛍光シグナル (680及び800) を検出した。結果を図203 (健康) 及び図204 (回復期) に示す。

10

【0329】

実施例35

金属制御ポリペプチドの黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) DU5875表面発現

黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株DU5875 (cap-, spa-) を、鉄豊富条件 (TSB+0.3 mM 塩化第二鉄) 又は鉄欠乏条件 (TSB+1mM ジピリジル) で約0.6のOD₆₀₀まで成長させた。

20

【0330】

図205のパネルA~Cにおいて、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株DU5875を鉄欠乏条件で約0.75のOD₆₀₀まで成長させ、凍結した。細菌を解凍し、PBS中で洗浄し、ブロッキング段階としてPBS+1% Pig IgG+1% BSA中で再懸濁した。FhuD、Opp1A又はPflBに対して産生されるマウス抗血清を希釈1:100で使用し、約 2×10^6 細菌を染色した。負の対照として、免疫前のマウス血清を使用した。続いて細菌をブロッキング緩衝液中で洗浄し、AF633結合ヤギ抗マウス二次抗体でインキュベートし、そしてフローサイトメーター上で分析した。免疫化前のマウス血清1:100でインキュベートした細菌を、負の対照として使用した。

30

【0331】

図205のパネルDでは、約2.0のOD₆₀₀まで鉄欠乏条件において黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 株DU5875を成長させ、凍結した。ブロッキング段階として細菌を解凍し、PBS中で洗浄し、PBS+0.2% Pig IgG+1% BSA中で再懸濁した。rSIRP7に対して産生されたマウス抗血清を希釈1:50で使用し、負の対照として使用した免疫前のマウス血清で約 5×10^7 細菌を染色した。続いて細菌をブロッキング緩衝液中で洗浄し、AF633結合ヤギ抗マウス二次抗体でインキュベートし、フローサイトメーター上で分析した。

【0332】

このアッセイの結果は、SIRPタンパク質に対して産生されたマウス抗体が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 細胞に結合することを示す。鉄欠乏条件下で成長させた細胞は、鉄豊富条件下で成長させた細胞より多くの抗体を結合し、これはFhuD、Opp1A、及びPflBが低鉄条件下で高レベルで発現されており、ブドウ球菌属 (*Staphylococcus* sp.) に対する免疫学的活性を誘発することができる抗原であるというさらなる証拠を供している。中央蛍光強度 (MFI) の増加は、免疫前のマウス血清のMFIと比較して、抗SIRP抗体が黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 細胞に結合する場合に蛍光が相対的に増加することを証明する。結果を図205に示す。

40

【0333】

実施例36

ルミネックスアッセイを使用し、組換えSIRP構成成分PflB (配列番号353)、Opp1A (配列番号364)、SirA (配列番号375)、SYN2 (配列番号386)、F

50

h u D (配列番号397)、S Y N 1 (配列番号408)、及びM n t C (配列番号419)の組合せ (rSIRP7) 又はプラセボで免疫化したマウス由来の脾細胞によってサイトカイン発現を評価し、続いてS I R P E 抽出物 (SIRPE) 又はr S I R P 7で再刺激した。数個のサイトカインを再刺激上で上方制御し、そしてS I R P E 及びr S I R P 7再刺激によって誘発されたサイトカインプロファイルは同様であった。r S I R P 7又はS I R P E再刺激への応答における全体的なサイトカインプロファイルは、T h 1 / T h 1 7型免疫応答から期待されるものと似ており、組換えS I R P 構成成分のワクチン接種は、サイトカイン発現に基づいて測定することができる細胞の免疫応答を誘発することを証明する。

【 0 3 3 4 】

方法。マウスに14日あけて2回、50%IFAで製剤した70µgの総タンパク質 (OVA, SIRP抽出物, 又はrSIRP7) をワクチン接種した。C D 4 + T細胞単離キット及びL D カラム (Miltenyi Biotec, Inc., Auburn, CA) を使用して、負の選択によって脾細胞懸濁液からC D 4 +のT細胞を精製した。簡潔に言うと、ビオチン標識した抗体を使用し、C D 4 + T細胞を除いて全細胞を標識し、続いてストレプトアビジン結合磁気ビーズを使用してこれらの細胞を混合物から磁気カラムで除去し、高精製されたC D 4 + T細胞が残存した。

10

【 0 3 3 5 】

C D 3 及びC D 4 発現に基づいて、生じたC D 4 + T細胞が、95%以上純粋であることがわかった。未処理の脾細胞をマイトマイシン - Cで処理し、有糸分裂的に不活性な抗原提示細胞を生成した。5 × 10⁵ C D 4 + T細胞に添加した4 × 10⁵のA P Cに刺激抗原を加え、続いて42時間のインキュベーションを行った。標準的なアッセイパラメータを使用して、ルミネックスによって上清を分析した。図206に結果を示す。

20

【 0 3 3 6 】

実施例37

実施例1に記載される方法を使用して、複数の株 (Newman, Reynolds) 由来の黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 抽出物を調製した。黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 細胞を1000µmの2, 2 - ジリジルを含有する鉄制限培地 (Sigma-Aldrich St. Louis, MO) 又は300µMのF e C 1₃を含有する鉄豊富培地 (Sigma-Aldrich St. Louis, MO) 中で成長させた。

【 0 3 3 7 】

鉄豊富及び鉄欠乏培養物由来の黄色ブドウ球菌 (S. aureus) 膜抽出物内のタンパク質を、I T R A Q 及びL C Q 質量分析を使用して特定し定量化した。鉄欠乏及び鉄豊富な黄色ブドウ球菌 (Staphylococcus aureus) N e w m a n 株に関する膜抽出物のアミン修飾された標識を、I T R A Q - 8 p l e x 試薬 (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA) で、製造者の8 P l e x プロトコールに従って、40.0µgの膜抽出物 (試薬113対115) を使用して実施した。カチオン交換クロマトグラフィーをM C X カラム (Waters Corp., Milford, MA) を使用して適用し、Q S T A R X L 質量分析計 (Applied Biosystems, Inc., Foster City, CA) を使用したE S I モードと連結したU L T I M A T E 3000 N A N O L C システム (Dionex Corp. Bannockburn, IL) を使用してペプチドを分離した。

30

40

【 0 3 3 8 】

鉄豊富培地と比較した、鉄制限培地中で成長させた細胞によって生成された金属制御ポリペプチドの割合を測定した。割合は、タンパク質発現の相対的な測定であり、抽出物中に存在する絶対量のタンパク質を示すデータは提供しない。結果を、表15に示す。

【 0 3 3 9 】

【表 15】

表15.

タンパク質	抽出物中での同定	低鉄における倍増加
MntC	同定された	22
SYN1	同定された	測定されず
FhuD	同定されなかった	測定されず
SYN2	同定された	23
SirA	同定された	36
Opp1A	同定された	測定されず
Pf1B	同定された	測定されず
FhuD2	同定された	6
SstD	同定された	14

10

【0340】

実施例38

好中球による活性酸素種の産生、炎症応答の兆候を測定するために、酸化バーストアッセイを使用することができる。鮮血から好中球を得るために、フレッシュなヒト血液由来の赤血球を1:10希釈の溶解緩衝液(150mM NH₄Cl, 10mM KHCO₃, 1mM ニナトリウム EDTA, pH7.4)の添加によって溶解し、室温で10分間インキュベートし、10分間430 × gで遠心分離する。チューブインバージョンによって上清を取り除き、ペレット化し、PBSで2回洗浄し、続いて5mlのRPMI-ヘペス5%FCS+グルタミン(完全RPMI)中で再懸濁し、そしてISOTON中の1/500希釈の細胞懸濁(10ml ISOTON中に20μlの細胞, Beckman Coulter, Inc., Brea, CA)後にMULTISIZER(Beckman Coulter, Inc., Brea, CA)を使用して数える。

20

【0341】

細菌の調製に関して、黄色ブドウ球菌(*S. aureus*)株LowensteinをTSB培地中に播種し、50mlの培地中で37℃で20時間成長させる。この培養物から、5mlを4000rpm、4℃で10分間ペレット化する。続いてペレットを50mlのPBSで洗浄し、4000rpm、4℃で10分間遠心分離によって再ペレット化する。洗浄段階を繰り返し、細菌ペレットを5mlのPBS中で再懸濁する。細菌を理論密度1.10⁹CFU/mlに調整し、細胞希釈物を寒天上に蒔き、インキュベートし翌日正確に数え上げる。

30

【0342】

血清を非働化(decomplement)するために、血清を全て56℃で30分間インキュベートする。血清及び細胞の混合をポリプロピレン無菌DWプレート中でウェル当り最終体積500μlで実施する。各ウェル中に、(表16に示すように)次の試薬を順に添加し:培養物培地(RPMI-ヘペス, グルタミン, 5%FCS)、適当な濃度の生細菌、適当な希釈の血清、補体、適当な濃度のhPMN、最後に酸化バーストのマーカとしてDHR分子(Life Technologies, Inc., Carlsbad, CA)。プレートを振盪しながら37℃で25分間インキュベートする。氷上で5分間プレートをインキュベートすることによって反応を停止する。

40

【0343】

【表 16】

表16.

試薬	同定	作用濃度	体積/ウェル	最終濃度 (500 μ l 中)
生細菌	TSB, 20h, 37°C 10 ⁹ CFU/ml	1. 25. 10 ⁸ CFU/ml	200 μ l	5. 10 ⁷ CFU/ml
全血白血球	赤血球溶解後の異なる 2つのドナー由来	2. 5. 10 ⁶ 細胞/ml	100 μ l	0. 5. 10 ⁶ 細胞/ml
DHR	Life Technologies, Inc. Cat. No. D632 (10mg/ml)	100 μ g/ml	50 μ l	10 μ g/ml
幼齢ウサギ 補体	室内で産生	1/10	50 μ l	1/100 (1%)
血清	アジュバント単独で 免疫化したマウス 由来の血清	1/10	50 μ l	1/100
	抗全細胞コントロール	1/100	50 μ l	1/1000
	抗黄色ブドウ球菌 (<i>S. aureus</i>) タンパク質	1/10及び 1/100	50 μ l	1/100及び 1/1000

10

20

【0344】

フローサイトメトリー分析のために、ヒトPMNをこれらのサイズ及び粒度に従って最初に同定し、続いて特異的マーカー（CD35, CD16, GRI, 等）、続いて酸化バーストマーカーの表面発現によって確認する。データは、負の対照グループと比較した、酸化バーストを誘発することができる活性化hPMNのパーセントに関して示す（Didier, 2003 ; P loppa, 2008）。

【0345】

実施例39

オプソニン作用アッセイ

オプソニン作用アッセイ（OPA）を展開し、血清の補体依存性オプソニン活性を測定することによって、黄色ブドウ球菌（*Staphylococcus aureus*）に関する血清の機能食作用活性を推定した。OPAの概要を表17に記載する。黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）の2つの株をアッセイにおいて使用する。莢膜又はタンパク質Aを産生しない株DU5875を、アッセイを最も良く制御するために使用する。莢膜及びタンパク質Aを発現する株LST4 Lowensteinを、野生型株としてアッセイ中で使用する。アッセイ中で使用する細菌の数は、エフェクター白血球のソース次第であり、濃度が1 \times 10⁵ cfu/ml ~ 5 \times 10⁷ cfu/mlの範囲である。健康なヒトボランティア又はヒト前骨髄球性白血病株細胞、HL60由来の白血球を食作用エフェクター細胞として使用する。表17が示すように、アッセイ中で使用したエフェクター細胞の数は、細胞のソースに依存する。幼齢ウサギの血清を補体のソースとして使用し、ウサギ血清の機能補体活性を最大にし、一方毒性を最小にするために、血清のロットに応じて1% ~ 10%に希釈する。免疫前又は後のオプソニン活性に関して試験を行う血清を、56 で30分間非働化し、希釈1 : 20 ~ 1 : 2,000, 000でアッセイ中で試験する。食作用を黄色ブドウ球菌（*S. aureus*）の生菌数（cfu）によって測定する。免疫前の血清と比較して、活性化補体との組合せでのcfuの有意な減少を証明する試験血清は、オプソニンだと考えられる。アッセイデータを、不等分散の片側分布を使用したスチューデントt検定によって分析する（Kim 2010; Stranger- Jones 2006; Dryla 2005）。

30

40

【0346】

50

【表17】

表17.

試薬	最終濃度
生細菌	HL-60エフェクター細胞を使用する場合、約 1×10^5 cfu/ml 健康なヒトのWBCを使用する場合、約 5×10^7 cfu/ml
エフェクター細胞	10×10^6 /mlに希釈した、N,N-ジメチルホルムアミドで、分化するように化学的に誘発したHL-60ヒト株細胞 または 1×10^7 /mlに希釈した、健康なボランティア由来のヒト白血球
補体	血清のロットに従って1%~10%に希釈した幼齢ウサギ血清
試験血清	最後の免疫化後に得られ、非働化しかつ1:20~1:2,000,000に連続的に希釈した血清

10

【0347】

実施例40

(生体内 (in vivo) での) 免疫機構実験

他の実施例において、ワクチンタンパク質がマウスへ防御を与える免疫機構を評価する。これらの実験は、次の2つのタイプを含むことができる：(1) ワクチン攻撃実験において、特異的な免疫成分が防御に必要であることを決定するために、遺伝子ノックアウトマウスを使用すること；及び(2) 移送した成分が防御を与えるために十分であることを試験するために、免疫化したドナーマウス由来の免疫細胞を細菌攻撃前に未処理のレシピエント中に移送する養子移植実験。

20

【0348】

遺伝子ノックアウトマウスにおけるワクチン攻撃実験を含む実施例に関して、マウスは商業的ベンダーから購入することができ、複数の十分に特徴付けられた株、例えば、B細胞ノックアウト (μ MT)、T細胞ノックアウト (TCR)、及び種々のサイトカイン、例えばIFN-、IL-1、TNF、IL-17等のノックアウトを含むことができる。実施例3に記載されるようにマウスを免疫化し、続いて実施例5に記載されるように黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) で攻撃することができる。同一の遺伝的背景 (Balb/c) を有する野生型マウスの使用により、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) に対するワクチン介在の防御に対する、ノックアウトの効果を測定するための適当な対照を提供することができる。例えば、細菌攻撃にตอบสนองして、ワクチン接種した対照マウスと比べて、ワクチン接種したB細胞ノックアウトマウスがより急速に死亡する、又はより多くが死亡する場合、B細胞 (又はこの生成物) は黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) に対するワクチン介在の防御に重要であると結論付けることができる。これらのストラテジーは、ワクチン防御への様々な免疫成分の寄与を測定する分野において標準的な実施である (Spellberg, 2008; Lin, 2009)。

30

【0349】

例えば、免疫成分の養子移植を含む場合、養子移植のための組織を生じるために実施例3に記載されるように野生型 Balb/c ドナーマウスを免疫化することができる。これらのマウスは続いて二次免疫化の2~4週間後に安楽死させ、心穿刺によって血液を回収し二次リンパ組織 (リンパ節及び脾臓) を回収する。回収したリンパ節は：腋窩、上腕、腸間膜、鼠径、表層頸部、深部頸部、及び腰部リンパ節を含む。血清を、標準的な方法、例えば遠心分離に基づく血清セパレーターを使用して血液から単離し、続いて静脈内又は腹腔内注射によってレシピエントマウスの別々のセットに移し戻す。レシピエント当り1~3匹のドナーマウスの使用は、血清の移送に関して妥当な割合であり、体積で最大0.5 ml 生じうる。さらに、ドナーのリンパ組織由来のT細胞を、当技術分野で標準的な実行方法である抗体及び磁気ビーズ濃縮技術 (Miltenyi Biotec) を使用して精製すること

40

50

ができる。これらの方法を使用して、95～99%の細胞純度を達成することは典型的であり、特異的な系譜マーカーへの抗体による細胞表面タンパク質の染色及びフローサイトメトリーによって細胞を試験することによって評価される。目的の細胞集団（例えば、CD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、等）を静脈内注射によってレシピエント動物に移し戻す（レシピエント当たり2,000,000～5,000,000個のT細胞）。レシピエントマウスにT細胞（又はT細胞のサブセット）、免疫血清又は両方を投与する。

【0350】

負の対照として、血清及びT細胞単離のためにプラセボ免疫化した動物もまた使用することができ、続いて未処理のレシピエント中に戻す。正の対照として、標準的な防御的ワクチンで免疫化したレシピエントのグループを、細菌攻撃に対する防御的有効性のベースライン評価を提供するために含めることができる。

10

【0351】

レシピエントマウスは様々な移送細胞又は血清を受けるとすぐに、実施例5に記載されるように黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) で攻撃する。死亡割合及び死亡率に基づいて、様々な免疫成分のワクチン防御への相対的な寄与を評価することができる。例えば、ワクチン接種したドナー由来のT細胞を投与したレシピエントが正の対照と同率で攻撃から防御される場合、ワクチン介在の防御にT細胞は十分であると結論付けられる。この実験用ストラテジーはワクチンの免疫学的メカニズムを評価する技術分野で標準的である (Spellberg, 2008; Lin, 2009)。

【0352】

20

実施例41

鉄取り込みアッセイの抑制

SIRP成分に対して産生された抗体が鉄取り込みによって細胞成長を抑制するかを評価するために、抗SIRP抗血清でプレインキュベートした細菌細胞を使用して、鉄取り込み/移送アッセイのブロックを行うことができる。任意の株由来の黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*) 細胞をキレート化した又は鉄リッチな培地中でオーバーナイトで成長させる。細胞を同一培地中で継代培養し、対数期の中間部～後半部まで成長させ、ペレット化しPBS中で抗SIRP抗血清又は対照抗血清で最大1時間インキュベートする。0.45 μMのフィルターを使用した濾過によって細胞を回収し、続いて環境鉄を排除するためにChellex-100処理最少培地中で再懸濁した。簡潔に言うと、細胞を振盪する。一方で、ニトリロ三酢酸で放射標識した⁵⁵FeCl₂（又は他の放射標識した鉄分子）と鉄ソース（例えば、フェリクローム）を混合し、数分間インキュベートする。

30

【0353】

鉄の取り込みを開始するために、10mlの鉄非含有培養物チューブ中で、少量の一定分量（例えば、10 μl）の放射標識した鉄混合物を細胞（1ml体積）に添加した。チューブを周期的にボルテックスし且つ膜フィルター上に濾過した一定分量をサンプリングしてインキュベートし、LiClで洗浄した。乾燥後、膜をシンチレーション液体中でカウントし、鉄の取り込みを定量化した。抗SIRP抗血清でプレインキュベートした細胞は、対照抗血清でプレインキュベートした細胞よりゆっくり鉄を取り込むに違いない (Sebulsky, 2000; Goel, 2001)。

40

【0354】

実施例42

高収率タンパク質精製プロトコール

一部の実施例において、組換えrSIRPを高収率方法を使用して精製した。ポリペプチドのより高い収率及び純度のために、この方法を最適化する。組換え生成されたポリペプチドを含有する細菌ペレットの再懸濁によって、20mM トリスpH9；リゾチーム（100 μg/ml 最終）及びMgCl₂（1mM 最終）で補完した300mM NaCl中で当該方法を実施する。続いて、穏やかなロッキングをしながら試料を4で15分間インキュベートする。15分後、1U/mlのbenzonaseを添加し、試料を1時間室温でインキュベートする。遠心分離（20,000xg, 20分, 4）後に得られた可溶性溶解物を

50

0.45 μm フィルターで濾過し、ニッケル - His 結合樹脂がパックされた平衡化 5 ml の重力カラム (Novagen 69670-4, EMD Chemicals, Inc., Gibbstown, NJ) に添加する。製造者の説明書に従って、N - His₆ - タンパク質の精製を実施する。N - His₆ - タンパク質の精製を、HiLoad 26/60 Superdex 75 prep grade size - exclusion カラム (GE Healthcare Biosciences, Piscataway, NJ) を使用して終了させる。カラムを、BioCAD FPLC (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA) を使用して 20 mM トリス pH 9 ; 300 mM NaCl で平衡化し、15 ml のタンパク質試料を流速 1.5 ml / 分で HiLoad カラム上にロードする。移動相として 20 mM トリス pH 9 ; 300 mM NaCl を使用した流速 1.8 ml / 分でのランタイム 3.5 時間後に、試料を溶出する。

10

【0355】

試料中の全タンパク質の完全な溶解性を確実にするために、15% ドデシル硫酸ナトリウム (SDS)、8 M 尿素、及び 2.5% 3 - ([3 - クロアミドプロピル] ジメチルアンモニウム) - 2 - ヒドロキシ - 1 - プロパンスルホナート (CHAPS) を使用する BCA (Thermo Fisher Scientific, Inc., Rockford, IL) 手順の修飾バージョンを使用してポリペプチドを定量化する。BCA 反応フェーズ中にタンパク質の溶解性を維持するために、アッセイはまた BCA 作用試薬に添加した 5% SDS から成る。商品パンフレットに従って、BCA の読み取り及び分析を実施する。

【0356】

濃度測定分析のために、3.0 μg の最終生成物抗原を純度に関して 10% SDS PAGE を使用して定量化し、クーマシーで染色し、そして ODYSSEY スキャナー (Licor Biosciences, Lincoln, NE) を使用してイメージ化した。染色したゲルをスキャンし、総エリアに対する主要成分の領域を決定した。EndoTrap blue one / endosafe キット (Hyglos GmbH, Regensburg, Germany) を使用して残存内毒素を取り除いた。最終バッチを PBS 保存緩衝液中 1.0 mg / ml ~ 4.0 mg / ml の範囲の濃度で、-70 °C 以下で適当な一定分量で保存した。

20

【0357】

明細書中に記載される全特許、特許出願、及び公報、並びに電子的に利用可能な資料 (例えば、ヌクレオチド配列寄託、例えば、GenBank 及び RefSeq、並びにアミノ酸配列寄託、例えば、SwissProt、PIR、PRF、PDB、並びに、GenBank 及び RefSeq の注釈付翻訳領域からの翻訳等) の全ての開示内容は、参照により組み込まれている。本出願の開示内容と参照により明細書中に組み込まれる任意の文献の開示内容との間に何らかの矛盾が存在する場合、本出願の開示が優先されるべきである。上述の詳細な説明及び実施例は、単に理解の明確化のために供したものであり、これらから不必要に限定解釈してはならない。本発明は、示され且つ記載される正確且つ詳細な説明に限定されず、特許請求の範囲で特許請求する本発明には当業者にとって明らかである変形が含まれる。

30

【0358】

特に記載しない限り、明細書及び特許請求の範囲の中で使用される成分、分子量、及びその他の量を表わす数値はいずれも、用語「約」により、全ての場合において修飾されるものと解すべきである。従って、これとは反対の記載が別途ない限り、明細書及び特許請求の範囲中で説明される数値パラメータは概算値であり、本発明によって得ようとする目的の特性に応じて変化し得る。特許請求の範囲に関する均等論を制限するものではないが、最低限でも、各数値パラメータを解釈する際には、少なくとも報告値の有効桁数を考慮し、従来 of 端数処理の手法 (rounding techniques) を用いるべきである。

40

【0359】

発明の広い範囲を規定する数値範囲及びパラメータは概算値であるが、個々の実施例に記載した数値は、可能な限り正確に報告した。しかしながら、何れの数値も、対応する試験の測定値に見られる標準偏差に応じて、必然的にある範囲を内在することになる。

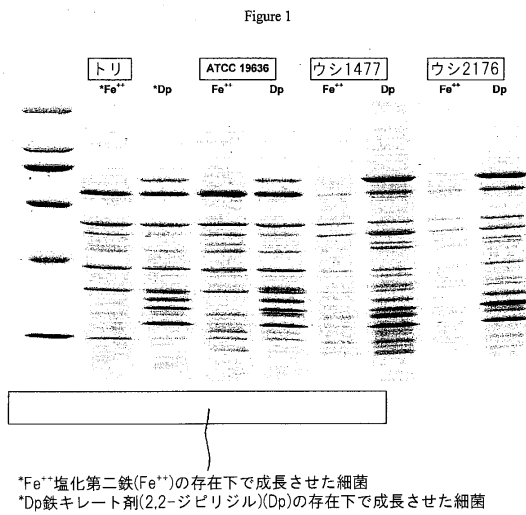
【0360】

見出しは何れも読者の便宜のためのものであり、特に明示した場合を除いて、その見出

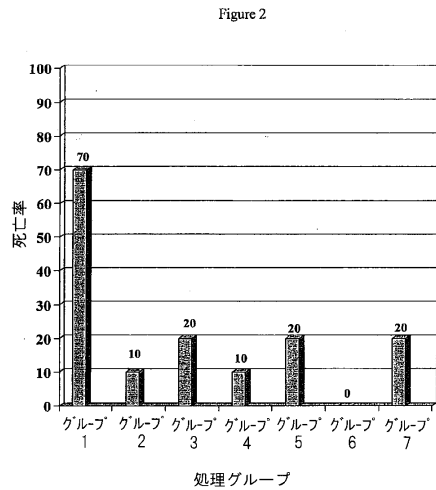
50

しに続く本文の意味を限定するために用いるべきではない。

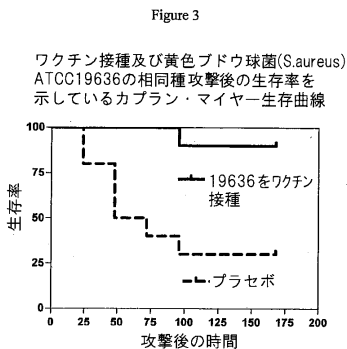
【図1】



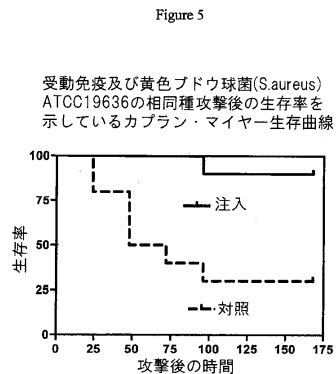
【図2】



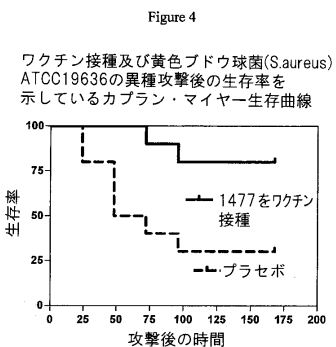
【 図 3 】



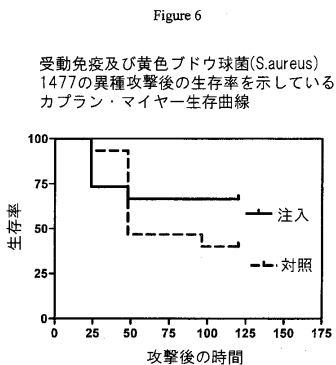
【 図 5 】



【 図 4 】



【 図 6 】



【 図 7 】

Figure 7

LETNKNHATAWQGFKNRWRHVDVREFIQLNYLYEGNDSFLAGPTEATSKL
 WEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPFK
 RSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDEETEKIFTDYRKTHNQGVFDAYSREMLNCR
 KAGVITGLPDA YGRGRIIDYRRVALYGVDFLMEEKMHDFNTMSTEMSEDVIRL
 REELSEQYRALKELKELGQKYGFDSLSPAENFKEAVQWLYLAYLAAIKEQNGAA
 MSLGRTSTYLDIYAERDLKAGVITSEVQEIIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSGD
 PTWVTVSIGGVIDGRPLVTKNSFRFLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
 YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAVTIGKQMQFFGARANIATLL
 YAINGGKDEKSGAQVGNPNFEGINSEVLEYDEVFKFDQMMDWLAGVYINSLNVI
 HYMHDKYSYERJEMALHDTEIVRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEEG
 LVVDFEIEGDFPKYGNNDRDVDDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDESEHTMSVLTIT
 SNVVYVKKTGNTPDGRKAGEFPAGANPMHGRDQKGAJSSSLVAKIPYDCCKD
 GISNTFSIVPKSLGKEPEDQNRNLTSMLDGYAMQCGHHLNINVFNRRETLIDAMEHP
 EEYPQLTIRVSGYAVNFIKLTREQLDVISRTFHESM
 (配列番号353)

【 図 8 】

Figure 8

MLETNKNHATAWQGFKNRWRHVDVREFIQLNYLYEGNDSFLAGPTEATSK
 LWEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPF
 KRSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDEETEKIFTDYRKTHNQGVFDAYSREMLNC
 RKAGVITGLPDA YGRGRIIDYRRVALYGVDFLMEEKMHDFNTMSTEMSEDVIR
 LREELSEQYRALKELKELGQKYGFDSLSPAENFKEAVQWLYLAYLAAIKEQNGA
 AMSLGRTSTYLDIYAERDLKAGVITSEVQEIIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSG
 DPTWVTVSIGGVIDGRPLVTKNSFRFLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
 YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAMTIGKQMQFFGARANLAKT
 LLYAINGGKDEKSGAQVGNPNFEGINSEVLEYDEVFKFDQMMDWLAGVYINSLN
 VIHYMHDKYSYERJEMALHDTEIVRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEE
 GLVVDFEIEGDFPKYGNNDRDVDDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDESEHTMSVLT
 TSNVVYGKKTGNTPDGRKAGEFPAGANPMHGRDQKGAJSSSLVAKIPYDCCKD
 DGISNTFSIVPKSLGKEPEDQNRNLTSMLDGYAMQCGHHLNINVFNRRETLIDAME
 HPEEYPQLTIRVSGYAVNFIKLTREQLDVISRTFHESM
 (配列番号354)

【 図 9 】

Figure 9

MLETNKNHATAWQGFKNRWNHRHVDVREFIQLNYTLYEGNDSFLAGPTEATSK
LWEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPF
KRSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDEETEKIFTDYRKTHTNQGVFDAYSREMLNC
RKAGVITGLPDA YGRGRIIGDYRRVALYGVDFLMEEKMHDFNTMSTEMSEDEVIR
LREELSEQYRALKELKELGQKYGFDLSPAENFKEAVQWLYLAYLAAIKEQNGA
AMSLGRSTFLDIYAERDLKAGVITSEVQEIIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSG
DPTWVTESIGGVGIDGRPLVTKNSRFLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAMTIGKQMQFFGARANLAKT
LLYAINGGKDEKSGAQVGNPFEGINSEVLEYDEVFKFDQMMDWLAGVYINSLN
VIHYMHDKYSYERIEMALHDEIVRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEE
GLVVD FEIEGDFPKYGNNDRVDDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDEHTMSVLT
TSNVVYGKKTGNTPDGRKAGEFPFAGANPMHGRDQK GALSSLSVAKIPYDCCK
DGISNTFSIVPKSLGKEPEDQNRNLTSMLDGYAMQCGHHLNINVFNRRETLIDAME
HPEEYPQLTRVSGYAVNFIKLTREQQLDVISRTFHESM
(配列番号355)

【 図 1 0 】

Figure 10

MLETNKNHATAWQGFKNRWNHRHVDVREFIQLNYTLYEGNDSFLAGPTEATSK
LWEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPF
KRSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDEETEKIFTDYRKTHTNQGVFDAYSREMLNC
RKAGVITGLPDA YGRGRIIGDYRRVALYGVDFLMEEKMHDFNTMSTEMSEDEVIR
LREELSEQYRALKELKELGQKYGFDLSPAENFKEAVQWLYLAYLAAIKEQNGA
AMSLGRSTFLDIYAERDLKAGVITSEVQEIIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSG
DPTWVTESIGGVGIDGRPLVTKNSRFLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAMTIGKQMQFFGARANLAKT
LLYAINGGKDEKSGAQVGNPFEGINSEVLEYDEVFKFDQMMDWLAGVYINSLN
VIHYMHDKYSYERIEMALHDEIVRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEE
GLVVD FEIEGDFPKYGNNDRVDDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDEHTMSVLT
TSNVVYGKKTGNTPDGRKAGEFPFAGANPMHGRDQK GALSSLSVAKIPYDCCK
DGISNTFSIVPKSLGKEPEDQNRNLTSMLDGYAMQCGHHLNINVFNRRETLIDAME
HPEEYPQLTRVSGYAVNFIKLTREQQLDVISRTFHESM
(配列番号356)

【 図 1 1 】

Figure 11

MLETNKNHATAWQGFKNRWNHRHVDVREFIQLNYTLYEGNDSFLAGPTEATSK
LWEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPF
KRSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDEETEKIFTDYRKTHTNQGVFDAYSREMLNC
RKAGVITGLPDA YGRGRIIGDYRRVALYGVDFLMEEKMHDFNTMSTEMSEDEVIR
LREELSEQYRALKELKELGQKYGFDLSPAENFKEAVQWLYLAYLAAIKEQNGA
AMSLGRSTFLDIYAERDLKAGVITSEVQEIIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSG
DPTWVTESIGGVGIDGRPLVTKNSRFLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAMTIGKQMQFFGARANLAKT
LLYAINGGKDEKSGAQVGNPFEGINSEVLEYDEVFKFDQMMDWLAGVYINSLN
VIHYMHDKYSYERIEMALHDEIVRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEE
GLVVD FEIEGDFPKYGNNDRVDDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDEHTMSVLT
TSNVVYGKKTGNTPDGRKAGEFPFAGANPMHGRDQK GALSSLSVAKIPYDCCK
DGISNTFSIVPKSLGKEPEDQNRNLTSMLDGYAMQCGHHLNINVFNRRETLIDAME
HPEEYPQLTRVSGYAVNFIKLTREQQLDVISRTFHESM
(配列番号357)

【 図 1 2 】

Figure 12

MLETNKNHATAWQGFKNRWNHRHVDVREFIQLNYTLYEGNDSFLAGPTEATSK
LWEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPF
KRSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDEETEKIFTDYRKTHTNQGVFDAYSREMLNC
RKAGVITGLPDA YGRGRIIGDYRRVALYGVDFLMEEKMHDFNTMSTEMSEDEVIR
LREELSEQYRALKELKELGQKYGFDLSPAENFKEAVQWLYLAYLAAIKEQNGA
AMSLGRSTFLDIYAERDLKAGVITSEVQEIIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSG
DPTWVTESIGGVGIDGRPLVTKNSRFLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAMTIGKQMQFFGARANLAKT
LLYAINGGKDEKSGAQVGNPFEGINSEVLEYDEVFKFDQMMDWLAGVYINSLN
VIHYMHDKYSYERIEMALHDEIVRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEE
GLVVD FEIEGDFPKYGNNDRVDDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDEHTMSVLT
TSNVVYGKKTGNTPDGRKAGEFPFAGANPMHGRDQK GALSSLSVAKIPYDCCK
DGISNTFSIVPKSLGKEPEDQNRNLTSMLDGYAMQCGHHLNINVFNRRETLIDAME
HPEEYPQLTRVSGYAVNFIKLTREQQLDVISRTFHESM
(配列番号358)

【 図 1 3 】

Figure 13

MLETNKNHATAWQGFKNRWRNRHVDVREFIQLNYTYEGNDSFLAGPTEATSK
LWEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPF
KRSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDEETEKIFTDYRKTHTNQGVFDAYSREMLNC
RKAGVITGLPDAYGRGRIIGDYRRVALYGVDFLMEEKMHDFTNTMSTEMSEDVIR
LREELSEQYRALKELKELGQKYGFDSLSPAENFKEAVQWLYLAYLAAIKEQNGA
AMSLGRSTFLDIYAERDLKAGVITSEVQEIIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSG
DPTWVTEISIGGVGIDGRPLVTKNFRFLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAMTIGKQMOPFGARANLAKT
LLYAINGGKDEKSGAQVGNPFEGINSEVLEYDEVFKFDQMMDWLAGVYINSLN
VIHYMHDKYSYERIEJEMALHDTEIVRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEE
GLVVDFEIEGDFPKYGNNDRVDVDDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDESEHTMSVLT
TSNVVYGKKTGNTPDGRKAGEPFAPGANPMHGRDQKALSSLSVAKIPYDCK
DGISNTFSIVPKSLGKEPEDQNRNLTSMLDGYAMQCGHHLNINVFNRRETLIDAME
HPEEYPQLTIRVSGYAVNFIKLTREQQLDVISRTFHESM
(配列番号359)

【 図 1 4 】

Figure 14

MLETNKNHATAWQGFKNRWRNRHVDVREFIQLNYTYEGNDSFLAGPTEATSK
LWEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPF
KRSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDEETEKIFTDYRKTHTNQGVFDAYSREMLNC
RKAGVITGLPDAYGRGRIIGDYRRVALYGVDFLMEEKMHDFTNTMSTEMSEDVIR
LREELSEQYRALKELKELGQKYGFDSLSPAENFKEAVQWLYLAYLAAIKEQNGA
AMSLGRSTFLDIYAERDLKAGVITSEVQEIIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSG
DPTWVTEISIGGVGIDGRPLVTKNFRFLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAMTIGKQMOPFGARANLAKT
LLYAINGGKDEKSGAQVGNPFEGINSEVLEYDEVFKFDQMMDWLAGVYINSLN
VIHYMHDKYSYERIEJEMALHDTEIVRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEE
GLVVDFEIEGDFPKYGNNDRVDVDDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDESEHTMSVLT
TSNVVYGKKTGNTPDGRKAGEPFAPGANPMHGRDQKALSSLSVAKIPYDCK
DGISNTFSIVPKSLGKEPEDQNRNLTSMLDGYAMQCGHHLNINVFNRRETLIDAME
HPEEYPQLTIRVSGYAVNFIKLTREQQLDVISRTFHESM
(配列番号360)

【 図 1 5 】

Figure 15

MLETNKNHATAWQGFKNRWRNRHVDVREFIQLNYTYEGNDSFLAGPTEATSK
LWEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPF
KRSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDEETEKIFTDYRKTHTNQGVFDAYSREMLNC
RKAGVITGLPDAYGRGRIIGDYRRVALYGVDFLMEEKMHDFTNTMSTEMSEDVIR
LREELSEQYRALKELKELGQKYGFDSLSPAENFKEAVQWLYLAYLAAIKEQNGA
AMSLGRSTFLDIYAERDLKAGVITSEVQEIIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSG
DPTWVTEISIGGVGIDGRPLVTKNFRFLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAMTIGKQMOPFGARANLAKT
LLYAINGGKDEKSGAQVGNPFEGINSEVLEYDEVFKFDQMMDWLAGVYINSLN
VIHYMHDKYSYERIEJEMALHDTEIVRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEE
GLVVDFEIEGDFPKYGNNDRVDVDDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDESEHTMSVLT
TSNVVYGKKTGNTPDGRKAGEPFAPGANPMHGRDQKALSSLSVAKIPYDCK
DGISNTFSIVPKSLGKEPEDQNRNLTSMLDGYAMQCGHHLNINVFNRRETLIDAME
HPEEYPQLTIRVSGYAVNFIKLTREQQLDVISRTFHESM
(配列番号361)

