

(19)日本国特許庁 ( J P )

(12) **公表特許公報** ( A ) (11)特許出願公表番号

**特表2003 - 527100**

(P2003 - 527100A)

(43)公表日 平成15年9月16日(2003.9.16)

(51) Int.Cl <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコード* (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	A 6 1 K 31/7088	4 B 0 2 4
A 6 1 K 31/7088		31/711	4 B 0 6 3
31/711		39/09	4 B 0 6 4
39/09		A 6 1 P 31/04	4 B 0 6 5
A 6 1 P 31/04		C 0 7 K 14/315	4 C 0 8 5

審査請求 未請求 予備審査請求 (全143数) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2001 - 535564(P2001 - 535564)

(86)(22)出願日 平成12年9月7日(2000.9.7)

(85)翻訳文提出日 平成14年3月7日(2002.3.7)

(86)国際出願番号 PCT/GB00/03437

(87)国際公開番号 W001/032882

(87)国際公開日 平成13年5月10日(2001.5.10)

(31)優先権主張番号 9921125.2

(32)優先日 平成11年9月7日(1999.9.7)

(33)優先権主張国 イギリス(GB)

(71)出願人 ミクロバイアル・テクニクス・リミテッド  
イギリス国、シービー1・2ジェイエイチ、  
ケンブリッジ、ステーション・ロード 38

(72)発明者 リ・ベイジ、リチャード・ウイリアム・フ  
アラ  
イギリス国、シービー2・1ティーエー、ケ  
ンブリッジ(番地なし)、ゴンビル・アンド  
・カイアス・カレッジ内

(74)代理人 弁理士 鈴江 武彦 (外3名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 タンパク質

(57)【要約】

【課題】 B群連鎖球菌による核酸およびタンパク質

【解決手段】 B群連鎖球菌による新規タンパク質抗原  
について、それらをコードする核酸配列とともに述べる。  
ワクチンおよびスクリーニング方法の使用についても  
述べる。

**【特許請求の範囲】**

【請求項1】 図1で記載の配列から選択される配列を有するB群連鎖球菌ポリペプチドもしくはタンパク質、またはその断片もしくは誘導体。

【請求項2】 請求項1に記載のタンパク質、ポリペプチドおよびペプチドと少なくとも50%の同一性を示す、請求項1に記載のタンパク質、ポリペプチドおよびペプチドの誘導体または変種。

【請求項3】 単離されたもの、または組換え体である、請求項1または2に記載のB群連鎖球菌ポリペプチドまたはタンパク質、またはその誘導体もしくは変種。

【請求項4】 以下の配列を含むか、または以下の配列より成る核酸分子：

(i) 本明細書の図1に示したDNA配列のいずれか、またはそのRNA均等物；

(ii) (i)の配列のいずれかに相補性である配列；

(iii) (i)または(ii)の配列のように、同一のタンパク質またはポリペプチドをコードする配列；

(iv) (i)、(ii)および(iii)のいずれかと実質的な同一性を示す配列；または

(v) 図1に示す核酸分子の誘導体、またはその断片をコードする配列。

【請求項5】 請求項4に記載の1または複数の核酸分子を含むベクター。

【請求項6】 以下のいずれか1つ以上をコードする核酸をさらに含む、請求項4に記載のベクター：プロモータ、エンハンサ、シグナル配列、リーダー配列、翻訳開始および停止シグナル、DNA安定性制御領域または融合パートナー。

【請求項7】 原核または真核宿主の形質転換または形質移入における、請求項5または請求項6に記載のベクターの使用。

【請求項8】 請求項5または6に記載のベクターによって形質転換した宿主細胞。

【請求項9】 請求項1または請求項2に記載のB群連鎖球菌ポリペプチドもしくはタンパク質、またはその誘導体もしくは変種を作成するプロセスであっ

て、請求項8に記載の宿主細胞中でポリペプチドまたはタンパク質を発現することを含むプロセス。

【請求項10】 請求項1または3のいずれか1項に記載のタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、その断片もしくは誘導体の1以上に結合する、抗体、親和性体 (affibody)、またはその誘導体。

【請求項11】 請求項1または3のいずれか1項に記載のタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、その断片または誘導体の1以上を含む免疫原性組成物。

【請求項12】 タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、その断片もしくは誘導体がID-65またはID-83、ID-89、ID-93またはID-96を含む、請求項11に記載の免疫原性組成物。

【請求項13】 ワクチンである、請求項11または請求項12に記載の免疫原性組成物。

【請求項14】 請求項4に記載の1以上の核酸配列を含む免疫原性組成物。

【請求項15】 核酸配列がID-65またはID-66を含む、請求項14に記載の免疫原性組成物。

【請求項16】 ワクチンである、請求項14または請求項15に記載の免疫原性組成物。

【請求項17】 B群連鎖球菌感染の治療または予防用の医薬品の調製における、請求項11から16のいずれか1項に記載の免疫原性組成物の使用。

【請求項18】 試験するサンプルを請求項10に記載の1以上の抗体、親和性体 (affibody)、またはその誘導体に接触させるステップを含む、B群連鎖球菌の検出方法。

【請求項19】 試験するサンプルを請求項1から3のいずれか1項に記載の1以上のタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、その断片または誘導体に接触させるステップを含む、B群連鎖球菌の検出方法。

【請求項20】 試験するサンプルを請求項4に記載の少なくとも1つの核酸分子に接触させるステップを含む、B群連鎖球菌の検出方法。

【請求項21】 請求項10に記載の少なくとも1つの抗体、親和性体 (af

fibody)、またはその誘導体を含むB群連鎖球菌の検出キット。

【請求項22】 請求項1から3のいずれか1項に記載の1以上のB群連鎖球菌タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、その断片または誘導体を含むB群連鎖球菌の検出キット。

【請求項23】 請求項4に記載の少なくとも1つの核酸分子を含むB群連鎖球菌の検出キット。

【請求項24】 請求項1から3のいずれか1項に記載の1以上のタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、その断片または誘導体が、潜在的な抗菌剤の標的であるかどうかを決定する方法であって、前記タンパク質を不活性化し、B群連鎖球菌がなお生存しているかどうかを判定することを含む方法。

**【発明の詳細な説明】****【0001】**

本発明は、ストレプトコッカス・アガラクティエ (*Streptococcus agalactiae*) に由来するタンパク質、そのようなタンパク質をコードする核酸、抗原および/または免疫原としての該タンパク質の使用、並びに検出/診断における該タンパク質の使用に関する。また、関連する細菌細胞エンベロープおよび分泌タンパク質を単離および特徴付けするための、細菌ゲノムの迅速なスクリーニング方法にも関する。

**【0002】**

B群連鎖球菌 (GBR) (ストレプトコッカス・アガラクティエ) は、新生児はもちろん成人においても敗血症や髄膜炎を発生する主要なヒト病原菌として、1970年代に出現した被包性の細菌である。生後5日間の初期発症新生児感染の発生は、1000出生あたり0.7から3.7の間で変化し、患者の死亡率は約20%である。初期発症感染から生き残った新生児の25から50%は、頻繁に神経後遺症に苦しんでいる。後期発症新生児感染は1000出生あたり約0.5~1.0の割合で、6日から3ヶ月の間に発生する。

**【0003】**

出生時のGBSによる母体生殖路のコロニー化と新生児敗血症の危険の間には、或る関係が確立されている。ヒトの場合、直腸がGBSの貯蔵所として作用することがある。新生児の感受性は、ヒト疾患を引き起こすGBSに見られる莢膜多糖類に対するIgG抗体が低濃度であるか、存在しないことと関係している。血清型Vが重要性を増しているが、米国で臨床の患者から単離した菌株は通常、莢膜血清型Ia、Ib、II、IIIに属する。日本ではVII型GBSが、新生児敗血症の主な原因である。

**【0004】**

考えられる予防手段としては、分娩中または分娩後に母親に抗生物質を投与することが挙げられるが、これには耐性生物の出現や、場合によってはアレルギー反応につながる懸念がある。長期持続性の母性由来免疫を誘起するためには、思春期の女性へのワクチン接種が新生児のGBS感染を防止する最も有望な手法の

1つである。これらの生物の莢膜多糖類抗原は、ワクチン開発に関して多くの関心を集めてきた。健康な成人ボランティアでの研究は、血清型 I a、I I および I I I 多糖類はそれぞれ、免疫を持たない成人の約 65%、95% および 70% で非毒性および免疫原性であることを示している。莢膜抗体をワクチンとして用いる場合の問題の1つは、反応率が免疫化前の状態および多糖類抗原によって変化することと、必ずしもすべてのワクチンが、ヒトボランティアにおける GBS 多糖類を用いた免疫化研究で示された十分なレベルの I g G 抗体を生成するわけではないことである。

#### 【0005】

繰り返し刺激を受けても反応しない人々もいる。これらの特性は、多糖類抗原の T 依存性性質による。これらのワクチンの免疫原性を高める1つの戦略は、多糖類をタンパク質に結合することによって、多糖類の T 細胞依存特性を向上させることである。多糖類結合体の使用は有望であるように思えるが、担体タンパク質の性質に関係する未解決の問題がなお存在する。GBS に対する結合体ワクチンは、少なくとも4種類の異なる結合体を調製する必要があるため、ワクチンのコストが上昇する。

#### 【0006】

莢膜多糖類の使用に依存した GBS 感染に対する免疫化の方法には、反応率が、免疫化前の状態および使用する特定の種類の多糖類抗原によって著しく変化するという欠点を有する。ヒトボランティアでの結合体ワクチンの治験結果は、主な莢膜抗原の一部では反応率が約 65% に過ぎないことを示した (Larsson ら、*Infection and Immunity* 64:3518~3523 (1996))。ワクチンに反応する個人すべてが、胎盤を通過し、新生児に免疫を付与する、十分なレベルの多糖類特異性 I g G を持つかどうかは明らかではない。タンパク質担体を多糖類抗原に結合することによって、それらを T 細胞依存性抗原に変換し、その免疫原性を向上させることが可能である。

#### 【0007】

GBS I I I 型多糖類 - 破傷風トキソイド結合体の予備研究が奨励されてきたが (Baker ら、*Reviews of Infectious Disease*

ses 7:458~467(1985)、Bakerら、The New England Journal of Medicine 319:1180~1185(1988)、Paolettiら、Infection and Immunity 64:677~679(1996)、Paolettiら、Infection and Immunity 62:3236~3243(1994)、先進国では、大半の成人が過去5年以内に破傷風に対して免疫化されているであろうから、破傷風の使用は不利である。破傷風トキソイドを用いた追加免疫は副作用を引き起こすことがある(Boyer、Current Opinions in Pediatrics 7:13~18(1995))。多糖類結合体ワクチンには、他の種類のワクチンと比べて作製および製造コストが高いという欠点がある。GBS多糖類とシアル酸含有ヒト糖タンパク質との間の交叉反応によって問題が生じる危険性もある。

#### 【0008】

最近の証拠は、細菌表面タンパク質も免疫付与に有用であることを示唆している。血清型Ia、IbまたはIIには見られないが、大半の血清型III菌株に見られるRibと呼ばれるタンパク質は、動物モデルにおいてRib発現GBSによる攻撃に対して免疫性を付与する(Stalhammar-Carllemalmら、Journal of Experimental Medicine 177:1593~1603(1993))。ワクチン成分として興味のある別の表面タンパク質は、ワクチン接種マウスをアルファタンパク質発現菌株による致死感染から保護したCタンパク質のアルファ抗原である。GBS菌株が発現したこの抗原の量は著しく変化するが、抗原としての多糖類の代わりとなるのは、GBSに由来するタンパク質抗原を使用することである。最近の証拠は、GBS表面結合タンパク質RibとアルファCタンパク質を用いると、実験モデル系でのGBS感染に対する免疫が付与されることを示唆している(Stalhammar-Carllemalmら、(1993)[同上]、Larssonら、(1996)[同上])。しかしこれらの2つのタンパク質は、ヒトにおいて疾患を引き起こすGBSのすべての血清型で保存されない。これらの抗原が免疫原性であり、ヒトにおける保護レベル反応を誘発することを前提とすると、10%の

伝染性B群連鎖球菌がRibまたはCタンパク質アルファを発現しないため、これらはすべての感染に対して保護を与えるわけではない。

【0009】

本発明は、細菌細胞表面結合または分泌タンパク質をコードするこれらのB群連鎖球菌遺伝子を識別するために特別に設計された新規のスクリーニング法を用いて、GBSに対するワクチン接種の問題を克服しようとしている。これらの遺伝子によって発現されるタンパク質は免疫原性であるため、B群連鎖球菌感染の予防および治療に有用である。本出願の目的では、免疫原性という語は、これらのタンパク質が被験者内で保護免疫反応を誘発することを意味する。この新規スクリーニング法を使用して、新規のB群連鎖球菌タンパク質をコードする多数の遺伝子が識別されている。

【0010】

それゆえ第1の側面において、本発明は、図1に示す配列から選択された配列を有するB群連鎖球菌、ポリペプチドまたはペプチド、あるいはその断片または誘導体を提供する。

【0011】

本グループに含まれるタンパク質およびポリペプチドは、細胞表面受容体、接着分子、輸送タンパク質、膜構造タンパク質および/または信号伝達分子であることは、当業者には明らかであろう。

【0012】

タンパク質の機能に影響を及ぼさないタンパク質のアミノ酸配列の変化が起きる可能性がある。これらはアミノ酸の欠失、挿入および置換を含み、代替りのスプライシングおよび/または複数の翻訳開始部位および停止部位から生じることがある。多形性は、不正確な翻訳プロセスの結果として生じる。したがって、タンパク質の機能に影響を及ぼさないアミノ酸配列の変化は、許容される場合がある。

【0013】

したがって本発明は、本明細書で述べるタンパク質、ポリペプチドおよびペプチドに対して少なくとも50%の同一性を示す本発明のタンパク質、ポリペプチド

ドおよびペプチドの誘導体または変種を含む。配列同一性の程度は好ましくは少なくとも60%であり、好ましくは75%を超える。さらに好ましくは、80%、90%またはさらに95%を超える。

#### 【0014】

同一性という語は、2つのポリペプチド配列間の類似性を説明するのに用いることができる。この手順を実施するための、当業界で周知のソフトウェアパッケージは、CLUSTALプログラムである。これは2つのポリペプチドのアミノ酸配列を比較し、どちらかの配列に適宜にスペースを挿入して最適なアラインメントを発見する。最適なアラインメントのアミノ酸の同一性または類似性（同一性プラスアミノ酸型の保存）も、BLASTxなどのソフトウェアパッケージを使用して計算できる。このプログラムは、同様の配列の最大伸展を整列させ、フィットに値を割当てる。ある任意パターンでは、複数の類似性領域が見つかり、それぞれ異なるスコアを有する。当業者は、異なる長さの2つのポリペプチドが、長いほうの断片の全長に渡って比較されることを認識するであろう。あるいは、小さな領域が比較されることもある。有用な比較を行うには、通常、同じ長さの配列が比較される。

#### 【0015】

タンパク質をコードするDNAの操作は、タンパク質を修飾したり、精製の目的で大量のタンパク質を生成したりするには、特に有用な技法である。これは、望ましい核酸配列を増幅するPCR技法の使用を含むことがある。それゆえ、望ましい配列を標的化し、次に高度に増幅するために、本明細書に示す配列データを用いて、PCRで使用するプライマーを設計することができる。

#### 【0016】

通常、プライマーは少なくとも5のヌクレオチド長となり、一般に、少なくとも10のヌクレオチド長となる（たとえば15～25ヌクレオチド長）。一部の 경우에는、長さが少なくとも30ヌクレオチド、あるいは少なくとも35ヌクレオチドのプライマーが使用される。

#### 【0017】

さらなる別の方法として、化学合成を使用してもよい。これは自動化してもよ

い。比較的短い配列を化学合成し、一緒に結合して長い配列にしてもよい。

【0018】

したがって別の側面において、本発明は以下の配列を含む、または以下の配列より成る核酸分子を提供する：

- (i) 本明細書の図1に示すいずれかのDNA配列またはそのRNA均等物；
- (ii) (i)の配列のいずれかに相補性である配列；
- (iii) (i)または(ii)の配列など同様の配列またはポリペプチドをコードする配列；
- (iv) (i)、(ii)および(iii)の配列のいずれかと実質的に同一性を示す配列；
- (v) 図1に示す核酸分子の誘導体または配列をコードする配列。

【0019】

同一性という語は、2つの個別のDNA配列間の類似性を説明するのに使用することもできる。「ベストフィット」プログラム(Smith and Waterman, *Advances in applied Mathematics*, 482~489(1981))は、最も類似している2つの核酸配列のセグメントを見つけるために用いられる一種のコンピュータソフトウェアの例であるが、GAPプログラムは、配列をその全長に沿って整列させ、いずれかの配列に適切にスペースを挿入して、最適なアラインメントを見つける。

【0020】

本発明は、本明細書で述べる核酸配列に対して少なくとも50%の同一性を示す核酸配列を含む。配列同一性の程度は好ましくは少なくとも60%であり、さらに好ましくは75%を超える。さらに好ましくは80%、90%またはさらに95%を超える。

【0021】

「RNA均等物」という語は上で用いた場合、RNAにおいて遺伝子コードの'U'が'T'に置換するという事実を許容して、所与のRNA分子が、所与のDNA分子の配列に相補性である配列を有することを示す。核酸分子は、単離さ

れてもよく、または組換えもしくは化学合成形であってもよい。

【0022】

DNA構築物は、当業界で周知の方法を用いてただちに作成できる。これらの技法はたとえば、J. Sambrookら、分子クローニング第2版(Molecular Cloning 2nd Edition)、コールドスプリングハーバープレス(Cold Spring Harbor Press)(1989)に開示されている。そして、たとえばプロモータ、エンハンサ、シグナル配列、リーダー配列、翻訳開始および停止シグナルおよびDNA安定制御領域の追加などの、DNA構築物および発現されたタンパク質の修飾、または融合パートナーの追加は容易である。

【0023】

通常、DNA構築物は、プラスミド、ウィルス、バクテリオファージ、トランスポン、ミニ染色体、リポソームまたは機械的担体を含む適切なベクターであるベクター内に挿入される。本発明の発現ベクターは、以下を含む望ましいタンパク質生成物をコードするDNAの発現に適したDNA構築物である：(a)調節要素(たとえば、プロモータ、オペレータ、アクティベータ、リプレッサおよび/またはエンハンサ)、(b)mRNA内に転写される構造またはコード配列、(c)適切な転写、翻訳、開始および停止配列。ベクターはさらに、ベクターを含む細胞の選択および/または認識を行いやすくするために、たとえば抗生物質耐性などの選択可能マーカーを含む。

【0024】

タンパク質の発現は、真核または原核由来のベクターを宿主細胞内に形質転換または形質移入して行われる。組換えタンパク質を生成する場合、発現は誘導性発現であるか、ある種の細胞のみにおける発現であるか、誘導性と細胞特異性の両方である。誘導性ベクターの中で特に好ましいのは、温度や栄養添加などの操作しやすい環境因子による発現を誘導できるベクターである。原核および真核宿主で使用する構造的および誘発性発現ベクターを含め、各種の適切なベクターは当業者によって周知であり、日常的に使用される。

【0025】

広範に渡る発現ベクターを用いて、本発明のB群連鎖球菌タンパク質を発現させることができる。そのようなベクターとしては、たとえば細菌プラスミドより、バクテリオファージより、トランスポンより、酵母要素より、バキュロウィルス、SV40などのパポバウィルス、ワクシーナウィルス、アデノウィルスおよびレトロウィルスなどのウィルスに由来するベクターなどの、特に染色体、エピソームおよびウィルス由来ベクター、コスミドとファージミドなどのプラスミドとバクテリオファージ遺伝要素に由来するベクターなどの、それらの組合せより由来するベクターが挙げられ、すべて本発明に従って使用される。一般に、宿主中でポリペプチドを発現するために核酸を維持、伝播または発現するのに適したどのベクターでも、この点で発現に使用される。したがって、そのようなベクターはなお、本発明の別の態様を形成する。

【0026】

適切なDNA配列は、各種の周知の、日常的技法のいずれかによってベクター内に挿入されてもよい。

【0027】

発現ベクター内の核酸配列は、たとえばmRNA転写を指示するプロモータを含む、適切な発現制御配列に操作可能に結合される。

【0028】

そのようなプロモータの代表としては、これに限定されるわけではないが、ファージラムダPLプロモータ、T3およびT7プロモータ、大腸菌lac、trp、tacおよびPLプロモータ、微生物真核GAL、グルコアミラーゼおよびセロビオヒドロラーゼプロモータおよび哺乳類メタロチオネイン(マウス)および熱ショック(ヒト)プロモータが含まれる。

【0029】

一般に、発現ベクターは転写開始および停止用の部位を含み、転写された部位には、翻訳用のリボソーム結合部位を含む。構築物によって発現される成熟転写産物のコード化部分は一般に、翻訳されるポリペプチドのほぼ終わりに配置された開始および停止コドンにある翻訳開始AUGを含む。

【0030】

本発明のB群連鎖球菌タンパク質の組換え発現用の適切な宿主の代表例として、連鎖球菌、ブドウ球菌、大腸菌、ストレプトマイセスおよび枯草菌などの細菌細胞；酵母細胞およびアスペルギルス細胞などの菌類細胞；ショウジョウバエS2およびヨトウガSf9細胞などの昆虫細胞；CHO、COS、HeLaおよびボーズ黒色腫などの動物細胞；および植物細胞が挙げられる。そのような宿主細胞はなお、本発明の別の側面も形成する。

#### 【0031】

タンパク質発現に使用される微生物細胞は、凍結解凍サイクル、超音波処理、機械的粉碎を含むどの従来方法によっても、または細胞溶解剤の使用によって粉碎可能であり、そのような方法は当業者に既知である。

#### 【0032】

ポリペプチドは、硫酸アンモニウムまたはエタノール沈殿、酸抽出、アニオンまたはカチオン交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性相互作用クロマトグラフィー、親和性クロマトグラフィー、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーおよびレクチンクロマトグラフィーを含む周知の方法によって組換え細胞培養物から回収および精製できる。

#### 【0033】

ポリペプチドが単離または精製中に変性された場合、再折畳みタンパク質に関する周知の技法を用いて、活性配座を再生してもよい。

#### 【0034】

本明細書で述べるB群連鎖球菌タンパク質は、抗体を生じさせたり、または親和性体を生成するために、標的抗原としてさらに使用することができる。これらを用いて、B群連鎖球菌を検出することができる。

#### 【0035】

それゆえ別の側面において、本発明は、本明細書で述べるいずれか1つまたはそれ以上のタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、その断片または誘導体に結合する抗体、親和性体またはその誘導体を提供する。

#### 【0036】

本発明の範囲内の抗体は、モノクローナルでもポリクローナルでもよい。ポリ

クローナル抗体は、本明細書で述べるタンパク質またはその相同体、誘導体または断片を動物に注射した場合に、適切な動物宿主（たとえばマウス、ラット、モルモット、ウサギ、ヒツジ、ヤギまたはサル）においてその生成を刺激することにより生じさせることができる。望ましい場合、アジュバントをタンパク質とともに投与してもよい。周知のアジュバントとしては、フロイントアジュバント（完全および不完全）および水酸化アルミニウムが挙げられる。次に抗体は、本明細書で述べるようにタンパク質へのその結合によって、および当業者に周知の他の手段によって精製することができる。

#### 【0037】

モノクローナル抗体はハイブリドーマから生成できる。これらは、不死細胞系を生成するために、ミエローマ細胞および望ましい抗体を生成する脾臓細胞を融合して生成できる。したがって周知のKohler & Milstein技法（Nature 256（1975））またはこの技法のその後の変形を用いることができる。

#### 【0038】

特定のポリペプチド/タンパク質に結合するモノクローナルおよびポリクローナル抗体の生成技法は現在、当業界で十分に開発されている。それらはたとえば、Roittら、免疫学第2版（Immunology second edition）（1989）、チャーチルビングストン（Churchill Livingstone）、ロンドン（London）などの免疫学の標準教科書で述べられている。

#### 【0039】

抗体全体に加え、本発明は、たとえば本明細書で述べるタンパク質に結合可能なその誘導体を含む。したがって本発明は、抗体断片および合成構築物を含む。抗体断片および合成構築物の例は、Dougallら、Tibtech 12372-379（1994年9月）で述べられている。

#### 【0040】

抗体断片はたとえば、Fab、F(ab')<sub>2</sub>およびFv断片を含む。Fv断片は、単鎖Fv（scFv）分子として知られる合成構築物を生成するように修

飾することができる。これには、分子の安定性に寄与する、 $V_H$ および $V_L$ 領域を共有結合するペプチドリソカが含まれる。使用可能な他の合成構築物としては、CDRペプチドが含まれる。これらは、抗原結合決定因子を含む合成ペプチドである。ペプチドミメティックも使用される。これらの分子は一般に、CDRループの構造を模倣し、抗体相互作用側鎖を含む、立体配置的に制限された有機環である。

#### 【0041】

合成構築物はキメラ分子を含む。したがって、たとえばヒト化（または霊長類化）抗体またはその誘導体は本発明の範囲内である。ヒト化抗体の例は、ヒトフレームワーク領域を有し、げっ歯類超可変性領域を有する抗体である。キメラ抗体の生成方法は、たとえばMorrissonら、PNAS、81、6851~6855（1984）およびTakedaら、Nature、314、452~454（1985）で述べられている。

#### 【0042】

合成構築物には、抗原結合に加えて、分子にある望ましい特性を与える追加部分を備えた分子も含まれる。たとえば、その部分は標識（たとえば蛍光または放射活性標識）でもよい。あるいは、製薬活性剤でもよい。

#### 【0043】

親和性体は、低い解離定数で標的タンパク質に結合することがわかっているタンパク質である。これらは興味のある標的タンパク質のセグメントを発現するファージ表示ライブラリから選択される（Nord K、Gunneriusson E、Ringdahl J、Stahl S、Uhlen M、Nygren PA、スウェーデン（Sweden）、ストックホルム（Stockholm）の王立技術研究所（KTH）の生化学バイオテクノロジー学部。

#### 【0044】

別の側面において、本発明は、本明細書で述べる1以上のタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、その断片または誘導体、またはヌクレオチド配列を含む免疫原性組成物を提供する。免疫原性組成物は、本明細書で述べる核酸配列ID-65および/またはID-66を含むことがある。あるいは、免疫原性組成物は、

本明細書で述べるID-65、ID-83、ID-89、ID-93および/またはID-96を含むタンパク質/ポリペプチド、またはその断片および誘導体を含むことがある。この種の組成物は、被験者におけるB群連鎖球菌感染の治療または予防に有用である。本発明の好ましい態様において、免疫原性組成物はワクチンである。

【0045】

他の側面において、本発明は以下を提供する：

i) B群連鎖球菌感染の治療または予防用の医薬品の調製における、本明細書で述べる免疫原性組成物の使用。医薬品がワクチンであることが好ましい。

【0046】

ii) 試験を行うサンプルを本明細書で述べる少なくとも1つの抗体、親和性体またはその誘導体に接触させるステップを含む、B群連鎖球菌の検出方法。

【0047】

iii) 試験を行うサンプルを本明細書で述べる少なくとも1つのタンパク質、ポリペプチド、ペプチド、断片または誘導体に接触させるステップを含む、B群連鎖球菌の検出方法。

【0048】

iv) 試験を行うサンプルを本明細書で述べる少なくとも1つの核酸分子に接触させるステップを含む、B群連鎖球菌の検出方法。

【0049】

v) 本明細書で述べる少なくとも1つの抗体、親和性体またはその誘導体を含む、B群連鎖球菌の検出用キット。

【0050】

vi) 本明細書で述べる少なくとも1つのB群連鎖球菌タンパク質、ポリペプチド、ペプチド、その断片または誘導体を含む、B群連鎖球菌の検出用キット。

【0051】

vii) 本発明の少なくとも1つの核酸を含む、B群連鎖球菌の検出用キット。

## 【0052】

以前に述べたように、本明細書で述べる新規タンパク質は、細菌細胞エンベローム関連または分泌タンパク質をコードするこれらのB群連鎖球菌遺伝子を特異的に同定するスクリーニング方法を用いて同定および単離される。

## 【0053】

発明者らが重要なタンパク質の群を同定したならば、そのようなタンパク質は抗微生物療法の潜在的標的である。しかし、個々のタンパク質がそれぞれその生物の生存能力に必要なかどうかを判定する必要がある。

## 【0054】

したがって本発明は、前記タンパク質を不活性化することと、B群連鎖球菌がなお生存可能であるかどうかを判定することを含む、本明細書で述べるタンパク質またはポリペプチドが、潜在的な抗微生物剤の標的を表すかどうかを判定する方法も提供する。

## 【0055】

タンパク質を不活性化するのに適した方法は、選択された遺伝子のノックアウトを行うこと、すなわちタンパク質の発現を防止し、これが致死的变化を生じるかどうかを判定することである。このような遺伝子ノックアウトを実施するのに適した方法は、Liら、P.N.A.S., 94:13251-13256(1997)およびKolkmanら、Journal of Biological Chemistry 272:19502~19508(1997); Kolkmanら、Journal of Bacteriology 178:3736~3741(1996)で述べられている。

## 【0056】

最後の側面において、本発明は、B群連鎖球菌感染の治療または予防に使用するための医薬品の製造における、本発明のタンパク質またはポリペプチドの機能または発現を拮抗、阻害、またはそうでなければ干渉することのできる薬剤の使用を提供する。

## 【0057】

次に、図面を参照して実施例により本発明を説明するが、これらの実施例は如

何なる意味でも制限的なものと解釈されるべきではない。

【0058】

実施例1

ストレプトコッカス・アガラクティエの搬出されるタンパク質をコードする遺伝子/部分遺伝子の推定配列は、別途明示しない限り、LEEP（搬出されるタンパク質のラクトコッカス発現）系などの、本明細書で述べるヌクレアーゼスクリーニング系を用いて同定されている。これらをさらに分析して、アーティファクトを除去した。スクリーニング系を用いて同定された遺伝子のヌクレオチド配列は、以下で述べる多くのパラメータを用いて特徴付けられた。

【0059】

1. すべての推定表面タンパク質は、リーダー/シグナルペプチド配列について分析される。細菌シグナルペプチド配列は、共通設計を共有する。それらは開裂部位（c-領域）を含む極性C-末端部分が続く、疎水性残基の伸展（中央部分-h領域）直前の正に荷電した短いN-末端（N領域）によって特徴付けられている。コンピュータソフトウェアを用いて、リーダーペプチド配列に見られる特有の疎水性部分（h-領域）を識別するために用いられる推定タンパク質のハイドロパシープロファイリングを行う（Marcks, Nuc. Acid Res., 16:1829~1836(1988)）。加えて、潜在的結合部位の存在/不在（翻訳に必要なShine-Dalgarno配列）も知られている。

【0060】

2. すべての推定表面タンパク質を用いて、GENBANKおよびSWISSPROTデータベースの翻訳を含むOWL配列データベースを検索する。これにより、配列レベルだけでなく、機能レベルでも以前に特徴付けられた同様の配列の同定が行える。これらのタンパク質が確かに表面結合であり、アーティファクトでないことを示す情報も提供することもある。

【0061】

3. 推定ストレプトコッカス・アガラクティエ表面タンパク質は、その新規性についても評価される。同定されたタンパク質には、代表的なリーダーペプチ

ドを有するものと、有しないものがあり、データベース内のどのDNA / タンパク質配列とも相同性を示さない。確かにこれらのタンパク質は、我々のスクリーニング方法の主要な利点、すなわち以前の全てのスクリーニングプロトコルでは見つかっていない非定型表面関連タンパク質の単離を示している。

#### 【0062】

分泌または表面結合タンパク質をコードする病原性細菌からゲノムDNA断片を同定および単離するための、3個のレポーター遺伝子の作成および乳酸球菌におけるその利用についてここで述べる。

#### 【0063】

##### レポーターベクターのpTREP1-nucシリーズの作成

##### (a) 発現プラスミドpTREP1の作成

pTREP1プラスミドは複製数の多い(細胞当たり40-80)シータ複製グラム陽性プラスミドであり、それ自体は以前公表したpIL253プラスミドの誘導体であるpTREXプラスミドの誘導体である。pIL253はpAM1の広範なグラム陽性宿主範囲レプリコン(Simon and Chopin, Biochimie 70:559~566(1988))乳酸球菌性因子を含む。pIL253は、pIL501に代表される結合性親プラスミドによる伝達または効率的な動員に必要なtra機能も欠いている。エンテロコッカスのpAM1レプリコンは以前に、アセトンプタノール菌と同様に、ストレプトコッカス、ラクトバチルスおよびバチルス種を含む様々な種に伝達されていて(LéBlancら、全米科学アカデミー会報(Proceedings of National Academy of Science USA 75:3484~3487(1978))、潜在的な広い宿主範囲有用性を示している。pTREP1プラスミドは、構造的転写ベクターとなる。

#### 【0064】

pTREXベクターは以下のように作成した。推定上のRNA安定化配列、翻訳開始領域(TIR)、標的遺伝子挿入のための複数クローニング部位および転写ターミネータを含む人工DNA断片は、2個の相補性オリゴヌクレオチドをアニーリングし、Tf1DNAポリメラーゼを拡張して作成した。センスおよびア

ンチセンスオリゴヌクレオチドは、クローニングを促進するNhe IおよびBamH Iの認識部位をそれぞれの5'末端に含んでいた。この断片は、EcoR IおよびHindIII部位の間でクローン化されたpLET1によるT7発現カセットを含むpUC19の誘導体である(Wellsら、J. Appl. Bacteriol. 74:629-636(1993))、pUC19NT7のXba IおよびBamH I部位の間でクローニングされた。生じた構築物はpUCLEXと名付けた。次に、ベクターpTREXを生成させるために、pILL253のEcoR IおよびSac I(平滑末端化)部位にクローニングする前に、HindIIIによる切断、平滑末端化、それに続くEcoR Iによる切断によって、pUCLEXの完全発現カセットを除去した(WellsおよびSchofield、代謝、遺伝学および応用における最近の進歩 - NATO ASIシリーズ(Current advances in metabolism, genetics and applications - NATO ASI Series)H98:37~62(1996))。推定上のRNA安定化配列およびTIRは大腸菌T7バクテリオファージより由来し、乳酸球菌のリボソーム16sRNAに対するShine Dalgarno(SD)モチーフの相補性を向上させるために1個のヌクレオチド位置で修飾される(Schofieldら、個人的通信文、ケンブリッジ大学病理学科)。

#### 【0065】

以前にp7と名付けられたプロモータ活性を示す乳酸球菌MG1363染色体DNA断片は、pTREX7を生成する発現カセット内に存在するEcoR IおよびBglII部位の間でクローン化された。この活性プロモータ領域は、プロモータプローブベクターpSB292を用いて以前に単離された(Waterfieldら、Gene 165:9~15(1995))。プロモータ断片は、ベントDNAポリメラーゼを製造者に従って用いて、PCRによって増幅した。

#### 【0066】

次にpTREP1ベクターを以下のように作成した。転写ターミネータ、フォワードpUC配列決定プライマー、プロモータ複数クローニング部位領域および汎用翻訳停止配列を含む人工DNA断片は、2個の重複部分相補性合成オリゴ

ヌクレオチドをともにアニーリングし、シークエナーゼにより、製造者の指示にしたがって伸展させることによって作成した。センスおよびアンチセンス (pTREPF および pTREP R) オリゴヌクレオチドは、pTREX 7 へのクローニングを促進する EcoRV および BamHI の認識部位をそれぞれの 5' 末端に含んでいた。転写ターミネータは、ラクトコッカスで有効であることが示されている、パチルスペニシリナーゼのものである (Josら、Applied and Environmental Microbiology 50:540~542 (1985))。pTREXベクター内での標的遺伝子の発現が漏出性である (leaky) ことが観測され、元の領域における潜在性プロモータ活性の結果と考えられるため、このことは必要であると見なされた (Schofieldら、個人的通信文ケンブリッジ大学病理学科)。クローン化DNA断片の直接配列決定を可能にするために、フォワードpUCプライマー配列決定が含まれていた。3個の異なる枠内で停止コドンコードする翻訳停止配列は、ベクター遺伝子とクローン化DNA断片の翻訳融合を防ぐために含まれていた。pTREX 7ベクターは最初にEcoRIによって消化し、製造者の指示に従ってT4 DNAポリメラーゼ (NEB) の5' - 3' ポリメラーゼ活性を用いて平滑末端化した。EcoRIで消化し、平滑末端化したpTREX 7ベクターは次にBgl IIによって消化し、それゆえP7プロモータを除去した。アニーリングした合成オリゴヌクレオチドに由来する人工DNA断片は次にEcoRVおよびBam HIによって消化し、pTREPを生成するためにEcoRI (平滑末端化) - Bgl II消化pTREX 7ベクター内にクローニングした。P1と名付けられたラクトコッカスラクチスMG1363染色体プロモータは次に、pTREP1を形成するpTREP発現カセット内に存在するEcoRIおよびBgl II部位間にクローニングした。このプロモータも、プロモータプローブベクターpSB292を用いて単離され、Waterfieldら (1995) [同上]によって特徴付けられた。P1プロモータ断片は初めは製造者の指示に従ってベントDNAポリメラーゼを用いてPCRによって増幅し、pTREX内にEcoRI - Bgl II DNA断片としてクローニングした。

【0067】

断片を含むEcoRI - BglII P1プロモータは、制限酵素消化によってpTREX1から除去し、pTREP内へのクローニングに用いた(Schofieldら、個人的通信文、ケンブリッジ大学病理学科)。

#### 【0068】

##### (b) 黄色ブドウ球菌nuc遺伝子のPCR増幅

黄色ブドウ球菌nuc遺伝子の核酸配列(EMBLデータベース受入番号V01281)を用いて、PCR増幅用の合成オリゴヌクレオチドプライマーを設計した。プライマーは、Snase Bと名付けられた分泌ポリペプチドのN-末端19-21アミノ酸のタンパク質分解開裂によって生成される、nucAと名付けられたnuc遺伝子の成熟形を増幅するように設計した(Shortle, 1983[同上])。nuc遺伝子に関して異なる読取枠内にEcoRVまたはSmaIの平滑末端制限エンドヌクレアーゼ開裂部位をそれぞれ有するように、3種類のセンスプライマー(nucS1、nucS2およびnucS3、図3に示す)を設計した。さらに、BglIIおよびBamHIは、BamHIおよびBglIIカットpTREP1へのクローニングを促進するために、センスおよびアンチセンスプライマーそれぞれの5'末端に含まれていた。すべてのプライマーの配列を図3に示す。エンドヌクレアーゼ遺伝子の成熟形(NucA)をコードする3種類のnuc遺伝子DNA断片は、アンチセンスプライマーと結合した各センスプライマーを用いたPCRによって増幅する。nuc遺伝子断片は、黄色ブドウ球菌ゲノムDNAテンプレート、ベントDNAポリメラーゼ(NEB)および製造者が推奨する条件を用いたPCRによって増幅する。93°Cにおける2分間の初期変性ステップに続いて、93°Cにて45秒間の変性、50°Cにて45秒間のアニーリングおよび73°Cにて1分間の伸長を30サイクル行い、最後に73°Cにて5分間の伸長ステップを行った。PCR増幅生成物は、組込まれなかったヌクレオチドおよびプライマーを除去するために、ウィザードクリーンアップカラム(プロメガ)を用いて精製した。

#### 【0069】

##### (c) pTREP1 - nucベクターの作成

b節で述べた精製nuc遺伝子断片は、レポーターベクターのpTREP1 - n

uc1、pTREP1-nuc2およびpTREP1-nuc3シリーズを生成するために、標準条件を用いてBgl IIおよびBamHIによって消化し、BamHIならびにBgl IIカットおよび脱リン酸化pTREP1に連結した。これらのベクターを図4に示す。製造者によって供給された試薬および緩衝液を用いて、または標準技法を用いて、一般的な分子生物学技法を実施した(SambrookおよびManiatis、分子クローニング：実験室マニュアル(Molecular Cloning: A laboratory manual)。コールドスプリングハーバーラボラトリプレス(Cold Spring Harbor Laboratory Press(1989))。各pTREP1-nucベクターにおいて、発現カセットは転写ターミネータ、ラクトコッカスプロモータP1、nuc遺伝子の成熟形が続く独自のクローニング部位(Bgl II、EcoRVまたはSmaI)、第2転写ターミネータを含む。nuc遺伝子の翻訳および分泌に必要な配列がこの構造から周到に除外されていることに注意する。そのような要素は、nuc遺伝子のすぐ上流に存在する独自の制限部位内にクローニング可能な、適切に消化された異質DNA断片(標的細菌を表す)によってのみ提供することができる。

#### 【0070】

##### (d) B群連鎖球菌における分泌タンパク質のスクリーニング

B群連鎖球菌(ストレプトコッカス・アガラクティエ)から単離されたゲノムDNAは、制限酵素Tru9Iで消化した。配列5'-TTAA-3'を認識するこの酵素は、A/Tが豊富なゲノムを効率的に切断し、好ましいサイズ範囲内(通常、平均0.5~1.0kb)のランダムゲノムDNA断片を生成可能なために用いられた。新規遺伝子配列を転写するためにP1プロモータが利用される可能性が上昇しているため、このサイズ範囲は好ましい。しかし、多くのストレプトコッカスプロモータは乳酸球菌において認識されることが可能であるため、P1プロモータはすべての場合で必要なわけではない。異なるサイズ範囲のDNA断片は、ストレプトコッカス・アガラクティエのゲノムDNAの部分Tru9I消化物から精製した。

#### 【0071】

Tru 9 I制限酵素が突出末端を生成するため、DNA断片は、EcoRVまたはSmaIカットpTREP1-nucベクターへの連結前に平滑末端化する必要がある。これは、Klenow酵素の5' - 3'ポリメラーゼ活性を用いた部分フィルイン酵素反応によって行われる。手短に言えば、Tru 9 I消化DNAを、T4 DNAリガーゼ緩衝液(ニューイングランドバイオラブズ(New England Biolabs; NEB)(1X)および33 μMずつの必要なdNTP、この場合はdATPおよびdTTPを補足した溶液(通常、全量10~20 μl)に溶解させた。Klenow酵素を加え(DNA 1 μg当たり1単位のKlenow酵素(NEB))、反応物を25℃にて15分間インキュベートした。反応は混合物を75℃にて20分間インキュベートして停止させた。次にEcoRVまたはSmaI消化pTREP-nucプラスミドDNAを加えた(通常200~400 ng)。混合物は次いで400単位のT4 DNAリガーゼ(NEB)およびT4 DNAリガーゼ緩衝液(1X)を加え、16℃にて一晩インキュベートした。連結混合物を100%エタノールと1/10量の3M酢酸ナトリウム(pH5.2)中で直接沈殿させ、乳酸球菌MG1363の形質転換に使用した(Gasson, J. Bacteriol. 154: 1-9 (1983))。あるいは、pTREP-nucベクターの遺伝子クローニング部位は、たとえばSau3AI消化ゲノムDNA断片のクローニングに使用するBglII部位も含んでいる。

#### 【0072】

乳酸球菌形質転換体コロニーはブレインハートインフュージョン寒天上で培養し、ヌクレアーゼ分泌(Nuc<sup>+</sup>)クローンは、実質的にShortle, 1983[同上]およびLe Loirら、1994[同上]と同様に、トルイジンブルーDNA寒天オーバーレイ(0.05M Tris pH9.0、1リットル当たり10gの寒天、1リットル当たり10gのNaCl、0.1mM CaCl<sub>2</sub>、0.03%重量/体積。サケ精子DNAおよび90mgのトルイジンブルーO染料)によって検出した。次にプレートを37℃にて最長2時間インキュベートした。ヌクレアーゼ分泌クローンは、簡単に識別可能なピンクハ口を展開する。プラスミドDNAはNuc<sup>+</sup>組換え乳酸球菌クローンから単離し、D

NA挿入物は、DNA挿入物によって直接配列決定を行う、図3に示したNucSeq配列決定プライマーを用いて1本鎖上で配列決定した。

### 【0073】

#### 実施例2

#### ストレプトコッカス・アガラクティエ標準接種原の調製

#### 菌株の確証

ストレプトコッカス・アガラクティエ血清型III（菌株97/0099）は、髄膜炎に罹患した新生児の脳髄液に由来する最近の臨床単離物である。このB群連鎖球菌の溶血性菌株は、ロンドン（London）NW9 5HT、コリンデールアベニュー（Colindale Avenue）61のPHLS中央公衆衛生研究所の呼吸器および全身感染研究所にて、疫学的に試験および確証された。菌株は研究所到着前に、2回だけ継代培養された。寒天スロープ（agar slope）に載って到着した際に、45個のコロニーの範囲を用いてTodd Hewitt / 5%ウマ血液培養液に接種し、これをまた1晩37でインキュベートした。この一晩インキュベートした培養物の0.5mlの分割量は、-70での長期保存のために、細菌のグリセロールストックを20%とされた。グリセロールストックには、生存能力を確認するために、Todd Hewitt / 5%ウマ血液寒天プレート上に線がつけられた。

### 【0074】

#### B群ストレプトコッカスのin vivo継代

ストレプトコッカス・アガラクティエ血清型III（菌株97/0099凍結培養物（菌株の確証の下に述べられている）は、37で一晩インキュベートしたTodd Hewitt / 5%ウマ血液寒天プレート上に、1個のコロニーへ線が付けられた。4、5個のコロニーの範囲を用いて、Todd Hewitt / 5%ウマ血液培養液インキュベートし、さらに一晩インキュベートした。この一晩インキュベートした培養物の0.5mlの分割量を用いて、37でインキュベートした50mlのTodd Hewitt培養液（1:100希釈）に接種した。一晩インキュベートした培養物の10倍連続希釈を作成し（この菌株の病原性が不明であったため）、それぞれをCBA/cマウス2匹ずつに腹腔内

接種した。接種培養で用いた各種の接種原に対して、生菌計数を行った。マウスのグループには、 $10^8 - 10^4$ のコロニー形成単位(cfu)の範囲の各種濃度の病原体を用いて抗原投与した。症状が出現したマウスには終末麻酔を行い、心臓穿刺を実施した(最高投与量、すなわち $1 \times 10^8$  cfu、によって抗原投与し、症状が出現したマウスのみ)。収集した凝固していない血液を用いて、50mlの血清培養液(Todd Hewitt / 20%不活性化ウシ胎仔血清)に直接接種した。培養物は絶えず監視し、後期対数相まで増殖させた。培地中の血液の存在は、細菌増殖が増すにつれてさらに溶解し、OD600nmの測定値を妨害するため、培養物を絶えず監視する必要があった。後期対数相/初期静止相に達すると、試験管の底に沈殿した死細菌細胞と残りの血液細胞を除去するために、培養物を新しい50mlの試験管に移した。次に0.5mlの分割量を滅菌クリオバイアルに移し、液体窒素中で凍結させて、 $-70^\circ\text{C}$ で保存した。細菌数を決定するために、単一の標準接種原分割量に対して生菌計数を実施した。これは1ml当たり約 $5 \times 10^8$  cfuと決定された。

#### 【0075】

##### B群ストレプトコッカス標準接種原の腹腔内抗原投与および病原性試験

標準接種原がワクチン治験で使用するために適した病原性であるかどうかを判定するために、ある投与範囲を用いて抗原投与を実施した。凍結標準接種原菌株の分割量を室温で解凍させた。生菌計数データより、標準接種原の1ml当たりのcfuの数はすでに既知であった。最初に、Todd Hewitt培養液中で標準接種原の連続希釈を作成し、Todd Hewitt培養液500 $\mu\text{l}$ 当たり $1 \times 10^8 - 1 \times 10^4$  cfuの範囲の投与量を用いて、マウスに腹腔内に抗原投与した。異なる投与量の細菌を注射したマウスグループの生存時間を比較した。標準接種原は、適切な病原性であると判定され、 $1 \times 10^6$  cfuの投与量がワクチン治験でさらに使用するために、最適に近いと見なされた。続く最適化は、 $5 \times 10^5 - 5 \times 10^6$  cfuの範囲の投与量を用いて抗原投与した。最適投与量は約 $2.5 \times 10^6$  cfuと概算された。これは100%致死量を表し、狭い時間範囲内に密集した生存時間によって決定された終点と繰り返して一致した。すべての実験を通じて、抗原投与されたマウ

スは、生存時間を計算することはもちろん、症状、症状進行の段階を明らかにするために絶えず監視した。

#### 【0076】

### DNAワクチン接種実験におけるB群連鎖球菌LEE P由来遺伝子のスクリーニング

#### DNAワクチンベクターとしてのcDNA3.1+

別途記載しない限り、LEE P系を用いて誘導した遺伝子標的を含むすべてのDNA免疫化実験では、以下ではpcDNA3.1と呼ぶ、市販のpcDNA3.1+プラスミド(インビトロゲン)をベクターとして用いた。pcDNA3.1は、哺乳類細胞における高レベルに安定した、過渡的発現のために設計されており、DNAワクチン接種実験における各種病原体からの候補遺伝子を試験するために、宿主ベクターとして幅広く、うまく使用されている(Zhangら、Infection and Immunity 176:1035-40(1997); Kurar and Splitter、Vaccine 15:1851-57(1997); Andersonら、Infection and Immunity 64:3168-3173(1996))。

#### 【0077】

ベクターは、広範に渡る哺乳類細胞および筋肉および免疫細胞の両方を含む細胞型において標的遺伝子の効率的で高レベルの発現を可能にするヒトサイトメガロウィルス(CMV)前初期プロモータ/エンハンサ下流にある、複数の遺伝子標的のクローニングを促進する複数のクローニング部位を保持している。生体内での保護反応の生成に最も重要な細胞型がいまだに不明であるため、これは最適な免疫反応には重要である。プラスミドは、都合のよい高コピー数複製および大腸菌における増殖を可能にするColE1複製起点と、大腸菌での選択するためのアンピシリン耐性遺伝子(B-ラクタマーゼ)も含む。

