(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号
特許第6377907号
(P6377907)
(45)発行日　平成30年8月22日(2018.8.22)　(24)登録日　平成30年8月3日(2018.8.3)

(51)Int.Cl.		F I		
C07K 14/33	(2006.01)	C07K	14/33	ZNA
A61K 38/00	(2006.01)	C07K	14/33	
A61K 39/02	(2006.01)	A61K	38/00	
A61K 39/08	(2006.01)	A61K	39/02	
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/08	

請求項の数 25　(全 72 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2013-532271(P2013-532271)
(86)(22)出願日　平成23年10月5日(2011.10.5)
(65)公表番号　特表2014-502253(P2014-502253A)
(43)公表日　平成26年1月30日(2014.1.30)
(86)国際出願番号　PCT/GB2011/051910
(87)国際公開番号　WO2012/046061
(87)国際公開日　平成24年4月12日(2012.4.12)
審査請求日　平成26年9月25日(2014.9.25)
審判番号　不服2016-16921(P2016-16921/J1)
審判請求日　平成28年11月11日(2016.11.11)
(31)優先権主張番号　1016742.7
(32)優先日　平成22年10月5日(2010.10.5)
(33)優先権主張国　英国(GB)

(73)特許権者　513159343
セクレタリー　オブ　ステート　フォー　ヘルス
SECRETARY OF STATE FOR HEALTH
イギリス国　エスダブリュー１エー　２エヌエス　ロンドン　ホワイトホール　７９　リッチモンドハウス
(73)特許権者　511203226
マイクロファーム・リミテッド
MICROPHARM LIMITED
イギリス国、カーマーゼンシャー　エスエイ３８　９ビーエックス、ニューキャッスル・エムリン、ステーション・ロード・インダストリアル・エステート

最終頁に続く

(54)【発明の名称】クロストリジウム・ディフィシル（Ｃｌｏｓｔｒｉｄｉｕｍｄｉｆｆｉｃｉｌｅ）抗原

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
ａ）Ｃ．ディフィシル（C. difficile）毒素Ｂの配列の残基７６７～２３６６からなるアミノ酸配列；
ｂ）Ｃ．ディフィシル（C. difficile）毒素Ａの配列の残基７７０～２７１０からなるアミノ酸配列；
ｃ）Ｃ．ディフィシル（C. difficile）毒素Ｂの配列の残基１１４５～２３６６からなるアミノ酸配列；
ｄ）Ｃ．ディフィシル（C. difficile）毒素Ａの配列の残基７７０～２３８９からなるアミノ酸配列；
から選択されるいずれか１つの抗原性アミノ酸配列からなるタンパク質、
但し、タンパク質は、C. difficile毒素Ａのアミノ酸残基５４３～２７１０を含むポリペプチドではないことを条件とし；
但し、タンパク質は、C. difficile毒素Ｂのアミノ酸残基５４３～２３６６を含むポリペプチドではないことを条件とし、そして
タンパク質は、システインプロテアーゼ活性を欠き、ここで、該活性を提供するアミノ酸配列の一部又は全ては、不在であり、そして
抗原性ポリペプチド配列は、防御免疫応答を誘発することができる、
タンパク質。
【請求項２】

（ａ）請求項１に記載のタンパク質、及び
（ｂ）精製タグ、及び/又は
　　プロテアーゼ配列
を含む、タンパク質。
【請求項３】
プロテアーゼ配列で切断され、請求項１に記載のタンパク質を含む、請求項２に記載のタンパク質。
【請求項４】
請求項１定義された毒素Ａおよび／または毒素Ｂのアミノ酸配列以外に、任意の追加的な毒素Ａおよび／または毒素Ｂのアミノ酸配列を含まない、請求項１～３のいずれか１項記載のタンパク質。
【請求項５】
C. difficile毒素Ａおよび／またはC. difficile毒素Ｂに結合する抗体を作製する方法における抗原として使用するための、請求項１～４のいずれか１項記載のタンパク質。
【請求項６】
C. difficile毒素Ａおよび／またはC. difficile毒素Ｂに結合する抗体を単離するためのin vitro法であって、
ａ）請求項１～４のいずれか１項記載の一つまたは複数のC. difficileタンパク質を表面（例えばカラム内のマトリックス）上に固定化すること；
ｂ）固定化されたタンパク質を、C. difficile毒素Ａおよび／または毒素Ｂに結合する抗体を含有する溶液と接触させること；
ｃ）該抗体を該タンパク質と結合させることによって、抗体とタンパク質の結合型複合体を形成させること；
ｄ）いかなる未結合の抗体またはタンパク質も洗浄除去すること；ならびに
ｅ）結合している抗体を表面から溶離することによってアフィニティー精製された抗体を提供すること
を含む、in vitro法。
【請求項７】
請求項１～４のいずれか１項記載のタンパク質に対して産生されたポリクローナル抗体であって、C. difficile毒素Ａおよび／またはC. difficile毒素Ｂに結合し中和し、C. difficile毒素Ａまたは毒素Ｂのエフェクタードメインおよび／またはシステインプロテアーゼドメインに実質的に結合しない、ポリクローナル抗体（ただし、C. difficile毒素Ａの１１００－１４５０フラグメントに対して特異的に産生されたポリクローナル抗体、１４５０－１８７０フラグメントに対して特異的に産生されたポリクローナル抗体及び／又は１８７０－２６８０フラグメントに対して特異的に産生されたポリクローナル抗体を除く）。
【請求項８】
抗体が、ＩｇＧ全体、Ｆａｂ抗体またはＦ（ａｂ’）２抗体を含む、請求項７記載のポリクローナル抗体。
【請求項９】
C. difficile感染の予防、治療または抑制に使用するための、請求項１～４のいずれか１項記載のタンパク質および／または請求項７もしくは請求項８記載のポリクローナル抗体。
【請求項１０】
ヒトにおけるC. difficile感染の予防、治療または抑制に使用するための、請求項１～４のいずれか１項記載のタンパク質および／または請求項７もしくは請求項８記載のポリクローナル抗体。
【請求項１１】
ヒトに治療有効量のタンパク質および／またはポリクローナル抗体を投与することを含む、該ヒトにおけるC. difficile感染を予防、治療または抑制するための方法において使

用するための、請求項１～４のいずれか１項記載のタンパク質および／または請求項７もしくは請求項８記載のポリクローナル抗体。

【請求項１２】

タンパク質が、C. difficile非毒素抗原、不活性化または弱毒性全細胞C. difficile細菌、およびC. difficile細胞抽出物より選択される一つまたは複数の追加的な抗原を用いた組合せ療法の一部として投与される、請求項１１記載の治療有効量のタンパク質。

【請求項１３】

治療有効量の請求項１１記載のタンパク質を含む医薬組成物であって、該タンパク質が、１）院内感染を引き起こす細菌由来の抗原、および２）院内感染を引き起こす不活性化または弱毒性全細胞細菌より選択される一つまたは複数の抗原を用いた組合せ治療の一部として投与される、医薬組成物。

【請求項１４】

治療有効量の請求項１１記載のタンパク質を含む医薬組成物であって、該タンパク質が、一つまたは複数の追加的な抗生物質を用いた組合せ治療の一部として投与される、医薬組成物。

【請求項１５】

治療有効量の請求項１４記載のタンパク質を含む医薬組成物であって、該抗生物質が、院内感染を引き起こす細菌に有効である、医薬組成物。

【請求項１６】

ポリクローナル抗体が、C. difficile非毒素抗原に結合する抗体、および全細胞C. difficile細菌に結合する抗体から選択される一つまたは複数の追加的な抗体を用いた組合せ療法の一部として投与される、請求項１１記載の治療有効量のポリクローナル抗体を含む医薬組成物。

【請求項１７】

ポリクローナル抗体が、１）院内感染を引き起こす細菌由来の抗原に結合する抗体、および２）院内感染を引き起こす全細胞細菌に結合する抗体より選択される一つまたは複数の抗体を用いた組合せ療法の一部として投与される、請求項１１記載の治療有効量のポリクローナル抗体を含む医薬組成物。

【請求項１８】

ポリクローナル抗体が、一つまたは複数の抗生物質を用いた組合せ療法の一部として投与される、請求項１１記載の治療有効量のポリクローナル抗体を含む医薬組成物。

【請求項１９】

抗生物質が、院内感染を引き起こす細菌に有効である、請求項１８記載の治療有効量のポリクローナル抗体を含む医薬組成物。

【請求項２０】

患者試料中のC. difficile感染の存在または非存在を確認するためのin vitroイムノアッセイ法における、請求項７または請求項８記載のポリクローナル抗体の使用であって、C. difficile感染の存在が、該試料中に存在するC. difficile毒素Ａおよび／または毒素Ｂへの抗体の結合を検出することによって確認され、そして該試料中に存在するC. difficile毒素Ａおよび／または毒素Ｂへの該抗体の結合を検出できないことが、C. difficile感染の非存在を確認する、使用。

【請求項２１】

患者試料中のC. difficile感染の存在または非存在を確認するためのin vitroイムノアッセイ法における、請求項１～４のいずれか１項記載のタンパク質の使用であって、C. difficile感染の存在が、該試料中に存在する抗体へのタンパク質の結合を検出することによって確認され、該試料中に存在する抗体への該タンパク質の結合を検出できないことが、C. difficile感染の非存在を確認する、使用。

【請求項２２】

請求項１～４のいずれか１項記載のタンパク質をヒトを除く哺乳動物に投与することを含む、C. difficile毒素Ａおよび／またはC. difficile毒素Ｂに結合し中和するポリク

ローナル抗体の製造方法であって、
該ポリクローナル抗体は、C. difficile毒素Ａまたは毒素Ｂのエフェクタードメインおよび／またはシステインプロテアーゼドメインに実質的に結合しない、該製造方法。
【請求項２３】
請求項１～４のいずれか１項記載のタンパク質をヒトを除く哺乳動物に投与すること、及び
製造されたポリクローナル抗体を精製すること、
を含む、C. difficile毒素Ａおよび／またはC. difficile毒素Ｂに結合し中和する、精製されたポリクローナル抗体の製造方法であって、
該ポリクローナル抗体は、C. difficile毒素Ａまたは毒素Ｂのエフェクタードメインおよび／またはシステインプロテアーゼドメインに実質的に結合しない、該製造方法。
【請求項２４】
請求項１～４のいずれか１項記載のタンパク質をヒトを除く哺乳動物に投与すること、
製造されたポリクローナル抗体を精製すること、及び
精製されたポリクローナル抗体を薬学的に許容される担体と混合すること
を含む、C. difficile毒素Ａおよび／またはC. difficile毒素Ｂに結合し中和する、薬学的組成物の製造方法であって、
該ポリクローナル抗体は、C. difficile毒素Ａまたは毒素Ｂのエフェクタードメインおよび／またはシステインプロテアーゼドメインに実質的に結合しない、該製造方法。
【請求項２５】
請求項１～４のいずれか１項記載のタンパク質を含む、ワクチン。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、クロストリジウム・ディフィシル（Clostridium difficile）感染（ＣＤＩ）を予防／治療／抑制するための抗原に関する。該抗原を作製するための方法、該抗原に結合する抗体を作製するための方法、およびＣＤＩを予防／治療／抑制するための該抗体の使用も提供される。
【０００２】
Clostridium difficile感染（ＣＤＩ）は、今や世界中の病院で大きな問題である。この細菌は、それ自体、軽症の自己限定性の下痢から潜在的に致命的な重症大腸炎までの様々な形態で発症する院内抗生物質関連疾患を引き起こす。高齢患者は、これらの潜在的に致命的な疾患のリスクに最も曝されており、ＣＤＩの事例は、過去１０年間で劇的に増加した。英国では２０１０年に２１，０００例のＣＤＩがあり、関連死は２，７００例を超えた。ＣＤＩのせいで英国国民保健サービスは１年に５億ポンドを上回る費用を費やしている。
【０００３】
Ｃ．ディフィシル（C. difficile）の様々な株は、いくつかの方法によって分類することができる。最も一般的に使用される方法の一つは、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）リボタイピングであって、その方法では、C. difficileの１６Ｓ－２３Ｓ ｒＲＮＡ遺伝子の遺伝子間スペーサー領域を増幅するためにＰＣＲが使用される。この方法からの反応産物は、単離株の細菌リボタイプを同定する特徴的なバンドパターンを提供する。毒素タイピング（toxinotyping）は、C. difficile毒素をコードするＤＮＡから得られた制限パターンを使用して株の毒素タイプを同定する、別のタイピング法である。異なる株の毒素遺伝子の間で観察された制限パターンの差は、C. difficile毒素ファミリー内の配列変異も示している。例えば、毒素タイプ０の毒素ＢのＣ末端６０kDa領域には、毒素タイプＩＩＩの毒素Ｂでの同領域に比べて約１３％の配列の差がある。
【０００４】
C. difficile株は、多様な病原性因子を産生し、その中で注目すべきは、いくつかのタンパク質毒素、すなわち毒素Ａ、毒素Ｂ、およびいくつかの株におけるChlostridium per

fringens ι毒素類似の二元毒素である。毒素Ａは、感染病理に役割を果たす大型タンパク質性細胞毒素／エンテロトキシンであり、腸内定着過程に影響を及ぼす場合がある。ＣＤＩの大流行は、毒素Ａ陰性／毒素Ｂ陽性株で報告されており、このことは、毒素Ｂも疾患病理に主要な役割を果たしうることを示している。

【０００５】

毒素Ａおよび毒素Ｂ（それぞれＭｗ３０８ｋおよびＭｗ２６９ｋ）をコードする遺伝子配列は公知である（例えばMoncrief et al. (1997) Infect. Immun 63: 1105-1108を参照されたい）。これらの二つの毒素は、高い配列相同性を有し、遺伝子重複から生じたと考えられている。これらの毒素は、共通の構造（図１参照）、すなわちＮ末端グルコシルトランスフェラーゼドメイン、中央の疎水性領域、４個の保存されたシステイン、および長く連なるＣ末端繰り返しユニット（ＲＵ）も共有する。

【０００６】

毒素Ａは、毒素Ａのポリペプチド配列のアミノ酸残基１８５１～２７１０に及ぶ３９個の連続繰り返しユニット（ＲＵ）を含む。毒素Ｂは、毒素Ｂのポリペプチド配列のアミノ酸残基１８５２～２３６６に及ぶ、より少ないＲＵ（１９から２４個の間）を含む。毒素ＡおよびＢの両方について、繰り返しユニットは、異なる２種類、すなわち約１５～２５残基の短い繰り返し（ＳＲ）および約３０残基の長い繰り返し（ＬＲ）である。ＬＲは、３または４個のＳＲによって相互に引き離されており、ＬＲは、隣接するＳＲと一緒になって、毒素の糖質レセプターに対する結合部位を提供する。毒素Ａは、そのＣ末端ドメイン内に７個のＬＲを有し、それらは、７個のレセプター結合部位を提供すると考えられている（Greco et al. (2005) Nature Structural Biol. 13: 460-461）。毒素Ｂは、４個のＬＲを有し、それらは、４個の糖質結合ユニットを提供すると考えられている。毒素ＡおよびＢのＳＲ／ＬＲクラスター（レセプター結合「モジュール」としても知られている）の例は、大きさが９２から１４１個のアミノ酸残基まで様々であり、表１および２の参照によって例示される。

【０００７】

毒素ＡおよびＢの両方は、細胞表面上のレセプターへの結合、インターナリゼーションに続く移行、および細胞のサイトゾル中へのエフェクタードメインの放出を含む多段階メカニズムを介してそれらの作用機作ならびに最終的に細胞内作用を発揮する。該作用機作は、Ｒｈｏファミリーの低分子ＧＴＰアーゼの不活性化を必要とする。これに関して、毒素は、（ＵＤＰグルコースから）Ｒｈｏタンパク質のアミノ残基上へのグルコース部分の転移を触媒する。毒素ＡおよびＢは、システインプロテアーゼの形態で第２の酵素活性も含有し、それは、移行後のサイトゾル中へのエフェクタードメインの放出に役割を果たすと思われる。C. difficile二元毒素は、ＮＡＤからそのターゲットタンパク質上へのＡＤＰ－リボース部分の転移を伴うメカニズムによって細胞性アクチンを改変する。

【０００８】

C. difficile感染を処置するための現行療法は、抗生物質、特にメトロニダゾールおよびバンコマイシンの使用に依存している。しかしながら、これらの抗生物質は、全ての症例で有効なわけではなく、患者の２０～３０％は疾患の再発を被る。大きな関心が持たれるのは、２００２年にカナダで最初に同定された、より強毒性の株が英国に出現することである。これらの株には、ＰＣＲリボタイプ０２７および毒素タイプＩＩＩに属する株が含まれ、これらの株は、以前に観察された死亡率の３倍を超える直接寄与死亡率でＣＤＩを引き起こす。

【０００９】

したがって、現行の抗生物質の有効性が漸減していると思われることから、新しい治療法が特に緊急に必要とされる。

【００１０】

魅力的な代替法は、毒素Ａおよび毒素Ｂに結合し、その活性を中和する抗体の使用である。これは、これらの毒素を放出しないC. difficile株、いわゆる非毒素生産株がＣＤＩを引き起こさないという知識に基づく。一つのアプローチでは、ＣＤＩの患者またはその

ような感染を発生するリスクのある対象に、毒素Ａおよび毒素Ｂに対する循環抗体および粘膜抗体の増加を生じる抗原を免疫処置することができる。これは、能動免疫として定義される。または、ウマまたはヒツジなどの動物に免疫処置し、それらの血清を採集し、抗体を精製し、患者への投与に供する（受動免疫）。