【 図 1 6 】

Figure 16

MLETNKNHATAWQGFKNRWRNRHVDVREFIQLNYTYEGNDSFLAGPTEATSK
LWEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPF
KRSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDEETEKIFTDYRKTHTNQGVFDAYSREMLNC
RKAGVITGLPDAYGRGRIIGDYRRVALYGVDFLMEEKMHDFTNTMSTEMSEDVIR
LREELSEQYRALKELKELGQKYGFDSLSPAENFKEAVQWLYLAYLAAIKEQNGA
AMSLGRSTFLDIYAERDLKAGVITSEVQEIIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSG
DPTWVTEISIGGVGIDGRPLVTKNFRFLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAMTIGKQMOPFGARANLAKT
LLYAINGGKDEKSGAQVGNPFEGINSEVLEYDEVFKFDQMMDWLAGVYINSLN
VIHYMHDKYSYERIEJEMALHDTEIVRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEE
GLVVDFEIEGDFPKYGNNDRVDVDDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDESEHTMSVLT
TSNVVYGKKTGNTPDGRKAGEPFAPGANPMHGRDQKALSSLSVAKIPYDCK
DGISNTFSIVPKSLGKEPEDQNRNLTSMLDGYAMQCGHHLNINVFNRRETLIDAME
HPEEYPQLTIRVSGYAVNFIKLTREQQLDVISRTFHESM
(配列番号362)

【 図 17 】

Figure 17

MLETNKNHATAWQGFKNRWNHRHVDVREFIQLNYTLYEGNDSFLAGPTEATSK
 LWEQVMQLSKEERERGGMWDMDTKVASTITSHDAGYLDKDLLETIVGVQTEKPF
 KRSMQPFGGIRMAKAAACEAYGYELDETEKIFTDYRKTHNQGVFDAYSREMLNC
 RKAGVITGLPDAVYGRGRIIGDYRRVALYGVDFLMBEEKMHDNFMSTEMSESDVIR
 LREELSEYRALKELKELGQKYGDFLSRPAENFKEAVQWYLA YLAIAIKEQNGA
 AMSLGRSTFLDIYAERDLKAGVITSEVQEIDHFIMKLRIVKFARTPDYNELFSG
 DPTVVTESIGVGDGRPLVTKNFRPLHSLDNLGPAPEPNLTVLWSVRLPDNFKT
 YCAKMSIKTSSIQYENDDIMRESYGDDYGIACCVSAMTIGKQMQFFGARANLAKT
 LLYAINGGKDEKSGAQVGNFPEGINSEVLEYDEVFKKFDQMMDWLAGVYINSLN
 VIHYMHDKYSYERIEMLHDTIEVIRTMATGIAGLSVAADSLSAIKYAQVKPIRNEE
 GLVVDFFEIEGDFPKYGNNDRVDIAVDLVERFMTKLRSHKTYRDESEHTMSVLT
 TSNVYVYKKTGNTPDGRKAGFPFAGANPMHGRDQKQALSSLSVAKIPYDCK
 DGISNTFSVPSKLGKEPEDQNRNLSTMLDGYAMQCQHHLNINVNRETLIDAME
 HPEEYPQLTIRVSGYAVNFKLTREQLDVISRTFHESM
 (配列番号363)

【 図 18 】

Figure 18

KKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVYGGSMSAESMIYEPLVRNTKDGIKPLAKK WG
 VSEDGKTYTFHLRDDVKFHDGTFPDADA VKNKIDAVQENKLLHSWLKISTLIDN
 VKVKDKYTVELNLKEAYQPALAELAMPRPYVFPKDFKNGTTKDGVKKFDGT
 GPFKLGHEKKDESADFNKNDQYWGKESKLNK VQAKVMPAGETAFLSMKKGETN
 FAFTDDGGTDSLKDLSLQKLDYQVYKRSQPMNTKMLVNSGKKNDAVSDK
 TVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQEKPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESL
 LDEAGWKKGKSDVRQKDGKLEAMAMYDYKSSSQKEQAEYLQAEFKKMGIK
 LNINGETSDKIAERRTSGDYDLMFNQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGMKVQHQUAL
 RIKIKYTTALMTHLKSQTVKSVQTLIKTFNKLMMKVSLSLHFTVVQLRRKIKKY
 HSHNHSTNYHSMKCSIN
 (配列番号364)

【 図 21 】

Figure 21

MRKLTKMSAMLLASGLILTGCGGNKGLEEKKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVY
 GMSAESMIYEPLVRNTKDGIKPLAKKWDVSEDKTYTFHLRDDVKFHDGTFP
 DADAVKKNIDAVQENKLLHSWLKISTLIDNVKVDKYTVELNLKEAYQPALAEL
 AMPRPYVFPKDFKNGTTKDG VKKFDGTGPFKLGHEKKDESADFNKNDQYWG
 ESKLNK VQAKVMPAGETAFLSMKKGETNFAFTDDRGTDSLKDLSLQKLDGTG
 DYQVRSQPMNTKMLVNSGKKNDAVSDKTVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQE
 KPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESLLEAGWKKGKSDVRQKDGKLN
 EMAMYDYKSSSQKEQAEYLQAEFKKMGIKLNINGETSDKIAERRTSGDYDLMF
 NQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGYESATSGIENKDKIYNSIDDAFKIQNGKERSDA
 YKNILKQIDDEGIFIPISHGSMVTVAPKDLEKVSFTQSQYELPFNEMQYK
 (配列番号367)

【 図 22 】

Figure 22

MRKLTKMSAMLLASGLILTGCGGNKGLEEKKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVY
 GMSAESMIYEPLVRNTKDGIKPLAKKWDVSEDKTYTFHLRDDVKFHDGTFP
 DADAVKKNIDAVQENKLLHSWLKISTLIDNVKVDKYTVELNLKEAYQPALAEL
 AMPRPYVFPKDFKNGTTKDG VKKFDGTGPFKLGHEKKDESADFNKNDQYWG
 ESKLNK VQAKVMPAGETAFLSMKKGETNFAFTDDRGTDSLKDLSLQKLDGTG
 DYQVRSQPMNTKMLVNSGKKNDAVSDKTVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQE
 KPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESLLEAGWKKGKSDVRQKDGKLN
 EMAMYDYKSSSQKEQAEYLQAEFKKMGIKLNINGETSDKIAERRTSGDYDLMF
 NQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGYESATSGIENKDKIYNSIDDAFKIQNGKERSGA
 YKNILKQIDDEGIFIPISHGSMVTVAPKDLEKVSFTQSQYELPFNEMQYK
 (配列番号368)

【 図 19 】

Figure 19

MRKLTKMSAMLLASGLILTGCGGNKGLEEKKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVY
 GMSAESMIYEPLVRNTKDGIKPLAKKWDVSEDKTYTFHLRDDVKFHDGTFP
 DADAVKKNIDAVQENKLLHSWLKISTLIDNVKVDKYTVELNLKEAYQPALAEL
 AMPRPYVFPKDFKNGTTKDG VKKFDGTGPFKLGHEKKDESADFNKNDQYWG
 ESKLNK VQAKVMPAGETAFLSMKKGETNFAFTDDRGTDSLKDLSLQKLDGTG
 DYQVRSQPMNTKMLVNSGKKNDAVSDKTVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQE
 KPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESLLEAGWKKGKSDVRQKDGKLN
 EMAMYDYKSSSQKEQAEYLQAEFKKMGIKLNINGETSDKIAERRTSGDYDLMF
 NQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGYESATSGIENKDKIYNSIDDAFKIQNGKERSDA
 YKNILKQIDDEGIFIPISHGSMVTVAPKDLEKVSFTQSQYELPFNEMQYK
 (配列番号365)

【 図 20 】

Figure 20

MRKLTKMSAMLLASGLILTGCGGNKGLEEKKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVY
 GMSAESMIYEPLVRNTKDGIKPLAKKWDVSEDKTYTFHLRDDVKFHDGTFP
 DADAVKKNIDAVQENKLLHSWLKISTLIDNVKVDKYTVELNLKEAYQPALAEL
 AMPRPYVFPKDFKNGTTKDG VKKFDGTGPFKLGHEKKDESADFNKNDQYWG
 ESKLNK VQAKVMPAGETAFLSMKKGETNFAFTDDRGTDSLKDLSLQKLDGTG
 DYQVRSQPMNTKMLVNSGKKNDAVSDKTVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQE
 KPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESLLEAGWKKGKSDVRQKDGKLN
 EMAMYDYKSSSQKEQAEYLQAEFKKMGIKLNINGETSDKIAERRTSGDYDLMF
 NQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGYESATSGIENKDKIYNSIDDAFKIQNGKERSDA
 YKNILKQIDDEGIFIPISHGSMVTVAPKDLEKVSFTQSQYELPFNEMQYK
 (配列番号366)

【 図 23 】

Figure 23

MRKLTKMSAMLLASGLILTGCGGNKGLEEKKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVY
 GMSAESMIYEPLVRNTKDGIKPLAKKWDVSEDKTYTFHLRDDVKFHDGTFP
 DADAVKKNIDAVQENKLLHSWLKISTLIDNVKVDKYTVELNLKEAYQPALAEL
 AMPRPYVFPKDFKNGTTKDG VKKFDGTGPFKLGHEKKDESADFNKNDQYWG
 ESKLNK VQAKVMPAGETAFLSMKKGETNFAFTDDRGTDSLKDLSLQKLDGTG
 DYQVRSQPMNTKMLVNSGKKNDAVSDKTVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQE
 KPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESLLEAGWKKGKSDVRQKDGKLN
 EMAMYDYKSSSQKEQAEYLQAEFKKMGIKLNINGETSDKIAERRTSGDYDLMF
 NQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGYESATSGIENKDKIYNSIDDAFKIQNGKERSDA
 YKNILKQIDDEGIFIPISHGSMVTVAPKDLEKVSFTQSQYELPFNEMQYK
 (配列番号369)

【 図 24 】

Figure 24

MRKLTKMSAMLLASGLILTGCGGNKGLEEKKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVY
 GMSAESMIYEPLVRNTKDGIKPLAKKWDVSEDKTYTFHLRDDVKFHDGTFP
 DADAVKKNIDAVQENKLLHSWLKISTLIDNVKVDKYTVELNLKEAYQPALAEL
 AMPRPYVFPKDFKNGTTKDG VKKFDGTGPFKLGHEKKDESADFNKNDQYWG
 ESKLNK VQAKVMPAGETAFLSMKKGETNFAFTDDRGTDSLKDLSLQKLDGTG
 DYQVRSQPMNTKMLVNSGKKNDAVSDKTVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQE
 KPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESLLEAGWKKGKSDVRQKDGKLN
 EMAMYDYKSSSQKEQAEYLQAEFKKMGIKLNINGETSDKIAERRTSGDYDLMF
 NQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGYESATSGIENKDKIYNSIDDAFKIQNGKERSDA
 YKNILKQIDDEGIFIPISHGSMVTVAPKDLEKVSFTQSQYELPFNEMQYK
 (配列番号370)

【 図 2 5 】

Figure 25

MRKLTKMSAMLLASGLILTCGGGNKGLEEKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVYG
 GSMSAESMIYEPLVRNTKDGKPLLAKKWDVSEDEGKTYTFHLRDDVKFHDGTFP
 DADAVKKNIDAVQENKLLHSWLKISTLIDNVKVKDKYTVELNLKEAYQPALAE
 AMPRPYVVFVSPKDFKNGTTKDGKVKFDGTGPFKLGHEHKKDESADFNKNDQYWG
 EKSKLNKQAKVMPAGETAFLSMKKGETNFAFTDDRGTDSDLKDSLQKLDGTG
 DYQVKRSQPMNTKMLVVNSGKKNDAVSDKTVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQE
 KPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESLLEAGWKKGKDSVVRQKDGKLN
 EMAMYDDKSSSSQKEAEYLQAEFKKMGIKLNINGETSDKIAERRTSGDYDLMF
 NQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGYESATSGIENKDKIYNSIDDAFKIQNGKERSDA
 YKNILKQIDDEGIFIPISHGSMVTVAPKDEKVSFTQSQYELPFNEMQYK
 (配列番号371)

【 図 2 7 】

Figure 27

MRKLTKMSAMLLASGLILTCGGGNKGLEEKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVYG
 GSMSAESMIYEPLVRNTKDGKPLLAKKWDVSEDEGKTYTFHLRDDVKFHDGTFP
 DADAVKKNIDAVQENKLLHSWLKISTLIDNVKVKDKYTVELNLKEAYQPALAE
 AMPRPYVVFVSPKDFKNGTTKDGKVKFDGTGPFKLGHEHKKDESADFNKNDQYWG
 EKSKLNKQAKVMPAGETAFLSMKKGETNFAFTDDRGTDSDLKDSLQKLDGTG
 DYQVKRSQPMNTKMLVVNSGKKNDAVSDKTVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQE
 KPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESLLEAGWKKGKDSVVRQKDGKLN
 EMAMYDDKSSSSQKEAEYLQAEFKKMGIKLNINGETSDKIAERRTSGDYDLMF
 NQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGYESATSGIENKDKIYNSIDDAFKIQNGKERSDA
 YKNILKQIDDEGIFIPISHGSMVTVAPKDEKVSFTQSQYELPFNEMQYK
 (配列番号373)

【 図 2 6 】

Figure 26

MRKLTKMSAMLLASGLILTCGGGNKGLEEKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVYG
 GSMSAESMIYEPLVRNTKDGKPLLAKKWDVSEDEGKTYTFHLRDDVKFHDGTFP
 DADAVKKNIDAVQENKLLHSWLKISTLIDNVKVKDKYTVELNLKEAYQPALAE
 AMPRPYVVFVSPKDFKNGTTKDGKVKFDGTGPFKLGHEHKKDESADFNKNDQYWG
 EKSKLNKQAKVMPAGETAFLSMKKGETNFAFTDDRGTDSDLKDSLQKLDGTG
 DYQVKRSQPMNTKMLVVNSGKKNDAVSDKTVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQE
 KPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESLLEAGWKKGKDSVVRQKDGKLN
 EMAMYDDKSSSSQKEAEYLQAEFKKMGIKLNINGETSDKIAERRTSGDYDLMF
 NQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGYESATSGIENKDKIYNSIDDAFKIQNGKERSDA
 YKNILKQIDDEGIFIPISHGSMVTVAPKDEKVSFTQSQYELPFNEMQYK
 (配列番号372)

【 図 2 8 】

Figure 28

MRKLTKMSAMLLASGLILTCGGGNKGLEEKENKQLTYTTVKDIGDMNPHVYG
 GSMSAESMIYEPLVRNTKDGKPLLAKKWDVSEDEGKTYTFHLRDDVKFHDGTFP
 DADAVKKNIDAVQENKLLHSWLKISTLIDNVKVKDKYTVELNLKEAYQPALAE
 AMPRPYVVFVSPKDFKNGTTKDGKVKFDGTGPFKLGHEHKKDESADFNKNDQYWG
 EKSKLNKQAKVMPAGETAFLSMKKGETNFAFTDDRGTDSDLKDSLQKLDGTG
 DYQVKRSQPMNTKMLVVNSGKKNDAVSDKTVRQAIGHMVNRDKIAKEILDGQE
 KPATQLFAKNVTDINFDMPTRKYDLKKAESLLEAGWKKGKDSVVRQKDGKLN
 EMAMYDDKSSSSQKEAEYLQAEFKKMGIKLNINGETSDKIAERRTSGDYDLMF
 NQTWGLLYDPQSTIAAFKAKNGYESATSGIENKDKIYNSIDDAFKIQNGKERSGA
 YKNILKQIDDEGIFIPISHGSMVTVAPKDEKVSFTQSQYELPFNEMQYK
 (配列番号374)

【 図 2 9 】

Figure 29

SSDSKDKETTSIKHAMGTTEIKGPKRVVTLVYQGATDVAVSLGVKPVGAVESWT
 QKPKFEYIKNDLKDITKIVGQEPAPNLEISLKPDLIVASKVRNEKVDYDLSKIAPT
 VSTDTVFKFDTTKMGKALGKEKEAEDLLKYYDDKVAAFQKDAKAKYKDAW
 PLKASVFNFRADHTRIVAGGYAGEILNDLGFKRNDLQKQVDNGKDIHQLTSKESI
 PLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKKTESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEI
 TWNLAGGYKSSLLIDDLYEKLNIEKQSK
 (配列番号375)

【 図 3 1 】

Figure 31

MNKVIKMLVVTLAFLVLAGCSGNSNKQSSDNKDKETTSIKHAMGTTEIKGPKR
 RVVTLVYQGATDVAVSLGVKPVGAVESWTQKPKFEYIKNDLKDITKIVGQEPAPNL
 BEISLKPDLIVASKVRNEKVDYDLSKIAPTVDSTDTVFKFDTTKMGKALGKEKE
 AEDLLKYYDDKVAAFQKDAKAKYKDAWPLKASVFNFRADHTRIVAGGYAGEIL
 NDLGFKRNDLQKQVDNGKDIHQLTSKESIPLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKK
 TESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEITWNLAGGYKSSLLIDDLYEKLNIE
 KQSK
 (配列番号377)

【 図 3 0 】

Figure 30

MNKVIKMLVVTLAFLVLAGCSGNSNKQSSDNKDKETTSIKHAMGTTEIKGPKR
 RVVTLVYQGATDVAVSLGVKPVGAVESWTQKPKFEYIKNDLKDITKIVGQEPAPNL
 EEISLKPDLIVASKVRNEKVDYDLSKIAPTVDSTDTVFKFDTTKMGKALGKEKE
 AEDLLKYYDDKVAAFQKDAKAKYKDAWPLKASVFNFRADHTRIVAGGYAGEIL
 NDLGFKRNDLQKQVDNGKDIHQLTSKESIPLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKK
 TESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEITWNLAGGYKSSLLIDDLYEKLNIE
 KQSK
 (配列番号376)

【 図 3 2 】

Figure 32

MNKVIKMLVVTLAFLVLAGCSGNSNKQSSDNKDKETTSIKHAMGTTEIKGPKR
 VVTLVYQGATDVAVSLGVKPVGAVESWTQKPKFEYIKNDLKDITKIVGQEPAPNL
 EISLKPDLIVASKVRNEKVDYDLSKIAPTVDSTDTVFKFDTTKMGKALGKEKE
 AEDLLKYYDDKVAAFQKDAKAKYKDAWPLKASVFNFRADHTRIVAGGYAGEIL
 NDLGFKRNDLQKQVDNGKDIHQLTSKESIPLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKK
 TESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEITWNLAGGYKSSLLIDDLYEKLNIE
 KQSK
 (配列番号378)

【 図 3 3 】

Figure 33

MNKVIKMLVVTLAFLVLVLAGCSGNSNKQSSDNKDKETTSIKHAMGTTEIKGPK
 RVVTL YQGATDVA VSLGVKPVGAVESWTQPKFEYIKNDLKD TKIVGQEPAPNL
 EEISLKPDLIVASKVRNEKVYDQLSKIAPT VSTDTVFKFKDITKLMGKALGKEKE
 AEDLLKKYDDKVA AFQKDAKAKYKDAWPLKASVFNFRADHTRIYAGGYAGEIL
 NDLGFKRNKDLQKQVDNGKDIIQLTSKESIPLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKK
 TESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEITWNLAGGYKSSKLIDDLYEKLNIE
 KQSK
 (配列番号379)

【 図 3 4 】

Figure 34

MNKVIKMLVVTLAFLVLVLAGCSGNSNKQSSDNKDKETTSIKHAMGTTEIKGPK
 RVVTL YQGATDVA VSLGVKPVGAVESWTQPKFEYIKNDLKD TKIVGQEPAPNL
 EEISLKPDLIVASKVRNEKVYDQLSKIAPT VSTDTVFKFKDITKLMGKALGKEKE
 AEDLLKKYDDKVA AFQKDAKAKYKDAWPLKASVFNFRADHTRIYAGGYAGEIL
 NDLGFKRNKDLQKQVDNGKDIIQLTSKESIPLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKK
 TESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEITWNLAGGYKSSKLIDDLYEKLNIE
 KQSK
 (配列番号380)

【 図 3 8 】

Figure 38

MNKVIKMLVVTLAFLVLVLAGCSGNSNKQSSDNKDKETTSIKHAMGTTEIKGPK
 RVVTL YQGATDVA VSLGVKPVGAVESWTQPKFEYIKNDLKD TKIVGQEPAPNL
 EEISLKPDLIVASKVRNEKVYDQLSKIAPT VSTDTVFKFKDITKLMGKALGKEKE
 AEDLLKKYDDKVA AFQKDAKAKYKDAWPLKASVFNFRADHTRIYAGGYAGEIL
 NDLGFKRNKDLQKQVDNGKDIIQLTSKESIPLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKK
 TESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEITWNLAGGYKSSKLIDDLYEKLNIE
 KQSK
 (配列番号384)

【 図 3 9 】

Figure 39

MNKVIKMLVVTLAFLVLVLAGCSGNSNKQSSDNKDKETTSIKHAMGTTEIKGPK
 RVVTL YQGATDVA VSLGVKPVGAVESWTQPKFEYIKNDLKD TKIVGQEPAPNL
 EEISLKPDLIVASKVRNEKVYDQLSKIAPT VSTDTVFKFKDITKLMGKALGKEKE
 AEDLLKKYDDKVA AFQKDAKAKYKDAWPLKASVFNFRADHTRIYAGGYAGEIL
 NDLGFKRNKDLQKQVDNGKDIIQLTSKESIPLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKK
 TESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEITWNLAGGYKSSKLIDDLYEKLNIE
 KQSK
 (配列番号385)

【 図 4 0 】

Figure 40

KESSTKDTISVDENGTVKPKDAKRIVVLEYSFADALAALDVKPVGIADDGKXK
 RIKPVREKIGDYTSVGRKQPNLEISLKPDLIADSSRHKGINKELNKIAPTLSLK
 SFDGDYKQINNSFKTIKALNKEKEGKRLAEHDKLIKIKYKDEIKFDRNQKVLPA
 VVAKAGLHAHPNYSYVQGLNELGFKNALSDDVTKGLSKYLKGPYLQDTEHLA
 DLNPERMIIMTDNAKDSAEFKLQEDPTWKLNNAVKNRVDIVDRDVARSR
 GLISSEEMAKELVELSKKEQK
 (配列番号386)

【 図 3 5 】

Figure 35

MNKVIKMLVVTLAFLVLVLAGCSGNSNKQSSDNKDKETTSIKHAMGTTEIKGPK
 RVVTL YQGATDVA VSLGVKPVGAVESWTQPKFEYIKNDLKD TKIVGQEPAPNL
 EEISLKPDLIVASKVRNEKVYDQLSKIAPT VSTDTVFKFKDITKLMGKALGKEKE
 AEDLLKKYDDKVA AFQKDAKAKYKDAWPLKASVFNFRADHTRIYAGGYAGEIL
 NDLGFKRNKDLQKQVDNGKDIIQLTSKESIPLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKK
 TESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEITWNLAGGYKSSKLIDDLYEKLNIE
 KQSK
 (配列番号381)

【 図 3 6 】

Figure 36

MNKVIKMLVVTLAFLVLVLAGCSGNSNKQSSDNKDKETTSIKHAMGTTEIKGPK
 RVVTL YQGATDVA VSLGVKPVGAVESWTQPKFEYIKNDLKD TKIVGQEPAPNL
 EEISLKPDLIVASKVRNEKVYDQLSKIAPT VSTDTVFKFKDITKLMGKALGKEKE
 AEDLLKKYDDKVA AFQKDAKAKYKDAWPLKASVFNFRADHTRIYAGGYAGEIL
 NDLGFKRNKDLQKQVDNGKDIIQLTSKESIPLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKK
 TESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEITWNLAGGYKSSKLIDDLYEKLNIE
 KQSK (配列番号382)

【 図 3 7 】

Figure 37

MNKVIKMLVVTLAFLVLVLAGCSGNSNKQSSDNKDKETTSIKHAMGTTEIKGPK
 RVVTL YQGATDVA VSLGVKPVGAVESWTQPKFEYIKNDLKD TKIVGQEPAPNL
 EEISLKPDLIVASKVRNEKVYDQLSKIAPT VSTDTVFKFKDITKLMGKALGKEKE
 AEDLLKKYDDKVA AFQKDAKAKYKDAWPLKASVFNFRADHTRIYAGGYAGEIL
 NDLGFKRNKDLQKQVDNGKDIIQLTSKESIPLMNADHIFVVKSDPNAKDAALVKK
 TESEWTSKKEWKNLDAVKNNQVSDDLDEITWNLAGGYKSSKLIDDLYEKLNIE
 KQSK
 (配列番号383)

【 図 4 1 】

Figure 41

MKKLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
 PTYAGGLKLLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTKIGDGDVEKVAKEKPDII
 VYSTDKDIKKYQKVAPT VVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
 ETTAKDGKEIKKAIQDATVSLFDEFKLLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
 EQQLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
 HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
 (配列番号387)

【 図 4 2 】

Figure 42

MKKLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
 PTYAGGLKLLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTKIGDGDVEKVAKEKPDII
 VYSTDKDIKKYQKVAPT VVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
 ETTAKDGKEIKKAIQDATVSLFDEFKLLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
 EQQLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
 HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
 (配列番号388)

【 図 4 3 】

Figure 43

MKKLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
 PTYAGGLKLLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTKIGDGDIEKVAKEKPDII
 VYSTDKDIKKYQKVAPT VVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
 ETTAKDGKEIKKAIQDATVSLFDEFKLLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
 QQLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
 HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
 (配列番号389)

【 図 4 4 】

Figure 44

MKKLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
 PTYAGGLKKGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKJGDGDVEKVAKEKPDII
 VYSTDKDIKYYQKVAPTVVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
 ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
 EQQKLTAKAGWAEVQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
 HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
 (配列番号390)

【 図 4 5 】

Figure 45

MKKLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
 PTYAGGLKKGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKJGDGDVEKVAKEKPDII
 VYSTDKDIKYYQKVAPTVVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
 ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
 EQQKLTAKAGWAEVQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
 HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
 (配列番号391)

【 図 4 6 】

Figure 46

MKKLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
 PTYAGGLKKGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKJGDGDVEKVAKEKPDII
 VYSTDKDIKYYQKVAPTVVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
 ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
 EQQKLTAKAGWAEVQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
 HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
 (配列番号392)

【 図 5 0 】

Figure 50

MKKLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
 PTYAGGLKKGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKJGDGDVEKVAKEKPDII
 VYSTDKDIKYYQKVAPTVVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
 ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
 EQQKLTAKAGWAEVQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
 HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
 (配列番号396)

【 図 5 1 】

Figure 51

TEEKTEMTTIKDELGTEKIKKNPKRVVLEYSFADYLAALDMKPVGIADDGSSKN
 ITKSVRDKIGAYESVGRSQPNMEVISKLPDLIADVSRHKKIKSELSKIAPTIMLV
 SGTGDYNANIEAFKTVAKAVGREKEGEKRLKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFALG
 ISRAGMFINNEDTFMGFLKMGIQPEVTKDKTAHVGERKGGPYIYLNNEELANIN
 PKVMILATDGKTDKNRTPFIDPAVWKS.LKAVKDNKVYDVRNKWLKSRGIIASE
 SMAEDLEKIAEKAK
 (配列番号397)

【 図 5 2 】

Figure 52

MEVISKLPDLIADVNRHKKIKSELSKIAPTIMLVSGTGDYNANIEAFKTVAKAV
 GKEKEGEKRLKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFAGISRAGMFINNEDTFMGQFLJK
 MGIQPEVTKDKTMHVGERKGGPYIYLNNEELANINPKVMILATDGKTDKNRTPKFI
 DPAVWKS.LKAVKDNKVYDVRNKWLKSRGIIASEMAEDLEKIAEKAK
 (配列番号398)

【 図 4 7 】

Figure 47

MKKLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
 PTYAGGLKKGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKJGDGDVEKVAKEKPDII
 VYSTDKDIKYYQKVAPTVVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
 ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
 EQQKLTAKAGWAEVQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
 HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
 (配列番号393)

【 図 4 8 】

Figure 48

MKKLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
 PTYAGGLKKGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKJGDGDVEKVAKEKPDII
 VYSTDKDIKYYQKVAPTVVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
 ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
 EQQKLTAKAGWAEVQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
 HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
 (配列番号394)

【 図 4 9 】

Figure 49

MKKLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
 PTYAGGLKKGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKJGDGDVEKVAKEKPDII
 VYSTDKDIKYYQKVAPTVVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
 ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
 EQQKLTAKAGWAEVQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
 HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
 (配列番号395)

【 図 5 3 】

Figure 53

MNRNIVKLVVFMILVAVAGCGQKDTEBEKTEMTTIKDELGTEKIKKNPKRVV
 LEYSFADYLAALDMKPVGIADDGSTKNITKSVRDKIGAYESVGRSQPNMEVISK
 LKPDIIADVSRHKKIKSELSKIAPTIMLVSGTGDYNANIEAFKTVAKAVGKEKEG
 EKRLEKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFAGISRAGMFINNEDTFMGFLKMGIQPEV
 VTKDKTTHVGERKGGPYIYLNNEELANINPKVMILATDGKTDKNRTPFIDPAVW
 KSLKAVKDNKVYDVRNKWLKSRGIIASEMAEDLEKIAEKAK
 (配列番号399)

【 図 5 4 】

Figure 54

MNRNIVKLVVFMILVAVAGCGQKDTEBEKTEMTTIKDELGTEKIKKNPKRVV
 LEYSFADYLAALDMKPVGIADDGSTKNITKSVRDKIGAYESVGRSQPNMEVISK
 LKPDIIADVSRHKKIKSELSKIAPTIMLVSGTGDYNANIEAFKTVAKAVGKEKEGE
 KRLEKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFAGISRAGMFINNEDTFMGFLKMGIQPEV
 TKDKTAHVGERKGGPYIYLNNEELANINPKVMILATNGKTDKNRTPFIDPAVWKS
 LKAVKDNKVYDVRNKWLQSRGIIASEMAEDLEKIAEKAK
 (配列番号400)

【 図 5 5 】

Figure 55

MNRNIVKLVVFMILVVAVAGCGQKDTEEKTEMTTIKDELGTEKIKKNPKRVV
LEYSFADYLAALDMKPVGIADGSSKNITKSVRDKIGAYESVGSRPQPNMEVISK
KPDLLIADVSRHKKIKSELSKIAPTIMLVSGTGDYNANIEAFKTVAKAVGKEKEGE
KRLEKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFGISRAGMFINNEDTFMGQFLKMGIQPEV
TKDKTTHVGERKGGPYIYLNNEELANINPKVMILATDGKTDKNRTKFDPAVWKS
LKA VKDNKVYDVRNKWLKSRGIIASESMAEDLEKIAEKAK
(配列番号401)

【 図 5 6 】

Figure 56

MNRNIVKLVVFMILVVAVAGCGQKDTEEKTEMTTIKDELGTEKIKKNPKRVV
LEYSFADYLAALDMKPVGIADGSSKNITKSVRDKIGAYESVGSRPQPNMEVISK
LKPDLIADVSRHKKIKSELSKIAPTIMLVSGTGDYNANIEAFKTVAKAVGKEKEG
EKRLKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFGISRAGMFINNEDTFMGQFLKMGIQPE
VTKDKTTHVGERKGGPYIYLNNEELANINPKVMILATDGKTDKNRTKFDPAVW
KSLKAVKDNKVYDVRNKWLKSRGIIASESMAEDLEKIAEKAK
(配列番号402)

【 図 5 7 】

Figure 57

MNRNIVKLVVFMILVVAVAGCGQKDTEEKTEMTTIKDELGTEKIKKNPKRVV
LEYSFADYLAALDMKPVGIADGSSKNITKSVRDKIGAYESVGSRPQPNMEVISK
LKPDLIADVSRHKKIKSELSKIAPTIMLVSGTGDYNANIEAFKTVAKAVGKEKEG
EKRLKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFGISRAGMFINNEDTFMGQFLKMGIQPE
VTKDKTTHVGERKGGPYIYLNNEELANINPKVMILATDGKTDKNRTKFDPAVW
KSLKAVKDNKVYDVRNKWLKSRGIIASESMAEDLEKIAEKAK
(配列番号403)

【 図 6 1 】

Figure 61

MNRNIVKLVVFMILVVAVAGCGQKDTEEKTEMTTIKDELGTEKIKKNPKRVV
LEYSFADYLAALDMKPVGIADGSSKNITKSVRDKIGAYESVGSRPQPNMEVISK
KPDLLIADVSRHKKIKSELSKIAPTIMLVSGTGDYNANIEAFKTVAKAVGKEKEGE
KRLEKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFGISRAGMFINNEDTFMGQFLKMGIQPEV
TKDKTTHVGERKGGPYIYLNNEELANINPKVMILATDGKTDKNRTKFDPAVWKS
LKA VKDNKVYDVRNKWLKSRGIIASESMAEDLEKIAEKAK
(配列番号407)

【 図 6 2 】

Figure 62

GSDDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYELGLGKYIVGVSTVDDYPKDVKKGKQF
DALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATANKVLSSEKQGIKVVYVKDAQSIDETY
NTFKQIGKLTTHDKQAEQVVEETKDNIDVIDSIPAHHKSSKVFIEVSSKPEIYTAG
KHITFFNDMLEKLEAQNVSIDINGWNPVTKESIHKNDILISTEAKTRSDYMDIHK
RGGFNKINAVKNTRIEVNGDEVSRPGRIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号408)

【 図 6 3 】

Figure 63

MKKSIIAFILIFMLVLSGCGMKDNDKQGSDDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYEL
GLGKYIVGVSTVDDYPKDVKKGKQFDALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATA
NKVLSSEKQGIKVVYVKDAQSIDETYNTFKQIGKLTTHDKQAEQVVEETKDNID
VIDSIPAHHKSSKVFIEVSSKPEIYTAGKHITFFNDMLEKLEAQNVSIDINGWNPV
TKESIHKNDILISTEAKTRSDYMDIHKRGGFNKINAVKNTRIEVNGDEVSRPGR
RIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号409)

【 図 5 8 】

Figure 58

MTTIKDELGTEKIKKNPKRVVLEYSFADYLAALDMKPVGIADGSSKNITKSVR
DKIGAYESVGSRPQPNMEVISKLPDLIADVSRHKKIKSELSKIAPTIMLVSGTGD
YNANIEAFKTVAKAVGKEKEGEKRLEKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFGISRAG
MFINNEDTFMGQFLKMGIQPEVTKDKTTHVGERKGGPYIYLNNEELANINPKVM
LATDGKTDKNRTKFDPAVWKS LKA VKDNKVYDVRNKWLKSRGIIASESMAED
LEKIAEKAK
(配列番号404)

【 図 5 9 】

Figure 59

MNRNIVKLVVFMILVVAVAGCGQKDTEEKTEMTTIKDELGTEKIKKNPKRVV
LEYSFADYLAALDMKPVGIADGSSKNITKSVRDKIGAYESVGSRPQPNMEVISK
LKPDLIADVSRHKKIKSELSKIAPTIMLVSGTGDYNANIEAFKTVAKAVGKEKEG
EKRLKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFGISRAGMFINNEDTFMGQFLKMGIQPE
VTKDKTTHVGERKGGPYIYLNNEELANINPKVMILATDGKTDKNRTKFDPAVW
KSLKAVKDNKVYDVRNKWLKSRGIIASESMAEDLEKIAEKAK
(配列番号405)

【 図 6 0 】

Figure 60

MTTIKDELGTEKIKKNPKRVVLEYSFADYLAALDMKPVGIADGSSKNITKSVR
DKIGAYESVGSRPQPNMEVISKLPDLIADVSRHKKIKSELSKIAPTIMLVSGTGD
YNANIEAFKTVAKAVGKEKEGEKRLEKHKILAEIRKKIEQSTLKSFAFGISRAG
MFINNEDTFMGQFLKMGIQPEVTKDKTTHVGERKGGPYIYLNNEELANINPKVM
LATDGKTDKNRTKFDPAVWKS LKA VKDNKVYDVRNKWLKSRGIIASESMAED
LEKIAEKAK
(配列番号406)

【 図 6 4 】

Figure 64

MKKSIIAFILIFMLVLSGCGMKDNDKQGSDDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYEL
GLGKYIVGVSTVDDYPKDVKKGKQFDALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATA
NKVLSSEKQGIKVVYVKDAQSIDETYNTFKQIGKLTTHDKQAEQVVEETKDNID
KVIDSIPAHHKSSKVFIEVSSKPEIYTAGKHITFFNDMLEKLEAQNVSIDINGWNPV
TKESIHKNDILISTEAKTRSDYMDIHKRGGFNKINAVKNTRIEVNGDEVSRPGR
RIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号410)

【 図 6 5 】

Figure 65

MKKSIIAFILIFMLVLSGCGMKDNDKQGSDDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYEL
GLGKYIVGVSTVDDYPKDVKKGKQFDALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATA
NKVLSSEKQGIKVVYVKDAQSIDETYNTFKQIGKLTTHDKQAEQVVEETKDNID
KVIDSIPAHHKSSKVFIEVSSKPEIYTAGKHITFFNDMLEKLEAQNVSIDINGWNPV
TKESIHKNDILISTEAKTRSDYMDIHKRGGFNKINAVKNTRIEVNGDEVSRPGR
RIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号411)

【 図 6 6 】

Figure 66

MKKSIIAFILIFMLVLSGCGMKDNDKQGSDDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYEL
GLGKYIVGVSTVDDYPKDVKKGKQFDALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATA
NKVLSSEKQGIKVVYVKDAQSIDETYNTFKQIGKLTTHDKQAEQVVEETKDNID
KVIDSIPAHHKSSKVFIEVSSKPEIYTAGKHITFFNDMLEKLEAQNVSIDINGWNPV
TKESIHKNDILISTEAKTRSDYMDIHKRGGFNKINAVKNTRIEVNGDEVSRPGR
RIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号412)