#### 【0078】

さらにpcDNA3.1は、センス方向でのクローン化遺伝子の生体外転写を可能にするT7プロモータ/プライミング部位をMC5の上流に保持する。

#### 【0079】

### DNAワクチンの調製

オリゴヌクレオチドプライマーは別途記載しない限り、LEEP系を用いて誘導した興味のある遺伝子それぞれについて設計した。各遺伝子は完全に検査し、可能な場合はタンパク質の成熟部分のみをコードすると考えられる遺伝子の部分を標的とするようにプライマーを設計した(付録I); 目的は、哺乳類細胞で発現される場合に正しい折畳みを促進するために、標的遺伝子タンパク質の成熟部分のみをコードする配列を発現させることであった。たとえば大半の場合、推定的N-末端シグナルペプチド配列がp c DNA 3.1内にクローニングされる最終増幅生成物中に含まれないようにプライマーを設計した。シグナルペプチドはポリペプチド前駆体を、通常シグナルペプチダーゼI(またはリポタンパク質の場合はシグナルペプチダーゼII)によってそれが開裂されるタンパク質搬出経路を通じて細胞膜まで誘導する。それゆえシグナルペプチドは、成熟タンパク質が細菌表面に提示されるか、分泌されるかにかかわらず、該成熟タンパク質のいかなる部分をも構成しない。N-末端リーダーペプチド配列がただちに明らかにならない場合は、p c DNA 3.1でのクローニング、そして最終的には発現のために、遺伝子配列全体を標的とするようにプライマーを設計した。

#### 【0080】

すべてのフォワードおよびリバースオリゴヌクレオチドは、p c DNA 3.1 MCS領域へのクローニングを促進するための適切な制限酵素部位を含んでいた。すべてのフォワードプライマーも、標的遺伝子挿入物を備えた枠内の「atg」翻訳開始コドンのすぐ上流の保存Kozakヌクレオチド配列5'-gccacc-3'を含むように設計した。Kozak配列は、真核リボソームによる開始配列の認識を促進する。通常、BamH1制限酵素部位を含むフォワードプライマーは、配列5'-cgggatccgccaccatg-3'で開始し、増幅される遺伝子のその部分の5'末端に相同性の配列が続く。すべてのリバースプライマーは、NotI制限酵素部位配列5'-ttggcgccgc-3'を含んでいた。すべての遺伝子特異性フォワードおよびリバースプライマーは、増幅を促進するよう、適合性の融点を持つように設計した。

#### 【0081】

すべての遺伝子標的は、製造者が推奨する条件を用いてベントDNAポリメラーゼ (NEB) または rTth DNAポリメラーゼ (PEアプライドバイオシステムズ (PE Applied Biosystems)) を使用して、ストレプトコッカス・アガラクティエゲノムDNAテンプレートからPCRによって増幅した。代表的な増幅反応には、95 °Cでの2分間の初期変性ステップ、それに続く35サイクルの95 °Cでの30秒間の変性、適切な融点における30秒間のアニーリングおよび72 °Cでの1分間の伸長 (増幅されるDNAの1 kb当たり1分) が含まれていた。この後、72 °Cにて10分間、最終伸長時間が続いた。すべてのPCR増幅生成物は、フェノールクロロホルム (2:1:1) で1回、クロロホルム (1:1) で1回抽出し、エタノール沈殿させた。特異性DNA断片は、QIAクイックゲル抽出キット (キアゲン) を用いてアガロースゲルから単離した。精製された増幅遺伝子DNA断片は、適切な制限酵素で消化し、大腸菌を宿主として用いてpcDNA3.1プラスミドベクター内にクローニングした。遺伝子の正しいクローニングおよび維持は、制限マッピングとDNA配列決定によって確認した。組換えプラスミドDNAは、プラスミドメガキット (Plasmid Mega Kits) (キアゲン) を用いて大規模に (> 1.5 mg) 単離した。

#### 【0082】

##### DNAワクチン接種試験

マウスでのDNAワクチン接種は、DNAを6週齢CBA/camouse (ハーラン、英国 (Harlan, UK)) に投与して行った。ワクチン接種するマウスは6グループに分け、各グループは別途記載しない限り、LEEP系を用いて誘導した特異性標的遺伝子配列を含む組換えpcDNA3.1プラスミドDNAによって免疫化した。ダルベッコのPBS (シグマ (Sigma)) 中のDNAの全量100 µlを、両後脚の前脛骨筋に筋肉内注射した。

#### 【0083】

4週間後、同量のDNAを用いてこの手順を繰り返した。比較のために、対照マウスグループをすべてのワクチン試験に含められた。これらの対照グループは上述の同じ期間を用いて、DNAワクチン接種も行わないか、非組換えpcDN

A3.1 プラスミドDNAのみで免疫化した。2回目の免疫化の4週間後、すべてのマウスグループに対して、致死量のストレプトコッカス・アガラクティエ血清型III (菌株97/0099) を腹腔内に抗原投与した。投与した細菌の実数は、Todd-Hewitt/5%血液寒天プレート上で接種原の連続希釈をプレーティングして決定した。すべてのマウスは感染後3または4日目に殺した。感染プロセスの間、抗原投与されたマウスは、ストレプトコッカス・アガラクティエ誘発疾患の開始に関連する症状の発症について監視した。適切な順序の代表的な症状は、下半身/後脚領域の麻痺の結果であることが多い、明らかな立毛、だんだん弓なりに曲がっていく姿勢、目からの分泌、嗜眠の増加、運動に対する抵抗が含まれていた。後者の症状は通常、瀕死状態の発生と一致し、この段階でさらなる苦痛を防ぐために、マウスを除去した。これらのマウスは死に非常に近いものと見なされ、除去した時間を用いて統計分析のための生存時間として使用した。マウスの死亡が発見された場合、さらに正確な死亡時間を決定するために、特定のマウスの生存が最後に観測された時間と、死亡の発見時間を平均して生存時間を計算した。この治験の結果を表1に示し、図2にグラフで示す。

#### 【0084】

##### 結果の解釈

陽性結果は、上述のように抗原投与実験でクローニングされ、使用されて、その抗原投与に対して保護を与えた任意のDNA配列として得られた。以下の場合に、DNA配列は保護的であると判定された；

- Mann-Whitney U試験を用いて決定した95%信頼レベル ( $p > 0.05$ ) まで、そのDNA配列が対照マウスと比較して統計的に有意にマウスを保護した場合。

#### 【0085】

- Mann-Whitneyを用いて、DNA配列が限界であるか、有意でなかったが、多少の保護機能を示した場合。たとえば、1匹以上の範囲外のマウスは、対照マウスと比べた場合に著しく長い期間生存することがある。あるいは、最初の死亡までの時間も、対照グループの対応マウスと比較した場合に長引くことがある。一部の結果の明瞭度が、DNAワクチンの投与に関連する問題に影響

響を受ける可能性がある場合に、限界または有意でない結果を潜在的陽性で見なすことが許容できる。実際に、生存時間の大きな変化は、所与のグループの異なるメンバ間の免疫反応の異なるレベルに影響を及ぼすことがある。

【0086】

【表1】

表1 LEEP DNA免疫化およびGBS抗原投与実験  
生存時間の統計分析

	平均生存時間(時)		
	UnVacc	3-60(ID-65)	3-5(ID-66)
1	27.583	54.416	42.916
2	27.583	31.000	42.916
3	24.583	43.000	32.874
4	22.250	34.916	42.916
5	35.916	38.958	27.333
6	22.250	34.916	30.916
平均	27.583	40.458	37.791
標準偏差	5.1691	8.9959	7.2860
p 値		0.0098	0.0215

p 値は、ワクチン接種していない対照と比較した場合の統計的有意性を指す。

### コメント

#### ID - 65 ( 3 - 60 )

' 3 - 60 ( ID - 65 ) ' DNAワクチンで免疫化されたマウスは、ワクチン接種していない対照グループと比較した場合に、著しく長い生存時間を示した。

【0087】

#### ID - 66 ( 3 - 5 )

' 3 - 5 ( ID - 66 ) ' DNAワクチンで免疫化されたマウスは、ワクチン接種していない対照グループと比較した場合に、著しく長い生存時間を示した。

【0088】

### 実施例3

タンパク質ワクチン接種実験におけるB群連鎖球菌LEEP由来タンパク質の

## 発現およびスクリーニング

### タンパク質の発現

優先順位指定遺伝子、すなわち(図1で述べたように)配列特性より導出した予測発現機能に基づいて選択した遺伝子は、大腸菌を宿主として利用したpET系(ノバジェン社(Novagen, Inc.))、ウィスコンシン州マディソン(Madison, WI))を用いてクローニングし、組換えタンパク質として発現させた。標的遺伝子は、pET28b(+)プラスミド発現ベクター内にクローニングした。pET28b(+)ベクターは、標的タンパク質の高レベル発現および精製のために設計されている。このベクターは、標的遺伝子の転写のためのT7プロモータを含み、N-末端登録商標His・Tag(R)/トロンピン/登録商標T7・Tag(R)配置、クローニングのための独自の制限酵素部位を含むマルチクローニング部位およびオプションのC-末端His・Tag配列が続く。このベクターは、選択のためと、標的遺伝子発現のためにカナマイシン耐性遺伝子も含んでいる(pET系マニュアル、第8版((ノバジェン))。

### 【0089】

### タンパク質ワクチンの調製

別途記載しない限りLEE P系を用いて誘導した標的遺伝子それぞれについて、オリゴヌクレオチドプライマーを設計した。各遺伝子は完全に検査した。可能な場合、プライマーはタンパク質の成熟部分のみをコードすると予測された遺伝子の部分を標的とするように設計した(付録II)。予測された成熟タンパク質のみに該当する遺伝子を発現することによって、最終的に生体外で発現された場合に正しい折畳みが促進されることが望ましい。オリゴヌクレオチドプライマーは、標的配列の推定的N-末端シグナルペプチドをコードする配列がクローニングされる最終増幅生成物pET28(+)に含まれないように設計した。シグナルペプチドはポリペプチド前駆体を、通常シグナルペプチダーゼI(またはリポタンパク質の場合はシグナルペプチダーゼII)によってそれが開裂されるタンパク質搬出経路を通じて細胞膜まで誘導する。それゆえシグナルペプチドは、成熟タンパク質が細菌表面に提示されるか、分泌されるかにかかわらず、そのい

かなる部分も構成しないことが予測される。このため、典型的なシグナルペプチドおよびその開裂部位は、商標DNAストライダープログラム(DNA Strider™ Program)(CEA、フランス(CEA、France))と、各種生物によるアミノ酸配列におけるシグナルペプチド開裂部位の存在および位置を予測するシグナルP(SignalP)V1.1プログラムを用いて予測した(Nielsenら、Protein Engineering 10:1-6(1997))。N-末端リーダーペプチド配列が明らかでない場合は、クローニングおよび発現のための遺伝子配列全体を標的とするようにプライマーを設計した。

#### 【0090】

すべてのオリゴヌクレオチドは、pcDNA3.1 MCS領域へのクローニングを促進するための適切な制限酵素部位を含むように設計した(付録II)。フォワードプライマーは、Nco I(5'-ccatgg-3')またはNhe I(5'-gctagc-3')制限酵素部位および枠内に標的遺伝子読取枠(orf)を備えた'ATG'開始コドンを含んでいた。すべてのリバースプライマーは、Not I制限酵素部位5'-gCGGCCGC-3'を含み、標的遺伝子がC-末端His・Tagとともに枠内に発現できるように設計した(すなわち、標的遺伝子の停止コドンが含まれていなかった)。Nco IおよびNot Iを用いると、N-末端登録商標His・Tag、トロンピンおよび登録商標T7・Tag DNA配列が除去された。同時に、T7 RNAポリメラーゼによる標的遺伝子の高レベル発現/翻訳と、それに続くC-末端His・Tagによる精製を促進するために、標的遺伝子を(ファージT7主要カプシドタンパク質による)高度に有効なリボソーム結合部位のすぐ下流にクローニングした。すべての標的遺伝子特異性フォワードおよびリバースプライマーは、増幅を促進するために適合性融点を持つよう設計した。

#### 【0091】

すべての遺伝子標的は、製造者が推奨する条件を用いてベントDNAポリメラーゼ(NEB)を使用して、ストレプトコッカス・アガラクティエのゲノムDNAテンプレートによるPCRによって増幅した。代表的な増幅反応には、95

での2分間の初期変性ステップ、それに続く35サイクルの95 °Cでの30秒間の変性、適切な融点における30秒間のアニーリングおよび72 °Cでの1分間の伸長(増幅されるDNAの1 kbあたり1分)が含まれていた。この後、72 °Cにて10分間、最終伸長時間が続いた。すべてのPCR増幅生成物は、フェノールクロロホルム(2:1:1)で1回、クロロホルム(1:1)で1回抽出し、エタノール沈殿させた。特異性DNA断片は、QIAquickゲル抽出キット(キアゲン)を用いてアガロースゲルから単離した。精製された増幅遺伝子DNAアンプリコンは、Nco I(またはNhe I)およびNot I制限酵素で消化し、大腸菌DH5αまたは大腸菌BL21(DE3)を宿主として用いてNco IおよびNot I消化pET28b(+)プラスミドベクター内にクローニングした。遺伝子の正しいクローニングおよび維持は、制限マッピングによって確認した。

#### 【0092】

##### 標的タンパク質の発現および溶解度の決定

組換えタンパク質を発現する大腸菌BL21(DE3) pET28b(+)菌株のグリセロールストックを用いて、カナマイシン(30 µg/ml)を含む10 mlのルリア培養液を接種し、激しく振盪しながら(300 rpm)37 °Cにて一晩増殖させた。

#### 【0093】

カナマイシン(30 µg/ml)を含む20-40 mlのルリア培養液は、ステップ1の一晩の培養物の1:100希釈物を用いて接種し、激しく振盪しながら(300 rpm)37 °Cにて増殖させた。培養物が0.6-1.0のOD<sub>600</sub>に達した場合、IPTGを最終濃度が1 mMとなるように加えた。通常、培養物は3時間誘発させた。次に細胞を7000 gにて10分間遠心分離して収集した。次いで細胞ペレットを1/10量の溶解培養液(50 mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、pH 8.0; 300 mM NaCl; 10 mM イミダゾール; 10%グリセロール)で再懸濁させた。次にリゾチームを最終濃度が1 mg/mlとなるように加えて、懸濁液を氷上で30分間インキュベートした。次いで懸濁液を氷上で超音波処理し(200-300 Wで60秒間バースト、10秒間冷却時間。溶解物

を次に10,000gで20分間遠心分離にかけた。上澄(溶解性タンパク質を含む)を滅菌2mlエッペンドルフに移した。ペレットは2mlの可溶性緩衝液(8mM尿素; 50mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、pH8.0; 300mM  $\text{NaCl}$ ; 10%グリセロール)中に再懸濁させた。この懸濁液は不溶性タンパク質画分を含んでいた。溶解性および不溶性画分両方からの分割量を新たなエッペンドルフに移した。タンパク質サンプルは、等量の2X SDS-PAGE緩衝液を加え、95℃にて5分間加熱して変性させた。変性抽出サンプルは次に、SDS-PAGEによって分析し、標的遺伝子発現および溶解度を決定した。

#### 【0094】

##### 組換え標的タンパク質の大規模発現

組換えタンパク質を発現する大腸菌BL21 DE3 pet28b(+)菌株のグリセロールストックを用いて、カナマイシン(30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )を含む10mlのルリア培養液に接種し、激しく振盪しながら(300rpm)37℃にて増殖させた。組換え菌株の一晩置いた培養物5mlを用いて、カナマイシン(30 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )を含む250mlのルリア培養液に接種し、激しく振盪しながら(300rpm)37℃にて増殖させた。培養物が0.6-1.0のOD600に達したら、最終濃度が1mMとなるようにIPTGを加えた。通常、培養物は3時間誘起させた。次に培養物を遠心分離にかけてペレットとし、-20℃で凍結保存した。

#### 【0095】

##### 標的抗原の精製

Ni-NTAアガロース(キアゲン社(Qiagen LTD)、英国ウェストサセックス、カタログ番号30120)を用いて、His-タグ組換えタンパク質を精製した。pet28b(+)中の標的タンパク質を持つ枠内で発現された6xHis親和性タグは、Ni-NTAへの結合を促進する。Ni-NTAは(最低限の非特異性結合によって)高い親和性をもたらし、樹脂1ml当たり5-10mgの6xHis-タグタンパク質を結合できる。6xHis-タグは免疫原性が低く、pH8.0ではタグは小型で荷電されていないため、一般にタンパク質の構造および機能に干渉しない(The QIAexpression

i s t )、Q i a g e n H a n d b o o k )、1999年3月)。

#### 【0096】

注記：本明細書で述べるすべてのタンパク質（別途記載しない限りL E E P由来）はI D - 65を除き、変性条件下で精製した。I D - 65は未変性条件下で調製および精製した。

#### 【0097】

##### 未変性条件下での精製

凍結ペレットは氷上で15分間解凍し、次に10mlの溶解緩衝液（50mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、pH8.0；300mM  $\text{NaCl}$ ；10mMイミダゾール；10%グリセロール）中で再懸濁させた。

#### 【0098】

次にリゾチームを最終濃度が1mg/mlとなるように加えて、懸濁液を氷上で30分間インキュベートした。懸濁液を次に氷上で超音波処理した（200-300Wで60秒間バースト、10秒間冷却時間0。Dnase I（5μg/ml）を次に溶解物に加えて、さらに氷上で10-15分間インキュベートした。溶解物は次に4にて10,000rpmで20分間遠心分離にかけ、細胞細片をペレット化した。透明な溶解液上澄は次いで、底キャップを付けたポリプロピレンカラム（キアゲン；カタログ番号34964）に装填した。そこで1.5mlの50%Ni-NTAを加え、カラムを密封し、回転ホイールを用いて4にて1-2時間、懸濁液を静かに混合した。溶解液/Ni-NTA混合物を含むカラムは次に蒸留塔スタンドを用いて直立に置き、Ni-NTAを沈殿させた。底キャップを外し、溶解液を流出させた。次にカラムを4mlの洗浄緩衝液（50mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、pH8.0；300mM  $\text{NaCl}$ ；20mMイミダゾール；10%グリセロール）で3-6回洗浄した。タンパク質を次に、0.5mlの分割量の溶出緩衝液（50mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、pH8.0；300mM  $\text{NaCl}$ ；500mMイミダゾール；10%グリセロール）中に溶出させた。溶出液画分は次に、SDS-PAGEによって分析し、タンパク質を含む画分をプールして、PBS（pH7.0）-グリセロール（10%）溶液で透析した。

## 【0099】

変性条件下での精製と再折畳み

凍結ペレットは氷上で15分間解凍し、次に8M尿素、300mM NaCl、10%グリセロール、0.1M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、pH8.0および10mM イミダゾールを含む10mlの緩衝液中で再懸濁させた。次に細胞は室温にて1時間、静かにボルテックスにかけて溶解させた。溶解物は次に4にて10,000rpmで20分間遠心分離にかけ、細胞細片をペレット化した。透明な溶解液上澄は次いで、底キャップを付けたポリプロピレンカラム（キアゲン；カタログ番号34964）に装填した。さらに1.5mlの50%Ni-NTAスラリーを加え、カラムを密封し、回転ホイールを用いて室温にて1-2時間、懸濁液を静かに混合した。溶解液/Ni-NTA混合物を含むカラムは次に蒸留塔スタンドを用いて直立に置き、Ni-NTAを沈殿させた。底キャップを外し、溶解液を流出させた。次にカラムを、8M尿素、300mM NaCl、10%グリセロール、0.1M  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、pH8.0および10mMイミダゾールを含む4-8mlの緩衝液で洗浄した。次に、尿素をゆっくりと除去させ、標的タンパク質を徐々に折畳むことを促進するために、0.1mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、pH8.0、300mM NaCl；および10%グリセロールを含む緩衝液の6-0Mの勾配を用いて樹脂を洗浄した。次に樹脂は、0.1mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、pH7.0、500mM NaCl；および10%グリセロールを含む緩衝液で洗浄した。組換えタンパク質は次に、0.1mM  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 中の500mMイミダゾール、pH7.0；500mM NaClおよび10%グリセロールの0.5mlの分割量によって溶出させた。画分は次に、SDS-PAGEによって分析し、タンパク質を含む画分をプールして、PBS（pH7.0）-グリセロール（10%）溶液で透析した。

## 【0100】

精製したタンパク質はすべて、免疫化およびワクチン接種実験で抗原として使用する前に、図5、6および7に示したようにSDS-PAGEによって分析した。

## 【0101】

### タンパク質ワクチン接種

ワクチンは、リン酸緩衝生理的食塩水 / 10%グリセロール中の標的たんぱく質で構成され、水酸化アルミニウム (alum) (イリノイ州ロックフォード (Rockford, Ill) のピアス (Pierce) によって製造された登録登録商標イムジェクト Alum (Imject (R) Alum) と混合した。(別途記載しない限り) ワクチンの各投与量は、50  $\mu$ l の alum と混合された、50  $\mu$ l の PBS / 10%グリセロール中に 25  $\mu$ g の精製タンパク質を含んでいた。6 - 8 の CBA / ca マウス (英国 (UK) のハーラン (Harlan)) のグループは、ワクチンを用いて皮下的に免疫化し、4週間後に再度免疫化した。対照グループには、alum を含む投与量 100  $\mu$ l の PBS / 10%グリセロールを与えた。すべてのワクチン接種グループはマウス 6 匹より成っていた。マウスは (別途記載しない限り) 7週間後に抗原投与を行った。マウスには 0.5 ml Todd-Hewitt 培養液で希釈した  $2.5 - 5 \times 10^6$  の細菌を用いて腹腔内 (i.p.) 注射を行った。死亡は7日間にわたって毎日記録された。抗原投与マウスは疾病の徴候について毎日観察した。適切な順序の代表的な症状は、下半身 / 後脚領域の麻痺の結果であることが多い、明らかな立毛、だんだん弓なりに曲がっていく姿勢、目からの分泌、嗜眠の増加、運動に対する抵抗が含まれていた。後者の症状は通常、瀕死状態の発生と一致し、この段階でさらなる苦痛を防ぐために、マウスを除去した。これらのマウスは死に非常に近いものと見なされ、除去した時間を用いて統計分析のための生存時間として使用した。マウスの死亡が発見された場合、さらに正確な死亡時間を決定するために、特定のマウスの生存が最後に観測された時間と、死亡の発見時間を平均して生存時間を計算した。

#### 【0102】

##### 抗体反応の分析

マウス (1グループ当たり 6 匹) に対して 4 週間の間隔を空けて、ワクチンを 2 回投与して免疫化を行った。血清を得るために、最初の免疫化から 3 週間後と 6 週間後にマウスの尾から採血した。血清中のワクチンタンパク質成分に対する免疫グロブリン G (IgG) 総力価は、最初に精製したタンパク質をコーティン

グ抗原として用いて、酵素免疫測定法（ELISA）によって決定した。

【0103】

標準ELISAプロトコル

<溶液>

炭酸塩 / 重炭酸塩緩衝液、pH 9.8

0.80 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

1.46 g  $\text{NaHCO}_3$

HClを用いた9.6までのpH

最終体積が500mlとなるように蒸留水（ $\text{dH}_2\text{O}$ ）を加える。

【0104】

<n-ニトロフェニルリン酸基質>

ジエタノールアミン緩衝液、pH 9.8

48.5 ml ジエタノールアミン

1M HClを用いた9.8までのpH

最終体積が500mlとなるように $\text{dH}_2\text{O}$ を加える。

【0105】

注記：ELISAは免疫化に用いた各タンパク質用に最適化した。

【0106】

<プロトコル>

1. 炭酸塩 / 重炭酸塩緩衝液で希釈した（ $50 \mu\text{l}$  / ウェル）適切な濃度の組換えタンパク質の入ったELISAプレート（グライナーlabor technik 96ウェルプレート：カタログ番号655061）。プレートにプラスチックまたはホイルをかぶせて、4 にて一晩放置する。

【0107】

2. PBS / 0.05% ツイーン - 20 を含むタブ / コンテナで2回プレートをすばやく洗浄した後、軽く叩いて乾燥させる。

【0108】

3. 室温にて、3% BSAのPBS / ツイーン溶液（ $100 \mu\text{l}$  / ウェル）を用いてプレートを1時間ブロックする。

## 【0109】

4. PBS / ツイーンを用いて前と同様にプレートを3回洗浄し、前と同様に軽く叩いて乾燥させる。

## 【0110】

5. 1 / 50 から希釈した (一次抗体) タンパク質特異性抗血清 (50  $\mu$ l / ウェル) を PBS / ツイーン中の2倍希釈系列に加えて、室温にて90分間インキュベートする。

## 【0111】

6. 前と同様にプレートを洗浄し (3回、すばやく)、次に3分間ずつ2回 (PBS / ツイーン中に) 浸漬する。

## 【0112】

7. 希釈した二次抗体アルカリホスファターゼ結合体を加える。抗マウス総IgGアルカリホスファターゼ結合体 (アラバマ州バーミングハム (Birmingham, AL.) のサザンバイオテクノロジーアソシエーツ (Southern Biotechnology Associates) が製造したヤギ抗マウスIgG-AP、カタログ番号1030-04) の場合、PBS / ツイーンで1 / 3000に希釈し、ウェル当たり50  $\mu$ lを加えて、室温にて90分間インキュベートする。

## 【0113】

8. ステップ6と同様にプレートを洗浄する。

## 【0114】

9. 基質を加える。ニトロフェニルリン酸の5mg錠剤1個 (シグマ (Sigma) : 冷凍庫に保存) を5mlのジエタノールアミン緩衝液に溶解させる。ウェル当たり100  $\mu$ lを加える。ホイルで覆い (光感受性反応)、室温で30分間放置する。波長405nmで光学密度 (OD) を読取る。

## 【0115】

10. ODと希釈の曲線をプロットする (対数スケール)。免疫前血清の1 / 50希釈を含むウェルから得たODの平均値と同じODを与える希釈として、終点力価を計算する。

## 【0116】

## 【表A】

ELISAプレート形式

2°	1/50	1/100	1/200	1/400	1/800	1/1600	1/3200	1/6400	1/12800	1/25600	1/51200
1°	デュプレケート										
プレ											
プレ											
プレ											

## 表の要約

プレ： 終点力価を計算するために、1/50に希釈したプール済み接種前血清（ウェル当たり50 $\mu$ l）の複製ウェルが各プレートに含まれる。

## 【0117】

2°： 二次抗体結合体を加えないblank対照ウェルである。代わりにPBS/ツイーンのみを加える。

## 【0118】

1°： 一次抗体を加えないblank対照ウェルである。代わりにPBS/ツイーンのみを加える。

## 【0119】

デュプレケート： 各血清を2回ずつ分析する。

## 【0120】

使用した希釈系列を示す（表の1行目を参照）。血清は示したように、1/50希釈から始めて、2倍希釈系列でPBS/ツイーンで2倍に希釈する。

## 【0121】

タンパク質免疫化データ

ID-65およびID-83

ID - 65およびID - 83ワクチンは、水酸化アルミニウム (alum) (イリノイ州ロックフォード (Rockford, Ill) のピアス (Pierce) によって製造された登録商標イムジェクト (R) Alum (Imject (R) Alum) と混合したリン酸緩衝食塩水 / 10%グリセロール中の標的タンパク質で構成される。

#### 【0122】

ワクチンの各投与量は、50  $\mu$ l の alum と混合された、100  $\mu$ l の PBS / 10%グリセロール中に20  $\mu$ g の精製タンパク質を含んでいた。6 - 8週間のCBA / caマウス (英国 (UK) のハーラン (Harlan)) のグループは、ID - 65およびID - 83ワクチンを用いて皮下的に免疫化し、4週間後に再度免疫化した。対照グループには、alumを含む投与量150  $\mu$ l の PBS / 10%グリセロール (2 : 1) を与えた。すべてのグループはマウス6匹より成っていた。血清を得るために、最初のワクチン接種から5週間後にマウスの尾から採血した。血清中のID - 65およびID - 83タンパク質成分に対する免疫グロブリンG (IgG) 総力価は、最初に精製したタンパク質をコーティング抗原として用いて、酵素免疫測定法 (ELISA) によって決定した。ELISAはまた、PBS / 10%グリセロール免疫化対照グループから最初のワクチン接種の6週間後に得た血清を用いて実施した。

#### 【0123】

注記：ELISAプレートは、ID - 65またはID - 83タンパク質によって1  $\mu$ g / ml の濃度でコーティングした。

#### 【0124】

##### タンパク質ワクチン接種 - ID - 65およびID - 83のELISA結果

マウス (1グループ当たり6匹) に対して4週間の間隔を空けて、ID - 65およびID - 83ワクチンを2回投与して免疫化を行った。血清を得るために、最初の免疫化から5週間後にマウスの尾から採血した。血清中のワクチンタンパク質成分に対する免疫グロブリンG (IgG) 総力価は、精製したID - 65およびID - 83タンパク質をコーティング抗原として用いて、酵素免疫測定法 (ELISA) によって決定した。最適化の後、ELISAプレートは、精製した

ID-65およびID-83タンパク質の両方について、 $1\mu\text{g}/\text{mg}$ の濃度でコーティングした。総IgG力価は免疫前血清(1/50希釈)に対して測定した。結果は表2に、グラフとして図8に示す。

【0125】

【表2】

表 2

血清 (グループ)	ID-65+Alum (n=6)	PBS+Alum (n=6)	ID-83+Alum (n=6)	PBS+Alum (n=6)
コーティング血清	ID-65		ID-83	
採血	5週	5週	5週	5週
総IgG 力価 (マウス 1-6)	7535763	965	82081	61
	1557649	90	50027	50
	3319737	108	154670	80
	1832259	176	57901	96
	8794360	371	66497	125
	1445728	0	49928	0
平均	4080916	285	76851	69
標準偏差	3258818	355	39985	43

### タンパク質の免疫化および抗原投与データ (ID-93)

#### ID-93

ID-93ワクチンは、水酸化アルミニウム(alum)(イリノイ州ロックフォード(Rockford, Ill)のピアス(Pierce)によって製造された登録商標イムジェクト Alum(Imject(R)Alum)と混合したリン酸緩衝食塩水/10%グリセロール中の標的ID-93タンパク質で構成される。ワクチンの各投与量は、 $100\mu\text{l}$ のalumと混合された、 $100\mu\text{l}$ のPBS/10%グリセロール中に $25\mu\text{g}$ の精製タンパク質を含んでいた。6-8週のCBA/camouse(英国(UK)のハーラン(Harlan))のグループは、ID-93ワクチンを用いて皮下的に免疫化し、4週間後に再度免疫化した。対照グループには、alumを含むPBS/10%グリセロールを与えた。どちらのグループもマウス6匹より成っていた。マウスは(別途記載

しない限り) 7週間後に抗原投与を行った。マウスには0.5ml Todd-Hewitt培養液で希釈した $5 \times 10^6$ の細菌を用いて腹腔内(i.p.)注射を行った。抗原投与マウスは疾病の徴候について毎日観察した。死亡は7日間にわたって毎日記録された。生存データを表3に、グラフとして図9に示す。

### 【0126】

血清を得るために、最初のワクチン接種から3週間後と6週間後にマウスの尾から採血した。血清中のID-93タンパク質成分に対する免疫グロブリンG(IgG)総力価は、最初に精製したタンパク質をコーティング抗原として用いて、酵素免疫測定法(ELISA)によって決定した。ELISAはまた、PBS/10%グリセロール免疫化対照グループから最初のワクチン接種の6週間後に得た血清を用いて実施した。

### 【0127】

注記: ELISAプレートは、ID-93タンパク質によって $1 \mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でコーティングした。

### 【0128】

### 【表3】

表3 ID-93タンパク質の免疫化およびGBS抗体投与実験  
生存時間の統計的分析

グループ	PBS+Alum	ID-93+Alum
生存時間 (時間)	22.37	29.37
	22.37	35.12
	15.37	32.62
	28.03	32.62
	29.53	37.12
	26.53	27.87
平均	24.03	32.45
標準偏差	5.16	3.45
p 値		0.01

p値は、ワクチン接種していない対照と比較した場合の統計的有意性を指す。

## コメント

### ID - 93 (RS - 70)

ID - 93 - Alumワクチンで免疫化されたマウスは、PBS - Alum対照グループと比較した場合に、著しく長い生存時間を示した。

#### 【0129】

(統計的有意性は、95%信頼水準 ( $p > 0.05$ ) を用いて、Mann - Whitney U試験によって判定した。)

### タンパク質ワクチン接種 - ID - 93のELISA結果

マウス (1グループ当たり6匹) に対して4週間の間隔を空けて、ID - 93ワクチンを2回投与して免疫化を行った。血清を得るために、最初の免疫化から3週間後および6週間後にマウスの尾から採血した。血清中のワクチンタンパク質成分に対する免疫グロブリンG (IgG) 総力価は、精製したID - 93タンパク質をコーティング抗原として用いて、酵素免疫測定法 (ELISA) によって決定した。最適化の後、ELISAプレートは、精製したID - 93タンパク質の両方について、 $1 \mu\text{g} / \text{mg}$  の濃度でコーティングした。総IgG力価は免疫前血清 (1 / 50希釈) に対して測定した。結果は表4に、グラフとして図10に示す。

#### 【0130】

#### 【表4】

表 4

血清 グループ	ID-93+Alum(n=6)		PBS/10%グリセロール(n=6) (対照)	
	ID-93	ID-93	ID-93	ID-93
コーティング 血清				
採血	3週	6週	3週	6週
総 IgG 力価 (マウス1・6)	87196	3000000	39	100
	99544	8000000	31	16
	19620	2000000	31	79
	34724	10000000	59	48
	59990	10000000	24	328
	30041	4000000	13	40
平均	55186	6166667	33	102
標準誤差	32654	3600926	15	115

### タンパク質の免疫化データ

#### ID - 89およびID - 96

ID - 89およびID - 96ワクチンは、タイターマックスゴールドアジュバント (TitreMax Gold adjuvant) (米国ミズーリ州 (Missouri, USA) のシグマ (Sigma)) と製造者の指示に従って混合した、リン酸緩衝生理的食塩水 / 10%グリセロール中の標的タンパク質で構成されていた。ID - 89ワクチンは、50  $\mu$ l のタイターマックスゴールド (TitreMax Gold) と混合した、50  $\mu$ l の PBS / 10%グリセロール中の 25  $\mu$ l の精製タンパク質を含んでいた。ID - 96ワクチンは、50  $\mu$ l のタイターマックスゴールド (TitreMax Gold) と混合した、50  $\mu$ l の PBS / 10%グリセロール中の 12.5  $\mu$ l の精製タンパク質を含んでいた。6 - 8週の CBA / ca マウス (英国 (UK) のハーラン (Harlan)) のグループは、ID - 89およびID - 96ワクチンを用いて皮下的に免疫化し、4週間後に再度免疫化した。対照グループには、タイターマックスゴールド (TitreMax Gold) を含む投与量 100  $\mu$ l の PBS / 10%グリセロール (1 : 1) を与えた。どちらのグループもマウス6匹より成っていた。血清を得るために、最初のワクチン接種から3週間後と6週間後にマウスの尾から採血した。血清中の ID - 89およびID - 96タンパク質成分に対

する免疫グロブリンG ( I g G ) 総力価は、精製したタンパク質をコーティング抗原として用いて、酵素免疫測定法 ( E L I S A ) によって決定した。E L I S A はまた、P B S / 1 0 % グリセロール免疫化対照グループから最初のワクチン接種の3週間後と6週間後に得た血清を用いて実施した。

【0131】

注記：E L I S A プレートは、I D - 8 9 および I D - 9 6 タンパク質によって  $1 \mu\text{g} / \text{ml}$  および  $3 \mu\text{g} / \text{ml}$  の濃度でそれぞれコーティングした。

【0132】

タンパク質ワクチン接種 - I D - 6 5 および I D - 8 3 の E L I S A 結果

マウス ( 1 グループ当たり 6 匹 ) に対して 4 週間の間隔を空けて、I D - 8 9 および I D - 9 6 ワクチンを 2 回投与して免疫化を行った。血清を得るために、最初の免疫化から 3 週間後および 6 週間後にマウスの尾から採血した。血清中のワクチンタンパク質成分に対する免疫グロブリンG ( I g G ) 総力価は、精製した I D - 6 5 および I D - 8 3 タンパク質をコーティング抗原として用いて、酵素免疫測定法 ( E L I S A ) によって決定した。最適化の後、E L I S A プレートは、精製した I D - 6 5 および I D - 8 3 タンパク質の両方について、 $1 \mu\text{g} / \text{mg}$  および  $3 \mu\text{g} / \text{ml}$  の濃度でそれぞれコーティングした。総 I g G 力価は免疫前血清 ( 1 / 5 0 希釈 ) に対して測定した。E L I S A は、最初のワクチン接種の 3 週間後および 6 週間後に P B S / 1 0 % グリセロール免疫化対照グループから得た血清を用いて、両方のタンパク質についても実施した。結果は表 5 a および 5 b に、グラフとして図 1 1 に示す。

【0133】

【表 5 a】

表5a

血清	ID-89+タイターマックス ゴールド(n=6)		ID-96+タイターマックス ゴールド(n=6)	
コーティング 血清	ID-89		ID-96	
採血	3週	6週	3週	6週
総 IgG 力価 (マウス 1-6)	146940	1000000	190371	10000000
	89672	1000000	212505	10000000
	173532	2000000	167613	5000000
	85161	751210	110378	5000000
	88956	551281	142614	1000000
	27880	2000000	191085	1000000
平均	102024	1217082	169094	5333333
標準偏差	51451	629364	37341	4033196

【0134】

【表5b】

表5b

血清	PBS/10%グリセロール (n=6)		PBS/10%グリセロール (n=6)	
コーティング タンパク質	ID-89		ID-96	
採血	3週	6週	3週	6週
総 IgG 力価 (マウス 1-6)	3	7	33	31
	8	18	77	62
	29	31	77	1
	34	4	52	29
	0	2	125	31
	5	1	113	0
平均	13	11	80	26
標準偏差	15	12	35	23

## 実施例 4

B群連鎖球菌の各種単離物中の候補ワクチン抗原遺伝子の保存および可変性  
 別途記載しない限り、LEE P系を用いて単離した新規のB群連鎖球菌遺伝子  
 のクロス血清型保存を判定するために、初期サザンブロット分析を実施した。標

的遺伝子の血清型分布の分析により、GBSワクチン中の抗原成分としての潜在的用途も判定される。本研究の一部としてDNAを分析したB群連鎖球菌菌株は、付録IIIに示す。

#### 【0135】

#### サザンブロット分析用DNAプローブとしての特異性標的遺伝子の増幅および標識化

別途記載しない限り、LEEP系を用いて誘導した興味のある遺伝子それぞれについて、オリゴヌクレオチドプライマーを設計した。付録IIですでに述べている同じプライマーを用いて、対応する遺伝子特異性DNAプローブを増幅した。特異性遺伝子標的は、製造者の指示に従ってベントDNAポリメラーゼ(NEB)を用いて、PCRによって増幅した。代表的反応は、酵素反応緩衝液の1/10量である50ngのGBSテンプレートDNA、1μMの各プライマー、250μMの各dNTPおよび2単位のベントDNAポリメラーゼを含む100μlの体積中で実施した。ある代表的反応には、95°Cでの2分間の初期変性ステップ、それに続く35サイクルの95°Cでの30秒間の変性、適切な融点における30秒間のアニーリングおよび72°Cでの1分間の伸長(増幅されるDNAの1kbあたり1分)が含まれていた。アニーリング温度は、2種類のオリゴヌクレオチドのうち低いほうの融点によって決定した。反応は、72°Cにて10分間の最終伸長時間によって完了した。すべてのPCR増幅生成物は、フェノールクロロホルム(2:1:1)で1回、クロロホルム(1:1)で1回抽出し、エタノール沈殿させた。特異性DNA断片は、QIAquickゲル抽出キット(キアゲン)を用いてアガロースゲルから単離した。精製増幅ゲルDNA断片はDNAプローブとして使用するために、製造者の指示に従ってDIG核酸標識化キット(ベリンガーマンハイム(Boehringer Mannheim))を用い、ジゴキシゲニンによって標識化した。

#### 【0136】

#### B群連鎖球菌ゲノムDNAのサザンブロットハイブリダイゼーション分析

ゲノムDNAは、(別途記載しない限り)LEEP由来の保存について検査したB群連鎖球菌のすべての菌株から以前に単離されていた。適切なDNA濃縮物

は、Hin DIIIまたはEco RI制限酵素(NEB)を製造者の指示に従って使用して消化し、アガロースゲル電気泳動によって分析した。DNAサンプルのアガロースゲル電気泳動の後、ゲルは0.25M HCl中で20分間変性させ、DNAを一晩かけたキャピラリーブロッティングによって、登録商標ハイボンド N<sup>+</sup>膜(Hybrid<sup>TM</sup> N<sup>+</sup> membrane)(アマーシヤム上に移動させた。この方法はSambrookら(1989)で述べられているのと実質的に同様であり、0.4M NaOHのリザーバー上のプラットフォームでホワットマン 3MMウィック(Whatman 3MM wick)を使用した。移動後、フィルターを2x SSCで短時間洗って、サランラップ(ダウケミカル社(Dow chemical company)中で4℃にて保存した。

#### 【0137】

フィルターは予備ハイブリダイズし、ジゴキシゲニン標識DNAプローブを用いてハイブリダイズし、ベーリンガーマンハイムが同社のDIG核酸検出キットを使用する場合に推奨した条件を用いて洗浄した。フィルターはハイブリダイゼーション緩衝液(1%w/vの供給された遮断剤、5x SSC、0.1%v/v N-ラウリルサルコシン、0.02%v/vドデシル硫酸ナトリウム[SDS])中で、68℃にて1時間予備ハイブリダイズした。ジゴキシゲニン標識DNAプローブは99.9℃にて10分間変性させてから、ハイブリダイゼーション緩衝液に加えた。ハイブリダイゼーションは、ハイバイド(Hybrid)のミニハイブリダイゼーションオープン内の回転ハイバイド(Hybrid)管中で一晩進行させた。未結合プローブは、フィルターを2x SSC-0.1% SDSを用いて室温にて5分間、2回洗浄して除去した。

#### 【0138】

厳密性の高いフィルターの場合は次に、0.1x SSC-0.1% SDSを用いて68℃にて15分間洗浄した。DIG核酸検出キット(ベーリンガーマンハイム)を用いて、特異的に結合したジゴキシゲニン標識DNAプローブを免疫学的に検出した。

#### 【0139】

### サザンブロット分析の結果

別途記載しない限り、すべてのゲノム消化物およびその対応するサザンブロットは、以下の表6に示すのと同じレーン順序に従った。

【0140】

【表6】

表6

レーン	1	2	3	4	5	6	7
菌株	1 kb 分子量	515	A909	SB35	H36 B	18RS21	1954 /92
血清型	マーカー	Ia	Ia	Ib	Ib	II	II

レーン	8	9	10	11	12	13	14
菌株	118 /158	97 /0057	BS30	M781	97 /0099	3139	1169 -NT
血清型	II	II	III	III	III	IV	V

レーン	15	16	17	18	19	20
菌株	GBS 6	7271	JM9	A群連鎖球菌	肺炎球菌	1kb 分子量
血清型	VI	VII	VIII	-	14	マーカー

比較するために、既知の保護免疫原RibをコードするGBS rib遺伝子の血清型分布を分析することに決定した。Ribは以前に、血清型IIIと、一部の菌株は血清型IIで存在することが示されているが、血清型IaまたはIbでは示されてなかった(Stalhammar-Carlmalmlら、J. Exp. Med. 177:1593-1603(1993))。

【0141】

このパターンが確認されると、続く結果の解釈の信頼性が向上するだけでなく、本研究で調査中の残りのGBS血清型におけるrib遺伝子相同性の有無も判定される。サザンブロット分析で遺伝子プローブとして使用するribの増幅のために設計されたプライマーは、付録IIに示す。

【0142】

【表7】

表7 図12のレーン順序(rib遺伝子サザンブロット分析)

レーン	1	2	3	4	5	6	7
菌株	1kb	515	A909	SB35	H36B	18RS21	1954/92
血清型	分子量 マーカー	Ia	Ia	Ib	Ib	II	II
レーン	8	9	10	11	12	13	14
菌株	118/158	97 /0057	BM110	BS30	M781	97 /0099	3139
血清型	II	II	III	III	III	III	IV
レーン	15	16	17	18	19	20	
菌株	1169-NT	GBS 6	7271	JM9	A群連鎖球菌	肺炎球菌	
血清型	V	VI	VII	VIII	-	14	

### R i b ( 図 1 2 ) の コ メ ン ト

図12に示したサザンブロット分析は、r i b遺伝子がすべてのGBS血清型で保存されていないことを示している。r i bはすべての血清型I aおよびI b菌株(レーン2 - 5)および血清型I Iの菌株118/158および97/0057(レーン8および9)から欠失しているように見える。しかしr i bは、血清型I Iの菌株18RS21および1954/92(レーン6および7)と血清型I I Iのすべての菌株(レーン10 - 13)に存在するよう見えた。これは以前発表されたデータと一致している(Stalhammar - Carlentalmら、1993[同上])。r i bは血清型V I IおよびV I Iを表す菌株(レーン17および18)にも存在しているように見えたが、対照菌株(レーン19および20)と同様に、血清型I V、VおよびVを表す菌株(レーン14 - 16)から欠失していた。r i b遺伝子プローブは、血清型I a、I b、I V、V I、V I Iを表す菌株および血清型I I菌株118/158および97/0057によるゲノムDNA断片により低い強度でハイブリダイズしなかった。このことはこれらの菌株に、r i bに対してより低レベルの相同性を持つ遺伝子が存在することを示している。これらのハイブリダイジングDNA断片は、R i bタンパク質に密接な相同性を示しているC aタンパク質抗原をコードするGBS b c a遺伝子の相同体を含むことがある(Wastfeltら、J. Biol.