【００１１】

能動免疫および受動免疫の両方に決定的に必要であることは、それぞれ患者または動物に免疫処置するために適した抗原の入手性である。これらの抗原は、適切なC. difficile毒素産生株が培養された培地から精製することができる天然毒素を含みうる。このアプローチにはいくつかの欠点がある。毒素Ａおよび毒素Ｂは、共に培地中に少量しか存在せず、顕著な損失なしに精製することは困難である。したがって、全世界の需要を満たすために必要な量を得るのは、高くつき、かつ困難であろう。加えて、天然毒素は不安定であり、そしてそれらの毒性が原因で、それらを免疫原として使用する前にそれらをトキソイド（不活性化毒素）に変換しなければならない。

【００１２】

上記問題から、入手可能なC. difficileのワクチン候補は少ししかないという結果になった。今日まで、後期開発段階の唯一のＣＤＩワクチンは、ネイティブな（すなわち天然の）毒素ＡとＢの混合物を化学的改変によって不活性化したものに基づく（Salnikova et al 2008, J Pharm Sci 97: 3735-3752）。

【００１３】

天然毒素およびそれらのトキソイドの使用の一代替法は、毒素ＡおよびＢ由来のリコンビナントフラグメントの設計、開発および使用を伴う。そのようなフラグメントを大量に、そしてネイティブな毒素よりも低いコストで発現および精製することができることが、それらの利点の中に含まれる。C. difficile感染の治療／予防に使用することを目的とする既存の抗原の例には、毒素Ａまたは毒素ＢのＣ末端繰り返しユニット（ＲＵ）に基づくペプチドが含まれる（例えば国際公開公報第００／６１７６２号を参照されたい）。しかしながら、そのような抗原に伴う問題は、それらが、免疫原性に乏しい（すなわち抗原が不十分な抗体力価を産生する）こと、またはより高い抗体力価が産生される場合、その抗体がC. difficile細胞傷害活性に対して不十分な中和有効性を示す（すなわち不十分な中和抗体が産生される）ことのいずれかである。

【００１４】

したがって、当技術分野において、特異的にC. difficile感染（ＣＤＩ）に対処することができる新しいワクチン／治療法／治療薬の必要性がある。この必要性は、上記問題の一つまたは複数を解決する本発明によって対処される。

【００１５】

一態様では、本発明は、C. difficile毒素Ａおよび／またはＢに対して強力な毒素中和応答を誘導できる抗原を提供する。本発明は、また、リコンビナント抗原を調製するための方法を提供する。別の態様では、該抗原は、治療用抗体の大規模調製を可能にする免疫原として使用される。さらなる一態様では、該抗体は、C. difficile毒素Ａおよび／またはＢに対して強力な毒素中和応答を誘導できることから、予防および／または治療用途を有する。

【００１６】

上記のように（国際公開公報第００／６１７６２号参照）、以前の研究は、毒素Ａおよび／または毒素ＢのＣ末端繰り返しユニット（ＲＵ）に基づくワクチン調製物について記載している。該ＲＵフラグメントは、不十分な毒素中和作用を有し、かつ／または大量生産が困難である。

【００１７】

対照的に、本発明は、毒素Ａおよび／または毒素Ｂの繰り返しユニットに基づくC. difficile抗原であって、さらに、本発明者らが考えるところには、重要な「足場」機能を抗原に提供する追加的なC. difficile毒素ドメインを含むC. difficile抗原を提供する。本発明の該抗原は、良好な毒素中和免疫応答を示し、かつ／または容易に大量生産される。

【００１８】
本発明者らは、驚くことに、「足場」第一アミノ酸配列（上記）の存在が、毒素Ａまたは毒素Ｂの繰り返し領域だけを含む対応するフラグメントに比べて１０～１００倍高い防御（毒素中和）免疫応答を提供することを確認した。表３～１０は、本発明の融合タンパク質が、C. difficile毒素の繰り返しドメインだけを含むフラグメントに比べて、毒素中和免疫応答を誘発する能力に優れていることをはっきりと示している。表５および６におけるデータの比較から、本発明の毒素Ｂに基づく構築物が、毒素ＢのＣ末端繰り返しユニットだけに基づく対応する構築物（ＴｘＢ２と称する）よりもかなり強力な毒素中和免疫応答を誘発することが確認される。より詳細には、１８週間の免疫処置期間の後に、本発明の構築物によって提供された毒素中和免疫応答は、ＴｘＢ２構築物によって提供された免疫応答の約１２８倍であった。表９および１０に、本発明の毒素Ａに基づく構築物についての同様のデータを示す。該表におけるデータの比較から、本発明の毒素Ａに基づく構築物が、毒素ＡのＣ末端繰り返しユニットだけに基づく、対応する構築物（ＴｘＡ２と称する）よりもかなり強力な毒素中和免疫応答を誘発することが確認される。より詳細には、１８週間の免疫処置期間の後に、本発明の構築物によって提供された毒素中和免疫応答は、ＴｘＡ２構築物によって提供された免疫応答の１２倍であった。

【００１９】
これらの研究成果は、いくつかの理由から驚くべきである。以前の研究から、C. difficile毒素ＲＵから成る毒素フラグメントが正しく折り畳まれ、容易に結晶化して秩序化構造が得られ（Ho et al. (2005) PNAS, 102: 18373-18378）、天然C. difficile毒素レセプターを模倣した糖質部分に結合する（Greco et al. (2006) Nature Structure. & Molecular Biology, 13: 460-461）ことが示された。したがって、今日までの科学的な証拠が、抗原製剤におけるC. difficile毒素ＲＵから成るフラグメントの従来技術による使用（例えば国際公開公報第００／６１７６２号）を支援し、それと矛盾しない。しかしながら、より重要には、さらなる研究から、C. difficile全体に対する抗体が、ＲＵ領域全体のみから成るフラグメントを認識する一方で、C. difficileの同毒素の残基９０１～１７５０に基づく「足場」領域から成るフラグメントを認識できないことが確認された（Genth et al., (2000) Infect. Immun., 68: 1094-1101）。したがって、これらのデータから、「足場」残基９０１～１７５０内のドメインは、重大な抗体結合性構造決定基を与えないことが示唆される。これに関連して、ペプチド結合以外に「足場」毒素ドメインとＣ末端繰り返し領域の残基の間に三次構造における接触はない。Pruitt et al., (2010) PNAS 1002199107オンライン出版を参照されたい。したがって、まとめると、毒素Ａおよび／または毒素Ｂのリコンビナント免疫原内へのC. difficile「足場」領域の包含が毒素中和免疫応答を顕著に高める効果を有するのは、極めて驚くべきである。

【００２０】
本発明の第一の局面は、第１のアミノ酸配列および第２のアミノ酸配列から成るまたはその配列を含む融合タンパク質であって、ここで：

１）第１のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Ａの配列の残基１５００～１８５０から成るアミノ酸配列と少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供され；そして

２）第２のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Ａの配列のアミノ酸残基１８５１～２７１０内に位置する長い繰り返しユニットから成るアミノ酸配列と少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供される、

但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Ａのアミノ酸残基５４３～２７１０を含むポリペプチドではないことを条件とする、

融合タンパク質を提供する。

【００２１】
C. difficile毒素Ａの配列への言及は、天然C. difficile毒素Ａのアミノ酸配列（C. difficile毒素Ａの参照配列とも称される）を意味する。そのような配列の例は、当業者によって容易に理解され、より一般的な天然毒素Ａの配列のいくつかが、本明細書（例えば

、配列番号１および３参照）において、ならびに文献全体を通して確認される。

【００２２】

本明細書の全体を通して「少なくとも８０％の配列同一性」への言及は、語句「基づく」と同義と見なされ、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９３％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、少なくとも９９％、および１００％の配列同一性の一つまたは複数を包含しうる。配列同一性を評価する場合、確定した数の連続アミノ酸残基を有する参照配列が、本発明の融合タンパク質の対応する部分からのアミノ酸配列（同じ数の連続アミノ酸残基を有する）とアライメントされる。

【００２３】

一態様では、第１のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ａのアミノ酸残基５４４～１８５０に基づく（すなわち、それと少なくとも８０％の配列同一性を有する）。別の態様では、第１のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ａのアミノ酸残基５４４～１８５０のＮ末端切断に、例えばC. difficile毒素Ａのアミノ酸残基５６４～１８５０、アミノ酸残基５８４～１８５０、アミノ酸残基５９４～１８５０、アミノ酸残基６１４～１８５０、アミノ酸残基６３４～１８５０、アミノ酸残基６５４～１８５０、アミノ酸残基６７４～１８５０、アミノ酸残基６９４～１８５０、アミノ酸残基７１４～１８５０、アミノ酸残基７３４～１８５０、アミノ酸残基７５４～１８５０、アミノ酸残基７６７～１８５０、アミノ酸残基７７０～１８５０、アミノ酸残基７７４～１８５０、アミノ酸残基７９４～１８５０、アミノ酸残基８１４～１８５０、アミノ酸残基８３４～１８５０、アミノ酸残基８５４～１８５０、アミノ酸残基８７４～１８５０、アミノ酸残基８９４～１８５０、アミノ酸残基９１４～１８５０、アミノ酸残基９３４～１８５０、アミノ酸残基９５４～１８５０、アミノ酸残基９７４～１８５０、アミノ酸残基９９４～１８５０、アミノ酸残基１０１４～１８５０、アミノ酸残基１０３４～１８５０、アミノ酸残基１０５４～１８５０、アミノ酸残基１０７４～１８５０、アミノ酸残基１０９４～１８５０、アミノ酸残基１１０４～１８５０、アミノ酸残基１１２４～１８５０、アミノ酸残基、アミノ酸残基１１３１～１８５０、アミノ酸残基１１４４～１８５０、アミノ酸残基１１６４～１８５０、アミノ酸残基１１８４～１８５０、アミノ酸残基１２０４～１８５０、アミノ酸残基１２２４～１８５０、アミノ酸残基１２４４～１８５０、アミノ酸残基１２６４～１８５０、アミノ酸残基１２８４～１８５０、アミノ酸残基１３０４～１８５０、アミノ酸残基１３２４～１８５０、アミノ酸残基１３４４～１８５０、アミノ酸残基１３６４～１８５０、アミノ酸残基１３８４～１８５０、アミノ酸残基１４０４～１８５０、アミノ酸残基１４２４～１８５０、アミノ酸残基１４４４～１８５０、アミノ酸残基１４６４～１８５０、またはアミノ酸残基１６８４～１８５０などに基づくが；但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Ａのアミノ酸残基５４３～２７１０を含むポリペプチドではないことを常に条件とする。ほんの一例として、上記アミノ酸位置の番号付けは、配列番号１および／または３として確認されるC. difficile毒素Ａの配列を表しうる。

【００２４】

一態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ａの配列由来の長い繰り返し（ＬＲ）アミノ酸配列の任意の一つまたは複数に基づく（すなわち、それと少なくとも８０％の配列同一性を有する）。ほんの一例として、該一つまたは複数のＬＲ配列は、配列番号６０、６２、６４、６６、６８、７０および／または７２のいずれかに基づきうる。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、ＬＲアミノ酸配列に加えて、その（隣接する）短い繰り返し（ＳＲ）配列の一つまたは複数を含む、C. difficile毒素Ａの配列のモジュール配列全体に基づく。ほんの一例として、第２のアミノ酸は、配列番号６１、６３、６５、６７、６９、７１および／または７３の一つまたは複数に基づきうる。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ａの配列由来のモジュール１のアミノ酸配列全体（残基１８５１～２００７）から成るまたはそれを含む配列に基づく。例えば、表１に説明されるようなモジュール１を参照されたい。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ａの配列由来のモジュール１およびモジュール２のアミノ酸配列全体（例えば表１に説明されるような残基１８５１～２１４１）から成るまたはそれを含む配列に

基づく。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ａの配列由来のモジュール１およびモジュール２およびモジュール３のアミノ酸配列全体（例えば表１に説明されるような残基１８５１～２２５３）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ａの配列由来のモジュール１およびモジュール２およびモジュール３およびモジュール４のアミノ酸配列全体（例えば表１に説明されるような残基１８５１～２３８９）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ａの配列由来のモジュール１およびモジュール２およびモジュール３およびモジュール４およびモジュール５のアミノ酸配列全体（例えば表１に説明されるような残基１８５１～２５０２）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ａの配列由来のモジュール１およびモジュール２およびモジュール３およびモジュール４およびモジュール５およびモジュール６のアミノ酸配列全体（例えば表１に説明されるような残基１８５１～２５９４）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ａの配列由来のモジュール１およびモジュール２およびモジュール３およびモジュール４およびモジュール５およびモジュール６およびモジュール７のアミノ酸配列全体（例えば表１に説明されるような残基１８５１～２７１０）から成るまたはそれを含む配列に基づく。ほんの一例として、上記のアミノ酸位置の番号付けは、配列番号１および／または３として確認されるC. difficile毒素Ａの配列を表しうる。

【００２５】

第２のアミノ酸配列についての任意の態様を、第１のアミノ酸配列について記載された任意の態様と組合せてもよい。

【００２６】

一態様では、毒素Ａの配列のアミノ酸残基１８５１～２７１０（またはその部分）に基づく配列および毒素Ａポリペプチドのアミノ酸残基７７０～１８５０（またはその部分）に基づくＮ末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００２７】

別の態様では、毒素Ａの配列のアミノ酸残基１８５１～２７１０（またはその部分）に基づく配列および毒素Ａポリペプチドのアミノ酸残基１１３１～１８５０に基づくＮ末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００２８】

別の態様では、毒素Ａポリペプチドのアミノ酸残基７７０～２７１０または１１３１～２７１０に基づく配列（例えば、配列番号５、６、７、８、１８、１９、２０、２１、２２、２８、２９、３０、３１、３２、３３、３４、３５、３６、３７、３８、３９、４０、４１、４２、４３、または５８）を含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００２９】

別の態様では、毒素Ａポリペプチドのアミノ酸残基７７０～２００７、７７０～２１４１、７７０～２２５３、７７０～２３８９または１１３１～２００７、１１３１～２１４１、１１３１～２２５３または１１３１～２３８９に基づく配列（例えば配列番号５９）を含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００３０】

本発明の関連する第一の局面は、第１のアミノ酸配列および第２のアミノ酸配列から成るまたはそれを含む融合タンパク質であって、ここで：

１）第１のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Ｂの配列の残基１５００～１８５１から成るアミノ酸配列と少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供され；そして

２）第２のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Ｂの配列のアミノ酸残基１８５２～２３６６内に位置する長い繰り返しユニットから成るアミノ酸配列と少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供される；

但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Ｂのアミノ酸残基５４３～２３６６を含

むポリペプチドではないことを条件とする、
融合タンパク質を提供する。

【００３１】

C. difficile毒素Ｂの配列への言及は、天然C. difficile毒素Ｂのアミノ酸配列（C. difficile毒素Ｂの参照配列とも称される）を意味する。そのような配列の例は、当業者によって容易に理解され、より一般的な天然毒素Ｂの配列のいくつかは、本明細書（例えば、配列番号２および４参照）および文献全体を通して確認される。

【００３２】

一態様では、第１のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ｂのアミノ酸残基５４４～１８５１に基づく（すなわち、それと少なくとも８０％の配列同一性を有する）。別の態様では、第１のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ｂのアミノ酸残基５４４～１８５１のＮ末端切断、例えばC. difficile毒素Ｂのアミノ酸残基５６４～１８５１、アミノ酸残基５８４～１８５１、アミノ酸残基５９４～１８５１、アミノ酸残基６１４～１８５１、アミノ酸残基６３４～１８５１、アミノ酸残基６５４～１８５１、アミノ酸残基６７４～１８５１、アミノ酸残基６９４～１８５１、アミノ酸残基７１４～１８５１、アミノ酸残基７３４～１８５１、アミノ酸残基７５４～１８５１、アミノ酸残基７６７～１８５１、アミノ酸残基７７０～１８５１、アミノ酸残基７７４～１８５１、アミノ酸残基７９４～１８５１、アミノ酸残基８１４～１８５１、アミノ酸残基８３４～１８５１、アミノ酸残基８５４～１８５１、アミノ酸残基８７４～１８５１、アミノ酸残基８９４～１８５１、アミノ酸残基９１４～１８５１、アミノ酸残基９３４～１８５１、アミノ酸残基９５４～１８５１、アミノ酸残基９７４～１８５１、アミノ酸残基９９４～１８５１、アミノ酸残基１０１４～１８５１、アミノ酸残基１０３４～１８５１、アミノ酸残基１０５４～１８５１、アミノ酸残基１０７４～１８５１、アミノ酸残基１０９４～１８５１、アミノ酸残基１１０４～１８５１、アミノ酸残基１１２４～１８５１、アミノ酸残基１１３１～１８５１、アミノ酸残基１１４４～１８５１、アミノ酸残基１１６４～１８５１、アミノ酸残基１１８４～１８５１、アミノ酸残基１２０４～１８５１、アミノ酸残基１２２４～１８５１、アミノ酸残基１２４４～１８５１、アミノ酸残基１２６４～１８５１、アミノ酸残基１２８４～１８５１、アミノ酸残基１３０４～１８５１、アミノ酸残基１３２４～１８５１、アミノ酸残基１３４４～１８５１、アミノ酸残基１３６４～１８５１、アミノ酸残基１３８４～１８５１、アミノ酸残基１４０４～１８５１、アミノ酸残基１４２４～１８５１、アミノ酸残基１４４４～１８５１、アミノ酸残基１４６４～１８５１、またはアミノ酸残基１６８４～１８５１などに基づくが；但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Ｂのアミノ酸残基５４３～２３６６を含むポリペプチドではないことを条件とする。ほんの一例として、上記のアミノ酸位置の番号付けは、配列番号２および／または４として確認されるC. difficile毒素Ｂの配列を表しうる。