【 図 6 7 】

Figure 67

MKKSILAFILFMLVLSGCGMKDNDKQGSNDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYEL
GLGKYIVGVSTVDDYPKDVKKGKQFDALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATA
NKVLSSEKQGIKVVYVKDAQSIDETYNFTKQIGKLTTHDKQAEQLVEETKDNID
KVIDSIPAHHKSKSVFIEVSSKPEIYTAGKHTFFNDMLEKLEAQNVSNDINGWNPV
TKESIKNPDILISTEAKTRSDYMDIHKRGGFNKINAVKNTRIEVVNGDEVSRPGP
RIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号413)

【 図 7 0 】

Figure 70

MKKSILAFILFMLVLSGCGMKDNDKQGSNDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYEL
GLGKYIVGVSTVDDYPKDVKKGKQFDALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATA
NKVLSSEKQGIKVVYVKDAQSIDETYNFTKQIGKLTTHDKQAEQLVEETKDNID
KVIDSIPAHHKSKSVFIEVSSKPEIYTAGKHTFFNDMLEKLEAQNVSNDINGWNPV
TKESIKNPDILISTEAKTRSDYMDIHKRGGFNKINAVKNTRIEVVNGDEVSRPGP
RIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号416)

【 図 6 8 】

Figure 68

MKKSILAFILFMLVLSGCGMKDNDKQGSNDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYEL
GLGKYIVGVSTVDDYPKDVKEGKQFDALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATA
NKVLSSEKQGIKVVYVKDAQSIDETYNFTKQIGKLTTHDKQAEQLVEETKDNID
KVIDSIPAHHKSKSVFIEVSSKPEIYTAGKHTFFNDMLEKLEAQNVSNDINGWNPV
TKESIKNPDILISTEAKTRSDYMDIHKRGGFNKINAVKNTRIEVVNGDEVSRPGP
RIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号414)

【 図 7 1 】

Figure 71

MKDNDKQGSNDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYELGLGKYIVGVSTVDDYPKDV
KKGKQFDALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATANKVLSSEKQGIKVVYVKD
AQSIDETYNFTKQIGKLTTHDKQAEQLVEETKDNIDKVIDSIPAHHKSKSVFIEVSS
KPEIYTAGKHTFFNDMLEKLEAQNVSNDINGWNPVTKESIKNPDILISTEAKTRS
DYMDIHKRGGFNKINAVKNTRIEVVNGDEVSRPGPRIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号417)

【 図 6 9 】

Figure 69

MKDNDKQGSNDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYELGLGKYIVGVSTVDDYPKDV
KKGKQFDALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATANKVLSSEKQGIKVVYVKD
AQSIDETYNFTKQIGKLTTHDKQAEQLVEETKDNIDKVIDSIPAHHKSKSVFIEVSS
KPEIYTAGKHTFFNDMLEKLEAQNVSNDINGWNPVTKESIKNPDILISTEAKTRS
DYMDIHKRGGFNKINAVKNTRIEVVNGDEVSRPGPRIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号415)

【 図 7 2 】

Figure 72

MKKSILAFILFMLVLSGCGMKDNDKQGSNDNGSSKSPYHRIVSLMPSNTEILYEL
GLGKYIVGVSTVDDYPKDVKEGKQFDALNLNKEELLKAKPDLILAHESQKATA
NKVLSSEKQGIKVVYVKDAQSIDETYNFTKQIGKLTTHDKQAEQLVEETKDNID
KVIDSIPAHHKSKSVFIEVSSKPEIYTAGKHTFFNDMLEKLEAQNVSNDINGWNPV
TKESIKNPDILISTEAKTRSDYMDIHKRGGFNKINAVKNTRIEVVNGDEVSRPGP
RIDEGLKELRDAIYRK
(配列番号418)

【 図 7 3 】

Figure 73

SDKSNGKLVVTTNSILYDMAKNVGGDNVDIHSIVPVGQDPHEVEVKPKDIKLT
DADVILYNGLNLETGNGWFEKALEQAGSLKDKK VIA VSKDVKPIYLNGEENK
DKQDPHAWLSLDNGIKYVKTIQTFIDNKKHKADYEKQGNKYIAQLEKLNDS
KDKFNDIPKEQRAMITSEGAFKYFSKQYGITPGYIWEINTEKQGTPEQMRQAEFV
KKHKLKHLVETSVDKAMESLSEETKKDIFGEVYTDISIGEGTKGDSYKMMK
SNIETVHGSMK
(配列番号419)

【 図 7 6 】

Figure 76

MKKLVPDLLALLLVAACGTGGKQSSDKSNGKLVVTTNSILYDMAKNVGGDN
VDIHSIVPVGQDPHEVEVKPKDIKLTADVILYNGLNLETGNGWFEKALEQAGK
SLKDKK VIA VSKDVKPIYLNGEENKDKQDPHAWLSLDNGIKYVKTIQTFIDN
KKHKADYEKQGNKYIAQLEKLNDSKDKFNDIPKEQRAMITSEGAFKYFSKQYGI
TPGYIWEINTEKQGTPEQMRQAEFVKKHKLKHLVETSVDKAMESLSEETKKD
IFGEVYTDISIGEGTKGDSYKMMKSNIETVHGSMK
(配列番号422)

【 図 7 4 】

Figure 74

MKKLVPDLLALLLVAACGTGGKQSSDKSNGKLVVTTNSILYDMAKNVGGDN
VDIHSIVPVGQDPHEVEVKPKDIKLTADVILYNGLNLETGNGWFEKALEQAGK
SLKDKK VIA VSKDVKPIYLNGEENKDKQDPHAWLSLDNGIKYVKTIQTFIDN
KKHKADYEKQGNKYIAQLEKLNDSKDKFNDIPKEQRAMITSEGAFKYFSKQYGI
TPGYIWEINTEKQGTPEQMRQAEFVKKHKLKHLVETSVDKAMESLSEETKKD
IFGEVYTDISIGEGTKGDSYKMMKSNIETVHGSMK
(配列番号420)

【 図 7 7 】

Figure 77

MKKLVPDLLALLLVAACGTGGKQSSDKSNGKLVVTTNSILYDMAKNVGGDN
VDIHSIVPVGQDPHEVEVKPKDIKLTADVILYNGLNLETGNGWFEKALEQAGK
SLKDKK VIA VSKDVKPIYLNGEENKDKQDPHAWLSLDNGIKYVKTIQTFIDN
KKHKADYEKQGNKYIAQLEKLNDSKDKFNDIPKEQRAMITSEGAFKYFSKQYGI
TPGYIWEINTEKQGTPEQMRQAEFVKKHKLKHLVETSVDKAMESLSEETKKD
IFGEVYTDISIGEGTKGDSYKMMKSNIETVHGSMK
(配列番号423)

【 図 7 5 】

Figure 75

MKKLVPDLLALLLVAACGTGGKQSSDKSNGKLVVTTNSILYDMAKNVGGDN
VDIHSIVPVGQDPHEVEVKPKDIKLTADVILYNGLNLETGNGWFEKALEQAGK
SLKDKK VIA VSKDVKPIYLNGEENKDKQDPHAWLSLDNGIKYVKTIQTFIDN
KKHKADYEKQGNKYIAQLEKLNDSKDKFNDIPKEQRAMITSEGAFKYFSKQYGI
TPGYIWEINTEKQGTPEQMRQAEFVKKHKLKHLVETSVDKAMESLSEETKKD
IFGEVYTDISIGEGTKGDSYKMMKSNIETVHGSMK
(配列番号421)

【 図 7 8 】

Figure 78

MKKLVPDLLALLLVAACGTGGKQSSDKSNGKLVVTTNSILYDMAKNVGGDN
VDIHSIVPVGQDPHEVEVKPKDIKLTADVILYNGLNLETGNGWFEKALEQAGK
SLKDKK VIA VSKDVKPIYLNGEENKDKQDPHAWLSLDNGIKYVKTIQTFIDN
KKHKADYEKQGNKYIAQLEKLNDSKDKFNDIPKEQRAMITSEGAFKYFSKQYGI
TPGYIWEINTEKQGTPEQMRQAEFVKKHKLKHLVETSVDKAMESLSEETKKD
IFGEVYTDISIGEGTKGDSYKMMKSNIETVHGSMK
(配列番号424)

【 図 7 9 】

Figure 79

MKKLVP... (Sequence for Figure 79)

(配列番号425)

【 図 8 0 】

Figure 80

MKKLVP... (Sequence for Figure 80)

(配列番号426)

【 図 8 1 】

Figure 81

MKKLVP... (Sequence for Figure 81)

(配列番号427)

【 図 8 4 】

Figure 84

TTAGAA... (Sequence for Figure 84)

(配列番号430)

【 図 8 2 】

Figure 82

MKKLVP... (Sequence for Figure 82)

(配列番号428)

【 図 8 3 】

Figure 83

MKKLVP... (Sequence for Figure 83)

(配列番号429)

【 図 8 5 】

Figure 85

ATGTTA... (Sequence for Figure 85)

(配列番号431)

【 図 9 0 】

Figure 90

ATGTTAGAAAACAAATAAAAAATCATGCAACAGCTGGCAAGGATTTAAAAATG
 GAAGATGGAAACAGACAGCTAGATGTAAGAGAGTTTACCAATTAACATACAC
 TCTTTATGAAGGTAATGATTTTTCAGAGACCAACAGAGCAACTCTCA
 AACTTTGGGAACAAGTAAATGCAAGTTATGAAAGAAAGCAAGTGAACGTTGGGG
 CATGTGGGATATGGACACGAAAGTACTTCAACAATCACATCTCATGATGCTG
 GTTATTAGACAAAGATTAGAAAACAATTTGATGTTACAAACTGAAAAGCCCA
 TTCAAACGTTCAATGCAACCAATTCGGTGGTATTCGTATGGGAAAAGCAGCTTG
 TGAAGCTTACGGTTACGAATTAGACAGAAAGAACTGAAAAATCTTTACAGATT
 ATCGTAAAACACATAACCAAGGTGATTCGATGCATATCTAGAGAAAATGTTG
 AACTGCGGTAAAGCAGGTGTAATCACTGGTTTACCTGATGCATACGGAGCTGG
 ACGTATTACGGTACTATCGCTGGTACTTATATGTTGATGATTTCTTAAT
 GGAAGAAAAATGACGACTTCAACAGGTGTTACAGAAAATGTCAGAAAGT
 GTAATTGTTTACGTGAAGAAATTCAGAAAACAATTCGTGCATTTAAAAGAAAT
 AAAAGAACTTGGACAAAAATATGTTTGGTTAAAGCCGTCACAGAAAAC
 TTCAAAGAACGAGCTCAATGGTTACTTACGATCACTTCAACATCTTAGATATCT
 ACAAAAACGTTGACGAATGAGTTAGTGGTACATCAACATCTTAGATATCT
 ATGCTGAACGTTGACCTTAAAGCAGGCTTAACTGAAAAGCAAGTTCAAGA
 AATTAATGACCACTTCACTGAAAATACGATTTTAAATTTGCTGCTACACC
 TGATTAACAATGAATTTCTTGGAGACCAACTGGTAACTGAACTGAACTATCG
 GTGGTGAAGTATGACGAGCTCACCTTGTACGAAAACCACTTACGTTCTT
 TACACTATTAGATTAAGTCCAGCTCCAGAACCAAACTTAAACAGTATTA
 TGGTCACTACGTTTACCTGACAACTTCAAAACATCTGTGCAAAAATGAGTAT
 TAAAACAAGTTCTAATCAATATGAAAATGATGACATTTAGCGGAAAAGCTATG
 CGATGACTATGGTATGCGATGTTGTTATACGCGATGCAAAATGGTAAAACAA
 ATGCAATTTCTGGTGCAGCTGCAACTTAGCTAAAACATTACTTTACGCAAC
 CAATGGTGGTAAAGATGAAAATATGTTGTCACAAAGTGGTCCAACTTCGAA
 GGTATTAAACGGAAGTATGAAATGACGAAAGTATCAAGAAAATTTGATCA
 AATGATGGAATGGCTAGCAGGTTTACATTAACATTAACATTAATGATTAACCTA
 CATGCAGCAATAACAGCTTGAAGCTATTGAAAAGGCAATCATGATACAG
 AAATTTGACGTAACAGTCAACAGGTTATGCTGGTATTCAGTACGACGCTGAC
 TCAATTTGCAATTAATATGCAAGTTAAACAAATTCOTAAACGAAAAGG
 TCTTGTAGTACGTTGAAAATGAAAAGGCACTTCCCTAAATACGGTAAACAATG
 ACGACCGTGTAGATGATATGCGAGTTGATTTAGTAAAGCCCTTCATGACTAAA
 TTACGTAGTCAATAACATATCGTATTCAGAAAATCAAAATGATGATTAAC
 AATTACTTCAACCTGTTATACGCTAAAGAAATGTTAACAACAGCAAGCGGA
 CGTAAAGCTGGCAACCACTTGTCTGAGGTGCAAAACCAATGATGCGCGTGA
 CAAAAGGTTGCAATTTCTTAAAGTTCTGATGCTGCTGCTTACGTTACGATG
 CTGTAAGATGGTATTCAATACATTCGATATGTCACAAAATCAATGAGTAA
 AAGAACCAGAGTCAAAACCGTAACTTAACTAGTATGTTAGATGGTTACGG
 AATGCAATGTTGGTCAACCTTAAATATTAACGATTTAAACCGTGAACATTA
 TAGATGCAATGGAACATCCAGAAAGTATCCACAGTTAAACAATCGTGTATCT
 GGTACCGTGTAACTTCAATTAATTAACCGTGAACCAAAATAGATGTAAT
 TCTGTCATCTCAATGAAAATGATA
 (配列番号436)

【 図 9 1 】

Figure 91

ATGTTAGAAAACAAATAAAAAATCATGCAACAGCTGGCAAGGATTTAAAAATG
 GAAGATGGAAACAGACAGCTAGATGTAAGAGAGTTTACCAATTAACATACAC
 TCTTTATGAAGGTAATGATTTTTCAGAGACCAACAGAGCAACTCTCA
 AACTTTGGGAACAAGTAAATGCAAGTTATGAAAGAAAGCAAGTGAACGTTGGGG
 CATGTGGGATATGGACACGAAAGTACTTCAACAATCACATCTCATGATGCTG
 GTTATTAGACAAAGATTAGAAAACAATTTGATGTTACAAACTGAAAAGCCCA
 TTCAAACGTTCAATGCAACCAATTCGGTGGTATTCGTATGGGAAAAGCAGCTTG
 TGAAGCTTACGGTTACGAATTAGACAGAAAGAACTGAAAAATCTTTACAGATT
 ATCGTAAAACACATAACCAAGGTGATTCGATGCATATCTAGAGAAAATGTTG
 AACTGCGGTAAAGCAGGTGTAATCACTGGTTTACCTGATGCATACGGAGCTGG
 ACGTATTACGGTACTATCGCTGGTACTTATATGTTGATGATTTCTTAAT
 GGAAGAAAAATGACGACTTCAACAGGTGTTACAGAAAATGTCAGAAAGT
 GTAATTGTTTACGTGAAGAAATTCAGAAAACAATTCGTGCATTTAAAAGAAAT
 AAAAGAACTTGGACAAAAATATGTTTGGTTAAAGCCGTCACAGAAAAC
 TTCAAAGAACGAGCTCAATGGTTACTTACGATCACTTCAACATCTTAGATATCT
 ACAAAAACGTTGACGAATGAGTTAGTGGTACATCAACATCTTAGATATCT
 ATGCTGAACGTTGACCTTAAAGCAGGCTTAACTGAAAAGCAAGTTCAAGA
 AATTAATGACCACTTCACTGAAAATACGATTTTAAATTTGCTGCTACACC
 TGATTAACAATGAATTTCTTGGAGACCAACTGGTAACTGAACTGAACTATCG
 GTGGTGAAGTATGACGAGCTCACCTTGTACGAAAACCACTTACGTTCTT
 TACACTATTAGATTAAGTCCAGCTCCAGAACCAAACTTAAACAGTATTA
 TGGTCACTACGTTTACCTGACAACTTCAAAACATCTGTGCAAAAATGAGTAT
 TAAAACAAGTTCTAATCAATATGAAAATGATGACATTTAGCGGAAAAGCTATG
 CGATGACTATGGTATGCGATGTTGTTATACGCGATGCAAAATGGTAAAACAA
 ATGCAATTTCTGGTGCAGCTGCAACTTAGCTAAAACATTACTTTACGCAAC
 CAATGGTGGTAAAGATGAAAATATGTTGTCACAAAGTGGTCCAACTTCGAA
 GGTATTAAACGGAAGTATGAAATGACGAAAGTATCAAGAAAATTTGATCA
 AATGATGGAATGGCTAGCAGGTTTACATTAACATTAACATTAATGATTAACCTA
 CATGCAGCAATAACAGCTTGAAGCTATTGAAAAGGCAATCATGATACAG
 AAATTTGACGTAACAGTCAACAGGTTATGCTGGTATTCAGTACGACGCTGAC
 TCAATTTGCAATTAATATGCAAGTTAAACAAATTCOTAAACGAAAAGG
 TCTTGTAGTACGTTGAAAATGAAAAGGCACTTCCCTAAATACGGTAAACAATG
 ACGACCGTGTAGATGATATGCGAGTTGATTTAGTAAAGCCCTTCATGACTAAA
 TTACGTAGTCAATAACATATCGTATTCAGAAAATCAAAATGATGATTAAC
 AATTACTTCAACCTGTTATACGCTAAAGAAATGTTAACAACAGCAAGCGGA
 CGTAAAGCTGGCAACCACTTGTCTGAGGTGCAAAACCAATGATGCGCGTGA
 CAAAAGGTTGCAATTTCTTAAAGTTCTGATGCTGCTGCTTACGTTACGATG
 CTGTAAGATGGTATTCAATACATTCGATATGTCACAAAATCAATGAGTAA
 AAGAACCAGAGTCAAAACCGTAACTTAACTAGTATGTTAGATGGTTACGG
 AATGCAATGTTGGTCAACCTTAAATATTAACGATTTAAACCGTGAACATTA
 TAGATGCAATGGAACATCCAGAAAGTATCCACAGTTAAACAATCGTGTATCT
 GGTACCGTGTAACTTCAATTAATTAACCGTGAACCAAAATAGATGTAAT
 TCTGTCATCTCAATGAAAATGATA
 (配列番号437)

【 図 9 2 】

Figure 92

ATGTTAGAAAACAAATAAAAAATCATGCAACAGCTGGCAAGGATTTAAAAATG
 GAAGATGGAAACAGACAGCTAGATGTAAGAGAGTTTACCAATTAACATACAC
 TCTTTATGAAGGTAATGATTTTTCAGAGACCAACAGAGCAACTCTCA
 CATGTGGGATATGGACACGAAAGTACTTCAACAATCACATCTCATGATGCTG
 GTTATTAGACAAAGATTAGAAAACAATTTGATGTTTACAAACTGAAAAGCCCA
 TTCAAACGTTCAATGCAACCAATTCGGTGGTATTCGTATGGGAAAAGCAGCTTG
 TGAAGCTTACGGTTACGAATTAGACAGAAAGAACTGAAAAATCTTTACAGATT
 ATCGTAAAACACATAACCAAGGTGATTCGATGCATATCTAGAGAAAATGTTG
 AACTGCGGTAAAGCAGGTGTAATCACTGGTTTACCTGATGCATACGGAGCTGG
 ACGTATTACGGTACTATCGCTGGTACTTATATGTTGATGATTTCTTAAT
 GGAAGAAAAATGACGACTTCAACAGGTGTTACAGAAAATGTCAGAAAGT
 GTAATTGTTTACGTGAAGAAATTCAGAAAACAATTCGTGCATTTAAAAGAAAT
 AAAAGAACTTGGACAAAAATATGTTTGGTTAAAGCCGTCACAGAAAAC
 TTCAAAGAACGATTCATGGTTACTTACGATCACTTCTGCAATTAAGA
 ACAAAAACGTTGACGCAATGAGTTAGTGGTACATCAACATCTTAGATATCT
 ATGCTGAACGTTGACCTTAAAGCAGGCTTAACTGAAAAGCAAGTTCAAGA
 AATTAATGACCACTTCACTGAAAATACGATTTGTTAAATTTGCTGCTACACC
 TGATTAACAATGAATTTCTTGGAGACCAACTGGGTAAGTAACTATGCTATG
 GTGGTGTAGGTTAGCGGAGCTCCACTTGTACGAAAACCACTTACCGTTCT
 TACACTATTAGATTAAGTCCAGCTCCAGAACCAAACTTAAACAGTATTA
 TGGTCACTACGTTTACCTGACAACTTCAAAACATCTGTGCAAAAATGAGTAT
 TAAAACAAGTTCTAATCAATATGAAAATGATGACATTTAGCGGAAAAGCTATG
 CGATGACTATGGTATGCGATGTTGTTATACGCGATGCAAAATGGTAAAACAA
 ATGCAATTTCTGGTGCAGCTGCGAACTTAGCTAAAACATCTTTACGCTATC
 AATGGTGGTAAAGATGAAAATATGTTGTCACAAAGTGGTCCAACTTCGAA
 GTATTAAACGGAAGTATGAAATGACGAAAGTATCAAGAAAATTTGATCA
 ATGATGGAATGGCTAGCAGGTTTACATTAACCTTAAATGTTATTCACACT
 ATGCAAGTAAATACAGCTATGACGATTTGAAAATGGCAATTCAGATACAGA
 AATTGATGCAATGCAACAGGTTACGCTGGTTTACGATGACGCTGACT
 CATTATCTGCAATTAATATGCAAGATTTAAACCAATTCGTAACGAAAGAGGT
 CTGTGATGACTTTGAAAATGAAAAGGCGACTTCCCTAAATACGGTAAACATGA
 CGACCGTGTAGATGATATGCGAGTTGATTTAGTAAAGCCGTTCACTGACTAAAT
 TACGTAGTCAAAAACATATGTTGTCAGAAACATCAAAATGAGTATTAAC
 ATTACTTCAAACTTGTATACGCTTAAAGAACTGGTAAACACAGCAGCGGAC
 GTAAAAGTGGCAACCAATTTGCTCCAGGTCAAAACCAATGCAATGCGCGTGC
 CAAAAGGTTGCAATTTCTTAAAGTTCTGATGCTGATGATGCTTACGATGTC
 TGTAAAGATGGTATTCAAAATACATGATGATGTCACAAAATCAATGAGTAA
 AAGAACCAGAGTCAAAAACCGTAACTTAACTAGTATGTTAGATGGTTACGG
 AATGCAATGTTGGTCAACCTTAAATATTAACGATTTAAACCGTGAACATTA
 TAGATGCAATGGAACATCCAGAAAGTATCCACAGTTAAACAATCGTGTATCT
 GGTACCGTGTAACTTCAATTAATTAACCGTGAACCAAAATAGATGTAAT
 TCTGTCATCTCAATGAAAATGATA
 (配列番号438)

【 図 9 3 】

Figure 93

ATGTTAGAAAACAAATAAAAAATCATGCAACAGCTGGCAAGGATTTAAAAATG
 GAAGATGGAAACAGACAGCTAGATGTAAGAGAGTTTACCAATTAACATACAC
 TCTTTATGAAGGTAATGATTTTTCAGAGACCAACAGAGCAACTCTCA
 AACTTTGGGAACAAGTAAATGCAAGTTATGAAAGAAAGCAAGTGAACGTTGGGG
 CATGTGGGATATGGACACGAAAGTACTTCAACAATCACATCTCATGATGCTG
 GTTATTAGACAAAGATTAGAAAACAATTTGATGTTTACAAACTGAAAAGCCCA
 TTCAAACGTTCAATGCAACCAATTCGGTGGTATTCGTATGGGAAAAGCAGCTTG
 TGAAGCTTACGGTTACGAATTAGACAGAAAGAACTGAAAAATCTTTACAGATT
 ATCGTAAAACACATAACCAAGGTGATTCGATGCATATCTAGAGAAAATGTTG
 AACTGCGGTAAAGCAGGTGTAATCACTGGTTTACCTGATGCATACGGAGCTGG
 ACGTATTACGGTACTATCGCTGGTACTTATATGTTGATGATTTCTTAAT
 GGAAGAAAAATGACGACTTCAACAGGTGTTACAGAAAATGTCAGAAAGT
 GTAATTGTTTACGTGAAGAAATTCAGAAAACAATTCGTGCATTTAAAAGAAAT
 AAAAGAACTTGGACAAAAATATGTTTGGTTAAAGCCGTCACAGAAAAC
 TTCAAAGAACGATTCATGGTTACTTACGATCACTTCTGCAATTAAGA
 ACAAAAACGTTGACGCAATGAGTTAGTGGTACATCAACATCTTAGATATCT
 ATGCTGAACGTTGACCTTAAAGCAGGCTTAACTGAAAAGCAAGTTCAAGA
 AATTAATGACCACTTCACTGAAAATACGATTTGTTAAATTTGCTGCTACACC
 TGATTAACAATGAATTTCTTGGAGACCAACTGGGTAAGTAACTATGCTATG
 GTGGTGTAGGTTAGCGGAGCTCCACTTGTACGAAAACCACTTACCGTTCT
 TACACTATTAGATTAAGTCCAGCTCCAGAACCAAACTTAAACAGTATTA
 TGGTCACTACGTTTACCTGACAACTTCAAAACATCTGTGCAAAAATGAGTAT
 TAAAACAAGTTCTAATCAATATGAAAATGATGACATTTAGCGGAAAAGCTATG
 CGATGACTATGGTATGCGATGTTGTTATACGCGATGCAAAATGGTAAAACAA
 ATGCAATTTCTGGTGCAGCTGCGAACTTAGCTAAAACATCTTTACGCTATC
 AATGGTGGTAAAGATGAAAATATGTTGTCACAAAGTGGTCCAACTTCGAA
 GTATTAAACGGAAGTATGAAATGACGAAAGTATCAAGAAAATTTGATCA
 ATGATGGAATGGCTAGCAGGTTTACATTAACCTTAAATGTTATTCACACT
 ATGCAAGTAAATACAGCTATGACGATTTGAAAATGGCAATTCAGATACAGA
 AATTGATGCAATGCAACAGGTTACGCTGGTTTACGATGACGCTGACT
 CATTATCTGCAATTAATATGCAAGATTTAAACCAATTCGTAACGAAAGAGGT
 CTGTGATGACTTTGAAAATGAAAAGGCGACTTCCCTAAATACGGTAAACATGA
 CGACCGTGTAGATGATATGCGAGTTGATTTAGTAAAGCCGTTCACTGACTAAAT
 TACGTAGTCAAAAACATATGTTGTCAGAAACATCAAAATGAGTATTAAC
 ATTACTTCAAACTTGTATACGCTTAAAGAACTGGTAAACACAGCAGCGGAC
 GTAAAAGTGGCAACCAATTTGCTCCAGGTCAAAACCAATGCAATGCGCGTGC
 CAAAAGGTTGCAATTTCTTAAAGTTCTGATGCTGATGATGCTTACGATGTC
 TGTAAAGATGGTATTCAAAATACATGATGATGTCACAAAATCAATGAGTAA
 AAGAACCAGAGTCAAAAACCGTAACTTAACTAGTATGTTAGATGGTTACGG
 AATGCAATGTTGGTCAACCTTAAATATTAACGATTTAAACCGTGAACATTA
 TAGATGCAATGGAACATCCAGAAAGTATCCACAGTTAAACAATCGTGTATCT
 GGTACCGTGTAACTTCAATTAATTAACCGTGAACCAAAATAGATGTAAT
 TCTGTCATCTCAATGAAAATGATA
 (配列番号439)

【 図 9 4 】

Figure 94

```

ATGTTAGAAAACAAATAAAAATCATGCAACAGCTTGGCAAGGATTTAAAAATG
GAAGATGGACAGACACAGTATGATGTAAGAGAGTTTATCOAAATTAACACTACAC
TCTTTATGAAGTAAATGATTTTATGACAGGACCAACAGAAAGCACTTCTA
AAGTTGGGAACAAGTAAGTACGATTCGAAAGAAAGAAAGCAAGTAAAGTGGG
CATGTGGGATATGGACACGAAAGTACGTTCAACAATCACATCTCATGATGCTG
GTTTATAGACAAAGATTTAGAAACAATTTAGGTTGACAAACTGAAAAGCCCA
TTCAACAGTTCAATGCAACCAATTCGGTGTATTCGTATGGCGAAAGCAGCTTG
TGAAGCTTACGGTTACGAATTAGACGAAAGAACTGAAAAAATCTTACAGATT
ATCGTAAAACACATAACCAAGGTGTTATTCGTGATATTTAGAGAAATGTTG
AAGTGGGTAAGAGCAGGTGTAATCACTGGTTACCTGATGATACGGAAGCTGG
ACGTTATTCGGTACTGCTGCTGTACGTTTATATGTTGTAGATTCTTAAAT
GGAAAGAAAATGCGCACTTCAACAGCAGTGTCTACAGAAATGTGAGAAAT
GTAATTCGTTACGTTAAGAAATATCAGAAATATCTGTCATTAAGAAAT
AAAAGAACTGGACAAAATATGTTTTCGATTTAAGCCGTCACAGAAAAC
TTCAAAAGCAGTCAATGGTTTACTATGCACTACCTTTCGCAATTAAGAA
ACAACAGCGTGCAGCAATGAGTTTAAAGTGTACATCAACATCTTATGATATCT
ATGCTGAAGCTGACTTAAAGCAGCGTAACTACTGAAAGCGAAGTTCAAGA
AATATTGACCACTTCATCATGAAATTCGTTATTTGAAATTTGCTGTCACCC
TGATTAACAATGAAATTTCTTGGAGCCCACTGGGTAATGAAATTCGTTCT
GTGTTGAGGATTAAGCGGACGTCACCTTTTACGAAAAAATCTTTCGTTCT
TACACTCAATGATTAACCTAGGTCAGCTCCAGAACCAACTTACAGATTA
TGGTCAGTACGTTTACCTGACCACTTCAAAACACTACTGTGCAAAAATGAGTAT
TAAAAACAAGTTCTATCCAATGAAAAATGATGACATATTCGCTGAAAAGCTATG
CGATGACTATGTTGCTGATGTTGTTATCAAGGATGACAAATGGTAAACAA
ATGCAATGTTTTCGGTGCAGCTGGCAACTTAACTAAACACTTACTTACGCTATC
AATGGTCTGCAAAAGTAAAGTAAATCTGCTGCAAGTGTGTTCCAACTGCGAAG
GTATTAACAGCGAAGTATTAGAAATGACGAAAGTATTCAGAAATTTGATCAA
ATGATGATTCGCTGACAGGTTTACATTAACCTCAATTAATGTTATTCACACT
ATGCAAGTAAATACAGCTTGAAGCTATGAAATGGCAATACATGATACAGAA
AATTTGACGTCACAAAGTCAACAGGATTCGGTGTATTCAGTACGAGCTGACT
CATTTATGCAATTAATATGCAAGTAAACCAATTCGTAAGGAAAGGTT
CTTGTAGTACTTTGAAATGCAAGGCGACTTCCCTAAATACGGTAAACAATGA
CGACCGTATGATGATTCGCGATGTTTATGATGAAAGCTTATGACTAAAT
TACGTAGTCAAAAAACATATCGTGTTCAGAAACATCAATGAGTGTATTAAAC
ATTACTTCAAGGTTGATACGTTAAGAAAGTGAACACAGCAGGACGCGG
GTAAAGTGGCAACCTTTGCAACAGCTGCAAAACCAATGATGCGCGTGA
CCAAAAAGGTCATTCTTCAATTAAGTTCTGTAAGTCCCTTACGATTG
CTGTAAGATGGTATTTCAAAATCACTTCACTGATGCTACCAAAATCAATAGGTA
AAGAACAGAAAGTCAAAACCGTAACTTAACTAGTATGTTAGATGTTACGCG
AATGCAATGTTGCTCACCATTAAATTAAGCTTAAACCGTGAAGCAATTA
TAGATGCAATGGAACATCCAGAAAGTATCCACAGTAAACAATCCGTTATCT
GGTACGCTGTTAACTTCAATTAATTAACAGTGAACCAACTAGATGTAAT
TTCGTCATTCATGAAAGTATGTA
(配列番号440)

```

【 図 9 6 】

Figure 96

```

ATGAGAAAACAACTAAAATGAGTGAATGTTACTTGCATCAGGGCTAATTTT
AACTGGTTGTGGCGGTAATAAAGGTTTAGAGGAGAAAAAGAAAACAAGCAA
TTAACGTATACGACGGTTAAGATATCGGGATATGAACCCGCAATGTTACGG
TGGATCGATGCTGCTGAAAGTATGATATACGAGCCACTTGTACGTAAACCGA
AAGATGGGATTAAGCCTTTATTAGCTAAAAAATGGGATGTTTCTGAAGATGGG
AAGACATATACATTTCCATTTGAGAGATGACGTTAAATTCATGATGGTACGCC
ATTTGATGCTGACGCAAGTAAAGAAAAATTTAGCAGCGGTTCAAGAAAAACAAA
AAATGCTATCTTGGTTAAAGATTTCAACATTAATGACAAATGTTAAAGTTAA
AGATAAGTACACGGTTGAATGAAATTTGAAAGAAAGCAGTATCAACCTGCAATGG
CTGAATTAGCGATGCCTCGTCCATATGTAATTTGTTGCTCCAAAAGACTTTAAAA
ACGGCACAAAAGATGGCGTTAAAAAGTTTCGATGTTACTGGTCCATTTAA
ATTAGGTGAACACAAAAAGATGAGTCTGCAGACTTTAACAAAAATGATCAA
TACTGGGGGCAAAAGTCTAACTTAAACAAAGTACAAGCAAAAGTAAATGCCTG
CTGGTGAACAGCATTCCTATCAATGAAAAAAGGTGAACGAACTTTGCCTTC
ACAGATGATAGAGGTACAGATAGCTTAGCAAAAGACTCTTAAAAACAATGGA
AAGATACAGGTGACTATCAAGTTAAGCGTAGTCAACCTATGAATACGAAAAT
GTTAGTTGCAATTTCTGTTAAAAAAGATAGCGCTGTGAGTCAAAAACAGTCA
GACAAGCGATTTGGTCATATGGTAAACAGAGATAAAAATGGCCAAAGAAATTTT
AGATGGTCAAGAAAAACCGCAACTCAATTTTGGCAAAATGTAACAGAC
ATTAATTTGATATGCAACACGTAAGTATGACCTTAAAAAAGCAGAAATCATT
ATTAGATGAAGCTGGTTGGAAGAAAGTAAAGACAGCGATGTTCTGCAAAAA
GATGGTAAAAACCTTGAATGGCAATGACTATGACAAAGGTTCTTCAAGTCA
AAAAAGAAACAGCAATACTTACAAGCAGAAATTAAGAAAAATGGGATTAAG
TTAAACATCAATGGCGAAACATCAGATAAAAATGCTGAAACGCTGACTTCTGG
TGATTAGACTTAATGTTCAACCAAACTTGGGGATTTATGTCAGTCCACAAA
GTACTATTGCAGCAATTAAGCGCAAAAATGGTTATGAAAGTGAACATCAGGG
ATTGAGAAATAAAGATAAAAATATCAACAGCATTGATGACGCATTTAAAAATCC
AAAACGGTAAAGAGCTTCAAGCAGCTTATAAAAACATTTTGAACAAAGTTAA
TGATGAAGGTATCTTTATCCCTAATTCACAGGTAGTATGACAGTTGTTGGCC
GAAAGATTGAAAAAGTATCATTACACAAATCAGATGAAATACCATTCA
ATGAAATGCAGTATAAATAA
(配列番号442)

```

【 図 9 5 】

Figure 95

```

AAAAAAGAAAACAAGCAATTACGATACGACGGTTAAAGATATCGGGGATA
TGAACCCGCATGTTTACGGTGGATCGATGCTGCTGAAAGTATGATATACGAG
CGCTTGTACGTAACACGAAAGACGGGATTAAGCCTTTACTAGCTAAAAAATG
GGGTGTGCTGAAAGTGGGAAGACATACACGTTCCATTTGAGAGATGACGTTA
AATTCATGATGGTACGCCAATTTGATGCTGACGCAAGTAAAGAAAAATTTGAC
CGAGTTCAAGAAAAAATAAATTTGATCTTTGGTTAAAGATTTCAACATTAAT
TGACAAATGTTAAAGTTAAAGTAAAGTACAGGTTGAAATGAAATTTGAAAGAA
GCATATCAACCTGCATTGGCTGAATTAAGCTAGCCTCGCTCCATATGATTTTGTG
TCTCCAAAAGACTTTAAAAACGGCAACAACAAAAGATGGCGTTAAAAAGTTCCG
ATGTTACTGGTCCGTTTAAATTAGGTGAACACAAAAAAGATGAGTCTGCAGAC
TTTAAACAAAATGATCAATACTGGGGCGAAAAGTCTAACTTAAACAAAGTAC
AAGCAAAAGTAAATGCTGCTGGTGAACACAGCAATCTTCAAGCAAAAAAAGG
TGAACAGCACTTTGCCCTCAGATGATGGAGTACAGATAGCTTAGACAAA
GACTCTTAAAAACAATTAAGAACTAGTGGTACTATCAAGTTAAGCGTAGTCA
ACCTATGAATACGAAAATGTTAGTTGCAATTTCTGGTAAAAAGATAACGCTG
TCAGTGCACAAAACAGTCAGACAAGCGGATGCTGATATGGTAAAAACAGATAA
AATTTGCCAAAAGAAATTTAGTGGTCAAGAAAAACCGCACTCAATTTATTG
CGAAAAATGTAACAGACATTAATTTGATATGCCAACAGTAAAGTATGACCTT
AAAAAGCAGAAATCAATTAAGTAAAGCTGGTTGGAAGAAAGTAAAGACAA
CGCATGTTGCTCAAAAAGATGGTAAAACTTGAATGGCAATGACTACTATGAC
AAAGGTTCTTCAAGTCAAAAAGAAACAGCAAGAACTTCAAGCAAGAAATTTA
AGAAAAATGGTATTAAGTTAAACATCAATGGCGAAACATCAGATAAAATGTC
TGAACGCTGACTTCTGGTGTATTGACTTAATGTTCAACCAAACTTTGGGGATT
ATTGACGATCCAAAAGTACTATTGACGACTTTAAAGCGAAAAATGGTATGA
AAGTGCACATCAGGCATTTGAGAATAAAGATAAAAATTAACACAGCAATTTG
GACGCTTTAAAAATCCAAAACGGTAAAGAGCGTTACAGCGTTATAAAAAACA
TTTTGAAACAGGTTGATGATGAAGGATCTTTATCCCTGTTTACACAGGTAGTA
TGACAGTTGTTGCGCCGAAAGATTTAGAAAAAGTATCATTACACAAATCAGAC
TACGAATACCATTCAATGAAATGCAATATAAATAA
(配列番号441)