Chem. 271:18892-18897(1996))。この場合、血清型I a、I b、IIおよびIIIのすべての菌株が1個または2個のタンパク質に対して陽性であることを示した以前の研究と一致する(Stalhammar-Carlmalmlら、1993[同上])。しかし、異なるGBS血清型間のrib遺伝子の見かけ上の可変分布によって、ribは、すべての血清型に対してクロス保護性であるGBSワクチンでの使用には決して理想的な候補ではなくなっている。

#### 【0143】

##### ID-65(図13)のコメント

図13に示したサザンブロット分析は、遺伝子ID-65がすべてのGBS血清型で保存されていることを示している。遺伝子プローブは、すべての典型的なGBSからのDNA消化物内の約3kbのHindIII消化ゲノムDNA断片に特異的にハイブリダイズし、対照菌株の両方(レーン18および19)からは欠失していた。これは、遺伝子および遺伝座の両方のレベルで、ID-65遺伝子がすべてのGBS血清型(および菌株)に渡って保存されていることを示唆している。ID-65 DNAプローブも1.636bp分子量マーカーに弱くハイブリダイズされた(NEBによる1kb DNAラダーは、すべてのサザンブロット分析においてDNA断片サイズの概算に用いた)。

#### 【0144】

##### ID-89(図14)のコメント

図14に示したサザンブロット分析は、遺伝子ID-89がすべてのGBS血清型にわたって保存されないことを示している。16個のGBS菌株のうち12個による4.0kb HindIII消化ゲノムDNA断片が、ID-89遺伝子プローブに特異的にハイブリダイズした。加えて、GBS菌株I b(SB35[レーン4])による3.25kb HindIII消化ゲノムDNA断片も、ID-89遺伝子プローブと特異的にハイブリダイズした。しかしID-89遺伝子プローブは、菌株I a(515)[レーン2]、IV(3139)[レーン13]およびV(1169-NT)[レーン14]からの消化されたゲノムDNA断片にはハイブリダイズせず、これらの菌株がID-89遺伝子相同体を保持

していないことが示唆された。

【0145】

ID - 93 (図15) のコメント

図15に示したサザンブロット分析は、遺伝子ID - 93がすべてのGBS血清型で保存されていることを示している。

【0146】

遺伝子プローブは、すべての典型的なGBSからのDNA消化物内の約3.25 kbのHindIII消化ゲノムDNA断片に特異的にハイブリダイズし、対照菌株の両方(レーン18および19)からは欠失していた。これは、遺伝子および遺伝座の両方のレベルで、ID - 93遺伝子がすべてのGBS血清型(および菌株)に渡って保存されていることを示唆している。

【0147】

ID - 96 (図16) のコメント

図16に示したサザンブロット分析は、遺伝子ID - 96がすべてのGBS血清型で保存されていることを示している。遺伝子プローブは、すべての典型的なGBSからのDNA消化物内の約12.0 kbのEcoRI消化ゲノムDNA断片に特異的にハイブリダイズし、対照菌株の両方(レーン18および19)からは欠失していた。これは、遺伝子および遺伝座の両方のレベルで、ID - 96遺伝子がすべてのGBS血清型(および菌株)に渡って保存されていることを示唆している。

【0148】

<付録I>

ID - 65

フォワードプライマー

5' -cggatccgccaccatgGCGGATCAAACACTACATCGGTTC-3'

リバースプライマー

5' -ttgcggccgcGTTGGGATAACTAGTCGGTTTAGTCG

長さ(制限部位を含む) = 1541 bp

505個のアミノ酸の推定的成熟タンパク質をコードする、1515 bpの遺伝

子特異性配列を含む。

【0149】

PCR増幅のためのアニーリング温度 = 60

シグナルペプチドをコードするために予測された配列は、増幅生成物から省略された。

【0150】

ID - 66

フォワードプライマー

5' -ttgcgccgcAATCTTTATTTCCATAGTACTCCCTTGC-3'

リバースプライマー

5' -ttgcgccgcAAATGATCAGTTTGAGGGTAAAAGAG-3'

長さ(制限部位を含む) = 767 bp

247個のアミノ酸の推定的成熟タンパク質をコードする、747 bpの遺伝子特異性配列を含む。

【0151】

PCR増幅のためのアニーリング温度 = 60

シグナルペプチドをコードするために予測された配列は、増幅生成物から省略された。

【0152】

<付録II>

ID - 65

フォワードプライマー

5' -catgcatgGCGGATCAAACACTACATCGGTTC-3'

リバースプライマー

5' -ttgcgccgcGTTGGGATAACTAGTCGGTTTAGTCG

長さ(制限部位を含む) = 1534 bp

505個のアミノ酸の推定的成熟タンパク質をコードする、1515 bpの遺伝子特異性配列を含む。

【0153】

PCR増幅のためのアニーリング温度 = 60

ID - 83

フォワードプライマー

5' -catgcatggcaAAAATAGTAGTACCAGTAATGCCTC-3'

リバースプライマー

5' -ttgcgccgcCTCTGAAATAGTAATTTGTCTG-3'

長さ (制限部位を含む) = 626 bp

208個のアミノ酸の推定的成熟タンパク質をコードする、624 bpの遺伝子  
特異性配列を含む。

【0154】

PCR増幅のためのアニーリング温度 = 52

ID - 89

フォワードプライマー

5' -catgcatgggaAAGAAAGCAAATAATGTCAGTCC-3'

リバースプライマー

5' -ttgcgccgcATTGGGTGTAAGCATTTTTTC-3'

長さ (制限部位を含む) = 990 bp

323個のアミノ酸の推定的成熟タンパク質をコードする、969 bpの遺伝子  
特異性配列を含む。

【0155】

PCR増幅のためのアニーリング温度 = 54

ID - 93

フォワードプライマー

5' -catgcatgggaACTGAGAAGTGGTTACATACTAAAG-3'

リバースプライマー

5' -ttgcgccgcATTAGCTTTTTCAATTTCTC-3'

長さ (制限部位を含む) = 759 bp

248個のアミノ酸の推定的成熟タンパク質をコードする、744 bpの遺伝子  
特異性配列を含む。

## 【0156】

PCR増幅のためのアニーリング温度 = 51

ID - 96

フォワードプライマー

5' -ctagctagccgATGTTTGC GTGGGAAAG-3'

リバースプライマー

5' -ttgcgccgcATAAGATTTAACAATACCAAGTAATATAGC-3'

長さ(制限部位を含む) = 944 bp

307個のアミノ酸の推定的成熟タンパク質をコードする、921 bpの遺伝子特異性配列を含む。

## 【0157】

PCR増幅のためのアニーリング温度 = 53

rib (対照)

フォワードプライマー

5' -ggggtagccgcccaccATGGCTGAAGTAATTCAGGAAGT-3'

リバースプライマー

5' -cggaattccgTTAATCCTCTTTTTTCTTAGAAACAGAT

長さ(制限部位を含む) = 3559 bp

1177個のアミノ酸の推定的成熟タンパク質をコードする、3531 bpの遺伝子特異性配列を含む。

## 【0158】

PCR増幅のためのアニーリング温度 = 55

<付録III>

遺伝子保存に関してDNAを分析した、B群連鎖球菌菌株の詳細(血清型および菌株呼称)を以下に示す。

## 【0159】

【表8】

血清型	菌株
Ia	515
Ia	A909
Ib	SB35
Ib	H36B
II	18RS21
II	1954/92
II	118/158
II	97/0057
III	BM110
III	BS30
III	M781
III	97/0099
IV	3139
V	1169/NT
VI	GBS VI
VII	7271
VIII	JM9

A群連鎖球菌菌株（血清型M1、菌株NCTC8198）および肺炎球菌（血清型14）も、対照のために分析に含まれている。

【図面の簡単な説明】

【図1】

(A) 抗原B群連鎖球菌タンパク質をコードする多数の全長ヌクレオチドと対応するアミノ酸配列を示す。

【図2】

タンパク質ID-65およびID-66を使用したワクチン治験の結果を示す。

【図3】

スクリーニングプロセスで使用される多数のオリゴヌクレオチドプライマーを示す

nucS1 nucA遺伝子の成熟形を増幅するよう設計されたプライマー

nucS2 - nucA遺伝子の成熟形を増幅するよう設計されたプライマー

nucS3 nucA遺伝子の成熟形を増幅するよう設計されたプライマー  
 nucR nucA遺伝子の成熟形を増幅するよう設計されたプライマー  
 nucseq pTREP - Nucベクター内にクローン化されたDNAを配  
 列決定するよう設計されたプライマー

pTREP F ECORVの認識部位を含む核酸配列。pTREX7内への断  
 片のクローニングに用いられる。

pTREP R BAMH1の認識部位を含む核酸配列。pTREX7内への断  
 片のクローニングに用いられる。

PUCF 順方向配列決定プライマー、クローン化DNA断片の直接配列決定  
 を可能にする。

VR DNAウォーキングの方法によってさらなる抗原DNA配列の獲得に用  
 いられる遺伝子特異性プライマーの例。

V1 DNAウォーキングの方法によってさらなる抗原DNA配列の獲得に用  
 いられる遺伝子特異性プライマーの例。

V2 DNAウォーキングの方法によってさらなる抗原DNA配列の獲得に用  
 いられる遺伝子特異性プライマーの例。

#### 【図4】

(i) pTREP1 - nuc1、pTREP1 - nuc2およびpTREP  
 1 - nuc3中の成熟nuc遺伝子のすぐ上流のユニークな遺伝子クローニング  
 部位のヌクレオチド配列の略図。pTREP - nucベクターはそれぞれ、成熟  
 nuc遺伝子に対して異なる3個の枠内においてゲノムDNA配列のクローニ  
 グを可能にする、EcoRV (pTREP1 - nuc2内のSmaI部位) 開裂  
 部位を含む。

(ii) pTREP1 - nucベクターの物理的および遺伝的概要マップ。  
 nuc、マクロライド、リンコサミド、ストレプトグラミンB (MLS) 耐性決  
 定因子およびレプリコン (rep) Ori - pAM 1を含む発現カセットが示  
 されている (比例して描かれていない)。

(iii) 遺伝子発現に關与する各種の配列要素とユニークなエンドヌクレ  
 アーゼの位置を示す発現カセットの略図 (比例して描かれていない)。

## 【図5】

H i s - タグ I D - 6 5 および I D - 8 3 タンパク質抗原（予想分子量はそれぞれ57、144および25、000ダルトン）の精製調製物の、12%ポリアクリルアミドゲルでのSDS-PAGE分析。レーン：MW、分子量標準；1、H i s - タグ I D - 6 5 タンパク質；2、H i s - タグ I D - 8 3 タンパク質

## 【図6】

H i s - タグ I D - 9 3 タンパク質抗原（予想分子量は28、000ダルトン）の精製調製物の、12%ポリアクリルアミドゲルでのSDS-PAGE分析。レーン：MW、分子量標準；1、H i s - タグ I D - 9 3 タンパク質

## 【図7】

H i s - タグ I D - 8 9 および I D - 9 6 タンパク質抗原（予想分子量はそれぞれ35、000および31、000ダルトン）の精製調製物の、12%ポリアクリルアミドゲルでのSDS-PAGE分析。レーン：MW、分子量標準；1、H i s - タグ I D - 8 9 タンパク質；2、H i s - タグ I D - 9 6 タンパク質

## 【図8】

I D - 6 5 および I D - 3 8 タンパク質に対する I g G 力価  
 1 = ID-65 + Alumグループ - 5週間で採血  
 2 = PBS + Alum対照グループ - 5週間で採血  
 （グループ1および2では、精製 I D - 6 5 タンパク質に対して E L I S A を実施した）。

3 = ID-83 + Alumグループ - 5週間で採血  
 4 = PBS + Alum対照グループ - 5週間で採血  
 （グループ3および4では、精製 I D - 8 3 タンパク質に対して E L I S A を実施した）。

## 【図9】

タンパク質 I D - 9 3 を用いたワクチン治験の結果を示す。

## 【図10】

I D - 9 3 タンパク質に対する I g G 力価  
 1 = ID-93 + Alumグループ - 3週間で採血

- 2 = ID-93 + Alumグループ - 6週間で採血
- 3 = PBS + Alum対照グループ - 3週間で採血
- 4 = PBS + Alum対照グループ - 6週間で採血

## 【図11】

ID-89およびID-96タンパク質に対するIgG力価

- 1 = ID-89 + TitreMaxゴールドグループ - 3週間で採血
- 2 = ID-89 + TitreMaxゴールド - 6週間で採血
- 3 = PBS + TitreMaxゴールド対照グループ - 3週間で採血
- 4 = PBS + TitreMaxゴールド対照グループ - 6週間で採血
- 5 = ID-96 + TitreMaxゴールドグループ - 3週間で採血
- 6 = ID-96 + TitreMaxゴールドグループ - 6週間で採血
- 7 = PBS + TitreMaxゴールド対照グループ - 3週間で採血
- 8 = PBS + TitreMaxゴールド対照グループ - 6週間で採血

グループ1～4では、精製ID-89タンパク質に対してELISAを実施した。

グループ5～6では、精製ID-96タンパク質に対してELISAを実施した。

## 【図12】

ゲノムDNAのサザンブロット分析。表7に示す各菌株によるゲノムDNAを、HinDIII(NEB)で完全に消化し、0.8%アガロース中にて40ボルトで6時間電気泳動を行い、サザンブロットによってハイボンドN<sup>+</sup>(Hybond N<sup>+</sup>) (アマーシャム膜に移動し、ジゴキシゲニン標識rib遺伝子プローブを用いてハイブリダイズした。特異結合DNAプローブは、DIG核酸検出キット(ベーリンガー・マンハイム)を用いて同定した。

## 【図13】

ゲノムDNAのサザンブロット分析。表6に示す各菌株によるゲノムDNAを、HinDIII(NEB)で完全に消化し、0.8%アガロース中にて40ボルトで6時間電気泳動を行い、サザンブロットによってハイボンド+ (Hybond+) (アマーシャム膜に移動し、ジゴキシゲニン標識ID-65遺伝子プ

プローブを用いてハイブリダイズした。特異結合DNAプローブは、DIG核酸検出キット(ベーリンガーマンハイム)を用いて同定した。

【図14】

ゲノムDNAのサザンブロット分析。表6に示す各菌株によるゲノムDNAを、HinDIII(NEB)で完全に消化し、0.8%アガロース中にて40ボルトで6時間電気泳動を行い、サザンブロットによってハイボンド<sup>+</sup>(Hybond<sup>+</sup>)(アマーシャム膜に移動し、ジゴキシゲニン標識ID-89遺伝子プローブを用いてハイブリダイズした。特異結合DNAプローブは、DIG核酸検出キット(ベーリンガーマンハイム)を用いて同定した。

【図15】

ゲノムDNAのサザンブロット分析。表6に示す各菌株によるゲノムDNAを、HinDIII(NEB)で完全に消化し、0.8%アガロース中にて40ボルトで6時間電気泳動を行い、サザンブロットによってハイボンドN<sup>+</sup>(Hybond N<sup>+</sup>)(アマーシャム膜に移動し、ジゴキシゲニン標識ID-93遺伝子プローブを用いてハイブリダイズした。特異結合DNAプローブは、DIG核酸検出キット(ベーリンガーマンハイム)を用いて同定した。

【図16】

ゲノムDNAのサザンブロット分析。表6に示す各菌株によるゲノムDNAを、EcoRI(NEB)で完全に消化し、0.8%アガロース中にて40ボルトで6時間電気泳動を行い、サザンブロットによってハイボンドN<sup>+</sup>(Hybond N<sup>+</sup>)(アマーシャム膜に移動し、ジゴキシゲニン標識ID-96遺伝子プローブを用いてハイブリダイズした。特異結合DNAプローブは、DIG核酸検出キット(ベーリンガーマンハイム)を用いて同定した。

## 【図1】

ID-65  
クローン 3-60

GTGTTTATGATGAAAAAGGACAAGTAAATGATACTAAGCAATCTTACTCTCTAC  
GTAAATATAAATTTGGTTTAGCATCAGTAATTTTAGGGTCATTCATAATGGTCAC  
AAGTCCTGTTTTGCGGATCAAACCTACATCGGTTCAAGTTAATAATCAGACAGG  
CACTAGTGTGGATGCTAATAATCTTCCAATGAGACAAGTGCGTCAAGTGTGAT  
TACTTCCAATAATGATAGTGTCAAGCGTCTGATAAAGTTGAAATAGTCAAAAT  
ACGGCAACAAAGGACATTACTACTCCTTTAGTAGAGACAAAGCCAATGGTGGAA  
AAAACATTACCTGAACAAGGGAATTATGTTTATAGCAAAGAAACCGAGGTGAAA  
AATACACCTTCAAATCAGCCCCAGTAGCTTTCTATGCAAAGAAAGGTGATAAA  
GTTTTCTATGACCAAGTATTTAATAAAGATAATGTGAAATGGATTTTCATATAAGTC  
TTTTGGTGGCGTACGTCGATACGCAGTATTGAGTCACTAGATCCATCAGGAG  
GTTTCAGAGACTAAAGCACCTACTCCTGTAAACAATTCAGGAAGCAATAATCAAG  
AGAAAATAGCAACGCAAGGAAATTATACATTTTACATAAAGTAGAAGTAAAAAA  
TGAAGCTAAGGTAGCGAGTCCAACCTCAATTTACATTGGACAAAGGAGACAGAAT  
TTTTACGACCAAATACTAACTATTGAAGGAAATCAGTGGTTATCTTATAAATCAT  
TCAATGGTGTTCGTCGTTTTGTTTTGCTAGGTAAAGCATCTTCAGTAGAAAAAAC  
TGAAGATAAAGAAAAAGTGTCTCCTCAACCACAAGCCCGTATTACTAAAACCTGG  
TAGACTGACTATTTCTAACGAAACAACCTACAGGTTTTGATATTTTAAATTACGAATA  
TTAAAGATGATAACGGTATCGCTGCTGTTAAGGTACCGGTTTGGACTGAACAAG  
GAGGGCAAGATGATATTAATGGTATACAGCTGTAACCTACTGGGGATGGCAACT  
CAAAGTAGCTGTATCATTTGCTGACCATAAGAATGAGAAGGGTCTTTATAATAT  
TCATTTACTACCAAGAAGCTAGTGGGACACTTGTAGGTGTAACAGGAACTAA  
AGTGACAGTAGCTGGAACCTAATCTTCTCAAGAACCTATTGAAAATGGTTTACCA  
AAGACTGGTGTTTATAATATTATCGGAAGTACTGAAGTAAAAAATGAAGCTAAAA  
TATCAAGTCAGACCCAATTTACTTTAGAAAAAGGTGACAAAATAAATTATGATCA  
AGTATTGACAGCAGATGGTTACCAGTGGATTTCTTACAAATCTTATAGTGGTGT  
CGTCGCTATATTCCTGTGAAAAAGCTAACTACAAGTAGTGAAAAAGCGAAAGAT  
GAGGCGACTAAACCGACTAGTTATCCCAACTTACCTAAAACAGGTACCTATACA  
TTTACTAAAACCTGTAGATGTGAAAAGTCAACCTAAAGTATCAAGTCCAGTGGAAAT  
TTAATTTTCAAAGGGTGA AAAAATACATTATGATCAAGTGTTAGTAGTAGATGG  
TCATCAGTGGATTTCATACAAGAGTTATTCCGGTATTCGTCGCTATATTGAAAT  
TAA

MFMMKKGQVNDTKQSYSLRKYKFLASVILGSFIMVTSPVFADQTTSVQVNNQTG  
TSVDANSSNETSASSVITSNNDVQASDKVVNSQNTATKDITPLVETKPMVEKTL  
PEQGNVYVSKETEVKNTPSKSAPVAFYAKKGDVDFYDQVFNKDNVWISYKSF  
VRRYAAIESLDPSSGSETKAPTPVTNSGSNNQEKIATQGNVYTFSHKVEVKNEAKVA  
SPTQFTLDKGDRIFYDQILTIENQWLSYKSFNGVRRFVLLGKASSVEKTEDKEKVS  
PQPQARITKTGRLTISNETTTGFDILITNIKDDNGIAAVKVPVWTEQGGQDDIKWYTA  
VTTGDGNYKVAVSFADHKNEKGLYNIHLYYQEASGTLVGVTVGKVTVAGTNSSQE  
PIENGLPKTGVYNIIGSTEVEKNEAKISSQTQFTLEKGDKINYDQVLTADGYQWISYKS  
YSGVRRYIPVKKLTTSSSEKAKDEATKPTSYPNLPKTGTYTFTKTVDVKSQPKVSSPV  
EFNFQKGEKIHVDQVLVVDGHQWISYKSYSGIRRYIEI\*

## 配列の説明

- A) 長さ: 1642 bp - 547 aa (完全長遺伝子)  
B) 配列の特徴: 潜在的なリーダーペプチド配列が存在する。orf は潜在的なシャイン・ダ  
ルガノ配列の後にある。

## 【図1】

ID-66  
クローン 3-5

ATGATATTGAGACGTCGAACTATTGTTTTATGGCAACTGGGTATCGCCATTTCTC  
TCATTCTTAGTATTCTAGCCTTAAATCTTTATTTCCATAGTACTCCCTTGCAAACC  
AATGCAGCTTTACGGAACCTTGCTCCTTCATTA AACCATCTTTTTGGGACAGATG  
GTTTAGGTAGGGATATGTTTGT CAGAACGATTA AAGGACTTTATTTCTCTCTACA  
AGTCGGCTTATTAGGTGCCCTTATGGGGGTCATTCTGGCGACAGTTTTTGGAGT  
GCTTGCAGGTTTAGGAAATAGCATTATTGATAAAATAATAGCATGGTTAGTTGAT  
TTGTTTATTGGTATGCCTCATTTGATTTTTATGATTCTCATTTCTTTTGTTGG  
GAAAGGTGCTCAAGGGGTCATCATTGCAACGGCTGTTACACATTGGCCTTCTTT  
AGCAAGGCTTATCCGCAATGAAGTCTATCATCTAAAGAATAAAGAATTTGTCCAA  
CTTTCTAAAAGTATGGGAAAACGCCTTATTATATTGTGAGGCATCATATCCTGC  
CTTTGATTGCTTCTCAAATTTTCATTGGTTTTATCCTCTTATTTCCACATGTCATC  
CTACATGAAGCATCAATGACTTTCTTAGGATTTGGGCTCTCTGCCGAACAACCT  
TCGTTTGGTATCATTCTGTCAGAGGCAGCTAAGCATATCTCTTTGGAAATTGG  
TGGTTGGTTATCTTTCCAGGACTTTATCTTATTTTGGTTGTCAATGCATTTGATAC  
TATCGGAGAATCTTTAAAGAACTCTTTACCCTCAAACCTGATCATTTTTAG

MILRRRTIVLWQLGIAISLILSILALNLYFHSTPLQTNAALRN LAPSLNHLFGTDGLGR  
DMFVRTIKGLYFSLQVLLGALMGVILATVFGVLAGLNSIIDKIIAWLVDLFIGMPHLI  
FMILISFVVGKGAQGVIIATAVTHWPSLARLIRNEVYHLKNKEFVQLSKSMGKTPYYI  
VRHHILPLIASQIFIGFILLFPHVILHEASMTFLGFGLSAEQPSVGIILSEAAKHISLGNW  
WLVI FPGLYLILVVNAFD TIGESLKKLFYPQTDHF\*

## 配列の説明

- A) 長さ: 822 bp - 274 aa (完全長遺伝子)  
B) 配列の特徴: 潜在的なリーダーなペプチド配列が存在する。orf は潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。

ID-78  
クローン 3-5b

ATGACAGAAACATTATTAAGCATTAAAGACCTCTCCATCACCTTCACTCAATACG  
GAAGATTTTTAAAACATTTCAATCAACACCGATACAAGCGCTGAATTTAGAAAT  
TAAAAAAGGTGAGTTATTAGCTATTATAGGTGCTAGTGGTTCCGGGAAGAGTTT  
ATTAGCACATGCTATTATGGATATTCTTCTAAAATGCATCTGTAACAGGAGAT  
ATGATTTATCGTGGTCAATCACTAAATCTAAACGCATTAAACAGTTGCGAGGAA  
AAGATATTACGTTGATTCCACAATCAGTTAATTTATTTAGATCCATCTATGAAAGTC  
AAACATCAGGTGCGCTTAGGTATCTCAGAAAATTCAAAGGCTACTCAAGAAGGA  
TTGTTTCAACAGTTTGGTTTTAAAGAAAGTGATGGTGACTTGGATCCTTTCCAAC  
TTTCTGGCGGAATGCTCCGACGTGTTTTGTTTACAACGTGTATTAGTGATAAGG  
TTTCTTTGATTATTGCGGATGAGCCCACCCCTGGATTACATCCAGATGCTCTGC  
AAATGGTTTTAGACCAACTACGCTCCTTTGCAGATAAAGGAATAAGCGTTATATT  
TATCACTCATGATATTGTAGCAGCTAGTCAAATTGCTGATCGTATTACTATTTTTA  
AAGAGGGAAAAGCTATTGAAACAGCTCCAGCTAGTTTCTTTAGCGGAAATGGAG  
AGCAGTTACAAACAGAATTTGCTAGAAGTTTATGGCGCTCTCTCCCACAGCAAG  
AATTTTTGAAAGGAGTTACTCATGACCTTAGAGGCTAA

## 【図1】

MTETLLSIKDLISITFTQYGRFLKPFQSTPIQALNLEIKKGELLAIIGASGSGKSLLAHAI  
 MDILPKNASVTGDMYRGQSLNSKRIKQLRGKDITLIPQSVNYLDPSMKVKHQVRLG  
 ISENSKATQEGLFQQFGLKESDGDLDPFQLSGGMLRRVLFITTCISDKVSLIIADEPT  
 PGLHPDALQMVLDQLRSFADKGISVIFITHDIVAASQIADRITIFKEGKAIETAPASFFS  
 GNQEQLQTEFARSLWRSLPQQEFLKGVTHDLRG\*

## 配列の説明

- A) 長さ: 804 bp - 268 aa (完全長遺伝子)  
 B) 配列の特徴: 明らかなリーダーペプチド配列は存在しない。orf は潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。この遺伝子は LEEP システムを用いて同定されなかった。しかし ID-76 の完全長遺伝子配列を決定する際に、この遺伝子は下流で同定され、完全に塩基配列が決定された。

ID-79

クローン 3-5c

GTCCATCTGGGGTGGTTCCCGATTGGTATTTCTTCTCCGATAGGTACTTTGAGT  
 CAAGATATTACGTTAGCTGATCGTATTAAGCACCTTATTTTACCTGTTTTACCGG  
 TAAGTATTCTAGGCATTGCCAATGTAACCTTTCATACTAGAACTAAAATGATGTC  
 GGTACTTTCTAGTGAATATGTCTTATTTGCCAGAGCGCGTGGGGAAACGGAATG  
 GCAAATTTTTAAAAATCATTGTCTTAGAAATGCTATCGTACCAGCTATTACACTG  
 CATTTCCTATTTTGGAGAATTGTTTGGAGGATCCGTTCTTGCTGAGCAAGTTT  
 TCTCATATCCAGGACTAGGGTCTACCCTAACTGAAGCAGGACTTAAAAGTGATA  
 CACCGCTACTTCTAGCTATTGTGATGATAGGGACATTATTTGTTTTGCGGGCA  
 ATCTTATTGCGGATATTTTAAATAGCATAATCAATCCACAGTTAAGGAGAAAAGT  
 ATGA

VHLGWFPIGISSPIGTLSDITLADRIKHLILPVFTVVSILGIANVTLHTRTKMMSVLSSE  
 YVLFARARGETEWQIFKNHCLRNAIVPAITLHFSYFGELFGGSVLAEQVFSYPGLGS  
 TLTEAGLKSDTPLLLAIVMIGTLFVFAGNLIADILNSIINPQLRRKV\*

## 配列の説明

- A) 長さ: 495 bp - 165 aa (部分的遺伝子配列)  
 B) 配列の特徴: N-末端はいまだに決定されていない。この遺伝子は LEEP システムを用いて単離されなかった。しかし ID-76 の完全長遺伝子配列を決定する際に、この遺伝子は上流で同定された。

ID-80

クローン 2-17

TTGCGGACAATTACGTTCAAACACAATGAAACGCGATCGTCAAAAAGCGAAGGT  
 AGGGCGGTAATGCTTAAAAGATTATTTACTGAAGATGGGGAATTGACAAAGATT  
 AGTCGTCGTTTCGTTTGGATGTTAGTGGTTATCTATTGTCTTATTATTGTCAGGA  
 TGTGTTTTGGGCCTCAAATTATGATTGAGGGGGTATCAACTCCGAATGTTGAGC  
 GCTTCGGAAGAATTGTAGCTCTTTTAGTACCATTTAATTTCTTTTCGTAGTTTATAGT  
 CAGCTAACTAGCTTTAAAGAGATTTTTTGGGTTATTGGTCAAAATGTAGTGAATA  
 TTTTACTGCTGTTTCTCTCATTATAGGGTTACTATCCCTAAAGCCAAGTTTACG  
 GAAATATAAAAAGCGTTATATTACTTGTCTTCTTGATGTCTCTTTTCATAGAGTGTA  
 CTCAAGTTGTTTTAGATATTTTAAATAGATGCTAATCGGGTTTTTGAATCGACGA

## 【図1】

TCTATGGACAAATACCTTAGGCGGTCCTTTTCGCCCTATGGAGTTATCGAAACAT  
AAAAGTTGGCTTCTAACTATTAGAAAATGA

MRTITFKHNETRSSKSEGRAVMLKRLFTEDGELTKISRRFVWMLVVIYCLIIVRMCF  
GPQIMIEGVSTPNVQRFGRIVALLVPFNSFRSLDQLTSFKEIFWVIGQNVNILLFPL  
IIGLLSLKPSLRKYKSVILLAFLMSLFIECTQVVLDILIDANRVFEIDDLWTNTLGGPFAL  
WSYRNIKGWLLTIRK\*

## 配列の説明

A) 長さ:579 bp - 193 aa (完全長遺伝子)

B) 配列の特徴:潜在的なリーダーペプチド配列を有する。明らかなシャイン・ダルガノは存在しないが、'TTG'コドンが実際の翻訳開始点であり得る。TTGの下流の~22コドンにあるメチオニン(ATG)は、潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にあり、実際の開始コドンであり得る。

ID 81

クローン 3-1

TTGAAAATTTAAATCGTTATGTAGTTGCGGTTTCTGGAGTCGTTTTACATTTAAT  
GCTAGGATCAACTTATGCTTGGAGTGTGTTTCGTAACCCAATTATCTCAGAGAC  
TGGTTGGGATATTTTCATCAGTTTCATTTCGCTTTTAGTTTGGCTATTTTTGTCTAG  
GAATGTCTGCAGCTTTTATGGGACACTTAGTAGAGCGTTTTGGTCCTAGGATAA  
TGGGAATGATTTCTGCTATTTTATATGGAGCAGGGAATGTGTTAACAGGCTTAG  
CCATTGAAACTCAGCAGTTATGGTTACTGTATGTTGCATACGGTATTTTAGGAG  
GAATCGGACTTGGTTCAGGTTATATTACTCCAGTATCGACTATTATTAATGGTT  
TCCTGATAGGAGGGGACTAGCAACAGGATTCGCTATTATGGGATTTGGCTTTGC  
TTCTTTAGTAACAAGTCCGCTTGCACAATCCTTACTGATTAGGATTGGTGTGGG  
TAAAACGTTTTATTTTTGGGATTAGTATATTTTTTTGTCATGATGATTGCCTCAC  
AATTTATTAACAACCACCTCAGGAAAAAATAACTATTTTGA CT CACGATGGTAA  
AAAGAATGCTATGAATTCACAAATTATCACTGGATTAAGCAACGTCGCTATA  
AATCAAAAACCTTTTACATCATTTGGTTGACCTTGTATTATAATTTTCGTGTGG  
CTTAGGTTTAATATCAGCAGCTTCACCAATGGCACAAGATTTAGCAGGCTATTC  
CGCAGAATCTGCAGCCTTATTAGTAGGGGACTAGGGATTTAACGGTTTTGG  
ACGTCTGTTATGGGCAAGTCTCTCTGACTACATTGGACGCCCGTTGACCTTTAT  
AATATTATTTATTGTGAACCTTATTATGACTTCTAGTTTATTTTTGTCATTCAATGC  
TATTGTATTTGCAATAGCGATGTCTATTTTAATGACTTGTATGGTGCAGGTTTTT  
CCTTATTACCTGCTTATCTAAGTGATTTTTTGGAAACAAAGGAATTAGCTACTTTA  
CATGGTTATAGTTTAAACAGCATGGGCAATAGCAGGTCTGTTTGGGCCCTATTG  
TTATCAAAGACATATTCATGGGGAAATTCCTATCAATTGACATTAATGGTTTTTG  
GTTTTTTATTCTTATTTCGGATTATTGTTATCTCTATATTTAAGAAAATTAACAATA  
AAGTTGTGTAG

LKNLNRYVAVSGVVLHMLGSTYAWSVFRNPIISETGWDISSVSFAFSLAIFCLGM  
SAAFMGLHVERFGPRIMGMISAILYGAGNVLTGLAIETQQLWLLYVAYGILGGIGL  
SGYITPVSTIIKWFPDRRGLATGFAIMGFGFASLVTSPLAQSLLIRIGVGKTFYILGLV  
YFFVMMIASQFIKQPPQEKITILTHDGKKNAMNSQIITGLKANVAIKSKTFYIWLTLFI  
NISCGLGLISAASPMQDLGYSAESALLVGVLGIFNGFGRLLWASLSDYIGRPLT  
FIILFVNFIMTSSLFSLFNAIVFAIAMSILMTCYGAGFSLLPAYLSDFGKELATLHGY  
SLTAWAIAGLFGPLLLSKTYSWGNYSYQLTLMVFGFLFLGLLLSLYLRKLTTKVV\*

配列の説明:

## 【図1】

- A) 長さ 1221 bp - 407 a.a (完全長遺伝子)  
 B) 上流にシャイン・ダルガノ配列を有した TTG 開始コドンが存在する。明らかにシグナルペプチドであり、そのハイドロパシープロットは、多くの可能な膜貫通領域を示し、タンパク質が膜貫通型であることを示している。

ID-82  
 クローン 48

ATGGCAGATAAAAACAGAACATTTAAACTTTGTAGGTGCAGGATCTTCTAGCACACA  
 CAAGAAAAAATTGAAAAGCCTGCTCTTTTCGTTTATGCAAGATGCGTGGCGTCGC  
 TTGAAAAAAAACAAATTAGCAGTAGTTTCACTCTATTTATTAGCTCTTTTACTTAC  
 TTTTTCGTTAGCCTCAAATTTATTTGTAACCTCAGAAGGATGCTAATGGGTTTGAT  
 TCGAAAAAAGTAACGACATATCGCAACTTACCACCTAAATTGAGTTCAAACCTTC  
 CTTTTTGAATGGTAGCATTAAATCCATCA

MADKNRTFKLVGAGSSSTQEKIEKPALSFMQDAWRRLKKNKLAVVSLYLLALLLTF  
 SLASNLVFTQKDANGFDSKVKVTTYRNLPPKLSNLPFWNGSINPS

配列の説明:

- A) Current 長さ is 303 bp - 101 aa  
 B) 明らかなシグナルペプチドは存在しないが、シャイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在する。LEEP システムを用いて直接に同定されなかったが、WO 00/06736 に記載の ID-34 の下流で直接見出された。

ID-83  
 クローン 98

ATGAAAATAGTAGTACCAGTAATGCCTCGCAGTCTTGAAGAGGCTCAAGAAATA  
 GATTTATCAAAATTTGATAGTGTTGATATTATTGAATGGCGAGCTGATGCCTTAC  
 CAAAGGATGACATTATTAATGTAGCTCCAGCTATTTTTGAGAAATTCGCAGGTCA  
 TGAAATTATTTTTACTTTTTCGTACAACGCGTGAAGGTGGTAATATTGTCTTATCT  
 GATGCTGAGTATGTTGAGTTAATCCAGAAAAATTAATTCTATCTACAATCCAGATT  
 ATATTGATTTTGAGTATTTTTACATAAAGAAGTTTTTCAAGAAATGCTAGAATTT  
 CCAAATTTAGTCCTGTCTTATCACAATTTTTCAAGAGACACCGGAGAATATTATGG  
 AGATATTTTCAGAAATTAACAGCCCTAGCACCCAGAGTTGTGAAAATCGCAGTAA  
 TGCCAAAGAATGAACAAGATGTCTTAGACGTTATGAATTACACTCGCGTTTTCA  
 AGACTATTAATCCTGATCAAGTTTATGCGACGGTATCTATGAGTAAAATTGGACG  
 TATTTCTCGTTTTGCTGGTGTGTAACCTGGATCTAGTTGGACATTTGCATATTTA  
 GATTCATCTATCGCACCCGGACAAATTAATTTTCAAGAGATGAAGCGTGTCAA  
 GCATTGCTTGACGCTGACTGA

MKIVVPVMPRSLEEAGEIDLKFDSDVDEWRADALPKDDIINVAPAIFEFKAGHEIIFT  
 FRRTREGGNIVLSDAEYVELIQKINSIYNPDYIDFEYFSHKEVFQEMLEFPNLVLSYH  
 NFQETPENIMEIFSELTALAPRVVAVMPKNEQDVLDMNYTRGFKTINPDQVYAT  
 VSMKIGRISRFRAGDVTGSSWTFAYLDSSIAPGQITISEMKRVKALLDAD\*

配列の説明:

- A) 長さ 678 bp, 225 aa (完全長遺伝子)

## 【図1】

B] 明らかなシグナルペプチドは存在しないが、シャイン・ダルガノが orf のすぐ上流に存在する。

ID-84  
クローン RS-52

ATGAAAGACTTATTTGCAACAACAGAAGCATCATCAAGGAAACAGGAACAAGAT  
AGAATTGTCAATTACATAAAACAACATGTTGAGTTAACAAATGGTAATCAAATAA  
AAAAAATTGAGTTTATCGACTTTCAAAAAAATGAGATGACAGGTACATGGGGAAT  
TTCTACTAAAATTAATGAACAATTTTCGATTAGTTTTCTGAAGATAGAATTGGTG  
GTAACCTTAGAGCATTAGGATATCAACCGAATGAAATAGGTTTTTCAAAGGACAT  
CAATAGTAATAATCAAATGTTAATGATATTGAAGTGATTTATATGAAGAAAGAAT  
AG

MKDLFATTEASSRKQEQRIVNYIKQHVELTNGNQIKKIEFIDFQKNEMTGTWGIS  
TKINEQFSISFSEDRIGGKLRALGYQPNEIGFSKDINSNNQNVNDIEVIYMKKE\*

配列の説明:

- A] 長さ:333 bp - 111 aa (部分的配列)  
B] ATG 開始コドンの上流に明らかなシャイン・ダルガノ配列は存在せず、該タンパク質に明らかなシグナルペプチドは存在しない。

ID-85  
クローン RS-53

ATGAAAAACGTATATGGTATTTGATAATAATAATCACAGTAATTTTAGGAGGAC  
TAGCCATGAAAACTTATTTGCAACAACAGAAGCATCATCAAGGAAACAGGAAC  
AAGATAGAATTGTCAATTACATAAAACAACATGTTGAGTTAACAAATGGTAATCA  
AATAAAAAAATTGAGTTTATCGACTTTCAAAAAAATGAGATGACAGGTACATGG  
GGAATTTCTACTAAAATTAATGAACAATTTTCGATTAGTTTTCTGAAGATAGAAT  
TGGTGGTAACTTAGAGCATTAGGATATCAACCGAATGAAATAGGTTTTTCAA  
GGACATCAATAGTAATAATCA

MKKRIWYLIITVILGGLAMKLNLFATTEASSRKQEQRIVNYIKQHVELTNGNQIKKIE  
FIDFQKNEMTGTWGISKINEQFSISFSEDRIGGKLRALGYQPNEIGFSKDINSNNQ

配列の説明:

- A] 長さ:351 bp - 117 aa (部分的配列)  
B] 明らかなシグナルペプチド、および ATG 開始コドンの上流にシャイン・ダルガノ配列が存在する。

ID-86  
クローン ID-74

ATGTCAAATCAATATGATTATATCGTTATTGGTGGAGGTAGTGCAGGCAGTGGT  
ACCGCTAATAGGGCAGCCATGTATGGAGCAAAGTCCTGTTAATTGAAGGTGG  
ACAAGTAGGTGGAACCTTGTTAACTTAGGTTGTGTACCTAAGAAAATCATGTG  
GTATGGTGCACAAGTTTCTGAGACACTCCATAAGTATAGTTCAGGTTATGGTTTT

## 【図1】

GAAGCCAATAATCTTAGTTTTGATTTTACTACTCTAAAAGCTAATCGCGATGCTT  
 ACGTGCAGCGGTCTAGACAGTCGTATGCCGCTAATTTTGGAGCGTAATGGGGTC  
 GAAAAGATTGATGGATTTGCTCGTTTTATTGATAACCATACTATTGAAGTGAATG  
 GTCAGCAATATAAAGCTCCTCACATTACTATTGCAACAGGTGGACACCCTCTTT  
 ACCCTGATATTATTGGAAGTGAACCTGGTGAGACTTCTGATGATTTTTTTGGATG  
 GGAGACCTTACCAAATTCTATATTGATTGTTGGGGCGGGCTATATCGCGGCAGA  
 ACTTGCTGGAGTGGTTAATGAATTAGGCGTTGAAACCCATCTTGCATTTAGAAA  
 AGACCATATTCTACGCGGATTTGATGACATGGTAACAAGTGAGGTTATGGCTGA  
 AATGGAGAAATCAGGTATCTCTTACATGCTAACCATGTACCTAAATCTCTTAAA  
 CGCGATGAAGGTGGCAAGTTGATTTTTGAAGCTGAAAATGGGAAAACGCTTGT  
 GTTGATCGTGTAAATATGGGCTATCGGCCGTGGACCAAATGTAGACATGGGACT  
 TGAANAATACCGATATTGTTTTAAATGATAAAGATTATATCAAAACAGATGAATTTG  
 AGAATACTTCTGTAGATGGCGTGTATGCTATTGGAGATGTTAATGGGAAAATTG  
 CCTTGACACCGGTAGCAATTGCAGCAGGTGCTCGCTTATCAGAAAGACTTTTTA  
 ATCATAAAGATAACGAAAAATTAGATTACCATAATGTACCTTCAGTTATTTTTACT  
 CACCCTGTAATTGGGACGGTAGGACTTTCAGAAGCAGCAGCTATCGAGCAATTT  
 GAAAAAGATAAATCAAAGTCTATACATCAACTTTACCTCTATGTATACGGCTG  
 TTACCAGTAATCGCCAAGCAGTTAAGATGAAGCTCATAACCCTAGGAAAAGAGG  
 AAAAAGTTATTGGGCTTCATGGTGTGGTTATGGTATTGATGAAATGATTCAAGG  
 TTTTTAGTTGCTATCAAAATGGGGGCTACTAAAGCAGACTTTTGATGATACTGTT  
 GCTATTCACCCAACCTGGATCTGAGGAATTTGTTACAATGCGCTAA

MSNQYDYIVIGGGSAGSGTANRAAMYGAKVLLIEGGQVGGTCVNLGCVPKKIMWY  
 GAQVSETLHKYSSGYGFEANNLSFDFTTLKANRDAYVQRSRQSYAANFERNGVEK  
 IDGFARFIDNHTIEVNGQQYKAPHITATGGHPLYPDIIGSELGETSDDFFGWETLPN  
 SILIVGAGYIAELAGVVELGVETHLAFRKDHILRGFDDMVTSEVMAEMEKSGISLH  
 ANHVPKSLKRDEGGKLIFEANGKTLVDRVIWAIGRGPVNDMGLENTDIVLNDKD  
 YIKTDEFENTSVGDVYAIGDVNGKIALTPVAIAAGRRLSERLFNHKDNEKLDYHNVP  
 SVIFTHPVIGTVGLSEAAAIEQFGKDNKIVYTSTFTSMYTAVTSNRQAVKMKLITLKG  
 EEKVIGLHGVGYGIDEMIQGFSVAIKMGATKADFDFTVAIHPTGSEEFVTMR\*

ID-87

クローン RS-55

ATGACAAAAAACATCTTAAAACGCTTGCCTTGGCACTTACTACAGTATCAGTAG  
 TGACATACAGCCAGGAGGTATATGGATTAGAAAGAGAGGAATCGGTCAAACAA  
 GAACAAACCCAGTCAGCTTCAGAAGATGATTGGTTCGAAGAAGATAATGAGAG  
 GAAAACAAATGTTTCTAAAGAGAATTCTACTGTTGATGAAACAGTTAGTGATTTA  
 TTTTCTGATGGAAATAGTAATAACTCTAGTTCTAAAACCGAGTCAGTGGTAAGTG  
 ACCCTAAACAAGTCCCCAAAGCAAACCCAGAGGTTACACAAGAAGCAAGCAATT  
 CTAGTAATGATGCTAGCAAAGTAGAAGTACCAAACAGGATACAGCTTCAAAAA  
 AGGAAACTCTAGAAACATCAACTTGGGAGGCAAAGATTTTCGTAACCTAGAGGG  
 GATACTTTAGTAGGTTTTTCAAATCTGGAATTAATAAGTTATCTCAAACATCACA  
 CTTGGTTTTACCAAGTCATGCAGCAGATGGAACCTCAATTGACACAAGTAGCTAG  
 CTTTGCTTTTACTCCAGATAAAAAGACGGCCATTGCAGAATATACAAGTAGGCT  
 AGGAGAAAATGGGAAACCGAGTCGTTTATGATATTGATCAGAAGGAAATTATTGA  
 TGAGGGAGAAATATTTAATGCTTACCAGTTGACTAAGCTTACTATTCCAAATGGT  
 TATAAGTCTATTGGTCAAGATGCTTTTTGTGGACAATAAGAATATTGCTGAGGTTA  
 ACCTTCTGAGAGTCTCGAGACTATTTCCAGACTATGCTTTTTGCTCACATGTCTTT  
 AAAACAAGTAAAGTTACCAGATAACCTAAAGGTCATTGGAGAATTAGCTTTTTTT  
 GATAATCAGATTGGTGGTAAGCTTTACTTGCCACGTCCTTGATAAAATTAGCA  
 GAACGCGCTTTCAAATCTAATCGTATTCAAACAGTTGAATTTTTGGGAAGTAAGC

【図1】

TTAAGGTTATAGGAGAAGCAAGTTTTCAAGATAATAATCTGAGGAATGTTATGCT  
TCCGGATGGACTTGAAAAATAGAATCAGAAGCTTTTACAGGAAATCCAGGAGA  
TGAACATTACAACAATCAGGTTGTATTGCGCACAAAGGACAGGCCAAAATCCACA  
TCAACTTGGGACTGAGAATACTTACGTCAATCCGGACAAATCATTGTGGCGTGC  
AACACCTGATATGGATTATACCAAATGGTTAGAGGAAGATTTTACCTATCAAAAA  
AATAGTGTTACAGGTTTTTCAAATAAAGGCTTACAAAAGGTAAGACGTAATAAAA  
ACTTAGAAATCCAAAACAACAATGGTATTACTTACTGAAATTGGTGATAA  
CGCTTTTCGCAATGTTGATTTTTCAAAGTAAAACCTTACGTAATATGATTTGGAA  
GAAATAAAGCTCCCCTCAACTATTCGGAAAAATAGGTGCTTTTGCCTTTCAATCTA  
ATAACTTGAAATCCTTTGAAGCAAGTGAAGATTTAGAAGAGATTAAGAGGGAG  
CCTTTATGAATAATCGTATTGGAAGCTCTAGACTTGAAAGACAAACTTATCAAAA  
AGGTGATGCTGCTTTCCATATTAATCATATTTATGCCATTGTTCTTCCAGAATCT  
GTACAAGAAATAGGACGTTTCAGCTTTTCGACAAAATGGTGCGCTTCACCTTATG  
TTTATCGGAAATAAGGTTAAAACAATTGGTGAAATGGCTTTTTTATCCAATAAAC  
TGGAAAGTGTAATCTCTCTGAGCAAAAACAATTAAGACAATTGAGGTCCAAG  
CTTTTTCGGATAATGCCCTTAGTGAAGTAGTCTTACCGCCAAATTTACAGACTAT  
TCGTGAAGAGGCTTTCAAAGGAATCATTTGAAAGAAGTGAAGGGTTCATCTAC  
ATTATCTCAGATTACTTTTTAATGCTTTTGATCAAAATGATGGGGACAAACGCTTT  
GGTAAGAAAGTGGTTGTTAGGACACATAAATTCTCATATGTTAGCAGATGGT  
GAGCGTTTTATCATTGATCCAGATAAGCTATCTTCTACAATGGTAGACCTTGAAA  
AGGTTTTAAAAATAATCGAAGGTTTAGATTACTCTACATTACGTCAGACTACTCA  
AACTCAGTTTAGAGAAATGACTACTGCAGGTAAGCGTTGTTATCAAAATCTAAC  
CTCCGACAAGGAGAAAAACAATAATCCTTCAAGAAGCACAAATTTTTCTTGGT  
CGCGTTGATTTGGATAAAGCCATAGCTAAGACTGAGAAGGCTTTAGTGACCAAG  
AAGGCAACAAAGAATGGTCAATTTGCTTGAGAGGAGTATTAACAAAGCGGTATTA  
GCTTATAATAATAGTGCTATTAATAAAGCTAATGTTAAGCGCTTGAAAAAGATTA  
TAGACTTGCTGACAGATTTAGTCGAGGGAAAAGGACCATTAGCGCAAGCTACAA  
TGGTACAAGGAGTTTATTTATTAAGACGCCTTTACCATTGCCAGAATATTATAT  
CGGATTGAACGTTTATTTGACAAGTCTGGAAAATTGATTTATGCACTTGATATG  
AGTGATACTATTGGCGAGGGACAAAAGATGCATATGGTAATCCTATATTAAT  
GTTGACGAGGATAATGAAGGTTATCATACCTTGGCAGTTGCCACTTTAGCTGAT  
TATGAAGGTCTTTATATTAAGATATTTAATAGTTCCCTTGATAAGATTAAGC  
AATACGCCAGATTCCTTTGGCAAAATATCATAGATTAGGAATTTTCCAAGCTATC  
CGAAATGCAGCGGCAGAAGCAGACCGATTGCTTCCTAAGACACCTAAGGGGTA  
CCTAAATGAAGTCCCAAATTTATCGTAAAAACAATGGAGAAAAATTTAAAACCA  
GTTGATTATAAAACGCCGATTTTTAATAAGGCTTTACCTAATGAAAAGGTAGACG  
GTGATAGAGCGGCTAAAGGTCATAATATAAATGCGGAGACTAATAATTCTGTAG  
CTGTAACACCAATAAGGTCCGAGCAGCAATTACATAAGTCACAGTCTGATGTAA  
ATTTACCTCAAACAAGTTCTAAAAATAATTTTATATACGAGATTCTAGGATACGTT  
AGTTTTATGTTTGCCTTTCTAGTAACTGCTGGGAAAAAAGGAAAACGAGCAAGA  
AAATAA

MTKKHLKTLALALTTVSVVTYSQEVYGLEREEESVKQEQTQSASEDDWFEEDNERK  
TNVSKENSTVDETVSDLFSDGNSNNSSSKTESVVSDFKQVPAKPEVTQEASNSS  
NDASKVEVPKQDTASKKETLETSTWEAKDFVTRGDTLVGFSGKSKGINKLSQTSHLVL  
PSHAADGTQLTQVASFATPDKKAIAEYTSRLGENGKPSRLDIDQKEIIDEGEIFNA  
YQLTKLTIPNGYKSIQDAFVDNKNIAEVNLPESLETISDYAFHMSLQVLPDNLK  
VIGELAFFDNQIGGKLYLPRHLIKLAERAFKSNRIQTVEFLGSKLVIGEASFQDNNL  
RNVMLPDGLEKIESEAFNGPNPGEHYNNQVLRTRTGQNPQLATENTYVNPDKS  
LWRATPDMDYTKWLEEDFTYQKNSVTGFSNKGLQKVRNKNLEIPKQHNGITTEI  
GDNAFRNVDFQSKTLRKYDLEEIKLPSTIRKIGAFQSNLKSFEASEDLEEIKEGA  
FMNRRIGTLDLKDCLIIGDAAFHINHIAIVLPESVQEIGRSAFRQNGALHLMFIGNK  
VKTIGEMAFLSNKLESVNLSEQQLKTIQVAFSDNALSEVWLPPNLQTIREEAFKR