【００３３】

一態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ｂの配列由来の長い繰り返し（ＬＲ）アミノ酸配列の任意の一つまたは複数に基づく（すなわち、それと少なくとも８０％の配列同一性を有する）。ほんの一例として、該一つまたは複数のＬＲ配列は、配列番号７４、７６、７８および／または８０のいずれかに基づきうる。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、ＬＲアミノ酸配列および一つまたは複数のその（隣接する）短い繰り返し（ＳＲ）配列を含む、C. difficile毒素Ｂの配列のモジュール配列全体に基づく。ほんの一例として、第２のアミノ酸配列は、配列番号７５、７７、７９および／または８１の一つまたは複数に基づきうる。別の態様では、第２アミノ酸は、C. difficile毒素Ｂの配列由来のモジュール１のアミノ酸配列全体（残基１８５２～２００７）から成るまたはそれを含む配列に基づく。例えば、表２に説明されるようなモジュール１を参照されたい。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ｂの配列由来のモジュール１およびモジュール２のアミノ酸配列全体（例えば、表２に説明されるような残基１８５２～２１３９）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ｂの配列由来のモジュール１およびモジュール２およびモジュール

３のアミノ酸配列全体（例えば、表２に説明されるような残基１８５１～２２７３）から成るまたはそれを含む配列に基づく。別の態様では、第２のアミノ酸配列は、C. difficile毒素Ｂの配列由来のモジュール１およびモジュール２およびモジュール３およびモジュール４のアミノ酸配列全体（例えば、表２に説明されるような残基１８５１～２３６６）から成るまたはそれを含む配列に基づく。ほんの一例として、上記アミノ酸位置の番号付けは、配列番号：２および／または４として確認されるC. difficile毒素Ｂの配列を表しうる。

【００３４】

第２のアミノ酸配列についての任意の態様を、第１のアミノ酸配列について記載された任意の態様と組合せてもよい。

【００３５】

一態様では、第１および第２のアミノ酸配列が共に毒素Ｂの配列に基づく場合、融合タンパク質は、C. difficile毒素Ｂの配列の少なくとも８７１個または少なくとも８７６個または少なくとも８８１個または少なくとも８８６個または少なくとも８９１個または少なくとも８９６個または少なくとも９０１個の連続アミノ酸残基（例えばＣ末端アミノ酸残基から開始するもの）、例えば配列番号：２および／または４などに基づくアミノ酸配列から成るまたはそれを含みうる。

【００３６】

一態様では、毒素Ｂポリペプチドのアミノ酸残基１８５２～２３６６（またはその部分）に基づく配列および毒素Ｂポリペプチドのアミノ酸残基７６７～１８５１（またはその部分）に基づくＮ末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００３７】

別の態様では、毒素Ｂポリペプチドのアミノ酸残基１８５２～２３６６（またはその部分）に基づく配列および毒素Ｂポリペプチドのアミノ酸残基１１４５～１８５１（またはその部分）に基づくＮ末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００３８】

別の態様では、毒素Ｂポリペプチドのアミノ酸残基７６７～２３６６または９５７～２３６６または１１３８～２３６６に基づく配列（例えば、配列番号９、１０、１１、１２、１３、１４、２３、２４、２５、２６、２７、４４、４５、４６、４７、４８、４９、５０、５１、５２、５３、５４、５５、５６または５７）を含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００３９】

本発明は、また、毒素ＡおよびＢのドメインのキメラである融合タンパク質を提供する。例えば、毒素Ｂポリペプチドに基づく一つまたは複数の長い繰り返しユニット（場合により、一つもしくは複数の短い繰り返しユニット；または一つ、複数もしくは全てのモジュールを含む）を、毒素Ａポリペプチドの「足場」領域と組合せてもよい。同様に、毒素Ａポリペプチドに基づく一つまたは複数の長い繰り返しユニット（場合により、一つもしくは複数の短い繰り返しユニット；または一つ、複数もしくは全てのモジュールを含む）を、毒素Ｂポリペプチドの「足場」領域と組合せてもよい。

【００４０】

したがって、本発明のさらなる関連局面は、第１のアミノ酸配列および第２のアミノ酸配列から成るまたはそれを含むハイブリッド／キメラ融合タンパク質であって、ここで：

１）第１のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Ａの配列の残基１５００～１８５０から成るアミノ酸配列と少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供され；そして

２）第２のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Ｂの配列のアミノ酸残基１８５２～２３６６内に位置する長い繰り返しユニットから成るアミノ酸配列と少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供される；

但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Ａのアミノ酸残基５４３～２７１０を含むポリペプチドではないことを条件とし；そして
但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Ｂのアミノ酸残基５４３～２３６６を含むポリペプチドではないことを条件とする、
融合タンパク質を提供する。

【００４１】
第１および第２のアミノ酸配列の態様は、上記に詳述する通りである。

【００４２】
例えば一態様では、毒素Ｂポリペプチドのアミノ酸残基１８５２～２３６６（またはその部分）に基づく配列および毒素Ａポリペプチドのアミノ酸残基７７０～１８４９（またはその部分）に基づくＮ末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００４３】
別の態様では、毒素Ｂポリペプチドのアミノ酸残基１８５２～２３６６（またはその部分）に基づく配列および毒素Ａポリペプチドのアミノ酸残基１１３１～１８４９（またはその部分）に基づくＮ末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００４４】
別の態様では、毒素Ｂポリペプチドのアミノ酸残基１８５２～２３６６（またはその部分）に基づく配列および毒素Ａポリペプチドのアミノ酸残基１５００～１８４９（またはその部分）に基づくＮ末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。一態様では、該毒素Ａポリペプチドの構成要素は、好ましくは、毒素Ａポリペプチドの残基５４３～１８４９よりも短い配列に基づく。

【００４５】
具体例には、配列番号：１６または１７の任意の一つまたは複数に基づくアミノ酸配列から成るまたはそれを含む融合タンパク質が挙げられる。

【００４６】
同様に、本発明のさらなる関連する第一の局面は、第１のアミノ酸配列および第２のアミノ酸配列から成るまたはそれを含むハイブリッド／キメラ融合タンパク質であって、ここで：
１）第１のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Ｂの配列の残基１５００～１８５１から成るアミノ酸配列と少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供され；そして
２）第２のアミノ酸配列が、C. difficile毒素Ａの配列のアミノ酸残基１８５１～２７１０内に位置する長い繰り返しユニットから成るアミノ酸配列と少なくとも８０％の配列同一性を有するアミノ酸配列によって提供される；
但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Ａのアミノ酸残基５４３～２７１０を含むポリペプチドではないことを条件とし、
そして但し、その融合タンパク質は、C. difficile毒素Ｂのアミノ酸残基５４３～２３６６を含むポリペプチドではないことを条件とする、
を提供する。

【００４７】
第１および第２のアミノ酸配列の態様は、上記に詳述する通りである。

【００４８】
一態様では、毒素Ａポリペプチドのアミノ酸残基１８５０～２７１０（またはその部分）に基づく配列および毒素Ｂポリペプチドのアミノ酸残基７６７～１８５１（またはその部分）に基づくＮ末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００４９】
別の態様では、毒素Ａポリペプチドのアミノ酸残基１８５０～２７１０（またはその部

分）に基づく配列および毒素Ｂポリペプチドのアミノ酸残基１１４５～１８５１（またはその部分）に基づくＮ末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。

【００５０】

別の態様では、毒素Ａポリペプチドのアミノ酸残基１８５０～２７１０（またはその部分）に基づく配列および毒素Ｂポリペプチドの１５００～１８５１に基づくＮ末端ポリペプチドを含むまたはそれから成る融合タンパク質が提供される。一態様では、毒素Ｂポリペプチドの構成要素は、好ましくは、毒素Ｂポリペプチドの残基５４３～１８５１よりも短い配列に基づく。

【００５１】

具体例には、配列番号１５に基づくアミノ酸配列から成るまたはそれを含む融合タンパク質が挙げられる。

【００５２】

本明細書前記のように、本発明は、C. difficile毒素Ａおよび／またはC. difficile毒素Ｂの「足場」区域および（Ｃ末端繰り返しユニットの）ＬＲ部分に基づく融合タンパク質に関する。これに関して、該C. difficile毒素Ａおよび／または毒素Ｂの配列に基づく該融合タンパク質の総部分（一つまたは複数）は、典型的には最大で１９４０個の連続アミノ酸残基（例えば、最大で１８９０個、または１８４０個、または１７９０個、または１７４０個、または１６９０個、または１６４０個、または１５９０個、または１５４０個、または１４９０個、１４４０個、または１３９０個、または１３４０個、または１２９０個、または１２４０個の連続アミノ酸残基）になる。

【００５３】

一態様では、融合タンパク質は、システインプロテアーゼ活性を実質的に欠如する。別の（または同じ）態様では、融合タンパク質は、グルコシルトランスフェラーゼ活性を実質的に欠如する。例えば、該活性（一つまたは複数）を提供するアミノ酸配列（一つまたは複数）の一部または全ては、典型的には本発明の融合タンパク質に不在である（例えば欠失している）。これらの酵素活性は、ネイティブな毒素Ａおよび／または毒素Ｂに存在し、該毒素のＮ末端ドメインと関連する（図１参照）。

【００５４】

別の態様では、融合タンパク質は、ネイティブなC. difficile毒素のグルコシルトランスフェラーゼドメイン（毒素Ａのアミノ酸残基１～５４２；毒素Ｂのアミノ酸残基１～５４３）を実質的に欠如する。別の（または同じ）態様では、融合タンパク質は、ネイティブなC. difficile毒素のシステインプロテアーゼドメイン（毒素Ａのアミノ酸残基５４３～７７０；毒素Ｂの５４４～７６７）を実質的に欠如する。該アミノ酸残基の番号付けは、任意の毒素Ａまたは毒素Ｂの毒素タイプの、例えば本明細書において列挙された任意の一つまたは複数の毒素Ａおよび／または毒素Ｂの参照毒素タイプの配列番号を表す。したがって、該アミノ酸残基の番号付けは、それに対して少なくとも８０％、少なくとも８５％、少なくとも９０％、少なくとも９３％、少なくとも９５％、少なくとも９７％、または少なくとも９９％を有するアミノ酸配列変異体を含む、本明細書に列挙された任意の特定の毒素Ａおよび／または毒素Ｂの参照配列番号を表しうる。

【００５５】

本発明の融合タンパク質構築物は、本明細書に説明されたもののように、任意の毒素Ａおよび／またはＢ配列（任意の毒素タイプの配列を含む）から得られうる。例えば、一態様では、第１および／または第２のアミノ酸配列は、毒素タイプ０の毒素Ａおよび／またはＢから得られる（それぞれ配列番号１および２）。別の態様では、第１および／または第２のアミノ酸配列は、毒素タイプ３の毒素Ａおよび／またはＢから得られる（それぞれ配列番号３および４）。

【００５６】

本発明の融合タンパク質は、さらに、可溶性発現を容易にするために融合タンパク質パートナーを含みうる。融合タンパク質パートナーは、抗原構築物のＮまたはＣ末端に結合

していてもよいが、通常はＮ末端に位置する。融合パートナーの例は：ＮｕｓＡ、チオレドキシン、マルトース結合タンパク質、小型ユビキチン様分子（Sumoタグ）である。精製時に融合タンパク質パートナーの除去を容易にするために、ユニークなプロテアーゼ部位を、融合タンパク質パートナーと融合タンパク質自体の間に挿入することができる。そのようなプロテアーゼ部位には、トロンビン、第Ｘａ因子、エンテロキナーゼ、PreScission（商標）、Sumo（商標）に対する部位を挙げることができる。または、融合タンパク質パートナーの除去は、融合タンパク質パートナーと融合タンパク質自体の間にインテイン配列を含ませることによって達成することができる。インテインは、自己切断タンパク質であって、刺激（例えば低下したｐＨ）に応答してインテインと抗原構築物の間の結合部で自己スプライシングできることにより、特異的プロテアーゼを添加する必要性を排除するタンパク質である。インテインの例には、Mycobacterium tuberculosis（ＲｅｃＡ）、およびPyrococcus horikoshii（ＲａｄＡ）（Fong et al. (2010) Trends Biotechnol. 28:272-279）から得られたドメインが挙げられる。

【００５７】

精製を容易にするために、本発明の融合タンパク質は、精製工程に特定のクロマトグラフィー段階（例えば金属イオンキレート形成クロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー）を組入れ可能にする一つまたは複数の精製タグを含んでもよい。そのような精製タグには、例えば：繰り返しヒスチジン残基（例えば６～１０個のヒスチジン残基）、マルトース結合タンパク質、グルタチオンＳ－トランスフェラーゼ；およびストレプトアビジンを挙げることができる。これらのタグは、本発明の抗原融合タンパク質のＮおよび／またはＣ末端に結合していてもよい。精製時のそのようなタグの除去を容易にするために、プロテアーゼ部位および／またはインテイン（上記例）は、融合タンパク質と精製タグ（一つまたは複数）の間に挿入することができる。

【００５８】

したがって、本発明の典型的な融合タンパク質構築物は（Ｎ末端から）：

－　第１精製タグ
－　融合タンパク質パートナー（発現を容易にするため）
－　第１（好ましくは特異的）プロテアーゼ配列またはインテイン配列
－　毒素Ａおよび／またはＢの抗原配列
－　場合による第２（好ましくは特異的）プロテアーゼ配列またはインテイン配列
－　場合による第２精製タグ

を含みうる。

【００５９】

第１および第２精製タグは、同じ場合も、異なる場合もありうる。同様に、第１および第２プロテアーゼ／インテイン配列も、同じ場合も、異なる場合もありうる。選択的でコントロール可能な切断／精製を可能にするために、第１および第２の選択肢は、好ましくは異なる。

【００６０】

そのような融合タンパク質構築物の具体例を配列番号１８～２７に示す。

【００６１】

一態様では、精製タグと融合タンパク質の間隔を空けるためにスペーサーを導入することができ、これは、アフィニティー精製カラム媒体への結合効率を上げるために役立ちうる。スペーサーは、精製タグの（直）後に、または融合タンパク質パートナーと融合タンパク質自体の間に配置することができる。直鎖またはαヘリックス構造のいずれかを与えるために、典型的なスペーサー配列は、１０から４０個の間のアミノ酸残基から成りうる。

【００６２】

したがって、一態様では、本発明の融合タンパク質構築物は（Ｎ末端から）：

－　第１精製タグ
－　場合による第１スペーサー配列

－　融合タンパク質パートナー（発現を容易にするため）
－　場合による第２スペーサー配列
－　（好ましくは特異的）プロテアーゼ配列またはインテイン配列
－　毒素Ａおよび／またはＢ由来の抗原配列
－　場合による第２（好ましくは特異的）プロテアーゼ配列またはインテイン配列
－　場合による第３スペーサー配列
－　場合による第２精製タグ
を含む。

【００６３】
そのようなタンパク質融合構築物の具体例を、配列番号２８～５７に示す。

【００６４】
本発明の構築物をコードする遺伝子を、ＰＣＲによってC. difficileゲノムＤＮＡから作製し、完全性を保証するために標準法によって配列決定することができる。または、そして好ましくは、発現ホストに最適なコドンバイアスを提供する遺伝子を合成することができる（例えばE. coli、Bacillus megaterium）。したがって、本発明は、本発明の前記融合タンパク質をコードする対応する核酸配列を提供する。

【００６５】
したがって、本発明の第２の局面は、前記融合タンパク質の一つまたは複数を発現させるための方法であって：
１）該融合タンパク質の一つまたは複数をコードする核酸配列をホスト細胞中に提供すること、ここで該核酸配列はプロモーターに作動可能に連結している、；および
２）該核酸配列をホスト細胞中で発現させること
を含む方法を提供する。

【００６６】
本発明の融合タンパク質は、様々な方法でヒトまたは動物用のワクチンとして製剤化することができる。例えば、製剤化には、分子内架橋を導入するための薬剤を用いた処理が含まれうる。そのような薬剤の一例は、ホルムアルデヒドであり、ホルムアルデヒドは、例えば本発明の抗原融合タンパク質と共に１～２４時間インキュベーションすることができる。または、例えば最大２、４、６、８または１０日という、より長いインキュベーション時間を採用してもよい。そのような薬剤を用いた処理の後に、本発明の抗原融合物を適切なアジュバントと組合せることができ、アジュバントは、抗原融合タンパク質がヒト用であるかまたは動物用であるかに応じて異なりうる。

【００６７】
ヒトまたは動物用ワクチン製剤は、本発明の毒素Ａおよび／または毒素Ｂおよび／または対応するハイブリッド／キメラ抗原融合体を含有しうる。したがって一態様では、本発明のワクチン製剤化手順は、以下の工程：
－　適切な緩衝系中にリコンビナント毒素Ａおよび／または毒素Ｂおよび／またはハイブリッド／キメラ毒素融合タンパク質を提供すること
－　場合により（好ましくは）該混合物をホルムアルデヒドなどのトキソイド化成分で処理すること
－　場合により融合タンパク質を新しい緩衝系に移行させること
－　融合タンパク質を一つまたは複数の適切なアジュバントおよび場合により他の賦形剤と組合せること
を含む。

【００６８】
したがって、本発明の第３の局面は、C. difficileの毒素Ａおよび／または毒素Ｂに結合する抗体の作製に使用するための、本発明の前記融合タンパク質の一つまたは複数を提供する。一態様では、該抗体は、C. difficileの毒素Ａおよび／または毒素Ｂに結合し、それを中和する。

【００６９】

動物の免疫処置のために、本発明のC. difficileリコンビナント融合タンパク質抗原を、免疫原として別々にまたは組合せて、同時にまたは連続的に、個別のC. difficile毒素または組合せに特異的な抗体を産生させるために使用することができる。例えば、二つ以上のリコンビナント抗原を一緒に混合して、単一の免疫原として使用することができる。または、C. difficile毒素融合タンパク質抗原（例えば毒素Ａ由来）を、第１動物群に対する第１免疫原として別々に使用することができ、別のC. difficile毒素抗原（例えば毒素Ｂ由来）を、第２動物群に対して別々に使用することができる。別々の免疫処置によって産生された抗体を組合せて、C. difficile毒素に対する抗体組成物を得てもよい。動物用／獣医学的使用に適したアジュバントの非限定的な例には、フロイント（完全および不完全形）、ミョウバン（リン酸アルミニウムまたは水酸化アルミニウム）、サポニンおよびその精製された成分Quil Aが挙げられる。