```

【 図 9 7 】

Figure 97

```

ATGAGAAAACAACTAAAATGAGTGAATGTTACTTGCATCAGGGCTAATTTT
AACTGGTTGTGGCGGTAATAAAGGTTTAGAGGAGAAAAAGAAAACAAGCAA
TTAACGTATACGACGGTTAAGATATCGGGTATGAAATCCGCATGTTACGG
TGGATCAATGCTGCTGAAAGTATGATATACGAGCCGCTTGTACGTAACAGCA
AAGATGGTATTAAGCCTTTACTAGCTAAAAAATGGGATGTTGCTGAAAGATGGG
AAGACTTATACATTTCCATTTAAGAGATGATGGTAAATTTCCATGATGGAACAA
ATTTGATGCTGACGCAAGTAAAGAAAAATTTGATGCGGTTCAACAAAATAAAA
AATGCAATCTTGGTTAAAGATTTCAACATTAATGACAAATGTTAAAGTTAAA
GATAAGTACACGGTTGAATGAAATTTGAAAGAAAGCAGTATCAACCTGCAATGGC
TGAATTAGCGATGCTGCTGATGATTTGTTGCTGCTGAAAGTAAAGTAAATAA
ACGGTACAACAAAAGATGGCGTTAAAAAGTTGATGTTACTGGTCCATTTAAA
TTAGGTGAACACAAAAGATGAGTCTGCAGACTTTAACAAAAATGATCAAT
ACTGGGGCGAAAAGTCTAACTTAAACAAAGTACAAGCAAAAGTAAATGCCTGC
TGGTGAACAGCAATTCCTATCAATGAAAAAAGGTGAACGAACTTTGCCTTCA
CAGATGATAGAGGTACGGATAGCTTAGACAAAAGACTCTTAAAAACAATGAA
AGATACAGGTGACTATCAAGTTAAGCGTAGTCAACCTATGAATACGAAAATGT
TAGTTGCAATTTCTGGTAAAAAAGATAACGCTGCTGACGTAACAAACAGTCA
CAAGCGATTTGGTCATATGGTAAACAGAGATAAAAATGGCCAAAAGAAATTTAG
ATGGTCAAGAAAAACCGCAACTCAATTTTGGCAAAAATGGGATTAAGTTAA
AAACATCAATGGCGAAACATCAGATAAAAATGCTGAAACGCTGACTTCTGGT
ATTATGACTTAATGTTCAACCAAACTTGGGGATTTATGACGATCCACAAAGT
ACTATTGCAGCAATTAAGCGCAAAAATGGTTATGAAAGTGAACATCAGGGCAT
TGAGAACAAAAGATAAAAATATCAACAGCATTGATGACGCATTTAAAAATCAA
AACGGTAAAGAGCGTTCAAGCGCTTATAAAAAACATTTTGAACAAATTTGATG
ATGAAGGTATCTTTATCCCTAATTCACACGGTATGACAGTTGTTGGCCGCA
AAGATTTAGAAAAAGTATCATTACACAAATCAGATGAAATACCATTCAAT
GAAATGCAGTATAAATAA
(配列番号443)

```

【 図 9 8 】

Figure 98

ATGAGAAAACAACTAAAATGAGTGCAATGTTACTTGTCATCAGGGCTAATTTT
 AACTGGTTGTGGCGGTAATAAAGGTTTAGAGGAGAAAAAGAAAACAAGCAA
 TTAACGTATACGACGGTTAAAGATATCGGGATATGAATCCGCATGTTACGG
 TGGATCGATGCTGCTGAAAGTATGATATACGAGCCGCTGTACGTAACACGA
 AAGATGGGATTAAGCCTTTACTAGCTAAAAATGGGATGTGTCTGAAGATGG
 GAAGACATACACGTTCCATTTGAGAGATGACGTTAAATTCATGATGGTACGC
 CATTGTGCTGACGCAGTTAAGAAAAATATTGACGCAGTTCAAGAAAAACA
 AAAATGTCATTCTGGTTAAAGATTTCAACATTAATTTGCAATGTTAAAGTTA
 AAGATAAGTACACGGTTGAATTTAAATTTGAAAGAAGCATATCAACCTGCATTG
 GCTGAATTAGCGATGCCTCGCCATATGATTTGTATCTCCAAAAGACTTTAAA
 AACGGCACAACAAAAGATGGCGTTAAAAAGTTTCGATGGTACTGGTCCATTTA
 AATTAGGTGAACACAAAAGATGAGTCTGACAGACTTTATAAAAAATGATCA
 ATACTGGGGCAAAAAGTCTAACTTAAACAAAAGTACAAGCAAAAAGTAATGCCT
 GCTGGTGAACACAGATTCCATATCAATGAAAAAGGTGAAACAACTTTGGCCTT
 CACAGACGATAGAGGTACAGATAGCTTAGACAAAAGACTTTTAAAAACAATTG
 AAAGATACAGGTGACTATCAAGTTAAGCGTAGTCAACCTATGAATACGAAAA
 TGTTAGTGGTCAATCTGGTAAAAAAGATAACGCTGTGACGACAAAACAGTC
 AGCAAGCGATTGGTCAATGTTAAACAGAGATAAAATTTGCCAAAGAAATTT
 TAGATGGTCAAGAAAAACCGCAACTCAATTTTTCGAAAAAATGTAACAGA
 CATTAAATTCGATATGCCAACAGTAAAGTATGACCTTAAAAAGCAGAAATCAT
 TATTAGATGAAGCTGGTTGGAAGAAAGGTAAAGACAGCGATGTTTCGTCAAAA
 AGATGGTAAAAACCTTGAATGGCAATGTACTATGACAAAAGGTTCTTCAAGTC
 AAAAAGAACAGCAGAACTTACAAGCAGAAATTTAAGAAAAATGGGTATTAAG
 GTTAAACATCAATGGCGAAACATCAGATAAAAAATGCTGAAACGTCGACTTCTG
 GTGATTATGACTTAATGTTCACCAAACTTGGGGATTATTGTACGATCCACAA
 AGTACTATTGACGACTTTAAAGCGAAAAATGGTTATGAAAGTGCACACATCAG
 GCATTGAGAACAAAAGATAAAATATACAACAGCAATGATGACGCAATTTAAAT
 CCAAAACGGTAAAGAGCGTTACAGACGCTTATAAAAAACATTTTGAACAAAT
 GATGATGAAGGTATTTTATCCCTATTTCACACGGTAGTATGACAGTTGTTGCG
 CCGAAAGATTTAGAAAAAGTATCATTACACAATCAGATGAAATACCATT
 CAATGAAATGCAGTATAAATAA
 (配列番号444)

【 図 9 9 】

Figure 99

ATGAGAAAACAACTAAAATGAGTGCAATGTTACTTGTCATCAGGGCTAATTTT
 AACTGGTTGTGGCGGTAATAAAGGTTTAGAGGAGAAAAAGAAAACAAGCAA
 TTAACGTATACGACGGTTAAAGATATCGGGATATGAATCCGCATGTTACGG
 TGGATCGATGCTGCTGAAAGTATGATATACGAGCCGCTGTACGTAACACGA
 AAGATGGAAATAAGCCTTTACTAGCTAAAAATGGGATGTGTCTGAAGATGG
 GAAGACATATACATTTCCATTTGAGAGATGACGTTAAATTCATGATGGTACAC
 CATTGTGCTGACGCAGTTAAGAAAAATATTGATGCGGTTCAACAAAATAAA
 AAAATGTCATTCTGGTTAAAGATTTCAACATTAATTTGCAATGTTAAAGTTA
 AGATAAGTACACGGTTGAATTTAAATTTGAAAGAAGCATATCAACCTGCATTGG
 CTGAATTAGCGATGCCTCGCCATATGATTTGTGTCTCCAAAAGACTTTAAAA
 ACGGTACAACAAAAGATGGCGTTAAAAAGTTTCGATGGTACTGGTCCATTTAAA
 TTAGGTGAACATAAAAAAGATGAGTCTGACAGACTTTAACAAAATGATCAAT
 ACTGGGGCAAAAAGTCTAACTTAAACAAAGTACAAGCAAAAAGTAAATGCCTGC
 TGGTGAACACAGACTTCCATCAATGAAAAAAGGTGAAACGAACTTTGGCCTTCA
 CAGATGATAGAGGTACGGATAGCTTAGACAAAAGACTTTTAAAAACAATTGAA
 AGATACAGGTGACTATCAAGTTAAGCGTAGTCAACCTATGAATACGAAAATGT
 TAGTTGTCAATCTGGTAAAAAAGATAACGCTGTGAGTGAACAAAACAGTCAG
 ACAAGCGATTGGTCATATGGTAAACAGAGATAAAATTTGCCAAAGAAATTTTA
 GATGGTCAAGAAAAACCGCAACTCAATTTTTCGAAAAAATGGGTATTAAGT
 TTAATTTTCGATATGCCAACCGTAAAGTATGACCTTAAAAAGCAGAAATCATT
 TTAGATGAAGCTGGTTGGAAGAAAGGTAAAGACAGCGATGTTTCGTCAAAAAG
 ATGGTAAAAACCTTGAATGGCAATGTACTATGACAAAAGGTTCTTCAAGTCAA
 AAAGAACAGCAGAACTTACAAGCAGAAATTTAAGAAAAATGGGTATTAAGT
 TAAACATCAATGGCGAAACATCAGATAAAAAATGCTGAAACGTCGACTTCTGGT
 GATTATGACTTAATGTTCACCAAACTTGGGGATTATTGTACGATCCACAAAG
 TACTATTGACGACTTTAAAGCGAAAAATGGTTATGAAAGTGCACACATCAGGCA
 TTGAGAACAAAAGATAAAATATACAACAGCAATGATGACGCAATTTAAATCCA
 AAACGGTAAAGAGCGTTACAGCGCTTATAAAAAACATTTTGAACAAATTTGAT
 GATGAAGGTATCTTTATCCCTATTTCACACGGTAGTATGACAGTTGTTGCGCCG
 AAAGATTTAGAAAAAGTATCATTACACAATCAGATGAAATACCATTCAA
 TGAATGCAGTATAAATAA
 (配列番号445)

【 図 1 0 0 】

Figure 100

ATGAGAAAACAACTAAAATGAGTGCAATGTTACTTGTCATCAGGGCTAATTTT
 AACTGGTTGTGGCGGTAATAAAGGTTTAGAGGAGAAAAAGAAAACAAGCAA
 TTAACGTATACGACGGTTAAAGATATCGGGATATGAATCCGCATGTTACGG
 TGGATCAATGCTGCTGAAAGTATGATATACGAGCCGCTGTACGTAACACGA
 AAGATGGTATTAAGCCTTTACTAGCTAAAAATGGGATGTGTCTGAAGATGGG
 AAGACATACACGTTCCATTTGAGAGATGACGTTAAATTCATGATGGTACGCC
 ATTTGATGCTGACGCAGTTAAGAAAAATTTGACGCAGTTCAAGAAAAACAAA
 AAATTTGCAATCTGGTTAAAGATTTGACATTAATTTGACAAATGTTAAAGTTAA
 AGATAAGTACACGGTTGAATTTGAAAGAAGCATATCAACCTGCATTGG
 CTGAATTAGCGATGCCTCGTCCATATGATTTGTGTCTCCAAAAGACTTTAAAA
 ACGGTACAACAAAAGATGGCGTTAAAAAGTTTCGATGGTACTGGTCCATTTAAA
 TTAGGTGAACACAAAAGATGAGTCTGACAGACTTTAACAAAATGATCAAT
 ACTGGGGCAAAAAGTCTAACTTAAACAAAAGTACAAGCAAAAAGTAAATGCCTGC
 TGGTGAACACAGCAATTCATCAATGAAAAAAGGTGAAACGAACTTTGGCCTTCA
 CAGATGATAGAGGTACAGATAGCTTAGACAAAAGACTTTTAAAAACAATTGAA
 AGATACAGGTGACTATCAAGTTAAGCGTAGTCAACCTATGAATACGAAAATGT
 TAGTTGTCAATCTGGTAAAAAAGATAACGCTGTGAGTGAACAAAACAGTCAG
 ACAAGCGATTGGTCAATGTTAAACAGAGATAAAATTTGCCAAAGAAATTTTA
 GATGGTCAAGAAAAACCGCAACTCAATTTTTCGAAAAAATGTAACAGACA
 TTAATTTTCGATATGCCAACCGTAAAGTATGACCTTAAAAAGCAGAAATCATT
 TTAGATGAAGCTGGTTGGAAGAAAGGTAAAGACAGCGATGTTTCGTCAAAAAG
 ATGGTAAAAACCTTGAATGGCAATGTACTATGACAAAAGGTTCTTCAAGTCAA
 AAAGAACAGCAGAACTTACAAGCAGAAATTTAAGAAAAATGGGTATTAAGT
 TAAACATCAATGGCGAAACATCAGATAAAAAATGCTGAAACGTCGACTTCTGGT
 GATTATGACTTAATGTTCACCAAACTTGGGGATTATTGTACGATCCACAAAG
 TACTATTGACGACTTTAAAGCGAAAAATGGTTATGAAAGTGCACACATCAGGCA
 TTGAGAACAAGATAAAATATACAACAGCAATGATGACGCATTTAAAAATCCA
 AAACGGTAAAGAGCGTTACAGCGCTTATAAAAAACATTTTGAACAAATTTGAT
 GATGAAGGTATCTTTATCCCTATTTCACACGGTAGTATGACAGTTGTTGACCCA
 AAAGATTTAGAAAAAGTATCATTACACAATCAGATGAAATACCATTCAA
 TGAATGCAGTATAAATAA
 (配列番号446)

【 図 1 0 1 】

Figure 101

ATGAGAAAACAACTAAAATGAGTGCAATGTTACTTGTCATCAGGGCTAATTTT
 AACTGGTTGTGGCGGTAATAAAGGTTTAGAGGAGAAAAAGAAAACAAGCAA
 TTAACGTATACGACGGTTAAAGATATCGGGATATGAATCCGCATGTTACGG
 TGGATCAATGCTGCTGAAAGTATGATATACGAGCCGCTGTACGTAACACGA
 AAGATGGTATTAAGCCTTTACTAGCTAAAAATGGGATGTGTCTGAAGATGGG
 AAGACTTATACATTTCCATTTAAGAGATGATGTTAAATTCATGATGGAAACAA
 ATTTGATGCTGACGCAGTTAAGAAAAATATTGATGCGGTTCAACAAAATAAAA
 AATTGCAATCTGGTTAAAGATTTCAACATTAATTTGCAATGTTAAAGTTAAA
 GATAAGTACACGGTTGAATTTGAAAGAAGCATATCAACCTGCATTGGC
 TGAATTAGCGATGCCTCGTCCATATGATTTGTGTCTCCAAAAGACTTTAAAA
 ACGGTACAACAAAAGATGGCGTTAAAAAGTTTCGATGGTACTGGTCCATTTAAA
 TTAGGTGAACACAAAAGATGAGTCTGACAGACTTTAACAAAATGATCAAT
 ACTGGGGCAAAAAGTCTAACTTAAACAAAGTACAAGCAAAAAGTAAATGCCTGC
 TGGTGAACACAGCAATTCATCAATGAAAAAAGGTGAAACGAACTTTGGCCTTCA
 CAGATGATAGAGGTACGGATAGCTTAGACAAAAGACTTTTAAAAACAATTGAA
 AGATACAGGTGACTATCAAGTTAAGCGTAGTCAACCTATGAATACGAAAATGT
 TAGTTGTCAATCTGGTAAAAAAGATAACGCTGTGAGTGAACAAAACAGTCAGA
 CAAGCGATTGGTCAATGTTAAACAGAGATAAAATTTGCCAAAGAAATTTTAG
 ATGGTCAAGAAAAACCGCAACTCAATTTTTCGAAAAAATGTAACAGACAT
 TAATTTTCGATATGCCAACCGTAAAGTATGACCTTAAAAAGCAGAAATCATT
 TAGATGAAGCTGGTTGGAAGAAAGGTAAAGACAGGTGATGTTTCGTCAAAAAG
 TGTTAAAAACCTTGAATGGCAATGTACTATGACAAAAGGTTCTTCAAGTCAA
 AAGAACAGCAGAACTTACAAGCAGAAATTTAAGAAAAATGGGTATTAAGT
 AAACATCAATGGCGAAACATCAGATAAAAAATGCTGAAACGTCGACTTCTGGT
 ATTATGACTTAATGTTCACCAAACTTGGGGATTATTGTACGATCCACAAAGT
 ACTATTGACGACTTTAAAGCGAAAAATGGTTATGAAAGTGCACACATCAGGCA
 TGAGAACAAGATAAAATATACAACAGCAATGATGACGCATTTAAAAATCCA
 AACGGTAAAGAGCGTTACAGCGCTTATAAAAAACATTTTGAACAAATTTGAT
 ATGAAGGTATCTTTATCCCTATTTCACACGGTAGTATGACAGTTGTTGCGCCG
 AAAGATTTAGAAAAAGTATCATTACACAATCAGATGAAATACCATTCAA
 TGAATGCAGTATAAATAA
 (配列番号447)

【 102 】

Figure 102

ATGAGAAA... AACTAAAATGAGTGCAATGTTACTTGCAATCAGGGCTAATTT... AACTGGTTGTGGCGGTAATAAAGGTTT...

(配列番号448)

【 103 】

Figure 103

ATGAGAAA... AACTAAAATGAGTGCAATGTTACTTGCAATCAGGGCTAATTT... AACTGGTTGTGGCGGTAATAAAGGTTT...

(配列番号449)

【 104 】

Figure 104

ATGAGAAA... AACTAAAATGAGTGCAATGTTACTTGCAATCAGGGCTAATTT... AACTGGTTGTGGCGGTAATAAAGGTTT...

(配列番号450)

【 105 】

Figure 105

ATGAGAAA... AACTAAAATGAGTGCAATGTTACTTGCAATCAGGGCTAATTT... AACTGGTTGTGGCGGTAATAAAGGTTT...

(配列番号451)

【 図 1 0 6 】

Figure 106

TCATCTGATAGCAAAGATAAGGAAACAACCTCAATTAACATGCAATGGGTA
 CAACTGAAATTAAGGGAAACCAAGCGTGTGTTACGCTATATCAAGGTGCC
 ACTGACGTCGCTGATCTTTAGGTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATG
 GACACAAAACCGAAATTCGAATACATAAAAAATGATTTAAAGATACTAAG
 ATTGTAGGTCAAGAACCTGCACCTAAGTTAGAGGAAATCTCTAAATTAACCC
 GGACTTAATTGTCGCGTCAAAAGTTAGAAATGAAAAAGTTACGATCAATTAT
 CTAATAATCGCACCAACAGTTTCTACTGATACAGTTTCAAATTCAAAGATACA
 ACTAAGTTAATGGGGAAAGCTTTAGGGAAAGAAAAAGAGCTGAAGATTTAC
 TTAATAAGTACGATGATAAAGTAGCTGCATCCAAAAAGATGCAAAAGCAAA
 GTATAAAGATGCATGGCCATTGAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATC
 ATACAAGAATTTATGCTGGTGGATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGA
 TTCAAACGTAATAAAGACTTACAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATATTAT
 CCAACTTACATCTAAGAAAGTATCCATTAATGAACGCTGATCATAITTTTGT
 AGTAAAAATCAGATCCAAATGCGAAAGATGCTGCATTAAGTTAAAAAGACTGAA
 AGCGAATGGACTTCAAGTAAAGAGTGAAAAAATTTAGACGCAGTTAAAAACA
 ACCAAGTATCTGATGATTTAGATGAAATCACTTGGAACTTAGCTGGCGGATAT
 AAATCATCTAATAAATTTATGACGATTTATATGAAAAAGTTAAATTTGAAAA
 ACAATCAAAATAA

(配列番号452)

【 図 1 0 7 】

Figure 107

ATGAATAAAGTAATTAATGCTTGTGTTACGCTTGCCTTCTACTTGTITTA
 GCAGGATGTAGTGGGAATTCAAATAAACCAATCATCTGATAACAAAGATAAGG
 AAACAACCTCAATTAACATGCAATGGGTACAACCTGAAATTAAGGGAAACC
 AAAGCGTGTGTTACGCTATATCAAGGTGCCACTGACGTCGCTGTATCTTTAG
 GTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATGGACAAAAACCGAAATTCGA
 ATACATAAAAAATGATTTAAAGATACTAAGATTGTAGGTCAAGAACCTGGC
 CCTAACTTAGAGGAAATCTCTAAATTAACCCGACTTAATTTGTCGCTCAAA
 AGTTAGAAATGAAAAAGTTTACGATCAATTAATCTAAAAATCGCACCAACAGTTT
 CTACTGATACAGTTTCAAATTCAAAGATACAACCTAAGTTAATGGGGAAAGCT
 TTAGGGAAAGAAAAAGAGCTGAAGATTTACTTAAAAAGTACGATGATAAAG
 TAGCTGCATTCCAAAAAGATGCAAAAGCAAAAGTATAAAGATGCATGGCCATT
 GAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATCATAACAAGAATTTATGCTGGTG
 GATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGATTCAAACGTAATAAAGACTTA
 CAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATATTATCCAACCTTACATCTAAGAA
 GCATTCATTAATGAACGCTGATCATAITTTTGTAGTAAAAATCAGATCCAAAT
 GCGAAAGATGCTGCATTAAGTAAAAAGACTGAAAGCGAATGGACTTCAAGTA
 AAGAGTGGAAAAATTTAGACGCAGTTAAAAACAACCAAGTATCTGATGATTT
 AGATGAAATCACTTGGAACTTAGCTGGCGGATATAAATCATCTAATAAATTTA
 TTGACGATTTATATGAAAAAGTTAAATTTGAAAAACAATCAAAATAA

(配列番号453)

【 図 1 0 8 】

Figure 108

ATGAATAAAGTAATTAATGCTTGTGTTACGCTTGCCTTCTACTTGTITTA
 GCAGGATGTAGTGGGAATTCAAATAAACCAATCATCTGATAACAAAGATAAGG
 AAACAACCTCAATTAACATGCAATGGGTACAACCTGAAATTAAGGGAAACC
 AAAGCGTGTGTTACGCTATATCAAGGTGCCACTGACGTCGCTGTATCTTTAG
 GTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATGGACAAAAACCGAAATTCGA
 ATACATAAAAAATGATTTAAAGATACTAAGATTGTAGGTCAAGAACCTGCA
 CCTAACTTAGAGGAAATCTCTAAATTAACCCGACTTAATTTGTCGCTGCAAA
 AGTTAGAAATGAAAAAGTTTACGATCAATTAATCTAAAAATCGCACCAACAGTTT
 CTACTGATACAGTTTCAAATTCAAAGATACAACCTAAGTTAATGGGGAAAGCT
 TTAGGGAAAGAAAAAGAGCTGAAGATTTACTTAAAAAGTACGATGATAAAG
 TAGCTGCATTCCAAAAAGATGCAAAAGCAAAAGTATAAAGATGCATGGCCATT
 GAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATCATAACAAGAATTTATGCTGGTG
 GATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGATTCAAACGTAATAAAGACTTA
 CAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATAATTCCAACCTTACATCTAAGAA
 GCATTCATTAATGAACGCTGATCATAITTTTGTAGTAAAAATCAGATCCAAAT
 GCGAAAGATGCTGCATTAAGTAAAAAGACTGAAAGCGAATGGACTTCAAGTA
 AAGAGTGGAAAAATTTAGACGCAGTTAAAAACAACCAAGTATCTGATGATTT
 AGATGAAATCACTTGGAACTTAGCTGGCGGATATAAATCTTCAITTAACCTTA
 TTGACGATTTATATGAAAAAGTTAAATTTGAAAAACAATCAAAATAA

(配列番号454)

【 図 1 0 9 】

Figure 109

ATGAATAAAGTAATTAATGCTTGTGTTACGCTTGCCTTCTACTTGTITTA
 GCAGGATGTAGTGGGAATTCAAATAAGCAATCATCTGATAGCAAGATAAGG
 AAACAACCTCAATTAACATGCAATGGGTACAACCTGAAATTAAGGGAAACC
 AAAGCGCTGTTACACTATATCAAGGTGCCACTGACGTCGCTGTATCTTTAG
 GTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATGGACAAAAACCGAAATTCGA
 ATACATAAAAAATGATTTAAAGATACTAAGATTGTAGGTCAAGAACCTGCA
 CCTAACTTAGAAGAAATCTCTAAATTAACCCGACTTAATTTGTCGCTGCAAA
 AGTTAGAAATGAAAAAGTTTACGATCAATTAATCTAAAAATCGCACCAACAGTTT
 CTACTGATACAGTTTCAAATTCAAAGATACAACCTAAGTTAATGGGGAAAGCT
 TTAGGGAAAGAAAAAGAGCTGAAGATTTACTTAAAAAGTACGATGATAAAG
 TAGCTGCATTCCAAAAAGATGCAAAAGCAAAAGTATAAAGATGCATGGCCATT
 GAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATCATAACAAGAATTTATGCTGGTG
 GATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGATTCAAACGTAATAAAGACTTA
 CAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATATTATCCAACCTTACATCTAAGAA
 GCATTCATTAATGAACGCTGATCATAITTTTGTAGTAAAAATCAGATCCAAAT
 GCGAAAGATGCTGCATTAAGTAAAAAGACTGAAAGCGAATGGACTTCAAGTA
 AAGAGTGGAAAAATTTAGACGCAGTTAAAAACAACCAAGTATCTGATGATTT
 AGATGAAATCACTTGGAACTTAGCTGGCGGATATAAATCATCTAATAAATTTA
 TTGACGATTTATATGAAAAAGTTAAATTTGAAAAACAATCAAAATAA

(配列番号455)

【 図 1 1 0 】

Figure 110

ATGAATAAAGTAATTAATAAGCTTGTGTTACGCTTGCTTTCCTACTTGTITTA
 GCAGGATGTAGTGGGAATTCAAATAAACAATCATCTGATAACAAAGATAAGG
 AAACAACCTCAAATTAACATGCAATGGGTACAACCTGAAATTAAGGGAAACC
 AAAGCGTGTGTTACGCTATATCAAGGTGCCACTGACGTCGCTGTATCTTTAG
 GTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATGGACACAAAAACCGAAATTCGA
 ATACATAAAAAATGATTTAAAAGATACTAAGATTGTAGGTCAAGAACCTGCA
 CCTAACTTAGAGGAAATCTCTAAATTAACCGGACTTAATTGTCGCGTCAAA
 AGTTAGAAATGAAAAAGTTTACGATCAATTAATAAATCGCACCAACAGTTT
 CTACTGATACAGTTTTCAAATTCAAAGATACAACCTAAGTTAATGGGGAAAGCT
 TTAGGGAAAGAAAAAGCTGAAGATTTACTTAAAAAGTACGATGATAAAG
 TAGCTGCATTCCAAAAAGATGCAAAAGCAAAGTATAAAGATGCATGGCCATT
 GAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATCATACAAGAATTTATGCTGGTG
 GATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGATTCAAACGTAATAAAGACTTA
 CAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATATTATCCAACCTACATCCAAAGAAA
 GCATTCCATTAATGAACGCTGATCATATTTTGTAGTAAAATCAGATCCAAAT
 GCGAAAGATGCTGCATTAGTTAAAAGACTGAAAGCGAATGGACTTCAAGTA
 AAGAATGAAAAATTTAGACGCGAGTTAAAAACAACCAAGTATCTGATGATTT
 AGATGAAATCACTGGAACTTAGCTGGCGGATATAAATCATCATTAAAATTGA
 TTGACGATTTATATGAAAAGTTAAATATTGAAAAACAATCAAATAA
 (配列番号456)

【 図 1 1 1 】

Figure 111

ATGAATAAAGTAATTAATAAGCTTGTGTTACGCTTGCTTTCCTACTTGTITTA
 GCAGGATGTAGTGGGAATTCAAATAAACAATCATCTGATAACAAAGATAAGG
 AAACAACCTCAAATTAACATGCAATGGGTACAACCTGAAATTAAGGGAAACC
 AAAGCGTGTGTTACGCTATATCAAGGTGCCACTGACGTCGCTGTATCTTTAG
 GTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATGGACACAAAAACCGAAATTCGA
 ATACATAAAAAATGATTTAAAAGATACTAAGATTGTAGGTCAAGAACCTGCA
 CCTAACTTAGAGGAAATCTCTAAATTAACCGGACTTAATTGTCGCGTCAAA
 AGTTAGAAATGAAAAAGTTTACGATCAATTAATAAATCGCACCAACAGTTT
 CTACTGATACAGTTTTCAAATTCAAAGATACAACCTAAGTTAATGGGGAAAGCT
 TTAGGGAAAGAAAAAGCTGAAGATTTACTTAAAAAGTACGATGATAAAG
 TAGCTGCATTCCAAAAAGATGCAAAAGCAAAGTATAAAGATGCATGGCCATT
 GAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATCATACAAGAATTTATGCTGGTG
 GATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGATTCAAACGTAATAAAGACTTA
 CAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATATTATCCAACCTACATCAAAGAAA
 GCATTCCATTAATGAACGCTGATCATATTTTGTAGTAAAATCAGATCCAAAT
 GCGAAAGATGCTGCATTAGTTAAAAGACTGAAAGCGAATGGACTTCAAGTA
 AAGAATGAAAAATTTAGACGCGAGTTAAAAACAACCAAGTATCTGATGATTT
 AGATGAAATCACTGGAACTTAGCTGGCGGATATAAATCATCATTAAAATTGA
 TTGACGATTTATATGAAAAGTTAAATATTGAAAAACAATCAAATAA
 (配列番号457)

【 図 1 1 2 】

Figure 112

ATGAATAAAGTAATTAATAAGCTTGTGTTACGCTTGCTTTCCTACTTGTITTA
 GCAGGATGTAGTGGGAATTCAAATAAACAATCATCTGATAACAAAGATAAGG
 AAACAACCTCAAATTAACATGCAATGGGTACAACCTGAAATTAAGGGAAACC
 AAAGCGTGTGTTACGCTATATCAAGGTGCCACTGACGTCGCTGTATCTTTAG
 GTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATGGACACAAAAACCGAAATTCGA
 ATACATAAAAAATGATTTAAAAGATACTAAGATTGTAGGTCAAGAACCTGCA
 CCTAACTTAGAGGAAATCTCTAAATTAACCGGACTTAATTGTCGCGTCAAA
 AGTTAGAAATGAAAAAGTTTACGATCAATTAATAAATCGCACCAACAGTTT
 CTACTGATACAGTTTTCAAATTCAAAGATACAACCTAAGTTAATGGGGAAAGCT
 TTAGGGAAAGAAAAAGCTGAAGATTTACTTAAAAAGTACGATGATAAAG
 TAGCTGCATTCCAAAAAGATGCAAAAGCAAAGTATAAAGATGCATGGCCATT
 GAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATCATACAAGAATTTATGCTGGTG
 GATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGATTCAAACGTAATAAAGACTTA
 CAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATATTATCCAACCTACATCAAAGAAA
 GCATTCCATTAATGAACGCTGATCATATTTTGTAGTAAAATCAGATCCAAAT
 GCGAAAGATGCTGCATTAGTTAAAAGACTGAAAGCGAATGGACTTCAAGTA
 AAGAATGAAAAATTTAGACGCGAGTTAAAAACAACCAAGTATCTGATGATTT
 AGATGAAATCACTGGAACTTAGCTGGCGGATATAAATCATCATTAAAATTGA
 TTGACGATTTATATGAAAAGTTAAATATTGAAAAACAATCAAATAA
 (配列番号458)

【 図 1 1 3 】

Figure 113

ATGAATAAAGTAATTAATAAGCTTGTGTTACGCTTGCTTTCCTACTTGTITTA
 GCAGGATGTAGTGGGAATTCAAATAAACAATCATCTGATAACAAAGATAAGG
 AAACAACCTCAAATTAACATGCAATGGGTACAACCTGAAATTAAGGGAAACC
 AAAGCGTGTGTTACGCTATATCAAGGTGCCACTGACGTCGCTGTATCTTTAG
 GTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATGGACACAAAAACCGAAATTCGA
 ATACATAAAAAATGATTTAAAAGATACTAAGATTGTAGGTCAAGAACCTGCA
 CCTAACTTAGAGGAAATCTCTAAATTAACCGGACTTAATTGTCGCGTCAAA
 AGTTAGAAATGAAAAAGTTTACGATCAATTAATAAATCGCACCAACAGTTT
 CTACTGATACAGTTTTCAAATTCAAAGATACAACCTAAGTTAATGGGGAAAGCT
 TTAGGGAAAGAAAAAGCTGAAGATTTACTTAAAAAGTACGATGATAAAG
 TAGCTGCATTCCAAAAAGATGCAAAAGCAAAGTATAAAGATGCATGGCCATT
 GAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATCATACAAGAATTTATGCTGGTG
 GATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGATTCAAACGTAATAAAGACTTA
 CAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATATTATCCAACCTACATCAAAGAAA
 GCATTCCATTAATGAACGCTGATCATATTTTGTAGTAAAATCAGATCCAAAT
 GCGAAAGATGCTGCATTAGTTAAAAGACTGAAAGCGAATGGACTTCAAGTA
 AAGAATGAAAAATTTAGACGCGAGTTAAAAACAACCAAGTATCTGATGATTT
 AGATGAAATCACTGGAACTTAGCTGGCGGATATAAATCATCATTAAAATTGA
 TTGACGATTTATATGAAAAGTTAAATATTGAAAAACAATCAAATAA
 (配列番号459)

【 図 1 1 4 】

Figure 114

ATGAATAAAGTAATTAATAATGCTTGTGTACGCTTCTTCTACTTGTTTA
GCAGGATGTAGTGGGAATTCAAATAACAATCATCTGATAACAAAGATAAGG
AAACAACCTCAATTAACATGCAATGGGTACAACCTGAAATTAAGGGAAACC
AAAGCGTGTGTACGCTATATCAAGGTGCCACTGACGTCGCTGTATCTTAG
GTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATGGACACAAAAACCGAAATTCGA
ATACATAAAAAATGATTTAAAAGATACTAAGATTGTAGGTCAAGAACCTGCA
CCTAACTTAGAGGAAATCTCTAAATTAACCCGACTTAATTGTCGCGTCAAA
AGTTAGAAATGAAAAGTTTACGATCAATTAATAATCGCACCAACAGTTT
CTACTGATACAGTTTCAAATCAAAAGATACAACCTAAGTTAATGGGAAAAGCT
TTAGGGAAAGAAAAGAGCTGAAGATTACTTAAAAAGTACGATGATAAAG
TAGCTGCATTCAAAAAGATGCAAAAGCAAAGTATAAAGATGCATGGCCATT
GAAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATCATACAAGAAATTTATGCTGGTG
GATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGATTCAAACGTAATAAAGACTTA
CAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATAATTAACAACCTACATCTAAAGAAA
GCATTCCATTAATGAACGCTGATCATATTTTGTAGTAAAATCAGATCCAAAT
GCGAAAGATGCTGCATTAGTTAAAAAGACTGAAAGCGAATGGACTTCAAGTA
AAGAGTGGAAAAATTTAGACGCGAGTTAAAAACAACCAAGTATCTGATGATT
AGATGAAATCACTTGGAACTTAGCTGGCGGATATAAATCTTCATTAACCTTA
TTGACGATTTATATGAAAAGTTAAATATTGAAAAACAATCAAAATAA
(配列番号460)

【 図 1 1 5 】

Figure 115

ATGAATAAAGTAATTAATAATGCTTGTGTACGCTTCTTCTACTTGTTTA
GCAGGATGTAGTGGGAATTCAAATAACAATCATCTGATAACAAAGATAAGG
AAACAACCTCAATTAACATGCAATGGGTACAACCTGAAATTAAGGGAAACC
AAAGCGTGTGTACGCTATATCAAGGTGCCACTGACGTCGCTGTATCTTAG
GTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATGGACACAAAAACCGAAATTCGA
ATACATAAAAAATGATTTAAAAGATACTAAGATTGTAGGTCAAGAACCTGCA
CCTAACTTAGAGGAAATCTCTAAATTAACCCGACTTAATTGTCGCGTCAAA
AGTTAGAAATGAAAAGTTTACGATCAATTAATAATCGCACCAACAGTTT
CTACTGATACAGTTTCAAATCAAAAGATACAACCTAAGTTAATGGGAAAAGCT
TTAGGGAAAGAAAAGAGCTGAAGATTACTTAAAAAGTACGATGATAAAG
TAGCTGCATTCAAAAAGATGCAAAAGCAAAGTATAAAGATGCATGGCCATT
GAAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATCATACAAGAAATTTATGCTGGTG
GATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGATTCAAACGTAATAAAGACTTA
CAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATAATTAACAACCTACATCTAAAGAAA
GCATTCCATTAATGAACGCTGATCATATTTTGTAGTAAAATCAGATCCAAAT
GCGAAAGATGCTGCATTAGTTAAAAAGACTGAAAGCGAATGGACTTCAAGTA
AAGAGTGGAAAAATTTAGACGCGAGTTAAAAACAACCAAGTATCTGATGATT
AGATGAAATCACTTGGAACTTAGCTGGCGGATATAAATCTTCATTAACCTTA
TTGACGATTTATATGAAAAGTTAAATATTGAAAAACAATCAAAATAA
(配列番号461)