## 【図1】

NHLKEVKGSSTLSQITFNAFDQNDGDKFRFGKVVVVRTHNNSHMLADGERFIIDPK  
 LSSTMVDLEKVLKIIIEGLDYSTLRQTTQTQFREMTTAGKALLSKSNLRQGEKQKFLQ  
 EAQFFLGRVDLDKAIKAIEKALVTKKATKNGHLLERSINKAVLAYNNSAIKKANVKRL  
 EKELDLLTDLVEGKGPLAQATMVQGVYLLKTPLPLPEYYIGLNVYFDKSGKLIYALD  
 MSDTIGEGQKDAYGNPILNVEDEDNEGYHTLAVATLADYEGLYIKDILNSSLDKIKAIR  
 QIPLAKYHRLGIFQAIRNAAAADRLLPKTPKGYLNEVPNYRKKQMEKNLKPVDYKT  
 PIFNKALPNEKVDGDRAAKGHNINAETNNSVAVTPIRSEQQLHKSQSDVNLPTSS  
 KNNFIYEILGYVSLCLLFLVTAGKKGKRARK\*

配列の説明:

A) 長さ 3168 bp - 1056 aa (部分的配列)

B) 明らかなシグナルペプチドが存在し、ATG 開始コドンの上流にシャイン・ダルガノ配列を有する。

ID-88

クローン RS-56

GCAGGATACATCATGCACAAGCACGAGGCTATCGTGTCATGCTGGGGTCAACC  
 CAGGAAGACATGTCGGCACAAGCTGAAGATTTCTTTACAGTCTGTACACAATAA  
 AGAGACGGGTAAGAGCGCTTTTAATGACAAAGAACGACTAGCAATT

AGYIMHKHEAIVSCWGQPRKTCRHKLKISLQSVHNKETGKSAFNDKERLAI

配列の説明:

A) 長さ:153 bp - 51 aa (部分的配列)

B) 明らかなシグナルペプチドは存在せず、配列データが不充分であるためシャイン・ダルガノ配列の存在は決定されない。

ID-89

クローン RS-58

GTGTCATTTATGCAAAGAAAATCCTATTTAAAATCCATGAGTGTTCTTACTTTAAC  
 AGCTTGTCTTATATCAGGATATGTGGTTAAAGATAATTGCTATGTTACATGCAGTA  
 TCTGCCAGTGAGAAGAAAAGCAAATAATGTCAGTCCGAGAGAAAATCTCTACAGG  
 GCTGTCAATGATAATTGGCTAGCCAATACAAAACCTCAAACAAGGGCAGACTAGT  
 GTTAATAGTTTTTTCAGAAATTGAGGATAAATTAAGCAACTGTTAGTGTCTGATA  
 TGGCTAAAATGGCCTCAGGAAAGATTGAAACAACCAATGATGAACAGAAAAAAA  
 TGGTTGCATACTATAAAACAAGGTATGGACTTTAAAACAAGAGATAAAAATGGTCT  
 CAAACCTCTAAAACCAAGTTTTACAAAACCTTGAAGCAGTCTCTTCAATGAAAGAC  
 TTTCAAAGTTTTGGCCCATGATTTTTGTGATGAGTGGTTTTGTTTTACCATTTGGTT  
 TGACTGTGGAAACCAATGCTCGAGATAATAGCCAAAAGCAATTGGTGCTTCGTC  
 AAGCACCCGCATTACTTGAATCACCTGACCAATATAAGAAGGGCAATAAAGAAG  
 GTGAGGCTAAATTATCAGCTTACCGTACTTCAGCAATGGCTTTGCTTAAACAAG  
 CTGGAAAAAGTAACATTGAAGATAGAAAACCTAGTTAAACAAGCTATAGCATTTGA  
 TAGACTCTTATCAGAAAAAACGCAAGTTGATCAAAGTAAAATCACAGCTGAAAGT  
 GAGACAGCTGCGGGGCGATATAACCCTGAAAGTATGGAAACGGTTCACAATTA  
 CGCCAAGGAATTTGACTTTAAGAATTGATTGAAAAACTAGTTGGGCCAACGAA  
 TAAGGCAGTCAATGTAGAAGATAAAAACCTATTTTAAACAGGTTAATGATGTTATA  
 AATAGTAAACAATTAGCCAATATGAAAGCATGGATGATGATTTCTATGCTAGTTG

## 【図1】

ATCAATCAGATTTTCTAGGAGAACAAAATCGTCAAGCAGCGAGTGCTTTTAAGA  
ATGTTGCGTCTGGTTTGACTCAGATTGAATCGAAAGAAAAAATGCTTACACCCA  
ATTAG

MSFMQRKSYLKSMSVLTLTACLISGYVVKDIAMLHAVSASEKKANNVSPRENLYRA  
VNDNWLANTKLKQGGQTSVNSFSEIEDKLLVSDMAKMASGKIETTNDQKQKMV  
AyyKQGMDFKTRDKNGLKPLKPVLLQKLEAVSSMKDFQSLAHDFVMSGFVLPFGLT  
VETNARDNSQKQLVLRQAPALLESPDQYKKGNGEAKLSAYRTSAMALLKQAGK  
SNIEDRKLVKQAIADFRLLEKTQVDQSKITAESETAAGRYNPESMETVHNYAKEFD  
FKELIEKLVGPTNKAVNVEDKTYFKQVNDVINSKQLANMKAWMMISMLVDQSDFLG  
EQNRQAASAFKNVASGLTQIESKEKMLTPN\*

配列の説明:

- A] 長さ: 1095 bp - 365 aa (完全長遺伝子)  
B] 明らかなシグナルペプチドを有するGTG (可能なATG開始コドンはさらに7 bp 下流に位置する)開始コドンが存在する。シャイン・ダルガノ配列がorfの上流に存在する。

ID-90

クローン RS-59

ATGGAAATGCCTAAAAGAAATGAATTAATCAATAAAGAAATTAATGAGTATTG  
ATAAACTTAGATATAAAGAACCAGAGAGTGAACATGACAAGCGACCTACTTTTA  
TTTGGTAGTACTTATACTTGTTACTGTAGCAGTTATATTGTCGTTATTTAAATATT  
TTTTATAG

MEMPKRNELLNKEIKMSIDKLRYPKEPESEHDKRPTFYLVVLIVTVAVILSLFKYFL\*

配列の説明:

- A] 長さ: 174 bp - 58 aa (完全長遺伝子)  
B] 明らかなシグナルペプチドは存在しないが、シャイン・ダルガノ配列がATG開始コドンの上流に存在する。

ID-91

クローン RS-62 (部分的配列)

ATGCAGGTATTTTAAATATTGTCAATAAATTCCTTTGATCCAGTTATTCATATGGG  
TTCGGGAGTTGTGATGCTAATTGTCATGACAGGTTTAGCCATGATATTTGGAGT  
GAAGTTTTCTAAAGCACTTGAAGGTGGTAT

MQVFLNIVNKFFDPVIHMGSGVVMLIVMTGLAMIFGVKFSKALEGG

配列の説明:

- A] 長さ: 141 bp - 41 aa (部分的配列)  
B] シャイン・ダルガノ配列が、可能なシグナルペプチドが存在するATG開始コドンの上流に存在する。

ID-92

## 【図1】

クローン RS-69 (部分的配列)

ATGAAAAAGAAAACATTCAGTGCTTATAACTTTTTAACGGCTCTTATCCTTTGTCT  
TTTGACAGTGCTTTTTATCTTTCCATTTTATTGGATTATGACAGGAGCTTTTAA

MKKKTFSAYNFLTALILCLLTVLFIFPFYWIMTGAF

配列の説明:

A) 長さ: 110 bp - 36 aa (部分的配列)

B) 開始コドンのすぐ上流に存在するシャイン・ダルガノ配列を有する可能なシグナルペプチドが存在する。

ID-93

クローン RS-70

ATGACTGAGAACTGGTTACATACTAAAGATGGTTCAGATATTTATTATCGTGTGCG  
TTGGTCAAGGTCAACCGATTGTTTTTTACATGGCAATAGCTTAAGTAGTCGCTA  
TTTTGATAAGCAAATAGCATATTTTTCTAAGTATTACCAAGTTATTGTTATGGATA  
GTAGAGGGCATGGCAAAAGTCATGCAAAGCTAAATACCATTAGTTTCAGGCCAAA  
TAGCAGTTGACTTAAAGGATATCTTAGTTCAATTTAGAGATTGATAAAGTTATATT  
GGTAGCCATAGCGATGGTGCTAATTTAGCTTTAGTTTTTCAAACGATGTTTCCA  
GATATGGTTAGAGGGCTTTTGCTTAATTCAGGGAACCTGACTATTCATGGTCAG  
CGATGGTGGGATATCTTTAGTAAGGATTGCCTATAAATTCCTTCACTATTTAG  
GGAAACTCTTCCGTATATGAGGCCAAAAGCTCAAGTTATTTTCGCTTATGTTGGA  
GGATTTGAAGATTAGTCCAGCTGATTTACAGCATGTGTCAACTCCTGTAATGGT  
TTTGGTTGGAAATAAGGACATAATTAAGTTAAATCATTCTAAGAACTTGCTTCTT  
ATTTTCCAAGGGGGGAGTTTTATCTTTAGTTGGCTTTGGGCATCACATTATTAA  
GCAAGATTCCCATGTTTTTAATATTATTGCAAAAAAGTTTATCAACGATACGTTG  
AAAGGAGAAATTGTTGAAAAAGCTAATTGA

MTENWLHTKDGSDIYYRVVGGQPIVFLHGNSLSSRYFDKQIAYFSKYYQVIVMDS  
RGHGKSHAKLNTISFRQIAVDLKDILVHLEIDKVLVGHSDGANLALVFQTMFPDMVR  
GLLLNSGNLTIHGQRWWDILLVRIAYKFLHYLGKLFYMRQKAQVISLMLDLKISPA  
DLQHVSTPVMVLVGNKDIIKLNHSHKSLASYFPRGEFYSLVGFHHIIKQDSHFVNIIA  
KKFINDTLKGEIVEKAN\*

配列の説明:

A) 長さ: 744 bp - 248 aa (完全長遺伝子)

B) 明らかなシグナルペプチドは存在しないが、ATG 開始コドンの上流にシャイン・ダルガノ配列が存在する。

ID-94

クローン RS-71

ATGGTAGCAAAGAGTTAGGTAAAAATAGCTTTACTATCCCAACTATTTGTTCTA  
ATTGCTCCGCAGGTACTGCCATTGCAGTTGTATATAATGATGACCATTCCTTTCTT  
AAGATACGGCTATCCCGAGTCTCCACTTCATATTTTTATCAATACACGGATCATT  
GCACAGGCACCAAGCAAATATTTTTGGGCTGGTATTGGGGACGGTATTTCAAAA  
GCCCCTGAAGTAGAACGTGCTACCTTAGAGGCTAAGACCAATAAACTACCAT

## 【図1】

ACTGCAGTGTTAGGACAAGCAGTCGCTCTGTCTTCAAAGGAAGCTTTTTATCAA  
 TTTGGTGAACAAGGTCTAAAAGACGTTGAAGCTAATTTAGCTTCGCGTGCAGTT  
 GAAGAAATTGCGCTTGATATCTTA

MVAKELGKNSFTIPTICSNCSAGTAIAVVYNDHSLFRYGYPEPLHIFINTRIIAQAP  
 SKYFWAGIGDGIKKAPEVERATLEAKTNKLPHTAVLGQAVALSKEAFYQFGEQGL  
 KDVEANLASRAVEEIALDIL

配列の説明:

A] 長さ: 405 bp - 135 aa (部分的配列)

B] シャイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在せず、推定されるシグナルペプチドが N-末端に存在する。

ID-95

クローン RS-73

TTGAGGGAAACTTACTGGAAAATTTCAAGCGATTGCGATAAAAATAAATCTTGCA  
 GAGTTTTCTAGAGAAAGGAGGTCAGATTTATTGGAGTGGCAAGATCTAGCGCA  
 GTTACCTGTATCTATTTTTAAAGACTATGTTACAGATGCTCAAGACGCGGAAAAA  
 CCTTTTATATGGACAGAAGTATTTTTAAGGGAGATTAATCGCTCAAATCAAGAAA  
 TTATTTTGCATATTTGGCCGATGACTAAGACAGTCATTCTGGGGATGTTAGATC  
 GAGAATTACCACATTTAGAATTAGCTAAAAAAGAAATCATCAGTCGTGGTTATGA  
 ACCAGTTGTTTCGGAATTTTGGAGGTCTCGCAGTTGTAGCTGATGAAGGAATTTT  
 AAATTTTTTCATTGGTTATCCAGATGTTTTTGGAGAGAAAATTGTCTATCTCAGATG  
 GGTATCTTATAAATGGTCGATTTTATTAGAAGTATATTTTCGGATTTTTATCAACCT  
 ATTGAGCACTTTGAAGTAGAGACCTCCTATTGTCCTGGTAAGTTTGATCTTAGTA  
 TAAATGGCAAAAAATTTGCTGGCTTGGCTCAGCGCCGTATAAAGAATGGTATTG  
 CGGTATCAATTTACCTTAGCGTTTTGTGGCGATCAAAAAGGGCGGAGTCAATGA  
 TTTTCAATTTTTATAAGATTGGTCTAGGTGATACGGGTAGTCCAATTGCTTATCC  
 AAATGTAGATCCTGAAATTATGGCTAATCTATCTGATCTATTAGATTGTCCTATG  
 ACAGTAGAAGATGTTATTGATCGTATGTTGATTAGCCTTAAACAAGTAGGTTTTA  
 ATGATCGTTTTACTGATGATTAGACCCGATTTAGTTGCAGAGTTTGATAGATTTCA  
 GGCTAAGTCTATGGCTAATAAGGGGATGGTGAGCAGAGATGAATAA

MRETYWKISSDCDKINLAEFSRERRSDLLEWQDLAQLPVSIFKDYVTDQAQDAEKPF  
 WTEVFLREINRSNQEILHIWPMTKTVILGMLDRELPHLELAKKEIISRGYEPVVRNFG  
 GLAVVADEGILNFSVIPDVFERKLSISDGYLIMVDFIRSIFSDFYQPIEHFEVETSYCP  
 GKFDLSINGKKFAGLAQRRIKNGIAVSIYLSVCGDQKGRSQMISDFYKIGLGDGSP  
 AYPNVDPEIMANLSDLLDCPMTVEDVIDRMLISLKQVGFNDRLLMIRPDLVAEFD  
 RFAKSMANKGMVSRDE\*

配列の説明:

A] 長さ: 921 bp - 307 aa (完全長遺伝子配列)

B] TTG 開始コドン又は明白なシグナルペプチドの上流に明らかなシャイン・ダルガノ配列は存在しない。実際の開始点はさらに 85 bp 下流 (TTG) に存在し得る。この開始点は典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。

ID-96

クローン RS-74

## 【図1】

TTGGAAGGTTTACTTATTGCATTGATTCCCATGTTTGCGTGGGAAAGTATTGGAT  
 TTGTTAGTAATAAAAATTGGAGGGCGTCCAAATCAACAAACATTTGGAATGACTTT  
 AGGAGCATTGCTATTTGCGATTATCGTATGGTTATTTAAACAGCCAGAGATGAC  
 TGCCTCATTGTGGATTTTTGGTATCTTAGGTGGTATCCTATGGTCAGTCGGCCA  
 AAATGGTCAATTTCAAGCAATGAAATATATGGGAGTCTCTGTTGCTAATCCACTG  
 TCAAGTGGTGCACAATTAGTAGGTGGAAGCCTAGTTGGTGTCTTTAGTCTTTTCAT  
 GAATGGACTAAGCCAATCCAATTTATTTTAGGATTGACAGCGTTGACATTATTAG  
 TTATCGGCTTCTATTTCTCAAGTAAACGTGATGTTTCAGAACAAGCTTTGGCAAC  
 ACATCAAGAGTTTTCAAAGGATTTGCTACAATTGCTTATTCAACTGTAGGTTAC  
 ATCTCGTACGCAGTTTTATTTAACAACATTATGAAGTTCGACGCTATGGCCGTCA  
 TTTTACCCTAGGCTGTTGGAATGTGTCTAGGTGCAATTTGTTTCATGAAGTTTCG  
 TGTTAACTTTGAGGCTGTTGTTGTTAAAAATATGATTACAGGTCTCATGTGGGGC  
 GTTGGTAATGTCTTCATGTTATTGGCAGCAGCTAAAGCAGGGCTAGCAATTGCT  
 TTTAGTTTTTCTCAACTTGGAGTAATTATCTCTATTATTGGTGGTATTTTATTTTA  
 GGTGAGACAAAACGAAGAAAGAGCAGAAATGGGTTGTCATGGGTATCCTTTG  
 TTTTGTATGGGTGCTATATTACTTGGTATTGTTAAATCTTATTA

MEGLLIALIPMFAWESIGFVSNKIGGRPNQQTFGMTLGALLFAIIVWLFKQPEMTASL  
 WIFILGGILWSVGQNGQFQAMKYMGSVANPLSSGAQLVGGSLV GALVFHEWTK  
 PIQFILGLTALLVIGFYFSSKRDVSEQALATHQEFKGFATIAYSTVGYISYAVLFN  
 NIMKFDAMAVILPMAVGMCLGAICFMKFRVNFVAVVKNMITGLMWGVGNVFMLLA  
 AAKAGLAIAFSFSQLGVIISIIGILFLGETKTKKEQKVVVMGILCFVMGAILLGIVKSY  
 \*

配列の説明:

A) 長さ: 867 bp - 289 aa (完全長遺伝子)

B) 可能なシャイン・ダルガノ配列が GTG 開始コドンの上流に存在し、明らかなシグナルペプチドは存在しない。

ID-97

クローン RS-75

ATGACAACCTTACTACGAAGCTATAAACTGGAACGAAATTGAAGATGTTATTGATA  
 AATCAACTTGGGAAAACTAACCGAACAATTTTGGCTCGATACACGTATCCCTTT  
 ATCAAATGACTTAGACGATTGGCGCAAACCTTCCGCTCAAGAAAAAGATCTTGT  
 TGGCAAGGTTTTTGGAGGCTTAACCCTACTTGATACCATGCAATCAGAAACTGG  
 TGTTGAAGCTATTCGTGOCGATGTTTCGCACGCCTCACGAAGAAGCTGTCTTAAA  
 CAATATTCAATTCATGGAATCTGTTACGCTAAATCTTATTCTTCAATTTTCTCAA  
 CTTTAAATACTAAATCAGAAATTGAAGAAATTTTCGAGTGGACTAATAATAATGA  
 GTTCCTTCAAGAAAAAGCACGTATTATCAATGACATTTATGCTAATGGAAATGCC  
 CTTCAAAAAAGGTGGCTTCCACCTACCTCGAAACTTTCTTTTTTATTCTGGCT  
 TTTTCACACCTCTTACTATTTGGGAAATAATAAGTTAGCAAATGTTGCTGAAAT  
 CATTAAATTAATTATTCGTGATGAATCTGTACATGGTACTTATATCGGTTACAAAT  
 TCCAGCTTGGTTTTAACGAATTACCAGAAGATGAGCAAGAGAATTTTCGTGATT  
 GGATGTATGACCTCCTTTATCAGCTGTATGAAAACGAAGAAAAATACACCAAGA  
 CACTTTATGATGGCGTAGGATGGACTGAAGAAGTTATGACCTTTTACGCTACA  
 ATGCTAATAAAGCTCTTATGAATTTAGGACAAGATCCTTTATTCCCAGATACAGC  
 AAATGATGTCAACCCAATTGTTATGAATGGTATTTCAACAGGAACATCAAACCAT  
 GACTTCTTCTCAAGTAGGTAATGGTTACCTACTTGGTAGCGTTGAAGCTATG  
 CATGATGATGACTATAACTATGGATTATAA

## 【図1】

MTTYEAINWNEIEDVIDKSTWEKLTEQFWLDTRIPLSNDLDDWRKLSAQEKDLVG  
 KVFGGLTLLDTMQSETGVEAIRADV RTPHEEAVLNNIQFMESVHAKSYSSIFSTLNT  
 KSEIEEFWNTNNEFLQEKARIINDIYANGNALQKKVASTYLETFLFYSGFFTPLYYL  
 GNNKLANVAEIIKLIIRDESVHGTYIGYKFQLGFNELPEDEQENFRDWMYDLLYQLY  
 ENEEKYTKTLYDGVGWTEEVMTFLRYNANKALMNLGQDPLFPDTANDVNPVIMNG  
 ISTGTSNHDFFSQVGNGLYLLGSVEAMHDDDYNYGL\*

配列の説明:

- A] 長さ:960 bp - 320 aa (完全長遺伝子)  
 B] シャイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在し、シグナルペプチドは存在しない。

ID-98

クローン RS-77 (部分的配列)

ATGAATTGGTCACGTATCTGGGAACTCGTAAAAATTAATATCCTTTATTCAAACC  
 CTCAGACTCTATCGGCACTAAGAAAAAGCAAGAAAAGCATCCTAAAAAGAAT  
 TTTCAGCTTATAAATCCATGTTTAGAAATCAGTTATTTTCAGATTTTGCTCTTTTCA  
 ATAATTTATGTATTTCTCTTTGTATCACTTGATTTTAAAGAATATCCGGGCTATTT  
 CACGTTCTACATTGGTATCTTTACACTAGTATCCATTATCTACTCTTTTATTGCGA  
 TGTACAGTGTTTTCTATGAGAGTGACGATGTAA

MNWSRIWELVKINILYSNPQTL SALRKKQE KHPKKEFSAYKSMFRNQLFQILLFSIY  
 VFLFVSLDFKEYPGYFTFYIGIFTLVSIIFSFIAMYSVFYESDDV

配列の説明:

- A] 長さ:311 bp - 103 aa (部分的配列)  
 B] シャイン・ダルガノ配列 ATG 開始コドンはの上流に存在し、明らかなシグナルペプチドは N-末端に存在しない。

ID-99

クローン RS-78 (部分的配列)

TAATCTTTTAGTCAACGGAGCAACAGGAAAATTGCAGGCTATGCGACAGATATT  
 CCACCACATAATTTAGCAGAAGTCATTGATGCTGTCGTGTACATGATTGATCAC  
 CCTAAAGCTAAATTAGATAAATTAATGGAATTTCTACCTGGTCCAGATTTTCCAA  
 CTGGCGCTATCATTCAAGGAAAAGATGAAATTCGTAAGGCATATGAGACTGGTA  
 AGGGGAGAGTAGCGGTTTCGCTCGCGAACTGCTATTGAAACCTTAAAAGGTGGT  
 AAGAAACAAATTATTGTTACTGAAATTCCTTATGAAGTTAAT

SFSQRSNRKIAGYATDIPPHNLAVIDAVVYMIDHPKAKLDKLMFLPGPDFPTGAI  
 QGKDEIRKAYETGKGRVAVRSRTAIETLKGGKKQIIVTEIPYEVN

配列の説明:

- A] 長さ:312 bp - 104 aa (部分的配列)  
 B] 明らかなシャイン・ダルガノ配列およびシグナルペプチドは存在しない。orf の N- および C- 末端の双方はいまだに解明されていない。

## 【図1】

ID-100  
クローン RS-79

ATGGGACGTAAGTGGGCCAATATTGTTGCCAAAAAGACTGCTAAAGATGGTGCT  
AACTCAAAAAGTATACGCTAAATTCGGTGTTGAAATATATGTTGCTGCAAAGCAAG  
GTGAACCCAGACCCCGAGTCAAACCTCAGCTCTAAAATTCGTTTTGGACCGTGCTA  
AGCAAGCACAAGTTCCAAAGCATGTTATTGATAAAGCGATTGATAAAGCCAAAG  
GAAACACAGATGAAACTTTTCGTAGAGGGACGCTATGAAGGTTTTGGTCCAAATG  
GTTCAATGATTATTGTGGATACTTTGACATCAAATGTTAACCGTACGGCAGCAAA  
TGTACGTAAGTACTGCTTACGGTAAGAACGGTGGCAATATGGGAGCTTCAGGATCGG  
TATCCTACTTATTTGATAAAAAAGGTGTCATCGTTTTTGGTGGTATGATGCTGA  
CACTGTCTTCGAACAATTACTTGAAGCGGATGTAGACGTAGATGATGTTGAAGC  
AGAAGAGGGGAACAATAACAGTTTATACCGCCCCAACAGATCTTCATAAAGGTAT  
CCAAGCACTTCGCGATAATGGTGTAGAAGAATTCCAAGTACTGAACTTGAAT  
GATTCCTCAATCAGAAAGTAGTATTGGAAGGTGATGACCTTGAACTTTGAAA  
GCTT

MGRKWANIVAKKTAKDGANSKVYAKFGVEIYVAAKQGEPPDPESENSALKFVLDRAK  
QAQVPKHVIDKAIDKAKGNTDEFVEGRYEGFGPNGSMIIVDTLTSNVNRTAANVR  
TAYGKNGGNMGASGSVSYLFDKKGIVVAFAGDDADTVFEQLLEADVDDVEAEEG  
TITVYAPTDLHKGIQALRDNGVEEFQVTELEMIPQSEVVLEGDDLETFEKL

配列の説明:

- A] 長さ: 654 bp - 218 aa (部分的配列)  
B] 可能なシャイン・ダルガノ配列が ATG 開始の上流に存在し、明らかなシグナルペプチドは存在しない。

ID-101  
クローン RS-80

TTGGAGAAATATTTGAAGAACCCGATTACATGGATTGGATTAGTTCTTGTGGTTA  
CGTGGTTTTTAACTAAAAGTAGTGAATTTTTGATTTTTGGTGTGTGTGCTTGT  
GTTAGTATTTGCTAGTCAAAGTGAT

MEKYLKNPITWIGLVLVVWFLTKSSEFLIFGVCVLLLVFASQSD

配列の説明:

- A] 長さ: 135 bp - 45 aa (部分的配列)  
B] シャイン・ダルガノ配列が TTG 開始コドンの上流に存在し、可能なシグナルペプチドは N-末端に明らかに存在する。

ID-102  
クローン RS-81

ATGACACAATCAGATGCATATCTCTCGTTGAACGCGAAGACACGCTTTAGAGAT  
CGCACAGGTAATTATCATTTTACTTCGGATAAAGAGGCTGTTGAACAATATATGA  
TAGAACATGTTGAACCTAATACGATGGTGTTCACATCACTAATTGAAAAGCTAGA

## 【図1】

TTATTTGGTTTCTAATAACTACTATGAATCGGACCTTCTAAAACAATATAACCTTG  
 AGTTTATTTGCCAAATTTTTGAGCATGCATACGCTAAGAAATTTGCTTTTCTAAAT  
 TTTATGGGGGCTTTAAAATTTTATAATGCTTATGCTCTTAAT

MTQSDAYLSLNAKTRFRDRTGNYHFTSDKEAVEQYMIEHVEPNTMVFTSLIEKLDY  
 LVSNNYYESDLLKQYNLEFICQIFEHAYAKKFAFLNFMGALKFYNAALN

配列の説明:

A) 長さ:318 bp - 106 aa (部分的配列)

B) シヤイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在し、明らかなシグナルペプチドは存在しない。

ID-103

クローン 2-11A

ATGGTATTTATGGCAAATAAGAAAAAACAAAAGGAAAGAAAACCAGAAGACCT  
 ACTAAGGCAGAAATAGAGCGTCAAAGAGCTATTCAAAGGATGATTACTGCTCTT  
 GTTTTAACAAATTATTCTCTTTGGTATTATCAGATTAGGTATTTTTGGTATTAC  
 AGTCTATAACGTCATCCGTTTTATGGTAGGTAGCTTGGCTTACTTATTTATTGCG  
 GCAACTTTAATCTACCTTTATTTCTTTAAATGGTTGCGAAAGAAAGATAGCTTAG  
 TAGCAGGTTTTTTGATAGCTTCTTTAGGATTATTGATTGAGTGGCATGCTTACCT  
 TTTCTCAATGCCTATTTTAAAAGATAAAGAAAATTTGCGTTCAACTGCTCGATTA  
 ATTGTGTCTGATTTAATGCAATTTAAAATCACTGTTTTTCCCGGTGGAGGTATGT  
 TGGGTGCTTTGATTTACAAGCCAATTGCTTTTCTCTTTTCTAATATTGGTGCCTA  
 TATGATTGGTGTCTCTTCATCATTGGGTCTCTTTTAAATGAGTTCTCTGGAA  
 GTTTATGACATCGTCGAATTTATTAGAGCTTTTAAAATAAAGTGGCAGAGAAGC  
 ACGAGCAAATAAAAAGGAGCGTTTTGCTAAGCGAGAGATGAAAAAGCAATCG  
 CTGAACAAGAGCGCATAGAGCGTCAAAGAGCTGAAGAAGAAGCTTATTTAGCTT  
 CGGTTAATGTAGACCCTGAAACGGGTGAGATTCTAGAGGATCAAGCTGAGGAC  
 AATTTGGATGATGCGCTACCACCTGAGGTAAAGTGAACATCAACTCCGGTATTT  
 GAGCCAGAGATCCTTGCTTATGAGACATCGCCTCAAATGATCCTTTACCAGTA  
 GAGCCGACAATTTATTTAGAAGACTATGATTCGCCGATTCTAATATGAGAGAA  
 AATGATGAGGAAATGGTTTATGATTTAGATGATGATGTAGATGATAGTATAG  
 AAAATGTCGACTTTACACCTAAAACGCACTGGTTTATAAATTACCAACGATAGA  
 TTTATTTGCAACCAGATAAGCCTAAAATCAATCCAAAGAAAAGGATTTAGTCCGA  
 AAGAATATCAGAGTTTTAGAAGAAACATTTAGAAGTTTTGGTATCGATGTAAG  
 TAGAACGTGCTGAAATTGGACCATCAGTTACTAAATATGAAATTAACCAGCAGT  
 TGGAGTTTCGTGTGAATCGTATTTCAAATCTATCTGACGACCTAGCTCTTGCTCTT  
 GCAGCAAAGATGTGCGTATAGAAGCAACCAATTCCTGGAAAATCATTAATAGGT  
 ATTGAAGTTCCCTAACTCAGAAATTGCAACGGTTTTCTTTCCGCGAACTTTGGGAA  
 CAATCTGATGCCAATCCTGAAAACCTTTAGAAGTACCACTAGGAAAAGCTGTT  
 AACGGCAATGCTCGCAGTTTTAACTTAGCTAGAATGCCGCATCTTTGGTAGCT  
 GGTCAACTGGTTCAGGTAATCTGTGGCAGTTAATGGAATTTTCAAGTATTT  
 TGATGAAGGCACGTCCAGATCAAGTTAAGTTTATGATGATTGATCCCAAATGG  
 TTGAATTATCTGTTTATAATGATATCCACATTTATTAATCCCTGTTGTAACCAAT  
 CCGCGTAAAGCAAGTAAGGCACTCCAAAAGTTGTTGATGAAATGGAAAATCGA  
 TACGAGTTATTTAGCAAATTTGGTGTGCGTAATATAGCAGTTATAATACAAAG  
 TTGAAGAGTTAATGCTTCTCTGAGCAAACAAATGCCTTTGCCTTTAATCGT  
 TGTCATTGTAGATGAATTGGCTGACTTGATGATGGTTGCTAGTAAAGAAGTTGA  
 AGATGCTATTATTCGTTTGGGGCAAAGCACGTGCTGCAGGTATCCATATGAT

## 【図1】

TCTTGCAACTCAACGTCCATCCGTAGATGTTATTTCTGGTTTGATTAAGCAAAT  
 GTTCCGTCGCGTATTGCATTTGCTGTTTCAAGTGGTACTGATAGCCGTACGATC  
 CTTGATGAAAATGGTGTCTGAAAAGCTCTTGGGACGGGGTGACATGCTCTTTAAG  
 CCTATTGATGAGAATCATCCAGTACGACTACAAGGTTCCCTTTATTTAGATGATG  
 ATGTTGAAAGGATCGTTGGTTTTATCAAAGACCAAGCCGAGGCTGACTATGATG  
 ATGCCTTTGATCCTGGAGAAGTATCTGAAACAGATAACGGCTCTGGTGGTGGC  
 GGCGGAGTACCTGAAAGTGATCCTCTTTTTGAAGAAGCCAAGGGACTCGTTTTA  
 GAGACGCAAAAAGCAAGTGCCTCAATGATTCAACGCCGATTGTCTGTTGGTTTC  
 AATAGAGCAACAAGACTAATGGAAGAATTAGAAGCAGCGGGGGTTATTGGTCC  
 AGCAGAAGGAACCAAGCCACGAAAAGTTTTAATGACTCCAACCTCCGAGTGAATA  
 A

MVFMANKKKTGKKTTRRPTKAEIERQRAIQRMITALVLTIIFFGIIRLGFITVYNVIR  
 FMVGLSLAYLFIAATLIYLYFFKWLRRKDSLVAFLIASLGLLIEWHAYLFSMPILKDKEI  
 LRSTARLIVSDLMQFKITVFAGGGMLGALIYKPIAFLFSNIGAYMIGVLFILGLFLMSS  
 LEVYDIVEFIRAFKNKVAEKHEQNKKERFAKREMKKAIAEQERIERQKAEEEAYLAS  
 VNVDPETGEILEDQAEDNLDDALPPEVSETSTPVFEPEILAYETSPQNDPLPVEPTIY  
 LEDYDSPIPNMRENDEEMVYDLDDVDSDIENVDFTPKTTLVYKLPTIDLFAPDKP  
 KNQSKEKDLVRKNIRVLEETFRSFGIDVKVERAEIGPSVTKYEIKPAVGVRVNRISNL  
 SDDLALALAAKDVRIEAPIPGKSLIGIEVPNSEIATVSFRELWEQSDANPENLLEVP  
 GKAVNGNARSFNLARMPHLLVAGSTSGKSVAVNGIISSILMKARPDQVKFMMIDP  
 KMVELSVYNDIPHLLIPVVTNPRKASKALQKVVDENRYELFSKIGVRNIAGYNTK  
 VEEFNASSEQKQMPPLIVVIVDELADLMMVASKEVEDAIIRLGQKARAAGIHMILAT  
 QRPSVDVISGLIKANVPSRIAFVSSGTDSTRITLDENGAEKLLGRGDMLFKPIDENHP  
 VRLQGSFISDDDVERIVGFIKDOAEADYDDAFDPGEVSETDNGSGGGGGVPESDP  
 LFEEAKGLVLETQKASASMIQRRLSVGFNRATRLMEELEAAGVIGPAEGTKPRKVL  
 MTPTPSE\*

配列の説明:

A) 長さ:2451 bp - 817 aa (完全長遺伝子)

B) シャイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在し、潜在的なシグナルペプチドを有する。

ID-104

クローン 2-18/22b

ATGTCACAAGAGCAAGGAAAAATTTATATTGTAGAAGATGATATGACGATTGTGT  
 CACTTTTAAAAGATCATTTATCAGCTAGCTATCATGTCTCTAGTGTCAGCAATTTT  
 CGTGATGTGAAACAAGAAATTATCGCATTTCAACCCGATTTGATACTAATGGATA  
 TTACGTTACCCTATTTTAAATGGTTTTTACTGGACTGCAGAATTGCGTAAGTTTTT  
 ACAATTCCTATTATTTTCAATTCATCTAGTAATGATGAAATGGATATGGTTATGGC  
 ATTAATATGGGGGGTGATGACTTTATTTCAAACCACTTCTCTCTAGCTGTATTA  
 GATGCTAAGCTAACTGCTATTTTAAAGGAGAAGTCAACAATTTATCCAACAGGAAT  
 TAACTTTTGGGGGATTTACGTTGACAAGAGAAGGGTTATTGTCTAGCCAAGATA  
 AAGAGGTTATTTTATCGCCAACAGAAAATAAAATCCTATCTATCTTGCTCATGCA  
 TCCTAAACAAGTAGTCTCAAAGAGTCTCTATTAGAGAACTTTGGGAAAATGAT  
 AGTTTTATTGATCAAATACACTTAATGTTAATATGACACGCTTACGTAAAAAAT  
 TGCCCAATAGGTTTTGATTACATTCATACAGTGAGAGGAGTTGGGTATTTACTA  
 CAATGA

## 【図1】

MSQEQGKIYIVEDDMTIVSLLKDHLASAYHVSSVSNFRDVKQEIIAFQPDILMDITLP  
 YFNGFYWTAELRKFLTIPIIFISSNDEMMDVMALNMGDDFISKPFSLAVLDAKLTA  
 ILRRSQQFIQQELTFGGFTLTREGLSSQDKEVILSPTENKILSILLMHPKQVVSKE  
 LEKLWENDSFIDQNTLNVNMTRLRKKIVPIGFDYIHTVRGVGYLLQ\*

配列の説明:

A] 長さ: 669 bp - 223 aa (完全長遺伝子配列)

B] シャイン・ダルガノ配列が GTG 開始コドンの上流に存在する。LEEP では直接同定されなかった。この遺伝子は、WO 00/06736 に記載の遺伝子 ID-10 の上流で見出された。

ID-105

クローン 2-20

ATGTATCAAACCTCAGACAAATAAGGAAAAATTTGTTTTATTTTTGAAATTATTTAT  
 CCCAGTATTGATTTATCAATTTGCTAATTTTTAGCTACTTTTATTGATTTCGGTTA  
 TGACTGGACAGTATAGTCAGCTACATTTGGCAGGTGTGTCAACTGCTAGTAATT  
 TATGGACTCCGTTTTTCGCTTTATTAGTAGGTATGATTTTCAGCATTAGTACCAGT  
 AGTTGGTCAACATTTGGGTAGAGGAAATAAAGAACAATTCGCACAGAATTTCA  
 TCAATTTCTATATTTAGGTTTGATACTGTCCTTAATATTATTTTTAATCATGCAATT  
 TATTGCTCAACCTGTCTTGGGGAGTTTGGGTTTAGAAGATGAAGTTCTAGCAGT  
 TGGTCGTGGTTATTTAAATTATATGTTGATTGGAATCATGCCGCTGGTGTGTTT  
 AGCATTTCGCGTTCAATCTTTGATGCATTGGGGTTAACAAGGTTATCTATGTATC  
 TGATGCTTTTAATTCACCCTTTAATTCATTTTTAATTATATGCTTATCTACGGTA  
 AATTTGGTATGCCTAGACTAGGAGGTGCGGGGGCAGGTCTTGGAACTTCTTTA  
 ACTTATTGGGCTATTTTTATTGGTATTATTATTGTGATGTCACCTTCATCCTCAAAT  
 TAAAACATATCATATATGGACTCTGGAAAGAATAAAAGCTCCTTTGATTATTGAA  
 GATATTCGATTGGGATTACCGATTGGTTTACAAATTTTTGCAGAAGTTGCAATTT  
 TTGCAGTAGTAGGCTTATTCATGGCAAATTTTTCTTCAATCATTATTGCAGCACA  
 TCAGGCTGCTATGAATTTTTCATCATTAAATGTATGCATTTCTTTAAGTATTTCCA  
 CTGCTCTAGCTATTACAATATCGTTTGAAGTAGGGGCAGAGCGCTTTCAGGACG  
 CAACCATTATAGTAGGATAGGACGCTAACAGCGGTAGGGATTACATCAGGAA  
 CCTTACTATTTTTATTCTATTTCTGCGTGAAGAATGTAGCAGCAATGTATAATAGTGC  
 CCCTCACTTTGTGCGCTATTACAGCTCAATTCCTAACTTATAGTCTCTTTTTCCAG  
 TTTGCAGATGCTTATGCAGCTCCTGTACAGGGGATTTTACGAGGCTATAAGGAT  
 ACAACAAAACCATTTATGATCGGTGCGGGCTCTTATTGGTTATGTGCTTTGCCA  
 TTAGCGGTTATCTTAGAAAAAATAGCCAGTTAGGTCCGTTTGCCTATTGGATTG  
 GTTTAATCACAGGTATTTTTGTTTGTGGTCTATTTCTAAACCAACGTCTGCAAAA  
 GATTAAGAAGTTGTATTATTA

MYQTQTNKEKFVLFKLFIPVLIYQFANFSATFIDSVMTGQYSQLHLAGVSTASNLW  
 TPFALLVGMISALVPVVGQHLGRGNKEQIRTEFHQFLYLGLLILSLIFLIMQFIAQPV  
 LGSLGLEDEVLA VGRGYLNYMLIGIMPLVLF SICSFFDALGLTRLSMYLMLLILPFN  
 SFFNYMLIYGKFGMPRLGGAGAGLGTSLTYWAIFIGIIIVMSLHPQIKTYHIWTLERIK  
 APLIIEDIRLGLPIGLQIFA EVAIFAVVGLFMAKFSSIIIAHQAMNFSSLMYAFPLSIS  
 TALAITISFEVGAERFQDATTYSRIGRLTAVGITSGTLLFLFLFRENVAAMYNSAPHF  
 VAITAQFLTYSLFFQFADAYAAPVQGILRQYKDTTKPFMIGAGSYWLCALPLAVILEK  
 NSQLGPFAYWIGLITGIFVCGFLNQRQLQKIKKLYY\*

配列の説明:

A] 長さ: 1341 bp - 447 aa (完全長遺伝子)

## 【図1】

B) シャイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在し、潜在的なシグナルペプチド配列が存在する。

ID-106  
クローン 2-4A

TTGCTAGTTTCTTCTAGTTTCTTGTTCAATTTTTCTTGTCATTTTCGTCGTTGTC  
TTCATCAACACGAAATAAGTCTATAAACTTATCAAATAATTTTCATAGACTTATTAT  
ATCAATTTTCAATAAAATGCTATAATAAAACCATGTCATTTTCATTAATAAATTAGA  
AATCCATACGGTGAACATACCGTTAAAGAACTCCTTGAAGATTATTTTTTGATTC  
CACGTAAGATTAGACATTTTTTGGCGTGTAAACAAACATGTACTTATAACAATGA  
ATTCATTAATTGGCAAACCTGTCGTCCAAGAAAACGATACTATTACCTTAATCTTT  
GATGATGAGGATTACCCTACTAAAAAATTCCTCTGGGCAGAGCAGAGCTTATT  
GATTGTCTTTATGAGGATGAACATCTTATTATCGTTAATAAACCTGAAGGTATGA  
AAACTCACGGTAACCAACCAATGAAATAGCACTGTAAATCATGTATCTGCCTA  
TTCTGGACAAACATGCTATGTTGTTTCATCGCCTAGATATGGAGACCAGTGGAGC  
TGTTTTATTTGCTAAAAATCCATTTATACTTCCCCTTATCAATCAACGCTTAGAAC  
GAAAAGAAATTTGGCGTGAATATTGGGCTTTAGTTGAAGGAAAATTTTACCTAA  
GCATCAAGTTTTGAGAGACAAAATTGGACGGAACCGTCATGACAGACGTAAC  
GAATCATTGATTCTAAAAACGGTCAACATGCTATGACAATCATTGACGTTTTGAA  
GTATATCCAAAATAGTAGTCTCATAAAATGCCGACTGGAAACCGGAAGAACCCA  
TCAAATTCGCATTCACTTATCTCATCACGGACATCCTTTAATAGGAGATCCCCTC  
TACAACCCTTCTTCTAATAATGAAAGGTTAATGCTACACGCTCACCGATTGACTC  
TATCCCATCCATTAACCTTGCGAAACTATTAGCGTAGAGGCCCTTCATCTACTTT  
CGAGAAGGTTTTAAACAATTATAAAAAAGGAGTTGGATAA

MLVSSLVSCSFFLVISSLSSSTRNKSIINLSNNFIDLLYQFSIKCYNKTMSFSLKIRNPY  
GEHTVKELLEDYFLIPRKIRHFLRVKHHVLINNEFINWQTVVQENDTITLIFDDEDYPT  
KKIPLGRAELIDCLYEDEHLIIVNKPEGMKTHGNQPNEIALLNHVSAYSQGQTCYVVH  
RLDMETSGAVLFAKNPFILPLINQRLERKEIWREYWALVEGKFSPKHQVLRDKIGRN  
RHDRRKRIIDSKNGQHAMIIDVLKYIQNSSLIKCRLETGRTHQIRIHLSHHGHPLIGD  
PLYNPSSNNERLMLHAHRLTLSHPLTCTISVEAPSSTFEKVLNNYKKGVG\*

配列の説明:

- A) 長さ: 1029 bp - 343 aa (完全長遺伝子配列)  
B) 推定 TTG 開始コドンの上流に明らかなシャイン・ダルガノ配列が存在しない。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-107  
クローン 2-54

GAACTAAATGCAACTCAACCTAATAATAGAACTACCTATATTATACCCGAAAGCA  
GTCATTCCATTGCAGAACAACAGAGATTCCCTGATAGAATCAAAGGGTTCTTCGG  
TTGCATTACTTAATAGCGATGAATTTAGAAAGACAGCGGGAGAGGATAGAGGTT  
TTGAAAGGGATAAGTTGAGGTCTTTGGATATCATTCTAAGGGAGATTTATCGA  
CAAGTAATGTCATAGGTAATACGGACATTGCTAGTCAGATATCGTTGGGCTTTA  
AAAAGAATGCGATGCAGGAACACCTTACTAAAACATTCTCTCAAAGGATG  
GAAAGTTATCGTCTGTTATAGAGGGGATGCTTGCTATTGGCAAAGAGAAAGTAG  
AGAAAGAAATAAATATAGTGGTAATTTATGGCAAAAATTAAGGCTAAGGCACA  
CTGCCTTGTTTGCTGTGTTGATAATTTGAATTTGAAGATATAAAATCTTATTTTC

## 【図1】

AATATTATTGTCATCTAAACCATCAGCTCAAATTACCTAAAGGTGCTATACTTTCT  
 GCTAAAACAGAAGTATATAGGGGAGGAGATTTTGGGAGAAAAATAAAGATAAT  
 GTGTTTGGTTACCGTATCCCCTCATTATTGAAAACCCAAAAAGGAACCTTTACTTG  
 CGGGAGCTGATGAAAGAATTGAGCAAGCTTGTGATTGGGGAAACATAGGAATG  
 GTTATTCCCGTAGTGAGGATGATGGTGTCACTTGGGGAAAAAGAGAACTATT  
 GTCAATCTCCGTAATAACCCTAGAGTTCGCTAGTTACTAGTGGTGACTATAGT  
 GGCTCACCTATTAATATGGATATGGCATTAGTTCAAGATACTAGCTCCAAGACG  
 AAACGTATTTTTTCAATATATGATATGTTTCCAGAAGGAAGAGGCGTTATTAGTA  
 TTGCTAACACACCTGAAAAAGAATATACCCAAATCGGAGGACAGTCTTATCTTAA  
 TTTATATAATAATGGAAAGAAATCGAAGGTTTTACTATCCGTGACAAAGGTATT  
 GTATATAATTTAAAGGGAAAAAGACTGATTATCATGTTATAACAGAACTACTA  
 AAAGTGACCATTCAAATCTAGGGGATTTTTATAAGGGAAAAACAGCTACTTGGAA  
 ATATATATTTTACAAAACATAAAACGTCACCATTTGTTTTAGCAAATCAAGCTAT  
 GTGTGGATGTCATATAGCGATGATGATGGTAGGACATGGTCATCACCTAGAGAT  
 ATAACAGCAAGTCTTCGTCAGAAAGGCATGAAATTTTTGGGAATAGGACCTGGA  
 AAAGGTATAGTTTTAAATGGGGGCCACACGCTGGTCGTATTATTATTCTGCTGCC  
 TATTCTACGAATTGGAAATCTCATCTAAGAGGTTCACAATCTTCACGCCTAATTT  
 ATTCAGACGACCATGGAAAAACGTGGCATACTGGAAAAGCAGTTAATGATAACC  
 GTATACTTTCTAATGGTGAAAAAATTCACTCCTTAACAATGGATAATAAAAAAGA  
 ACAAATACAGAATCCGTACCCGTTCAATTGAAAAATGGGGACATTAAGTTATTT  
 ATGAGGAATCTAACTGGTAACCTAGAAGTAGCCACAAGTAAAGACGGCGGGGA  
 GACTTGGCAAACCATGTTAAACGATATAAGGAAATTCATGATGCTTACGTCCA  
 ACTATCAGCTATTCGCTTTGAGCATGACAAAAAAGAGTATTTTTATTAGTGAAT  
 GCTAATGGGCCAGGGAAGAAGTGCCAAGATGGATATGCACGTCTAGCGCAAGT  
 TAATCGAAATGGTAGTTTTAAGTGGTTATATCACCATCACATTCAAGATGGTTCG  
 TTTGCTTACAACCTCTGTTCAACAACCTAATAATGATCAATTTGGTGTCTTTATGA  
 ACATAGAGAAAAACATCAAAATAGTTTTACTTTAAATTACAAAGTTTTTAATTGGA  
 GTTTTCTTAGTCAAAATACAGAGAAGCAAGGCACTTTATGGGAGAAAAATGGCAG  
 CAAATTGGCATGTTTTGTTAAATTTTATTTATGA

ELNATQPNNRTTYIIPESHSHIAEQQRFLIESKGSVALLNSDEFKRTAGEDRGFER  
 DKLRSLDIIPKGDLDSTSNVIGNTDIASQISLGFKKNAMQEHLTKTFSQKDGKLLSVI  
 EGMLAIGKEKVEKEIKYSGNLWQKLKAKAHCLVCCVDNLFEDIKSYFYCHLNH  
 QLKLPKGAILSaktevyrGGDFGRKNKDNVFGYRIPSLKTKQKGTLLAGADERIEQA  
 CDWGNIGMVIRRSDDGVTWVKRETIVNLRNNPRVPLVTSGDYSGSPINMDMALV  
 QDTSSKTKRIFSIYDMFPEGRGVIASANTPEKEYTQIGGQSYLNLYNNGKSKVFTIR  
 DKGIVYNFKGKTDYHVITETTKSDHSNLGDIYKQKQLLGNIFYTKHKTSPFRLAKSS  
 YVWMSYSDDDGRTWSSPRDITASLRQKGMKFLGIGPGKGIVLKWGPHAGRIIPAY  
 STNWKSHLRGSQSSRLIYSDDHGKTWHTGKAVNDNRILSNGEKIHSLTMDNKKEQ  
 NTEVSPVQLKNGDIKLFMRNLTGNLEVATSKDGGETWQNHVKRYKEIHDAYVQLS  
 AIRFEHDKKEYILLVNANGPGKCKQDGYARLAQVNRNGSFKWLYHHHIQDGSFAY  
 NSVQQLNNDQFGVLYEHREKHQNSFTLNYKVFNWSFLSQNTEKQGTLWEKMAAN  
 WHVLFKLYL\*