【００７０】

本発明の第４（ワクチン）の局面は、（例えばヒトなどの哺乳類における）ＣＤＩの予防、治療または抑制に使用するための、本発明の前記融合タンパク質の一つまたは複数を提供する。言い換えれば、本発明は、（例えばヒトなどの哺乳類における）ＣＤＩの予防、治療または抑制のための方法であって、本発明の前記融合タンパク質の一つまたは複数の治療有効量を対象（ヒトなどの哺乳類）に投与することを含む方法を提供する。

【００７１】

一例として、毒素Ａに基づく融合タンパク質（任意のＡ毒素タイプ）を、単独で、または毒素Ｂに基づく融合タンパク質（任意のＢ毒素タイプ）と組合せて採用することができる。同様に、毒素Ｂに基づく融合タンパク質（任意のＢ毒素タイプ）を、単独で、または毒素Ａに基づく融合タンパク質（任意のＡ毒素タイプ）と組合せて採用することができる。該融合タンパク質は、連続的にまたは同時に投与することができる。本発明のワクチン適用には、さらに、C. difficile抗原（例えば非毒素抗原；または不活性化もしくは弱毒化された細菌のようなC. difficile細菌）などの一つまたは複数の抗原、および場合により一つまたは複数の院内感染抗原（例えば院内感染を引き起こす細菌由来の抗原、特に表面抗原；および／または不活性化もしくは弱毒化された細菌などの、院内感染を引き起こす細菌）の組合せ使用（例えば事前投与、連続投与または事後投与）を挙げることができる。院内感染を引き起こす細菌の例には：E. coli、Klebsiella pneumonae、ＭＲＳＡなどのStaphylococcus aureus、Legionella、Pseudomonas aeruginosa、Serratia marcescens、Enterobacter spp、Citrobacter spp、Stenotrophomonas maltophilia、Acinetobacter baumanniiなどのAcinetobacter spp、Burkholderia cepacia、およびバンコマイシン耐性Enterococcus（ＶＲＥ）などのEnterococcusの一つまたは複数が挙げられる。

【００７２】

一態様では、該ワクチン適用は、予防的に、例えば該患者が病院（または類似の治療施設）に入院する前に患者を処置して院内感染の予防に役立つように採用してもよい。または、該ワクチン適用は、日常的な問題として、脆弱な患者に投与してもよい。

【００７３】

本発明の関連ワクチン局面は、（例えばヒトなどの哺乳類における）ＣＤＩの予防、治療または抑制に使用するための、本発明の一つまたは複数の前記融合タンパク質に結合する一つまたは複数の抗体（ＩｇＧ全体および／またはＦａｂおよび／またはＦ（ａｂ’）２フラグメントを含むまたはそれから成る）を提供する。言い換えれば、本発明は、（例えばヒトなどの哺乳類における）ＣＤＩを予防、治療または抑制するための方法であって、該抗体（一つまたは複数）の治療有効量を対象（例えばヒトなどの哺乳類）に投与することを含む方法を提供する。

【００７４】

一例として、毒素Ａに基づく融合タンパク質（任意のＡ毒素タイプ）に対する抗体を、単独で、または毒素Ｂに基づく融合タンパク質（任意のＢ毒素タイプ）に対する抗体と組合せて採用することができる。同様に、毒素Ｂに基づく融合タンパク質（任意のＢ毒素タイプ）に対する抗体を、単独で、または毒素Ａに基づく融合タンパク質（任意のＡ毒素タ

イプ）に対する抗体と組合せて採用することができる。該抗体は、連続的にまたは同時に投与することができる。本発明のワクチン適用には、さらに、C. difficile抗原（例えば非毒素抗原；またはC. difficile細菌）などの抗原に結合する一つまたは複数の抗体、および場合により、一つまたは複数の院内感染抗原（例えば院内感染を引き起こす細菌由来の抗原、特に表面抗原；および／または院内感染を引き起こす細菌）に結合する一つまたは複数の抗体の組合せ使用（例えば事前投与、連続投与または事後投与）を挙げることができる。院内感染を引き起こす細菌の例には：E. coli、Klebsiella pneumonae、ＭＲＳＡなどのStaphylococcus aureus、Legionella、Pseudomonas aeruginosa、Serratia marcescens、Enterobacter spp、Citrobacter spp、Stenotrophomonas maltophilia、Acinetobacter baumanniiなどのAcinetobacter spp、Burkholderia cepacia、およびバンコマイシン耐性Enterococcus（ＶＲＥ）などのEnterococcusの一つまたは複数が挙げられる。

【００７５】

一態様では、該ワクチン適用は、予防的に、例えば患者がいったん病院（または類似の治療施設）に入院してから採用してもよい。または、該ワクチン適用は、一つまたは複数の抗生物質と組合せて患者に投与してもよい。

【００７６】

一態様では、該抗体は、動物（例えばヒトなどの哺乳類、またはヤギもしくはヒツジなどの非ヒト動物）に前記の本発明の融合タンパク質の一つまたは複数を免疫処置することによって作製されたものである。

【００７７】

一態様では、本発明の抗体は、C. difficile毒素Ａおよび／または毒素Ｂのエフェクタードメインおよび／またはシステインプロテアーゼドメインに（実質的に）結合しない。

【００７８】

ヒト（または非ヒト動物）用のワクチンを調製するために、活性免疫原性成分（これらは、本発明の抗原性融合タンパク質（一つまたは複数）および／またはそれに結合する本発明の対応する抗体のいずれかである）は、薬学的に許容される担体または賦形剤であって、活性成分と適合性の担体または賦形剤と混合することができる。適切な担体および賦形剤には、例えば、水、食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノール等、およびその組合せが挙げられる。加えて、ワクチンは、所望により湿潤剤もしくは乳化剤、ｐＨ緩衝剤および／またはワクチンの有効性を高めるアジュバントなどの補助物質を少量含有する場合がある。

【００７９】

ワクチンは、さらに、一つまたは複数のアジュバントを含みうる。本発明の範囲のアジュバントの非限定的な一例は、水酸化アルミニウムである。アジュバントの他の非限定的な例には：Ｎ－アセチル－ムラミル－Ｌ－トレオニル－Ｄ－イソグルタミン（ｔｈｒ－ＭＤＰ）、Ｎ－アセチル－ノル－ムラミル－Ｌ－アラニル－Ｄ－イソグルタミン（ＣＧＰ１１６３７、ノル－ＭＤＰと称される）、Ｎ－アセチルムラミル－Ｌ－アラニル－Ｄ－イソグルタミニル－Ｌ－アラニン－２－（１’－２’－ジパルミトイル－ｓｎ－グリセロ－３－ヒドロキシホスホリルオキシ）－エチルアミン（ＣＧＰ１９８３５Ａ、ＭＴＰ－ＰＥと称される）、および細菌から抽出された３成分であるモノホスホリルリピドＡ、トレハロースジミコレートおよび細胞壁骨格（ＭＰＬ＋ＴＤＭ＋ＣＷＳ）を２％スクアレン／Ｔｗｅｅｎ８０エマルション中に含有するＲＩＢＩが挙げられるが、それに限定されるわけではない。

【００８０】

典型的には、ワクチンは、注射剤として、液剤または懸濁剤のいずれかで調製される。もちろん、注射前に液体中に溶解または懸濁するために適した固体剤形も調製することができる。また、調製物を乳化させても、またはペプチドをリポソームもしくはマイクロカプセル中に封入してもよい。

【００８１】

ワクチンの投与は、一般に、従来経路、例えば静脈内、皮下、腹腔内、または粘膜経路

による。投与は、注射、例えば皮下または筋肉内注射による場合がある。

【００８２】

ワクチンは、投薬製剤と適合する様式で、予防的および／または治療的に有効であろう量で投与される。投与される量は、一般に１回あたり抗原５マイクログラム～２５０マイクログラムの範囲内であるであるが、処置される対象、対象の免疫系が抗体を合成する能力、および所望の防御度に依存する。投与する必要のある活性成分の正確な量は、開業医の判断に依存しうるし、各対象に特定でありうる。

【００８３】

ワクチンは、１回投与スケジュールで、または場合により多回投与スケジュールで投与することができる。多回投与スケジュールは、ワクチン処置の初回クールが１～６回の別々の投与であり、続いて、免疫応答を維持および／または強化するために必要なその後の時間間隔で他の投与が行われ、例えば２回目の投与が１～４ヶ月目であり、必要に応じてその後の投与（１回または複数回）が数ヶ月後に行われうるスケジュールである。投与方式は、また、少なくとも部分的には個体の必要性によって決定され、開業医の判断に依存するであろう。

【００８４】

加えて、免疫原性抗原（一つまたは複数）を含有するワクチンは、他の免疫調節剤、例えば免疫グロブリン、抗生物質、インターロイキン（例えばＩＬ－２、ＩＬ－１２）、および／またはサイトカイン（例えばＩＦＮγ）と共に投与してもよい。

【００８５】

本発明で使用するために適した追加的な製剤には、マイクロカプセル剤、坐剤、および場合により、経口製剤またはエアロゾルとして分布させるために適した製剤が挙げられる。坐剤について、従来の結合剤および担体には、例えばポリアルキレングリコールまたはトリグリセリドを挙げることができるが；そのような坐剤は、約０．５％～１０％、例えば約１％～２％など、の範囲内で活性成分を含有する混合物から形成させることができる。

【００８６】

本発明の融合タンパク質は、また、アフィニティークロマトグラフィー手順に使用するためのリガンドとしての用途を有しうる。そのような手順では、本発明の融合タンパク質は、例えば臭化シアン活性化セファロースを使用して、セファロースなどのマトリックス上に共有結合的に固定化することができる。次に、そのようなアフィニティーカラムは、抗血清または免疫グロブリンの部分精製溶液から抗体を精製するために使用することができ、それはそれらの液をカラムに通過させ、次に、結合しているＩｇＧ画分を（例えば低ｐＨにより）溶離させることによる。溶離した画分中の抗体のほとんど全てが本発明の融合タンパク質に対するものであり、非特異的抗体および他のタンパク質は除去されるであろう。これらのアフィニティー精製されたＩｇＧ画分は、免疫療法剤および診断試薬の両方としての適用を有する。免疫療法剤について、アフィニティー精製された抗体は、より低用量を投与可能にし、有害副作用の可能性をより小さくする。診断薬について、アフィニティー精製された薬剤は、向上した特異性およびより少ない偽陽性結果を与えることが多い。

【００８７】

定義の部

Clostridium difficileは、Clostridium属のグラム陽性細菌の一種である。

【００８８】

Clostridium difficile感染（ＣＤＩ）は、ヒトおよび動物を冒す細菌感染であって、軽症の自己限定性の下痢から偽膜性大腸炎および細胞中毒性巨大結腸などの致命的な状態までの一連の症状を招く細菌感染を意味する。この疾患では、C. difficileが正常な腸管内フローラの一部に置き換わり、腸上皮を攻撃して損傷する細胞毒素を生産し始める。ヒトＣＤＩに関する主リスク因子には：広域スペクトル抗生物質処置を受けている、年齢が６５歳よりも大きい、および入院中が挙げられる。

【００８９】
Clostridium difficile毒素Ａは、大きさが約３００kDaのタンパク質性細胞毒素／エンテロトキシンのファミリーである。毒素Ａは、哺乳類細胞の細胞骨格を破壊して細胞死を引き起こすように作用する酵素活性をＮ末端領域内に有する。Clostridium difficileの株内には「毒素タイプ」と呼ばれる毒素Ａのいくつかの天然変異体がある。毒素Ａの様々な毒素タイプは、通常、それらの一次配列内に全体で＜１０％の変異を有する。適切な毒素Ａ配列の例には、配列番号：１および３が挙げられる。
【００９０】
Clostridium difficile毒素Ｂは、毒素Ａに類似しているが顕著に細胞毒性が高い、大きさが約２７０kDaのタンパク質性細胞毒素ファミリーである。毒素Ａのように、毒素Ｂは、哺乳類細胞の細胞骨格を破壊して細胞死を引き起こすように作用する酵素活性をＮ末端領域内に有する。C. difficileの株内には、「毒素タイプ」と呼ばれる、毒素Ｂのいくつかの天然変異体がある。毒素Ｂの様々な毒素タイプは、それらの一次配列内に全体で最大１５％の変異を有する。適切な毒素Ｂ配列の例には、配列番号：２および４が挙げられる。
【００９１】
C. difficile繰り返しユニットは、von Eichel-StreiberおよびSauerborn（1990; Gene 30: 107-113）によって最初に同定された繰り返しモチーフを含有する、毒素ＡおよびＢのＣ末端内の領域である。毒素Ａの場合、３１個の短いリピートおよび７個の長いリピートがあり、各リピートは、βヘアピンに続くループから成る。毒素Ｂは、類似の構造から成るが、繰り返しがより少ない。毒素Ａの繰り返しユニットは、残基１８５０～２７１０内に含有され、毒素Ｂの繰り返しユニットは残基１８５２～２３６６内に含有される。繰り返し領域は、レセプターの結合に役割を果たす。レセプター結合領域（すなわち毒素の構造結合ポケットを規定する）は、長い繰り返し領域周囲にクラスター化して「結合モジュール」を形成すると思われる（表１および２）参照。
【００９２】
毒素ＡおよびＢの中央ドメインは、哺乳類細胞内への毒素の移行に役割を果たすと考えられている。毒素Ａの中央ドメインは、残基５４３～１８４９に基づき、毒素Ｂについての中央ドメインは、残基５４３～１８５１に基づく。毒素ＡおよびＢの中央ドメイン領域のうち、第１のドメインはシステインプロテアーゼであり、毒素のエフェクタードメイン（グルコシルトランスフェラーゼ活性を含有する）のインターナリゼーションに役割を果たす。
【００９３】
毒素タイプは、C. difficileの株を分類するために使用されることが多い。毒素タイピングは、毒素遺伝子で得られた制限パターンを特徴づける方法に基づく。毒素ＡおよびＢの毒素タイプは、これらのタンパク質性毒素の一次アミノ酸配列による変異体を表す。一態様では、C. difficile毒素は、毒素タイプ０～ＸＶの一つより選択される。好ましい毒素タイプ（ならびにリボタイプおよび株の例）をすぐ下の表に挙げる。列挙した毒素タイプは、純粋に例示的であり、本発明を限定しようとするものではない。
【００９４】

【表１０１】

毒素タイプ	リボタイプの例	株の例	参考文献
0	001, 106	VPI10463	Rupnik et al. (1998) J. Clinical Microbiol. 36: 2240-2247
1	003, 012, 102	EX623	
2	103	AC008	
3	027, 034, 075, 080	R20291, QCD-32g58	
4	023, 034, 075, 080	55767	
5	066, 078	SE881	
6	045, 063, 066	51377	
7	063	57267	
8	017, 047	1470	
9	019	51680	
10	036	8864	
11	033	IS58, R11402	Rupnik et al. (2001) Microbiology 147: 439-447
12	056	IS25	
13	070	R9367	
14	111	R10870	
15	122	R9385	

【００９５】

「抗体」は、最も広い意味で使用され、それらが所望の生物学的活性を示す限り、具体的にポリクローナル抗体および抗体フラグメントを包含する。例えば、抗体は、少なくとも１または２個の重（Ｈ）鎖可変領域（本明細書においてＶＨＣと略す）、および少なくとも１または２個の軽（Ｌ）鎖可変領域（本明細書においてＶＬＣと略す）を含むタンパク質である。ＶＨＣおよびＶＬＣ領域は、さらに、「相補性決定領域」（「ＣＤＲ」）と名付けられた超可変領域と、それに点在し、より高く保存された「フレームワーク領域」（ＦＲ）と名付けられた領域とに細分することができる。フレームワーク領域およびＣＤＲの程度は正確に定義されている（参照により本明細書に組入れられるKabat, E.A., et al. Sequences of Proteins of Immunological Interest, Fifth Edition, U.S. Department of Health and Human Services, NIH Publication No. 91-3242, 1991、およびChothia, C. et al, J. MoI. Biol. 196:901-917, 1987参照）。好ましくは、ＶＨＣおよびＶＬＣのそれぞれは、アミノ末端からカルボキシ末端にかけて以下の順序に配列した３個のＣＤＲおよび４個のＦＲから構成される：ＦＲｌ、ＣＤＲｌ、ＦＲ２、ＣＤＲ２、ＦＲ３、ＣＤＲ３、ＦＲ４。

【００９６】

抗体のＶＨＣまたはＶＬＣ鎖は、さらに、重鎖または軽鎖定常領域の全てまたは一部を含みうる。一態様では、抗体は、２本の免疫グロブリン重鎖および２本の免疫グロブリン軽鎖の四量体であり、ここで、免疫グロブリン重鎖および軽鎖は、例えばジスルフィド結合によって相互に結合している。重鎖定常領域は、３個のドメイン、ＣＨｌ、ＣＨ２およびＣＨ３を含む。軽鎖定常領域は、１個のドメイン、ＣＬから成る。重鎖および軽鎖の可変領域は、抗原と相互作用する結合ドメインを含有する。抗体の定常領域は、典型的には免疫系の様々な細胞（例えばエフェクター細胞）および古典的補体系の第１成分（ＣＩｑ）を含めた、ホスト組織または因子への抗体の結合を仲介する。「抗体」という用語には