【 図 1 1 6 】

Figure 116

ATGAATAAAGTAATTAATAATGCTTGTGTACGCTTCTTCTACTTGTTTA
GCAGGATGTAGTGGGAATTCAAATAACAATCATCTGATAACAAAGATAAGG
AAACAACCTCAATTAACATGCAATGGGTACAACCTGAAATTAAGGGAAACC
AAAGCGTGTGTACGCTATATCAAGGTGCCACTGACGTCGCTGTATCTTAG
GTGTTAAACCTGTAGGTGCTGTAGAATCATGGACACAAAAACCGAAATTCGA
ATACATAAAAAATGATTTAAAAGATACTAAGATTGTAGGTCAAGAACCTGCA
CCTAACTTAGAGGAAATCTCTAAATTAACCCGACTTAATTGTCGCGTCAAA
AGTTAGAAATGAAAAGTTTACGATCAATTAATAATCGCACCAACAGTTT
CTACTGATACAGTTTCAAATCAAAAGATACAACCTAAGTTAATGGGAAAAGCT
TTAGGGAAAGAAAAGAGCTGAAGATTACTTAAAAAGTACGATGATAAAG
TAGCTGCATTCAAAAAGATGCAAAAGCAAAGTATAAAGATGCATGGCCATT
GAAAAGCTTCAGTTGTTAACTCCGTGCTGATCATACAAGAAATTTATGCTGGTG
GATATGCTGGTGAATCTTAAATGATTTAGGATTCAAACGTAATAAAGACTTA
CAAAAACAAGTTGATAATGGTAAAGATAATTAACAACCTACATCTAAAGAAA
GCATTCCATTAATGAACGCTGATCATATTTTGTAGTAAAATCAGATCCAAAT
GCGAAAGATGCTGCATTAGTTAAAAAGACTGAAAGCGAATGGACTTCAAGTA
AAGAATGGAAAAATTTAGACGCGAGTTAAAAACAACCAAGTATCTGATGATT
AGATGAAATCACTTGGAACTTAGCTGGCGGATATAAATCATCAATTAACCTTA
TTGACGATTTATATGAAAAGTTAAATATTGAAAAACAATCAAAATAA
(配列番号462)

【 図 1 1 7 】

Figure 117

AAAGAATCATCAACTAAAGATACTATTCGGTAAAAGATGAAAATGGTACAG
TAAAAGTACCTAAAGATGCAAAACGATCGTTGTATTAGAGTACTCATTGCA
GATGCATTAGCAGCATTAGACGTTAAACCAGTTGGTATTGCTGATGATGGTAA
GAAAAACGATATCATTAAACAGTTAGAGAAAAATTTGGGGATTATCTTCTG
TAGGTACACGTAACACAGCCAACTTAGAGGAAATTAATAAATTAACCCGGA
TTTAATTCGCTGATAGCAGTAGACATAAAGGATTAATAAAGAAATTAACA
AAATTGCACCAACATTATCATTAAAGATTTTATGATGGAGACTACAACAAAC
ATTAATTCGTTCAAAACAATGCTAAAGCTTTAAATAAAGAAAAAGAGGCG
AAAAGCGTCTTGTGTAACATGATAAATTAATAAAGTATAAAGATGAAAT
TAAGTTGATAGAAATCAAAAAGTCTCCAGCAGTTGTTGCTAAAGCTGGTT
TATTAGCACATCCAACTATTCATATGTTGGACAATTTTAAACGAACTTGGAT
TAAAAATGCATTAAGTATGATGTAACAAAAGGTTTAAAGTAAATCTTGAAA
GGACCTTACTTACAATAGATACTGAACATTTAGCTGACTTAAATCTCTGAAC
CATGATTTATGACAGATAATGCTAAAAAGATTCTGCTGAATTAAGAAGT
TACAAGAAAGTCAAACTTGGAAAAAGTTGAAACGCGTAAAAATAATTCGCGT
GGATATTTGACCGTGTGTTGGGCAAGATCTCGTGCTTAATTTCTCTGA
AGAAATGGCTAAAGAACTTGTGAATTAATAAAGAAAGAAACAAAAA
(配列番号463)

【 図 1 1 8 】

Figure 118

ATGAAGTTATACATATTAAGGAGTGAACGATGAGAGGCTAAAACTTTTATG
TATATTGGGATTAATAGTTGCCCTAATTTTTAGTTGCAGCTTGTGGTAATACGGA
TAATTCAGTAAAAAGAAATCATCAACTAAAGATACTATTTTCGGTAAAAAGATG
AAAAATGGCACAGTAAAAGTACCTAAAGATGCAAAACGTATCGTTGTATTAGA
GTACTCATTGTCAGATGCATTAGCAGCATTAGACGTTAAACCAAGTTGGTATTG
CTGATGATGGTAAGAAAAACGTATCATTAAACCAAGTTAGAGAAAAAATTGG
GGATTATACTTCTGTAGGTACACGTAACAGCCAAACTTAGAGGAAAAATTAGTA
AATTAACACCGGATTTAATTATCGCTGATAGCAGTAGACATAAAGGTATTAAT
AAAGAATTAACAAAAATTGCACCAACATTATCATTAAAGAGTTTGTGGGAGA
CTACAAACAAAACTAATTCGTTCAAAACAATTGCTAAAGCTTTAAATAAAG
AAAAAGAAGCGAAAAGCGCTTCTGCTGAACATGATAAATTAATCAAAAAGTA
TAAAGATGAAATTAAGTTTGTAGATAAATAAAGTGCCTCCAGCAGTTGTG
CTAAAGCTGGTTATTAGCACATCCAACTATTCATATGTTGGACAATTTTTAA
ACGAACTTGGATTAAAAAATGCAITTAAGTGATGATGTAACAAAAAGTTAAAGT
AAATACTTGAAGGACCTTACTTACAATTAGATACTGAACATTTAGCTGACTT
AAATCCTGAACGATGATTATTATGACAGATAATGCTAAAAAAGATTCTGCTG
AATTCAGAAGTTACAAGAAGATCCAACCTTGGAAAAAGTTGAATGCAGTTAA
AAATAATCGCGTGGATATTGTTGACCGTGATGTTTGGCAAGATCTCGTGCT
TAATTTCTTCTGAAGAAATGGCTAAAGAACTTGTGAATTATCAAAAAAGAA
CAAAAAGTAA
(配列番号464)

【 図 1 1 9 】

Figure 119

ATGAGAGGCTAAAACTTTTAGTATATTGGGATTAATAGTTGCCTTACTTTTA
GTTGCAGCTTGTGGTAATACGGATAATTCAGTAAAAAGAATCATCAACTAA
AGATACTATTTTCGGTAAAAGATGAAAAATGGTACAGTAAAAGTACCTAAAGAT
GCAAAACGTATCGTTGTATTAGAGTACTCATTTCGAGATGCATTAGCAGCATT
AGACGTTAAACCAAGTTGGTATTGCTGATGATGGTAAGAAAAAACGTATCATT
AACCAGTTAGAGAAAAAATGGGGATTACTTCTGTAGGTACACGTAAACA
GCCAAACTTAGAGGAAATTAATAAATAAATAAACCAGTTAATTATCGCTGATA
GCAGTAGACATAAAGGTATTAATAAAGAAATTAACAAAAATTGCACCAACATT
ATCATTAAAGAGTTTGTGGAGACTACAAACAAAAATTAATTCGTTCAAAA
CAATTGCTAAAGCTTTAAATAAAGAAAAAGAAGCGAAAAACGCTTGTCTGA
GCATGATAAATTAATCAATAAGTATAAAGATGAAATTAATTTGATAGAAATC
AAAAAGTCTCCAGCAGTAGTTGCTAAAGCTGGTTATTAGCACATCCAAAC
TATTCATATGTTGGACAATTTTAAACGAACTAGGATTTAAAAATGCATTAAG
TGACGATGTAACAAAAAGTTTAAAGTAAATTTGAAAGGACCTTACTTACAAT
TAGACACTGAACATTTAGCTGATTTAAATCCAGAGCGTATGATCATTATGACA
GATCATGCTAAAAAAGATTCTGCTGAATCAAGAAGTTACAAGAAGATGCAA
CATGGAAAAAGTTGAATGCAGTTAAAAATAATCGCGTGGATATTGTTGACCGT
GATGTTTGGCAAGATCTCGTGGCTAATTTCTTCTGAAGAAATGGCTAAAGA
ACTTGTGAATTTATCAAAAAAAGAACAAAAAGTAA
(配列番号465)

【 図 1 2 0 】

Figure 120

ATGAGAGGCTAAAACTTTTAGTATATTGGGATTAATAGTTGCCTTATTTTIA
GTTGCAGCTTGTGGTAATACGGATAATTCAGTAAAAAGAATCATCAACTAA
AGATACTATTTTCGGTAAAAGATGAAAAATGGTACAGTAAAAGTACCTAAAGAT
GCAAAACGTATCGTTGTATTAGAGTACTCATTTCGAGATGCATTAGCAGCATT
AGACGTTAAACCAAGTTGGTATTGCTGATGATGGTAAGAAAAAACGTATCATT
AACCAGTTAGAGAAAAAATTCGGGATTACTTCTGTAGGTACACGTAAACAG
CCAAACTTAGAGGAAATTAGTAAATTAACCCGGATTTAATTAATCGCTGATAG
CAGTAGACATAAAGGTATTAATAAAGAATTAACAAAAATTGCACCAACATTA
TCATTAAGAGTTTGTATGGTACTACAAGCAAAATATCGATGCTTTCAAGAC
AATTCGAAAAGCTTTAGATAAAGAAAAAGAAGCGAAAAACGCTTCTGCTGAA
CATGATAAATTAATCAATAAGTATAAAGATGAAATTAATTTGATAGAAATCA
AAAAGTCTTCCAGCAGTTGTTGCGAAAGCTGGTTATTAGCACATCCAACT
ATTGCTATGTTGGACAATTTTAAACGAACTTGGATTTAAAAATGCATTAAGT
GATGATGTAACAAAAGGTTAAGTAAATACTTGAAGGACCTTACTTACAAT
AGATACTGAACATTTAGCTGACTTAAATCCTGAACGATGATTATTATGACAG
ATAATGCTAAAAAGATTCTGCTGAATTCAGAAGTTACAAGAAGATGCAAC
ATGAAAAAATGAAATGCAGTTAAAAATAATCGTGTGATATTGTTGACCGTG
ATGTTTGGCAAGATCTCGTGCTTAAATTTCTTCTGAAGAAATGGCTAAAGAA
CTTGTGAATTTATCAAAAAAAGAACAAAAAGTAA
(配列番号466)

【 図 1 2 1 】

Figure 121

ATGAGAGGCTAAAACTTTTAGTATATTGGGATTAATAGTTGCCTTACTTTTA
GTTGCAGCTTGTGGTAATACGGATAATTCAGTAAAAAGAATCATCAACTAA
AGATACTATTTTCGGTAAAAGATGAAAAATGGTACAGTAAAAGTACCTAAAGAT
GCAAAACGTATCGTTGTATTAGAGTACTCATTTCGAGATGCATTAGCAGCATT
AGACGTTAAACCAAGTTGGTATTGCTGATGATGGTAAGAAAAAACGTATCATT
AACCAGTTAGAGAAAAAATGGGGATTACTTCTGTAGGTACACGTAAACA
GCCAAACTTAGAGGAAATTAGTAAATTAACCCGGATTTAATTAATCGCTGATA
GCAGTAGACATAAAGGTATTAATAAAGAAATTAACAAAAATTGCACCAACATT
ATCATTAAAGAGTTTGTATGGAGACTACAAACAAAACTAATTCGTTCAAAA
CAATTCGTAAGCTTTAAATAAAGAAAAAGAAGCGAAAAACGCTTCTGCTGA
GCATGATAAATTAATCAATAAGTATAAAGATGAAATTAATTTGATAGAAATC
AAAAAGTCTCCAGCAGTAGTTGCTAAAGCTGGTTATTAGCACATCCAAAC
TATTCATATGTTGGACAATTTTAAACGAACTAGGATTTAAAAATGCATTAAG
TGACGATGTAACAAAAAGTTTAAAGTAAATTTTGAAGGACCTTACTTACAAT
TAGACACTGAACATTTAGCTGATTTAAATCCAGAGCGTATGATCATTATGACT
GATCAGCTAAAAAAGATTCTGCTGAATTCAGAATTAACAAGAAGATGCAA
CATGGAAAAAATGAAATGCAGTTAAAAATAATCGCGTGGATATTGTTGACCGT
GATGTTTGGCAAGATCTCGTGGCTAATTTCTTCTGAAGAAATGGCTAAAGA
ACTTGTGAATTTATCAAAAAAAGAACAAAAAGTAA
(配列番号467)

【 図 1 2 2 】

Figure 122

ATGAGAGGTCTAAAACTTTTAGTATATTGGGATTAATAGTTGCCCTTACTTTTA
 GTTGCAGCTTGTGGTAATACGGATAATTCAAGTAAAAAGAATCATCAACTAA
 AGATACTATTTCCGGTAAAAGATGAAAATGGTACAGTAAAAGTACCTAAAGAT
 GCAAAACGTATCGTTGTATTAGAGTACTCATTGTCAGATGCATTAGCAGCATT
 AGACGTTAAACCAAGTTGGTATTGCTGATGATGGTAAGAAAAACGTATCATT
 AACCAGTTAGAGAAAAATTTGGGGATTACTTCTGTAGGTACACGTAACA
 GCCAAACTTAGAAGAAATTAGTAAATTAACCCGGATTTAATTATCGCTGATA
 GCAGTAGACATAAAGGTATTAATAAAGAAATTAACAAAAATTCACCAACATT
 ATCATTAAAGAGTTTTGATGGAGACTACAAACAAAATATTAATTCGTTCAAAA
 CAATTGCTAAAGCTTTAAATAAAGAAAAAGAGCGAAAAACGTTCTTGCTGA
 GCATGATAAATTAATCAATAAGTATAAAGATGAAATTAATTTGATAGAAATC
 AAAAAAGTCTCCAGCAGTAGTTGCTAAAGCTGGTTTATTAGCACATCCAAAC
 TATTCATATGTTGGACAATTTTAAACGAACACTAGGATTTAAAAATGCATTAAG
 TGACGATGTAACAAAAGGTTAAGTAAATATTGAAAGGACCTTACTTACAAT
 TAGACACTGAACATTTAGCTGATTTAAATCCAGAGCGTATGATCATTATGACA
 GATCATGCTAAAAAGATTCTGCTGAAATCAAGAAGTTACAAGAAGATGCAA
 CATGAAAAAGTTGAATGCAGTTAAAAATAATCGCGTGGATATTGTTGACCGT
 GATGTTTGGGCAAGATCTCGTGGCTAATTTCTCTGAAGAAATGGCTAAAGA
 ACTTGTGAATTATCAAAAAAGAACAAAAGTAA
 (配列番号468)

【 図 1 2 3 】

Figure 123

ATGAGAGGTCTAAAACTTTTAGTATATTGGGATTAATAGTTGCCCTTACTTTTA
 GTTGCAGCTTGTGGTAATACGGATAATTCAAGTAAAAAGAATCATCAACTAA
 AGATACTATTTCCGGTAAAAGATGAAAATGGTACAGTAAAAGTACCTAAAGAT
 GCAAAACGTATCGTTGTATTAGAGTACTCATTGTCAGATGCATTAGCAGCATT
 AGACGTTAAACCAAGTTGGTATTGCTGATGATGGTAAGAAAAACGTATCATT
 AACCAGTTAGAGAAAAATTTGGGGATTACTTCTGTAGGTACACGTAACA
 GCCAAACTTAGAGGAAATTAAGTAAATTAACCCGGATTTAATTATCGCTGATA
 GCAGTAGACATAAAGGTATTAATAAAGAAATTAACAAAAATTCACCAACATT
 ATCATTAAAGAGTTTTGATGGAGACTACAAACAAAATATTAATTCGTTCAAAA
 CAATTGCTAAAGCTTTAAATAAAGAAAAAGAGCGAAAAACGTTCTTGCTGA
 GCATGATAAATTAATCAATAAGTATAAAGATGAAATTAATTTGATAGAAATC
 AAAAAAGTCTCCAGCAGTAGTTGCTAAAGCTGGTTTATTAGCACATCCAAAC
 TATTCATATGTTGGACAATTTTAAACGAACACTAGGATTTAAAAATGCATTAAG
 TGACGATGTAACAAAAGGTTAAGTAAATATTGAAAGGACCTTACTTACAAT
 TAGACACTGAACATTTAGCTGATTTAAATCCAGAGCGTATGATCATTATGACA
 GATCATGCTAAAAAGATTCTGCTGAAATCAAGAAGTTACAAGAAGATGCAA
 CATGAAAAAGTTGAATGCAGTTAAAAATAATCGCGTGGATATTGTTGACCGT
 GATGTTTGGGCAAGATCTCGTGGCTAATTTCTCTGAAGAAATGGCTAAAGA
 ACTTGTGAATTATCAAAAAAGAACAAAAGTAA
 (配列番号469)

【 図 1 2 4 】

Figure 124

ATGAGAGGTCTAAAACTTTTAGTATATTGGGATTAATAGTTGCCCTTACTTTTA
 GTTGCAGCTTGTGGTAATACGGATAATTCAAGTAAAAAGAATCATCAACTAA
 AGATACTATTTCCGGTAAAAGATGAAAATGGTACAGTAAAAGTACCTAAAGAT
 GCAAAACGTATCGTTGTATTAGAGTACTCATTGTCAGATGCATTAGCAGCATT
 AGACGTTAAACCAAGTTGGTATTGCTGATGATGGTAAGAAAAACGTATCATT
 AACCAGTTAGAGAAAAATTTGGGGATTACTTCTGTAGGTACACGTAACA
 GCCAAACTTAGAAGAAATTAGTAAATTAACCCGGATTTAATTATCGCTGATA
 GCAGTAGACATAAAGGTATTAATAAAGAAATTAACAAAAATTCACCAACATT
 ATCATTAAAGAGTTTTGATGGAGACTACAAACAAAATATTAATTCGTTCAAAA
 CAATTGCTAAAGCTTTAAATAAAGAAAAAGAGCGAAAAACGTTCTTGCTGA
 GCATGATAAATTAATCAATAAGTATAAAGATGAAATTAATTTGATAGAAATC
 AAAAAAGTCTCCAGCAGTAGTTGCTAAAGCTGGTTTATTAGCACATCCAAAC
 TATTCATATGTTGGACAATTTTAAACGAACACTAGGATTTAAAAATGCATTAAG
 TGACGATGTAACAAAAGGTTAAGTAAATATTGAAAGGACCTTACTTACAAT
 TAGACACTGAACATTTAGCTGATTTAAATCCAGAGCGTATGATCATTATGACA
 GATCATGCTAAAAAGATTCTGCTGAAATCAAGAAGTTACAAGAAGATGCAA
 CATGAAAAAGTTGAATGCAGTTAAAAATAATCGCGTGGATATTGTTGACCGT
 GATGTTTGGGCAAGATCTCGTGGCTAATTTCTCTGAAGAAATGGCTAAAGA
 ACTTGTGAATTATCAAAAAAGAACAAAAGTAA
 (配列番号470)

【 図 1 2 5 】

Figure 125

ATGAGAGGTCTAAAACTTTTAGTATATTGGGATTAATAGTTGCCCTTACTTTTA
 GTTGCAGCTTGTGGTAATACGGATAATTCAAGTAAAAAGAATCATCAACTAA
 AGATACTATTTCCGGTAAAAGATGAAAATGGTACAGTAAAAGTACCTAAAGAT
 GCAAAACGTATCGTTGTATTAGAGTACTCATTGTCAGATGCATTAGCAGCATT
 AGACGTTAAACCAAGTTGGTATTGCTGATGATGGTAAAGAAAAACGTATCATT
 AACCAGTTAGAGAAAAATTTGGGGATTACTTCTGTAGGTACACGTAACA
 GCCAAACTTAGAAGAAATTAGTAAATTAACCCGGATTTAATTATCGCTGATA
 GCAGTAGACATAAAGGTATTAATAAAGAAATTAACAAAAATTCACCAACATT
 ATCATTAAAGAGTTTTGATGGAGACTACAAACAAAATATTAATTCGTTCAAAA
 CAATTGCTAAAGCTTTAAATAAAGAAAAAGAGCGAAAAACGTTCTTGCTGA
 GCATGATAAATTAATCAATAAGTATAAAGATGAAATTAATTTGATAGAAATC
 AAAAAAGTCTCCAGCAGTAGTTGCTAAAGCTGGTTTATTAGCACATCCAAAC
 TATTCATATGTTGGACAATTTTAAACGAACACTAGGATTTAAAAATGCATTAAG
 TGACGATGTAACAAAAGGTTAAGTAAATATTGAAAGGACCTTACTTACAAT
 TAGACACTGAACATTTAGCTGATTTAAATCCAGAGCGTATGATCATTATGACA
 GATCATGCTAAAAAGATTCTGCTGAAATCAAGAAGTTACAAGAAGATGCAA
 CATGAAAAAGTTGAATGCAGTTAAAAATAATCGCGTGGATATTGTTGACCGT
 GATGTTTGGGCAAGATCTCGTGGCTAATTTCTCTGAAGAAATGGCTAAAGA
 ACTTGTGAATTATCAAAAAAGAACAAAAGTAA
 (配列番号471)

【 図 1 2 6 】

Figure 126

ATGAGAGGTCTAAAACTTTTAGTATATTGGGATTAATAGTTGCCTACTTTTA
 GTTGCAGCTTGGTAAATACGGATAATTCAAGTAAAAAAGAATCATCAACTAA
 AGATACTATTTTCGGTAAAAGATGAAAATGGTACAGTAAAAGTACCTAAAGAT
 GCAAAACGTATCGTTGATTAGAGTACTCATTGGCAGATGCATTAGCAGCATT
 AGACGTTAAACCAGTTGGTATTGCTGATGATGGTAAGAAAAACGTATCATTAA
 AACAGTTAGAGAAAAATGGGGATTACTTCTGTAGGTACACGTAAACA
 GCCAACTTAGAAGAAAATAGTAAATTAACACCGGATTTAATTATCGCTGATA
 GCAGTAGACATAAAGGTATTAATAAAGAATTAACAAAAATGGCACCACATT
 ATCATTAAGAGTTTTGATGGAGACTACAAACAAAATTAATTCGTTCAAAA
 CAATTGCTAAAGCTTTAAATAAGAAAAAGAGGCGAAAAACGTTCTGCTGA
 GCATGATAAATTAATCAATAAGTATAAAGATGAAATTAATTTGATAGAAATC
 AAAAAGTGTCTCCAGCAGTAGTTGCTAAAGCTGGTTTATTAGCACATCCAAAC
 TATTCATATGTTGGACAATTTTAAACGAAGTATGATTTAAAAATGCATTAAG
 TGACGATGTAACAAAAGTTAAGTAAATATTGAAAGGACCTTACTTACAAT
 TAGACACTGAACATTTAGCTGATTTAAATCCAGAGCGTATGATCATTATGACA
 GATCATGCTAAAAAGATTCTGCTGAATCAAGAAGTTACAAGAAGATGCAA
 CATGGAAAAAGTTGAATGCAGTTAAAAATAATCGCGTGGATATTGTTGACCGT
 GATGTTTGGCAAGATCTCGTGGCTTAATTTCTCTGAAGAAATGGCTAAAGA
 ACTTGTGAATATCAAAAAAGAACAAAAGTAA
 (配列番号472)

【 図 1 2 7 】

Figure 127

ATGAGAGGTCTAAAACTTTTAGTATATTGGGATTAATAGTTGCCTACTTTTA
 GTTGCAGCTTGGTAAATACGGATAATTCAAGTAAAAAAGAATCATCAACTAA
 AGATACTATTTTCGGTAAAAGATGAAAATGGTACAGTAAAAGTACCTAAAGAT
 GCAAAACGTATCGTTGATTAGAGTACTCATTGGCAGATGCATTAGCAGCATT
 AGACGTTAAACCAGTTGGTATTGCTGATGATGGTAAGAAAAACGTATCATTAA
 AACAGTTAGAGAAAAATGGGGATTACTTCTGTAGGTACACGTAAACA
 GCCAACTTAGAAGAAAATAGTAAATTAACACCGGATTTAATTATCGCTGATA
 GCAGTAGACATAAAGGTATTAATAAAGAATTAACAAAAATGGCACCACATT
 ATCATTAAAGAGTTTTGATGGAGACTACAAACAAAACATTAAATTCGTTCAAAA
 CAATTGCTAAAGCTTTAAATAAGAAAAAGAGGCGAAAAACGTTCTGCTGA
 GCATGATAAATTAATCAATAAGTATAAAGATGAAATTAATTTGATAGAAATC
 AAAAAGTGTCTCCAGCAGTAGTTGCTAAAGCTGGTTTATTAGCACATCCAAAC
 TATTCATATGTTGGACAATTTTAAACGAAGTATGATTTAAAAATGCATTAAG
 TGACGATGTAACAAAAGTTAAGTAAATATTGAAAGGACCTTACTTACAAT
 TAGACACTGAACATTTAGCTGATTTAAATCCAGAGCGTATGATCATTATGACT
 GATCAGCTAAAAAAGATTCTGCTGAATTCAGAAAATTACAAGAAGATGCAA
 CATGGAAAAAATTGAATGCAGTTAAAAATAATCGCGTGGATATTGTTGACCGT
 GATGTTTGGCAAGATCTCGTGGCTTAATTTCTCTGAAGAAATGGCTAAAGA
 ACTTGTGAATATCAAAAAAGAACAAAAGTAA
 (配列番号473)

【 図 1 2 8 】

Figure 128

ACTGAAGAGAAAAGTAAATGACGACAATAAAAGATGAATTAGGAACTGAAA
 AAAATAAGAAAAATCCTAAACGTGTTGTTATTAGAATATAGTTTTCGCTGAT
 TATTTAGCAGCATTAGATATGAAACCTGTTGGTATTGACAGATGATGGCAGCAG
 TAAAAATATAACAAAGTCAGTAAGAGATAAGATTGGGGCATATGAATCGGTT
 GGATCTAGATCGCAACCGAATATGGAAGTGATAAGTAAATTAACACCGGATT
 TGATCATTGCAGATGTCAGCAGACATAAGAAAAATCAAAATCAGAATTGAGCAA
 AATTGCGCCGACAATTATGTTAGTCAAGTGGTACGGGAGATTACAATGCAAAATA
 TTGAAGCATTTAAACAGTCGCTAAAGCAGTTGGCAGAGAGAAAAGAGGCGA
 AAAGCGTCTGAAAAAGCATGATAAAATATTAGCGGAGATTAGAAAAGAAAATT
 GAACAGAGTACGTTAAATCTGCATTGCACTTGGTATCTCAAGAGCAGGTAT
 GTTTATTAATAATGAAGATACATTTATGGGACAATTTTAATTAATAATGGGTA
 TTCAACCTGAAGTCACAAAAGACAAAATCGCGCATGTTGGTGAAACGCAAGGG
 TGGCCCTTATATTTAAATAATGAAGACTTGGCAATATCAATCCAAAAG
 TTATGATTTTAGCCACTGACGGAAAAACGGACAAAATAGAACGAAATTCATT
 GATCTGCAAGTTGGAAATCATTAAAGCTGTGAAAGATAACAAAGTTTATGA
 CGTTGACCGAAAATAAGTGGTTGAAATCAAGGGTATTATCGCAAGTGAAGT
 ATGGCAGAAGATTTAGAAAAATTCAGAAAAAGCAAAAATA
 (配列番号474)

【 図 1 2 9 】

Figure 129

ATGGAAGTGATAAGTAAATTAACACCGGATTGATCATTGCAGATGTTAACAG
 ACATAAGAAAAATCAATCAGAAATTGAGCAAAATGCTCCGACAATCATGTTA
 GTTAGCGGTACGGGAGATTATAATGCAAAATTTGAAGCATTAAAAACAGTTGC
 TAAAGCAGTAGGCAAGAGAAAAGGCGAGAAACGCTGGAAAAAGCATGA
 TAAAATATTAGCGGAGATTAGAAAAGAAAATTGAACAGAGTACGTTAAAATCT
 GCATTTGCATTTCGATCTCAAGAGCAGGTATGTTTAAATAATGAAGATAC
 ATTTATGGGACAATCTTAATTAATAATGGGTATTCAACCTGAAGTCACAAAAG
 ACAAACTATGATGTTGGTGAACGCAAGGGTGGTCTTATATTTAATTAAT
 AATGAAGAACTTGCCAAATCAATCCAAAAGTTATGATTTTAGCCACTGACGG
 AAAAAACGGACAAAAATAGAAGGAAATTCATTGATCCTGCAGTTTGGAAATCA
 TTAAGAGCTGTGAAAGATAACAAAGTTTATGACGTTGACCGAAAATAGTGGTT
 GAAATCAAGGGTATTATCGCAAGTGAAGTATGGCAGAAGATTAGAAAAA
 ATTCAGAAAAAGCAAAAATA
 (配列番号475)

【 図 1 3 0 】

Figure 130

GTGAATAGGAATATCGTTAAATAGTTGTGTTATGCTAATCTTAGTTGTAGCA
 GTAGCGGGTTGTGGTCAAAAAGATACTGAAGAGAAAAGTAAATGACGACAA
 TAAAAGATGAATTAGGAACTGAAAAAATTAAGAAAAATCTAAACGTGTTGT
 TGTATTAGAATATAGTTTGTGCTGATTATTTAGCAGCATTAGATATGAAACCTGT
 TGGTATTGCAGATGATGGCAGCACTAAAAATATAACAAAGTCAGTAAGAGAT
 AAGATTGGGGCATATGAATCGGTTGGATCTAGACCCGCAACCGAATATGGAAG
 TGATAAGTAAATTAACCGGATTTGATCATTGCAGATGTTAGCAGACATAAG
 AAAATCAAATCAGAAATTGAGCAAAAATGTCCGACAATCATGTTAGTTAGCGG
 TACGGGAGATTATAATGCAAAATATTGAAGCATTAAAAACAGTCGCTAAAGCA
 GTAGGCAAAAGAGAAAAGCGGAGAAAGCGTCTGGAAAAGCATGATAAAAATA
 TTAGCGGAGATTAGAAAGAAAATTGAACAGAGTACGTTAAAACTGCAATTTGC
 ATTCGGTATCTCAAGAGCAGGTATGTTTAAATAATGAAGATACATTTATGG
 GACAATTTCTAATTAATGGGTATTCAACCTGAAGTCACAAAAGACAAAACCT
 ACGCATGTTGGTGAACGCAAGGGTGGCTTATATATTTAAATAATGAAGA
 ACTTGCCAATATCAATCCAAAAGTTATGATTTTAGCCACTGACGGAAAAACGG
 ACAAAAATAGAACGAAATTCATTGATCCTGCAGTTGGAAATCATTAAAAGCT
 GTGAAAAGATAACAAAGTTTATGACGTTGACCGAAAATAAGTGGTTGAAATCAA
 GGGGGATTATCGCAAGTGAAGATATGGCAGAAGATTTAGAAAAAATTGCAGA
 AAAAGCAAAATAA
 (配列番号476)

【 図 1 3 1 】

Figure 131

GTGAATAGGAATATCGTTAAATAGTTGTGTTATGCTAATCTTAGTTGTAGCA
 GTAGCGGGTTGTGGTCAAAAAGATACTGAAGAGAAAAGTAAATGACGACGA
 TAAAAGATGAATTAGGAACTGAAAAAATTAAGAAAAATCCGAAACGTATTGT
 TGTATTAGAATATAGTTTGTGCTGATTATTTAGCAGCATTAGATATGAAACCTGT
 TGGTATTGCAGATGATGGTACTAAAAATATAACAAAGTCAGTAAGAGAT
 AAGATTGGGGCATATGAATCGGTTGGATCTAGACCCGCAACCGAATATGGAAG
 TGATAAGTAAATTAACCGGATTTGATTATTGCAGATGTCAGCAGACATAAG
 AAAATCAAATCAGAAATTGAGCAAAAATGCGCCGACAATCATGTTAGTTAGCG
 GTACGGGAGATTACAATGCAAAATATTGAAGCATTAAAAACAGTCGCTAAAGC
 AGTTGGCAAAAGAGAAAAGGCGAAAAGCGCTCTGGAAAAGCATAATAAAAAT
 ATTAGCGGAGATTAGAAAAGAAAATTGAACAGAGTACGTTAAAACTGCAATTT
 GCATTTGGTATCTCAAGAGCAGGTATGTTTAAATAATGAAGATACATTTAT
 GGGCAATTTCTAATTAATGGGTATTCAACCTGAAGTCACAAAAGACAAA
 ACTGCGCATGTTGGTGAACGCAAGGGTGGCCCTTATATTTAATTAATAATGA
 AGAGCTTGCCAATATCAATCCAAAAGTTATGATTTTAGCTACGAATGGAAGAAA
 CAGATAAAAATAGAACGAAATTCATTGATCCTGCAGTTGGAAATCATTAAA
 GCTGTGAAAAGATAAAAAGTATATGATTTGATCGAAAATAAGTGGTTGCAATC
 AAGAGGTATTATGGCAAGTGAAGATATGGCAGAAGATTTAGAAAAAATTGCAGA
 GAAAAAGCAAAATAA
 (配列番号477)

【 図 1 3 2 】

Figure 132

GTGAATAGGAATATCGTTAAACTAGTTGTGTTATGCTAATCTTAGTTGTAGCA
 GTAGCGGGTTGTGGTCAAAAAGATACTGAAGAGAAAAGTAAATGACGACAA
 TAAAAGATGAATTAGGAACTGAAAAAATTAAGAAAAATCTAAACGTGTTGT
 TGTATTAGAATATAGTTTGTGCTGATTATTTAGCAGCATTAGATATGAAACCTGT
 TGGTATTGCAGATGATGGCAGCAGTAAAAATATAACAAAGTCAGTAAGAGAT
 AAGATTGGGGCATATGAATCGGTTGGATCTAGACCCGCAACCGAATATGGAAG
 TGATAAGTAAATTAACCGGATTTGATCATTGCAGATGTTAGCAGACATAAG
 AAAATCAAATCAGAAATTGAGCAAAAATGCGCCGACAATCATGTTAGTCAGTGG
 TACGGGAGATTACAATGCAAAATATTGAAGCATTAAAAACAGTCGCTAAAGCA
 GTTGGCAAAAGAGAAAAGGCGGAGAAAGCGTCTGGAAAAGCATGATAAAAATA
 TAGCGGAGATTAGAAAAGAAAATTGAACAGAGTACGTTAAAACTGCAATTTGC
 ATTCGGTATCTCAAGAGCAGGTATGTTTAAATAATGAAGATACATTTATGG
 GACAATTTCTAATTAATGGGTATTCAACCTGAAGTCACAAAAGACAAAACCT
 ACGCATGTTGGTGAACGCAAGGGTGGCTTATATATTTAAATAATGAAGA
 ACTTGCCAATATCAATCCAAAAGTTATGATTTAGCCACTGACGGAAAAACGG
 ACAAAAATAGAACGAAATTCATTGATCCTGCAGTTGGAAATCATTAAAAGCT
 GTGAAAAGATAACAAAGTTTATGACGTTGACCGAAAATAAGTGGTTGAAATCAA
 GGGGGATTATCGCAAGTGAAGATATGGCAGAAGATTTAGAAAAAATTGCAGA
 AAAAGCAAAATAA
 (配列番号478)

【 図 1 3 3 】

Figure 133

GTGAATAGGAATATCGTTAAACTAGTTGTGTTATGCTAATCTTAGTTGTAGCA
 GTAGCGGGTTGTGGTCAAAAAGATACTGAAGAGAAAAGTAAATGACGACAA
 TAAAAGATGAATTAGGAACTGAAAAAATTAAGAAAAATCTAAACGTGTTGT
 TGTATTAGAATATAGTTTGTGCTGATTATTTAGCAGCATTAGATATGAAACCTGT
 TGGTATTGCAGATGATGGCAGCACTAAAAATATAACAAAGTCAGTAAGAGAT
 AAGATTGGGGCATATGAATCGGTTGGATCTAGACCCGCAACCGAATATGGAAG
 TGATAAGTAAATTAACCGGATTTGATCATTGCAGATGTTAGCAGACATAAG
 AAAATCAAATCAGAAATTGAGCAAAAATGTCCGACAATCATGTTAGTTAGCGG
 TACGGGAGATTATAATGCAAAATATTGAAGCATTAAAAACAGTCGCTAAAGCA
 GTAGGCAAAAGAGAAAAGGCGGAGAAAGCGTCTGGAAAAGCATGATAAAAATA
 TTAGCGGAGATTAGAAAAGAAAATTGAACAGAGTACGTTAAAACTGCAATTTGC
 ATTCGGTATCTCAAGAGCAGGTATGTTTAAATAATGAAGATACATTTATGG
 GACAATTTCTAATTAATGGGTATTCAACCTGAAGTCACAAAAGACAAAACCT
 ACGCATGTTGGTGAACGCAAGGGTGGCTTATATATTTAAATAATGAAGA
 ACTTGCCAATATCAATCCAAAAGTTATGATTTAGCCACTGACGGAAAAACGG
 ACAAAAATAGAACGAAATTCATTGATCCTGCAGTTGGAAATCATTAAAAGCT
 GTGAAAAGATAACAAAGTTTATGACGTTGACCGAAAATAAGTGGTTGAAATCAA
 GGGGGATTATCGCAAGTGAAGATATGGCAGAAGATTTAGAAAAAATTGCAGA
 AAAAGCAAAATAA
 (配列番号479)