配列の説明:

- A] 長さ:2052 bp - 684 aa (部分的遺伝子配列)  
 B] N-末端はいまだに決定されていない。

ID-108  
 クローン 2-61

## 【図1】

ATGCCTAAATTAATCGTATCTTTCCTCTGCATTTTATTATCCCTGACTTGTGTAAA  
 CTCTGTGCAAGCTGAAGAACATAAAGATATTATGCAAATTACCCGAGAAGCCGG  
 ATATGATGTTAAAGATATTAATAAACCTAAAGCGTCTATCGTTATTGACAATAAA  
 GGTCATATTTTGTGGGAAGATAACGCCGATTTAGAACGTGATCCCGCTAGCATG  
 TCTAAAATGTTTACTTTATATTTACTATTTGAAGACTTAGCTAAAGGAAAAACAAA  
 CCTCAACACCACAGTGAAGTCAACAGAAACAGACCAAGCCATAAGTAAGATTTA  
 TGAAATTAGTAATAACAATATTCATGCTGGGGTTGCTTATCCTATTCTGTAAGT  
 ATTACTATGACGGCTGTCCCGTCACTAATGTAGCAACTATTATGATTGCTAACC  
 ACTTATCACAAAACAATCCTGACGCCCTTTATTAACGAATCAATGAAACCCGCCAA  
 GAAACTCGGTATGACAAAACTCACTTTTATAACCCAGTGGGGCGGTAGCGA  
 GTGCTTTTAAATGGACTTTACTCCCCAAAAGAATACGATAACAATGCTACTAACGT  
 TACGACTGCACGTGATCTATCAATTTTAAACCTATCATTTCTTAAAAAATACCCT  
 GATATACTGAAGTATAACAAATATCCTGAAGTCAAGGCCATGGTCCGAACTCCT  
 TATGAAGAAACATTTACAACCTTATAACTACTCTACCCCGGCGCTAAATTTGGAT  
 TAGAAGGAGTAGATGGCTTAAAAACTGGTTCTAGCCCTAGCGCTGCTTTTAAATG  
 CCTTAGTTACAGCTAAACGCCAGAATACTCGCTTGATAACTGTGGTTTTAGGAG  
 TTGGCGATTGGTCAGACCAAGACGGAGAGTACTATCGTCATCCGTTTGTCAAC  
 GCTCTTGTAGAAAAAGGTTTTAAAGACGCTAAAAATATTTCTTCTAAACTCCTG  
 TATTAAGCCGTTAAACCTAAAAAGAAGTTACTAAAACCAAACCTAAATCTATT  
 CAAGAACAGCCTCAAACAAAAGAAGTGGTGGACAAAACAGATCAATTTATC  
 CAATCACATTTTGTATCTATTTTAAATGTTCTGGGCACCATCGCTAGCCTTGTG  
 TTTTAGCTGGGATAGTATTACTTATAAAGCGCTCTAGATAA

MPKLIVSFLCILLSLTCVNSVQAEHKDIMQITREAGYDVKDINKPKASIVIDNKGHIL  
 WEDNADLERDPASMSKMFTLYLLFEDLAKGKTNLNTTVTATETDQAISKIYEISNNNI  
 HAGVAYPIRELITMTAVPSSNVATIMIANKHLSQNNPDAFIKRINETAKKLGMTKTHFY  
 NPSGAVASAFNGLYSPKEYDNNATNVTARDLSILTYHFLKYPDILNYTKYPEVKA  
 MVGTPYEETFTTYNYSTPGAKFGLGVGLKGTSSPSAAFNALVTAKRONTRLITV  
 VLGVDWSDQDGEYYRHPFVNALVEKGFKDAKNISSKTPVLKAVKPKKEVTKTKT  
 KSIQEQPQTKEQWWTKTDQFIQSHFVSILIVLGTIASLCLLAGIVLLIKRSR\*

配列の説明:

A) 長さ: 1188 bp - 396 aa (完全長遺伝子)

B) シヤイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在し、潜在的なシグナルペプチドを有する。

ID-109

クローン 45

ATGACTGAAAAATATTATAATTGGGCAACGCTTGAACCCGGCGTTATTGCCAAC  
 GAATTAGCCCAAGCACTGGAAGCACGTGGACAAAAATTATATTCTGTAGCTAAT  
 AGAACTTACGACAAAGGACTTGAATTTGCTAACAAATATGGTATCCAAAAAGTTT  
 ATGATCACATAGATCAAGTATTTGAAGACCCTGAAGTGGATATCATTATATCTC  
 TACTCCCCACAATACTCACATCTCATTTTTACGAAAGGCTTTAGCAAATGGTAAG  
 CACGTTCTTTGCGAAAAATCTATTACTTTAAATAGTACTGAGCTTAAAGAAGCCA  
 TAGATTTAGCCGAACTAACCATGTTGTCTTAGCTGAAGCCATGACTATTTTTCA  
 TATGCCAATTTACCGCCAATTAACAAATAGTTGATAGTGGAAAAATTAGGACCC  
 TTAACAAATGATTCAAATGAATTTGGAAGTTATAAAGAATATGATATGACTAACC  
 GTTTTTTCAGTCGTGACCTAGCAGGCGGTGCTTTGCTGGACATTGGTGTATG  
 CACTTTCTTGTATTCGCTGGTTTATGTCAGAAGCACCTCACAACATTACCTCTCA  
 AGTTACATTTGCACCAACAGGGGTTGATGAACAAGTTGGTATCCTACTAACCAA

## 【図1】

CCCAGCAAATGAGATGGCGACTGTCAGCCTTAGTTTACATGCAAAAACAACCTAA  
 ACGAGCAACTATCGCTTACGATAAAGGCTACATTGAACCTTTTTGAATATCCGCG  
 AGGACAAAAGGCAGTTATTACTTATACTGAGGATGGGCATCAAGATATTATCGA  
 AGCTGGCAAAACTGAAAATGCTCTCCAATATGAGGTAGCTGATATGGAAGAAGC  
 CATTTCAGGAAAACTAACCACATGTACTTAACTATAACCAAAGATGTTATGGAT  
 ATCATGACACAGCTACGTCAAGAATGGGGATTTACCTACCCAGAAGAAGAAAA  
 TGA

MTEKYYNWATLGTGVIANELAQALEARGQKLYSVANRTYDKGLEFANKYGIQKVYD  
 HIDQVFEDPEVDIIYISTPHNTHISFLRKALANGKHVLCESITLNSTELKEAIDLAETN  
 HVVLAEAMTIFHMPYRQLKTLVDSGKLGPLKMIQMNFGSYKEYDMTNRFFSRDLA  
 GGALLDIGVYALSCIRWFMSEAPHNITSQVTFAPTGVDEQVGILLTNPANEMATVSL  
 SLHAKQPKRATIAYDKGYIELFEYPRGQKAVITYTEDGHQDIIEAGKTENALQYEVAD  
 MEEAISGKTNHMYLNYTKDVMIMTQLRQEWGFTYPEEEK\*

配列の説明:

- A] 長さ: 984 bp - 328 aa (完全長遺伝子)  
 B] シヤイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在し、潜在的なシグナルペプチドを有する。

ID-110

クローン 2-2

GTGTATTCTCCTGTAAATCTTCTAAAGGAAAAGTGATATTGTTAAAAAGTGATTT  
 TCTAAAGAGCTTCATAGAAAGGAGAGGAAATATTTGTTTT

MYSPVKSSKGVILLKSDFLKSFIERRGNICF

配列の説明:

- A] 長さ: 96 bp - 32 aa (部分的配列)  
 B] GTG 開始コドンー明らかなシヤイン・ダルガノ配列が存在しない。潜在的なシグナルペプチドを有する。

ID-111

クローン 2-3

AAATACTGTATCATTGCAACCTCAAATGCAGGTTTTGGAAACGAAGCATTACAG  
 GTGACAGCGATAAAGACTTGAAAATTATGGAACGAATTTCTCCATATTTCCGTCC  
 AGAATTTCTAAATCGTTTCAATGGTGTTATTGAATTCCTCACCTAAGCAAAGAT  
 GACTTAAGCGAAATTGTAGATTTGATGCTTGATGAAGTTAACCACAATTGGCA  
 AAAAAGGAATTGACCTTGTGGTAGATGAAAATGTTAAATCACACTTAATTGAACT  
 GGGTTATGACGAAGCAATGGGAGTACGTCCATTGCGCCGTGTCATCGAGCAAG  
 AAATTCGAGATCGCATCACAGACTACTATCTCGATCATAACAGACGTTAAACACC  
 TAAAAGCTAATTTGCAAGATGGCCAAATCGTCATTTCTGAAAGATAA

KYCIATSNAGFGNEAFTGDSKDLKIMERISPYFRPEFLNRFNGVIEFSLKDDLS  
 EIVDLMLDEVNQTIGKKGIDLVDENVKSHLIELGYDEAMGVRPLRRVIEQEIRDRIT  
 DYYLDHTDVKHLKANLQDGGQIVISER\*

## 【図1】

配列の説明:

A] 長さ: 429 bp - 143 aa (部分的配列)

B] N-末端は未だに解明されていない。この遺伝子は nuc とインフレームではなかった。

ID-112

クローン 2-5

ATGTCAATGAATTTTTCATTTTTACCACAATATTGGTCCTATTTTAATTATGGTGT  
 GATGGTAACCATTATGATTTCAACATGTGTTGTTTTTTTTGGAACATTATAGGC  
 GTGTTAATTGCTTTAGTAAAGCGTACTAATTTACATTTTCTCACAATATTAGCTAA  
 TTTCTATGTATGGGTATTTTCGTGGGACACCGATGGTAGTTCAAATTATGATTGCT  
 TTCGCATGGATGCATTTAACAATTTACCAACAATTAGCTTTGGTGTTTTAGATTT  
 AGATTTTACACGACTTTTACCTGGTATCATTATCATTTCCTTAAATAGTGGTGCC  
 TATATTTCGGAAATTGTACGTGCAGGGATTGAGGCTGTACCATCTGGACAAATA  
 GAAGCAGCTTACTCGTTGGGGATTTCGACCTAAAAATACACTTCGCTATGTTATC  
 TTACCCCAAGCTTTTAAAAATATTTTACCTGCTCTAGGGAATGAATTTATTACAAT  
 TATTAAGATAGTGCTCTCCTTCAAACATTGGTGTGCATGGAATTATGGAACGGA  
 GCACAATCAGTTGTAACGGCTACTTACTCACCAGTTGCACCGTTATTATTTGCA  
 GCATTTTACTATTTAATGTTGACAACGATTCTCTCAGCTTTGTTAAACAAATGG  
 AGAAATATCTTGGGAAAGGGGTAAAAATAGATGGTTGA

MSMNFSLPQYWSYFNYGVMVTIMISTCVVFFGTIIGVLIALLVKRTNLHFLTILANFYV  
 WVFRGTPMVVQIMIAFAWMHFNLLPTISFGVLDLDFTRLLPGIIISLNSGAYISEIVRA  
 GIEAVPSGQIEAAYSLGIRPKNTLRVYVLPQAFKNILPALGNEFITIKDSALLQTIGVME  
 LWNGAQS SVTATYSPVAPLLFAAFYYLMLTTILSALLKQMEKYLKGVKIDG\*

配列の説明:

A] 長さ: 699 bp - 233 aa (完全長遺伝子)

B] シヤイン・ダルガノ配列が'ATG'開始コドンの前にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-113

クローン 2-7

ATGAAAGACCTATTACGAAATAGTCTAGAGCAAAGTGGAAATTTAAGTTTTCAAG  
 ATATGATTTTACATATTCCTTGTAGCAGCTTTATTGAGTGTAGTTATTTATGTTTCC  
 TATGCTTATACGCATAGTGGAACCTGCCTATAGTAAAAAGTTAATGTTTCATTAA  
 TGACATTGACGGTCTTGACTGCAACAGTAATGACCGTTATTGGTAATAATGTAG  
 CCTTGTCAATTGGGTATGGTCCGTGCCTTGTCAAGTTGTTGTTTGGTATCTG  
 TAAAAGATTCAAGAGATACAGTTTATATTTTTGGACCATAGTTGTTGGTATCTG  
 TTGTGGTGTCCGTGACTATGTGGTAGCTGCATTAGGAAGTAGCGTTATCTTTAT  
 CTTATTATGGGTTATGGGACGTGTTAAAAACGAGAATCGTATGTTATTGATTGTG  
 AAGTGCGATAGAACACTAGAAGTTGATTTAGAAGGAATTTTCTTCCAATATTTTG  
 ACGGAAAAGCTGTTCAAGCGTGTAAAAATTCAACAATAACTATTGAAATGAT  
 TTTGAAAATCTCTAGAAAAGATTACGATAAGCAACTCCATGTAGATAATCAGTTA  
 ACTGAAAAGGTGTACCAATTGGGAAATATTGATTATTTCAACATTGTTAGCCAAA  
 GCGACGAAATCAATGGGTAG

MKDLLRNSLEQSGNLSFQDMILHILVAALLSVVIYVSYAYTHSGTAYSKKFNVSLMTL

## 【図1】

TVLTATVMTVIGNNVALSLGMVGLSVVRFRTAIKDSRDTVYIFWTIVVVICCGVGD  
 YVVAALGSSVIFILLWVMGRVKNENRMLLVKCDRTLEVDLEGIFQYFDGKAVQVRV  
 KNSTTNTIEMIFEISRKDYDKQLHVDNQLTEKVYQLGNIDYFNIVSQSDEING\*

配列の説明:

- A) 長さ:678 bp - 226 aa (完全長遺伝子)  
 B) ATG 開始コドンはシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-114  
 クローン 2-8

AAAAATTCATTTTAGATTCATTTTACGACTATATACTCAGAAGTACCAAACCTAAT  
 CCAAGGTTTGAAAAAGAAAGAAGGAAGTCAGTATGACAAACTATAAAAAACAAC  
 TTTAAAGATGAGGCTATACGTGTTGAAGAGACAACAAAAGAATCATTTTACGATG  
 TTGATATTGCCTTGTTTTAGCTGGTGGATCTATTTACGCAAAGTTTCGCTCCTTA  
 TGCAGTAAAGTCTGGAGCAGTTGTAGTAGATAACACGTCATATTTTCGTCAGAA  
 TCCTGATGTTCCACTAGTTGTTCTGAAGTAAATGCTCATGCCATGATTGGTCAT  
 AATGGTATCATAGCTTGTCCCAATTGTTCTACTATTCAAATGATGATTGCTTTAG  
 AGCCCATTCGTCAAAAATGGGGGATAGAGCGTGTTATAGTTTCCACCTATCAAG  
 CTGTTTCGGGTTTCAGGTGCACGTGCTGTTGAAGAACTAAGGAACAGTTGAGA  
 CAAGTTTT

KFILDSFYDYILRSTKPNPRFEKRKKEVSMTNYKNNFKDEAIRVEETTKESFYDVIDIA  
 LFSAGGSISAKFAPYAVKSGAVVVDNTSYFRQNPDPVPLVVPEVNAHAMIGHNGIAC  
 PNCSTIQMMIALEPIRQKWGIERVIVSTYQAVSGSGARAVEETKEQLRQV

配列の説明:

- A) 長さ:499 bp - 165 aa (部分的配列)  
 B) N-末端はいまだに決定されていない。

ID-115  
 クローン 2-9

ATGACAAATGAATTGATAATGCAAGCTTTTTGAGTGGTATTTACCTAGTGATGGGA  
 ATCACTGGAAGAAATTAGAGGAGTCTATATCAGACCTTAAAAAATTGGAATTAG  
 TAAAATCTGGTTACCACCAGCATTTAAGGGAAGTATCTAAAGCTTATTAAGTCGTTAAAGGCA  
 ACAAATATGGTAGGAAAGAAGAGTATCTAAAGCTTATTAAGTCGTTAAAGGCA  
 AATGGCATTAAACCGTTTGCAGATATCGTTCTTAACCATAAAGCCAATGGTGATC  
 ATAAAGAAAAATTTCAAGTCATCAAAGTCAATCCTGAAAATCGTCAAGAAGCATT  
 AAGTGAACCCTATGAGATTGAAGGATGGACGGGATTTGATTTCCAGGTAGACA  
 GGGTGAGTACAATGATTTT

MTNELIMQAFEWYLPDGNHWKLEESISDLKKGISKIWLPPAFKGTSSDDVGYG  
 VYDLFDLGEFDQNGTIRTKYGRKEEYLKLIKSLKANGIKPFADIVLNHKANGDHKEKF  
 QVIKVPENRQEALSEPVEIEGWTGFDFPGRQGEYNDF

配列の説明:

## 【図1】

A) 長さ:456 bp - 152 aa (部分的配列)

B) ATG 開始コドンはシャイン・ダルガノ配列の後にあり、リーダーペプチド配列は存在しない。

ID-116  
クローン 2-10

ATGGAGGTTCTTATGAAGAAAGTGTTAGTAAGTAGTCTTTTGGTTTTAGGGATTA  
CGATAACGTTACAACCAGTAGTTGAGGCTAAGGGGCCAAAAGTAGCTTATACAC  
AAGAGGGAATGACTGCTCTTTTCGACACAAATAAAGATAAAGTCACTACTATTT  
CTATTGACGAGATTCAAAAAAGCTTAGAAGGTAAGAAGCCGATTACTGTTAGTTTT  
TGATATTGATGATACACTGCTTTTCAGTAGTCAATATTTTCAATATGGTAAAGAAT  
ATGTAACCTCCTGGATCGTTTTGATTTTCTTCATAAACAAAAATTCTGGGATCTTGT  
TGCAAAACGAGGAGATCAAGATTCCATCCCAAAGAATATGCTAAAAAATTAATT  
GCTATGCATCAAAAACGAGGAGATAAAATTGTTTTATAACAGGTAGGACAAGA  
GGGTCAATGTATAAGGAGGGCGAGGTTGATAAACAGCTAAAGCCTTAGCTAA  
AGATTTTAAATTTGTACCATCTGAT

MEVLMKKVLVSSLLVLGITITLQPVVEAKGPKVAYTQEGMTALSDTNKDKVTTISIDEI  
QKSLEGKKPITVSFDIDTLLFSSQYFQYGKEYVTPGSFDFLHKQKFWDLVAKRGD  
QDSIPKEYAKKLIAMHQKRGDKIVFITGRTRGSMYKEGEVDKTAKALAKDFKFPSPD

配列の説明:

A) 長さ:516 bp - 172 aa (部分的配列)

B) ATG 開始コドンはシャイン・ダルガノ配列の後にあり、リーダーペプチド配列を有する。

ID-117  
クローン 2-17

ATGCTTAAAAGATTATTTACTGAAGATGGGGAATTGACAAAGATTAGTCGTCGTT  
TCGTTTGGATGTTAGTGGTTATCTATTGCTTATTATTGTCAGGATGTGTTTTGG  
GCCTCAAATTATGATTGAGGGGGTATCAACTCCGAATGTTTCAGCGCTTCGGAAG  
AATTGTAGCTCTTTTAGTACCATTTAATTCCTTTTCGTAGTTTAGATCAGCTAACTA  
GCTTTAAAGAGATTCTTTGGGTTATTGGTCAAATGTAGTGAATATTTTACTGCT  
GTTTCCTCTCATTATAGGGTTACTATCCCTAAAGCCAAGTTTACGGAAATATAAA  
AGCGTTATATTACTTGCTTTCTTGATGTCTCTTTTCATAGAGTGTACTCAAGTTGT  
TTTAGATATTTAATAGATGCTAATCGGGTTTTTGAATCGACGATCTATGGACA  
AATACCTTAGGCGGTCCCTTTCCGCCCTATGGAGTTATCGAAACATAAAAGGTTGG  
CTTCTAACTATTAGAAAATGA

MLKRLFTEDGELTKISRRFVWMLVVIYCLIIVRMCFGPQIMIEGVSTPNVQRFGRIVA  
LLVPFNSFRSLDQLTSFKEILWVIGQNVVNILLFPLIIGLLSLKPSLRKYKSVILLAFLM  
SLFIECTQVVLIDILIDANRVFEIDDLWNTLGGPFALWSYRNIKGWLLTIRK\*

配列の説明:

A) 長さ:516 bp - 172 aa (完全長遺伝子)

B) ATG 開始コドンはシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。C-末端はさらなる確認を必要とする。

## 【図1】

ID-118  
クローン 3-3

ATGAAAAAGCTTACTTTTATTTGGGATTTAGATGGGACATTAATAGATTCGTATG  
TACCAATTATGGAAGCTCTTGAAGAAACCTATCGTCATTTTGGCTTAATATTTGA  
TAAAGAATTAATCCATGAATATATTTTACAGGAATCAGTGGGGCAATTATTGGTA  
AACCTTTCAGAGGAAGAGCAAATACCTCATGAAAACTGAAAGCATATTTTACAA  
AAGAACAAGAAAGTCGAGATTCTAAAATACATTTAATGCCATATGCAAAAGAGAT  
TTTAGAATGGACCAAAGAACAAGATATTCCTCAATTTTATGTATACACATAAAGGA  
GCAAGTACGCATTCCAGTGTGGAAACCTTGCAGATCTCTCATTATTTTGGATGAAA  
TTTTAACTGGTGTTCGGGATTCGAGCGAAAACCACATCCACAAGGGATTAATT  
ATTTAGTTAAACGATATTCCTTATAGATAAATCAATGACTTATTACATAGGAGATCGT  
CCACTAGATTTGGAGGTTGCTCAAATGCTGGTATAAAATCCATAAACTTAAGGT  
TAGAGAATTCCAAAGAAAACATAATATTTCAAGTCTCAAAGATATAATATCACTT  
GATTTCACTCGTTTGGATTAA

MKKLTFIWDLDGTLIDSYVPIMEALEETRYRHFGLIFDKELIHEYILQESVQQLLVNLSE  
EEQIPHEKLYFTKEQESRDSKIHLMPYAKEILEWTKEQDIPNFMYTHKGASTHVS  
LETQISHYFDEILTGVSGFERKPHPQGINYLVKRYSLDKSMTYYIGDRPLDLEVAQ  
NAGIKSINLRLNSKENYNISSLDKDIISLDFTRLD\*

配列の説明:

- A] 長さ: 627 bp - 209 aa (可能な完全長遺伝子)  
B] ATG 開始コドンは可能なシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-119  
クローン 3-7

ATGGAAAAAGAAAAAAATTAGGTCTTTTACCACTAACAATGCTTGTCATTGGCT  
CTCTTATCGGTGGCGGAATCTTTGATTTAATGCAAATATGAGTTCCAGAGCCG  
GTTTGGTACCAATGCTTATTGCTTGGGTAATTACTGCTATCGGGATGGGAACCTT  
TCGTTTTAAGTTTTCAAATTTATCTGAAAAAGGCCGACCTAACAGCTGGAAT  
CTTTAGTTACGCTAAAGAGGGGTTTGGAACTTTATGGGATTTAACTCTGCATG  
GGGTTATTGGTTATCAGCTTGGCTTGGAAATGTTGCCTACGCTGCACTCTTATT  
CAGTTCACTCGGTTATTTCTTTAAATCTTTGGTAATGGAAATAATATCATCTCAA  
TTATTGGAGCAAGTATAGTTATTTGGGTTGTCCATTTCTTAATTTAAGAGGTGT  
TAATACAGCTGCATTTATTAATACCGTAGTTACCTTTGCAAATTAGTACCTGTTA  
TTATTTCTTAATTTACGCGTTATTAGCTTTCAAATTTAACATTTTATGCTTTGATA  
TCTGGGAAATGGATTACATCAATCAATTTTCAACCAAGTCAATTTCAACTATGAA  
AACCGCTGTTTGGGATTTATTGGTATTGAGGGCGCCGTTGTCTTCTCAGGTCG  
TGCTAAAAAACACTCTGATATTGGTAAAGCAAGTATCCTAGCATTATTTCACTATG  
ATTTCACTTTATGTATTGATTTCTGTTTATCACTTGGTATCATGTCACGTCCAGA  
ACTTGCAAATTTAAAAACACCAGCTATGGCTTACGTTCTAGAAAAAGCTGTTGG  
TCACTGGGGTGCTATCTTAGTTAACCTTGGTGTATCATTTCAAGTATTTGGCGCT  
ATTCTTGCTTGGACTTTATTTGCAGCAGAATTACCATATCAAGCTGCTAAAGAAG  
GTGCTTTTCTAAATTTTTTGCAAAAGAAAATAAAAAACAAAGCTCCAATCAACTC  
ACTCTTAGTCACTAATCTTTGTGTACAAGCATTCTTAATCACGTTCTTATTCACAC  
AAAGTGCTTATCGTTTTGGTTTCGATTAGCATCATCTGCTATCTTAATTCCTTAT

## 【図1】

GCTTTTACAGCACTATATCAATTACAATTCACACTCCGTGAGGATAAGTCAACTC  
 CAGGACATCAAAAGAATTTAATTATCGGTATCCTCGCTACAATCTATGCTGTTTA  
 CCTTATCTACGCTGGTGGTTTTGATTACTTACTTTTGACAATGATTGCTTATACT  
 CTAGGTATGATTCTCTATATTTAAATGAGAAAAGATGACAAGCTTGGCGTAATCA  
 TGGTCATAGCTGTTTCCAGTGTGAAATTGTTATCC

MEKEKKLGLLPLTMLVIGSLIGGGIFDLMQNMSSRAGLVPMLIAWVITAIGMGTFVLS  
 FQNLSEKRPDLTAGIFSYAKEGFGNFMGFNSAWGYWLSAWLGNVAYAALLFSSLG  
 YFFKFFGNGNIIISIIIGASIVIWVHFLILRGVNTAAFINTVVTFKLVPIIFLISALLAFK  
 FNIFSLDIWGNLHQSFNQVNSTMKTAVWVFIGIEGAVVFSGRAKKHSDIGKASILA  
 LFTMISLYVLISVLSLIGIMSRPELANLKTAMAYVLEKAVGHWGAILVNLGVIIISVFGAI  
 LAWTLFAAELPYQAAKEGAFPKFFAKENKNKAPINSLLVNLCVQAFITLFTQSAY  
 RFGFALASSAILIPYAFTALYQLQFTLREDKSTPGHQKNLIIGILATIYAVYLIYAGGFD  
 YLLLTMIAYTLGMILYIKMRKDDKLGVMIVIAVSSVKLLS

配列の説明:

A) 長さ:1356 bp - 452 aa (部分的配列)

B) ATG 開始コドンには可能なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-120

クローン 3-8

ATGAAATTTGAAAAACGGCAGGTCTATTATGTTGTCATAACATTTGCTATTTGCT  
 ATGCTATACAGGCTTATTGGGGAGCTGTTTCTAATATTTTAACTACGCTTCATAA  
 GGCAATATTTTCTTTTTGATGGGAGCTGGAATTGCCTATATTATTAATATTGTA  
 ATGTCAGTCTATGAGCGATTATATATAAAGCTTTTTAAAGGATCTAGACTATTAAT  
 GGCAATCAAGCGTAGTGTCTATGATTTTATCCTATGCAACTTTTATTGGTTTTA  
 ATTGTCTGGCTATTTTCAATTGTCATTCCAGATTTGATTTCTAGTTTGAGTTCTTT  
 ATTGGTTATTGATACCGGAGCACTTGCTAAATTGGTTAATAATCTCAATGAAAAT  
 AAACAAATTTCTGAGGCTTTAAATTATATGGGAACAGATAAAGACTTAGTTTCTA  
 CTTTAAGTGGTTATAGCCAGCAGATTTTGAAGCAAGTTTTATCTGTTTTAACAAA  
 TTTACTAACCTCAGTTTCTCTATTGCGGCAACACTTCTGAATGTTTTGTTAGTT  
 TTATTTTTTCAATTTACGTTTTGGCAAACAAGGAGCAGTTGGGACGTCAATTTAA  
 TTTGTTAATTGATACCTATTTAGGTTCAACAGGCAAAACATTCCATTACGTTTCGT  
 CATATCCTTCATCAACGTTTCCATGGTTTTTTTTGTAAGCCAAACTTTAGAAGCTA  
 TGATTTTAGGAAGTTTGACGGTTATTGGTATGTTGATCTTCCAATTTCTTATGC  
 TTTAACAGTTGGGGTTTTAGTTGCTTTTACAGCTCTAATACCGGTTGTGGGAGC  
 CTACATTGGTGTTACAATCGGTTTCATCTTAATTGCTACTGAATCGCTTACTGAA  
 GCATTCTTGTTGTTCTTTTCTTGATCCTTTTACAACAATTTGAGGGAAATGTCAT  
 TTATCCGAAAGTTGTCGGTGGATCGATTGGACTGCCTTCTATGTGGGTTTTAAT  
 GGCTATTACTATCGGAGGTGCTTTATGGGGGATCTTAGGCATGTTACTTGCTGT  
 TCCTGTTGCAGCTACTATCTATCAGATTGTAAGATCATATTATCAAGCGACAA  
 ACGCTTAGAAATCGTGCACGAACCTATCGTTAA

MKFEKRQVYYVITFAICYAIQAYWGAVSNILTTLHKAIFPFLMGAGIAYIINIVMSVYE  
 RLYIKLFKGSRLMAIKRSVSMILSYATFIGLIVWLFSIVIPDLISLSSLLVIDTGALAKL  
 VNNLNENKQISEALNYMGTDKDLVSTLSGYSQQILKQVLSVLTNLLTSVSSIAATLLN  
 VFVSFIFSIYVLANKQLGRQFNLLIDTYLGSTGKTFHYVRHILHQRFHGFFVSQTFLE  
 AMILGSLTVIGMLIFQFPYALTGVVLAFTALIPVVGAYIGVTIGFILIATESLTEAFLFV  
 LFLILLQQFEGNVIYPKVVGGSIGLPSMWWLMAITIGGALWGLGMLLAVPVAATYQI

## 【図1】

VKDHIKRQTLRNRARTYR\*

配列の説明:

A) 長さ: 1134 bp - 378 aa (完全長遺伝子)

B) ATG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-121

WO 00/06736 に記載の ID-68 と同一

ID-122

クローン 3-16

GTGATTACAATTA AAAAGGAATCTGTTATCAA ACTATTGAAGTATGCTTTTGGCA  
 TTATAATGGGATTTATTATCTTAGCTATTGTAATAGGTGGGCTCCTATTTGCATA  
 CTACGTTAGTCGTTCTCCGAAATTAACCGATCAAGCTTTAAAATCCGTTAACTCT  
 AGTTTGGTTTATGATGGTAATAATAAACTTATTGCCGATTTAGGCTCAGAAAAGC  
 GTGAAAGTGTTAGTGCGGATAGCATTCCACTAAATTTGGTTAACGCTATCACTT  
 CTATAGAAGATAAACGTTTCTTTAAACATAGAGGTGTCGATATTTATCGTATTTTA  
 GGTGCAGCTTGGCATAACCTTGTTAGTAGTAATACGCAAGGTGGTTCAACCCCTT  
 GATCAACAGTTGATTA AACTGGCTTACTTTTCTACCAATAAATCTGACC AAACGT  
 TAAAACGTAAATCACAGGAAGTTTGGCTTGGCTTCAAATGGAGCGTAAATACA  
 CCAAAGAAGAAATTC TACTTTCTATATTAATAAAGTTTATATGGGAAATGGGAA  
 TTATGGTATGAGAACAACAGCTAAATCATACTTTGGTAAAGACCTAAAGGAATTA  
 TCTATTGCACA ACTTGCTTTGCTCGCTGGTATTCTCAAGCACCTACACAATATG  
 ACCCTTATAAAAACCCAGAATCTGCTCAAACAAGACGTAATACCGTTCTTCAGC  
 AGATGTATCAAGATAAAAACATTTCTAAAAGGAATACGACCAAGCTGTTGCAAC  
 TCCAGTAACTGATGGCTTAAAAGAA TTAAGCAA AATCTACTTATCCAAAATAT  
 ATGGATAACTACTTAAAACAAGTTATTAGTGAAGTTAAACAAAAA ACTGGTAAAG  
 ATATCTTTACTGCTGGGCTAAAAGTGTATACTAATATCAACACTGATGCACAAAA  
 ACAACTATATGACATCTACAACAGTGATACTTACATCGCTTATCCAAACAATGAA  
 TTACAAATAGCATCTACCATCATGGATGCGACTAATGGTAAAGTCATTGCACAAT  
 TAGGCGGGCGTCATCAGAATGAAAATATTTCA TTTGGGACAAATCAATCTGTCT  
 TAACAGACCGCGATTGGGGTTCTACAATGAAACCTATCTCAGCTTATGCACCTG  
 CTATTGATAGTGGTGTCTATAATTCAACAGGTCAATCATTAAACGACTCAGTTTA  
 C TACTGGCCTGGTACTTCTACTCAACTATATGACTGGGATCGTCAATATATGGG  
 TTGGATGAGTATGCAGACCGCTATTCAACAATCACGTAACGTCCCTGCTGTCAG  
 AGCACTTGAAGCCGCTGGATTAGACGAAGCAA AATCTTTCCTTGAAA AATTAGG  
 CATATACTATCCAGAAATG

MITIKKESVIKLLKYAFGIIMGFILAIVIGLLFAYYVSRSPKLT DQALKSVNSSLVYDG  
 NNKLIADLGSEKRESVSADSIPLNLVNAITSIEDKRFFKHRGVDIYRILGAAWHNLVS  
 SNTQGGSTLDQQLIKLAYFSTNKSDQTLKRKSQEVWLALQMERKYTKEEILTFYINK  
 VYMGNGNYGMRTTAKSYFGKDLKELSLAQLALLAGIPQAPTQYDPYKNPESAQTRR  
 NTVLQOMYQDKNISKKEYDQAVATPVT DGLKELKQKSTYPKYMDNYLKQVISEVKQ  
 KTGKDI FTAGLKVYTNINTDAQKQLYDIYNSDTYIAYPNELQIASTIMDATNGKVIAQ  
 LGGRHQENENISFGTNQSVLTD RDWGSTMKPISAYAPAIDSGVYNSTGQSLNDSVY  
 YWPGTSTQLYDWRQYMGWMSMQTAIQQSRNVP AVRAL EAGLDEAKSFLEKL  
 GIYYPEM

## 【図1】

配列の説明:

A] 長さ:1386 bp - 462 aa (部分的配列)

B] GTG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-123

クローン 3-17

ATGGCTAATGTATATGATTTAGCAAATGAATTAGAACGTGCTGTTTCGTGCTTTAC  
CAGAATACCAAGCAGTTTTAACTGCAAAAGCAGCTATTGAAAATGATGCGGATG  
CACAAGTGCTTTGGCAAGACTTTTTGGCTACCCAATCAAAGTTCAAGAAATGA  
TGCAATCTGGCCAAATGCCAAGTCAAGAAGAACAAGATGAAATGTCTAACTTG  
GGGAAAAAATTGAATCCAATGACCTTTTAAAAGTTTATTTTGACCAACAACAACG  
GTTGTCTGTCTATATGTCTGATATCGAAAAAATTGTCTTTGCACCCATGCAGGAC  
TTGATGTAA

MANVYDLANELERAVRALPEYQAVLTAKAAIENDADAQVLWQDFLATQSKVQEMM  
QSGQMPSQEEQDEMSKLGKIESNDLLKVYFDQQQLSVYMSDIEKIVFAPMQDL  
M\*

配列の説明:

A] 長さ:336 bp - 112 aa (完全長配列)

B] ATG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかな潜在的なリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-124

クローン 3-26

ATGGCAGAAATCACAGCTAAACTTGTAAGAATTGCGTGAAAAATCAGGTGCA  
GGCGTTATGGACGCTAAAAAAGCATTAGTAGAACTGATGGTGACCTTGATAAA  
GCGATTGAATTACTTCGCGAAAAAGGTATGGCTAAAGCAGCTAAAAAAGCAGAC  
CGTGTTGCTGCTGAAGGTTTAAACAGGTGTTTATGTTGATGGTAACGTTGCAGCA  
GTTATTGAAGTTAA

MAEITAKLVKELREKSGAGVMDAKKALVETDGDLDKAIELLREKGMAKAAKKADRV  
AAEGLTGVYVDGNVAIV

配列の説明:

A] 長さ:230 bp - 76 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかな潜在的なリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-125

クローン 3-33

ATGATAAAAAACCTGTTATTAACAGGTTTTTTATCATTTAATGACGGAAAACTGG

## 【図1】

ACACAAATTATTTTTCTTGTATAATTAATATATTA'TTTCTTATCAGGAGGTTATGA  
TGACATTAGAGAAACGATTTAA

MIKNLLLTGFLSFNDGKLDNTNYFSCIIKYIISYQEVMMTLEKRF

配列の説明:

A] 長さ:134 bp - 44 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。可能な潜在的なリーダーペプチド配列が存在する。

ID-126

クローン 3-41

ATGAAAAATAATAAAAAATAATGGTTTTCTGAAAAATTCCTTTATTTACATATTATTG  
ATTATTGCGGTTATTACAACCTTTCAATACTATTTAA

MKNNKNNGFLKNSFIYILLIIVITTFQYYL

配列の説明:

A] 長さ:94 bp - 31 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列が存在する。

ID-127

クローン 3-42

ATGTTAGATATTATCTTATCCGGAATTTGCAAGGATTACTTTGGTCAATTATGG  
CAATTGGCGTGTATCACTTTTCGTATCTTAGACATAGCCGATCTCTCTGCAGA  
AGGGGCTTTCCCTATGGGGGCTGCAGTTTGCGCCTTATGTATCGTTAA

MLDIILSGISQGLLWSIMAIGVFITFRILDIADLSAEGAFPMGAAVCAIV

配列の説明:

A] 長さ:158 bp - 52 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列が存在する。

ID-128

クローン 3-43

ATGGAAATGCCTAAAAGAAATGAATTA'CTCAATAAAGAAATTA'AAAATGAGTATTG  
ATAAACTTAGATATAAAGAACCAGAGAGTGAACATGACAAGCGACCTACTTTTTTA  
TTTGGTAGTACTTATACTTGTACTGTAGCAGTTATATTGTCGTTATTTAA

MEMPKRNELLNKEIKMSIDKLRYKEPESEHDKRPTFYLVVLILVTVAVILSLF

配列の説明:

## 【図1】

A] 長さ:161 bp - 53 aa (完全長遺伝子)

B] ATG 開始コドンは潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列が存在する。

ID-129

クローン 3-44

GTGGTAAGTAAATTGAGTTTAACAACGATTTTTGCATTGCTATTTTCATCAATGC  
TAATTTACGCAACACCTCTTATCTTTACAAGTATTGGGGGAACCTTCTCTGAACG  
TGGTGGTATCGTCAACGTTGGTTTAGAAGGAATTATGGTAATTGGAGCTTTCTC  
AGGCGTTGTATTTAA

MVSKLSLTTIFALLFSSMLIYATPLIFTSIGGTFSEKGGIVNVGLEGIMVIGAFSGVVF

配列の説明:

A] 長さ:179 bp - 59 aa (部分的配列)

B] GTG 開始コドンは潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列が存在する。

ID-130

クローン 3-46/47

ATGAGAATTATTGCAATAACTGAAAAGGTTATAAAAGAACTGTTTCGTGATAAAA  
GAACACTTGCTATGATGTTTTTAGCACCTATTTAATTATGTTTTGATGAATGTT  
ATGTTTTCTGCGAATAGTAATACAAAAGTTAAGATTGGAACCTTAACGTTAACA  
CGAAGGTCGTTTTCAAATTTAGATAATATTAAGCATATTCAGGTGAGATCATTAA  
ATTTAACTCATCTGCTAAAAAGCACTCAAATCAAATAAAATTGATGCTCTTATTT  
CGGAGGACAATAAATCTTATACTGTCTTCTATGCGAATACAGATTCTTCAAAGAC  
GACTTTAACAAGACAAGCTTTTAAACCGCTGTTAATACAATGAACAGTAAGGAA  
CTGATTTGCGCAAGTTAAAATTTTAGCTAATAAGAATCCGAAACTAGCACAATCCT  
TACAAACTCGCTCCAAATATATCAAAGAAAAATATAATTACGGAAATAAAAATAC  
AGGCTTTTTTGCAAAAATGATACCAATACTAATGGGATTTATGGTCTTCTTCTTG  
GTTTTT

MRIIAITEKVIKELFRDKRTLAMMFLAPILIMFLMNVMFSAANSNTKVKIGTINVNTKVVS  
NLDNIKHIVRSFKFNSSAKKALKSNKIDALISEDNKS YTVFYANTDSSKTTLTRQAF  
KTAVNTMNSKELISQVKILANKNPKLAQSLQTRSKYI KEKYN YGNKNTGFFAKMIPIL  
MGFMVFFLVF

配列の説明:

A] 長さ:558 bp - 186 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列が存在する。C-末端はいまだに決定されていない。

ID-131

クローン 3-48

## 【図1】

GTGATTATCGTTATGAGTAAACATCAAGAAATTTTGGAGTACCTAGAAAATTTAG  
CTGTTGGTAAGAGGGTTAGTGTACCGCAGTATTTCAAATCATTTAA

MIIVMSKHQEILEYLENLAVGKRVSVRISNHL

配列の説明:

A] 長さ:100 bp - 33 aa (部分的配列)

B] GTG 開始コドンは明らかなシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかなリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-132

クローン 2-c53

ATGTATAGAGAAATTACCGCTGTCGAACACGATCGCTTTGTGAGCGAATCCAAC  
CAAACAAACCTACTTCAATCTCTTAATTGGCCCAAAGTAAAAGACAACCTGGGGT  
AGTCAATTACTTGGCTTTTTTGGCGGTGAAACCCAAATTGCCAGCGCTAGTATT  
CTCATCAAATCACTTCTCTTGGCTTCTCCATGCTGTATATTCCGCGTGGACCA  
ATCATGGATTACTCCAATCTAGATATTGTAACCTAAGGTCCTTAAGGACCTTAAAG  
CTTTTGGCAAAAAACAAGAGCTCTTTATCAAGTGTGATCCTCTCATCTATTT

MYREITAVEHDFRVSESNQTNLLQSLNWPVKVDNWSQLLGFDFDGETQIASASILIK  
SLPLGFSMLYIPRGPIMDYSNLDIVTKVLKDLKAFGKKQRALFIKCDPLIY

配列の説明:

A] 長さ:326 bp - 108 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは明らかなシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかなリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-133

クローン 2-c59

ATGGACAAGAAAAAATCTTAGTAACGGGTATTGTGCCTAAAGAAGGTCTAAGA  
AAGCTTATGGACCGATTTGATGTTACTTATTCAGAAGATCGCCCATTTTCACGTG  
ACTATGTGTTAGAGCATTTATCTGAATATGACGGATGGTTACTCATGGGACAAA  
AAGGTGATAAAGAGATGATTGATGCAGGTGAAAACCTTACAAATTATTTCTTT

MDKKKILVTGIVPKEGLRKLMDRFDVTYSEDRPFSRDYVLEHLSEYDGWLLMGQK  
GDKEMIDAGENLQIIS

配列の説明:

A] 長さ:215 bp - 71 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは明らかなシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかなリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-134

クローン 2-c62

## 【図1】

ATTTGAAAGATGACTACCAAATAATTAGTTTTGGACAGGATCCAGAAGTTGTTG  
 ATTATGCTGGTCTGTTTAAAAACGCCGTCCAGTTTTAGAAAAAGCAGTTAAAAA  
 TTTCTTGCAAGAAGAGAGAGCTACGAGAATGCTATCTGATTTCTTGCAAGAAGA  
 AAAATGGGTAAGTATTTGCTGAATTTATGGCGATCAAAGAACATTTTGGTAAT  
 AAGGCGCTTCAAGAATGGGATGACAAGGCTATTATACGCCGCGAAGAAGAAGC  
 CTTAGCAGGATATCGTCAAAGCTTAGTGAAGTGATAAAATATCATGAAGTAAC  
 GCAATATTTCTTTACAAACAATGGTTTGAAGTTAAAAGAATATGCTAATGATAAA  
 GGGATTCAAATTATCGGTGATATGCCAATCTACGTTTCTGCCGATAGTGTAGAA  
 GTTTGGACAATGCCTGAAGTGT

ISKDDYQNIISFGQDPEVVDYAGLFEKRRPVLEKAVKNFLQEERATRMLSDFLQEEK  
 WVTDFAEFMAIKEHFGNKALQEWDDKAIIRREEEALAGYRQKLSEVIKYHEVTQYFF  
 YKQWFELKEYANDKGIQIIGDMPYVSADSVVWMTPELF

A) 長さ: 459 bp - 153 aa (部分的配列)

B) 酵素の N- および C-末端を決定するためにはさらなる塩基配列決定が必要である。-  
 Streptococcus pneumoniae (63%)

ID-135

WO 00/06736 に記載の ID-108 と同一。

クローン 2-c63

ID-136

クローン 2-c66

ATGGCAAAACAGAAAAATAACTGGCGCCGTGTTGGAGTTGGTGTCCCTTACACTT  
 GCTTCAGTTGCGACTCTTGCTGCATGTGGAAGTAAATCAGCTTCCCAGGATTTCT  
 AATGGAGCGATTAATTGGGCTATTCCAACAGAAATCAATACACTAGATTTATCTA  
 AAGTTACAGACACTTACTCAAATCTAGCTATTGGTAACTCTAGTAGTAATTTCT  
 TCGCTTAGATAAAGATGGAAAGACAAGACCAGACTTGGCTACTAAAGTTGATGT  
 TTCAAAGATGGCTTAACTTATACAGCTACATTACGTAAAGGCTTGAAGTGGTCA  
 GATGGCAGTAACTTACTGCAAAGGATTTTGTATTTCATGGCAACGTTTAGTTG  
 ATCCTAAAACAGCTTCACAATATGCTTACCTTGCTGTTGAAGGGCATGTGCTTAA  
 TGCCGATAAAATCAACGAAGGACAAGAGAAAGACTTGAATAAGCTAGGTGTTAA  
 GGCAGAAGGCGATGACAAAGTTGTTATTACTTTATCTAGTCCGTCTCCGCAATT  
 CATCTACTACCTTGCATTCACTAAGTTCATGCCACAAAACAAGAAGTTGTTGAA  
 AAATATGGAAAAGATTACGCAACTACTTCAAAAAATACAGTTTACTCAGGACCAT  
 ATACTGTTGAAGGTTGGAATGGTTCGAATGGTACTTTACGCTGAAGAAAAACA  
 AAAATTATTGGGACGCTAAAAATGTAAAAACAAGAAGTTGCGATCCAGACTG  
 TAAAAAACCAGATACCGCCGTTCAAATGTATAAACGTGGTGAGTTAGATGCAG  
 CTAATATCTCAAATACTTCTGCTATTTATCAAGCTAATAAAAAATAATAAGATGTC  
 ACAGATGTTCTAGAAGCGACCCTGCTATATGGAATATAATACTACTGGTTC  
 GTGAAAGGGCTTGATAATGTTAAGATTCGTCGCGCCTTAACTTAGCACTAAC  
 CGTAAAGGAGTTGTTCAAGCAGCCGTTGATACAGGCTCAAACCGGCAATTGC  
 TTTTGCACCTACTGGTTTAGCCAAAACACCAGATGGAAGTATTTGGCAAATAT  
 GTTGCACCAGGTTATGAATATAATAAACTGAAGCAGCAAACCTTTAGACTA

MAKQKNNWRRVGVGLTLASVATLAACGSKSASQDSNGAINWAIPTINTLDLSKV  
 TDTYSNLAIGNSSNFLRLDKDKTRPDLATKVDVSKDGLTYATLRKGLKWSGDS

## 【図1】

KLTAKDFVYSWQRLVDPKTASQYAYLAVEGHVNLADKINEGQEKDLNKLGVKAEG  
 DDKVVITLSSPSPQFIYYLAFTNFMPQKQEVVEKYGKDYATTSKNTVYSGPYTVEG  
 WNGSNGTFTLKKKNKNYWDANKVKTKEVRIQTVKKPDTAVQMYKRGELDAANISNT  
 SAIYQANKNNKDVTDVLEATTAYMEYNTTGSVKGLDNVKIRRALNLATNRKGVVQA  
 AVDTGSKPAIAFAPTGLAKTPDGTDLAKYVAFGYEYNKTEAAKLFRL

配列の説明:

A] 長さ: 1143 bp - 381 aa (部分的配列)

B] シャイン・ダルガノ配列が ATG コドンの前にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-137

クローン 2-c67

TTGAGAGTTTATGAAAATAAAGAAGAGTTGAAAAAAGAAAATAAGTAAACATTTG  
 AGAAATACATTATGGAATTTAATAA  
 TATTCAGAGAATCTAAAAGATAAAAAGAATTGATGAAGTTGATAGAACTCCAGCA  
 GAAAACCTTTCTTATCAGGTTGGCT  
 GGACCAACTTGGTTCTTAAATGGGAAGAAGATGAAAGAAAGGGACTTCAAGTAA  
 AACACCATCGGATAAATTT

MRVYENKEELKKEISKTFEKYIMEFNNIPENLKDKRIDEVDRTPAENLSYQVGWTNL  
 VLKWEEDERKGLQVKTPSDKF

配列の説明

A] 長さ: 234 bp - 78 aa (部分的配列)