、ＩｇＡ、ＩｇＧ、ＩｇＥ、ＩｇＤ、ＩｇＭ型のインタクトな免疫グロブリン（およびそのサブタイプ）が含まれ、その際、免疫グロブリン軽鎖は、κまたはλ型でありうる。

【００９７】

本明細書に使用されるような抗体という用語は、C. difficileの毒素（例えば毒素ＡまたはＢ）に結合する抗体の部分、例えば、１本または複数本の免疫グロブリン鎖が完全長ではないが毒素に結合する分子も表す。抗体という用語内に包含される結合部分の例には、（ｉ）Ｆａｂフラグメント、すなわちＶＬＣ、ＶＨＣ、ＣＬおよびＣＨｌドメインから成る一価フラグメント；（ｉｉ）Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメント、すなわちヒンジ領域でジスルフィド架橋によって結合した２個のＦａｂフラグメントを含む二価フラグメント；（ｉｉｉ）ＶＨＣおよびＣＨｌドメインから成るＦｃフラグメント；（ｉｖ）抗体の一本の腕のＶＬＣおよびＶＨＣドメインから成るＦｖフラグメント、（ｖ）ＶＨＣドメインから成るｄＡｂフラグメント（Ward et al, Nature 341:544-546, 1989）；ならびに（ｖｉ）結合するために十分なフレームワークを有する単離された相補性決定領域（ＣＤＲ）、例えば可変領域の抗原結合部分が挙げられる。リコンビナント法を用いて、軽鎖可変領域の抗原結合部分と重鎖可変領域の抗原結合部分を、例えば、Ｆｖフラグメントの二つのドメイン、ＶＬＣとＶＨＣを、合成リンカーによって繋ぐことができ、そのリンカーのおかげで、それらの部分を、ＶＬＣおよびＶＨＣ領域が対になって一価分子を形成したタンパク質１本鎖として製造できるようになる（単鎖Ｆｖ（ｓｃＦｖ）として知られている；例えば、Bird et al. (1988) Science lAl-ATi-Alβ；およびHuston et al. (1988) Proc. Natl. Acad. ScL USA 85:5879-5883参照）。そのような単鎖抗体（およびラクダ抗体（camelid））もまた、抗体という用語内に包含される。これらは、当業者に公知の従来技法を用いて得られ、それらの一部がインタクトな抗体と同様に有用性についてスクリーニングされる。

【００９８】

「フラグメント」という用語は、典型的には参照配列の連続アミノ酸配列の少なくとも７０、好ましくは少なくとも８０、より好ましくは少なくとも９０％を有するペプチドを意味する。

【００９９】

「変異体」という用語は、C. difficile毒素ポリペプチドと少なくとも８０、好ましくは少なくとも８５、より好ましくは少なくとも９０％のアミノ酸配列相同性を有するペプチドまたはペプチドフラグメントを意味する。配列比較のために、典型的には一つの配列が参照配列としての機能を果たし、その参照配列と被験配列を比較することができる。配列比較アルゴリズムを使用する場合、被験配列および参照配列がコンピューターにインプットされ、必要に応じて後続の座標が指定され、配列アルゴリズムプログラムのパラメーターが指定される。次に、配列比較アルゴリズムが、参照配列に比べた被験配列（一つまたは複数）についての配列同一パーセンテージを、指定されたプログラムパラメーターに基づき計算する。

【０１００】

非限定的にグローバル法、ローカル法および例えばセグメントアプローチ法などのハイブリッド法を含めた、任意の多様な配列アライメント法を用いて同一パーセントを決定することができる。同一パーセントを決定するためのプロトコールは、当業者の範囲内の日常的な手順である。グローバル法は、分子の最初から終わりまで配列をアライメントし、個別の残基対のスコアを加算することによって、そしてギャップペナルティーを課すことによって最良のアライメントを決定する。非限定的な方法には、例えば、CLUSTAL W、例えば、Julie D. Thompson et al., CLUSTAL W: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment Through Sequence Weighting, Position- Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice, 22(22) Nucleic Acids Research 4673-4680 (1994)参照；および反復改良法、例えば、Osamu Gotoh, Significant Improvement in Accuracy of Multiple Protein. Sequence Alignments by Iterative Refinement as Assessed by Reference to Structural Alignments, 264(4) J. MoI. Biol. 823-838 (1996)参

照が挙げられる。ローカル法は、インプット配列の全てによって共有される一つまたは複数の保存されたモチーフを同定することによって配列をアライメントする。非限定的な方法には、例えばマッチボックス、例えば、Eric Depiereux and Ernest Feytmans, Match-Box: A Fundamentally New Algorithm for the Simultaneous Alignment of Several Protein Sequences, 8(5) CABIOS 501 -509 (1992)参照；Gibbsサンプリング、例えば、C. E. Lawrence et al., Detecting Subtle Sequence Signals: A Gibbs Sampling Strategy for Multiple Alignment, 262(5131) Science 208-214 (1993)参照；アラインーM、例えば、Ivo Van WaIIe et al., Align-M - A New Algorithm for Multiple Alignment of Highly Divergent Sequences, 20(9) Bioinformatics:1428-1435 (2004)参照が挙げられる。

【０１０１】

したがって、配列同一性パーセントは、従来法によって決定される。例えば、Altschul et al., Bull. Math. Bio. 48: 603-16, 1986およびHenikoff and Henikoff, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915-19, 1992を参照されたい。簡潔には、ギャップオープニングペナルティー１０、ギャップ伸長ペナルティー１、および下記のようなHenikoffおよびHenikoffの「blosum 62」スコアリングマトリックス（同文献）を使用して、アライメントスコアを最適化するように二つのアミノ酸配列がアライメントされる（アミノ酸を標準的な一文字コードによって表示する）。

【０１０２】

配列同一性を決定するためのアライメントスコア

【０１０３】

【表１０２】

	A	R	N	D	C	Q	E	G	H	I	L	K	M	F	P	S	T	W	Y	V
A	4																			
R	-1	5																		
N	-2	0	6																	
D	-2	-2	1	6																
C	0	-3	-3	-3	9															
Q	-1	1	0	0	-3	5														
E	-1	0	0	2	-4	2	5													
G	0	-2	0	-1	-3	-2	-2	6												
H	-2	0	1	-1	-3	0	0	-2	8											
I	-1	-3	-3	-3	-1	-3	-3	-4	-3	4										
L	-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-4	-3	2	4									
K	-1	2	0	-1	-3	1	1	-2	-1	-3	-2	5								
M	-1	-1	-2	-3	-1	0	-2	-3	-2	1	2	-1	5							
F	-2	-3	-3	-3	-2	-3	-3	-3	-1	0	0	-3	0	6						
P	-1	-2	-2	-1	-3	-1	-1	-2	-2	-3	-3	-1	-2	-4	7					
S	1	-1	1	0	-1	0	0	0	-1	-2	-2	0	-1	-2	-1	4				
T	0	-1	0	-1	-1	-1	-1	-2	-2	-1	-1	-1	-1	-2	-1	1	5			
W	-3	-3	-4	-4	-2	-2	-3	-2	-2	-3	-2	-3	-1	1	-4	-3	-2	11		
Y	-2	-2	-2	-3	-2	-1	-2	-3	2	-1	-1	-2	-1	3	-3	-2	-2	2	7	
V	0	-3	-3	-3	-1	-2	-2	-3	-3	3	1	-2	1	-1	-2	-2	0	-3	-1	4

【０１０４】

次に、同一パーセントは、

【０１０５】

【数１】

$$\frac{\text{同一のマッチの総数}}{[\text{長い方の配列の長さ}+2\text{配列をアライメントするために長い方の配列に導入されたギャップの数}]} \times 100$$

として計算される。

【０１０６】

実質的に相同なポリペプチドは、一つまたは複数のアミノ酸置換、欠失または付加を有することとして特徴づけられる。これらの変化は、好ましくは小さな種類であり、それは保存的アミノ酸置換（下記参照）およびポリペプチドの折り畳みまたは活性に顕著には影響しない他の置換；小さな欠失、典型的には１～約３０個のアミノ酸の欠失；およびアミノ末端メチオニン残基、最大約２０～２５残基の小型リンカーペプチド、またはアフィニティータグなどの小さなアミノ末端伸長またはカルボキシル末端伸長である。

【０１０７】

保存的アミノ酸置換

塩基性：	アルギニン
	リシン
	ヒスチジン
酸性：	グルタミン酸
	アスパラギン酸
極性：	グルタミン
	アスパラギン
疎水性：	ロイシン
	イソロイシン
	バリン
芳香族：	フェニルアラニン
	トリプトファン
	チロシン
小型：	グリシン
	アラニン
	セリン
	トレオニン
	メチオニン

【０１０８】

２０個の標準アミノ酸に加えて、非標準アミノ酸（４－ヒドロキシプロリン、６－Ｎ－メチルリシン、２－アミノイソ酪酸、イソバリンおよびα－メチルセリンなど）を、本発明のポリペプチドのアミノ酸残基と置き換えてもよい。限られた数の非保存的アミノ酸、すなわち遺伝コードによってコードされていないアミノ酸、および非天然アミノ酸を、Clostridiumポリペプチドのアミノ酸残基と置き換えてもよい。本発明のポリペプチドは、非天然アミノ酸残基も含みうる。

【０１０９】

非天然アミノ酸には、非限定的に、trans－３－メチルプロリン、２，４－メタノプロリン、cis－４－ヒドロキシプロリン、trans－４－ヒドロキシ－プロリン、Ｎ－メチルグリシン、アロトレオニン、メチルトレオニン、ヒドロキシエチルシステイン、ヒドロキシ

エチルホモシステイン、ニトログルタミン、ホモグルタミン、ピペコリン酸、tert－ロイシン、ノルバリン、２－アザフェニルアラニン、３－アザフェニルアラニン、４－アザフェニル－アラニン、および４－フルオロフェニルアラニンが挙げられる。タンパク質に非天然アミノ酸残基を組入れるために、当技術分野においていくつかの方法が公知である。例えば、化学的にアミノアセチル化されたサプレッサーｔＲＮＡを使用してナンセンス突然変異が抑制されるin vitro系を採用することができる。アミノ酸を合成する方法およびｔＲＮＡをアミノアセチル化する方法は、当技術分野において公知である。ナンセンス突然変異を含有するプラスミドの転写および翻訳は、E. coli Ｓ３０抽出物ならびに市販の酵素および他の試薬を含む無細胞系で実施される。タンパク質は、クロマトグラフィーによって精製される。例えば、Robertson et al., J. Am. Chem. Soc. 113:2722, 1991; Ellman et al., Methods Enzymol. 202:301, 1991; Chung et al., Science259:806-9, 1993;およびChung et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:10145-9, 1993参照。第２の方法では、翻訳は、突然変異ｍＲＮＡおよび化学的にアミノアセチル化されたサプレッサーｔＲＮＡのマイクロインジェクションによってXenopus卵母細胞において実施される。（Turcatti et al., J. Biol. Chem. 271:19991-8, 1996）。第３の方法の中で、E. coli細胞が、置換されるべき天然アミノ酸（例えばフェニルアラニン）の非存在下で、そして所望の非天然アミノ酸（一つまたは複数）（例えば、２－アザフェニルアラニン、３－アザフェニルアラニン、４－アザフェニルアラニン、または４－フルオロフェニルアラニン）の存在下で培養される。非天然アミノ酸は、ポリペプチド中に、その天然対応物の位置に組入れられる。Koide et al., Biochem. 33:7470-6, 1994参照。天然アミノ酸残基は、in vitro化学的改変によって非天然種に変換することができる。化学的改変を部位特異的突然変異誘発と組合せて、さらに置換の範囲を拡大することができる（Wynn and Richards, Protein Sci. 2:395-403, 1993）。

【０１１０】

限られた数の非保存アミノ酸、すなわち、遺伝コードによってコードされないアミノ酸、非天然アミノ酸、および異常（unnatural）アミノ酸を本発明のポリペプチドのアミノ酸残基と置換することができる。

【０１１１】

本発明のポリペプチド中の不可欠アミノ酸は、部位特異的突然変異誘発またはアラニンスキャン突然変異誘発などの当業界で公知の手順により同定することができる（Cunningham and Wells, Science 244: 1081-5, 1989）。生物学的相互作用の部位もまた、推定される接触部位のアミノ酸の突然変異と関連して、核磁気共鳴、結晶学、電子線回折または光アフィニティーラベリングのような技法によって決定されるような物理学的構造解析によって決定することができる。例えば、de Vos et al., Science 255:306-12, 1992; Smith et al., J. Mol. Biol. 224:899-904, 1992; Wlodaver et al., FEBS Lett.309:59-64, 1992を参照されたい。不可欠アミノ酸の同一性は、本発明のポリペプチドの関連構成要素（例えば移行成分またはプロテアーゼ成分）との相同性の分析からも推論することができる。

【０１１２】

Reidhaar-OlsonおよびSauer（Science241:53-7, 1988）またはBowieおよびSauer（Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:2152-6, 1989）によって開示された方法のような公知の突然変異誘発およびスクリーニング法を用いて、多重アミノ酸置換を行い試験することができる。簡潔には、これらの著者は、ポリペプチド中の二つ以上の位置を同時にランダム化し、機能的ポリペプチドを選択し、次に、突然変異誘発されたポリペプチドを配列決定して各位置での許容される置換のスペクトルを決定するための方法を開示している。使用できる他の方法には、ファージディスプレイ（例えば、Lowman et al., Biochem. 30:10832-7, 1991; Ladnerら、米国特許第５，２２３，４０９号；Huse、ＷＩＰＯ公報である国際公開公報第９２／０６２０４号）および領域特異的突然変異誘発（Derbyshire et al., Gene 46:145, 1986; Ner et al., DNA7:127, 1988）が挙げられる。

【０１１３】

毒素の中和は、哺乳類細胞上の毒素ＡまたはＢのいずれかの細胞毒性作用を物質が阻止する能力を意味する。毒素中和活性についてのアッセイでは、一定量の毒素が様々な濃度の中和物質（例えば抗体）と混合され、その混合物が哺乳類細胞系（例えばVero細胞）に適用され、その細胞と共に一定時間インキュベーションされる。毒素ＡまたはＢのいずれかの細胞毒性作用（細胞の円形化によって明らかになる）から細胞を完全に保護する物質（抗体）の希釈を、中和力価として定義することができる。

【図面の簡単な説明】

【０１１４】

【図１】様々なドメイン境界でのアミノ酸残基を示す、C. difficile毒素ＡおよびＢの構造を示す図である。

【図２】ＴｘＢ３の精製を示す図である。左図は、ＴｘＢ３の４～１２％ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。Ｍ１＝ＳｅｅＢｌｕｅ（登録商標）Ｐｌｕｓ２染色前標準。Ｍ２＝ＭａｇｉｃＭａｒｋ（商標）ＸＰ標準。右図は、ヒツジ抗ＴｃｄＢポリクローナル抗体を用いたＴｘＢ３のウエスタンブロット分析を示す。Ｍ１およびＭ２は、左図に説明したものと同様である。

【図３】ＴｘＢ４の精製を示す図である。左図は、ＴｘＢ４の４～１２％ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。Ｍ＝ＳｅｅＢｌｕｅ（登録商標）Ｐｌｕｓ２染色前標準。右図は、ヒツジ抗ＴｃｄＢポリクローナル抗体を用いたＴｘＢ４のウエスタンブロット分析を示す。Ｍ＝ＭａｇｉｃＭａｒｋ（商標）ＸＰ標準。

【図４】ＴｘＢ５の精製を示す図である。左図は、ＴｘＢ５の４～１２％ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す。Ｍ＝ＳｅｅＢｌｕｅ（登録商標）Ｐｌｕｓ２染色全標準。右図は、ヒツジ抗ＴｃｄＢポリクローナル抗体を用いたＴｘＢ５のウエスタンブロット分析を示す。Ｍ＝ＭａｇｉｃＭａｒｋ（商標）ＸＰ標準。

【図５】ＴｘＡ４の精製およびＨＲＶ３Ｃプロテアーゼ処理されたＴｘＡ４のニッケルアフィニティー精製のＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析を示す図である。Ｍ＝分子量マーカー、Ｌ＝カラムのロード、Ａ８＝カラムの溶離液。画分Ａ１４～Ｂ１４は精製されたＴｘＡ４を示した。

【０１１５】

実施例

実施例１　毒素ＡおよびＢから得られた抗原のクローニングおよび発現

これらのペプチドをコードする遺伝子は、任意の所望の発現ホスト（例えばE. coli、Pichia pastoris）に関するコドンバイアスを有するように商業的に製造することができる。ペプチドは、これらの遺伝子から標準的な分子生物学的方法を用いて発現される（例えばSambrook et al. 1989, Molecular Cloning a Laboratory Manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York）。クローニングの好都合な一方法は、遺伝子構築物をモジュラー的に集合させるGateway（登録商標）システム（Invitrogen）である。

【０１１６】

プロトコール１：Ｇａｔｅｗａｙ　ＬＲ組換え反応　一般プロトコール

材料：抗原遺伝子（毒素ＡまたはＢ））エントリークローンをＥｎｔｅｌｅｃｈｏｎによって合成した。Ｇａｔｅｗａｙ（登録商標）ＬＲ　Ｃｌｏｎａｓｅ（商標）ＩＩ酵素混合物をInvitrogenから購入した。Ｇａｔｅｗａｙ（登録商標）Ｎｏｖａ　ｐＥＴデスティネーションベクターを、Merck Chemicals Ltd.の一部門であるCalbiochem Novaから購入した。

【０１１７】

毒素ＡまたはＢのエントリークローン（１μl）、デスティネーションベクター（１μl）およびＴＥ緩衝液（６μl）を１．５mlマイクロ遠心チューブに入れて室温で混合した。ＬＲ　Ｃｌｏｎａｓｅ（商標）ＩＩを２分間氷上に置き、ボルテックス（２秒×２回）で手早く混合した。Ｃｌｏｎａｓｅ酵素（２μl）をマイクロ遠心チューブに加え、静かにピペッティングして成分を混合した。組換え物を２５℃で１時間インキュベーションし

た。プロテイナーゼK溶液（１μl、２μg/μl）を加え、反応物を３７℃で１０分間インキュベーションした。結果として生じた溶液（１μl）を使用して化学的コンピテントE. coliをトランスフォーメーションした。