【 図 1 3 4 】

Figure 134

GTGAATAGGAATATCGTTAAATAGTTGTGTTTATGCTAATCTTAGTTGTAGCA
 GTAGCGGGTTGTGGTCAAAAAGATACTGAAGAGAAAACTGAAATGACGACAA
 TAAAAGATGAATTAGGAACTGAAAAAATTAAGAAAAATCCTAAACGTTGTT
 TGTATTAGAATATAGTTTGTGCTGATTATTTAGCAGCATTAGATATGAAACCTGT
 TGGTATTGCAGATGATGGCAGCACTAAAAATATAACAAAGTCAGTAAGAGAT
 AAGATTGGGGCATATGAATCGGTTGGATCTAGACCGCAACCGAATATGGAAG
 TGATAAGTAAATTAACACCGGATTTGATCATTTGCAGATGTTAGCAGACATAAG
 AAAATCAAATCAGAATTGAGCAAAATGCTCCGACAATCATGTTAGTTAGCGG
 TACGGGAGATTATAATGCAAAATTTGAAAGCATTAAAAACAGTCGCTAAAGCA
 GTAGGCAAAGAGAAAGAGCGGAGAAGCGTCTGAAAAAGCATGATAAAATA
 TTAGCGGAGATTAGAAAGAAAATTTGAACAGAGTACGTTAAAACTGCAATTTGC
 ATTCGGTATCTCAAGAGCAGGTATGTTTATAAATGAAGATACATTTATGG
 GACAAATCTTAATTAATAATGGGTATTCACCTGAAAGTCACAAAAGACAAAACCT
 ACGCATGTTGGTGAACGCAAGGGTGGTCTTATATATATTTAAATAATGAAGA
 ACTTGCCAATATCAATCCAAAAGTTATGATTTTAGCCACTGACGGAAAAACGG
 ACAAAAATAGAACGAAAATTCATTTGATCCTGCAGTTTGGAAATCATTAAAGCT
 GTGAAAGATAACAAAGTTTATGACGTTGACCGAAATTAAGTGGTTGAAATCAA
 GGGGGATTATCGCAAGTAAAAGTATGGCAGAAGATTTAGAAAAAATTGCAGA
 AAAAGCAAAATAA

(配列番号480)

【 図 1 3 5 】

Figure 135

ATGACGACAATAAAAGATGAATTAGGAACTGAAAAAATTAAGAAAAATCCTA
 AACGTGTTGTTGTATTAGAATATAGTTTGTGCTGATTATTTAGCAGCATTAGATA
 TGAAACCTGTTGGTATTGCAGATGATGGCAGCACTAAAAATATAACAAAGTCA
 GTAAGAGATAAAGATTGGGGCATATGAATCGGTTGGATCTAGACCGCAACCGA
 ATATGGAAGTGATAAGTAAATTAACACCGGATTTGATCATTCGAGATGTTAGC
 AGACATAAGAAAAATCAAATCAGAATTGAGCAAAATGCTCCGACAATCATGT
 TAGTTAGCGGTACGGGAGATTATAATGCAAAATTTGAAGCATTAAAAACAGTC
 GCTAAAGCAGTAGGCAAAGAGAAAAGAAAGCGGAGAAGCGTCTGAAAAAGCAT
 GATAAAATATTAGCGGAGATTAGAAAAGAAAATTTGAACAGAGTACGTTAAAAAT
 CTGCATTTGCATTCGGTATCTCAAGAGCAGGTATGTTTATAATAATGAAGAT
 ACATTTATGGGACAATCTTAATTAATAATGGGTATTCAACCTGAAGTCACAAA
 AGACAAAACACTCGCATGTTGGTGAACGCAAGGGTGGTCTTATATATATTTAA
 ATAATGAAGAAGCTGCAATATCAATCCAAAAGTTATGATTTTAGCCACTGAC
 GGAAAAACGGACAAAAATAGAACGAAATTCATTGATCTGACGTTGGAAAT
 CATTAAAGCTGTGAAAAGATAACAAAAGTTATGACGTTGACCGAAAATAAGTG
 GTTGAAATCAAGGGGGATTATCGCAAGTAAAAGTATGGCAGAAGATTTAGAA
 AAAATTGCAGAAAAAGCAAAATAA

(配列番号481)

【 図 1 3 6 】

Figure 136

GTGAATAGGAATATCGTTAAACTAGTTGTGTTTATGCTAATCTTAGTTGTAGCA
 GTAGCGGGTTGTGGTCAAAAAGATACTGAAGAGAAAACTGAAATGACGACAA
 TAAAAGATGAATTAGGAACTGAAAAAATTAAGAAAAATCCTAAACGTTGTT
 TGTATTAGAATATAGTTTGTGCTGATTATTTAGCAGCATTAGATATGAAACCTGT
 TGGTATTGCAGATGATGGCAGCACTAAAAATATAACAAAGTCAGTAAGAGAT
 AAGATTGGGGCATATGAATCGGTTGGATCTAGACCGCAACCGAATATGGAAG
 TGATAAGTAAATTAACACCGGATTTGATCATTTGCAGATGTTAGCAGACATAAG
 AAAATCAAATCAGAATTGAGCAAAATGCTCCGACAATCATGTTAGTTAGCGG
 TACGGGAGATTATAATGCAAAATTTGAAAGCATTAAAAACAGTCGCTAAAGCA
 GTAGGCAAAGAGAAAGAGCGGAGAAGCGTCTGAAAAAGCATGATAAAATA
 TTAGCGGAGATTAGAAAGAAAATTTGAACAGAGTACGTTAAAACTGCAATTTGC
 ATTCGGTATCTCAAGAGCAGGTATGTTTATAAATGAAGATACATTTATGG
 GACAAATCTTAATTAATAATGGGTATTCACCTGAAAGTCACAAAAGACAAAACCT
 ACGCATGTTGGTGAACGCAAGGGTGGTCTTATATATATTTAAATAATGAAGA
 ACTTGCCAATATCAATCCAAAAGTTATGATTTTAGCCACTGACGGAAAAACGG
 ACAAAAATAGAACGAAAATTCATTTGATCCTGCAGTTTGGAAATCATTAAAGCT
 GTGAAAGATAACAAAGTTTATGACGTTGACCGAAATTAAGTGGTTGAAATCAA
 GGGGGATTATCGCAAGTAAAAGTATGGCAGAAGATTTAGAAAAAATTGCAGA
 AAAAGCAAAATAA

(配列番号482)

【 図 1 3 7 】

Figure 137

ATGACGACAATAAAAGATGAATTAGGAACTGAAAAAATTAAGAAAAATCCTA
 AACGTGTTGTTGTATTAGAATATAGTTTGTGCTGATTATTTAGCAGCATTAGATA
 TGAAACCTGTTGGTATTGCAGATGATGGCAGCACTAAAAATATAACAAAGTCA
 GTAAGAGATAAAGATTGGGGCATATGAATCGGTTGGATCTAGACCGCAACCGA
 ATATGGAAGTGATAAGTAAATTAACACCGGATTTGATCATTCGAGATGTTAGC
 AGACATAAGAAAAATCAAATCAGAATTGAGCAAAATGCTCCGACAATCATGT
 TAGTTAGCGGTACGGGAGATTATAATGCAAAATTTGAAGCATTAAAAACAGTC
 GCTAAAGCAGTAGGCAAAGAGAAAAGAAAGCGGAGAAGCGTCTGAAAAAGCAT
 GATAAAATATTAGCGGAGATTAGAAAAGAAAATTTGAACAGAGTACGTTAAAAAT
 CTGCATTTGCATTCGGTATCTCAAGAGCAGGTATGTTTATAATAATGAAGAT
 ACATTTATGGGACAATCTTAATTAATAATGGGTATTCAACCTGAAGTCACAAA
 AGACAAAACACTCGCATGTTGGTGAACGCAAGGGTGGTCTTATATATATTTAA
 ATAATGAAGAAGCTGCAATATCAATCCAAAAGTTATGATTTTAGCCACTGAC
 GGAAAAACGGACAAAAATAGAACGAAATTCATTGATCTGACGTTGGAAAT
 CATTAAAGCTGTGAAAAGATAACAAAAGTTATGACGTTGACCGAAAATAAGTG
 GTTGAAATCAAGGGGGATTATCGCAAGTAAAAGTATGGCAGAAGATTTAGAA
 AAAATTGCAGAAAAAGCAAAATAA

(配列番号483)

【 図 1 3 8 】

Figure 138

GTGAATAGGAATATCGTTAACTAGTTGTTTATGCTAATCTTAGTTGTAGCA
 GTAGCGGTTGTGGTCAAAAAGATACTGAAGAGAAAAGTAAATGACGACAA
 TAAAAGATGAATTAGGAAGTGAATAAAGAAAATCCTAAACCGTGTGT
 TGTATTAGAATATAGTTTTGCTGATTTATAGCAGCATTAGATATGAAACCTGT
 TGGTATTGCAGATGATGGCAGCAGTAAAAATATAACAAAGTCAGTAAGAGAT
 AAGATTGGGGCATATGAATCGGTTGGATCTAGACCCGAACCGAATATGGAAG
 TGATAAGTAAATAAAACCGGATTGATCATTGCAGATGTTAGCAGACATAAG
 AAAATCAAAATCAGAATTGAGCAAAATGCGCCGACAATTATGTTAGTCAGTGG
 TACGGGAGATTACAATGCAAAATTTGAAGCATTAAAAACAGTCGCTAAAGCA
 GTTGGCAAGAGAAAAGGCGAGAAAGCTGCGAAAAGCATGATAAAATAT
 TAGCGGAGATTAGAAAAGAAAATTGAACAGAGTACGTTAAAAATCTGCATTGC
 ATTCGGTATCTCAAGAGCAGGTATGTTTATAATAATGAAGATACATTTATGG
 GACAACTTCTACTTAAAATGGGTATTCAACCTGAAGTCACAAAAGACAAAAT
 ACGCATGTTGGTGAACGCAAGGGTGGTCTTATATATATTTAAATAATGAAGA
 ACTTGGCCAATATCAATCCAAAAGTTATGATTTTAGCCACTGACGGGAAAACGG
 ACAAAAATAGAACGAAATTCATTGATCTCGAGTTTGAAATCATTAAAAGCT
 GTGAAAAGATAACAAAGTTTATGACGTTGACCGGAAATAAGTGGTTGAAATCAA
 GGGGGATTATCGCAAGTGAAGATGCGCAGAAGATTAGAAAAAATTGCAAGA
 AAAAGCAAAATAA

(配列番号484)

【 図 1 3 9 】

Figure 139

GGTAGCGACGATAATGGCTCGTCTAAATCGCCGTACCATAGAATTGTTTCGTT
 AATGCCTAGTAATACTGAAATTTTATATGAATTAGGATTAGGTAATACATAG
 TTGGTGTTCACCGTTGATGATTATCCAAAAGATGTGAAAAAGGGTAAGAAA
 CAATTTGATGCTTTGAATCTAAATAAAGAGGAACTTTTAAAGGCAAGCCAGA
 TCTAATCTTGCAGATGAGTCGAAAAGGCAACTGCAAAATAAGTATTGTTCAT
 CATTAGAGAAAACAAGGCATCAAAGTAGTGTATGTTAAAGATGCACAATCAAT
 TGATGAAACTTACAACACATTTAAGCAAAATGGGAAATTAACGCATCATGATA
 AGCAGGCTGAACAACCTGTTGAGGAACTAAAAGATAATATCGATAAAGTCAT
 AGAATCAATTCCTGCTCATCATAAAAAATCAAAGTATTTAATTGAGGTTTCATC
 AAAGCCTGAAAATATACAGCAGGGAAGCATACATTTTCAATGATATGTTAG
 AAAAATTAGAAGCCAAAATGTTTATAGTGACATTAATGGTTGGAACCCCTGTA
 ACGAAGGAAAGTATTATTAAGAAGAACCCAGATATATTAATTCGACGGGAAG
 CTAAGCAAGATCAGATTATATGGATATCATCAAAAAAAGAGGTGGATTCAA
 TAAAATTAATGCTGTCAAGAATACACGATTGAAGTTGAAATGGTGTATGAA
 TGTCAGACAGGTCACGATTGATGAAGGATTAAGAAGTAAAGAGATGC
 AATTTATAGAAAAATAA

(配列番号485)

【 図 1 4 0 】

Figure 140

GTGAAGAAATCGTTAATTGCTTTTATTTGATTTTATGCTTGTCTGAGTGGC
 TGTGGTATGAAAGATAATGATAAAACAAGGTAGCGATGATAAATGGCTCGTCTA
 AATCGCCGTACCATAGAATTGTTTCGTTAATGCCTAGTAATACTGAAATTTTAT
 ATGAATTAGGATTAGTAAATACATAGTTGGTGTTCACCGTTGATGATTAT
 CCAAAAAGATGTGAAAAGGGTAAGAAACAATTTGATGCTTTGAATCTAAATA
 AAGAGGAACTTTTAAAGGCAAAAGCCAGATCTAATTCITGCGCATGAGTCGCAA
 AAGGCAACTGCTAATAAAGTATTGTCATCATTAGAGAAACAAGGCATCAAAG
 TAGTGTATATTAAGATGCACAATCAATTGATGAAACTTACAACACATTTAAG
 CAAATTGGGAAATTAACGCATCATGATAAGCAGGCTGAACAACCTGTTGAGG
 AAATAAGATAATATCGATAAAGTCATAGATTCAATTCCTGCTCATATAAA
 AAATCAAAAAGTATTTATTGAGGTTTCATCAAGCCTGAAATATATACAGCAGG
 GAAGCATACATTTTTCAATGATATGTTAGAAAAATTAGAAGCCAAAATGTTT
 ATAGTGACATTAATGGTTGGAACCCGTAAACGAAGGAAAGTATTATTAATAAA
 GAACCCAGATATATTAATTCGACGGAAGCTAAGACAAGATCAGATTATATGG
 ATATCATCAAAAAAAGAGGTGGATTCAATAAAATTAATGCTGTCAAGAATAC
 ACGTATTGAAGTAGTAAATGGTGTAAAGTATCAAGACCAAGTCCACGTATTG
 ATGAAGGATTAAGAAGTAAAGAGATGCAATTTATAGAAAAATAA

(配列番号486)

【 図 1 4 1 】

Figure 141

GTGAAGAAATCGTTAATTGCTTTTATTTGATTTTATGCTTGTCTGAGTGGC
 TGTGGTATGAAAGATAATGATAAAACAAGGTAGCGATGATAAATGGCTCGTCTA
 AATCGCCGTACCATAGAATTGTTTCGTTAATGCCTAGTAATACTGAAATTTTAT
 ATGAATTAGGATTAGGTAATAACATAGTTGGTGTTCACCGTTGATGATTAT
 CCAAAAAGATGTGAAAAGGGTAAGAAACAATTTGATGCTTTGAATCTAAATA
 AAGAGGAACTTTTAAAGGCAAAAGCCAGATCTAATTCITGCGCATGAGTCGCAA
 AAGGCAACTGCTAATAAAGTATTGTCATCATTAGAGAAACAAGGCATCAAAG
 TAGTGTATGTTAAAGATGCACAATCAATTGATGAAACATACAACATTTAAG
 CAAATTGGGAAATTAACGCATCATGATAAAGCAGGCTGAACAACCTGTTGAGG
 AAATAAGATAATATCGATAAAGTCATAGATTCAATTCCTGCTCATATAAA
 AAATCAAAAAGTATTTATTGAGGTTTCATCAAGCCTGAAATATATACAGCAGG
 GAAGCATACATTTTTAATGATATGTTAGAAAAATTAGAAGCCAAAATGTTT
 ATAGTGACATTAATGGTTGGAACCCGTAAACGAAGGAAAGTATTATTAATAAA
 GAACCCAGATATATTAATTCGACGGAAGCTAAGACAAGATCAGATTATATGG
 ATATCATCAAAAAAAGAGGTGGATTCAATAAAATTAATGCTGTCAAGAATAC
 ACGTATTGAAGTTGAAATGGTGTAAAGTATCAAGACCAAGTCCACGTATTG
 ATGAAGGATTAAGAAGTAAAGAGATGCAATTTATAGAAAAATAA

(配列番号487)

【 図 1 4 2 】

Figure 142

GTGAAGAAATCGTTAATTGCTTTTATTTTGATTTTTATGCTTGTCTGAGTGGC
 TGTGGTATGAAAGATAATGATAAACAAAGGTAGCGACGATAATGGCTCGTCTA
 AATCGCCGTACCATAGAAATTGTTTCGTTAATGCCTAGTAATACTGAAATTTTAT
 ATGAATTAGGATTAGGTAATAACATAGTTGGTGTTCACCGGTTGATGATTAT
 CCAAAGATGTGAAAAAGGGTAAGAAACAATTTGATGCTTTGAATCTAAATA
 AAGAGGAACTTTTAAAGGCAAAGCCAGATCTAATCTTGCATGAGTCGCAA
 AAGGCAACTGCTAATAAAGTATTGTCATCATTAGAGAAACAAGGCATCAAAG
 TAGTGTATGTTAAAGATGCACAATCAATTGATGAAACTTACAACACATTTAAG
 CAAATTGGGAAATTAACGCATCATGAAAAGCAGGCTGAACAACCTTGTGAGG
 AAACCTAAGGATAATATCGATAAAGTCATAGATTCAATTCCTGCTCATATAAA
 AAATCAAAGTATTTATTGAGGTTTCATCAAAGCCTGAAATATATACAGCAGG
 GAAGCATACATTTTCAATGATATGTTAGAAAAATTAGAACCCAAAAATGTTT
 ATAGTGACATTAATGGTTGGAACCTGTAAACGAAGGAAAGTATTATAAAAA
 GAACCCAGATATATTAATTCGACGGAAGCTAAGACAAGATCAGATTATATGG
 ATATCATCAAAAAAGAGGGTGAATCAATAAAATTAATGCTGTCAAGAATAC
 ACGTATTGAAGTTGTAATGGTGTGAAGTATCAAGACCCGGTCCACGTATTG
 ATGAAGGATTAAGAATTAAGAGATGCAATTTATAGAAAAATA

(配列番号488)

【 図 1 4 3 】

Figure 143

GTGAAGAAATCGTTAATTGCTTTTATTTTGATTTTTATGCTTGTCTGAGTGGC
 TGTGGTATGAAAGATAATGATAAACAAAGGTAGCAATGATAATGGCTCGTCTA
 AATCGCCGTACCATAGAAATTGTTTCGTTAATGCCTAGTAATACTGAAATTTTAT
 ATGAATTAGGATTAGGTAATAACATAGTTGGTGTTCACCGGTTGATGATTAT
 CCAAAGATGTGAAAAAGGGTAAGAAACAATTTGATGCTTTGAATCTAAATA
 AAGAGGAACTTTTAAAGGAAAAGCCAGATCTAATCTTGCATGAGTCGCAA
 AAAGGCAACTGCTAATAAAGTATTGTCATCATTAGAGAAACAAGGCATCAA
 GTAGTGTATGTTAAAGATGCACAATCAATTGATGAAACATACAACACATTTAA
 GCAAATTGGGAAATTAACGCATCATGATAAGCAGGCTGAACAACCTTGTGAG
 GAACTAAAGATAATATCGATAAAGTCATAGATTCAATTCCTGCTCATATAA
 AAAATCAAAGTATTTATTGAGGTTTCATCAAAGCCTGAAATATATACAGCAG
 GAAAGCATACATTTTCAATGATATGTTAGAAAAATTAGAACCCAAAAATGTT
 TATAGTGACATTAATGGTTGGAACCTGTAAACGAAGGAAAGTATTATAAAAA
 GAACCCAGATATATTAATTCGACGGAAGCTAAGACAAGATCAGATTATATGG
 ATATCATCAAAAAAGAGGGTGAATCAATAAAATTAATGCTGTCAAGAATAC
 ACGTATTGAAGTTGTAATGGTGTGAAGTATCAAGACCCGGTCCACGTATTG
 ATGAAGGATTAAGAATTAAGAGATGCAATTTATAGAAAAATA

(配列番号489)

【 図 1 4 4 】

Figure 144

GTGAAGAAATCGTTAATTGCTTTTATTTTGATTTTTATGCTTGTCTGAGTGGC
 TGTGGTATGAAAGATAATGATAAACAAAGGTAGCAATGATAATGGCTCGTCTA
 AATCGCCGTACCATAGAAATTGTTTCGTTAATGCCTAGTAATACTGAAATTTTAT
 ATGAATTAGGATTAGGTAATAACATAGTTGGTGTTCACCGGTTGATGATTAT
 CCAAAGATGTGAAAAAGGGTAAGAAACAATTTGATGCTTTGAATCTAAATA
 AAGAGGAACTTTTAAAGGCAAAGCCAGATCTAATCTTGCATGAGTCGCAA
 AAGGCAACTGCTAATAAAGTATTGTCATCATTAGAGAAACAAGGCATCAAAG
 TAGTGTATGTTAAAGATGCACAATCAATTGATGAAACTTACAACACATTTAAG
 CAAATTGGGAAATTAACGCATCATGATAAGCAGGCTGAACAACCTTGTGAGG
 AAACCTAAGGATAATATCGATAAAGTCATAGATTCAATTCCTGCTCATATAAA
 AAATCAAAGTATTTATTGAGGTTTCATCAAAGCCTGAAATATATACAGCAGG
 GAAGCATACATTTTAAATGATATGTTAGAAAAATTAGAACCCAAAAATGTTT
 ATAGTGACATTAATGGTTGGAACCTGTAAACGAAGGAAAGTATTATAAAAA
 GAACCCAGATATATTAATTCGACGGAAGCTAAGACAAGATCAGATTATATGG
 ATATCATCAAAAAAGAGGGTGAATCAATAAAATTAATGCTGTCAAGAATAC
 ACGTATTGAAGTTGTAATGGTGTGAAGTATCAAGACCCGGTCCACGTATTG
 ATGAAGGATTAAGAATTAAGAGATGCAATTTATAGAAAAATA

(配列番号490)

【 図 1 4 5 】

Figure 145

GTGAAGAAATCGTTAATTGCTTTTATTTTGATTTTTATGCTTGTCTGAGTGGC
 TGTGGTATGAAAGATAATGATAAACAAAGGTAGCGATGATAATGGCTCGTCTA
 AATCGCCGTACCATAGAAATTGTTTCGTTAATGCCTAGTAATACTGAAATTTTAT
 ATGAATTAGGATTAGGTAATAACATAGTTGGTGTTCACCGGTTGATGATTAT
 CCAAAGATGTGAAAAAGGGTAAGAAACAATTTGATGCTTTGAATCTAAATA
 AAGAGGAACTTTTAAAGGCAAAGCCAGATCTAATCTTGCATGAGTCGCAA
 AAGGCAACTGCTAATAAAGTATTGTCATCATTAGAGAAACAAGGCATCAAAG
 TAGTGTATGTTAAAGATGCACAATCAATTGATGAAACATACAACACATTTAAG
 CAAATTGGGAAATTAACGCATCATGATAAGCAGGCTGAACAACCTTGTGAGG
 AAACCTAAAGATAATATCGATAAAGTCATAGATTCAATTCCTGCTCATATAAA
 AAATCAAAGTATTTATTGAGGTTTCATCAAAGCCTGAAATATATACAGCAGG
 GAAGCATACATTTTAAATGATATGTTAGAAAAATTAGAACCCAAAAATGTTT
 ATAGTGACATTAATGGTTGGAACCTGTAAACGAAGGAAAGTATTATAAAAA
 GAACCCAGATATATTAATTCGACGGAAGCTAAGACAAGATCAGATTATATGG
 ATATCATCAAAAAAGAGGGTGAATCAATAAAATTAATGCTGTCAAGAATAC
 ACGTATTGAAGTTGTAATGGTGTGAAGTATCAAGACCCGGTCCACGTATTG
 ATGAAGGATTAAGAATTAAGAGATGCAATTTATAGAAAAATA

(配列番号491)

【 図 1 4 6 】

Figure 146

ATGAAAGATAATGATAAAACAAGGTAGCAATGATAATGGCTCGTCTAAATCGC
 CGTACCATAGAATTGTTTCGTTAATGCCTAGTAATACIGAAATTTIATATGAAT
 TAGGATTAGGTAATAACATAGTTGGTGTTCACCGGTTGATGATTATCCAAAA
 GATGTGAAAAAGGGTAAGAAACAATTTGATGCTTTGAATCTAAATAAAGAGG
 AACTTTTAAAGGCAAAGCCAGATCTAATCTTGGCGATGAGTCGCAAAAGGCA
 ACTGCTAATAAAGTATTGTCATCATTAGAGAAAACAAGGCATCAAAGTAGTGTA
 TGTTAAAGATGCACAATCAITGATGAACTTACAACACATTTAAGCAAAATG
 GGAAATTAACGCATCATGATAAGCAGGCTGAACAACCTTGTGAGGAAACTAA
 AGATAATATCGATAAAGTCATAGATTCAATTCCTGCTCATCAAAAAATCAA
 AAGTATTTATGAGGTTTCATCAAGCCCTGAAAATATATACAGCAGGGAAGCAT
 ACATTTTTAATGATATGTTAGAAAAATAGAAAGCCCAAAATGTGTATAGTGA
 CATTAAAGGTTGGAACCCGTGAACGAAGGAAAGTATTATAAAAAGAACCCA
 GATATAATTAATTCGACGGAAGCTAAGACAAGATCAGATTATATGGATATCAT
 CAAAAAAGAGGTGATTCAATAAAATTAATGCTGTCAAGAAATACACGTATT
 GAAGTTGTAATGGTATGAAAGTATCAAGACCAGGTCCACGTATTGATGAAG
 GATTAAGAATTAAGAGATGCAATTTATAGAAAAATA

(配列番号492)

【 図 1 4 7 】

Figure 147

GTGAAGAAATCGTTAATGCTTTTATTTGATTTTTATGCTTGCCTGAGTGCC
 TGTGGTATGAAAGATAATGATAAAACAAGGTAGCAATGATAATGGCTCGTCTA
 AATCGCCGTACCATAGAATTGTTTCGTTAATGCCTAGTAATACTGAAATTTTAT
 ATGAATTAGGATTAGGTAATAACATAGTTGGTGTTCACCGGTTGATGATTAT
 CCAAAGATGTGAAAAAGGGTAAGAAACAATTTGATGCTTTGAATCTAAATA
 AAGAGGAACTTTTAAAGGCAAAGCCAGATCTAATCTTGGCGATGAGTCGCAA
 AAGGCAACTGCTAATAAAGTATTGTCATCATAGAGAAACAAGGCATCAAAG
 TAGTGTATGTTAAAGATGCACAATCAITGATGAACTTACAACACATTTAAG
 CAAATTTGGGAAATTAACGCATCATGATAAGCAGGCTGAACAACCTTGTGAGG
 AAATAAAGATAATATCGATAAAGTCATAGATTCAATTCCTGCTCATCAATAA
 AAATCAAAGTATTTATGAGGTTTCATCAAGCCCTGAAAATATATACAGCAGG
 GAAGCATACATTTTTAATGATATGTTAGAAAAATAGAAAGCCCAAAATGTGT
 ATAGTGACATTAATGGTTGGAACCCGTGAACGAAGGAAAGTATTATAAAAA
 GAACCCAGATATATTAATTCGACGGAAGCTAAGACAAGATCAGATTATATGG
 ATATCATCAAAAAAAGAGGTGATTCAATAAAATTAATGCTGTCAAGAATAC
 ACGTATTGAAGTTGTAATGGTGTGAAAGTATCAAGACCAGGTCCACGTATTG
 ATGAAGGATTAAGAATTAAGAGATGCAATTTATAGAAAAATA

(配列番号493)

【 図 1 4 8 】

Figure 148

ATGAAAGATAATGATAAAACAAGGTAGCAATGATAATGGCTCGTCTAAATCGC
 CGTACCATAGAATTGTTTCGTTAATGCCTAGTAATACTGAAATTTIATATGAAT
 TAGGATTAGGTAATAACATAGTTGGTGTTCACCGGTTGATGATTATCCAAAA
 GATGTGAAAAAGGGTAAGAAACAATTTGATGCTTTGAATCTAAATAAAGAGG
 AACTTTTAAAGGCAAAGCCAGATCTAATCTTGGCGATGAGTCGCAAAAGGCA
 ACTGCTAATAAAGTATTGTCATCATTAGAGAAAACAAGGCATCAAAGTAGTGTA
 TGTTAAAGATGCACAATCAITGATGAACTTACAACACATTTAAGCAAAATG
 GGAAATTAACGCATCATGATAAAGCAGGCTGAACAACCTTGTGAGGAAACTAA
 AGATAATATCGATAAAGTCATAGATTCAATTCCTGCTCATCAAAAAATCAA
 AAGTATTTATGAGGTTTCATCAAGCCCTGAAAATATATACAGCAGGGAAGCAT
 ACATTTTTAATGATATGTTAGAAAAATAGAAAGCCCAAAATGTGTATAGTGA
 CATTAAAGGTTGGAACCCGTGAACGAAGGAAAGTATTATAAAAAGAACCCA
 GATATAATTAATTCGACGGAAGCTAAGACAAGATCAGATTATATGGATATCAT
 CAAAAAAGAGGTGATTCAATAAAATTAATGCTGTCAAGAAATACACGTATT
 GAAGTTGTAATGGTATGAAAGTATCAAGACCAGGTCCACGTATTGATGAAG
 GATTAAGAATTAAGAGATGCAATTTATAGAAAAATA

(配列番号494)

【 図 1 4 9 】

Figure 149

GTGAAGAAATCGTTAATGCTTTTATTTGATTTTTATGCTTGCCTGAGTGCC
 TGTGGTATGAAAGATAATGATAAAACAAGGTAGCAATGATAATGGCTCGTCTA
 AATCGCCGTACCATAGAATTGTTTCGTTAATGCCTAGTAATACTGAAATTTTAT
 ATGAATTAGGATTAGGTAATAACATAGTTGGTGTTCACCGGTTGATGATTAT
 CCAAAGATGTGAAAGAGGGTAAGAAACAATTTGATGCTTTGAATCTAAATA
 AAGAGGAACTTTTAAAGGAAAAGCCAGATCTAATCTTGGCGATGAGTCGCA
 AAAGGCAACTGCTAATAAAGTATTGTCATCATTAGAGAAACAAGGCATCAA
 GTAGTGTATGTTAAAGATGCACAATCAITGATGAAACATACAACACATTTAA
 GCAAATTTGGGAAATTAACGCATCATGATAAGCAGGCTGAACAACCTTGTGAG
 GAAACTAAAGATAATATCGATAAAGTCATAGATTCAATTCCTGCTCATATAA
 AAAATCAAAGTATTTATGAGGTTTCATCAAGCCCTGAAAATATATACAGCAG
 GAAAGCATACATTTTTCAATGATATGTTAGAAAAATAGAAAGCCCAAAATGTT
 TATAGTGACATTAATGGTTGGAACCCGTGAACGAAGGAAAGTATTATAAAAA
 GAACCCAGATATATTAATTCGACGGAAGCTAAGACAAGATCAGATTATATGG
 ATATCATCAAAAAAAGAGGTGATTCAATAAAATTAATGCTGTCAAGAATAC
 ACGTATTGAAGTTGTAATGGTGTGAAAGTATCAAGACCAGGTCCACGTATTG
 ATGAAGGATTAAGAATTAAGAGATGCAATTTATAGAAAAATA

(配列番号495)

【 図 1 5 0 】

Figure 150

AGTGATAAGTCAAATGGCAAACATAAAAGTAGTAACGACGAATTCATTTTATA
 TGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAACGTCGATATTCATAGTATTGTAC
 CTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTTAAACCTAAAGATATTAAGAAAG
 TTAACGACGCTGACGTTATTTTATACAACGGATTAATTTAGAGACTGGTAA
 CGGTTGGTTTAAAAAGCCTTAGAACAGGCTGGTAAATCATTAAAAAGATAAA
 AAAGTTATCGCAGTATCAAAGATGTTAAACCTATCTATTTAAACGGTGAAGA
 AGGCAACAAGATAACAAGATCCACACGCATGGTTAAGTTTAGATAACCGGT
 ATTAATACGTAAAAACAATTCAACAACATTTATCGATAACGACAAAAAAC
 ATAAAGCAGATTATGAAAGCAAGGTAACAAATACATGGCTCAATTGAAAAA
 ATTAATAATGACAGTAAAGACAAATTTAATGACATTCCAAAAAGAACACGT
 GCCATGATTACAAGTGAAGGTGCCTTCAAGTACTTCTAAAAACAATACGGTAT
 TACACCAGGTTATTTGGGAAATTAACACTGAAAAACAAGGTACACCAGAA
 CAAATGAGACAAGCTATTGAGTTGTTAAAAAGCACAATTAACACTTATT
 AGTAGAAACAAGTGTGATAAAGAAAGCAATGGAAAGTTTATCTGAAGAAACG
 AAGAAAGATATCTTTGGTGAAGTGTACACAGATTCAATCGGTAAGAAAGGCA
 CTAAGGTGACTCTTACTCAAAAATGATGAAATCAAATTTGAAACTGTACAC
 GGAAGCATGAAATAA
 (配列番号496)

【 図 1 5 1 】

Figure 151

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTACTTCTAGTTGCTGCATGT
 GGTACTGGTGGTAAACAAAGCAGTATAAGTCAAATGGCAAATTAAGTAG
 TAACGACGAATTCATTTTATATGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAAC
 GTCGATATTCATAGTATTGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTT
 AAACCTAAAGATATTAAGAAAGTTAAGTACGCTGACGTTATTTATACAACGG
 ATTAATTTAGAGACTGGTAAACGGTTGGTTTAAAAAGCCTTAGAACAGGCTG
 GTAATCATTAAAAAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAGATGTTAAACCT
 ATCTATTTAAACGGTGAAGAAGGCAACAAGATAAAACAAGATCCACACGCAT
 GGTAAAGTTTAGATAACGGTATTAATACGTAAAAACAATCAACAAACATTT
 ATCGATAACGACAAAAACATAAAGCAGATTATGAAAAGCAAGGTAAACAAAT
 ACATTGCTCAATTGGAAAAATTAATAATGACAGTAAAGACAAATTTAATGAC
 ATCCAAAAAGAACACCGTCCATGATTACAAGTGAAGGTGCCTCAAGTACTT
 CTCAAAAACAATACGGTATTACACCAGGTTATATTGGGAAATTAACACTGAAA
 AACAAAGTACACCAGAACAAATGAGACAAGCTATTGAGTTGTTAAAAAGCA
 CAAATTAACACTTTATTAGTAGAAACAAAGTGTGATAAAGAAAGCAATGGAA
 AGTTTATCTGAAGAAACGAAGAAGATATCTTTGGTGAAGTGTACACAGATTC
 AATCGTAAAGAAAGGCACTAAAGGTGACTCTTACTACAAAAATGATGAAATCA
 AATATTGAAACTGTACACGGAAGCATGAAATAA
 (配列番号497)

【 図 1 5 2 】

Figure 152

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTACTTCTAGTTGCTGCATGT
 GGTACTGGTGGTAAACAAAGCAGTATAAGTCAAATGGCAAATTAAGTAG
 TAACGACGAATTCATTTTATATGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAAC
 GTCGATATTCATAGTATTGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTT
 AAACCTAAAGATATTAAGAAAGTTAAGTACGCTGACGTTATTTTATACAACGG
 ATTAATTTAGAGACTGGTAAACGGTTGGTTTAAAAAGCCTTAGAACAGGCTG
 GTAATCATTAAAAAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAGATGTTAAACCT
 ATCTATTTAAACGGTGAAGAAGGCAACAAGATAAACAAGATCCACACGCAT
 GGTTAAGTTTAGATAATGGTATTAAATACGTAAAAACAATCAACAACATTT
 ATCGATAACGACAAAAACAATAAAGCAGATTATGAAAAGCAAGGTAACAAAT
 ACATTGCTCAATTGGAAAAATTAATAATGACAGTAAAGACAAATTTAATGAC
 ATTCCAAAAAGAACACCTGCCATGATTACAAGTGAAGGTGCCTTCAAGTACTT
 CTCAAAAACAATACGGTATTACACCAGGTTATTTGGGAAATTAACACTGAAA
 AACAAAGGTACACCTGAAACAATGAGACAAGCTATTGAGTTTGTAAAAAGCA
 CAAATTAACACTTATTAGTAGAAACAAGTGTGATAAAGAAAGCAATGGAA
 AGTTTATCTGAAGAAACGAAGAAGATATCTTTGGTGAAGTGTACACAGATTC
 AATCGTAAAGAAAGGCACTAAAGGTGACTCTTACTACAAAAATGATGAAATCA
 AATATTGAAACTGTACACGGAAGCATGAAATAA
 (配列番号498)

【 図 1 5 3 】

Figure 153

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTACTTCTAGTTGCTGCATGT
 GGTACTGGTGGTAAACAAAGCAGTATAAGTCAAATGGCAAATTAAGTAG
 TAACGACGAATTCATTTTATATGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAAC
 GTCGATATTCATAGTATTGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTT
 AAACCTAAAGATATTAAGAAAGTTAAGTACGCTGACGTTATTTTATACAACGG
 ATTAATTTAGAGACTGGTAAACGGTTGGTTTAAAAAGCCTTAGAACAGGCTG
 GTAATCATTAAAAAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAGATGTTAAACCT
 ATCTATTTAAACGGTGAAGAAGGCAACAAGATAAACAAGATCCACACGCAT
 GGTTAAGTTTAGATAAAGGTTAATAATGACGTTAAAAACAATCAACAACATTT
 ATCGATAACGACAAAAACAATAAAGCAGATTATGAAAAGCAAGGTAACAAAT
 ACATTGCTCAATTGGAAAAATTAATAAAGCAGTAAAGACAAATTTAATGAC
 CATTCCAAAAAGAACACCTGCCATGATTACAAGTGAAGGTGCCTTCAAGTACT
 TCTCAAAAAACAATACGGTATTACACCAGGTTATTTGGGAAATTAACACTGAA
 AACAAAGGTACACCAGAACAAATGAGACAAGCTATTGAGTTTGTAAAAAGC
 ACAATTAACACTTATTAGTAGAAACAAGTGTGATAAAGAAAGCAATGGAA
 AAGTTTATCTGAAGAAACGAAGAAGATATCTTTGGTGAAGTGTACACAGATTC
 CAATCGTAAAGAAAGGCACTAAAGGTGACTCTTACTACAAAAATGATGAAATCA
 AATATTGAAACTGTACACGGAAGCATGAAATAA
 (配列番号499)