B] TTG 開始コドンは、潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかなリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-138

クローン 2-c70

ATGTCAAAGTTTGTAGTCAGAAAATAAATTACTCCGATTATGAAGTTTGTCAATA  
 TGCGAGGGATTATTGCACTCAAAGATGGCATGCTAGCAATTTTACCACTAACAG  
 TTGTTGGGAGTCTCTTTTTAATATTAGGGCAGCTTCCATTT

MSKFDSQKIITPIMKFVNMRIIALKDGMLAILPLTVVGSFLFLILGQLPF

配列の説明

A] 長さ: 150 bp - 50 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-139

クローン 2-c71

## 【図1】

GAGACCACTTCATCAGTTAAACCAGCAGGAATTGACCGTATCAATCATACCTCA  
 ACACCCCGAAGAAAACCTACCCCAACATTGCAACGACGCATAGCTTCAAAGAT  
 CGTTGTGATACTTTAGAAAAGAATTCACAATGAAGACATTGATGTTTGTCTGGAT  
 TCATTTGTGGTATGGGAGAGAGCGATGAGGGGCTCATCACATTAGCTTTCAGA  
 CTAAGAAGAACTGAACCCCTATTCTATCCCTGTCAATTTTTACTTGCTGTTGAAG  
 GAACACCTCTTGGAAAATATAACTATTTGACTCCCATTAAATGCTTAAAAATTAT  
 GGCCATGTTGCGTTTTGTTTTCTTTCAAGGAATTAAGATTAAGTGCTGGACG  
 GGAGGTCCATTTTGAGAATTTGAATCATTAGTCACCTTACTTGTTGACTCAACT  
 TTTTTGGGAAATTACCTAACAGAGGGGGTTCGCAATCAACATACCGATATTGAA  
 TTCTTGGAAAATTACAATAAATCATACTAAAAAGGAATTAATTT

ETTSSVKPAGIDRINHSTPPKKTTPNIATTHSFKDRCDTLERIHNEIDVCSGFIGG  
 MGESDEGLITLAFRLKELNPYSIPVNFLLAVEGTPLGKYNYLTPKCLKIMAMLRVVF  
 PFKELRLSAGREVFHNFESLVTLVDSTFLGNYLTEGGRNQHTDIEFLEKLQLNHT  
 KKELI

配列の説明:

- A] 長さ:535 bp - 178 aa (部分的配列)  
 B] N- および C-末端は、検証を必要とする。

ID-140  
 クローン 2-c73

ATGCCGGTTTGGACTGCACAGTCTATTCCAAAGGCATTTTTAGAAAAGCATAAT  
 ACTAAGGAAGGCACCTGGGCAAACTAACCATTCTAAGTGGTTCTTTAGTATTTT  
 ACCAGTTATCTCCTGATGGAGAGGAAATCTCGCGGCATATTTTTGATGCTAGTA  
 GTGATATTCCTTTTGTGATCCACAAGTCTGGCATAAAGTTTCGCCGAATAGTCC  
 AGACTTAAGTTGCTATCTAACTTTTTACTGCCAAAAGAAGATTACTTCCATAAA  
 AAATATGGTCTCACGCGCACACATTCTGAGGTTATCGCCAGTGCACCTCTCTTA  
 TCTGAGAAGAGTAATATATTAGACCTTGGGTGTGGTCAAGGGCGAAACTCACTT  
 TATTTATCGCTGCTGGGACATCAAGTACTTCTGTGATTCAAACGGACAGAGC  
 CTTGTAGCTTTAGAAAATATGGCATTAGAAGAAGAGCTTCCTTACAATATAAAAA  
 GGTATGATATTAATACTACTGCTATTGAAGGGCACTATGATTTTATTTTATCAACT  
 GTGGTATTTATGTTTTT

MPVWTAQSIPKAFLEKHNTKEGTWAKLTILSGSLVIFYQLSPDGEEISRHFIDASSDIP  
 FVDPQVWHKVSPNSPDLSCYLTFYCQKEDYFHKKYGLTRTHSEVIASAPLLSEKSN  
 ILDLGCGQGRNSLYLSLLGHQVTSVDSNGQSLVALENMALEEELPYNIKRYDINTTA  
 IEGHYDFILSTVVFMF

配列の説明:

- A] 長さ:563 bp - 187 aa (部分的配列)  
 B] N- および C-末端は検証を必要とする。

ID-141  
 クローン 2c76

ATGACAAAGCAAATAATTGCCATTTGGGCTGAAGATGAAGACCATTTGATTGGA  
 GTTAATGGCGGTTTACCATGGAGGCTTCCTAAAGAGTTACATCACTTCAAAGAA

## 【図1】

ACGACCATGGGGCAGGCTTTGCTTATGGGACGAAAGACCTTTGATGGAATGAA  
 CCGTCGTGTTTTACCTGGTAGAGAGACAATCATCTTAACAAAAGATGAACAATT  
 CCAAGCAGATGGAGTGACAGTCCTAAATAGTGTTGAACAAGTTATAAAATGGTT  
 TCAGGAACATAATAAGACCTTATTTATTGTAGGTGGTGCAAGTATTTATAAAGCA  
 TTTCTGCCTTATTGTGAAGCAATCATAAAACTAAAGTTCATGGAAAATCAAAG  
 GTGATACCTATTTTCTGATGTTAATCTATCTGAGTTT

MTKQIIAIIWAEDDHLIGVNGGLPWRLPKELHHFKETTMGQALLMGRKTFDGMNR  
 RVLPGRETIILTKDEQFQADGVTVLSVEQVIKWFQEHNKTLFIVGGASIYKAFLPYC  
 EAIKTKVHGKFKGDTYFPDVNLSEF

配列の説明:

A] 長さ:417 bp - 139 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンはシャイン・ダルガノ配列の後にある。リーダーペプチド配列は存在しない。

ID-142

クローン 2-c78

TTGTGGCCAAACTGTGCCCGCTTATTAATAGCACTTTGTTCCACCATTGAAGATA  
 TCTTAACATCAGGTGCTCATAGCAACCCTATTTAATGGGGGTTATACTTGGCG  
 GGACAATTGTAGTAGTGGCGACAGCACCACCTTTCTTCTATGGCATTGACAGCTA  
 TGCTAGGATTAACCGGAATGCCTATGGCTATAGGAGCCTTGTCTGTCTTTGGTT  
 CGTCATTTATGAATGGTGTACTTTTTCCATAAATTA AAAACTTGGAAAGTCGTAAGA  
 TAATATAGCTTTTGTGTTGAGCCTCTAACTCAAGCTGACGTGACTTCAGCTAAC  
 CCTATCCCAATCTATGTCACTAATTTTGTGGTGGTGCAGCTTGTGGTATTTTAA  
 TTGCCTTGATGAAATTAGTTAATGATACTCCTGGAACAGCGACACCAATTGCAG  
 GATTTGCTGTCATGTTTGCCTATAACCCAATGATAAAAGTACTAATAACCGCTCT  
 AGTTGTATTATCCTATCTTTACTAGCAGGCTATTTTGGAGGCATTGTTTTT

MWPNCAPLINSTLFTIEDILTSGAHSNPILMGVILGGTIVVATAPLSSMALTAMLGLT  
 GMPMAIGALSVMFGSSFMNGVLFHKLKLGSRKDNIAFAVEPLTQADVTSANPIPIYVT  
 NFVGGAAACGILIALMKLVNDTPGTATPIAGFAVMFAYNPMIKVLITALGCIILSLLAGY  
 FGGIVF

配列の説明:

A] 長さ:540 bp - 180 aa (部分的配列)

B] N- および C-末端 はいまだに解明されていない。

ID-143

クローン 2-c80

ATGTTTTTAAGTATAATGGCAGGTGTCATAGCATTTGTCCTGACAGTTATTGCCA  
 TTCCACGCTTCATTAAGTTTTACCAATTGAAGAAAATTGGCGGGCAACAAATGC  
 ATGAAGATGTCAAACAACATCTAGCCAAAGCAGGTACGCCGACAATGGGAGGA  
 ACGGTATTTT

MFLSIMAGVIAFVLTVIAIPRFIKFYQLKKIGGQMHEDVKQHLAKAGTPTMGGTVF

## 【図1】

配列の説明:

A) 長さ: 172 bp - 57 aa (部分的配列)

B) シヤイン・ダルガノ配列が'ATG' 開始コドンの前にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-144

クローン 3-83

ATGAAACCATATTTATCTTTTATTGGTAGAACGTTATTATACTTCGGTATTTTATT  
GTTACTAATTTACTTTTTGCATACCTTGGTCGCGGACAAGGCAGTTTTATTTAT  
AA

MKPYLSFIGRTLIFYGILLLLIYFFAYLGRGQGSFIY

配列の説明:

A) 長さ: 113 bp - 37 aa (部分的配列)

B) 推定 ATG 開始コドンは典型的なシヤイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。この orf は nuc とインフレームではなかった。

ID-145

クローン 3-86

ATGTCATATTTTAGAAATTACTGGTATCGTTTTGGAGCAATTTTATTTATTATTTTA  
GCAGTAATATTGCTTGTTTTAGACCTGACTGGTCAATGCTTCACTATCTATTGT  
ATTTTACTTTATGGCACTTCTAGCGCATCAATTTGAAGAATATCAGTTTCCCGG  
TGGGGCATCACCTATCATTAACTATGTTGTTTATGATGAAGAAGAGCTGATGGA  
TTGTTTTCCAGGCAATACTCAGTCTATTATGTTGGTTAATACTATTGCTTGGTTG  
CTTTACATTGCTAGTATTGCTTTTCTCAAGCTTATTGGCTTGGATTAGGAGTCA  
TGTTCTTTAGTCTAACGCAGCTCTTGGGTCATGGTTTTAGATGAATATTA  
TAAACTTGGTATAATCCTGGTCTAGCAACGACAGTATTTCTCCTAGTACCAATA  
GCTTGCGCATACATCTATCAAGCTAGTGCAGAAGGAATGCTCACTTGGGGAGA  
TTGGCTAGGTGGTTTTATCATGTTGATTGTCTGTGTACTAAGTACTAGCATTATTGCA  
CCTGTACAGCTATTGAAGGATAAGGAGACCAATTATATTATTAGTCTTGGCAA  
TGGACCGTTTTTCATAAGGTCGTTAATTTTGTAAAGGATAAAAAATAA

MSYFRNYWYRFGAILFIILAVILLVFRPDWSMLHYLLYFYFMALLAHQFEEYQFPGG  
ASPIINYVYDEEELMDCFPNGTQSIMLVNTIAWLLYIASIAFPQAYWLGLGVMFFSL  
TQLLGHGFQMNJKLKTWYNPGLATTVFLVPIACAYIQASAEGMLTWGDWLGFI  
MLIVCVLTSIIPVQLLKDKETNYIISPWQMDRFHKVNFVRIKK\*

配列の説明:

A) 長さ: 651 bp - 219 aa (完全長遺伝子)

B) 推定 ATG 開始コドンは典型的なシヤイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-146

クローン 3-c88

## 【図1】

ATGCCACTTACAGCACTTGAAATTAAGATAAAACATTTTCATCAAATTTTCGCG  
GTTATAGCGAAGAAGAAGTT

MPLTALEIKDKTFSSKFRGYSEEEV

配列の説明:

A] 長さ:75 bp - 25 aa (部分的配列)

B] 推定 ATG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。リーダーペプチドは存在しない。

ID-147

クローン 3-90

ATGTCACTTTTTCAAGAAAAAATTGCTTACAATTGCGCTAAAAAGGAAGCGCTTT  
ATAAAGAGAGTTTAGGACGCTACGCCTTGAGATCAATGCTAGCAGGGGCTTATT  
TGACAATGAGTACTGCTGCCGGTATCGTCGCAGCTGATACTATTGGTAAAATTT  
CTCCTGCTCTATCAGGTTTTGTATTTGCTTTCATCTTTAGTTTTGGACTTATTTAT  
GTTTTAATATTTAATGGTGAATTGGCGACATCTAATATGCTTTATCTCACTGCAG  
GAGCCTATAATAAAAATATCTCTTGGAAAAAAGCCATAACAATTTTAATTTATTGT  
ACTTTTTTCAACCTCGTTGGTGCTTGTATATTAGCTTGGTTGTTTTAA

MSLFQEKIAYNCAKKEALYKESLGRYALRSMLAGAYLTMSTAAGIVAADTIGKISPAL  
SGFVFAFIFSFGLIYVLIFFNGELATSNMLYLTAGAYNKNISWKKAITILYCTFFNLVGA  
CILAWLF

配列の説明

A] 長さ:406 bp - 125 aa (部分的配列)

B] 推定 ATG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。可能なリーダーペプチド

ID-148

クローン 3-92

AAGTTACAAGCGACTGAAGTTAAGAGCGTCCGGTAGCACAACCAGCTTCAACA  
ACAAATGCAGTAGCTGCACATCCTGAAAATGCAGGGCTCCAACCTCATGTTGCA  
GCTTATAAAGAAAAAGTAGCGTCAACTTATGGAGTTAATGAATTCAGTACATACC  
GTGCGGGAGATCCAGGTGATCATGGTAAAGGTTTAGCAGTTGACTTTATTGTAG  
GTAAAAACCAAGCACTTGGTAATGAAGTTGCACAGTACTCTACACAAAATATGG  
CAGCAAATAACATTTTCATATGTTATCTGGCAACAAAAGTTTTATTCAAATACAAAT  
AGTATTTATGGACCTGCTAATACTTGGGAATGCAATGCCAGATCGTGGTGGCGTT  
ACTGCCAACCACTATGACCACGTTACGTATCATTAA

KLQATEVKSVPVAQPASTTNAVAHPENAGLQPHVAAYKEKVASTYGVNEFSTYR  
AGDPGDHKGKGLAVDFIVGKNQALGNEVAQYSTQNMAANNISYVIWQQKFYSNTNS  
IYGPANTWNAMPDRGGVTANHYDHVHVSF

配列の説明

## 【図1】

- A] 長さ:419 bp - 139 aa (部分的配列)  
 B] N- および C-末端はいまだに決定されていない。

ID-149  
 クローン 3-94

ATGATTCCAGTAGTTATTGAACAAACAAGTCGTGGTGAACGTTCTTATGATATTT  
 ACTCACGTCTTTTAAAAGATCGTATTATTATGTTGACAGGCCAAGTTGAGGATAA  
 TATGGCCAATAGTATCATTGCACAGTTATTGTTTCTCGATGCACAAGATAATACA  
 AAGGATATTTACCTTTATGTCAATACACCAGGTGGTTCAGTATCGGCTGGACTT  
 GCTATTGTGGACACCATGAACTTCATTAATCGGACGTACAGACGATTGTTATG  
 GGGATGGCTGCTTCGATGGGAACCATTATTGCTTCAAGTGGTGCTAAAGGAAA  
 ACGTTTTATGTTACCGAATGCAGAATATATGATCCACCAACCAATGGGCGGAAC  
 AGGCGGAGGTACACAGCAATCTGATATGGCTATCGCTGCTGAGCATCTTTAAA  
 AACGCGTCATACTTTAGAAAAAATCTTAGCTGATAATTCTGGTCAATCTATTGAA  
 AAAGTCCATGATGATGCAGAGCGTGATCGTTGGATGAGTGCTCAAGAACACTT  
 GATTATGGCTTTATTGATGCTATTATGGAAAATAATAATTTACAATAATAGATTTA  
 AAAGAGTTGAGTTACCAACTCTTTTTTTATTTGTTGGAATTATGTTATAATCTTA  
 GTAATTACAGATATGACGCAGAAAGGAAAAAATTATTGA

MIPVVIEQTSRGERSYDIYSRLLKDRIIMLTGQVEDNMANSIIAQLLFLDAQDNTKDIY  
 LYVNTPGGSVSAGLAIVDTMNFIKSDVQIVMGMAASMGTIASSGAKGKRFMLPNA  
 EYMIHQPMGGTGGGTQQSDMAIAAEHLLKTRHTLEKILADNSGQSIEKVHDDAERD  
 RWMSAQEHLIMALLMLLWKIIYNNRFRKVEFTNSFFICWNYVILVITDMTQKGNKY\*

## 配列の説明

- A] 長さ:693 bp - 231 aa (完全長遺伝子)  
 B] 推定 ATG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。リーダーペプチドは存在しない。重要なことに、非常に疎水性である C-末端を有するようである。

ID-150  
 クローン 2-c86

ATGAAACCAAAAaTTATTGGTGTACTTGGTCTAGGAATATTTGGACAAACACTCG  
 CACAAGAACTAAGTAACTTTGAACAAGATGTTATTGCTATTGACAGCAATCCTGA  
 AAATGTACAAGCTGTCGCCGAAGT  
 TGTTACAAAAGCAGCTATCGGAGACACTTACTGATTTAGCTTTTCTAAAACACATC  
 GGGATCAGTGACTGTGATACTGTTATTATTGCTACAGGAAACAGTTTAGAGAGC  
 TCAGTATTGGCCGTAATGCACTGTAAAAAGTTAGGCGTCCCACAAGTTATTGCT  
 AAAGCTCGAAACCTTGTATACGAAGAAGTACTTTATGAAATTGGTGCTGATTTG  
 GTTATCTCTCCGGAGCGAGAATCTGGGCAAAATGTTGCTGCAAACCTCATGAGA  
 AATAAAATTACAGATGTCTTCCAGATTGAATCTGATATTTCTGTCATTGAATTT

MKPKIIGVLGLGIFGQTLAQELSNFEQDVIAIDSNPENVAEAVVTKAAIGDITDLAF  
 LKHIGISDCDTVIIATGNSLE  
 SSVLAVMHCKKLGVPQVIKARNLVYEEVLYEIGADLVISPERESGQNVAAANLMRN  
 KITDVFQIESDISVIEF

## 配列の説明:

## 【図1】

- A] 長さ:459 bp - 153 aa (部分的配列)  
 B] 推定 ATG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。この orf は nuc とインフレームではなかった。

ID-151  
 クローン 2-c88

GTGCGTTATAGTAAAGAGATTATTCAGTTAGCTATACCAGCTATGATTGAAAATA  
 TCTTACAAATGCTCATGGGAGTAGTTGATAATTATCTAGTGGCTCAGTTAGGTGT  
 TGTAGCAGTATCAGGTGTTTCAGTTGCTAATAATATAATTACTATTTATCAAGCTA  
 TTTTTATAGCTTTAGGGGCGAGTATAGCAAGTCTATTGGCCAAGTCGTTAGCAG  
 GTAGTGAGAAGGATGATGCAATTTTCAGTATGTTCTCAAGCCATTTTTCTAACATC  
 ACTGATAGGGGCAGTATTAGGAATTATCTCGATTGTTTTTGGACAAACTTTCTTT

MRYSKELIQLAIPAMIENILQMLMGVVDNYLVAQLGVVAVSGVSVANNIITYQAIFIAL  
 GASIASLLAKSLAGSEKDDAISVCSQAIFLTSLIGAVLGIISIVFGQTF

## 配列の説明

- A] 長さ:330 bp - 110 aa (部分的配列)  
 B] 推定 GTG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。リーダーペプチドを有し得る。

ID-152  
 クローン 2-c92

TTGATTAACAAGTATTCGTGCTTTTTGAAGAGGATTCTCCATAATAATACTCCTTT  
 AATAGTTATCGTGAGAAGTATTTTAAAGAAAACCGCCAAGGTAGAGCGACATT  
 TCTGCCTTTAACTACAATAAAACCAAGAGAATTAGCACAAACATTATCTCTCAAAA  
 TTACAAAGTTCTCAAGGGTTTTAGGAATAGCTAGTGAATTGGTAACCTATGATC  
 AACGCTTGTCAAACATTTTT

MINKYSCFLKRILHNNTPLIVIVRSILKKNRQGRATFLPLTTIKPRELAQHLYLSKLOSS  
 QGFLGIASELVTYDQRLSNIF

## 配列の説明

- A] 長さ:240 bp - 80 aa (部分的配列)  
 B] 明らかなシャイン・ダルガノ配列は推定 TTG 開始コドンの前に存在しない。

ID-153  
 クローン 2-c94

TTGTTGACTCACAAAAATATATTATTAACCATTATATTTGGATTATTTATGATTATA  
 TTATCAGCATGTGGTATGTCTAATAAGGAAATGGCTGGTATTGATAATTGGGAA  
 CATTATCAAAAAGGAAAAGAAAATTAATTACTATTGGATTTGATAACTTTTTGTTCCCTAT  
 GGGATTTGAAAGTCGTTCTGGTGACTIONACCAGGCTTTGATATTGATTTAGCTAAT  
 GCTGTTTTTAAAGAATACGGTATTTTCAGTGAAATGGCAGCCTATTAICTGGGATA

## 【図1】

TGAAAGAACTGAACTTAATAATGGTAATATAGACCTTATTTGGAATGGTTATTC  
 AAAACGGCAGAACGTGCTAAAAAAGTCGCTTTTACAAACCCATATATGAATAAT  
 CATCAAGTAATTGTTACTAAAACCTTCATCACATATTAATAGTATTAAGGATATGAA  
 GGGGAAAAAAGTAGGAGCCCAGTCGGGTTTCATCTGGTTTTGATGCTTTTAACGC  
 TAAACCTGATATTTAAAAAAGTTTGTAAAAGGAAAAGAAGCAGTTCAATACGAT  
 ACTTTCACCTCAGGCTTTGATTGATTTAAAAAATAACCGTATTGATGGTCTTTTGT  
 TGATGAAGTTTATGCTAACTATTATTTAAAGCAAGAAGGAA

MLTHKNILLTIIFGLFMILSACGMSNKEMAGIDNWEHYQKEKKITIGFDNTFVPMGFE  
 SRSGDYTGFDIDLANAVFKEYGISVKWQPINWDMKETELNNGNIDLWNGYSKTAE  
 RAKKVAFTNPYMNNHQVIVTKTSSHINSIKDMKGGKLGAAQSGSSGFDAFNAKPDILK  
 KFKVKGKEAVQYDTFTQALIDLKNNRIDGLLIDEVYANYYLKQEG

## 配列の説明

- A) 長さ: 649 bp - 216 aa (部分的配列)  
 B) TTG 開始コドンは潜在的な潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。リーダーペプチドを有する。

ID-154  
 クローン 2-c100

ATGAAAATTTGGAAAAAATAACCTTAATGTTTTCTGCAATTATTTAACAACAGT  
 AATTGCATTGGGAGTCTATGTTGCCTCAGCTTATAATTTTTCGACTAATGAATTG  
 TCTAAGACTTTT

MKIWKKITLMFSAIILLTVIALGVYVASAYNFSTNELSKTF

## 配列の説明

- A) 長さ: 123 bp - 41 aa (部分的配列)  
 B) ATG 開始コドンは潜在的な潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。典型的なリーダーペプチドを有する。

ID-155  
 クローン 2-c1

ATGAAAAACAAGACTATTACTGCTTTTTGGAGGCTTATTAATAATGATAATGA  
 TGACAGCATGTAAGGATTCAAAAATCCCAGAAAACCGCACGAAAAAGGAATACC  
 AGGCAGAACAGAATTTAAGTCATACTTTAAATATATATCAGATAAAAATAACTAT  
 TTAGATAATATAAAAGTTTATTACTTTTCTATAAGTATTTCTAAAGATGTACAAGA  
 TAAAGTCAGTGAACAACAACCTTGTTTCATATAGACTAGAAAAGCAAAAGAATCAA  
 GAGTTCATTGGTAATTTTGAACATGAAGTTAGTGAATCTAGTCAATATTCACCCG  
 AAGTTAAAAATCAAATACAGTATCCAATCCAGTATAAAGATAATTCAATTCGTTTT  
 ACTGAAAAACACCCGTCAGAACGTTATGATGAGTTTGTTTTTAGTTCATTTGATT  
 CTTCAATTATTAATAAATAAATAAATAATATGATTACTTACTAAAACATCCCGAACT  
 GAATTAAGGTGTTTCCTATAAGATTCCCTATAAATTCTGAAATTGTAGCCCTT  
 TTATAAATCAATTAATAAATAAATAAATAAATCCTAAAAATCATCTATTTCCGGTTACAAA  
 ACGGAAAGTAAAGAATATTATTATACAATCAGTATTGATACTGATTCTGAGATAT  
 ATTCTATATTCGAAGGTATTCAT

## 【図1】

MKKQRLLLLFGLLIMIMMTACKDSKIPENRTKKEYQAEQNFKSYFKYISDKNNYLD  
 NIKVYYSISISKDVQDKVSETTTCSYRLEKQKNQEFIGNFEHEVSESSQYSTEVKN  
 QIQYPIQYKDNSIRFTEKTPSERYDEFVSSFDSSLLKKYKIYDYLLKHPETELKGV  
 YKIPINSEIVAPFINQLNIKNPKKSSISVTKTESKEYYYTISIDTDSEIYSIFEGIH

## 配列の説明

A] 長さ: 687 bp - 229 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは潜在的な潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。典型的なリーダーペプチドを有する。C-末端はいまだに検証されていない。

ID-156

クローン 2-c5

ATGACATTTGACACCATTGATCAATTAGCGGTTAATACAGTCCGCACGCTTTCTA  
 TTGATGCTATCCAAGCAGCAAATTCTGGGCACCCAGGTCTTCTATGGGAGCT  
 GCGCCTATGGCTTATGTGCTTTGGAATAAATTCTTAAATGTAACCCAAAAACAA  
 GTCGCAATTGGACAAACCGTGACCGTTTTGACTTTCAGCTGGGCATGGTTCAG  
 CTCTTCTTATAGCCTACTTCATTTAGCTGGCTATGATTTATCAATTGATGATTT

MTFDTIDQLAVNTVRTLSIDAIQAANSNGHPGLPMGAAPMAYVLWNKFLNVNPKTSR  
 NWTNRDRFVLSAGHGSALLYSLHLAGYDLSIDD

## 配列の説明

A] 長さ: 272 bp - 90 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは潜在的な潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかなリーダーペプチドは存在しない。

ID-157

クローン 2-c8

ATGAGAACACTATTTAGAATGATATTTGCTATTCCAAAGTTTATCTTTAGATTGAT  
 TTGGAATATCATTTGGGGAATATTCAAGACAGTTCTTGTTATTGCGATTATTTTAT  
 TTGGCTTGTACTACTATGCGAATCACAGTCAATCAGAATTTGCTAATCAACTTAG  
 TGACATTATTCAGACAGGAAAAACATTTTT

MRTLFRMIFAIKPKFIFRLIWNIIWGIFKTVLVIAIILFGLYYYANHSQSEFANQLSDIIQTG  
 KTF

## 配列の説明

A] 長さ: 197 bp - 65 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは潜在的な潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。リーダーペプチドを有する。

ID-158

クローン 2-c9

ATGTCAAAAAAATAATATTAGGAATTTTATCTCTTTTATCTGTGCGTACTTTGGT

## 【図1】

GGCGTGTGGTTCATCAGACAAACAGCTACAAGATAAAGTTGAGAAAAAAGGGA  
AGTTAGTTTTAGCGGTGAGTCCAGATTATGCTCCCTTTGAGTTT

MSKKIILGILSLLSVVTLVACGSSDKQLQDKVEKKGKLVAVSPDYAPFEF

## 配列の説明

A) 長さ: 153 bp - 51 aa (部分的配列)

B) ATG 開始コドンは潜在的な潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。リーダーペプチドを有する(nucとインフレームではなかった)。

ID-159

クローン 2-c10

ATGAAAAATCAAAGACTATTACTGCTTTTTGGAGGCTTATTAATAATGATAATGAT  
GACAGCATGTAAGGATTCAAAAATCCCAGAAAACCGCACGAAAAAGGAATACCA  
GGCAGAACAGAATTTTAAGTCATACTTT

MKNQRLLLLFGGLLIMIMMTACKDSKIPENRTKKEYQAEQNFKSYF

## 配列の説明

A) 長さ: 139 bp - 46 aa (部分的配列)

B) ATG 開始コドンは潜在的な潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。リーダーペプチドを有する。

ID-160

クローン 2-c11

ATGATTGGAAAATTATATTATAGCTATAGAAAGTCACGCTTATTAAGAAGTATTTT  
ATGGCTTATTTAATTGTTGGTGTATATATGTTAGGACAACGTGTTTTATTATCCA  
CTGTTCCCTTATCACATCAAGAGATAAACTAGCAGTAGATCAACATTTACTCAA  
TAACTTTTCAGCAGTAAGTGGTGGGAGTTTTAATAAATTAATGTTTTCACACTG  
GGGTTGAGTCCATGGATGTCAAGTATGATTATTTGGAGATTCGTTTCTTATTTT  
CGTGGGCAAAAAATGCAACGAAGCGAAAAGCAGAAGTAGCTCAATATACTTTAA  
TGCTTACTATCTCAGTTATACAAGCATATGGTGTTCAGGAAATCAATTTATAAA  
AAGCTCTTTATTAGGTTCTTATAGTGATATTGTTTTT

MIGKLYYSYRKSRLLSILWLIVGVYMLGQRVLLSTVPLSHQEIKLAVDQHLLNNF  
SAVSGGSFNKLNFTLGLSPWMSSMIIWRFVSLFSWAKNATKRKA EVAQYTLMLTI  
SVIQAYGVSGNQFIKSSLLGSYSDIVF

## 配列の説明

A) 長さ: 423 bp - 141 aa (部分的配列)

B) ATG 開始コドンは潜在的な潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。リーダーペプチドを有する。

ID-161

クローン 2-c13

## 【図1】

ATGAAAGGTCTATTGGATTTTITAGTTAATATTGCCAGAACGCCAGCTATTTTAG  
 TCGCCTTGATAGCCATTATCGGTTTAGTACTGCAGAAAAAAGGTGTTCTTGATA  
 TTGTAAGGTGGAATAAAAACATTTGTTGGCTTCTTAGTGGTTTCTGAAGGTGC  
 AGGGATAGTCCAAAATTCCTTGAATCCATTTGGAAAAATGTTTGAACATGCTTTT  
 CATTTGGTGGGGGTAGTTCCTAATAATGAAGCCATTGTAGCAGTAGCTCTTACG  
 AAGTATGGCTCAGCAACTGCTTTGATTATGTTAGCGGGAATGATTTTTAATATTT  
 TAATTGCTCGTTTACAAAA

MKGLLDLFLVNIARTPAILVALIAIIGLVLQKKGVPDIVKGGIKTFVGLVSEAGIVQN  
 SLNPFKMFHAFHLVGVVNPNEAIVAVALTKEYGSATALIMLAGMIFNILIARFTK

## 配列の説明

A] 長さ:348 bp - 116 aa (部分的配列)

B] ATG 開始コドンは潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。可能なリーダーペプチド

ID-162

クローン 2-c21

TTGGTTGGTAAGCCCCAATTACTATTTTTAGATGAACCTACTTCCGGAATGGATA  
 CTTCCACACGTCACCGATTTTGGAAAGCTGGTTGCGACACTAAAAAAGAAGGTG  
 ACACAATTGTCTATTCTAGTCATTATATCGAAGAGGTAGAACATACAGCTGATAG  
 GATTTTAGTACTTCATAAAGGAAAGTTATTACGCGATACAACCCCTTTGCCATG  
 AAGCAAGAAAAAACCGAAAAGTTATTCACCGTTCCGCTTAGTTATCAAAAATTAT  
 TACCTACCTATTTGATTACAGAGTGTGAAGCCAAGAGTGATAGTATAACGTTTGT  
 TACTGGGGAGGCTGAAACTGTATGGAAAATACTGGCAGATAATGGTTGTCCTAT  
 TGAAGCTATTGAGATGACCAATAGAACTTTGTTAAATCGTATTTTTGAGACTACT  
 AAGGAGGTAAAACATGAGAATCTTTA

MVGKPQLLFLDEPTSGMDTSTRQRFWKLVA TLKKEGDTIVYSSHIEEVEHTADRIL  
 VLHKGKLLRDTTPFAMKQEKTEKLFVPLSYQKLLPTYLITECEAKSDSITFVTGEAE  
 TVWKILADNGCPIEAIEMTNRTLLNRIFETTKEVKHENL

## 配列の説明

A] 長さ:462 bp - 155 aa (部分的配列)

B] B] 推定 TTG 開始コドンは明らかなシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかなリーダ  
 ーペプチドは存在しない。N- および C- 末端はさらなる調査を必要とする。

ID-163

クローン 2-c25

TTGAAAAATCCAAGAGAAGCCGTAAGGCAGTGACAACAAGTGGTGAGAAGAC  
 TTTACTTGAGGATTTGGCAAAAATGAATTTCTAGACGAAGTCATTAATGTTATG  
 GTTTTATATACCTTGAATAAGACAAAATCTGCTAACTTAAATAAGGCCTATATCAT  
 GAAAGTTGCTAATGATTTTGCCTTTCAGAATGTTATGACGGCCGAAGATGCTGT  
 GCTTAAAATTCGTGATTTTTAGATCAAAAAGTAAGGACTAAAACAGAAACGAAG  
 AAGAAACAATCGAATGTTCTGAATGGAGTAATCCTGATTATAAAGATGAGGTTA  
 GCCAGAAAAAGAAATTGAATTAGAACAGTTT

## 【図1】

MKSKRSRKA VTTSGEKTLL EDLAKMNF LDEVINVMVLYTLNKT K SANLNKAYIMKV  
 ANDFAFQNVMTAEDAVLKIRDFSDQKVRRTKTETKKKQSNVPEWSNPDYKDEVSPE  
 KEIELEQF

## 配列の説明

- A] 長さ:360 bp - 120 aa (部分的配列)  
 B] N- および C- 末端は検証を必要とする。

ID-164  
 クローン 2-c28

ATGACGAATCATATTACTAAACTGATAGAAAATAGCGGAAAAAAATTGACAGAAA  
 TTAGCGAAGCTACAGATATAGCCTATCCTACACTTTCTGGATACAATCAAGGAAT  
 CCGCAAACCTAAAAAAGATAATGCTGAAAAATTGGCAAATACTTTAATGTTTCC  
 GTCGCTTACATTATGGGACTTGATAGCAACCCACATGCTCCATCAAATCTT

MTNHITKLIENSGKLT EISEATDIAYPTLSGYNQGIRKPKKDNAEKLAKYFNVSVAI  
 MGLDSNP HAPSNL

## 配列の説明

- A] 長さ:218 bp - 72 aa (部分的配列)  
 B] ATG 開始コドンは明らかなシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかなリーダーペプチドは存在しない。

ID-165  
 クローン 2-c29

TTGATGAAAAGGAATAAACATTTACCGTTAACAGAACTACCTATTATATTTTATT  
 AGCTTTGTTTGAGGAAGCGCATGGCTATGCTATTATGAAAAAGTTGAAGAAAT  
 GAGTGGCGGTGATGTTAGAATAGCCGCAGGGACAATGTACGGTGCCATTGAAA  
 ATTTACTTAAACAAAAATGGATAAAGTCTATCTCAAGTGACGATAGAAGAAGAAA  
 AGTTTATATTACTGAGACAGGAAAAGAAATAGTAGAACTTGAAACGAATCGA  
 TTAAGAAAGTTACTTAATACTGCTAATCAGTTGGGTTTTGGAGGAGATGGTTATG  
 ATAAAGTTT

MMKRNKHLPLTETTYI L LALFEEAHGYAIMKKVEEMSGGDVRIAAGTMYGAIENLL  
 KQKWIKS ISSDRRRKVYIITETGKEIVELETNRLRKL LNTANQLGFGGDGYDKV

## 配列の説明

- A] 長さ:337 bp - 112 aa (部分的配列)  
 B] TTG 開始コドンは明らかなシャイン・ダルガノ配列の後にある。実際の開始コドンは、TTG の直後にくる ATG であり得る。潜在的なリーダーペプチドが存在する。

ID-166  
 クローン 2-c35

CCCATTACTGGTGAGTTAATAGCTGAGAAATTAGGAGTACCAAGAGCAGCACTA

## 【図1】

AGGTCTGATTTGCGGGTTTTAAGTATGCTAGGTATCATAGATGCAAAACCTAAG  
 GTTGGTTATTTTTATTTAGGACAGTATCATGCTTCAATAGGGACAAGTCATTTTG  
 AAAAGATGACAGTTTCAGAAATTATGGGGATCCTTCTGACAGTTCATCAAAAAG  
 ATTCAGTTTATGATGTTATTGTACATATTTTTATGGAAGATGCTGGTTGTGCTTTT  
 ATCTTGGATGATGATGATTTTTCTCTGTGGAGTCGTGTCACGTAAGATTTACTAA  
 AAACCAGTATTGGCGGAGGAGATCTTTCTAAAATGCCAATAGGAATGGTGATGA  
 CACGTATGCCACACGTGACAACCTGTTTTAGAAAATGAAAGTCTTTTTGCGGCAG  
 CTGATAAATTAGTGAGCAGAAAAGTGGATAGTCTCCCTGTCGTTTCGTCATGATA  
 AGCAATATCCCGAAAAATTTA

PITGELIAEKLGVPRALRSDLRVLSMLGIIDAKPKVGYFYLGQYHASIGTSHFEKMT  
 VSEIMGILLTVHQKDSVYDVIVHIFMEDAGCAFILDDDDFLCGVVSRRKDLLKTSIGGG  
 DLSKMPIGMVTRMPHVTTVLENESLFAAADKLVSRKVDSLPPVVRHDKQYPEKF

## 配列の説明

- A] 長さ:511 bp - 170 aa (部分的配列)  
 B] N- および C-末端は決定されるべきである。

ID-167  
 クローン 2-44

TTGGAAGTCATCATGCAATTTATTTATAGTATTATTGGTATTTTATTGGTATTAGG  
 AATTGTGTATGCAATTTCTTTCAATCGTAAGAGTGTTTCTCTAAGTTTAATTGGAA  
 AAGCTCTTATCGTTCAATTCATTATTGCGCTAATCTTAGTACGTATCCCACTAGG  
 CCAACAAGTTGTTAGTGTTGTTTCAACTGGAGTTACTAAAGTAATCAACTGTGGT  
 CAAGCTGGTTT

MEVIMQFIYSIIGILLVLGIVYAISFNKRSVLSLIGKALIVQFIILILVRIPLGQQVSVV  
 STGVTKVINCGQAG

## 配列の説明

- A] 長さ:233 bp - 77 aa (部分的配列)  
 B] TTG 開始コドンは可能なシャイン・ダルガノ配列の後にある。実際の開始コドンじゃさらに下流に存在し得る。潜在的なリーダーペプチドが存在する。

ID-168  
 クローン 2-46

CAACCTAATAAAGCTTTAGAAAAGTGATGAGATTGATATTAATGCTTTCCAGCATT  
 ATAATTACTTAACCAATTGGAATAAAGCAAATAAGACCAATCTTGTTTCCGTTGC  
 TGAGACATACTTTACTTCTTTAGATTATACTCTGGTACTAAGAACGGTAAAGGT  
 AAATACCAAACAGTTTCTGAAATTCCAAATAAAGCAACTATTACTATCCCAAACG  
 ATGCAGTTAACGAAAGTCGCTCTCTACTTTGTTACAATCAGCAGGCTTGCTAA  
 AATTGAAAGTATCAGGTGATACATTAGCAACAATGTCAGATGTTGTTTCCAATCC  
 TAAATCTTTAGATTT

QPNKALESDEIDINAFQHYNLTNWNKANKTNLVSVAETYFTSFRLYSGTKNGKKGK  
 YQTVSEIPNKATITIPNDVNESRSLYLLQSAGLLKLKVSVDLATMSDVVSNPKSLD

## 【図1】

## 配列の説明

- A] 長さ:344 bp - 114 aa (部分的配列)  
 B] N- および C- 末端は検証を必要とする。

ID-169  
 クローン 2-47

ATGAAATGTATAATAATAATATAAATAAAATAAAAATGATAATTGAGATTTATCA  
 TAGAAGGAAAACCTATTTTTGAAATTAATAAAAATCATATTATCTACTGCAGCTCTTA  
 CTGCTCTCTTTTTAGGATATAATAGCGTACTGCGGATACATATAATAACTATCA  
 GCCACATAGATCAAATAATATGGATTTAACTGAGGAATATAACTATAATAACCAG  
 ATAGAACTTCAGGAGCGTATAAAAAACCTAAATATACCTTTT

MKCIINNINKIKMIIIEIYHRRKTILKLNKIILSTAALTALFLGYNSVTADTYNNYQPHRSN  
 NMDLTEEYNYNQIELQERIKNLNIPF

## 配列の説明

- A] 長さ:264 bp - 88 aa (部分的配列)  
 B] シャイン・ダルガノ配列がこの配列の上流に存在する。潜在的なリーダーペプチド配列が存在する

ID-169  
 クローン 2-47

ATGAAATGTATAATAATAATAATAAATAAAATAAAAATGATAATTGAGATTTATCA  
 TAGAAGGAAAACCTATTTTTGAAATTAATAAAAATCATATTATCTACTGCAGCTCTTA  
 CTGCTCTCTTTTTAGGATATAATAGCGTACTGCGGATACATATAATAACTATCA  
 GCCACATAGATCAAATAATATGGATTTAACTGAGGAATATAACTATAATAACCAG  
 ATAGAACTTCAGGAGCGTATAAAAAACCTAAATATACCTTTT

MKCIINNINKIKMIIIEIYHRRKTILKLNKIILSTAALTALFLGYNSVTADTYNNYQPHRSN  
 NMDLTEEYNYNQIELQERIKNLNIPF

## 配列の説明

- A] 長さ:264 bp - 88 aa (部分的配列)  
 B] シャイン・ダルガノ配列がこの配列の上流に存在する。潜在的なリーダーペプチド配列が存在する。

ID-170  
 クローン RS-58b

TTGGGTGATTATTATGGTAAGAAATATTTTTGGTGAGGCAGCTAAAAAAGACGTC  
 GAACATATGGCTAAGAAAATCATTAAATGTCTATAAAACACGGTTAAAAACAACA  
 CTTGGTTATC  
 AGAAAATACAAAAGCAATGGCCATTAAGAAACTTGATAACATGAGATTAATGATT  
 GGCTATCCAGAAGATTATCCTGATCTTTATCGTCAGTACCAATTTGATAGTAAAG  
 CAAGCTTCTTTGAAAACAATGATAACTACAGAAAATTATCGAACAAGAAAACATT

## 【図1】

TGAAGAATTTAACCAGTCTAATCAACGTGAACATTGGCAAATGAGTGCCAATGC  
 TGTAATGCTTATAATGATCCTAATACCAATTCATAGTCTTTCCAGCAGCGATT  
 TTTCAATCACCAGTGTACGATAAACTAAAACAGTTAGTCAAATTTATGGAGCTA  
 TCGGAGCAATTATTGGTCATGAAATTTACACTCATTGATATTAATGGTATGAA  
 ATATGACGAGAAAGGGAATCTTCACGATTGGTGGACTAAAGAAGATTTAAATCA  
 TTATAAGAAATCAACACAAGCTATGATTGACCAATGGGATGGCCTTAAAGCAGA  
 TGGCGGTAAAGTTGATGGTAAATTAAGTTAGCAGAAAATATTGCAGATAATGGT  
 GGTGTTATGGCATCTCTAGAAGCTCTTAAGACTGAAAAATCCAACTATAAAGA  
 ATTTTTGAATCATGGGCAAGTATTTGGCGTCAAAAAGCAACCAAAGAACAAG  
 TAAGTCCTCAATTCAGTCAGATGTTTCATGCACCATATGAATTGA >  
 GAGCTAACATCCCAGTACGTAATTTCCAAGAATTTTATGATGCCTTTGGTGTAA  
 AAAAGGCGATTCAATGTATCTAAAACCAGAAAAACGTTTGACACTTTGGTAA

MGDYYGKKYFGEAAKDVHMAKKIINVYKTRLKNNTWLSENTKAMAIAKLDNMRL  
 MIGYPDYPDLRQYQFDSKASFFENNDNYRKLNSNKKTFFEFNQSNQREHWQMSA  
 NAVNAYNDPNTNSIVFPAIFQSPLYDKTKTVSQNYGAIGAIIGHEISHSFINGMKY  
 DEKGNLHDWWTKEDLNHYKKSTQAMIDQWDGLKADGGKVDGKLTLENIADNGG  
 VMASLEALKTEKIQTIKNFLNHGQVFGVKKQPKNKVSPQFSQMFHMHMN\*

## 配列の説明:

A) 長さ:819 bp - 272 aa (完全長遺伝子)

(107 bp の追加の DNA 配列 (> 前方)も含まれる。記載した orf とインフレームではないが、それは天然ペプチターゼと強い相同性を有する。

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-89 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-89 遺伝子の下流で同定された。ID-89 および ID-170 はともに *Lactococcus* および *Lactobacillus* からの天然エンドペプチターゼと合体した全長にわたり相同性を示す。TTG (可能な ATG 開始コドンはさらに 13 bp 下流に位置する。)開始コドンが存在し、明らかなシグナルペプチドは存在しない。シャイン・ダルガノ配列は直ちに明らかではない。さらに下流に位置する可能性がある。

ID-171

クローン 2-18/22b (Mod2)

ATGACCATGATTACGCCAAGCTTCATTAAGGTATCTCTAGATGAAACAAATCGTA  
 TGATGCGTATGATATCAGATTTATTAAGTTTATCGCGCATTGATAATGAAGTAAC  
 GCATTTAGATGTTGAAATGACGAATTTTACAGCTTTTCATGACCTCAATTTTGAAT  
 CGATTTGATCAGATTAGAAATCAAAAAACAGTACAGGAAAAGTTTATGAAATTG  
 TCAGAGATTATCCTCTTAAGTCAATTTGGGTGGAAATTGATACAGATAAGATGAC  
 TCAAGTGATTGATAACATTTTAAATAATGCAGTCAAGTATTCACCAGATGGTGGT  
 AAGATTACAGTTAATCTACGCACAACAAAACGCAGATGATTTTATCAATATCAG  
 ACCAAGGCTTAGGTATCCCAAAAAAGATTTACCTCTCATTTTGTATCGTTTTTAT  
 CGTGTTGATAAAGGCGAGAAGTCGTCAACAGGGTGGGACTGGACTTGGTTTGTG  
 AATTGCAAAAAGAAATTGTTAAGCAGCATAAAGGATTTATTTGGGCTAAGAGTGA  
 GTATGGTAAAGGGTCTACTTTTACAATCGTCTTGCCTTATGATAAAGATGCTGTA  
 ACTTATGAAGAATGGGAGGACGTTGAAGATTAA

MTMITPSFIK/SLDETNRMMRMISDLLSLSRIDNEVTHLDVEMTNFTAFMITSILNRFD  
 QIRNQKTVTGKVEIVRDYPLKSIWVEIDTKMTQVIDNILNNAVKYSPDGGKITVNL

## 【図1】

RTTKTQMILSISDQGLGIPKKDLPLIFDRFYRVDKARSRQQGGTGLGLSIAKEIVKQH  
KGFIVAKSEYGGSTFTIVLPYDKDAVTEEWEDVED\*

配列の説明:

A] 長さ:613 bp - 212 aa (完全長遺伝子 possibly)

B] 可能なシャイン・ダルガノ配列は ATG 開始コドンの上流に存在する。この遺伝子の N-部位はいまだに決定されていないかもしれない。明らかなシグナルペプチドは存在しない。

ID-172

クローン 2-54balternate (107b)

TTGAAAAAATTACTTCTATTCTATTACTTAGTTGCATTTTTTTTTATGCCAACC  
ATCTCTGCTGAATCTTTAATGCTTCCGCTAAACATGCCTTAGCAGTTGATTTAG  
ATTCAGGAAAAATCTTGTATGAAAAAGATGCTAACAAACCCGCTGCTATTGCTTC  
CTTGACTAAAATAATGACCGTTTATATGGTCTATAAAGAAATTGATAACGGTAAC  
CTCAAGTGGAAATACCAAAGTAAATAATCTGACTACCCTTATCAACTAACACGCG  
AATCTGATGCTAGTAATGTTCCCTTAGAAAAAGGCGCTATACTGTTAAACAAC  
CGTGGACGCTGCCATGATTTCTAGTGCTAACAGTGCAGCCATTGCTTTAGCTGA  
ACATATTTTCAGGAACTGAAAGTAAATTTGTTGATAAAATGACTGCTCAATTGGAA  
AAGTGGGGAATTCATGATAGCCACCTAGTCAATGCTTCTGGCTTAAATAATAGT  
ATGTTAGGCAATCACATTTATCCAAAATCGTCACAAAACGACGAAAAATAAATGA  
GTGCACGTGATATTGCTATTGCTGCCTACCATTGGTCAACGAATATCCTTCCAT  
TCTTAAGATTACTAGTAAGTCCGTTGCTAAATTTGATAAAGATATTATGCATTCTT  
ATAACTACATGCTACCAGATATGCCTGTCTTTAGACCAGGTATTACAGTTTGAA  
AACTGGGACAACGGAATTAGCTGGCCAATCTTTTATTGCTACATCTACTGAAAG  
TGGAATGAGACTACTCACTGTTATTATGCATGCTGATAAGGCCGATAAAGACAA  
ATATGCTCGCTTACAGCAACTAACTCTCTCTTGAACATATCACAAACACCTAC  
GAACCTAACCTTGTATTAGCTAAAGGAGCTGCATATAAAGGTAAAGAAGCAAGT  
GTGAGAGACGGAAAAGAACAATCGGTCATCGCTGTTGCTAAAAACGATTTGAAA  
GTAGTACAGAAGAAAAATATCACTAAACAAAATCAGTTAAAAATTAACCTTTAAAAA  
AGAGCTTACTGCTCCTATTACAAAAAAGAGAACCCTAGGGAAAGCTTATTACGT  
TGACCTTAATAAGGTTGGAAAAGGCTATCTCATAAAGGAACCTAGCGTTTCATTTA  
GTGGCAAAAGATAGTATTGAGCGCAGTTTCTTCCTCAAAGTGTGGTGGAAATCAT  
TTTGTGCGCTACGTTAACGAAAAACTTTAA