【０１１８】

プロトコール２：化学的コンピテント細胞のトランスフォーメーション　一般プロトコール

材料：ＯｎｅＳｈｏｔ（登録商標）ＢＬ２１　Ｓｔａｒ（商標）（ＤＥ３）およびＯｎｅ　Ｓｈｏｔ（登録商標）ＴＯＰ１０化学的コンピテントE. coliおよびＳＯＣ培地はInvitrogenから購入した。アンピシリンはSigma Aldrichから購入した。

【０１１９】

ＬＲ組換え反応物またはプラスミドＤＮＡ（１μl）を、一定分量（５０μl）のＢＬ２１　Ｓｔａｒ（商標）またはＴＯＰ１０化学的コンピテントE. coliにピペットで入れた。この混合物を氷上で３０分間インキュベーションし、続いて４２℃の水浴中で３０秒間熱ショックを与えた。一定分量の細胞を氷へ戻し、ＳＯＣ培地（２５０μl）を加えた。軌道振盪（１８０rpm）しながらトランスフォーメーション物を３７℃のＳＯＣ培地中で１時間維持した。トランスフォーメーション培養物（１００～２００μl）を、アンピシリン（１００μg/ml）を補充したＬＢ寒天上に蒔いた。プレートを３７℃で１５分間インキュベーションし、倒置し、同温度で一晩維持した。

【０１２０】

実施例２　本発明の抗原の精製　C. difficile毒素ＢフラグメントＴｘＢ３の発現および精製

毒素Ｂ由来抗原ＴｘＢ３（－ｈ）（例えば配列番号９）をチオレドキシン融合タンパク質（配列番号２７）として発現させた。

【０１２１】

ＴｘＢ３のＮ－ｈｉｓ$_6$－チオレドキシン融合物を、プラスミドｐＤｅｓｔ５９ＴｘＢ３を有するＢＬ２１ Star（商標）（ＤＥ３）E. coli内で発現させた。１００μg/mlアンピシリンおよび０．５％グルコースを補充したＬＢ培地（３×２０ml）に、グリセロール保存細胞（ＯＤ６００が＜１の細胞培養物［５００μｌ］＋グリセロール［１２５μl］）から接種した。培養物を軌道振盪（１８０rpm）しながら３７℃で６～７時間維持した。１００μg/mlアンピシリンおよび０．５％グルコースを補充したＬＢ培地（１００ml）に接種するために各培養物を使用した。培養物を軌道振盪(１８０rpm)しながら３７℃で１時間維持した。１００μg/mlアンピシリンおよび０．１％グルコースを補充したＴＢ（Terrific Broth）培地（３×１Ｌ）にＬＢ培養液を接種し（１００ml/L）、６００nmでの吸光度が０．５になるまで前回と同様に３７℃で維持した。終濃度１mMになるまでＩＰＴＧを添加して発現を誘導し、培養物を軌道振盪（１８０rpm）しながら１６℃で一晩維持した。３０分間遠心分離することによって（３０００rpm、Ｓｏｒｖａｌｌ　ＲＣ３ＢＰ遠心分離機、ロータＨ６０００Ａ）細胞を回収し、低イミダゾール緩衝液（１００ml、ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、５００mM塩化ナトリウム、２０mMイミダゾール）中に再懸濁し、－８０℃で凍結した。

【０１２２】

（ｉ）チオレドキシンＴｘＢ３融合タンパク質のニッケルアフィニティー精製

細胞ペーストを、室温の次に氷上で液化するまで解凍した。超音波処理して細胞を破壊し（オン３０秒およびオフ３０秒を１０サイクル）、結果として生じた溶解物を３０分間の遠心分離によって透明化した（１４，０００rpm、Ｓｏｒｖａｌｌ　ＲＣ５Ｃ遠心分離機、ロータＳＳ－３４）。ニッケルイオンをチャージされたファストフローキレーティングセファロース（fast flow chelating sepharose）（ベッド体積４０ml）に透明化された溶解物を流速１ml/minで適用した。２８０nMでの溶離液の吸光度がベースラインレベル近くに戻るまで、カラムを低イミダゾール緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、５００mM塩化ナトリウム、２０mMイミダゾール）で洗浄した。１５、２５および７０％高イミダゾール緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、５００mM塩化ナトリウム、５００m

Mイミダゾール）への連続ステップで、結合した物質を溶離させた。７０％高イミダゾール緩衝液で溶離した物質をプールし、トロンビン切断緩衝液（２０mMトリス－ＨＣｌ ｐＨ８．４、１５０mM塩化ナトリウム、２．５mM塩化カルシウム）で一晩透析した。

【０１２３】

（ｉｉ）チオレドキシンＴｘＢ３融合タンパク質のトロンビン消化

トロンビン切断緩衝液で透析したニッケルカラム画分プールにヒトトロンビン（Novagen、１U／mg総タンパク質）を添加した。消化物を２５℃で４時間インキュベーションし、－８０℃で凍結して継続切断を防止した。

【０１２４】

（ｉｉｉ）ＴｘＢ３のニッケルアフィニティー精製

トロンビン消化物を氷上で解凍し、ｐ－アミノベンズアミジン樹脂を添加した（トロンビン６Ｕあたり水切りをした樹脂０．１ml）。この混合物を氷上で３０分間静かに揺らし、樹脂を濾過した。透明化された濾液を、ニッケルイオンをチャージされたファストフローキレーティングセファロース（ベッド体積６ml）に流速１ml/minで通過させ、溶離液をプールし、保存用緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、１５０mM塩化ナトリウム）で透析した。この溶液を無菌濾過し、１ml分量にした。得られた総タンパク質は１０．５mgであり、これは、５５％ ＴｘＢ３と推定された。ヒツジ抗ＴｃｄＢポリクローナル抗体を用いたウエスタンブロットによっても、タンパク質を分析した（図２）。

【０１２５】

実施例３　本発明の抗原の精製　C. difficile毒素ＢフラグメントＴｘＢ４の発現および精製

Ｎｕｓ ＴｘＢ４融合タンパク質の大規模発現

プラスミドｐＤｅｓｔ５７ＴｘＢ４Ｈｉｓを有するＢＬ２１ Ｓｔａｒ（ＤＥ３）E. coliの－８０℃原液からの一滴を、１００μg/mlアンピシリンを補充したＬ寒天上に画線し、３７℃で一晩インキュベーションした。単一のコロニーを使用して、１００μg/mlアンピシリンおよび０．５％グルコースを補充した２ＹＴ培地（１００ml）に接種した。６００nmでの吸光度が０．６になるまで軌道振盪（１８０rpm）しながら培養物を３７℃で維持し、１００μg/mlアンピシリンおよび０．５％グルコースを補充したＴＢ培地（２×１Ｌ）用の５％の接種材料として使用した。６００nmの吸光度が０．６になるまで培養物を前回と同様に維持し、温度を１６℃に下げた。熱平衡化後にＩＰＴＧを終濃度１mMまで添加することによってタンパク質の発現を誘導し、培養物を一晩維持した。３０分間遠心分離することによって（３０００rpm、Ｓｏｒｖａｌｌ ＲＣ３ＢＰ遠心分離機、ロータＨ６０００Ａ）細胞を回収し、低イミダゾール緩衝液（細胞ペースト：緩衝液（w/v）＝１：４、５０mM ＨＥＰＥＳ ｐＨ７．４、５００mM 塩化ナトリウム、２０mMイミダゾール）中に再懸濁し、－８０℃で凍結した。

【０１２６】

Ｎｕｓ ＴｘＢ４融合タンパク質のニッケルアフィニティー精製

細胞ペーストを室温の次に氷上で液化するまで解凍した。超音波処理して細胞を破壊し（オン３０秒およびオフ３０秒を１５サイクル）、結果として生じた溶解物を４℃で３０分間の遠心分離によって透明化した（１６，０００rpm、Ｓｏｒｖａｌｌ ＲＣ５Ｃ遠心分離機、ロータＳＳ－３４）。ニッケルイオンをチャージされたファストフローキレーティングセファロース（ベッド体積４０ml）に透明化された溶解物を流速２ml/minで適用した。２８０nmでの溶離液の吸光度がベースラインレベル近くに戻るまで、カラムを低イミダゾール緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、５００mM塩化ナトリウム、２０mMイミダゾール）で洗浄した。５０％高イミダゾール緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、５００mM塩化ナトリウム、５００mMイミダゾール）へのステップで、結合した物質を溶離させた。カラムから溶離した物質をＳＤＳ－ＰＡＧＥによって分析し、選択された画分をプールした。２８０nmの吸光度からタンパク質濃度を決定した。

【０１２７】

Ｎｕｓ ＴｘＢ４融合タンパク質のトロンビン消化

タンパク質それぞれ１０μgに、トロンビン消化緩衝液（２００mMトリス－ＨＣｌ ｐＨ８．４、１．５Ｍ ＮａＣｌ、２５mM $CaCl_2$）５μl、トロンビン希釈緩衝液（５０mMクエン酸ナトリウム、ｐＨ６．５、２００mM ＮａＣｌ、０．１％ＰＥＧ－８０００、５０％グリセロール）で２００倍に希釈したヒトトロンビン（Novagen）１μlおよび水を添加し、体積５０μlとした。タンパク質を室温で一晩消化し、４℃にて低イミダゾール緩衝液で透析した。

【０１２８】

ＴｘＢ４のニッケルアフィニティー精製

ニッケルイオンをチャージされたファストフローキレーティングセファロース（ベッド体積４０ml）に低イミダゾール緩衝液中のＴｘＢ４を流速3ml/minで適用した。２８０nmでの溶離液の吸光度がベースラインレベル近くに戻るまでカラムを低イミダゾール緩衝液で洗浄した。カラムを８０mMイミダゾールで洗浄し、結果として生じた最初のＵＶ吸光度（２８０nm）ピークの後に溶離するタンパク質を採集し、保存用緩衝液（５０mM ＨＥＰＥＳ ｐＨ７．４、１５０mM塩化ナトリウム）で透析した。タンパク質をＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびヒツジ抗ＴｃｄＢポリクローナル抗体を用いたウエスタンブロットによって分析した（図３）。

【０１２９】

実施例４　C. difficile毒素ＢフラグメントＴｘＢ５（毒素Ｂの残基５４４～２３６６）の発現および精製

Ｎｕｓ ＴｘＢ５融合タンパク質の大規模発現

ＴｘＢ５のＮ－his_6－Ｎｕｓ融合体を、プラスミドｐＤｅｓｔ５７ＴｘＢ５を有するＢＬ２１　Ｓｔａｒ（商標）（ＤＥ３）E. coliに発現させた。１００μg/mlアンピシリンを補充したＬＢ培地中での一晩培養物を、１００μg/mlアンピシリンを補充したＴＢ培地（３Ｌ）のための３％接種材料として使用した。培養物を軌道振盪（１８０rpm）しながら６００nmでの吸光度が０．６になるまで３７℃で維持した。ＩＰＴＧを終濃度1mMまで添加して発現を誘導し、培養物を軌道振盪（１８０rpm）しながら１６℃で一晩維持した。細胞（２５ｇ）を３０分間遠心分離することによって回収し（３０００rpm、Ｓｏｒｖａｌｌ　ＲＣ３ＢＰ遠心分離機、ロータＨ６０００Ａ）、低イミダゾール緩衝液（２５０ml、ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、５００mM塩化ナトリウム、２０mMイミダゾール）中に再懸濁した。

【０１３０】

Ｎｕｓ ＴｘＢ５融合タンパク質のニッケルアフィニティー精製

再懸濁した細胞にリゾチーム（１０ｍｇ）を添加し、この混合物を１５分間撹拌した。超音波処理して細胞を破壊し（オン３０秒およびオフ３０秒を１０サイクル）、結果として生じた溶解物を３０分間の遠心分離によって透明化した（１４，０００rpm、Ｓｏｒｖａｌｌ　ＲＣ５Ｃ遠心分離機、ロータＳＳ－３４）。ニッケルイオンをチャージされたファストフローキレーティングセファロース（ベッド体積４０ml）に透明化された溶解物の半分を流速2ml/minで適用した。２８０nmでの溶離液のＵＶ吸光度がベースラインレベル近くに戻るまでカラムを低イミダゾール緩衝液で洗浄した。３８％（２００mMイミダゾール）高イミダゾール緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、５００mM塩化ナトリウム、５００mMイミダゾール）へのステップでＮｕｓ　ＴｘＢ５を含むタンパク質を溶出させた。溶解物の残りの半分を同様に処理し、溶離タンパク質プールを高塩ＨＩＣ緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、７５０mM硫酸アンモニウム）で一晩透析した。

【０１３１】

Ｎｕｓ ＴｘＢ５のブチル－ｓ疎水性相互作用クロマトグラフィー精製

高塩ＨＩＣ緩衝液中にプールされたタンパク質溶液の半分を、ブチル－ｓ－セファロース６ファストフロー樹脂（ベッド体積9ml）が入っているカラムに適用した。溶離液の２８０nmでのＵＶ吸光度がベースライン近くに戻るまでカラムを高塩ＨＩＣ緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、７５０mM硫酸アンモニウム）で洗浄した。１００％低塩ＨＩＣ緩衝液（（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ）へのステップでタンパク質をカラムから

溶離させた。第１のニッケルカラムからのタンパク質の残りの半分を同様に精製した。トロンビンを用いた消化の準備として、溶離したタンパク質をプールした。

【０１３２】

Ｎｕｓ ＴｘＢ５融合タンパク質のトロンビン消化

ＨＩＣカラムからプールされたタンパク質（６９mg、３０ml）を、１０×トロンビン切断緩衝液（１５ml、２００mMトリス－ＨＣｌ ｐＨ８．４、１．５Ｍ塩化ナトリウム、２５mM塩化カルシウム）、脱イオン水（１０５ml）およびヒトトロンビン（Novagen、４０Ｕ）を含有する溶液に添加した。溶液を室温で４時間インキュベーションし、ＰＭＳＦを終濃度１mMまで添加した。結果として生じた、ＴｘＢ５を含むタンパク質を高塩ＨＩＣ緩衝液で透析した。

【０１３３】

ＴｘＢ５のブチル－ｓ疎水性相互作用クロマトグラフィー精製

トロンビン消化物からのＴｘＢ５を２バッチで精製した。各バッチを高塩ＨＩＣ緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、７５０mM硫酸アンモニウム）に入れて、ブチル－ｓ－セファロース６ファストスロー樹脂（ベッド体積９ml）が入っているカラムに流速１ml/minで適用した。溶離液の２８０nmでのＵＶ吸光度がベースラインレベル近くに戻るまでカラムを高塩ＨＩＣ緩衝液で洗浄した。１００％低塩ＨＩＣ緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ）へのステップでタンパク質をカラムから溶離させた。溶離した物質を緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ）で一晩透析した。

【０１３４】

ＴｘＢ５のＱセファロースイオン交換クロマトグラフィー精製

緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ）中のＴｘＢ５に、Ｑセファロースファストフロー樹脂（ベッド体積５ml）が入っているカラムを流速１ml/minで通過させた。溶離液をプールし、保存用緩衝液（ｐＨ７．４、５０mM ＨＥＰＥＳ、１５０mM塩化ナトリウム）で透析した。タンパク質約２０mgが生成し、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ分析に基づくと、このうち６０％がＴｘＢ５であった。タンパク質を１ml分量にして－８０℃で凍結させた。ＳＤＳ－ＰＡＧＥおよびヒツジ抗ＴｃｄＢポリクローナル抗体を用いたウエスタンブロッティングによってタンパク質を分析した（図４）。

【０１３５】

実施例５ C. difficile毒素ＡフラグメントＴｘＡ４（毒素Ａの残基７７０～２７１０）の発現および精製

発現

５０μg/mlカナマイシンおよび０．２％グルコースを補充したＬ培地（１００ml）に、グリセロール凍結物（プラスミドｐＥＴ２８ａＨｉｓ$_6$ＴｒｘＨＲＶ３ＣαＮａｔｕｒａｌＴｘＡ４を有するＢＬ２１（ＤＥ３）E. coli）から掻き取ったものを接種し、３０℃および１８０rpmで一晩維持した。一晩培養物を、５０μg/mlカナマイシンおよび０．２％グルコースを補充したＴＢ培地（２Ｌバッフルなしフラスコ中に０．５Ｌ×４本）用の２％接種材料として使用した。培養物を軌道振盪（１８０rpm）しながら６００nmでの吸光度が０．６になるまで３７℃で維持した。培養物の温度を１６℃に下げ、タンパク質の発現を１mM ＩＰＴＧの添加によって誘導した。培養物を前回のように軌道振盪しながら１６℃で一晩維持した。細胞ペースト（２３ｇ）を遠心分離（Ｓｏｒｖａｌｌ ＲＣ３ＢＰ遠心分離機、Ｈ６０００Ａロータ、４０００ｇ、２０分）によって回収した。低イミダゾール緩衝液（ｐＨ７．５、５０mM Ｈｅｐｅｓ、０．５Ｍ塩化ナトリウム、２０mMイミダゾール）中に再懸濁することによってペーストを遠心ポットから回収し、－８０℃で保存した。

【０１３６】

ＴｘＡ４前駆体の固定化ニッケルアフィニティー精製

細胞（２３ｇ）を低イミダゾール緩衝液（ｐＨ７．５、５０mM Ｈｅｐｅｓ、０．５Ｍ ＮａＣｌ ２０mMイミダゾール）８５mlで再懸濁し、超音波処理を利用して溶解に供した。溶解物を遠心分離（Ｓｏｒｖａｌｌ ＲＣ５Ｃ遠心分離機、ＳＳ－３４ロータ、２０，

０００ｇ、２０分）によって透明化し、流速１．５ml/minで２０mlニッケルカラム（φ２６mM）に適用した。カラムを１０カラム体積の低イミダゾール緩衝液で洗浄し、結合しているタンパク質を、１００％高イミダゾール緩衝液（ｐＨ７．５、５０mM Ｈｅｐｅｓ、０．５M ＮａＣｌ、０．５Mイミダゾール）への５カラム体積の勾配を用いて溶離した。４～１２％ＮｕＰＡＧＥビス－トリスポリアクリルアミドゲルで、クマシー染色を行って画分を分析した。