【 図 1 5 4 】

Figure 154

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTATTACTTCTAGTGTGCATGT
 GGTAAGTGGTAAACAAAGCAGTGATAAGTCAAATGGCAAATTTAAAGTAG
 TAACGACGAATCAATTTTATATGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAAC
 GTCGATATTCATAGTATTGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTT
 AAACCTAAAGATATTTAAAGTTAACTGACGCTGACGTTATTTATACAACGG
 ATTAATTTAGAGACTGGTAACGGTTGGTTGAAAAAGCCTTAGAACAGGCTG
 GTAAATCATTAAAAAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAAGATGTTAAACCT
 ATCTATTTAAACGGTGAAGAAGGCAACAAGATAAAACAAGATCCACACGCAT
 GGTTAAGTTTAGATAACGGTATTAATACGTAAAAACAATTCACAAACATTT
 ATCGATAACGACAAAAACATAAAGCAGATTATGAAAAGCAAGGTAACAAAT
 ACATTGCTCAATTGGAAAAATTAATAATGACAGTAAAGACAAATTTAATGAC
 ATTCAAAAAGAACACGTGCCATGATTACAAGTGAAGGTGCCCTCAAGTACTT
 CTCAAAAACAATACGGTATTACACCAGGTTATTTGGGAAATTAACACTGAAA
 AACAAAGGTACACCTGAACAAATGAGACAAGCTATTGAGTTTGTAAAAAGCA
 CAAATTAACACACTTATTAGTAGAAACAAGTGTGATAAGAAAGCAATGGAA
 AGTTTATCTGAAGAAACGAAGAAAGATATCTTTGGTGAAGGTGTACACAGATTC
 AATCGGTAAGAAAGGCACTAAAGGTGACTCTTACTACAAAATGATGAAATCA
 AATATTGAAACTGTACACGGAAGCATGAAATAA

(配列番号500)

【 図 1 5 5 】

Figure 155

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTATTACTTCTAGTGTGCATGT
 GGTAAGTGGTAAACAAAGCAGTGATAAGTCAAATGGCAAATTTAAAGTAG
 TAACGACGAATCAATTTTATATGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAAC
 GTCGATATTCATAGTATTGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTT
 AAACCTAAAGATATTTAAAGTTAACTGACGCTGACGTTATTTATACAACGG
 ATTAATTTAGAGACTGGTAACGGTTGGTTGAAAAAGCCTTAGAACAGGCTG
 GTAAATCATTAAAAAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAAGATGTTAAACCT
 ATCTATTTAAACGGTGAAGAAGGCAACAAGATAAAACAAGATCCACACGCAT
 GGTTAAGTTTAGATAACGGTATTAATACGTAAAAACAATTCACAAACATTT
 ATCGATAACGACAAAAACATAAAGCAGATTATGAAAAGCAAGGTAACAAAT
 ACATTGCTCAATTGGAAAAATTAATAATGACAGTAAAGACAAATTTAATGAC
 ATTCAAAAAGAACACGTGCCATGATTACAAGTGAAGGTGCCCTCAAGTACTT
 CTCAAAAACAATACGGTATTACACCAGGTTATTTGGGAAATTAACACTGAAA
 AACAAAGGTACACCTGAACAAATGAGACAAGCTATTGAGTTTGTAAAAAGCA
 CAAATTAACACACTTATTAGTAGAAACAAGTGTGATAAGAAAGCAATGGAA
 AGTTTATCTGAAGAAACGAAGAAAGATATCTTTGGTGAAGGTGTACACAGATTC
 AATCGGTAAGAAAGGCACTAAAGGTGACTCTTACTACAAAATGATGAAATCA
 AATATTGAAACTGTACACGGAAGCATGAAATAA

(配列番号501)

【 図 1 5 6 】

Figure 156

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTATTACTTCTAGTGTGCATGT
 GGTAAGTGGTAAACAAAGCAGTGATAAGTCAAATGGCAAATTTAAAGTAG
 TAACGACGAATCAATTTTATATGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAAC
 GTCGATATTCATAGTATTGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTT
 AAACCTAAAGATATTTAAAGTTAACTGACGCTGACGTTATTTATACAACGG
 ATTAATTTAGAGACTGGTAACGGTTGGTTGAAAAAGCCTTAGAACAGGCTG
 GTAAATCATTAAAAAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAAGATGTTAAACCT
 ATCTATTTAAACGGTGAAGAAGGCAACAAGATAAAACAAGATCCACACGCAT
 GGTTAAGTTTAGATAAATGGTATTAAATACGTAAAAACAATTCACAAACATTT
 ATCGATAACGACAAAAACATAAAGCAGATTATGAAAAGCAAGGTAACAAAT
 ACATTGCTCAATTGGAAAAATTAATAATGACAGTAAAGACAAATTTAATGAC
 ATTCAAAAAGAACACGTGCCATGATTACAAGTGAAGGTGCCCTCAAGTACTT
 CTCAAAAACAATACGGTATTACACCAGGTTATTTGGGAAATTAACACTGAAA
 AACAAAGGTACACCTGAACAAATGAGACAAGCTATTGAGTTTGTAAAAAGCA
 CAAATTAACACACTTATTAGTAGAAACAAGTGTGATAAGAAAGCAATGGAA
 AGTTTATCTGAAGAAACGAAGAAAGATATCTTTGGTGAAGGTGTACACAGATTC
 AATCGGTAAGAAAGGCACTAAAGGTGACTCTTACTACAAAATGATGAAATCA
 AATATTGAAACTGTACACGGAAGCATGAAATAA

(配列番号502)

【 図 1 5 7 】

Figure 157

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTATTACTTCTAGTGTGCATGT
 GGTAAGTGGTAAACAAAGCAGTGATAAGTCAAATGGCAAATTTAAAGTAG
 TAACGACGAATCAATTTTATATGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAAC
 GTCGATATTCATAGTATTGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTT
 AAACCTAAAGATATTTAAAGTTAACTGACGCTGACGTTATTTATACAACGG
 ATTAATTTAGAGACTGGTAACGGTTGGTTGAAAAAGCCTTAGAACAGGCTG
 GTAAATCATTAAAAAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAAGATGTTAAACCT
 ATCTATTTAAACGGTGAAGAAGGCAACAAGATAAAACAAGATCCACACGCAT
 GGTTAAGTTTAGATAACGGTATTAATACGTAAAAACAATTCACAAACATTT
 ATCGATAACGACAAAAACATAAAGCAGATTATGAAAAGCAAGGTAACAAAT
 ACATTGCTCAATTGGAAAAATTAATAATGACAGTAAAGACAAATTTAATGAC
 ATTCAAAAAGAACACGTGCCATGATTACAAGTGAAGGTGCCCTCAAGTACTT
 CTCAAAAACAATACGGTATTACACCAGGTTATTTGGGAAATTAACACTGAAA
 AACAAAGGTACACCTGAACAAATGAGACAAGCTATTGAGTTTGTAAAAAGCA
 CAAATTAACACACTTATTAGTAGAAACAAGTGTGATAAGAAAGCAATGGAA
 AGTTTATCTGAAGAAACGAAGAAAGATATCTTTGGTGAAGGTGTACACAGATTC
 AATCGGTAAGAAAGGCACTAAAGGTGACTCTTACTACAAAATGATGAAATCA
 AATATTGAAACTGTACACGGAAGCATGAAATAA

(配列番号503)

【 図 1 5 8 】

Figure 158

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTATTACTTCTAGTTGCTGCATGT
 GGTAAGTGGTAAACAAAGCAGTGATAAGTCAAATGGCAAATTTAAAGTAG
 TAACGACGAATTCATTTTATATGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAAC
 GTCGATATTCATAGTATTGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTT
 AAACCTAAAGATATTTAAAGTTAACTGACGCTGACGTTATTTATACAACGG
 ATTAATTTAGAGACTGGTAACGGTTGGTTTAAAAAGCCTTAGAACAGGCTG
 GTAAATCATTAAAAAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAAGATGTTAAACCT
 ATCTATTTAAACGGTGAAGAAGGCAACAAAGATAAAACAAGATCCACACGCAT
 GGTAAAGTTAGATAACGGTATTAATACGTAAAAACAATTCACAAACATTT
 ATCGATAACGACAAAAACATAAAGCAGATTATGAAAAGCAAGTTAACAAAT
 ACATTGCTCAATTGGAAAAATTAATAATGACAGTAAAGACAAATTTAATGAC
 ATTCCAAAAAGAACACGTGCCATGATTACAAGTGAAGGTGCTTCAAGTACTT
 CTCAAAAACAATACGGTATTACACCAAGTTATTTGGGAAATTAACACTGAAA
 AACAAAGTACACCTGAAACAAATGAGACAAGCTATTGAGTTTGTAAAAAGCA
 CAAATTAACAACTATTAGTAGAAACAAGTGTGATAAGAAAGCAATGGAA
 AGTTTATCTGAAGAAACGAAGAAAGATATCTTTGGTGAAGTGTACACAGATT
 AATCGGTAAGAAAGGCACTAAAGGTGACTCTTACTACAAAAATGATGAAATCA
 AATATTGAAACTGTACACGGAAGCATGAAATAA
 (配列番号504)

【 図 1 5 9 】

Figure 159

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTATTACTTCTAGTTGCTGCATGT
 GGTAAGTGGTAAACAAAGCAGTGATAAGTCAAATGGCAAATTTAAAGTAG
 TAACGACGAATTCATTTTATATGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAAC
 GTCGATATTCATAGTATTGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTT
 AAACCTAAAGATATTTAAAGTTAACTGACGCTGACGTTATTTATACAACGG
 ATTAATTTAGAGACTGGTAACGGTTGGTTTAAAAAGCCTTAGAACAGGCTG
 GTAAATCATTAAAAAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAAGATGTTAAACCT
 ATCTATTTAAACGGTGAAGAAGGCAACAAAGATAAAACAAGATCCACACGCAT
 GGTAAAGTTAGATAACGGTATTAATACGTAAAAACAATTCACAAACATTT
 ATCGATAACGACAAAAACATAAAGCAGATTATGAAAAGCAAGTTAACAAAT
 ACATTGCTCAATTGGAAAAATTAATAATGACAGTAAAGACAGTAAAGACAA
 ATTTAATGACATTCAAAAAGAACACGTGCCATGATTACAAGTGAAGGTGCTT
 TCAAGTACTTCTAAAAACAATACGGTATTACACCAAGTTATTTGGGAAAT
 AACACTGAAAAACAAGGTACACCTGAAACAAATGAGACAAAGCTATTGAGTTG
 TAAAAAGCACAATTAACACCTTATTAGTAGAAACAAGTGTGATAAGAA
 AGCAATGGAAGTTTATCTGAAGAAACGAAGAAAGATATCTTTGGTGAAGT
 TACACAGATTCAATCGGTAAGAAAGGCACTAAAGGTGACTCTTACTACAAAA
 ATGATAATCAAAATATTGAAACTGTACACGGAAGCATGAAATAA
 (配列番号505)

【 図 1 6 0 】

Figure 160

ATGAAAAAATTAGTACCTTTATTATTAGCCTTATTACTTCTAGTTGCTGCATGT
 GGTAAGTGGTAAACAAAGCAGTGATAAGTCAAATGGCAAATTTAAAGTAG
 TAACGACGAATTCATTTTATATGATATGGCTAAAAATGTTGGTGGAGACAAC
 GTCGATATTCATAGTATTGTACCTGTTGGTCAAGATCCTCATGAATATGAAGTT
 AAACCTAAAGATATTTAAAGTTAACTGACGCTGACGTTATTTATACAACGG
 ATTAATTTAGAGACTGGTAACGGTTGGTTTAAAAAGCCTTAGAACAGGCTG
 GTAAATCATTAAAAAGATAAAAAAGTTATCGCAGTATCAAAAGATGTTAAACCT
 ATCTATTTAAACGGTGAAGAAGGCAACAAAGATAAAACAAGATCCACACGCAT
 GGTAAAGTTAGATAACGGTATTAATACGTAAAAACAATTCACAAACATTT
 ATCGATAACGACAAAAACATAAAGCAGATTATGAAAAGCAAGTTAACAAAT
 ACATTGCTCAATTGGAAAAATTAATAATGACAGTAAAGACAAATTTAATGAC
 ATTCCAAAAAGAACACGTGCCATGATTACAAGTGAAGGTGCTTCAAGTACTT
 CTCAAAAACAATACGGTATTACACCAAGTTATTTGGGAAATTAACACTGAAA
 AACAAAGTACACCTGAAACAAATGAGACAAGCTATTGAGTTTGTAAAAAGCA
 CAAATTAACAACTATTAGTAGAAACAAGTGTGATAAGAAAGCAATGGAA
 AGTTTATCTGAAGAAACGAAGAAAGATATCTTTGGTGAAGTGTACACAGATT
 AATCGGTAAGAAAGGCACTAAAGGTGACTCTTACTACAAAAATGATGAAATCA
 AATATTGAAACTGTACACGGAAGCATGAAATAA
 (配列番号506)

【 図 1 6 1 】

Figure 161 A

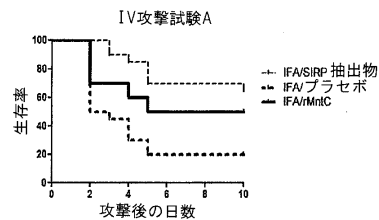


Figure 161 B

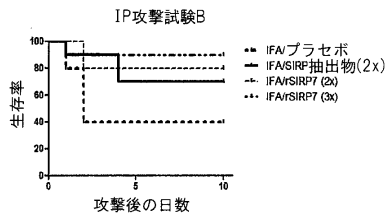
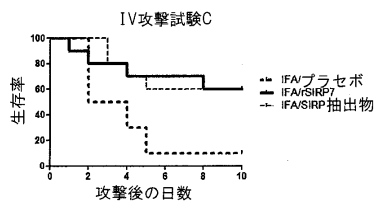


Figure 161 C



【 図 1 6 2 】

Figure 162

MKKT VLYL VLA VMFL LAACGNNSDKEQSKSETKGSKDTVKIENNYKMRGEKDD
GSDAKKVKETVEVPKNPKNAVLDY GALDVMKEMGLSDKVKALPNFLESFKDD
KYTNIGNLKEVNFDKIAATKPEVIFISGR TANQKNLDEFKKAAPKAKIVYVGADE
KNLIGSMKQNTENIGKIYDKEDKAKELNKDLDNKIASMKDKTKNFNKTVMYLLV
NEGELSTFGPKGRFGGLVYD TLFNAVDK KVSNSNHGQNVSN EYVNKENPDVIL
AMDRGQAVSGKSTAKQALNPNV LKNVKA IKEDK VYNLDPKLWYFAAGSTTTTI
KQIEELDKVVK
(配列番号543)

【 図 1 6 3 】

Figure 163

MKKT VLYL VLA VMFL LAACGNNSDKEQSKSETKGSKDTVKIENNYKMRGEKDD
GSDAKKVKETVEVPKNPKNAVLDY GALDVMKEMGLSDKVKALPKGEGGKSLP
NFLSFKDDKYTNVGNLKEVNFDKIAATKPEVIFISGR TANQKNLDEFKKAAPKA
KIVYVGADEKNLIGSMKQNTENIGKIYDKEDKAKELNKDLDNKIASMKDKTKNF
NKTVMYLLVNEGELSTFGPKGRFGGLVYD TLFNAVDK KVSNSNHGQNVSN EY
VNKENPDVILAMDRGQAVSGKSTAKQALNPNV LKNVKA IKEDK VYNLDPKLWYF
AAGSTTTTIKQIEELDKVVK
(配列番号544)

【 図 1 6 4 】

Figure 164

MKKT VLYL VLA VMFL LAACGNNSDKEQSKSETKGSKDTVKIENNYKMRGEKDD
GSDAKKVKETVEVPKNPKNAVLDY GALDVMKEMGLSDKVKALPKGEGGKSLP
NFLSFKDDKYTNVGNLKEVNFDKIAATKPEVIFISGR TANQKNLDEFKKAAPKA
KIVYVGADEKNLIGSMKQNTENIGKIYDKEDKAKELNKDLDNKIASMKDKTKNF
NKSVMYLLVNEGELSTFGPKGRFGGLVYD TLFNAVDK KVSNSNHGQNVSN EYI
NKENPDVILAMDRGQAVSGKSTAKQALNPNV LKNVKA IKEDK VYNLDPKLWYF
AAGSTTTTIKQIELEKVVK
(配列番号545)

【 図 1 6 8 】

Figure 168

MKKT VLYL VLA VMFL LAACGNNSDKEQSKSETKGSKDTVKIENNYKMRGEKDD
GSDAKKVKETVEVPKNPKNAVLDY GALDVMKEMGLSDKVKALPKGEGGKSLP
NFLSFKDDKYTNVGNLKEVNFDKIAATKPEVIFISGR TANQKNLDEFKKAAPKA
KIVYVGADEKNLIGSMKQNTENIGKIYDKEDKAKELNKDLDNKIASMKDKTKNF
NKTVMYLLVNEGELSTFGPKGRFGGLVYD TLFNAVDK KVSNSNHGQNVSN EY
VNKENPDVILAMDRGQAVSGKSTAKQALNPNV LKNVKA IKEDK VYNLDPKLWYF
AAGSTTTTIKQIEELDKVVK
(配列番号549)

【 図 1 6 9 】

Figure 169

MKKT VLYL VLA VMFL LAACGNNSDKEQSKSETKGSKDTVKIENNYKMRGEKDD
GSDAKKVKETVEVPKNPKNAVLDY GALDVMKEMGLSDKVKALPKGEGGKSLP
NFLSFKDDKYTNVGNLKEVNFDKIAATKPEVIFISGR TANQKNLDEFKKAAPKA
KIVYVGADEKNLIGSMKQNTENIGKIYDKEDKAKELNKDLDNKIASMKDKTKNF
NKTVMYLLVNEGELSTFGPKGRFGGLVYD TLFNAVDK KVSNSNHGQNVSN EY
VNKENPDVILAMDRGQAVSGKSTAKQALNPNV LKNVKA IKEDK VYNLDPKLWYF
AAGSTTTTIKQIEELDKVVK
(配列番号550)

【 図 1 6 5 】

Figure 165

MKKT VLYL VLA VMFL LAACGNNSDKEQSKSETKGSKDTVKIENNYKMRGEKDD
GSDAKKVKETVEVPKNPKNAVLDY GALDVMKEMGLSDKVKALPKGEGGKSLP
NFLSFKDDKYTNVGNLKEVNFDKIAATKPEVIFISGR TANQKNLDEFKKAAPKA
KIVYVGADEKNLIGSMKQNTENIGKIYDKEDKAKELNKDLDNKIASMKDKTKNF
NKTVMYLLVNEGELSTFGPKGRFGGLVYD TLFNAVDK KVSNSNHGQNVSN EY
VNKENPDVILAMDRGQAVSGKSTAKQALNPNV LKNVKA IKEDK VYNLDPKLWYF
AAGSTTTTIKQIEELDKVVK
(配列番号546)

【 図 1 6 6 】

Figure 166

MKKT VLYL VLA VMFL LAACGNNSDKEQSKSETKGSKDTVKIENNYKMRGEKDD
GSDAKKVKETVEVPKNPKNAVLDY GALDVMKEMGLSDKVKALPKGEGGKSLP
NFLSFKDDKYTNVGNLKEVNFDKIAATKPEVIFISGR TANQKNLDEFKKAAPKA
KIVYVGADEKNLIGSMKQNTENIGKIYDKEDKAKELNKDLDNKIASMKDKTKNF
NKTVMYLLVNEGELSTFGPKGRFGGLVYD TLFNAVDK KVSNSNHGQNVSN EY
VNKENPDVILAMDRGQAVSGKSTAKQALNPNV LKNVKA IKEDK VYNLDPKLWYF
AAGSTTTTIKQIEELDKVVK
(配列番号547)

【 図 1 6 7 】

Figure 167

MKKT VLYL VLA VMFL LAACGNNSDKEQSKSETKGSKDTVKIENNYKMRGEKDD
GSDAKKVKETVEVPKNPKNAVLDY GALDVMKEMGLSDKVKALPKGEGGKSLP
NFLSFKDDKYTNVGNLKEVNFDKIAATKPEVIFISGR TANQKNLDEFKKAAPKA
KIVYVGADEKNLIGSMKQNTENIGKIYDKEDKAKELNKDLDNKIASMKDKTKNF
NKTVMYLLVNEGELSTFGPKGRFGGLVYD TLFNAVDK KVSNSNHGQNVSN EY
VNKENPDVILAMDRGQAVSGKSTAKQALNPNV LKNVKA IKEDK VYNLDPKLWYF
AAGSTTTTIKQIEELDKVVK
(配列番号548)

【 図 1 7 0 】

Figure 170

MKKT VLYL VLA VMFL LAACGNNSDKEQSKSETKGSKDTVKIENNYKMRGEKDD
GSDAKKVKETVEVPKNPKNAVLDY GALDVMKEMGLSDKVKALPKGEGGKSLP
NFLSFKDDKYTNVGNLKEVNFDKIAATKPEVIFISGR TANQKNLDEFKKAAPKA
KIVYVGADEKNLIGSMKQNTENIGKIYDKEDKAKELNKDLDNKIASMKDKTKNF
NKTVMYLLVNEGELSTFGPKGRFGGLVYD TLFNAVDK KVSNSNHGQNVSN EY
VNKENPDVILAMDRGQAVSGKSTAKQALNPNV LKNVKA IKEDK VYNLDPKLWYF
AAGSTTTTIKQIEELDKVVK
(配列番号551)

【 図 1 7 1 】

Figure 171

MKKT VLYL VLA VMFL LAACGNNSDKEQSKSETKGSKDTVKIENNYKMRGEKDD
GSDAKKVKETVEVPKNPKNAVLDY GALDVMKEMGLSDKVKALPKGEGGKSLP
NFLSFKDDKYTNVGNLKEVNFDKIAATKPEVIFISGR TANQKNLDEFKKAAPKA
KIVYVGADEKNLIGSMKQNTENIGKIYDKEDKAKELNKDLDNKIASMKDKTKNF
NKTVMYLLVNEGELSTFGPKGRFGGLVYD TLFNAVDK KVSNSNHGQNVSN EY
VNKENPDVILAMDRGQAVSGKSTAKQALNPNV LKNVKA IKEDK VYNLDPKLWYF
AAGSTTTTIKQIEELDKVVK
(配列番号552)

【 図 1 7 2 】

Figure 172

MKLLLP LIIMLL VLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDIPKPKRIAVVA
PTYAGGLKKGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTKIGDGDVEKVAKEKPDLLI
VYSTDKDIKKYQKVAPT VVDYNKHKYLEQEQMELGKJVGKEDKVAWKDWE
ETTAKDGEIKKAIQDQATVSLFEFDKLYTYGDNWGRGGEVLVYQAFGLKMQP
EQQKLTAAGVAEVKQEBIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKAATKEG
HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
(配列番号553)

【 図 1 7 3 】

Figure 173

MKLLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
PTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKIGDGDVEKVAKEKPDII
VYSTDKDIKKYQKVAPTIVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
EQQKLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKATKEG
HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
(配列番号554)

【 図 1 7 4 】

Figure 174

MKLLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
PTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKIGDGDIEKVAKEKPDII
VYSTDKDIKKYQKVAPTIVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
TTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
EQQKLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKATKEG
HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
(配列番号555)

【 図 1 7 5 】

Figure 175

MKLLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
PTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKIGDGDVEKVAKEKPDII
VYSTDKDIKKYQKVAPTIVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
EQQKLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKATKEG
HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
(配列番号556)

【 図 1 7 9 】

Figure 179

MKLLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
PTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKIGDGDVEKVAKEKPDII
VYSTDKDIKKYQKVAPTIVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
EQQKLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKATKEG
HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
(配列番号560)

【 図 1 8 0 】

Figure 180

MKLLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
PTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKIGDGDVEKVAKEKPDII
VYSTDKDIKKYQKVAPTIVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
EQQKLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKATKEG
HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
(配列番号561)

【 図 1 7 6 】

Figure 176

MKLLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
PTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKIGDGDVEKVAKEKPDII
VYSTDKDIKKYQKVAPTIVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
EQQKLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKATKEG
HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
(配列番号557)

【 図 1 7 7 】

Figure 177

MKLLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
PTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKIGDGDVEKVAKEKPDII
VYSTDKDIKKYQKVAPTIVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
EQQKLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKATKEG
HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
(配列番号558)

【 図 1 7 8 】

Figure 178

MKLLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
PTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKIGDGDVEKVAKEKPDII
VYSTDKDIKKYQKVAPTIVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
EQQKLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKATKEG
HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
(配列番号559)

【 図 1 8 1 】

Figure 181

MKLLLLPLIIMLLVLAACGNQGEKNNKAETKSYKMDDGKTVDPKPKRIAVVA
PTYAGGLKKLGANIVAVNQVDQSKVLKDKFKGVTIKIGDGDVEKVAKEKPDII
VYSTDKDIKKYQKVAPTIVVDYNNKHKYLEQQEMLGKIVGKEDKVKAWKDW
ETTAKDGKEIKKAIGQDATVSLFDEFDKKLYTYGDNWGRGGEVLYQAFGLKMQP
EQQKLTAKAGWAEVKQEEIEKYAGDYIVSTSEKPTPGYESTNMWKNLKATKEG
HIVKVDAGTYWYNDPYTLDFMRKDLKEKLIKAAK
(配列番号562)

【 図 1 8 2 】

Figure 182

ATGAAGAAAACAGTCTTATATTTAGTATTAGCAGTAATGTTTTATTAGCGGC
 ATGCGGTAAACAATTCTGATAAAGAACAATCAAATCAGAACTAAAGGTTCT
 AAAGATAACAGTAAAAATTGAAAACTATAAAATGCGTGGCGAGAAAAAAG
 ATGGTAGTGACGCTAAAAAGTTAAAGAACTGTTGAACTACCAAAAGATCC
 TAAAAATGCAGTTGTTAGACTATGGCGCATTAGATGTAATGAAAGAAATGG
 GCTTATCAGACAAAGTAAAAGCATTACCGAATTTCTTAGAATCATTAAAGAT
 GATAAATATACAAACATTGGTAATTTAAAAGAAGTGAATTTTGATAAAATTCG
 TGGCAGGAAACCCGAGTAATCTTTATCTCTGGACGTACAGCTAATCAAAGA
 ATTTAGATGAATTCAAAAAGCTGCACCTAAAGCGAAAAATGTTTATTGTTGGT
 GCAGATGAAAAGAACTTAATTTGGTTCAATGAAACAAAACTGAAAATATCG
 GTAAAAATCTACGACAAAAGTCAAAGCTAAAGAGTTAAATAAAGATTTAGA
 TAATAAAATGCTTCAATGAAAAGATAAAACGAAAACTTCAATAAAAGTTGTA
 TGTATTACTAGTTAACGAAAGTGAATATCAACATTTGGACCTAAAGGTCGT
 TTTGGTGGATTAGTTACGATACATTAGGATTCATGCAAGTGAATAAAAAAGT
 AAGTAATAGTAATCATGACAAAATGTTCTAACGAATATGTAATAAAGAA
 AATCCAGATGTTATTTAGCGATGGATAGAGGTCAAGCGGTAAGTGGTAAATC
 AACTGCGAAAACAGCATTAAATATCTGTATTAAAAATGTTAAAGCAATTA
 AAGAAGACAAAGTTATAAATTTAGATCTCAAAATTTGTTACTTTGACGTGGA
 TCAACTACAATAAATAAACAATTTAGGAACTTGATAAAGTTGTAATAA
 A

(配列番号563)

【 図 1 8 3 】

Figure 183

ATGAAGAAAACAGTCTTATATTTAGTATTAGCAGTAATGTTTTATTAGCGGC
 ATGCGGTAAACAATTCTGATAAAGAACAATCAAATCAGAACTAAAGGTTCT
 AAAGATAACAGTAAAAATTGAAAACTATAAAATGCGTGGCGAGAAAAAAG
 ATGGTAGTGACGCTAAAAAGTTAAAGAACTGTTGAACTACCAAAAGATCC
 TAAAAATGCAGTTGTTAGACTATGGCGCATTAGATGTAATGAAAGAAATGG
 GCTTATCAGATAAAGTAAAAGCATTACCTAAAGGGGAAGCGGTAAGTCATT
 ACCGAATTTCTTAGAATCATTAAAAGATGATAAATACAAACGTTGGTAATT
 TAAAAGAAGTGAATTTTGATAAAATGCTGCGCAGAAACCCGAAAGTAACTTT
 ATCTCTGGACGTACAGCTAATCAAAGAATTTAGATGAATTCAAAAAGCTGC
 ACCTAAAGCGAAAAATGTTTATGTTGGTGCAGATGAAAAGAAGTAAATGGTT
 CAATGAAACAAAACTGAAAATATCGGTAAAATTTACGATAAAGAAAGATAA
 AGCTAAAGAATTAATAAAGATTTAGATAAACAATTTGCTCAATGAAAGAT
 AAAACGAAAACTTCAATAAACTGTTATGTAATTTACTAGTTAACGAAAGTGA
 ATTATCAACATTTGGACCTAAAGGTCGTTTTGGTGGATTAGTTACGATACATT
 AGGATTCATGCAAGTGAATAAAGTAAGTAATAGCAATCATGGACAAAAT
 GTTCTAACGAATATGTTAATAAAGAAATCCAGATGTTATTTAGCGATGGA
 TAGAGGTCAAGCGATAAGTGGTAAATCAACTGCGAAAACAGCATTAAATAAT
 CCTGTATTAATAAATGTTAAAGCAATTAAGAAGACAAAGTATATAATTTAGA
 TCCTAAATTTAGTACTTTGACGTGGATCAACTACAATAAATAAACA
 TTGAGGAACCTGATAAAGTTGTAATAA

(配列番号564)

【 図 1 8 4 】

Figure 184

ATGAAGAAAACAGTCTTATATTTAGTATTAGCAGTAATGTTTTATTAGCGGC
 ATGCGGTAAACAATTCTGATAAAGAACAATCAAATCAGAACTAAAGGTTCT
 AAAGATAACAGTAAAAATTGAAAACTATAAAATGCGTGGCGAGAAAAAAG
 ATGGTAGTGACGCTAAAAAGTTAAAGAACTGTTGAACTACCAAAAGATCC
 TAAAAATGCAGTTGTTAGATTATGGCGCATTAGATGTAATGAAAGAAATGG
 GCTTATCAGACAAAGTAAAAGCATTACCTAAAGGTGAAAGCGGCAAGTCATT
 ACCGAATTTCTTAGAGTCATTTAAAGATGACAAAGTATACAAATGTTGGTAACT
 TGAAAAGAAGTAAATTCGATAAAATGTCAGCAACAAAACCGGAAGTAACTTT
 ATCTCTGGCCGTACAGCAATCAAAGAAATTTAGATGAATTTAAAAAGCTGC
 ACCAAAAGCAAAAATGTTTACGTTGGTGCAGATGAAAAGAATTAATTAGTT
 CAATGAAAACAAAACACTGAAAATATTGGTAAAAATTTACGATAAAGAAGATAA
 AGCTAAAGAATTAATAAAGATTTAGATAAACAATTTGCTCAATGAAAGAT
 AAAACTAAGAAGTTCAACAAATCAGTTATGATTTATTAGTTAATGAAGGTGA
 ATTATCAACATTTGGACCTAAAGGTCGTTTCGGTGGATTAGTTACGATACATT
 AGGTTTCAACGCGGTTGATAAAAACGTAAAGCAATAGTAACCACGGACAAAAT
 GTCTTAACGAATACATTAAATAAAGAAATCCAGATGTTATTTAGCAATGGA
 TAGAGGACAGGCTGTAAGTGGTAAATCAACTGCGAAAACAGCATTAAATAAT
 CCTGTATTAATAAATGTTAAAGCAATTAAGAAGACAAAGTTTATAATTTAGA
 CCCTAAATTTAGTACTTTGACGTGGATCAACTACAATAAATAAACA
 TTGATGAACCTGAAAAGTTGTAATAA

(配列番号565)

【 図 1 8 5 】

Figure 185

ATGAAGAAAACAGTCTTATATTTAGTATTAGCAGTAATGTTTTATTAGCGGC
 ATGCGGTAAACAATTCTGATAAAGAACAATCAAATCAGAACTAAAGGTTCT
 AAAGATAACAGTAAAAATTGAAAACTATAAAATGCGTGGCGAGAAAAAAG
 ATGGTAGTGACGCTAAAAAGTTAAAGAACTGTTGAACTACCAAAAGATCC
 TAAAAATGCAGTTGTTAGACTATGGCGCATTAGATGTAATGAAAGAAATGG
 GCTTATCAGATAAAGTAAAAGCATTACCTAAAGGGGAAGCGGTAAGTCATT
 ACCGAATTTCTTAGAATCATTAAAGATGATAAATACAAACGTTGGTAATT
 TAAAAGAAGTGAATTTTGATAAAATGCTGCGCAGAAAACCCGAAAGTAACTTT
 ATCTCTGGACGTACAGCTAATCAAAGAATTTAGATGAATTCAAAAAGCTGC
 CAATGAAAACAAAACACTGAAAATATCGGTAAAATTTACGATAAAGAAGATAA
 AGCTAAAGAATTAATAAAGATTTAGATAAACAATTTGCTCAATGAAAGAT
 AAAACGAAAACTTCAATAAACTGTTATGTAATTTACTAGTTAACGAAAGTGA
 ATTATCAACATTTGGACCTAAAGGTCGTTTTGGTGGATTAGTTACGATACATT
 AGGATTCATGCAAGTGAATAAAGTAAGTAATAGCAATCATGGACAAAAT
 GTTCTAACGAATATGTTAATAAAGAAATCCAGATGTTAATTTAGCGATGGA
 TAGAGGTCAAGCGATAAGTGGTAAATCAACTGCGAAAACAGCATTAAATAAT
 CCTGTATTAATAAATGTTAAAGCAATTAAGAAGACAAAGTATATAATTTAGA
 TCCTAAATTTAGTACTTTGACGTGGATCAACTACAATAAATAAACA
 TTGAGGAACCTGATAAAGTTGTAATAA

(配列番号566)

【 図 1 8 6 】

Figure 186

ATGAAGAAAACAGCTTTATATTTAGTATTAGCAGTAATGTTTTATTAGCGGC
 ATGCGGTAACAATTCTGATAAAGAACAATCAAAATCAGAACTAAAGGTTCT
 AAAGATACAGTAAAAATTGAAAAAATACTATAAAATGCGTGGCGAGAAAAAG
 ATGGTAGTGACGCTAAAAAAGTTAAAGAACTGTTGAAGTACCAAAAAATCC
 TAAAAATGCAAGTTGTGTTAGACTATGGCGCATTAGATGTAATGAAAGAAATGG
 GCTTATCAGATAAAGTAAAAGCATTACCTAAAGGGGAAGGCGGTAAGTCATT
 ACCGAATTTCTTAGAATCATTAAAGATGATAAATATACAAACGTTGGTAATT
 TAAAAGAAAGTGAATTTTGATAAAATGCTGCGACGAAACCCGAAGTAATCTTT
 ATCTCTGGACGTACAGCTAATCAAAAGAATTTAGATGAATCAAAAAAGCTGC
 ACCTAAAGCGAAAAATGTTTATGTTGGTGCAGATGAAAAGAACTTAATGGTT
 CAATGAAACAAAACACTGAAAAATTCGGAAAAATTTACGATAAAGAAGATAA
 AGCTAAAGAATTAATAAAGATTTAGATAACAAAATGCTTCAATGAAAGAT
 AAAACGAAAAACTTCAATAAACTGTTATGTATTTACTAGTTAACGAAGGTGA
 ATTATCAACATTTGGACCTAAAGGTCGTTTTGGTGGATTAGTTTACGATACATT
 AGGATTCAATGCAGTTGATAAAAAAGTAAGTAATAGCAATCATGGACAAAAAT
 GTTTCTAACGAATATGTTAATAAAGAAAAATCCAGATGTTATTTAGCGATGGA
 TAGAGGTCAAGCGATAAGTGGTAAATCAACTGCGAAACAAGCATTAAATAAT
 CCTGTATTAAAAAATGTTAAAGCAATTAAGAAGACAAAAGTATATAATTTAGA
 TCCTAAATATGGTACTTTGACGCTGGATCAACTACAACACTACAATTAACAAA
 TTGAGGAACCTTGATAAAGTTGTAATAATA

(配列番号567)

【 図 1 8 7 】

Figure 187

ATGAAGAAAACAGCTTTATATTTAGTATTAGCAGTAATGTTTTATTAGCGGC
 ATGCGGTAACAATTCTGATAAAGAACAATCAAAATCAGAACTAAAGGTTCT
 AAAGATACAGTAAAAATTGAAAAAATACTATAAAATGCGTGGCGAGAAAAAG
 ATGGTAGTGACGCTAAAAAAGTTAAAGAACTGTTGAAGTACCAAAAAATCC
 TAAAAATGCAAGTTGTGTTAGACTATGGCGCATTAGATGTAATGAAAGAAATGG
 GCTTATCAGATAAAGTAAAAGCATTACCTAAAGGGGAAGGCGGTAAGTCATT
 ACCGAATTTCTTAGAATCATTAAAGATGATAAATATACAAACGTTGGTAATT
 TAAAAGAAAGTGAATTTTGATAAAATGCTGCGACGAAACCCGAAGTAATCTTT
 ATCTCTGGACGTACAGCTAATCAAAAGAATTTAGATGAATCAAAAAAGCTGC
 ACCTAAAGCGAAAAATGTTTATGTTGGTGCAGATGAAAAGAACTTAATGGTT
 CAATGAAACAAAACACTGAAAAATTCGGAAAAATTTACGATAAAGAAGATAA
 AGCTAAAGAATTAATAAAGATTTAGATAACAAAATGCTTCAATGAAAGAT
 AAAACGAAAAACTTCAATAAACTGTTATGTATTTACTAGTTAACGAAGGTGA
 ATTATCAACATTTGGACCTAAAGGTCGTTTTGGTGGATTAGTTTACGATACATT
 AGGATTCAATGCAGTTGATAAAAAAGTAAGTAATAGCAATCATGGACAAAAAT
 GTTTCTAACGAATATGTTAATAAAGAAAAATCCAGATGTTATTTAGCGATGGA
 TAGAGGTCAAGCGATAAGTGGTAAATCAACTGCGAAACAAGCATTAAATAAT
 CCTGTATTAAAAAATGTTAAAGCAATTAAGAAGACAAAAGTATATAATTTAGA
 TCCTAAATATGGTACTTTGACGCTGGATCAACTACAACACTACAATTAACAAA
 TTGAGGAACCTTGATAAAGTTGTAATAATA