MKKIITSILLSCIFFMPTISAESFNASAKHALAVDLDSGKILYEKDKANKPAAIASLTKIM  
TVYMYKEIDNGLKWNKVNISDYPYQLTRESNASNVPLEKRRTYVKQLVDAAMI  
SSANSAIALAEHISGTESKFDKMTAQLEKWIHDSHLVNASGLNNSMLGNHIYPK  
SSQNDENKMSARDIAIAAYHLVNEYPSILKITSKSVAKFDKDIMHSYNYMLPDMPIV  
RPGITGLKTGTTELQSFATSTESGMRLTLVIMHADKADKDKYARFTATNSLLNYI  
TNTYEPNLVLAAGAYKKEASVRDGKEQSVIAVAKNDLKVVQKKNITKQNQLKINF  
KKELTAPITKKENLGKAYYVDLNVGKGYLIKEPSVHLVAKDSIERSFFLKVWWNHF  
VRYVNEKL\*

配列の説明:

A] 長さ:1236 bp - 412 aa (おそらく完全長遺伝子配列)

B] A 潜在的なシャイン・ダルガノ配列が the 推定 'TTG' 開始コドンの前にある(N-末端を検証するためにさらなるクローニングおよび塩基配列決定が必要である)。

## 【図1】

ID-173  
クローン 3-60b

ATGACGCTTCGAGAATTAACAATAGAAGAATTTAAAGAACATTCAGGAAATTATG  
ATTCACAATCATTTCACAAACACCTGAGATGGCTAAACTTTTAGAAAAACGCGG  
CTATGATGTTAGGTATTTGGGATATCAAGTAGAAAATAAACTAGAGATAATCAGT  
TTATCTTATATTATGCCAGTCACTGGTGGTTTTCAAATGAAAATTGATTGAGGAC  
CAGTTCATTCAAATCTAAGTATCTAAAACAATTTTATAAAGCATTGCAAGGCTAT  
GCCAAATCCAACGGTGTCTAGAATTAATAGTTGAGCCTTTTGATGATTACCAAT  
TATTCAGTTCGGGAGTTCCTAGTAATCAGGGAAATGATAATCTGATTGAAG  
ATTTTACCAGTTCAGGTTATCACCATGATGGTTTAACTGGTTTTACTGGTAA  
ATATTTATCTTGGCACTATGTTAAAAATTTAGAAGGTGTCACCTTCTGAAACGTTA  
CTATCTTCATTCTCTAAGACAGGACGAGCTTTGGTTAAGAAAGCAATGTCTTTTG  
GAATCAAGGTTGCGGTTCTTAAACGTGATGAGCTACATTTATTTAAAGAGATAAC  
AATCTTACGTCAAATAGACGTGATTATATGGATAAGTCCTTAGATTATTATCAA  
GATTTTTACGATAGCTTTGAAGGCAAGGCTGAATTTGTGATTGCCACTTTAAATT  
TTAGAGAATACGACCATAACTTGCAAATAAAGCTGAAGCATTGGAAAATAAGC  
TT

MTLRELTIEEFKEHSGNYDSQSFLQTPEMAKLLEKRGYDVRYLGYQVENKLEIISLS  
YIMPVTGGFQMKIDSGPVHSNSKYLKQFYKALQGYAKSNGVLELIVPFDDYQLFT  
SSGVPSNQGNDNLIEDFTSSGYHHDGLTTGFTGKYLWHYVKNLEGVTSSETLLSSF  
SKTGRALVKKAMSFGIKVRVLKRDELHLFKEITSTSNRRDYMDKSLDYYQDFYDS  
FEGKAIEFVIATLNFREYDHNLIKAEALENKL

## 配列の説明

A) 長さ:771 bp - 257 aa (部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-65 遺  
伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-65 遺伝子のすぐ  
下流で同定された。

配列の特徴: 明らかなリーダーペプチド配列は存在しない。orf は潜在的なシャイン・ダルガ  
ノ配列の後にある。

ID-174  
クローン 2-17b (ID-80b)

TTGTCATTAAGTTTGGTTGCAGTGTTAAATCTTATCCCTCCTAAAATCATGGGAT  
CAGTTATTGATGCTATTACAACCTGGAAAATTAACAAGACCACAATTACTATGGAA  
TTTATTAGGTTTGGTTTTGTCAGCTTAGCTATGTATGGGCTGCGTTATATTTGG  
CGTATGTATATTTAGGGACTTCTTACAAATTAGGCCAAGTTGTCAGATACCGTT  
TATTTGAACATTTTACAAAATGTCTCCTTCTTTTTATCAGAAATATCGTACAGGT  
GATTTAATGGCGCACGCGACCAACGACATCAATTCTCTAACACGTCTTGCAGGA  
GGAGGAGTTATGTCAGCAGTGGATGCCTCTATCACAGCATTAGTAACGCTTATC  
ACCATGTTCTTTACTATTTGCGTGGCAAATGACATTAATTGCGGTTATCCCTTTGC  
CCTTAATGGCCTTAGCACTAGTAAATTGGGGCGAAAAACCCATGAAACCTTCAA  
AGAATCTCAGGCAGCCCTTTTCAGAATTAATAATAAAGTG

MSLSLVAVLNLIPPKIMGSVIDAITTGKLRPQLLWNLGLVLSALAMYGLRYIWRMYI  
LGTSYKLGQVRYRLFHFTKMSPSFYQKYRTGDLMAHATNDINSLRLAGGGVM  
SAVDASITALVTLITMFFTISWQMTLIAVIPLPLMALALVNWGEKPMKPSKLNLRQFVS  
ELNNKV

## 【図1】

## 配列の説明

A) 長さ: 534 bp - 178 aa (部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-80 遺伝子配列クローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-80 遺伝子の下流で同定された。

配列の特徴: 明らかなリーダーペプチド配列は存在しない。orf は潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。

ID-175

クローン 2-11Ab (ID-103b)

```
ATGCATATTGAGACTGTTATTGATTTCAAAGAATTAGGAAAAAGATATCGTTTTA
AAAATCCTACAAAAGAATTAATAGCTGATACTTTAGAACAAGTCTTAGAAGTGAT
AAAAGAAGTTGATTATTATCAATCTCAAATTATTATGTTGTTGGTTATTTATCTT
ATGAAGCATCTGCTGCTTTTGATTACATTTTAAAGTTTCTCAACAGAAGTTGGC
TGGAGAACATCTAGCTTATTTTACAGTACATAAAGATTGTGAGAACGAAGCTTTT
CCTTTAAGTTATGAAAATGTTAGATTAGCAGATAATTGGACTGCTAATGTTTCTG
AGCAAGAATATCAAGAGGCAATTGCTAATATTAAGGACAAATTAGACAAGGAA
ATACTTATCAAGTAAATTATACACTAGAGCTTAGCCAACAATTATGCTCGGATCC
```

```
MHIETVIDFKELGKRYRFKNPTKELIADTLEQVLEVIKEVDYYQSQNYVVGYSYEA
SAAFDSHFKVSQKLAGELHAYFTVHKDCENEAFPLSYENVRLADNWTANVSEQE
YQEAIANIKGQIRQGNTYQVNYTLELSQQLCSD
```

## 配列の説明:

A) 長さ: 440 bp - 146 aa (部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは、完全長 ID-103 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、ID-103 遺伝子の下流で同定された。シャイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在し、明白なリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-176

クローン 2-18/22b(b) (ID-104b)

```
GTGAATAATATGTTTTATCTCAAATAGCCTGGCATAATTTAAAACATTCTATAGA
CCAGTACATACCATTCCCTCTTAGCCAGTTTATTACTTTATTCATTGACTTGTTCTA
CGCTACTAATCTTAATGAGTGCTGTTGGAAGAGATATGGGGACAGCGGCAACG
GTTCTTTTTCTTGGAGTGATTGTTTTGTCAATCTTTGCGGTAGTCATGGAACATT
ATAGCTACAATATCTTGATGAAACAGCGTAGTAGTAATTTGGACTGTATAACAT
TTTGGGGATGAATAAACGTCAAGTTGCGCGTGTAGCTAGTCTAGAGCTGTTTAT
TATTTATATATTTCTTATTTCTATAGGAAGTCTGTTTAGTGCTTTTTTTGCTAAA
TATTTATTTAATTTTTGTCAACATTATTAACATCATGCACTAAATCTTAGTTAAG
TTTATGGCCATTTATTTGTATCGTTATATTTACAGGTATTTTTCTGACTTTAG
AAGTTCCAGTTATTCGACATGTTTATTTATCATCCCCATTAAGTCTTTTTAGAAAG
AAACAACAGGGAGAAAAAGAACCAAAAGGTAATCTTATACTTGCAATTTTAGCG
TTAGTAGCTATCGCCATCGCTTATACAATGGCTCTTACTTCAGGTAAGCACCT
GCATTAGCTGTTATCTATCGTTTCTTCTTTGCAGTACTTTTAGTAATTGCTGGTA
CTTATCTTTTTTATATTAGTTTTATGACATGGTACTTAAAAGGTTGCGTCAAAC
AAGCATTATTATAAATCTGAGCATTTTGTATCAACTTCGCAAATGATTTTTCG
AATGAAGCAAATGCAGTAGGGTTAGCAAGTATCACTTTATTAGCTGTTATGGC
```

## 【図1】

TCTAGTTACTATTGCTACAACAGTCTCACTCTATTCAAATACACAAAATGTTGTTA  
 CCGGACTATTTCCAAAATCAGTAAGTTTATCAATAGATAATTCAAAGGTGACGC  
 GAAAAATATATTTGAAGAAAAGATTTTGAAGAACTAGGTAAGTCATCTAAGGAA  
 GCTATCACTTATAATCAGACAATGATTTTCGATGCCAGTTAGTCAATCAAGTGACT  
 TAATATCACATCTA

MNNMFYLKIAWHNLKHSIDQYIPFLASLLLYSLTCSTLLILMSAVGRDMGTAATVLF  
 LGVIVLSIFAVVMEHYSYNILMKQRSSEFGLYNILGMNKRQVARVASLELFIIYIFLISI  
 GSLFSAFFAKFIYLIFVNIINYHALNLSLSLWPFIIICIVIFTGIFLTLEVPVIRHVHLSPLS  
 LFRKKQOGEKEPKGNLILAILALVAIAIAYTMALTSKAPALAVIYRFFFAVLLVIAGTY  
 LFYISFMTWYLRRLRQNKHYYYKSEHFVSTSQMIFRMKQNAVGLASITLLAVMALVT  
 IATTVSLSYNTQNVVTGLFPKSVLSIDNSKGDANKNIFEKILKKLKSSKEAITYNQT  
 MIMPVVSQSSDLISHL

配列の説明:

A) 長さ:1119 bp - 373 aa (部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-104 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-104 遺伝子の 上流で同定された。可能なシャイン・ダルガノ配列が GTG 開始コドンの上流に存在する。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-177

クローン 2-5b (ID-112b)

ATGGTTGAGCCAATTATTTCAATACAAGGACTTCATAAAAGTTTTGGGAAAAATG  
 AGGTTTTAAAAGGCATTGACTTGGATATTCATCAAGGAGAAGTGGTGGTTATTAT  
 TGGCCCTTCTGGCTCTGGTAAGTCAACATTTTAAGAACAATGAATCTCTTGGAA  
 GTACCAACAAAGGGAACAGTGACTTTTGAAGGGATTGATATAACAGACAAAAAG  
 AATGATATTTTTAAAATGCGCGAAAAAATGGGCATGGTTTTTCAACAGTTCAATC  
 TATTTCCCAATATGACTGTACTAGAAAATATTACTTTATCACCTATTAAGACAAAG  
 GGACTTCTAAGCTTGACTGCTCAGACAAAAGCATACGAGCTACTTGAAAAAGTT  
 GGACTCAAAGAGAAGGCTAATGCTTATCCAGCAAGCTTATCTGGAGGACAACAA  
 CAACGGATTGCTATTGCAAGAGGCTTGGCAATGAATCCTGATGTCCTTCTTTTTG  
 ATGAACCTACTTCAGCTCTTGATCCTGAAATGGTAGGTGAAGTCTTGATGTTAT  
 GCAAGATTTAGCTAAATCTGGTATGACGATGGTTATTGTCACTCATGAAATGGT  
 TTTTGCACGTGAAGTAGCGGATCGTGTCATTITTATGGATGCAGGGATTATTGTT  
 GAGCAAGGGACCCCTAAGAAAGTATTTGAGCAGACAAAAGAAATCCGCACAAG  
 AGACTTCTTAAGTAAAGTATTATAA

MVEPIISIQGLHKSFGKNEVLKIDLDIHQGEVVVIIGPSGSGKSTFLRTMNLLEVPTK  
 GTVTFEGIDITDKNDIFKMREKMGVMVFQQFNLFNMTVLENITLSPIKTKGLSKLDA  
 QTKAYELLEKVGLKEKANAYPASLSGGQQORIAIARGLAMNPDVLLFDEPTSAALDP  
 EMVGEVLTVMQDLAKSGMTMVIVTHEMGFAREVADRIVFMDAGIIVEQGTPKKVF  
 QTKEIRTRDFLSKVL\*

配列の説明:

A) 長さ:735 bp - 244 aa (完全長遺伝子)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-112 遺伝子配列クローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-112 遺伝子の 下流で同定された。シャイン・ダルガノ配列が'ATG'開始コドンの前にある。明らかなるリーダー

## 【図1】

ペプチドは存在しない。

ID-178

クローン 2-5c (ID-112c)

ATGTCTCA<sup>s</sup>STATCAAGAGTGGTTAGAAAACGACTCACTCGGTAAAGATATTAAGT  
CAGATTTAGAAGCTATTAAGGAGATGAATCTGAAATTCAGGATCGTTTTTACAA  
AACATTAGAATTTGGAACGGCGGGATTGAGAGGTAACTTGGAGCAGGAACCA  
ATCGTATGAATACTTATATGGTGGGGAAAGCAGCACAAAGCATTAGCTAATCGAT  
TATTGATCATGGCCCTGAAGCTATTGCACGTGGAATTGCAGTTAGTTATGATGT  
CCCGTTATCAATCTAAGGAATTTGCAGAATTA<sup>s</sup>ACTTGGTCCATTATGGCAGCAA  
TGGTATTAAGCCTTATATTTA

MSHMNYKEIYQEWLEND<sup>s</sup>SLGKDIKSDLEAIKGDSEIQDRFYKTLFEGTAGLRGKL  
GAGTNRMNTY<sup>s</sup>MVGKAAQALANRL<sup>s</sup>LIMALKLLHVELQLVMMSRYQSKEFAELTWSI  
MAANGIKALYL

配列の説明:

A) 長さ: 366 bp - 122 aa (部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-112 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-112 遺伝子の下流で同定された。シャイン・ダルガノ配列は 'ATG' 開始コドンの前にある。明らかな潜在的なリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-179

クローン 2-5d (ID-112d)

ATGCAACCTG<sup>s</sup>TAAAAGTCGATGAACCTTCTGTTGAAGAAACCATTACTATTTTTGA  
AAGGTATCCAAAAA<sup>s</sup>AATACGAAGATTATCATCACGTAAAATATAATAATGATGC  
CATAGAAGCAGCTGCAGTACTATCTAATCGTTATATCCAAGACCGCTTTTTACCT  
GATAAAGCAATAGACTTATTAGATGAAGCTGGTTCTAAAATGAACCTAACACTAA  
ATTTTGTGGATCCAAAAGAAATTGATCAACGTCTCATTGAAGCAGAAAATTTAAA  
AGCGCAAGCGACTCGTGAAGAAGATTACGAACGTGCAGCTTACTTCCGTGACC  
AGATTGCAAAATATAAAGAAATGCAGCAACAAAAGGTCGACGATCAAGATACAC  
CTATTATTACCGAAAAA<sup>s</sup>CAATTGAGCACATCATTGAAGAAAAAACGAATATCCC  
TGTTGGTGATTTAAAAGAAAAAGAA<sup>s</sup>CAATCTCAATTAATTAATCTCGCAGATGAC  
TTGAAACAGCATGTGATCGGCCAGGATGACGCTGTCATTAAGATTGCAAAAGCT  
ATTCGTGTAATCGAGTTGGTCTTGGTAGCCCAAACCGTCCTATTGGTTCCTTT  
TTATTTGTAGGACCAACCGGTGTTGGTAA<sup>s</sup>ACTGAACTTTCTAAACA<sup>s</sup>ACTAGCAA  
TTGAGCTCTTTGGTTCAGCTGATAGTATGATTGTTTTGATATGTCAGAGTACAT  
GGAAAAGCATGCTGTTGCTAAATTAGTCGGAGCGCCTCCAGGATACGTGGGAT  
ACGAGGAAGCTGGACA<sup>s</sup>ACTAACTGAAAAGGTTCTGTCGAAATCCTTACTCGCTCA  
TCCTTCTAGATGAAATTGAAAAGCTCATCCCGATGTCATGCATATGTTCTTGCA  
GGTCCTTGATGACGGTCGATTAACAGATGGACAAGGAAGAACTGTTAGTTTTAA  
AGATACCATTATCATCATGACCTCAAATGCTGGTTCTGGTAA<sup>s</sup>ACTGAAGCAAG  
TGTTGGCTTTGGTGCCTCACGAGAAGGTAGGACGAATTCGAGCTCGGTACCCG  
GGGATCCTCTAGAGTCGACCTGCAGGCATGCAAGC

MQPVKVDEPSVEETITILKGIQK<sup>s</sup>KYEDYHHV<sup>s</sup>KYNND<sup>s</sup>IAEAAVLSNRYIQDRFLPKA  
IDLLDEAGSKMNLTLNFVDPKEIDQRLIEAENLKAQATREEDYERAA<sup>s</sup>YFRDQIAKYK

## 【図1】

EMQQQKVDDQDTPITEKTIEHIEEKTNIPVGDLEKEQSQLINLADDLKQHVIGQDD  
 AVIKIAKAIIRNRVGLGSPNRPISFLFVGPTGVGKTELSKQLAIELFGSADSMIRFD  
 MSEYMEKHAVAKLVGAPPGYVGYEEAGQLTEKVRNRPYSLILLDEIEKAHPDVMH  
 MFLQVLDDGRLTDGQGRVTSFKDTIIIMTSNAGSGKTEASVGFASREGRTNSSSV  
 PGDPLESTCRHAS

配列の説明:

A) 長さ:1070 bp ÷ 356 aa (部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-112 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-112 遺伝子の  
 上流で同定された。シャイン・ダルガノ配列は'ATG'開始コドンの前にある。明らかな潜在  
 的なリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-180

クローン 2-7b (ID-113b)

ATGAGAGGGAAGGTTATTTACGGCACAACCCTTATAGGTCTTTTTCTATTCTTAT  
 TTTTCTATTTTTGGATTCTAAGCATCACATCGAGAGAATACATCATCATCGTAT  
 AAAGCAGGTAGATGCGAAGAGTGATTTAACAGGATTTAAAACCCATTTGCCCAT  
 TATCAGCATTGATACAAAGCAACAAGTTATTCCTCTTGTTACAAAAGAAGGCGG  
 AAAATATGTCAAAGCTAGGGATAATATTAATGTTGATATCGAATTACGGGATTCT  
 CCAAGTAGATCACATCATTTATCAGAAAAGCCGAGAATTAGGACAAAAGGGTTA  
 ATATCATATAGAGGAAATTCCTCTCGTTACTTTGATAAGAAGTCATTGAAAGTTA  
 AGTTTGTTACTAATAAGTTAAAGGAAAAGAAGCATCGATTAGCAGGAATGCCTA  
 AAGAATCGGAGTGGGTATTGCATGGTCCCTTTCTAGACAGAACATTATTAAGAA  
 ATTATCTGAGTTATAATATTGCTGGTGAGATTATGCCTATGCCCAAACGTTTCGC  
 TACTGTGAGTTATTTGTCAATGGTGAGTATCAGGGAG

MRGKVIYGTTLIGLFLFFYFWIPKHHIERIHHRKQVDAKSDLTGFKTHLPIISIDT  
 KQQVIPLVTKEGGKYVKARDNINVDIELRDSRSHHLSEKPRIIRTKGLISYRGNSS  
 RYFDKSLKVKFVTNKLKEKKHRLAGMPKESEWVLHGPFLDRTLRLNYLSYNIAGEI  
 MPMPQTFATVSYLSMVSIRE

配列の説明:

A) 長さ:582 bp - 194 aa (部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-113 遺  
 伝子配列クローニングおよび配列分析の際に LEEP で同定された ID-113 遺伝子の下  
 流で同定された。ATG 開始コドンはシャイン・ダルガノ配列の後にある。-可能なリーダーペ  
 プチド配列を有する。C-末端は決定されるべきである。..

ID-181

クローン 2-17b (ID-117b)

CTTCACATTTTATTGATCACTATCTGACAAATGTTAATCAAACAGCAGTTCTTATT  
 TTAGTGGGATATTATTCAATGTATGTCTTGACAGACCTTAATTCAATATTTGGGA  
 ATCTCTTTTTGCGCGTGTCTTATAGTATTGTTAGAGATATTCGTAGAGATGC  
 TTTTGCTAATATGGAAAGGCTAGGCATGTCTTATTTTATGATAGGACACCGGCAGG  
 ATCTATTGTGTCACGTATTAATAATGATACTGAAGCAATATCTGATATGTTTTCG  
 GGTATTTATCAAGTTTTATCTCGGCGATATTTATTTTACAGTTACTCTGTACAC

## 【図1】

TATGTTGATGCTAGACATTAACTAACAGGACTCGTCGCTCTTTTGTACCTGTT  
 ATCTTTATATTAGTGAATGTCTATCGGAAAAAATCAGTCACTGTCATTGCTAAAA  
 CGAGAAGTTTACTTAGTGATATCAACAGTAAATTATCAGAAAGTATTGAAGGAAT  
 TC

SHFIDHYLTNVNQTAVLILVGYYSMYVLQTLIQYFGNLFFARVSYIVRDIRRDAFAN  
 MERLGMSYFDRTPAGSIVSRITNDTEAISDMFSGILSSFISAFIFTVTLYTMLMLDIKL  
 TGLVALLLPVIFILVNVYRKKSVTVIAKTRSLSDINSKLSEIEGI

配列の説明:

A) 長さ: 498 bp - 165 aa (部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-117 遺伝子配列クローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-117 遺伝子の下流で同定された。N- および C-末端はいまだに決定されていない。

ID-182

クローン 3-8b (ID-120b)

ATGTACCATATTGAATTAAGGAAGCTTTACTACCAAGAGAACGCCTAGTTG  
 ATTTAGGCGCAGATAGATTGAGTAATCAGGAGTTATTAGCCATTCTCTTACGTAC  
 AGGTATTAAGAAAAACCTGTTCTTGAAATTTCAACGCAAATTTTAGAAAAATA  
 AGCAGTTTAGCAGATTTTGGTCAATTATCCTTACAGGAGTTGCAATCCATTAAG  
 GAATCGGTCAGGTTAAATCCGTCGAAATAAAAGCTATGCTAGAACTAGCAAAAC  
 GGATTCACAAAGCTGAATATGATCGTAAAGAGCAAATTTAAGTAGTGAACAATT  
 AGCGAGGAAAATGATGCTCGAATTAGGGGATAAAAAACAAGAACATTTAGTAGC  
 TATTTATATGGATACACAAAATCGTATTATCGAACAGAGAACTATTTTATTGGTA  
 CTGTACGTCGTTTAGTAGCAGAGCCAAGAGAAATTTCTACATTATGCTTGTAAAA  
 ACATGGCAACTTCTTTGATTATTATACATAATCATCCCTCAGGTTCTCCAAATCC  
 CAGTGAAGTGATTTAAGTTTCACTAAAAAATAAAACGATCATGTGATCATCTG  
 GGAATTGTCTGCCTAGATCACATCATCGTTGGAAAAAATAAATATTATAGTTTTC  
 GAGAAGAAGCAGATATTTTATAA

MYHIELKKEALLPRERLVDLGADRLSNQELLAILLRTGIKEKPVLEISTQILENISSLAD  
 FGQLSLQELQSIKIGIQVKSVEIKAMLELAKRIHKAEYDRKEQILSSEQLARKMMLEL  
 GDKKQEHVIAIYMDTQNRRIIEQRTIFIGTVRRSVAEPREILHYACKNMATSLIIHNHP  
 SGSPNPSESDLFTKKIKRSCDHLGIVCLDHIIVGKNKYYSFREEADIL\*

配列の説明:

A) 長さ: 681 bp - 227 aa (完全長遺伝子)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-120 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-120 遺伝子の下流で同定された。ATG 開始コドン is 典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。は存在しない。明らかなリーダーペプチド配列が存在する。

ID-183

クローン 3-11b (ID-121b)

TGGTTAAAAGTAGTGATAGCTTGTATTCCATCTATTTTAATTGCTTTACCATTTGA  
 TAATTGGTTTGAAGCTCATTTTAATTTTCATGATTCCGATTGCAATAGCCCTAATCT

## 【図1】

TTTATGGTTTTGTCTTCATATGGGTTGAAAAACGTAATGCACACCTCAAACCACA  
GGTAACCGAATTGGCAAGTATGTCTTACAAGACAGCTTTCTTGATTGGATGTTT  
CCAGGTTCTCAGTATTGTTCCGGGAACCAGTCGTTCTGGAGCTACTATTTTAGG  
AGCAATTATTATTGGAAGTAGTCGTTCCGGTCGCTGCTGACTTTACTTTCTTCCTT  
GCCATCCCAACTATGTTTGGTTATAGTGGACTTAAGGCGGTTAAATATTTTTTAG  
ATGGTAACGTCTTGAGTTTAGACCAATCTTTAATACTTTTAGTAGCAAGTCTGAC  
AGCTTTCGTAGTTAGTTTATATGTTATTCGTTTCTTGACAGACTATGTCAAACGA  
CACGATTTACCATCTTTGGTAAGTATCGTATAGTCTTAGGAAGTTTACTCATCC  
TCTACTGGTTAGTTGTTCAATTTATTCTAA

WLKVVACIPSIILPFDNWFEAHFNFMIPAIALIFYGFVFIWVEKRNAHLKPQVTEL  
ASMSYKTAFLIGCFQVLSIVPGTSRSGATILGAIIGTSRSVAADFTFFLAIPTMFGYS  
GLKAVKYFLDGNVLSLDQSLILLVASLTAFFVVSLEYVIRFLTDYVKRHDFTIFGKYRIVL  
GSLILYWLVVHLF\*

配列の説明:

A) 長さ:579 bp - 193 aa (部分的配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは WO 00/06736 に記載の完全長 ID-68 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-68 遺伝子の下流で同定された。N-末端はいまだに決定されていない。

ID-184

クローン 3-11c (ID-121c)

ATGGAAATGAAACAAATCAGTGAAACAACACTGAAAATTACAATTAGTATGGAAG  
ATTTAGAAGATCGTGGTATGGAGCTGAAAGATTTCCCTAATCCCTCAGGAGAAGA  
CTGAGGAATTTTTCTATTCTGTCATGGATGAATTAGACTTGCCAGAAAACCTTTAA  
AAATAGTGGTATGTTAAGTTTTCGAGTAACACCTAAAAAGATCGCATTGATGTT  
TTTGTACAAAGTCTGAATTAAGTAAAGATTTAAATTTAGAAGAATTAGCAGATTT  
GGGTGACATTTCAAAAATGTCTCCAGAAGACTTTTTTAAAACCTTGGAACCAATCG  
ATGTTGGAAAAAGGGGATACGGATGCCCATGCCAAATTAGCAGAAATTGAAAAT  
ATGATGGATAAAGCAACTCAAGAAGTAGTTGAGGAAAATGTTTCTGAAGAACAA  
CCTGAAAAGGAAGTAGAAACGATTGGATATGTTCACTATGTCTTTGATTTTGATA  
ATATTGAAGCTGTAGTTCGATTTTCACAAACGATTGATTTTCCAATAGAAGCTT

MEMKQISETTLKITISMEDLEDRGMELKDFLIPQEKTEEFFYSVMDELDLPENFKNS  
GMLSFRVTPKKDRIDVFVTKSELSKDLNLEELADLGDISKMSPEDFFKTLEQSMLEK  
GDTDAHAKLAEIENMMDKATQEVVEENVSEEQPEKEVETIGYVHYVDFDNIEAVV  
RFSQTIDFPIEA

配列の説明:

A) 長さ:547 bp - 182 aa (部分的配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-68 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-68 遺伝子の下流で同定された。ATG 開始コдонは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。明らかな可能なリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-185

クローン 3-16b (ID-122b)

## 【図1】

GGAAACCAACGGCCAGTACAATCGTCAAGGGTAGATTATCCTAAACGTAGTCGT  
 GCCAAGATTGTAGAAGTTTATTTTAGACAAGCTTCTACTACTGATTATTCTGGTG  
 TTTACAAAGGTTACTATATTGACTTTGAAGCCAAAGAAACCCGGCAGAAAACCTG  
 CTATGCCTATGAAAAATTTTCATGCTCACCAAATAGAGCACATGGCAAATGTATT  
 ACAGCAAAAAGGGATTTGCTTTGTCTTGCTTCATTTTTCCACACTTAAGGAAAOC  
 TATCTACTCCCTGCTAATGAGTTAATTTTCATTTTATCAGATTGATAAAGGCAATAA  
 ATCAATGCCTATTGATTATATCAGAAAAATGGATTTTTTCGTAAAGGAGAGTGCC  
 TTTCTCAAGTCCCTTACTTAGATATTATTGAAGAAAAATTATTAGGCGGTGATT  
 ACAATTAA

GNQRPVQSSRDYPKRSRAKIVEVYFRQASTTDYSGVYKGYIIDFEAKETRQKTA  
 MPMKNFHAHQIEHMANVLLQKQKICFVLLHFSTLKETYLLPANELISFYQIDKGNKSM  
 PIDYIRKNGFFVKESAFPQVPYLDIIEEKLLGGDYN\*

配列の説明:

A] 長さ: 447 bp - 149 aa (部分的配列)

B] この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-122 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-122 遺伝子の  
 上流で同定された。N-末端はいまだに決定されていない。

ID-186

クローン 3-17b (ID-123b)

GGATCCTAAAAACGCTAAGGTTTATCAAAAAAATGCTGATCAATTTAGTGACAAG  
 GCAATGGCTATTGCAGAGAAGTATAAGCCAAAATTTAAAGCTGCAAAGTCTAAA  
 TACTTTGTGACTTCACATACAGCATTCTCATACTTAGCTAAGCGATACGGATTGA  
 CTCAGTTAGGTATTGCAGGTGTCTCAACCGAGCAAGAACCCTAGTGCTAAAAAAT  
 TAGCCGAAATTCAGGAGTTTGTGAAAACATATAAGGTTAAGACTATTTTTGTTGA  
 AGAAGGAGTCTCACCTAAATTAGCTCAAGCAGTAGCTTCAGCTACTCGAGTTAA  
 AATTGCAAGTTTAAAGTCTTTAGAAAGCAGTTCCCAAAAACAATAAAGATTACTTA  
 GAAAATTTGGAAACTAATCTTAAGGTAAGTGTCAAATCGTTAAATCAATAG

DPKNAKVYQKNADQFSDKAMAIAEKYKPKFKAASKYFVTSHTAFSYLAKRYGLTQ  
 LGIAGVSTEQEPSAKKLAIEIQEFVKTYKVKTFVEEGVSPKLAQAVASATRVKIASLS  
 PLEAVPKNNKDYLENLETNLKVLVKSLSLQ\*

配列の説明:

A] 長さ: 433 bp - 144 aa (部分的配列)

B] この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-123 遺伝子配列クローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-123 遺伝子の下  
 流で同定された。N-末端はいまだに決定されていない。

ID-187

クローン 3-46/47 (ID-130b)

ATGAAAAAAGTCATCGATTTAAAAAACTACAAAAAGCATACGCCTCAGAAACTG  
 TTTTAAATAATATTAATTTGGAGGTGTTTAAAGGAGAAATAATTGGATTAATAGGA  
 CCCTCTGGAGCAGGAAATCTACCTTGATTTAAACTATGCTTGGCATGGAAAAA

## 【図1】

GCAGATAAGGGAACAGCTCTTGTTCTTGATACTCAAATGCCAGATCGTAATATTT  
 TAAATCAAATTTGGCTATATGGCTCAATCTGATGCCTTACACGAGTCTTTAACTGG  
 CTTAGAAAATTTATTATTCTTTGGAAAAATGAAAGGTATTCAAAAACTGAATTAA  
 AACAGCAGATAACTCATATTTCTAAAGTAGTAGATCTAGAAAACCAACTTGATAA  
 ATTTGTCTCAGGTTACTCAGAAGGTATGAAAAGACGGCTTTCTCTAGCCATCGC  
 CCTACTTGGAAACCCACAGTTTAATCCTAGATGAACCTACCGTTGGAATTGA  
 TCCATCCTTGAGGAGAAAAATCTGGCAAGAGCTAATTAATTAAGGATGAAGG  
 ACGTTCTATCTTTATTACAACCCACGTTATGGATGAAGCAGAATTAACAAGTAAG  
 GTTGCACTACTATTACGTGGAAACATTATTGCCTTTGATACTCCATTACATTTAA  
 AAAACAATTTAATGTGAGTACTATTGAGGAAGTTTCTTAAAAGCTGAAGGAGA  
 ATAA

MKKVIDLKKLQKAYASETVLNNINLEVFKEIIGLIGPSGAGKSTLIKTMLGMEKADK  
 GTALVLDTQMPDRNINLQIGYMAQSDALHESLTGLENLLFFGKMKGIQKTELKQQIT  
 HISKVVDLENQLDKFVSGYSEGMKRRLSLAIALGNPTVLILDEPTVGI DPSLRRIKW  
 QELINIKDEGRSIFITTHVMDEAELTSKVALLLRGNIIAFDTPLHLKKQFNVSTIEEVFL  
 KAEGE\*

## 配列の説明:

A] 長さ: 717 bp - 239 aa (可能な full-長さ配列)

B] この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-130 遺伝子配列クローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-130 遺伝子の上流で同定された。ATG 開始コドンは潜在的なシャイン・ダルガノの後にある。明らかな可能なリーダーペプチド配列は存在しない。

ID-188

クローン 3-83b (ID-144b)

ATGGTACAAATGATACATGATATGATTAACAATTGAGCATTGCTGAGACAC  
 AAGCTGATTTTCCAGTGTATGATATTTAGGGGAAGTCCATACTTATGGACAAC  
 TAAAGTAGACTCTGACTCTCTAGCTGCTCATATTGATAGCCTAGGCCTTGTTGA  
 AAAATCACCTGTCTTAGTATTCGGTGGTCAAGAATATGAAATGTTGGCGACATTT  
 GTTGCTTTAACAAGTCAGGGCATGCTTATATACCGGTTGACCAACACTCTGCT  
 TTGGATAGAATACAGGCTATTATGACAGTTGCTCAACCAAGCCTTATCATTTCAA  
 TTGGTGAATTTCTCTTGAAGTTGATAATGTCCCAATCCTAGACGTTTCTCAAGT  
 TTCAGCTATTTTTGAAGAAAAGACTCCTTATGAGGTAACACATTCTGTTAAAGGT  
 GATGATAATTACTATATTATTTTCACTTCAGGGACTACTGGTTTACCAAAGGTG  
 TGCAAATTTACATGACAATTTATTGAGCTTTACAAATTGGATGATTTCTGATGAT  
 GAGTTTTCAGTTCCTGAAAGACCGCAAATGTTGGCTCAACCC

MVQMIHDMIKTIEHFAETQADFPVYDILGEVHTYGQLKVDSDSLAAHIDSLGLVEKS  
 PVLVFGGQEYEMLATFVALTKSGHAYIPVDQHSALDRIQAIMTVAQPSLIISIGEFPLE  
 VDNVPILDVSVSAIFEEKTPYEVTHSVKGDNYIIFTSGTTGLPKGVQISHDNLLS  
 FTNWMISDDEFVPERPQMLAQP

## 配列の説明:

A] 長さ: 592 bp - 197 aa (部分的配列)

B] この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-144 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-144 遺伝子の下流で同定された。推定 ATG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。リ

## 【図1】

リーダーペプチド配列は存在しない。この orf は nuc とインフレームではなかった。

ID-189

クローン 3-86b (ID-145b)

```

ATGGAAAATCATCGTTATGAAGATGAAGGTA AATTCCAGCGTAAGATGACCAGT
CGTCATCTCTTTATGTTATCGCTAGGTGGTGTTATCGGGACTGGGCTTTTCTTG
AGTTCAGGTTATACCAATTGCACAGGCTGGTCCGCTTGGAGCTGTGCTGTCTTAT
TTGATTGGTGCCGTTGTGGTTTATTTGGTCATGCTATCACTTGGGGAATTGGCG
GTTGCCATGCCGGTGACGGGGTCAATCCACACTTATGCCACTAAGTTTATCAGT
CCTGGAACAGGTTTTACTGTTGCTTGGCTATATTGGATTTGTTGGACGGTCGCC
TTGGGGACTGAATTTTTAGGTGCTGCCATGCTGATGCAGCGCTGGTTCCCAAAT
GTGCCGGCTTGGGCATTTGCTTCCTTTTTGCCCTTGTGATTTTTGGTTAAATG
CTCTTAGCGTACGCTTTTTGCAGAAGCAGAGTCTTCTTCTCAAGTATTAAGGT
TATTGCTATCATTATCTTTATTATCTTGGGCTTAGGTGCTATGTTTGGTCTAGTTT
CCTTTGAAGGTCAGCACAAAGGCTATTCTCTTCACTCATCTGACTGCCAATGGTG
CCTTCCCAAATGGTATCGTTGCAAGTTGTCTCAGTCATGTTGGCTGTTAACTATGC
CTTCTCTGGTACTGAGTTAATTGGTATTGCGGCTGGTGAAACGGATAATCCCAA
AGAAGCTGTACCAAGGGCTATTAACGACAATCGGTCGCTTGGTTGTTTTCTT
TGTACTGACAATTGTTGTCTTAGCTTCGCTATTGCCAATGAAAGAGGCAGGCGT
ATCCACAGCACCATTTCGTTGATGTCTTTGACAAGATGGGAATCCCTTTTACGGC
GGATATCATGAACTTCGTTATCTTGACAGCCATCCTGTCTGCTGGTAACTCAGG
TCTCTACGCATCAAGCCGATGCTCTGGTCCCTTGCCAATGAAGGTATGTTGTC
AAAATCTGTTGTGAAAATCAATAAACACGGGTGTCCCAATGCGTGCTCTTCTCTTG
TCAATGGCAGGAGCAGTGCTGTGCTCTTTTCAAGTATTTACGCTGCAGACACA
GTTTATCTAGCCTTGGTTTCAATCGCGGGCTTTGCTGTTGTTGTCGTATGGCTA
GCCATTCCAGTCGCACAAATCAATTTCCGCAAGGAATTC

```

```

MENHRYEDEGKFQRKMTSRHLFMLS LGGVIGTGLFLSSGYTIAQAGPLGAVLSYLI
GAVVVYLVMLS LGELAVAMPVTGSFHTYATKFISPGTGFTVAWLYWICWTVALGTE
FLGAAMLMQRWFPNVPWAFASFALVIFGLNALSVRFFAEAESFFSSIKVIAIIIFIL
GLGAMFGLVSFEGQHKAILFHTL TANGAFPNGIVAVVSVMLAVNYAFSGTELGIAA
GETDNPKEAVPRAIKTTIGRLVFFVLTIVVLASLLPMKEAGVSTAPFVDVFDKMGIP
FTADIMNFVILTALSAGNSGLYASSRMLWSLANEGMLS KSVVKINKHGVPMRALLL
SMAGAVLSLFSSIIYAADTVYLALVSIAGFAVVVVWLAIPVAQINFRKEF

```

配列の説明:

A) 長さ: 1126 bp - 393 aa (部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-145 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-145 遺伝子の下流で同定された。推定 ATG 開始コドンは典型的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。潜在的なリーダーペプチド配列を有する。

ID-190

クローン 3-94b

```

TCAGAAAATGCAGAGGCAGCAACGGTTGCCACAACTTGGTTACCAAAGGAGC
TAATGTCATTATCGGACCAGCAACATCGGGTGCAGCTGCATCTTCAACTCCAAA
AGTAAATGCAGCAGCAGTTCCAATGATTGCACCTGCTGCGACACAAGACAATTT
AGTCTATGGTTCTGATGGAAAAACCTTAAATCAGTATTTCTTCCGAGCTACTTTT

```

## 【図1】

GTGATAATTATCAAGGAAAGCTATTGTCTCAGTATGCTACAGACAACCTTAAAG  
 CTA AAAAAGTTGTTCTATTTTATGATAATTCATCAGATTACTCAAAGGGGGTAGC  
 AAAATCATTTAAGGAAAGTTATAGTGGAAAATTGTTGATAGTATGACATTCTCC  
 GCTGGTGATACTGATTTCCAAGCGTCATTGACTAAGTTGAAAGGGAAAGAATAT  
 GATGCTATTGTGATGCCAGGTTACTATACCGAGACAGGATTAATAGTTAAGCAA  
 GCGCGTGATTTAGGTATCTCTAAACCGGTTCTTGGGCCTGATGGTTTTGATAGT  
 CCGAAATTTGTGCAATCGGCAACACCTGTAGGAGCTTCAAACGTTTATTATTTG  
 ACAGGTTTCACTACACAAGGATCAACCAAAGCTAAAGCT

SENAEATVATNLVTKGANVIIGPATSGAAASSTPKVNAAAVPMIAPAATQDNLVYG  
 SDGKTLNQYFFRATFVDNYQGKLLSQYATDNLKAKKVLFYDNSSDYSGKVAKSF  
 KESYSGKIVDSMTFSAGDTDFQASLTKLKGKEYDAIVMPGYTETGLIVKQARDLGI  
 SKPVLGPDGFDSPKFVQSATPVGASNYYLTGFTTQGSTKAKA

## 配列の説明

A] 長さ:637 bp - 231 aa (部分的配列)

B] この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-149 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-149 遺伝子の 上流で同定された。N- および C-末端はいまだに決定されていない。

ID-191

クローン 2-c94b (ID-153b)

TTGGGACTTAAAGACCATGCTTTAGTCTATCCATTTTCATTATCTGGGGGGGCAAA  
 AGCAACGTGTCGCACTAGCTCGTGCGATGATGATTGATCCACAGATTATTGGTT  
 ATGATGAGCCAAGTAGCGCTCTTGATCCAGAGTTGCGTCAAGAAGTAGAAAAAC  
 TAATTTTACAAAATAGAGAAACAGGTATGACACAAATTGTAGTAACACATGATCT  
 TCAATTTGCTGAAAGTATATCTGATACGATTCTCAAATAATCCTAAGTAG

MGLKDHALVYPFSLSGGQKQRVALARAMMIDPQIIIGYDEPTSALDPELRQEVEKLIL  
 QNRETGMTQIVVTHDLQFAESISDTILKINPK\*

## 配列の説明

A] 長さ:270 bp - 90 aa (部分的配列)

B] この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは ID-153 遺伝子配列クローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-153 遺伝子の 上流で同定された。N-末端はいまだに決定されていない。

ID-192

クローン 2-c1b (ID-155b)

ATGACTAATATCTCAGATGTTCCAAAAGCTATTAGAACACAGGCACAGTATGTTT  
 TCTTGGGAATGAGAGTTATGGATCAGTCGGTATTACCGAAAACATATAATTCAA  
 AGAACCTTATTTGAAACCAGATATGATTTATATTCATGATAGAAGACAAGAGACA  
 ATGCTTAAAATCACTCAAGAAATAGAAATGGAGCATTGA

MTNISDVPKAI RTQAQYVLLGMRVMDQSVLPKTYNSKEPYLKPDMIIYHDRRQETM  
 LKITQEIEME H\*

## 【図1】

## 配列の説明

A) 長さ: 204 bp - 68 aa (部分的配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは D-155 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-155 遺伝子の上流で同定された。ATG 開始コドンは潜在的な潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。典型的なリーダーペプチドを有する。N-末端はいまだに検証されていない。

ID-193

クローン 2-54altb (ID-172b)

```
AAGCTTGCATGCCTGCAGGTCGACTCTAGAGGATCTTGGGGAATATAAAATTTGG
ATTTTCATGACGATGTAAAGCCAATTTATTCTACGGGAAAAGGTCTAAATGAGGC
TGTTATTCGTGAGTTATCTGCAGCTAAGGGTGAACCTGAGTGGATGTTGGACTT
TCGTCTAAAATCCTTGGAAACGTTTAATAAAATGCCGATGCAGACCTGGGGAGC
AGATTTATCAGATATTGATTTTATGATGATATTATTTATTATCAAAAAGCATCTGATA
AACCTGCGCGTGATTGGGATGATGTTCCAGAAAAAATCAAAGAACTTTTGA
GAATTGGGATTCCAGAAGCTGAAAGAGCCTATCTTGCAGGAGCATCAGCACAA
TATGAATCAGAAGTAGTTTATCACAATATGAAAGAAGAATATGATAAGCTGGGTA
TTGTTTTTACGGATACTGACTCTGCACTTAAAGAGTACCCAGAGCTATTCAAAA
ATATTTTGTAACTTGTCCCTCCAACAGATAATAAAATTAGCTGCTCTGAACTCT
GCTGTATGGTCAGGTGGAACATTTATTTATGTTCCCTAAAGGTGTTAAGGTGGAT
ATTCCACTTCAAACCTTACTTCCGTATTAATAATGAAAATACTGGACAATTTGAAC
GACTCTCATTATTGTTGATGAGGGAGCAAGTGTTCACTATGTTGAAGGTTGTA
CCGCCCAACTTATTCTTCAAATAGTTTACATGCAGCTATAGTTGAAATTTTTGC
ACTTGATGGAGCTTATATGCGCTATACGACTATTCAAAATTGGTCCGATAATGTC
TATAATTTAGTGACAAAACGTGCTACCGCTAAAAAAGATGCAACAGTTGAGTGG
ATAGATGGAATCTAGGAGCTAAAACAACAATGAAATACCCATCGGTTTACCTT
GATGGTGAAGGAGCACGTGGCACGATGTTGTCTATTGCTTTTGCAAACAAAGG
ACAACACCAAGATACGGGTGCAAAGATGATTCATAATGCCCCCCATACTAGTTC
ATCCATTGTCTCTAAATCAATTGCTAAGGGTGGGGGAAAAGTTGATTATCGAGG
TCAAGTGACATTTAATAAAGATTCCAAAAAATCAGTGTCACATATAGAATGTGAC
ACCATATTGATGGATGATATTTCAAATCAGATACCATACCGTTTTAATGAGATTC
ATAATTCACAGGTTGCTTTAGAGCATGAAGCAAAGGTGTCTAAGATTTCTGAAG
AGCAACTGTACTACTTGTGATGAGTCGAGGTTTATCTGAAGCTGAAGCAACAGAAA
TGATTGTTATGGGGTTTGTGAGCCCTTACGAAAGAATTACCAATGGAATATG
CGGTAGAGTTAAATCGTTTAATTTCTATGAAATGGAAGGTTTCAAGTTGGTTAA
```

```
MHACRSTLEDLGEYKFGFHDDVKPIYSTGKGLNEAVIRELSAAKGPEWMLDFRLK
SLETFNKMPMQTWGADLSDIDFDDIIYYQKASDKPARDWDDVPEKIKETFERIGIPE
AERAYLAGASAQYSEVVYHNMKEEYDKLGIVFTDSDSALKEYPELFFKYFAKLVP
PTDNKLAALNSAVWSSGTFIYVPKGVKVDIPLQTYFRINNENTGQFERTLIIVDEGAS
VHYVEGCTAPTYSSNSLHAAIVEIFALDGAYMRYTTIQNWSDNVYNLVTKRATAKK
DATVEWIDGNLGAKTMMKYPSVYLDGEGARGTMLSI AFANKGQHODTGAKMIHNA
PHTSSSIVSKSIKGGGKVDYRGQVTFNKDSKKS SVSHIECDTILMDDISKSDTIPFNE
IHNSQVALEHEAKVSKISEEQLYYLM S RGLSEAEATEMIVMGFVEPFTKELPMEYAV
ELNRLISYEMEGSVG*
```

## 配列の説明:

A) 長さ: 1411 bp - 469 aa (可能な完全長遺伝子)

## 【図1】

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-72 遺伝子配列クローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-72 遺伝子の下流で同定された。TTG 開始コドンの不十分な配列データの上流に明らかなシャイン・ダルガノ配列は存在しない)。N 末端は検証が必要である。

ID-194  
クローン 3-1b (ID-81b)

```
ATGATAGAAATTCCTTTCTAATATCAGAACAGAGATTCCGCAGATGCCTTTACTTA
TCCATAGTTTGATTTTATCTGTCTTACCTTTTCTGATGTGGCTGACTTTGGTTAAT
AGAGATAAGCCTTTGTATAAACTATTTGGAGTATCCTTTTAGGACTTCAGTTAA
TTACGATTTATACTTGGTTTTCTGGGCAAAATTGCCTTTATCTGAAAGTCTTCC
CCTTACCATTGTGCAATAGGCATGTTTGTGGTCTCTTA
```

```
MIFFSNIRTEIPQMPLLIHSLILSVLPFLMWLTLVNRDKPLYKTIWSILLGLQLITYTW
FFWAKLPLSESLPLYHCRIGMFVGLL
```