【０１３７】

融合パートナーとＨｉｓ$_6$－タグの切断

最も純度の高い画分をプールし、ＨＲＶ３Ｃ切断緩衝液（２Ｌ、ｐＨ７．５、２０mMトリス－ＨＣｌ、０．５M ＮａＣｌ）で４℃にて一晩透析した。ＨＲＶ３Ｃプロテアーゼ（１０U/mg完全長ターゲットタンパク質）を溶液に添加し、２０℃で５時間、続いて４℃で一晩インキュベーションした。

【０１３８】

切断後ＴｘＡ４の固定化ニッケルアフィニティー精製

タンパク質溶液（ｐＨ７．５ ２０mMトリス－ＨＣｌ、０．５M ＮａＣｌ）に２０mlニッケルカラム（φ２６mM）を流速１．５ml/minで通過させた。ＵＶ吸光度によって判断したところ、一部のタンパク質は溶離液中に溶離することが見出された。ＨＲＶ３Ｃ切断緩衝液でカラムを短時間洗浄し、５％高イミダゾール緩衝液（ｐＨ７．５、５０mM Ｈｅｐｅｓ、０．５M ＮａＣｌ、０．５Mイミダゾール）を用いてイミダゾール濃度２５mMでＴｘＡ４を溶離させた。１００％高イミダゾール緩衝液への４カラム体積の勾配をかけて、残ったタンパク質をカラムから溶離させた。最も純度の高い画分をプールし、保存用緩衝液（ｐＨ７．５ ５０mM Ｈｅｐｅｓ、０．５M ＮａＣｌ）で透析した。最終精製カラムからの画分を図５に示す。

【０１３９】

実施例６ C. difficile毒素ＡフラグメントＴｘＡ４切断型（毒素Ａの残基７７０～２３８９）の発現および精製

発現

１００μg/mlアンピシリンおよび０．５％グルコースを補充したＬ培地（１００ml）に、１００μg/mlアンピシリンを補充したＬ寒天プレート上の一晩成長物からコロニー（ｐＥＴ５９Ｈｉｓ６ＴＲＸｔｃｓαｎａｔｕｒａｌＴｘＡ４ｔｒｕｎｃａｔｅを有する）を接種し、３７℃および１８０rpmで一晩維持した。これを、１００μg/mlアンピシリンおよび０．５％グルコースを補充したＴＢ培地（２０００mlバッフルなしフラスコ中に１０００ml×６本）用の接種材料として使用した。培養物を軌道振盪（１８０rpm）しながら６００nmでの吸光度が０．６になるまで３７℃で維持した。培養物の温度を１６℃に下げ、終濃度１mMのＩＰＴＧを添加してタンパク質の発現を誘導した。培養物を前回と同様に軌道振盪しながら１６℃で一晩維持した。細胞ペーストを遠心分離（Ｓｏｒｖａｌｌ ＲＣ３ＢＰ遠心分離機、Ｈ６０００Ａロータ、４０００ｇ、３０分）によって回収した。ペーストをＨｅｐｅｓ緩衝液（５０mM Ｈｅｐｅｓ ｐＨ７．４、０．５M塩化ナトリウム）中に再懸濁することによって遠心ポットから回収し、－２０℃で保存した。

【０１４０】

ＴｘＡ４切断型前駆体の固定化ニッケルアフィニティー精製

Ｈｅｐｅｓ緩衝液（５０mM Ｈｅｐｅｓ ｐＨ７．４、５００mM ＮａＣｌ）１８０mlで再懸濁された細胞（４４ｇ）を、超音波処理を利用して溶解に供した。４０００rpmで２０分間遠心分離（Heraeus Multifuge）することによって溶解物を透明化した。上清を回収し、６４ml亜鉛セファロースカラム（ＸＫ２６×１２）に流速５ml/分で適用した。２８０nmでの吸光度がベースラインまで減少するまでカラムを洗浄した。結合しているタンパク質を、５０mM Ｈｅｐｅｓ ｐＨ７．４、５００mM塩化ナトリウム中に０～２５０mMイミダゾールの勾配を利用して、結合しているタンパク質を溶離させた。４～１２％ＮｕＰＡＧＥビス－トリスポリアクリルアミドゲルでクマシー染色し、これら画分を分析した。

【０１４１】

融合パートナーとＨｉｓ$_6$－タグの切断

最も純度の高い画分をプールし、トロンビン切断緩衝液（２０mMトリス／ＨＣｌ ｐＨ８．４＋１５０mM ＮａＣｌ＋２．５mM ＣａＣｌ$_2$）で＋４℃で一晩透析した。レストリクショングレード・トロンビン（Restriction grade thrombin）（Novagen）をターゲットタンパク質に対して１：２０００（wt/wt）となるように添加した。この混合物を室温で一晩インキュベーションした。

【０１４２】

切断後ＴｘＡ４短縮型の固定化亜鉛アフィニティー精製

タンパク質溶液（５０mM Ｈｅｐｅｓ ｐＨ７．４、５００mM塩化ナトリウム中）に、２４ml亜鉛カラム（ＸＫ１６×１２）を流速2ml/minで通過させた。２８０nmでの吸光度がベースラインに下がるまでカラムを平衡緩衝液（５０mM Ｈｅｐｅｓ ｐＨ７．４、５００mM塩化ナトリウム）で洗浄した。結合しているタンパク質を、５０mM Ｈｅｐｅｓ ｐＨ７．４、５００mM塩化ナトリウム中に０～２５０mMイミダゾールの勾配を用いて溶離させた。

【０１４３】

実施例７　動物を免疫処置するための本発明の抗原の製剤化

濃度０．５～２mg/ml（公称１mg/ml）の精製C. difficile抗原を、適切な緩衝液（例えば１５０mM ＮａＣｌを含有する１０mM Ｈｅｐｅｓ緩衝液ｐＨ７．４）で透析し、次にホルムアルデヒドを終濃度０．２％になるまで添加し、３５℃で最大７日間インキュベーションした。インキュベーション後に、場合により、適切な緩衝液、例えばリン酸緩衝食塩水で透析することによってホルムアルデヒドを除去してもよい。

【０１４４】

ヒツジ用に、上記C. difficile抗原１０～５００μgを含有する緩衝溶液２mlをフロイントアジュバント２．６mlと混合し、エマルションを形成させる。アジュバントとの混合は、安定なエマルションを確実にするために数分間実施する。初回免疫処置のために完全型アジュバントを、その後の全ての追加免疫処置のためにフロイント不完全アジュバントを使用する。

【０１４５】

実施例８　本発明の抗原に対する抗体の作製

最適な液性抗体応答を達成するために、抗血清の調製時にいくつかの従来要因を考慮する。これらには：動物の品種；アジュバントの選択；免疫処置部位の数および位置；免疫原の量；ならびに投与回数および投与間隔が挙げられる。6g/リットル血清を上回る特異的抗体レベルを得るために、これらのパラメーターを従来のように最適化することが常用されている。

【０１４６】

ヒツジ用に、抗原とフロイントアジュバントとのエマルションを、実施例７に記載するように調製する。初回免疫処置のために完全型アジュバントを、その後の全ての追加免疫処置のためにフロイント不完全アジュバントを使用する。各ヒツジに抗原／アジュバント混合物約４．２mlを、頚部および全ての上肢を含めた６個の部位にわたりｉ．ｍ．注射によって免疫処置する。これを２８日毎に繰り返した。各免疫処置の１４日後に血液試料を採取した。

【０１４７】

異なる抗原に対する毒素中和免疫応答を比較するために、抗原１種類あたり３匹のヒツジを使用した。免疫処置１回毎に同一のプロトコールおよび同じタンパク質用量を用いて、それらを上記のように免疫処置した。

【０１４８】

実施例９　in vitro細胞アッセイを用いた毒素抗血清の中和有効性の評価

C. difficile毒素に対する抗血清の毒素中和活性を、Ｖｅｒｏ細胞を用いた細胞傷害性アッセイによって測定した。精製されたC. difficile毒素Ａまたは毒素Ｂのいずれかの一定量を、様々な希釈を行った抗体と混合し、３７℃で３０分間インキュベーションし、次

に、９６ウェル組織培養プレート上に成長しているＶｅｒｏ細胞に適用した。毒素ＡおよびＢの両方が、Ｖｅｒｏ細胞の特徴的な円形化を招く細胞傷害活性を２４～７２時間にわたり有した。中和抗体の存在下でこの活性は阻害され、抗体調製物の中和強度は、毒素ＡまたはＢのいずれかの指定量の効果を中和するために必要な希釈によって評価することができる。

【０１４９】

様々なリコンビナントC. difficile毒素Ｂ抗原に対するヒツジ抗体の中和活性を実証しているデータを表３～６に示す。これらの実験において、様々な希釈を行ったヒツジ抗体を終濃度０．５ng/mlの毒素Ｂと混合し、３７℃で３０分間インキュベーションし、次に上記のようにＶｅｒｏ細胞に適用し、３７°でインキュベーションし、２４～７２時間にわたりモニタリングした。毒素Ｂの細胞障害作用から細胞を完全に保護する抗体の希釈度を計算した。毒素Ａ由来抗原についての類似のデータを表７～１０に示す。

【０１５０】

まとめると、表３～１０におけるデータは、毒素ＡまたはＢのいずれかの繰り返しドメインだけを含有するフラグメントに比べて、本発明の融合タンパク質が毒素中和免疫応答を卓越して誘発できることを示している。

【０１５１】

実施例１０　ＣＤＩを処置するための、本発明のリコンビナント抗原を用いて作製された抗血清のin vivo有効性の評価

リコンビナント抗原を用いて作製した抗血清がＣＤＩをin vivo処置する有効性を実証するために、シリアンハムスターにC. difficile毒素の一つまたは複数に対して中和活性を有する抗体を受動免疫処置する。治療用製剤の有効性を評価するために、C. difficile誘発の６時間後から誘発の２４０時間後までの様々な時間に、静脈内または腹腔内経路のいずれかでハムスターに抗体を与える。

【０１５２】

受動免疫処置する前に、ハムスターに広域スペクトル抗生物質（例えばクリンダマイシン）を投与し、１２～７２時間後にC. difficile胞子で口内誘発する。次に、C. difficile関連疾患の症状について動物を最大１５日間モニタリングする。対照の非免疫処置動物は、疾患の徴候（例えば下痢、腹部膨満、嗜眠、被毛の乱れ）を発生したが、ヒツジ抗体で処置された動物は正常に見える。

【０１５３】

実施例１１　本発明のペプチド／ペプチドフラグメントによるワクチン処置

本発明のペプチド／ペプチドフラグメントによって代表されるワクチンを、現行の製造品質管理基準（Good Manufacturing Practice）によって調製する。そのような基準を用いて、本発明のペプチド／ペプチドフラグメントを市販の水酸化アルミニウムアジュバント（例えばアルハイドロゲル）と結びつけてもよい。そのワクチンは通常、毒素Ａおよび毒素Ｂから得られた本発明の抗原の組合せを含有するが、毒素ＡまたはＢ抗原のいずれかを含有する場合がある。そのワクチンは、また、毒素ＡおよびＢ抗原を、細菌またはウイルス起原の他の抗原と組合せて含有することもありうる。

【０１５４】

本発明の精製C. difficile毒素Ａおよび／または毒素Ｂ抗原を終濃度０．２％のホルムアルデヒドで処理して、３５℃で最大２４時間インキュベーションしてもよい（実施例７に記載）。

【０１５５】

本発明の抗原に加えて、典型的なワクチン組成は：

Ａ）緩衝液（例えば、５～２０mMおよびｐＨ７．０～７．５のＨｅｐｅｓ緩衝液；

Ｂ）ワクチンを生理学的に等張にする塩成分（例えば１００～１５０mM ＮａＣｌ）；

Ｃ）アジュバント（例えば、ワクチン１回あたりアルミニウム終濃度１００～７００μｇの水酸化アルミニウム）；ならびに

Ｄ）保存料（例えば、０．０１％チオメルサールまたは０．０１％ホルムアルデヒド）

を含む。

【０１５６】

そのようなワクチン組成は：

１．　０．５ml（例えば、吸着された本発明のフラグメント２０μg）を１回皮下投与する、

２．　０．５ml（例えば、吸着された本発明のフラグメント１０μg）を０および４週間目に２回投与する、

３．　０．５ml（例えば、吸着された本発明のフラグメント１０μg）を０、２および１２週間目に３回投与する

などの、多様な異なる免疫処置方式によってヒトに投与される。

【０１５７】

これらのワクチン処置方式は、C. difficile毒素の相同血清型への曝露からの防御レベルを付与する。

【０１５８】

実施例１２　本発明の固定化構築物を用いたＩｇＧのアフィニティー精製

アフィニティークロマトグラフィー媒体の調製

固定化しようとする本発明の構築物を、適切なカップリング緩衝液、例えば０．５Ｍ ＮａＣｌを含有する０．１Ｍ ＮａＨＣＯ$_3$ ｐＨ ８．３で透析する。１～３mg/mlタンパク質溶液約５mlにＣＮＢｒ－活性化セファロース４Ｂ粉末１mlあたり添加する。この混合物を室温で１時間または４℃で一晩転倒回転する。他の静かな撹拌法を採用してもよい。次に、過剰のリガンドは、少なくとも５媒体（ゲル）体積の過剰のカップリング緩衝液を用いて洗浄除去する。次に、残った活性基があればブロッキングする。媒体を０．１Ｍトリス－ＨＣｌ緩衝液、ｐＨ８．０または１Ｍエタノールアミン、ｐＨ８．０に移し、室温で２時間インキュベーションする。次に、ゲルを少なくとも３サイクルの交互ｐＨ（少なくとも５媒体体積の各緩衝液）で洗浄する。各サイクルは、０．５Ｍ ＮａＣｌを含有する０．１Ｍ酢酸／酢酸ナトリウム、ｐＨ４．０を用いた洗浄に続く、０．５Ｍ ＮａＣｌを含有する０．１Ｍトリス－ＨＣｌ、ｐＨ８を用いた洗浄から成るものとする。洗浄後、ゲルを適切な保存緩衝液（例えば、０．１５Ｍ ＮａＣｌを含有する５０mM ＨＥＰＥＳ ｐＨ７．４に移し、使用まで４℃で保存する。

【０１５９】

ＩｇＧの精製

毒素ＡまたはＢのいずれかから得られた本発明の抗原を使用して、上記のようにアフィニティーカラムを調製する。毒素Ｂに対する抗体を精製するために、ＴｘＢ４（残基７６７～２３６６）などの構築物を使用することができよう。毒素Ａに対する抗体を精製するために、ＴｘＡ４（残基７７０～２７１０）などの構築物を使用することができよう。毒素Ｂに結合する抗体のアフィニティー精製のために、毒素Ｂに対する抗体を含有する血清を、適切な緩衝液（例えば０．５Ｍ ＮａＣｌを含有する２０mM ＨＥＰＥＳ ｐＨ７．４緩衝液）で１：１に希釈し、その混合物を、適切なカラムに充填された固定化ＴｘＢ４が入っているカラムに適用する（ゲル１mlあたり２～６mlの混合物）。未結合の画分（血清アルブミンおよび非特異的ＩｇＧを含有する）を、少なくとも１０カラム体積の０．５Ｍ ＮａＣｌ緩衝液を含有する２０mM ＨＥＰＥＳ ｐＨ７．４緩衝液で洗浄除去後に、結合している画分を５カラム体積の溶離緩衝液（例えば１００mMグリシン緩衝液、ｐＨ２．５）でカラムから溶離させる。次に、ＩｇＧを含有する溶離画分を直ちに１Ｍトリス－ＨＣｌ ｐＨ８．０でｐＨ約７．０に中和する。次に、毒素Ｂと結合するＩｇＧを含有するこれらの画分を、０．１５m ＮａＣｌを含有する５０mM ＨＥＰＥＳ ｐＨ７．４で透析し、必要になるまで凍結保存する。

【０１６０】

毒素ＡまたはＢのいずれかと結合してそれを中和する、アフィニティー精製されたＩｇＧ画分を、ＣＤＩの治療または予防のいずれかの治療剤として使用することができる。これらは、また、毒素ＡまたはＢを検出するための酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ

）などのアッセイ系に使用することができる。そのような診断系では、アフィニティー精製された抗体は、より感度が高く、バックグラウンド妨害が低下したアッセイを提供することができる。

【０１６１】

図面および表

【０１６２】

【表１】

【０１６３】

表 1 - 毒素 A のレセプター結合性繰り返しモジュール

毒素 A のレセプター結合モジュール	アミノ酸配列 (長い繰り返し領域を太字で示す)
モジュール 1 LR = 配列番号 60 モジュール 1 (残基 1851-2007 = 配列番号 61)	**GVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQS** VTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKIINGKHFYFNNDGVMQL**GVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQS**KFLTLNGKKY YFDNNSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFN
モジュール 2 LR = 配列番号 62 モジュール 2 (残基 2008-2141 = 配列番号 63)	**GVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQS** GYKTIDGKHFYFDSDCVVKI**GVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQS**KFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGLQTIDSKKYYFN TNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIAST
モジュール 3 LR = 配列番号 64) モジュール 3 (残基 2142-2253 = 配列番号 65)	**GVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQN** GYTIINGKHFYFNTDGIMQI**GVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQN**EFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNP NNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQN
モジュール 4 LR = 配列番号 66) モジュール 4 (残基 2254-2389 = 配列番号 67)	**GVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQN** GYITIERNNFYFDANNESKMVT**GVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQN**KFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKY YFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAST
モジュール 5 LR = 配列番号 68) モジュール 5 (残基 2390-2502 = 配列番号 69)	**GVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQN** GYTSINGKHFYFNTDGIMQI**GVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQN**KFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFN TNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIAST
モジュール 6 LR = 配列番号 70) モジュール 6 (残基 2503-2594 = 配列番号 71)	**GVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQN** GYTIISGKHFYFNTDGIMQI**GVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQN**RFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFE PNTAMGAN
モジュール 7 LR = 配列番号 72) モジュール 7 (残基 2595-2710 = 配列番号 73)	**GVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQN** GYKTIDNKNFYFRNGLPQI**GVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQN**RFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFM PDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