(配列番号568)

【 図 1 8 8 】

Figure 188

ATGAAGAAAACAGCTTTATATTTAGTATTAGCAGTAATGTTTTATTAGCGGC
 ATGCGGTAACAATTCTGATAAAGAACAATCAAAATCAGAACTAAAGGTTCT
 AAAGATACAGTAAAAATTGAAAAAATACTATAAAATGCGTGGCGAGAAAAAG
 ATGGTAGTGACGCTAAAAAAGTTAAAGAACTGTTGAAGTACCAAAAAATCC
 TAAAAATGCAAGTTGTGTTAGACTATGGCGCATTAGATGTAATGAAAGAAATGG
 GCTTATCAGATAAAGTAAAAGCATTACCTAAAGGGGAAGGCGGTAAGTCATT
 ACCGAATTTCTTAGAATCATTAAAGATGATAAATATACAAACGTTGGTAATT
 TAAAAGAAAGTGAATTTTGATAAAATGCTGCGACGAAACCCGAAGTAATCTTT
 ATCTCTGGACGTACAGCTAATCAAAAGAATTTAGATGAATCAAAAAAGCTGC
 ACCTAAAGCGAAAAATGTTTATGTTGGTGCAGATGAAAAGAACTTAATGGTT
 CAATGAAACAAAACACTGAAAAATTCGGAAAAATTTACGATAAAGAAGATAA
 AGCTAAAGAATTAATAAAGATTTAGATAACAAAATGCTTCAATGAAAGAT
 AAAACGAAAAACTTCAATAAACTGTTATGTATTTACTAGTTAACGAAGGTGA
 ATTATCAACATTTGGACCTAAAGGTCGTTTTGGTGGATTAGTTTACGATACATT
 AGGATTCAATGCAGTTGATAAAAAAGTAAGTAATAGCAATCATGGACAAAAAT
 GTTTCTAACGAATATGTTAATAAAGAAAAATCCAGATGTTATTTAGCGATGGA
 TAGAGGTCAAGCGATAAGTGGTAAATCAACTGCGAAACAAGCATTAAATAAT
 CCTGTATTAAAAAATGTTAAAGCAATTAAGAAGACAAAAGTATATAATTTAGA
 TCCTAAATATGGTACTTTGACGCTGGATCAACTACAACACTACAATTAACAAA
 TTGAGGAACCTTGATAAAGTTGTAATAATA

(配列番号569)

【 図 1 8 9 】

Figure 189

ATGAAGAAAACAGCTTTATATTTAGTATTAGCAGTAATGTTTTATTAGCGGC
 ATGCGGTAACAATTCTGATAAAGAACAATCAAAATCAGAACTAAAGGTTCT
 AAAGATACAGTAAAAATTGAAAAAATACTATAAAATGCGTGGCGAGAAAAAG
 ATGGTAGTGACGCTAAAAAAGTTAAAGAACTGTTGAAGTACCAAAAAATCC
 TAAAAATGCAAGTTGTGTTAGACTATGGCGCATTAGATGTAATGAAAGAAATGG
 GCTTATCAGATAAAGTAAAAGCATTACCTAAAGGGGAAGGCGGTAAGTCATT
 ACCGAATTTCTTAGAATCATTAAAGATGATAAATATACAAACGTTGGTAATT
 TAAAAGAAAGTGAATTTTGATAAAATGCTGCGACGAAACCCGAAGTAATCTTT
 ATCTCTGGACGTACAGCTAATCAAAAGAATTTAGATGAATCAAAAAAGCTGC
 ACCTAAAGCGAAAAATGTTTATGTTGGTGCAGATGAAAAGAACTTAATGGTT
 CAATGAAACAAAACACTGAAAAATTCGGAAAAATTTACGATAAAGAAGATAA
 AGCTAAAGAATTAATAAAGATTTAGATAACAAAATGCTTCAATGAAAGAT
 AAAACGAAAAACTTCAATAAACTGTTATGTATTTACTAGTTAACGAAGGTGA
 ATTATCAACATTTGGACCTAAAGGTCGTTTTGGTGGATTAGTTTACGATACATT
 AGGATTCAATGCAGTTGATAAAAAAGTAAGTAATAGCAATCATGGACAAAAAT
 GTTTCTAACGAATATGTTAATAAAGAAAAATCCAGATGTTATTTAGCGATGGA
 TAGAGGTCAAGCGATAAGTGGTAAATCAACTGCGAAACAAGCATTAAATAAT
 CCTGTATTAAAAAATGTTAAAGCAATTAAGAAGACAAAAGTATATAATTTAGA
 TCCTAAATATGGTACTTTGACGCTGGATCAACTACAACACTACAATTAACAAA
 TTGAGGAACCTTGATAAAGTTGTAATAATA

(配列番号570)

【 図 1 9 0 】

Figure 190

ATGAAGAAAAACAGTCTTATATTTAGTATTAGCAGTAATGTTTTTATTAGCGGC
 ATGCGGTAACAATTCTGATAAAGAAACAATCAAATCAGAACTAAAGGTTCT
 AAAGATACAGTAAAAATTGAAAAAATACTATAAAATGCGTGGCGAGAAAAAG
 ATGGTAGTGACGCTAAAAAAGTTAAAGAACTGTTGAAGTACCAAAAAATCC
 TAAAAATGCAGTTGTTAGACTATGGCGCATTAGATGTAATGAAAGAAATGG
 GCTTATCAGATAAAGTAAAGCATTACCTAAAGGGGAAGGCGTAAGTCATT
 ACCGAAITTTCTTGAATCATTAAAGATGATAAAATACAAACGTTGGTAATT
 TAAAAGAAGTGAATTTTGATAAAATGCTGCGACGAAACCCGAAGTAATCTTT
 ATCTCTGGACGTACAGCTAATCAAAGAATTTAGATGAATTCAAAAAGCTGC
 ACCTAAAGCGAAAAATTGTTATGTTGGTGCAGATGAAAAGAACTTAATTGGTT
 CAATGAAACAAAACACTGAAAAATCGGAAAAATTTACGATAAAGAGATAA
 AGCTAAAGAAATTAATAAAGATTAGATAACAAAAATGCTCAATGAAAGAT
 AAAACGAAAAACTTCAATAAAACTGTTATGTAATTTACTAGTTAACGAAGGTGA
 ATTATCAACATTTGGACCTAAAGGTCGTTTTGGTGGATTAGTTACGATACATT
 AGGATTCATGCAAGTTGATAAAAAAGTAAGTAATAGCAATCATGGACAAAAAT
 GTTCTAACGAATATGTTAATAAAGAAAAATCCAGATGTTATTTAGCGATGGA
 TAGAGGTCAAGCGATAAGTGGTAAATCAACTGCGAAACAAGCATTAAATAAT
 CCTGTATTAATAAATGTTAAAGCAATTAAGAAGACAAAGTATATAATTTAGA
 TCCTAAATATGGTACTTTGACGCTGGATCAACTACAACATAAACAATAA
 TTGAGGAACCTGATAAAGTTGTAATAATAA

(配列番号571)

【 図 1 9 1 】

Figure 191

ATGAAGAAAAACAGTCTTATATTTAGTATTAGCAGTAATGTTTTTATTAGCGGC
 ATGCGGTAACAATTCTGATAAAGAAACAATCAAATCAGAACTAAAGGTTCT
 AAAGATACAGTAAAAATTGAAAAAATACTATAAAATGCGTGGCGAGAAAAAG
 ATGGTAGTGACGCTAAAAAAGTTAAAGAACTGTTGAAGTACCAAAAAATCC
 TAAAAATGCAGTTGTTAGACTATGGCGCATTAGATGTAATGAAAGAAATGG
 GCTTATCAGATAAAGTAAAGCATTACCTAAAGGGGAAGGCGTAAGTCATT
 ACCGAAITTTCTTGAATCATTAAAGATGATAAAATACAAACGTTGGTAATT
 TAAAAGAAGTGAATTTTGATAAAATGCTGCGACGAAACCCGAAGTAATCTTT
 ATCTCTGGACGTACAGCTAATCAAAGAATTTAGATGAATTCAAAAAGCTGC
 ACCTAAAGCGAAAAATTGTTATGTTGGTGCAGATGAAAAGAACTTAATTGGTT
 CAATGAAACAAAACACTGAAAAATCGGTAATAATTTACGATAAAGAGATAA
 AGCTAAAGAAATTAATAAAGATTAGATAACAAAAATGCTCAATGAAAGAT
 AAAACGAAAAACTTCAATAAAACTGTTATGTAATTTACTAGTTAACGAAGGTGA
 ATTATCAACATTTGGACCTAAAGGTCGTTTTGGTGGATTAGTTACGATACATT
 AGGATTCATGCAAGTTGATAAAAAAGTAAGTAATAGCAATCATGGACAAAAAT
 GTTCTAACGAATATGTTAATAAAGAAAAATCCAGATGTTATTTAGCGATGGA
 TAGAGGTCAAGCGATAAGTGGTAAATCAACTGCGAAACAAGCATTAAATAAT
 CCTGTATTAATAAATGTTAAAGCAATTAAGAAGACAAAGTATATAATTTAGA
 TCCTAAATATGGTACTTTGACGCTGGATCAACTACAACATAAACAATAA
 TTGAGGAACCTGATAAAGTTGTAATAATAA

(配列番号572)

【 図 1 9 2 】

Figure 192

ATGAAAAAACTATTATTACCATAAATAATTATGTTATTAGTGTAGCTGCGTGT
 GGGAACCAAGGTGAAAAAATAACAAGCTGAAACTAAATCTTATAAAATGG
 ACGATGGCAAAAACGCTAGATATTCGAAAGACCCTAAACGCAATTGCAAGTGT
 TGCGCCAACATATGCTGGTGGACTTAAAAAATAGGTGCAACATTTGATAGCTG
 TAAATCAACAAGTCGATCAAAGCAAGTAITAAAAGATAAAATTTAAAGGTGT
 TACAAAAATGGTGTAGCGGATGTAGAAAAGGTTGCTAAAGAAAAAGCCAGAT
 TTAATTATTGTATACTACTACTGACAAAGACATTAATAAATATCAAAAAGTAGC
 ACCAACAGTAGTTGTTGACTATAATAAGCATAAATTTTGAACAACAAGAA
 ATGTTAGGGAAAAATTGTTGGTAAAGAAAGTAAAGTAAAGCTTGAAGAAAG
 ATTTGGGAAGAAACAAGCTGTAAGACCGTAAAGAAATTAATAAAGCAATTGG
 ACAAGATGCAACAGTGTGCTGTTGTTGATGAATTTGATAAAAAATTTATACACTT
 ACGGCGATAAAGCTGGGTCGTTGGTGGGAAAGTACTATATCAAGCATTGGTTTA
 AAAATGCAACCAGAAACAAGAAAGTTAACTGCAAAAAGCAGGTTGGGCTGAAG
 TGAACAAGAAGAAATTTGAAAAATATGCTGGTGAATACATTGTGAGTACAAG
 TGAAGGTAAACCTACACCAGGATATGAATCAACAAACATGTGGAAGAATTTG
 AAAGCTACTAAAGAAAGACATATTTGTTAAAGTTGATGCTGGTACATACTGGTA
 CAACGATCCTTATACATTAGATTTTCATGCGTAAAGATTTAAAGAAAAAATTA
 TTAAGCTGCAAAATAA

(配列番号573)

【 図 1 9 3 】

Figure 193

ATGAAAAAACTATTATTACCATAAATAATTATGTTATTAGTGTAGCTGCGTGT
 GGGAACCAAGGTGAAAAAATAACAAGCTGAAACTAAATCTTATAAAATGG
 ACGATGGCAAAAACGCTAGATATTCGAAAGACCCTAAACGCAATTGCAAGTGT
 TGCGCCAACATATGCTGGTGGACTTAAAAAATAGGTGCAACATTTGATAGCTG
 TAAATCAACAAGTCGATCAAAGCAAGTATTAAGAAATAAATTTAAAGGTGT
 TACAAAAATGGTGTAGCGGATGTAGAAAAGTGGCTAAAGAAAAAGCCAGAT
 TTAATTATTGTATACTACTACTGACAAAGATATTAATAAATATCAAAAAGTAGC
 ACCAACAGTAGTTGTTGACTATAATAAGCATAAATTTTGAACAACAAGAA
 ATGTTAGGGAAAAATTGTTGGTAAAGAAAGTAAAGTAAAGCTTGAAGAAAG
 ATTTGGGAAGAAACAAGCTGTAAGACCGTAAAGAAATTAATAAAGCAATTGG
 ACAAGATGCAACAGTGTCAATTTGATGAATTTGATAAAAAATTTATACACTT
 ACGGCGATAAAGCTGGGTCGTTGGTGGGAAAGTACTATATCAAGCATTGGTTTG
 AAAATGCAACCAGAAACAAGAAAGTTAACTGCAAAAAGCAGGTTGGGCTGAAG
 TGAACAAGAAGAAATTTGAAAAATATGCTGGTGAATACATTGTGAGTACAAG
 TGAAGGTAAACCTACACCAGGATATGAATCAACAAACATGTGGAAGAATTTG
 AAAGCTACTAAAGAAAGACATATTTGTTAAAGTTGATGCTGGTACATACTGGTA
 CAACGATCCTTATACATTAGATTTTCATGCGTAAAGATTTAAAGAAAAAATTA
 TTAAGCTGCAAAATAA

(配列番号574)

【 図 1 9 4 】

Figure 194

ATGAAAAAATAATTATTACCATAAATAATTATGTTATTAGTGTAGCTGCGTGT
 GGGAAACCAAGGTGAAAAAATAACAAAGCTGAAACTAAATCTTATAAAATGG
 ACGATGGCAAAAACGGTAGATATCCGAAAGACCCATAACCGCATTGCAGTAGT
 TGCGCCAACATATGCTGGTGGACTTAAAAAATTAGGTGCAACATTGTAGCTG
 TAAATCAACAAGTTGATCAAAAGCAAAGTGTAAAGATAAAATTTAAAGGTGT
 ACTAAAATTGGTGTAGTGTATATAGAAAAAGTTGCTAAAGAAAAGCCAGATT
 TAATTATTGTATACTACTGACAAAGACATTAAGAAAGTATCAAAAAGTAGCA
 CCAACAGTAGTTGACTATAATAAGCATAAATACTTAGAACACAAGAAAT
 GTTAGGAAAAATTGTTGGTAAAGAAAGATAAAAGTAAAGCTTGGAAAGAAAGAT
 TGGGAAGAAAACAATGCTAAAGACGGTAAAGAAATTAAGAAAAGCAATTGGAC
 AAGATGCAACAGTGTCAATTGTTGATGAATTTGATAAAAAATTATACACTTAC
 GCGGATAACTGGGGTCGTGGTGGAGAAGTATTAATCAAGCATTGGTTTAAA
 AATGCAACCAAGAAACAAGTAACTGCAAAAGCAGGTTGGCTGAAGTG
 AAACAAGAAAGAAATTGAAAAATATGCTGGTATTACATTGTGAGTACAAGTG
 AAGGTAAACCTACACCAGGATACGAATCAACAACATGTGGAAAGAAATTTGAA
 AGCTACTAAAGAAGACATATTGTTAAAGTTGATGCTGGTACATACTGGTACA
 ACGATCCTTATACATTAGATTTTCATGCGTAAAGATTTAAAGAAAAAATAATT
 AAAGCTGCAAAAATAA

(配列番号575)

【 図 1 9 5 】

Figure 195

ATGAAAAAATAATTATTACCATAAATAATTATGTTATTAGTGTAGCTGCGTGT
 GGGAAACCAAGGTGAAAAAATAACAAAGCTGAAACTAAATCTTATAAAATGG
 ACGATGGCAAAAACGGTAGATATCCGAAAGACCCATAACCGCATTGCAGTAGT
 TGCGCCAACATATGCTGGTGGACTTAAAAAATTAGGTGCAACATTGTAGCTG
 TAAATCAACAAGTCGATCAAAAGCAAAGTATTAAGGATAAAATTTAAAGGTGT
 TACAAAAATTGGTGTAGCGGATGTAGAAAAAGTTGCTAAAGAAAAGCCAGAT
 TTAATTATTGTATACTACTGACAAAGATAATTAAGAAATATCAAAAAGTAGC
 ACCAACAGTAGTTGTTGACTATAATAAGCATAAAATTTAGAACACAAGAA
 ATGTTAGGAAAAATTGTTGGTAAAGAAAGATAAAGTAAAGCTTGGAAAGAAAG
 ATTGGGAAGAAAACAATGCTAAAGACGGTAAAGAAATTAAGAAAAGCAATTGG
 ACAAGATGCAACAGTGTCAATTGTTGATGAATTTGATAAAAAATTATACACTT
 ACGCGATAACTGGGGTCGTGGTGGAGAAGTATTATCAAGCATTGGTTTAA
 AAAATGCAACCAGAACACAAGTAACTGCAAAAGCAGGTTGGCTGAAG
 TGAACAAGAAAGAAATTGAAAAATATGCTGGTATTACATTGTGAGTACAAG
 TGAAGGTAAACCTACACCAGGATATGAATCAACAACATGTGGAAAGAAATTTG
 AAAGCTACTAAAGAAGACATATTGTTAAAGTTGATGCTGGTACATACTGGTA
 CAACGATCCTTATACATTAGATTTTCATGCGTAAAGATTTAAAGAAAAAATAA
 TTAAGCTGCAAAAATAA

(配列番号576)

【 図 1 9 6 】

Figure 196

ATGAAAAAATAATTATTACCATAAATAATTATGTTATTAGTGTAGCTGCGTGT
 GGGAAACCAAGGTGAAAAAATAACAAAGCTGAAACTAAATCTTATAAAATGG
 ACGATGGCAAAAACGGTAGATATCCGAAAGACCCATAACCGCATTGCAGTAGT
 TGCGCCAACATATGCTGGTGGACTTAAAAAATTAGGTGCAACATTGTAGCTG
 TAAATCAACAAGTCGATCAAAAGCAAAGTATTAAGGATAAAATTTAAAGGTGT
 TACAAAAATTGGTGTAGCGGATGTAGAAAAAGTTGCTAAAGAAAAGCCAGAT
 TTAATTATTGTATACTACTGACAAAGATAATTAAGAAATATCAAAAAGTAGC
 ACCAACAGTAGTTGTTGACTATAATAAGCATAAATAATTAGAACACAAGAA
 ATGTTAGGAAAAATTGTTGGTAAAGAAAGATAAAAGTAAAGCTTGGAAAGAAAG
 ATTGGGAAGAAAACAATGCTAAAGACGGTAAAGAAATTAAGAAAAGCAATTGG
 ACAAGATGCAACAGTGTCAATTGTTGATGAATTTGATAAAAAATTATACACTT
 ACGCGATAACTGGGGTCGTGGTGGAGAAGTATTATCAAGCATTGGTTTGA
 AAAATGCAACCAGAACACAAGTAACTGCAAAAGCAGGTTGGCTGAAG
 TGAACAAGAAAGAAATTTGAAAAATATGCTGGTATTACATTGTGAGTACAAG
 TGAAGGTAAACCTACACCAGGATACGAATCAACAACATGTGGAAAGAAATTTG
 AAAGCTACTAAAGAAGACATATTGTTAAAGTTGATGCTGGTACATACTGGTA
 CAACGATCCTTATACATTAGATTTTCATGCGTAAAGATTTAAAGAAAAAATAA
 TTAAGCTGCAAAAATAA

(配列番号577)

【 図 1 9 7 】

Figure 197

ATGAAAAAATAATTATTACCATAAATAATTATGTTATTAGTGTAGCTGCGTGT
 GGGAAACCAAGGTGAAAAAATAACAAAGCTGAAACTAAATCTTATAAAATGG
 ACGATGGCAAAAACGGTAGATATCCGAAAGACCCATAACCGCATTGCAGTAGT
 TGCGCCAACATATGCTGGTGGACTTAAAAAATTAGGTGCAACATTGTAGCTG
 TAAATCAACAAGTCGATCAAAAGCAAAGTATTAAGGATAAAATTTAAAGGTGT
 TACAAAAATTGGTGTAGCGGATGTAGAAAAAGTTGCTAAAGAAAAGCCAGAT
 TTAATTATTGTATACTACTGACAAAGATAATTAAGAAATATCAAAAAGTAGC
 ACCAACAGTAGTTGTTGACTATAATAAGCATAAAATTTAGAACACAAGAA
 ATGTTAGGAAAAATTGTTGGTAAAGAAAGATAAAGTAAAGCTTGGAAAGAAAG
 ATTGGGAAGAAAACAATGCTAAAGACGGTAAAGAAATTAAGAAAAGCAATTGG
 ACAAGATGCAACAGTGTCAATTGTTGATGAATTTGATAAAAAATTATACACTT
 ACGCGATAACTGGGGTCGTGGTGGAGAAGTATTATCAAGCATTGGTTTGA
 AAAATGCAACCAGAACACAAGTAACTGCAAAAGCAGGTTGGCTGAAG
 TGAACAAGAAAGAAATTTGAAAAATATGCTGGTATTACATTGTGAGTACAAG
 TGAAGGTAAACCTACACCAGGATATGAATCAACAACATGTGGAAAGAAATTTG
 AAAGCTACTAAAGAAGACATATTGTTAAAGTTGATGCTGGTACATACTGGTA
 CAACGATCCTTATACATTAGATTTTCATGCGTAAAGATTTAAAGAAAAAATAA
 TTAAGCTGCAAAAATAA

(配列番号578)

【 図 1 9 8 】

Figure 198

ATGAAAAAACTATTATTACCATTAAATAATTATGTTATTAGTGTAGCTGCGTGT
 GGGAAACCAAGGTGAAAAAATAACAAAGCTGAAACTAAATCTTATAAAATGG
 ACGATGGCAAAAACGGTAGATATTCGAAAAGCCCTAAACGCATTGCAGTAGT
 TGCGCCAACATATGCTGGTGGACTTAAAAAATTAGGTGCAAAACATTGTAGCTG
 TAAATCAACAAGTCGATCAAAAGCAAAGTATTAAGAGATAAAATTTAAAGGTGT
 TACAAAAAATTGGTGTAGCGGATGAGAAAAAGTTGCTAAAGAAAAAGCCAGAT
 TTAATTTGTATACTCTACTGACAAAGATATTAATAAATATCAAAAAGTAGC
 ACCAACAGTAGTGTGACTATAATAAGCATAAAATTTAGAACAAACAAGAA
 ATGTTAGGGAAAAATTGTTGGTAAAGAAAGATAAAGTAAAAGCTTGGAAAGAAAG
 ATTGGGAAGAAACAACACTGCTAAAGACGGTAAAGAAATTAATAAAGCAATTGG
 ACAAGATGCAACAGTGTCTATTGTTGATGAATTTGATAAAAAATTATACACTT
 ACGGCGATAACTGGGGTCTGGTGGAGAAAGTATTATCAAGCATTGGTTG
 AAAATGCAACCAGAAACAACAAAGTTAACTGCAAAAAGCAGGTTGGGCTGAAG
 TGAACAAGAAGAAATTTGAAAAATATGCTGGTGTACATTGTGAGTACAAG
 TGAAGGTAAACCTACACCAGGATACGAATCAACAAACATGTGGAAGAATTTG
 AAAGCTACTAAAGAAGGACATATTGTTAAAGTTGATGCTGGTACACTGGTGA
 CAACGATCCTTATACATTAGATTTTCATGCGTAAAGATTTAAAGAAAAAATTA
 TAAAGCTGCAAAATAA

(配列番号579)

【 図 1 9 9 】

Figure 199

ATGAAAAAACTATTATTACCATTAAATAATTATGTTATTAGTGTAGCTGCGTGT
 GGGAAACCAAGGTGAAAAAATAACAAAGCTGAAACTAAATCTTATAAAATGG
 ACGATGGCAAAAACGGTAGATATTCGAAAAGCCCTAAACGCATTGCAGTAGT
 TGCGCCAACATATGCTGGTGGACTTAAAAAATTAGGTGCAAAACATTGTAGCTG
 TAAATCAACAAGTCGATCAAAAGCAAAGTATTAAGAGATAAAATTTAAAGGTGT
 TACAAAAAATTGGTGTAGCGGATGAGAAAAAGTTGCTAAAGAAAAAGCCAGAT
 TTAATTTGTATACTCTACTGACAAAGATATTAATAAATATCAAAAAGTAGC
 ACCAACAGTAGTGTGACTATAATAAGCATAAAATTTAGAACAAACAAGAA
 ATGTTAGGGAAAAATTGTTGGTAAAGAAAGATAAAGTAAAAGCTTGGAAAGAAAG
 ATTGGGAAGAAACAACACTGCTAAAGACGGTAAAGAAATTAATAAAGCAATTGG
 ACAAGATGCAACAGTGTCTATTGTTGATGAATTTGATAAAAAATTATACACTT
 ACGGCGATAACTGGGGTCTGGTGGAGAAAGTATTATCAAGCATTGGTTG
 AAAATGCAACCAGAAACAACAAAGTTAACTGCAAAAAGCAGGTTGGGCTGAAG
 TGAACAAGAAGAAATTTGAAAAATATGCTGGTGTACATTGTGAGTACAAG
 TGAAGGTAAACCTACACCAGGATACGAATCAACAAACATGTGGAAGAATTTG
 AAAGCTACTAAAGAAGGACATATTGTTAAAGTTGATGCTGGTACACTGGTGA
 CAACGATCCTTATACATTAGATTTTCATGCGTAAAGATTTAAAGAAAAAATTA
 TAAAGCTGCAAAATAA

(配列番号580)

【 図 2 0 0 】

Figure 200

ATGAAAAAACTATTATTACCATTAAATAATTATGTTATTAGTGTAGCTGCGTGT
 GGGAAACCAAGGTGAAAAAATAACAAAGCTGAAACTAAATCTTATAAAATGG
 ACGATGGCAAAAACGGTAGATATTCGAAAAGCCCTAAACGCATTGCAGTAGT
 TGCGCCAACATATGCTGGTGGACTTAAAAAATTAGGTGCAAAACATTGTAGCTG
 TAAATCAACAAGTCGATCAAAAGCAAAGTATTAAGAGATAAAATTTAAAGGTGT
 TACAAAAAATTGGTGTAGCGGATGAGAAAAAGTTGCTAAAGAAAAAGCCAGAT
 TTAATTTGTATACTCTACTGACAAAGATATTAATAAATATCAAAAAGTAGC
 ACCAACAGTAGTGTGACTATAATAAGCATAAAATTTAGAACAAACAAGAA
 ATGTTAGGGAAAAATTGTTGGTAAAGAAAGATAAAGTAAAAGCTTGGAAAGAAAG
 ATTGGGAAGAAACAACACTGCTAAAGACGGTAAAGAAATTAATAAAGCAATTGG
 ACAAGATGCAACAGTGTCTATTGTTGATGAATTTGATAAAAAATTATACACTT
 ACGGCGATAACTGGGGTCTGGTGGAGAAAGTATTATCAAGCATTGGTTG
 AAAATGCAACCAGAAACAACAAAGTTAACTGCAAAAAGCAGGTTGGGCTGAAG
 TGAACAAGAAGAAATTTGAAAAATATGCTGGTGTACATTGTGAGTACAAG
 TGAAGGTAAACCTACACCAGGATACGAATCAACAAACATGTGGAAGAATTTG
 AAAGCTACTAAAGAAGGACATATTGTTAAAGTTGATGCTGGTACACTGGTGA
 CAACGATCCTTATACATTAGATTTTCATGCGTAAAGATTTAAAGAAAAAATTA
 TAAAGCTGCAAAATAA

(配列番号581)

【 図 2 0 1 】

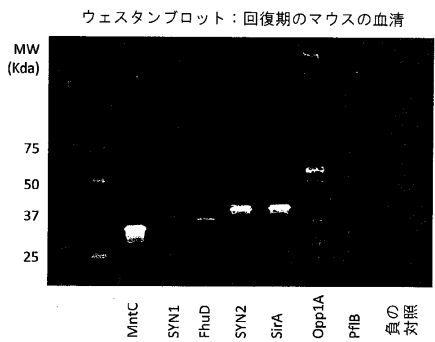
Figure 201

ATGAAAAAACTATTATTACCATTAAATAATTATGTTATTAGTGTAGCTGCGTGT
 GGGAAACCAAGGTGAAAAAATAACAAAGCTGAAACTAAATCTTATAAAATGG
 ACGATGGCAAAAACGGTAGATATTCGAAAAGCCCTAAACGCATTGCAGTAGT
 TGCGCCAACATATGCTGGTGGACTTAAAAAATTAGGTGCAAAACATTGTAGCTG
 TAAATCAACAAGTCGATCAAAAGCAAAGTATTAAGAGATAAAATTTAAAGGTGT
 TACAAAAAATTGGTGTAGCGGATGAGAAAAAGTTGCTAAAGAAAAAGCCAGAT
 TTAATTTGTATACTCTACTGACAAAGATATTAATAAATATCAAAAAGTAGC
 ACCAACAGTAGTGTGACTATAATAAGCATAAAATTTAGAACAAACAAGAA
 ATGTTAGGGAAAAATTGTTGGTAAAGAAAGATAAAGTAAAAGCTTGGAAAGAAAG
 ATTGGGAAGAAACAACACTGCTAAAGACGGTAAAGAAATTAATAAAGCAATTGG
 ACAAGATGCAACAGTGTCTATTGTTGATGAATTTGATAAAAAATTATACACTT
 ACGGCGATAACTGGGGTCTGGTGGAGAAAGTATTATCAAGCATTGGTTA
 AAAATGCAACCAGAAACAACAAAGTTAACTGCAAAAAGCAGGTTGGGCTGAAG
 TGAACAAGAAGAAATTTGAAAAATATGCTGGTGTACATTGTGAGTACAAG
 TGAAGGTAAACCTACACCAGGATACGAATCAACAAACATGTGGAAGAATTTG
 AAAGCTACTAAAGAAGGACATATTGTTAAAGTTGATGCTGGTACACTGGTGA
 CAACGATCCTTATACATTAGATTTTCATGCGTAAAGATTTAAAGAAAAAATTA
 TAAAGCTGCAAAATAA

(配列番号582)

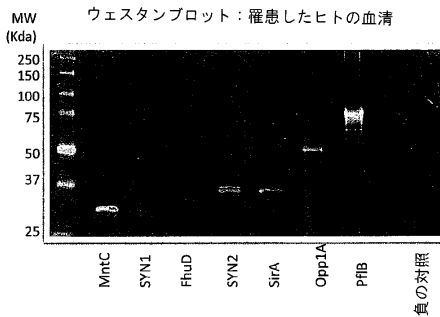
【 図 2 0 2 】

Figure 202



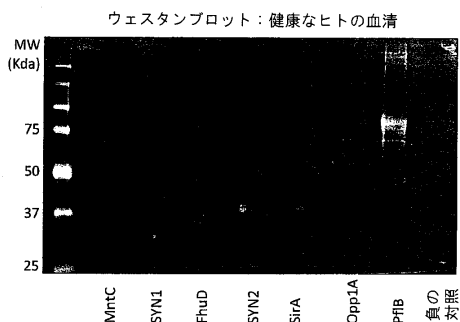
【 図 2 0 4 】

Figure 204



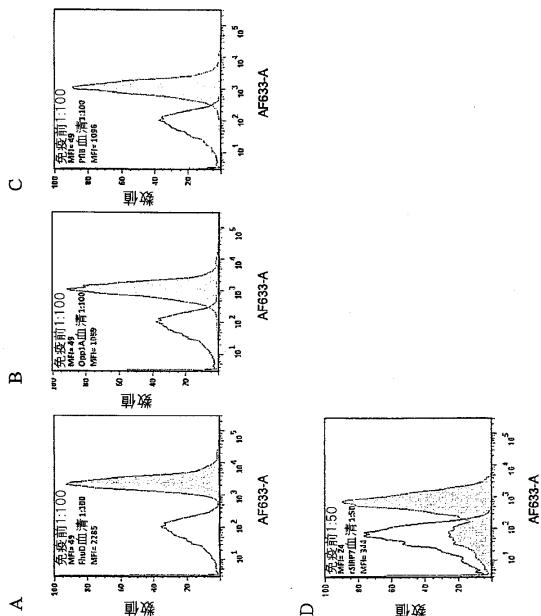
【 図 2 0 3 】

Figure 203



【 図 2 0 5 】

Figure 205



【 図 2 0 6 】

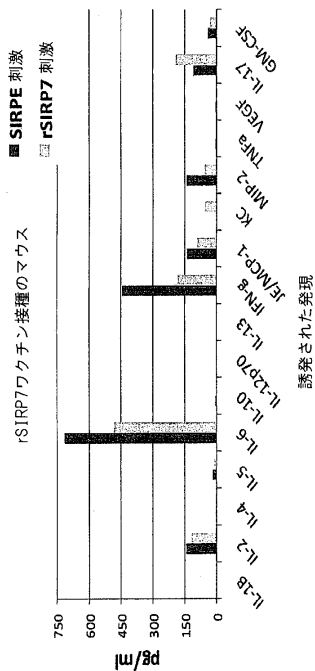


Figure 206

【配列表】

0006092933000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I
G 0 1 N 33/531 A

(74)代理人 100117019
弁理士 渡辺 陽一

(74)代理人 100141977
弁理士 中島 勝

(74)代理人 100150810
弁理士 武居 良太郎

(72)発明者 リサ エル・ヘロン - オルソン
アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 4 1 7 , ミネアポリス, コロンブス アベニュー 5 0 0 1

(72)発明者 ドリュー エム・カترون
アメリカ合衆国, ミネソタ 5 5 1 2 6 , ショアビュー, エレイン アベニュー 5 3 5

審査官 伊藤 基章

(56)参考文献 特表2005 - 502326 (JP, A)
特表2008 - 532935 (JP, A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
A 6 1 K 3 9 / 0 0
G 0 1 N 3 3 / 0 0
C A p l u s (S T N)
R E G I S T R Y (S T N)

专利名称(译)	含有多肽和革兰氏阳性多肽的免疫组合物及其使用方法		
公开(公告)号	JP6092933B2	公开(公告)日	2017-03-08
申请号	JP2015098351	申请日	2015-05-13
[标]申请(专利权)人(译)	埃皮托皮克斯有限责任公司		
申请(专利权)人(译)	EPI主题, Rimitido 责任公司		
当前申请(专利权)人(译)	EPI主题, Rimitido 责任公司		
[标]发明人	リサエルヘロンオルソン ドリュエムカトロン		
发明人	リサ エル.ヘロン-オルソン ドリュエム.カトロン		
IPC分类号	A61K39/085 A61P31/04 A61P43/00 A61K39/395 G01N33/531		
CPC分类号	C07K14/31 A61K38/00 A61K39/085		
FI分类号	A61K39/085.ZNA A61P31/04 A61P43/00.121 A61K39/395.D A61K39/395.N G01N33/531.A A61K39/085 C07K14/31 C07K16/12 C12N1/20.EZN.A C12N15/00.A C12N15/31		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA31 4B024/BA50 4B024/CA01 4B024/HA03 4B065/AA53X 4B065/AC15 4B065/BB40 4B065/BC50 4B065/CA24 4B065/CA45 4C085/AA13 4C085/AA14 4C085/BA13 4C085/CC07 4C085/DD24 4C085/EE03 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/CA11 4H045/DA75 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA31 4H045/FA72		
代理人(译)	青木 笃 石田 敬 渡边洋一 中岛胜 武井良太郎		
优先权	61/210772 2009-03-23 US		
其他公开文献	JP2015164949A		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题：提供可从葡萄球菌属中分离的分离多肽。本发明还涉及包含一种或多种多肽的组合物以及制备和使用多肽的方法。包含与SEQ ID NO：397的氨基酸序列具有至少92%序列相似性的分离的多肽的组合物，条件是所述分离的多肽进一步包含一个或多个条件是，与SEQ ID NO：399的氨基酸1至26相比，所述一种或多种另外的氨基酸包含至少一个氨基酸缺失或至少一个氨基酸取代，组成。【选择图】无

(19) 日本国特許庁(JP)	(12) 特 許 公 報(B2)	(11) 特許番号 特許第6092933号 (P6092933)
(45) 発行日 平成29年3月8日(2017.3.8)	(24) 登録日 平成29年2月17日(2017.2.17)	
(51) Int. Cl.	F I	
A 6 1 K 39/085 (2006.01)	A 6 1 K 39/085 Z N A	
A 6 1 P 31/04 (2006.01)	A 6 1 P 31/04	
A 6 1 P 43/00 (2006.01)	A 6 1 P 43/00 1 2 1	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
G O 1 N 33/531 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	
請求項の数 14 外国語出願 (全 159 頁) 最終頁に続く		
(21) 出願番号 特願2015-98351(P2015-98351)	(73) 特許権者 エピトピックス, リミテッド ライアビリ	
(22) 出願日 平成27年5月13日(2015.5.13)	ティ カンパニー	
(62) 分割の表示 特願2012-502164(P2012-502164)	アメリカ合衆国, ミネソタ 56201,	
の分割	ウィルマー, カウンティー ロード 5	
原出願日 平成22年3月23日(2010.3.23)	3735	
(65) 公開番号 特開2015-164949(P2015-164949A)	(74) 代理人 10009759	
(43) 公開日 平成27年9月17日(2015.9.17)	弁理士 青木 篤	
審査請求日 平成27年6月11日(2015.6.11)	(74) 代理人 100077517	
(31) 優先権主張番号 61/210,772	弁理士 石田 敬	
(32) 優先日 平成21年3月23日(2009.3.23)	(74) 代理人 100087871	
(33) 優先権主張国 米国(US)	弁理士 福本 慎	
	(74) 代理人 100087413	
	弁理士 古賀 哲次	
最終頁に続く		
(54) 【発明の名称】 ポリペプチド及びヒグラム陽性ポリペプチドを含有する免疫化組成物並びにこれらの使用方法		