## 配列の説明

A) 長さ: 261 bp - 87 aa (部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-81 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-81 遺伝子の下流で同定された。

配列の特徴: 潜在的なリーダーペプチド配列を有する。orf は潜在的なシャイン・ダルガノ配列の後にある。

ID-195  
クローン RS-55b

```
AAGCTTGTGCAAAGTATTAAGAGATAGGATTAGCTAATGCGCATTTATTAGCTG
TTGCTCCGACAGGGTCAATCAGTTATCTTTCTTCTTGTACTCCGAGCCTTCAAC
CGGTTGTATCACCTGTGGAAGTACGCAAGGAAGGAGCACTGGGGAGGGTTTAT
GTAGCTGCTTATAAGATTGATGCAGATAATTATGTCTACTACAAAAAAGGAGCTT
ATGAAGTGGGATCTGAGGCGATTATCAATATTGCAGCTGCCGCTCAAAAACACA
TTGATCAAGCTATTTTCGTTAACGCTTTTCATGACAGATCAAGCAACTACGCGAG
ATTTAAATAAAGCCTATATTCAAGCATTTAAACAAAAATGTGCCTCTATTTATTAT
GTACGAGTGAGACAGGACATCCTAGAAGGTAGCGAGAGTTATGATGATATGCT
GGATGATTTCACTTCATCGGACTTAGAAGACTGTCAATCCTGCATGATTTAA
```

```
>KLVQSIKEIGLANAHLAVAPTGSISYLSSTPSLQPVV/SPVEVRKEGALGRVYVAA
YKIDADNYVYKKGAYEVGSEAIINIAAAAQKHIDQAI/SLTLFMTDQATTRDLNKAYIQ
AFKQKCSIYYRVRQDILEGSESYDDMLDDFTSSDLEDCQSCM*
```

## 配列の説明:

A) 長さ 486 bp - 162 aa (部分的配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-87 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-87 遺伝子の下流で同定された。N-末端は決定されるべきである。

ID-196

## 【図1】

クローン RS-59(ID-90b)

GTGAGGACATATATTACAAACTTGAATGGACATTCAATCACTAGTACAGCACAAA  
 TAGCTCAAACATGGTAACAGATATAGCAGTAAGCTTAGGTTTTTCGTGAGCTGG  
 GAATACATTCTTATCCGATTGATACTGATTCTCCTGAGGAAATGAGTAAGCGTTT  
 AGATGGAATCTGTTCCGGACTTAGAAAAAATGATATTGTCATATTTTCAGACACCT  
 ACATGGAACACTACAACFTTTGATGAAAAATTATTTCAAAAATTAATAATTTGG  
 TGTAAGATTGTTATTTTTATACATGATGTTGTACCGCTAATGTTTGATGGAAATT  
 TTTATTTGATGGATAGAACTATAGCTTATTATAATGAAGCAGATGTTAATAGCC  
 CCTAGTCAAGCAATGGTCGATAAGCTT

MRTYITNLNGHSITSTAQIAQNMVTDIAVSLGFRELGIHSYPIDTDSPEEMSKRLDGI  
 CSGLRKNDIVIFQPTWNTTTFDEKLFHKLKIFGVKIVIFIHVVPLMFDGNFYLMDRY  
 IAYYNEADVLIAPSQAMVDKL

配列の説明:

A) 長さ: 414 bp - 138 aa(部分的遺伝子)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-90 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-90 遺伝子の下流で同定された。明らかなシグナルペプチドは存在しないが、可能なシャイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在する。C-末端はいまだに決定されていない。

ID-197

クローン RS-59c (ID-90c)

CATGGAAATGAAGTTGATGATGTTATTAGAAGGGCATTGAATATAATCACCTTA  
 TCTTTGCTTTTGATAATACCTGTCATAACAGAGAGTTAGTATTAGATAGCAATAT  
 CATTCTCACACAACCTGTGAACAATTGATAAATTTAATGAAAAATTTATCAGGC  
 TCCATTATGTATTTGCTAGAGCAACAAAGAGAACAACAAGTAATGAAACAAAAG  
 AGCGTTATAAAGAAATATTAGGAGGGTATGGAAATGCCTAA

HGNEVDDVIRRAFEYNHLIFAFDNTCHNRELVLDSNIISHTTCEQLINLMKNLSGSIM  
 YLLEQQREQTSNETKERYKEILGGYGNA\*

配列の説明:

A) 長さ: 261 bp - 87 aa(部分的遺伝子配列)

B) この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-90 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-90 遺伝子の下流で同定された。N-末端はいまだに決定されていない。

ID-198

クローン RS-70b (ID-93b)

ACATTTTTATATTATGATTTGAAGACGTAGCCACCCAGTCAAATATGACTGGGA  
 AGATTTTTAGTATGTCTAAAGAAGAGTTGTCATATTTACCCGTTATTAACFTTTT  
 AAGAATCAAGGTGTATACAACGGCTTGATTGGTCTATTCTCCTTTATGGGTTAT  
 ATATTTACAGAATCAAGAAATTGTAGCTATTTTTTAATCAATGTGTTGCTAGTT  
 GCTGTTTATGGTGCTTTGACAGTTGATAAAAAAATCTTATTA AACAGGGTGGTT  
 TACCTATATTAGCTCTTTAACATTCTTATTTTAA

## 【図1】

TFLYYVFEDVATQSNMTGKIFSMSKEELSYLPVIKLFKNQGVYNGLIGLFLLYGLYIS  
 QNQEIVAIFLINVLLVAVYGALTVDKILLKQGGLPILALLTFLF\*

配列の説明:

A] 長さ:312 bp - 104 aa (部分的遺伝子配列)

B] この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-93 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-93 遺伝子の上流で同定された。N-末端はいまだに決定されていない。

ID-199

クローン RS-70c (ID-93c)

ATGAAATTAAGTGTCTTGATTATGGGCTTATTGATTATGGAAAACTGCAAGTG  
 ATGCAATACAAGAAACGATTCTTTTATCACAAGAGGCGGAGCAACTAGGCTATC  
 ATCAATTTTGGGTGGCTGAACATCACGGTGTAAAGGCATTGAGTATTAGCAATC  
 CAGAATTAATGATAATGCATTTGGCTAACCCAGACTAAATCTATCAAAAATTGGCTC  
 TGGAGGTATAATGCCTCTGCACTATAGTAGTTTTAACTCGCGGAGACTCTCAA  
 GACATTAGAGACATGTCATCCGAATCGAGTAAGTATTGGTTTAGGAAATTCCT  
 AGGGACAGTTAAAGTTTCAAATGCACTTCGTAGCTTACATAAAGCACATGATTAC  
 GAAGAGGTACTGGAGGAATTGAAGTCATGGCTTATTGATGAATCATCCAGTAAG  
 GAACCATTAGTTCAACCGACTCTTCTAGCTTCCCAGACTTATATGTGTTGGGG  
 AGTGGTCAAAAATCAGCTTATTTAGCGGCTAAACTTGGCTTAGGCTTTACCTTC  
 GGTGTTTTTCTTTTTATGGACAAAGACCCATTGACAGAAGCTAAA

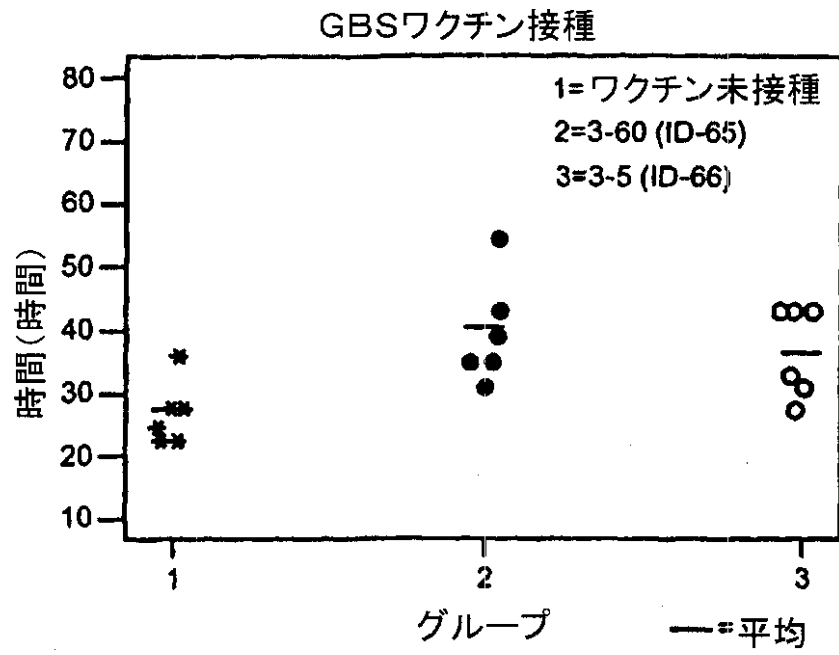
MKLSVLDYGLIDYGKTASDAIQETILLSQEAELGYHQFWVAEHHGVKAFSISNPEL  
 MIMHLANQTKSIKIGSGGIMPLHYSSFKLAETLKTLETCHPNRVSIGLGNLSLGTVKVS  
 NALRSLHKAHDYEEVLEELKSWLIDESSSKEPLVQPTLSSFPDLYVLGSGQKSAYLA  
 AKLGLGFTFGVFPFMDKDPLTEAK


配列の説明:

A] 長さ:588 bp - 196 aa (部分的)

B] この遺伝子配列は LEEP システムを用いて同定されなかった。それは完全長 ID-93 遺伝子配列のクローニングおよび配列分析の際に、LEEP で同定された ID-93 遺伝子の下流で同定された。明らかなシグナルペプチドは存在しないが、シャイン・ダルガノ配列が ATG 開始コドンの上流に存在する。

【図2】



【 3】

nucS1

Bgl II Eco RV

5'-cgagatctgatctccacaaacagataacggcgtaaatag -3'

nucS2

Bgl II Sma I

5'-gaagatcttccccgggatcacaaacagataacggcgtaaatag -3'

nucS3

Bgl II Eco RV

5'-cgagatctgatccatcacaaacagataacggcgtaaatag -3'

nucR

Bam HI

5'-cgggatccttatggacctgaatcagcgttgtc -3'

NucSeq

5'-ggatgctttgtttcaggtgtatc -3'

pTREP<sub>F</sub>5'-catgatatoggtacotcaagctcatatcattgtccggcaatggtgtggggttttttgttttagcggataa  
caatttcacac -3'pTREP<sub>R</sub>5'-goggatccccogggcttaattaatgtttaaacactagtcogaagatctcgggaattctcctgtgtgaatt  
gttatccgcta -3'pUC<sub>F</sub>

5'-cgccagggttttccagtcacgac -3'

V<sub>R</sub>

5'-tcagggggggcggagcctatg -3'

V<sub>1</sub>

5'-tctatgttgtgtggaattgtg -3'

V<sub>2</sub>

5'-tccggctcgtatgttgtgtggaattg -3'

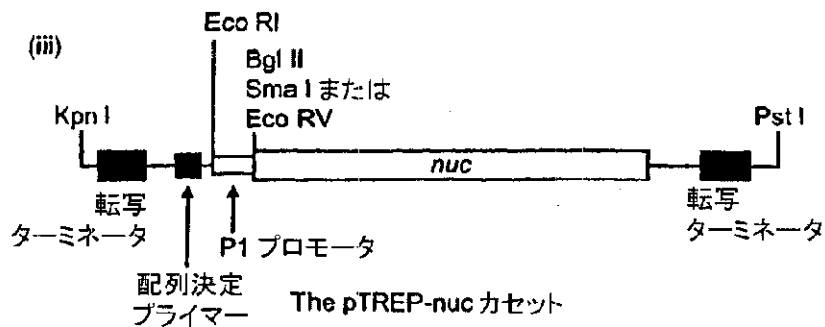
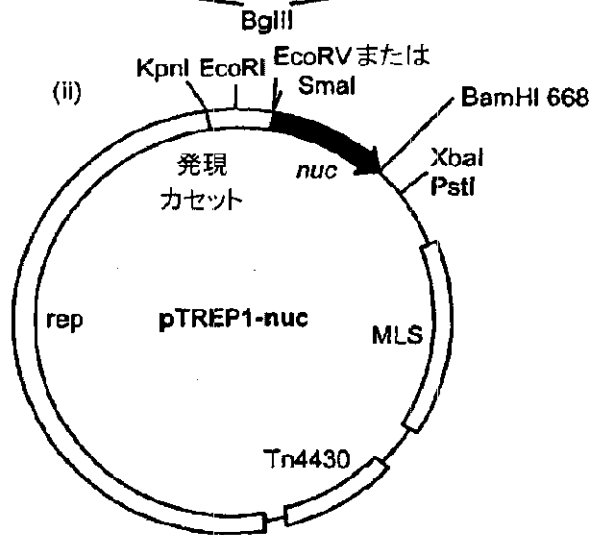
【図4】

ヌクレアーゼ遺伝子について各枠内に

(i) ゲノムDNAのクローニングを可能にするpTREP-Nucベクター

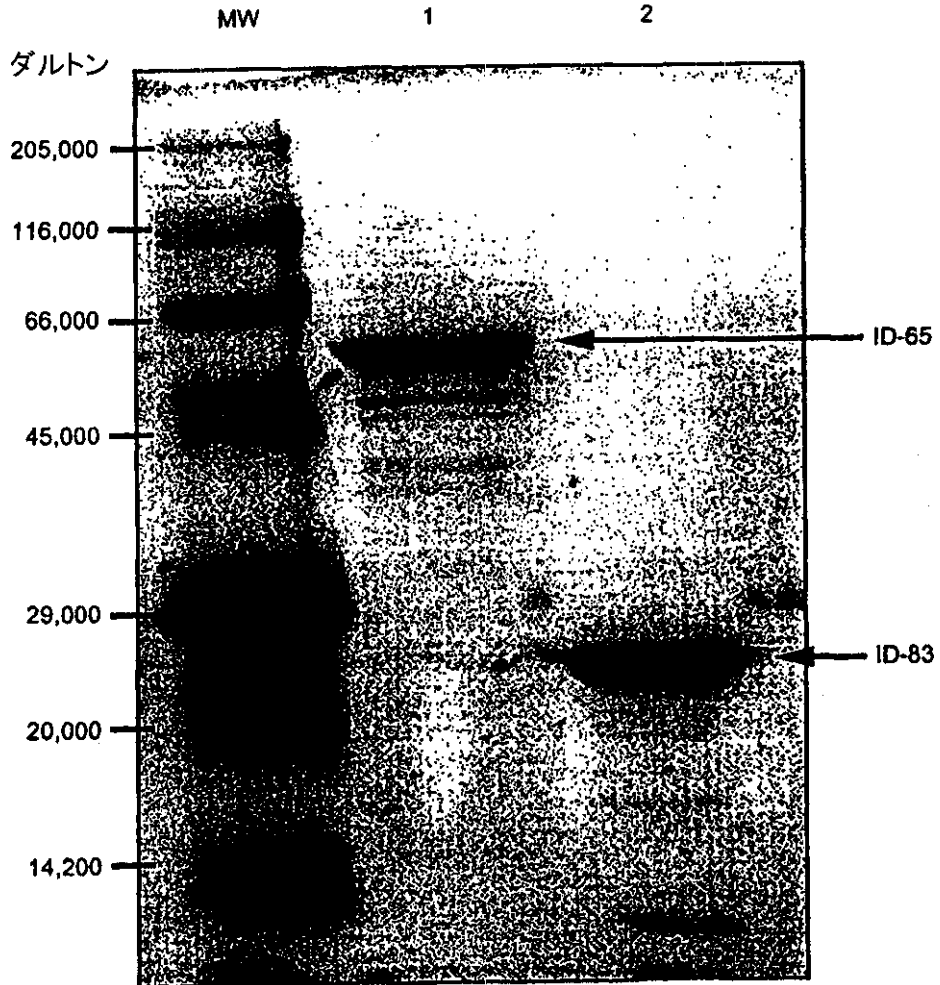
pTREP1-nuc1 (EcoRV)	AAGTATCAGATCT-- <u>GATATC</u> --TCACAAACAGATAACGGCGTAAAT	Frame=+1
	..... ▲ .....	
pTREP1-nuc2 (Sma I)	AAGTATCAGATCTT <u>CCCCGGA</u> -TCACAAACAGATAACGGCGTAAAT	Frame=+2
	..... ▲ .....	
pTREP1-nuc3 (EcoRV)	AAGTATCAGATCT-- <u>GATATC</u> CATCACAAACAGATAACGGCGTAAAT	Frame=+3
	..... ▲ .....	
ヌクレアーゼ遺伝子	TCACAAACAGATAACGGCGTAAAT	

クローニング部位は矢印で示す

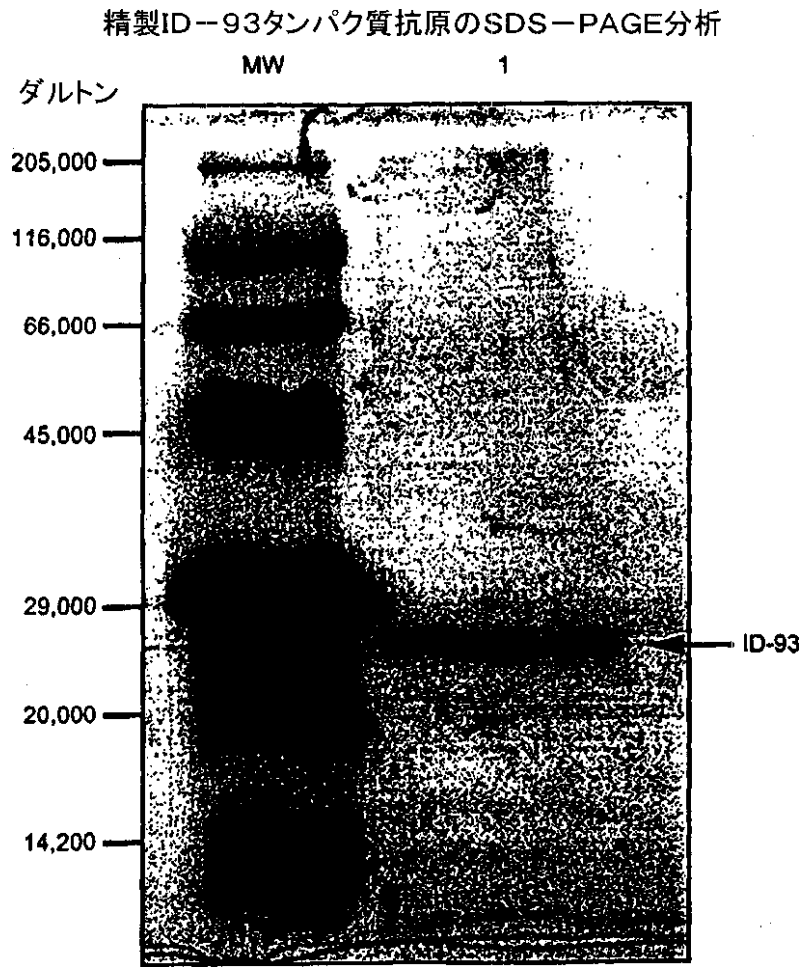


【図5】

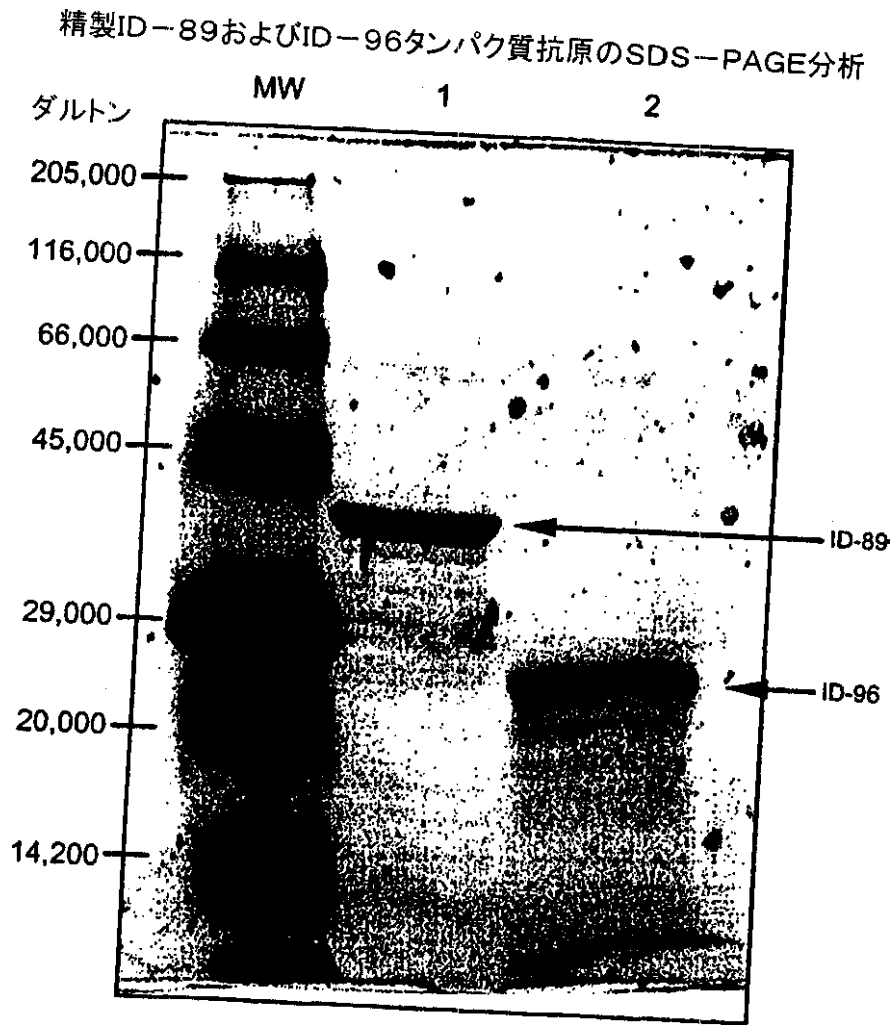
精製ID-65およびID-83タンパク質抗原のSDS-PAGE分析



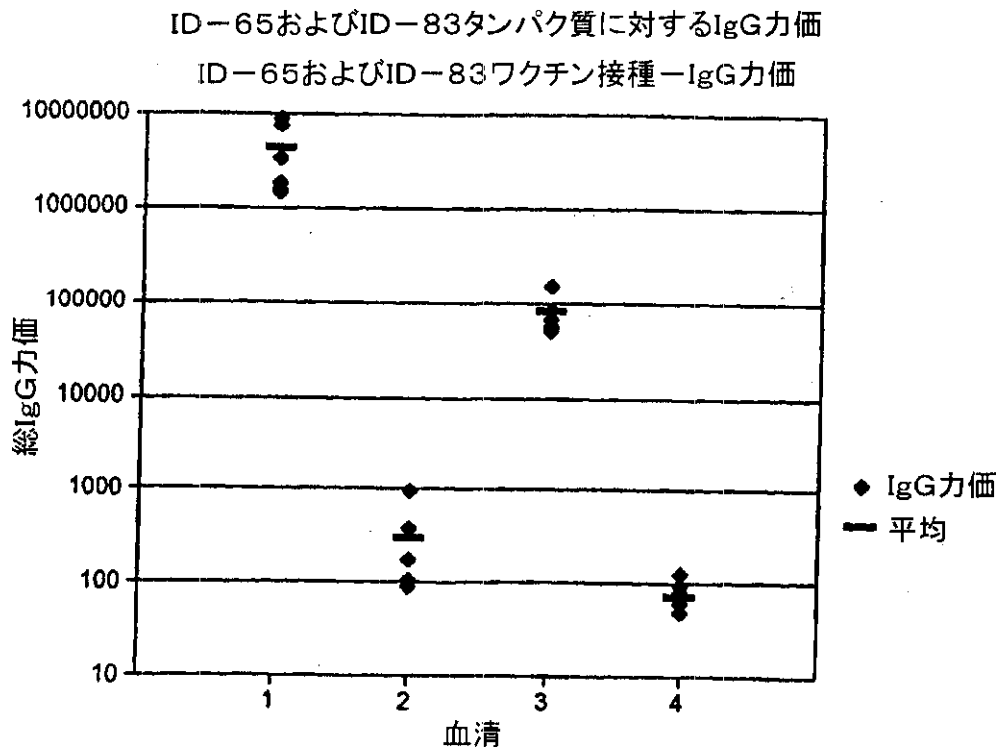
【図6】



【図7】

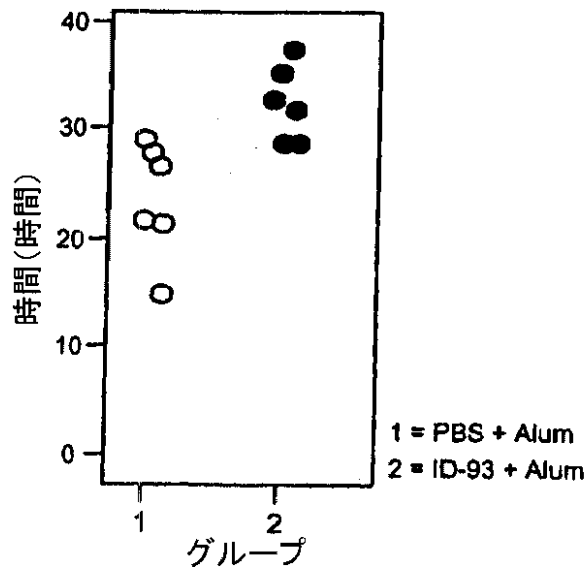


【図8】

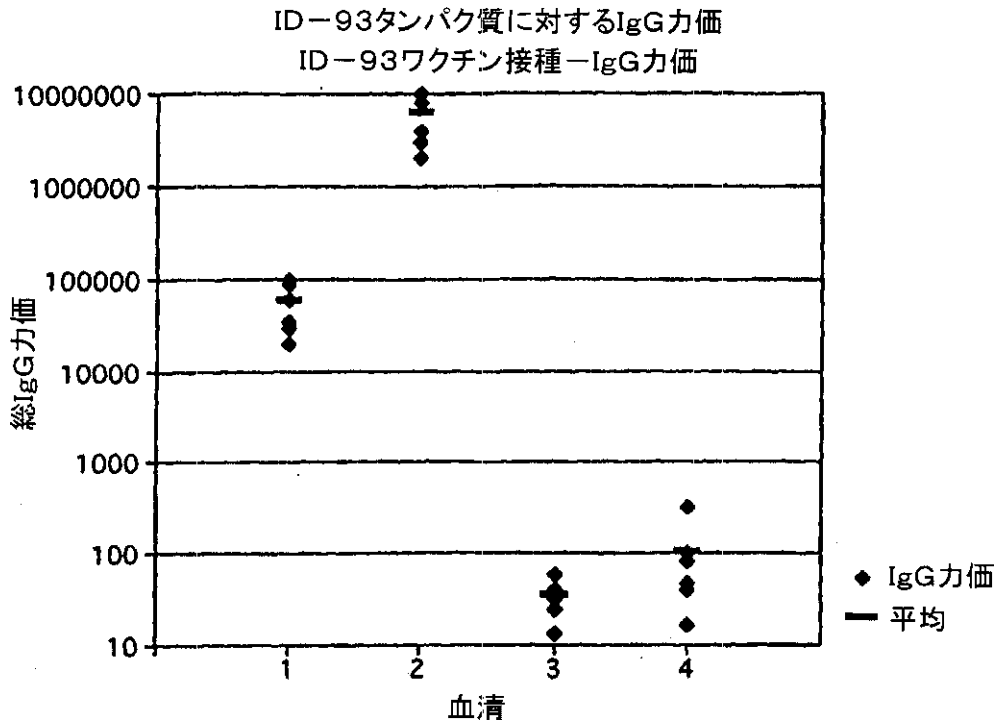


【図9】

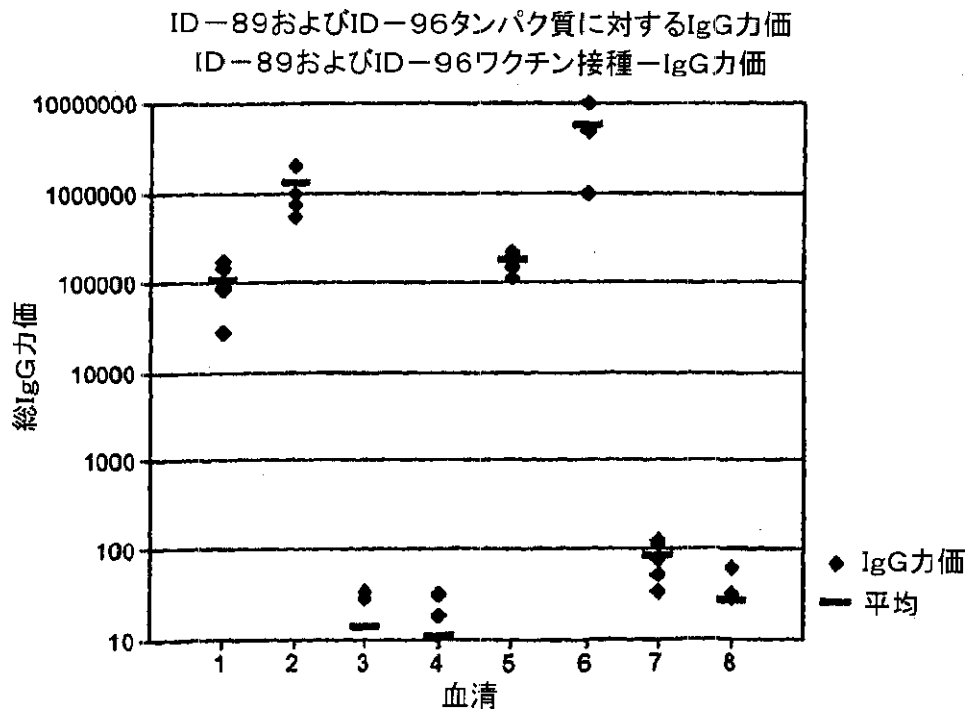
生存データ  
ID-93ワクチン接種-GBS抗原投与および生存



【図10】

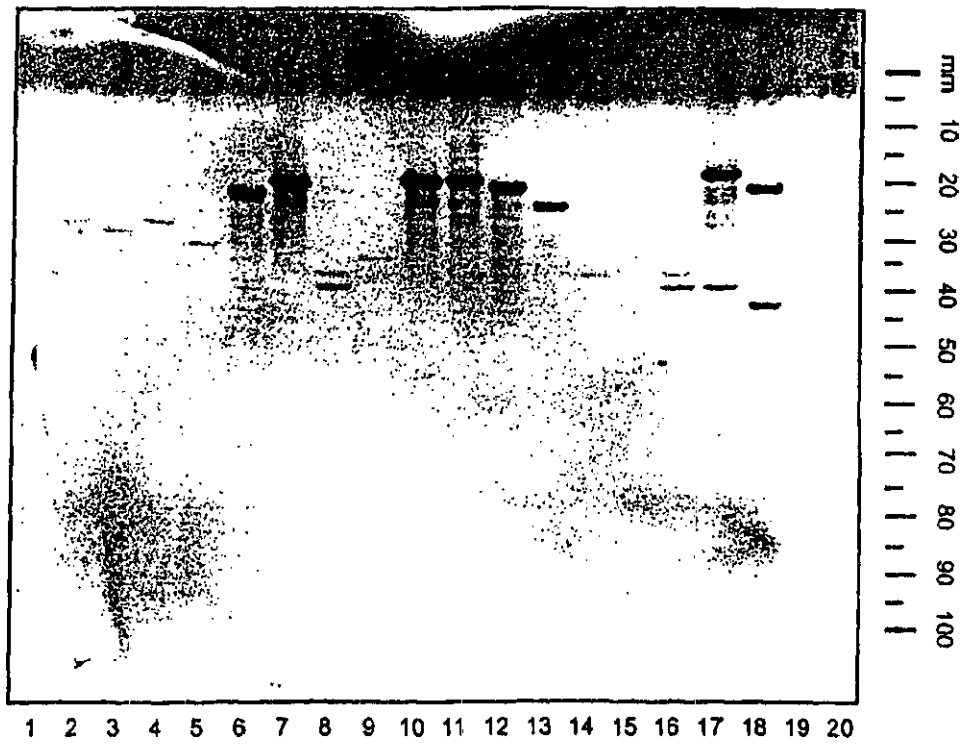


【図11】



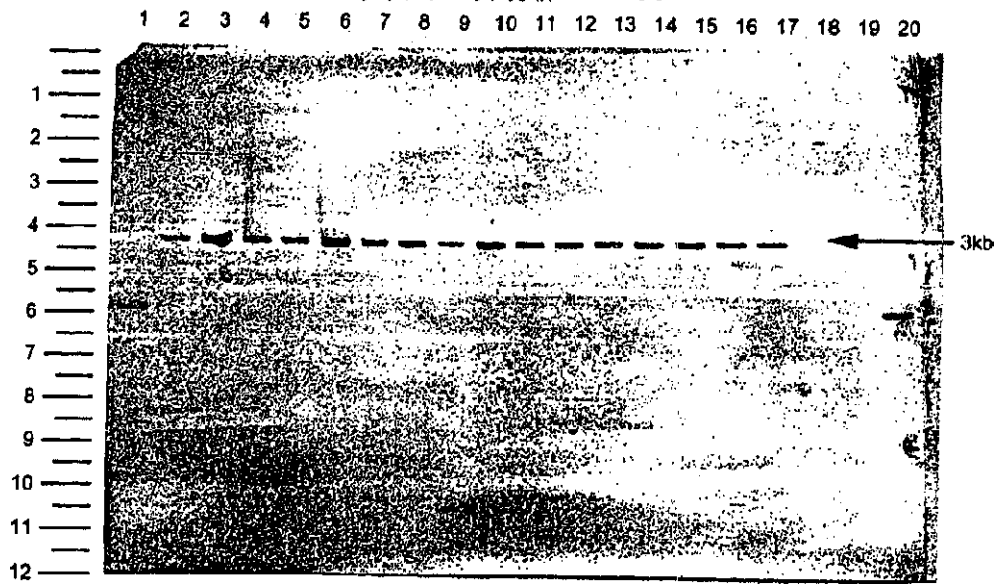
【図12】

サザンブロット分析-rib

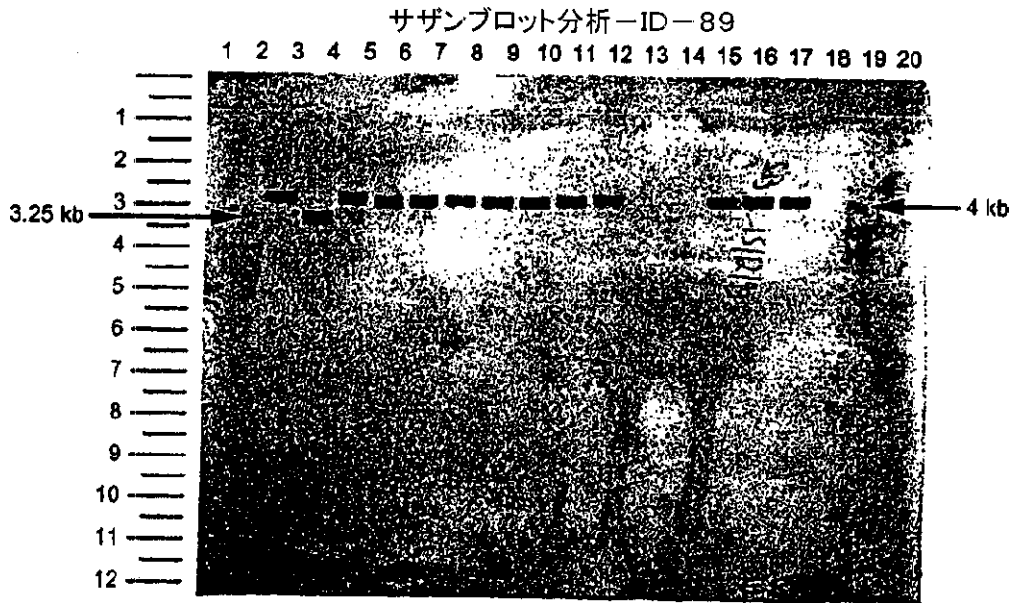


【図13】

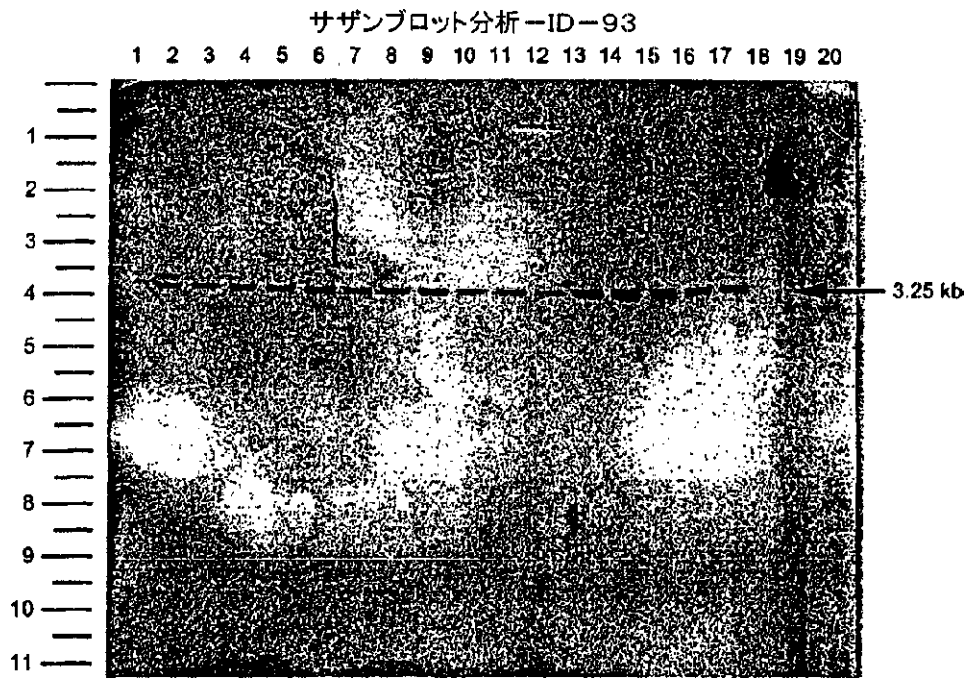
サザンブロット分析-ID-65



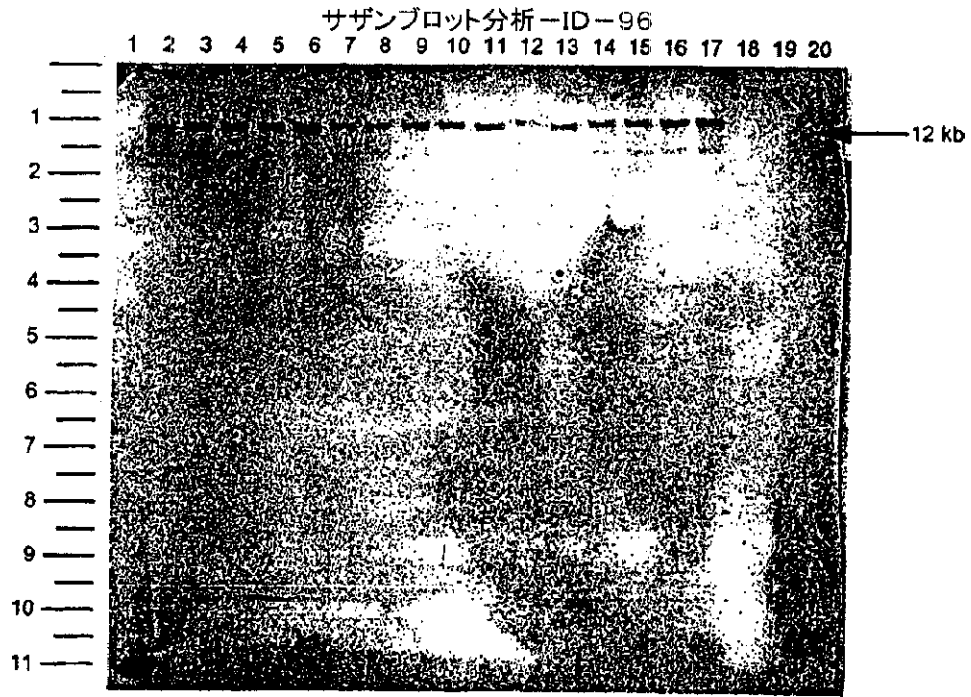
【図14】



【図15】



【図16】



## 【國際調查報告】

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

		International Application No PCT/GB 00/03437
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b> IPC 7 C12N15/31 C12Q1/68 C12N1/21 C07K14/315 C07K16/12 A61K39/09 A61K48/00 G01N33/53 G01N33/68		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b> Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07K C12N C12Q A61K G01N		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) BIOSIS, EPO-Internal, EMBL		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 97 08553 A (UNIV CALIFORNIA) 6 March 1997 (1997-03-06) Seq Id No: 4 page 5, line 25 - line 30 claim 2 --- -/--	1-16, 21-23
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C.		<input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.
* Special categories of cited documents : "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search		Date of mailing of the international search report
28 May 2001		12.06.2001
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nt. Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer  van Klompenburg, W

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/GB 00/03437

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SANCHEZ-BEATO: "Molecular characterization of PcpA: a novel choline-binding protein of Streptococcus pneumoniae" FEMS MICROBIOL LETT, vol. 164, no. 1, 1 July 1998 (1998-07-01), pages 207-214, XP000992682 page 213, left-hand column; figures 1,2 -& DATABASE EMBL 'Online! ebi; ACC. NO.: z82001, 30 March 1997 (1997-03-30) SANCHEZ-BEATO ET AL.: "S. pneumoniae pcpA gene and open reading frame" XP002168347 abstract	1-16, 21-23
A	MICHEL J L ET AL: "Cloned alpha and beta C-protein antigens of group B Streptococci elicit protective immunity" INFECTION AND IMMUNITY, US, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, vol. 59, no. 6, June 1991 (1991-06), pages 2023-2028, XP002107260 ISSN: 0019-9567 figures 1,2,5	1-24
A	WO 99 16882 A (MEDIMMUNE INC) 8 April 1999 (1999-04-08) claims 1-12,17; figures 1-8	1-24
A	LARSSON C ET AL: "Experimental vaccination against group B Streptococcus, an encapsulated bacterium, with highly purified preparations of cell surface proteins Rib and alfa" INFECTION AND IMMUNITY, US, AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY, WASHINGTON, vol. 63, no. 9, September 1996 (1996-09), pages 3518-3523, XP002109333 ISSN: 0019-9567 figures 1-3; tables 1,2	1-24
A	US 5 928 900 A (MASURE H ROBERT ET AL) 27 July 1999 (1999-07-27) figures 1B,2-17,19,22; examples 1-4	1-24

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.  
PCT/GB 00/03437

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This International Search Report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

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

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

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

see additional sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
  
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
  
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:  
  
1-24 all partially
  
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

## Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

## FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

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

1. Claims: Invention 1, claims 1-24 all partially

A Streptococcus agalactiae protein or polypeptide having a sequence as depicted in SeqIdNo.2; a homologue or derivative of said protein or polypeptide; an antigenic and/or immunogenic fragment of said protein or polypeptide; a nucleic acid molecule comprising or consisting of SeqIdNo.1, a nucleic acid molecule complementary to said sequence, a nucleic acid molecule encoding for the same or a homologue, derivative or fragment of said protein or polypeptide; use of said protein or polypeptide as an immunogen and/or an antigen; an immunogenic composition and/or antigenic composition comprising said protein or polypeptide; an antibody to said protein or polypeptide; a method of detection/diagnosis of S.pneumoniae comprising using said protein or polypeptide, said antibody, or said nucleic acid molecule; a kit for the detection of S. galactiae comprising said protein, polypeptide, antibody or nucleic acid; a method of determining whether said protein or polypeptide represents a potential antimicrobial target which comprises inactivating said protein or polypeptide and determining whether S. agalactiae is still viable.

2. Claims: Inventions 2-122, claims 1-24 all partially

Idem as subject 1 but limited to each of the polynucleotide and polypeptide sequences as in SeqIdNo:3-244, wherein invention 2 is limited to SeqIdNo:3 and SeqIdNo:4, invention 3 is limited to SeqIdNo:5 and SeqIdNo:6, ..., invention 122 is limited to SeqIdNo:243 and 244,

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

Information on patent family members

International Application No  
PCT/GB 00/03437

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9708553 A	06-03-1997	AU 6913396 A	19-03-1997
WO 9916882 A	08-04-1999	AU 9507698 A EP 1037997 A	23-04-1999 27-09-2000
US 5928900 A	27-07-1999	AU 709405 B AU 7680994 A CA 2170726 A EP 0721506 A FI 960977 A JP 9504686 T NO 960839 A NZ 273497 A WO 9506732 A US 5981229 A	26-08-1999 22-03-1995 09-03-1995 17-07-1996 30-04-1996 13-05-1997 19-04-1996 25-03-1998 09-03-1995 09-11-1999

## フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マ-コ-ト' (参考)	
C 0 7 K	14/315	C 0 7 K	16/18	4 C 0 8 6
	16/18	C 1 2 N	1/15	4 H 0 4 5
C 1 2 N	1/15		1/19	
	1/19		1/21	
	1/21	C 1 2 P	21/02	C
	5/10	C 1 2 Q	1/02	
C 1 2 P	21/02	G 0 1 N	33/53	D
C 1 2 Q	1/02		33/569	C
G 0 1 N	33/53	C 1 2 N	15/00	Z N A A
	33/569		5/00	A
(72)発明者	ウェルズ、ジェレミー・マーク イギリス国、エヌアール4・7ユーエー、 ノーウィッチ、コルニー、ノーウィッチ・ リサーチ・パーク(番地なし)、ノーウィ ッチ・ラボラトリー、インスティテュー ト・オブ・フード・リサーチ内			
(72)発明者	ハニフィー、シーン・ボスコ イギリス国、エヌアール4・7ユーエー、 ノーウィッチ、コルニー、ノーウィッチ・ リサーチ・パーク(番地なし)、ノーウィ ッチ・ラボラトリー、インスティテュー ト・オブ・フード・リサーチ内			
Fターム(参考)	4B024 AA01 AA13 BA31 CA02 DA05 DA06 FA17 HA11 HA17 4B063 QA18 QQ06 QQ79 QR48 QR75 QX01 4B064 AG31 BH09 CA19 CC24 CE02 CE06 CE09 DA01 4B065 AA26X AA49Y AB01 CA24 CA44 4C085 AA03 BA14 CC07 DD24 DD32 DD62 FF02 GG06 4C086 AA01 AA02 AA03 EA16 MA65 NA14 ZB35 4H045 AA10 AA11 AA20 BA10 CA11 DA75 DA86 EA29 FA74			

专利名称(译)	蛋白质		
公开(公告)号	<a href="#">JP2003527100A</a>	公开(公告)日	2003-09-16
申请号	JP2001535564	申请日	2000-09-07
[标]申请(专利权)人(译)	微生物TECHNICS		
申请(专利权)人(译)	微型瓶工艺有限公司		
[标]发明人	リベイジリチャードウイリアムファアラ ウェルズジェレミーマーク ハニフィーシーンボスコ		
发明人	リ・ペイジ、リチャード・ウイリアム・ファアラ ウェルズ、ジェレミー・マーク ハニフィー、シーン・ボスコ		
IPC分类号	G01N33/53 A61K31/7088 A61K31/711 A61K39/00 A61K39/09 A61P31/04 C07K14/315 C07K16/12 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/31 C12P21/02 C12Q1/02 C12Q1/68 C12Q1/689 G01N33/569		
CPC分类号	A61K39/00 A61K2039/53 A61P31/04 C07K14/315 C07K16/1275 C12Q1/689 G01N33/56944		
FI分类号	A61K31/7088 A61K31/711 A61K39/09 A61P31/04 C07K14/315 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/02 G01N33/53.D G01N33/569.C C12N15/00.ZNA.A C12N5/00.A		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA13 4B024/BA31 4B024/CA02 4B024/DA05 4B024/DA06 4B024/FA17 4B024 /HA11 4B024/HA17 4B063/QA18 4B063/QQ06 4B063/QQ79 4B063/QR48 4B063/QR75 4B063/QX01 4B064/AG31 4B064/BH09 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/CE02 4B064/CE06 4B064/CE09 4B064 /DA01 4B065/AA26X 4B065/AA49Y 4B065/AB01 4B065/CA24 4B065/CA44 4C085/AA03 4C085/BA14 4C085/CC07 4C085/DD24 4C085/DD32 4C085/DD62 4C085/FF02 4C085/GG06 4C086/AA01 4C086 /AA02 4C086/AA03 4C086/EA16 4C086/MA65 4C086/NA14 4C086/ZB35 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/BA10 4H045/CA11 4H045/DA75 4H045/DA86 4H045/EA29 4H045/FA74		
优先权	1999021125 1999-09-07 GB		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

解决的问题：用B组链球菌描述一种新型蛋白质抗原，以及编码它们的核酸序列。还描述了疫苗的使用和筛选方法。

	平均生存時間(時)		
	UnVacc	3-60(ID-65)	3-5(ID-66)
1	27.583	54.416	42.916
2	27.583	31.000	42.916
3	24.583	43.000	32.874
4	22.250	34.916	42.916
5	35.916	38.958	27.333
6	22.250	34.916	30.916
平均	27.583	40.458	37.791
標準偏差	5.1691	8.9959	7.2860
p 値		0.0098	0.0215

p 値は、ワクチン接種していない対照と比較した場合の