【表２】

【０１６４】

表 2 - 毒素 B のレセプター結合性繰り返しモジュール

毒素 B のレセプター結合モジュール	**アミノ酸配列** (長い繰り返し領域を太字で示す)
モジュール 1 LR = 配列番号 74 モジュール 1 (残基 1852-2007 = 配列番号 75)	**GVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFT** DDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQT**GVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFT**GKLIIDE NIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDS GVMKV
モジュール 2 LR = 配列番号 76 モジュール 2 (残基 2008-2139 = 配列番号 77)	**GVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYS** GYTEIDGKHFYFAENGEMQI**GVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYS**GILNFNNKIYYFDDSFTAVVG WKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIES
モジュール 3 LR = 配列番号 78 モジュール 3 (残基 2140-2273 = 配列番号 79)	**GVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYS** GVQNIDDNYFYIDDNGIVQI**GVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYS**GLVRVGEDVYYFGETYTIETG WIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQF
モジュール 4 LR = 配列番号 80 モジュール 4 (残基 2274-2366 = 配列番号 81)	**GVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYT** GYINIEDKMFYFGEDGVMQI**GVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYT**GWLDLDEKRYYFTDEYIAATG SVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

【表３】

表 3 - リコンビナント毒素 B 由来抗原を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価 (6 週目；それぞれ 100μg を 2 回投与)

毒素 B 由来抗原 (アミノ酸配列)	毒素 B に対する中和力価 (0.5ng/ml)
リコンビナント毒素 B (1756-2366)	<10
リコンビナント毒素 B (1145-2366)	960
リコンビナント毒素 B (767-2366)	2,560
リコンビナント毒素 B (543-2366)	1,280

【０１６５】

【表４】

表 4 - リコンビナント毒素 B 由来抗原を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価 (18 週目；それぞれ 100μg を 5 回投与)

毒素 B 由来抗原 (アミノ酸配列)	毒素 B に対する中和力価 (0.5ng/ml)
リコンビナント毒素 B (1756-2366)	80
リコンビナント毒素 B (1145-2366)	5,120
リコンビナント毒素 B (767-2366)	10,250
リコンビナント毒素 B (543-2366)	5,120

【０１６６】

【表５】

表 5 - 本発明のリコンビナント毒素 B 由来抗原 (TxB4; 残基 767-2366) を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価

抗原	投与回数	免疫処置期間 (週)	毒素 B に対する中和力価 (0.5ng/ml)
100μg/回のリコンビナント毒素 B (残基 767～2366)	2	6	2,560
	3	10	2,560
	4	14	10,250
	5	18	10,250
	6	22	20,480

【０１６７】

【表６】

表 6 - 繰り返し領域を表すリコンビナント毒素 B 由来抗原 (TxB2, 1756-2366) を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価

抗原	投与回数	免疫処置期間 (週)	毒素 B に対する中和力価 (0.5ng/ml)
100μg/回のリコンビナント毒素 B (残基 767～2366)	2	6	<10
	3	10	10
	4	14	10
	5	18	80

【０１６８】

【表７】

表 7 - リコンビナント毒素 A 由来抗原を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価 (10 週間の時点)

毒素 A 由来抗原 (アミノ酸配列)	投与回数 (100μg)	毒素 A に対する中和力価 (50ng/ml)
リコンビナント毒素 A (1850-2710)	3	640
リコンビナント毒素 A (770-2710)	2	7,680
リコンビナント毒素 A(770-2389)	3	10,240

【０１６９】
【表８】

表 8 - リコンビナント毒素 A 由来抗原を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価 (18 週間の時点)

毒素 A 由来抗原 (アミノ酸配列)	投与回数 (100μg)	毒素 A に対する中和力価 (50ng/ml)
リコンビナント毒素 A (1850-2710)	5	1,280
リコンビナント毒素 A (770-2710)	4	15,360

【０１７０】
【表９】

表 9 - 本発明のリコンビナント毒素 A 由来抗原 (TxA4; 残基 770-2710) を用いたヒツジの免疫処置によって得られた中和力価

抗原	投与回数	免疫処置期間 (週)	毒素 A に対する中和力価 (50ng/ml)
100μg/回のリコンビナント毒素 A (残基 770～2710)	2	10	7,680
	3	14	10,240
	4	18	15, 360

【０１７１】
【表１０】

表 10 - 繰り返し領域のみを表すリコンビナント毒素 A 由来抗原 (TxA2; 残基 1850-2710) を用いたヒツジの免疫処置により得られた中和力価

抗原	投与回数	免疫処置期間 (週)	毒素 A に対する中和力価 (50ng/ml)
100μg/回のリコンビナント毒素 A (残基 1850～2710)	2	6	320
	3	10	630
	4	14	1,280
	5	18	1,280

【０１７２】
【化１】
配列番号

配列番号 1 - *Clostridium difficile* 毒素 A (毒素タイプ 0)
MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKKLNESIDVFMNKYKTSSRNRA
LSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFVWIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLK
KAIVESSTTEALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPTIDDIIKSHLVSE
YNRDETVLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQELLNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGV
YLDVDMLPGIHSDLFKTISRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIESKS
EKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIEQVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFT
DTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIAPYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKA
SDLIEFKFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDFNKNTALDKNYLL
NNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLFSKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILE
LNKYRIPERLKNKEKVKVTFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGCNM
FSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKNSITIGANQYEVRINSEGRKELLAHSGKWINKEEAIMS
DLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEP
VKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETE
KEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVK
VQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKEL
EAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKK
YGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYS
AIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDY
AITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWI
FNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLV
AKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILE
FYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSS
YLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFG
EWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNY
YSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFN
KMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIE
FNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNI
EGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIIS
KGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQ
AIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGLQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAT
GWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAIL
YQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIE
RNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVT
GWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSI
NGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGL
RTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGF
EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTI
DNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGW
QTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 2 - *C. difficile* 毒素 B (毒素タイプ 0)
MSLVNRKQLEKMANVRFRTQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYIDTYKKSGRN
KALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKDVNSDYNVNVFYDSNAFLI
NTLKKTVVESAINDTLESFRENLNDPRFDYNKFFRKRMEIIYDKQKNFINYYKAQREENPELIIDDIVKTY
LSNEYSKEIDELNTYIEESLNKITQNSGNDVRNFEEFKNGESFNLYEQELVERWNLAAASDILRISALKE
IGGMYLDVDMLPGIQPDLFESIEKPSSVTVDFWEMTKLEAIMKYKEYIPEYTSEHFDMLDEEVQSSFE
SVLASKSDKSEIFSSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNPAIS
EDNDFNTTTNTFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQDLLMFKEG
SMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKRNYFEGSLGEDDNLDFSQNI
VVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAKTPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYNPGD
GEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNTDIFAGFDVDSLSTEIEAAIDLAKEDISPKSIEINLLGCN
MFSYSINVEETYPGKLLLKVKDKISELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINKEESIIK
DISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEE
AKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEK
TIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKV
QVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEI

EAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVET
EGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSI
YDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFA
FIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSES
DVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAI
IEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVS
ELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHL
DESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDEN
DNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYT
DEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNV
FKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYIND
SLYYFKPPVNNLITGFVTVGD
DKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLII
DENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKH
YFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNN
KIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFS
DSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYF
GETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGE
MQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTD
EYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 3 - *C. difficile* 毒素 A (毒素タイプ 3)

MSLISKEELIKLAYSIRPRENEYKTILTNLDEYNKLTTNNNENKYLQLKKLNESIDVFMNKYKNSSRNRA
LSNLKKDILKEVILIKNSNTSPVEKNLHFVWIGGEVSDIALEYIKQWADINAEYNIKLWYDSEAFLVNTLK
KAIVESSTTEALQLLEEEIQNPQFDNMKFYKKRMEFIYDRQKRFINYYKSQINKPTVPTIDDIIKSHLVSE
YNRDETLLESYRTNSLRKINSNHGIDIRANSLFTEQELLNIYSQELLNRGNLAAASDIVRLLALKNFGGV
YLDVDMLPGIHSDLFKTIPRPSSIGLDRWEMIKLEAIMKYKKYINNYTSENFDKLDQQLKDNFKLIIESKS
EKSEIFSKLENLNVSDLEIKIAFALGSVINQALISKQGSYLTNLVIEQVKNRYQFLNQHLNPAIESDNNFT
DTTKIFHDSLFNSATAENSMFLTKIAPYLQVGFMPEARSTISLSGPGAYASAYYDFINLQENTIEKTLKA
SDLIEFKFPENNLSQLTEQEINSLWSFDQASAKYQFEKYVRDYTGGSLSEDNGVDFNKNTALDKNYLL
NNKIPSNNVEEAGSKNYVHYIIQLQGDDISYEATCNLFSKNPKNSIIIQRNMNESAKSYFLSDDGESILE
LNKYRIPERLKNKEKVKVTFIGHGKDEFNTSEFARLSVDSLSNEISSFLDTIKLDISPKNVEVNLLGCNM
FSYDFNVEETYPGKLLLSIMDKITSTLPDVNKDSITIGANQYEVRINSEGRKELLAHSGKWINKEEAIMS
DLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEP
VKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETE
KEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVK
VQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKEL
EAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKE
YGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIPSLSVYS
AIGIKTENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENNGTKLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDY
AITTLKPVYEDTNTKIKLDKDTRNFIMPTITTDEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISMNINLSKDDLWI
FNIDNEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLV
AKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILE
FYNGSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSS
YLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLNNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFG
EWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNY
YSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFN
KMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIE
SNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIINGKHFYFNNNGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNI
EGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIIS
KGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSGSNGFEYFAPANTYNNNIEGQ
AIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAAT
GWQTIDGKKYYFNTNTSIASTGYTIINGKYFYFNTDGIMQIGVFKVPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILY
QNKFLTLNGKKYYFGSDSKAITGWQTIDGKKYYFNPNNAIAATHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIER
NNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTG
WQTIDSKKYYFNLNTAVAVTGWQTIDGEKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKRYYFNTNTYIASTGYTIING
KHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTI
DGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYF
APANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNK

NFYFRNGLPQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIDGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTIN
SKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 4 - *C. difficile* 毒素 B (毒素タイプ 3)
MSLVNRKQLEKMANVRFRVQEDEYVAILDALEEYHNMSENTVVEKYLKLKDINSLTDIYIDTYKKSGR
NKALKKFKEYLVTEVLELKNNNLTPVEKNLHFVWIGGQINDTAINYINQWKDVNSDYNVNVFYDSNAF
LINTLKKTIVESATNDTLESFRENLNDPRFDYNKFYRKRMEIIYDKQKNFINYYKTQREENPDLIIDDIVKI
YLSNEYSKDIDELNSYIEESLNKVTENSGNDVRNFEEFKGGESFKLYEQELVERWNLAAASDILRISAL
KEVGGVYLDVDMLPGIQPDLFESIEKPSSVTVDFWEMVKLEAIMKYKEYIPGYTSEHFDMLDEEVQSS
FESVLASKSDKSEIFSSLGDMEASPLEVKIAFNSKGIINQGLISVKDSYCSNLIVKQIENRYKILNNSLNP
AISEDNDFNTTTNAFIDSIMAEANADNGRFMMELGKYLRVGFFPDVKTTINLSGPEAYAAAYQDLLMF
KEGSMNIHLIEADLRNFEISKTNISQSTEQEMASLWSFDDARAKAQFEEYKKNYFEGSLGEDDNLDFS
QNTVVDKEYLLEKISSLARSSERGYIHYIVQLQGDKISYEAACNLFAKTPYDSVLFQKNIEDSEIAYYYN
PGDGEIQEIDKYKIPSIISDRPKIKLTFIGHGKDEFNTDIFAGLDVDSLSTEIETAIDLAKEDISPKSIEINLL
GCNMFSYSVNVEETYPGKLLLRVKDKVSELMPSISQDSIIVSANQYEVRINSEGRRELLDHSGEWINK
EESIIKDISSKEYISFNPKENKIIVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVV
EGRIEEAKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRFIDKETGESIF
VETEKAIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDATHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLS
VAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSD
PLLRQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELILRDKATKVVDYFSHI
SLAESEGAFTSLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYR
EPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFY
WRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMNI
NIELNENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDNKIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTF
SILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANSNSVQQKIDYIGLNSELQKNIPYSFMDDKGKENGFINC
STKEGLFVSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVIILTGYYLKDDIKISLSFTIQDEN
TIKLNGVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSIFINSLQSNTKLILDTNFIISGTTSIGQ
FEFICDKDNNIQPYFIKFNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNK
VIISPNIYTDEINITPIYEANNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILMSTDEENKVSQV
KIRFTNVFKGNTISDKISFNFSDKQDVSINKVISTFTPSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVS
GLVYINDSLYYFKPPIKNLITGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTE
DGFKYFAPADTLDENLEGEAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDDEVYYFSTDTGRAFKGLN
QIGDDKFYFNSDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFK
YFAHHDEDLGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIIND
GKYYFNDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIGVFDTSDGYKYFAPAN
TVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYY
FDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDE
NFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 5 - 毒素 A フラグメント - TxA3 (毒素タイプ 0) (残基 1131-2710)
ESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSL
SIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYA
FFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKD
DLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLII
EINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDS
KNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNES
VYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNI
DIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLINI
NTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNT
QSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYF
DPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQN
NNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDT
AIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIE
GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAE
AATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQ
AILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYI
TIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSK
AVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTG
YTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKA
VTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKG

PDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGAN
GYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKA
VTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 6 - 毒素 A フラグメント - TxA3 (毒素タイプ 3) (残基 1131-2710)
ESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSL
SIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYA
FFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKD
DLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLII
EINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDS
KNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNES
VYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNI
DIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLINI
NTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNT
QSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYF
DPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALTSYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQ
NNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPD
TAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNI
EGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGLQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAE
AATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQ
AILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYI
TIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSK
AVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTG
YTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKA
VTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKG
PDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGAN
GYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKA
VTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 7 - 毒素 A フラグメント - TxA4 (毒素タイプ 0) (残基 770-2710)
IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKL
EPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLK
KELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSES
KKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSI
YSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDL
WIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEIN
LVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNI
LEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVY
SSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIY
FGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININT
NYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQS
FNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDP
IEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNN
NIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTA
IISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEG
QAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEA
ATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQA
ILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITI
ERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAV
TGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTS
INGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTG
LRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDG
FEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYK
TIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTG
WQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 8 - 毒素 A フラグメント - TxA4 (毒素タイプ 3) (残基 770-2710)

IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKL
EPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLK
KELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSES
KEYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPYISSHIPSLSV
YSAIGIKTENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENNGTKLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVYEDTNTKIKLDKDTRNFIMPTITTDEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISMNINLSKDD
LWIFNIDNEVREISIENGTIKKGNLIEDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEI
NLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNTIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSK
NILEFYNGSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESV
YSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLNNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDI
YFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININ
TNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQ
SFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFD
PIESNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAASTSYKIINGKHFYFNNNGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQN
NNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDT
AIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSGSNGFEYFAPANTYNNNIE
GQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAE
AATGWQTIDGKKYYFNTNTSIASTGYTIINGKYFYFNTDGIMQIGVFKVPNGFEYFAPANTHNNNIEGQ
AILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAITGWQTIDGKKYYFNPNNAIAATHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYI
TIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSK
AVTGWQTIDSKKYYFNLNTAVAVTGWQTIDGEKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKRYYFNTNTYIASTG
YTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAV
TGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTYIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGP
DGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNDSKAATGWATIDGNRYYFEPNTAMGANG
YKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIDGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVT
GWQTINSKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 9 - 毒素 B フラグメント - TxB3(-h) (毒素タイプ 0) (残基 1145-2366)
MPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEEL
DLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPR
YEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVR
DVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKL
LISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVY
MDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKF
MNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNT
LETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETN
NTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLS
FNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNN
LITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEG
EAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKG
FVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEIS
YSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTI
NDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVR
VGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNN
YYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLD
EKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 10 - 毒素 B フラグメント - TxB3(-h) (毒素タイプ 3) (残基 1145-2366)
MPQDDLVISEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEEL
DLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPR
YEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMNINIELNENDTWVIDVDNVV
RDVTIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDNKIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILEGINAVIEVDLLSKSY
KVLISGELKTLMANSNSVQQKIDYIGLNSELQKNIPYSFMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLIS
KVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVIILTGYYLKDDIKISLSFTIQDENTIKLNGVYLDENGVAEIL
KFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSIFINSLQSNTKLILDTNFIISGTTSIGQFEFICDKDNNIQPYFIKF
NTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVIISPNIYTDEINITPIYEA
NNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRFTNVFKGNTISDKISF
NFSDKQDVSINKVISTFTPSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYINDSLYYFKPPIKNLI

TGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEGE
AIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDDEVYYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYFNSDGIMQKGF
VNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHDEDLGNEEGEALSY
SGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYYFNDSGIMQIGFVTINN
EVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRV
GEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHY
YFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEK
RYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 11 - 毒素 B フラグメント - TxB3 (毒素タイプ 0) (残基 957-2366)
NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSE
GLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGI
PSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRM
EGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGL
RSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKL
SYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIIL
NSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSEL
QKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNV
NILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFV
NFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDS
GDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIR
YVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGL
IGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGE
TIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVE
WKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEID
GKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWK
DLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYF
YIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMEN
ESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFG
EDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYY
FDPDTAQLVISE

配列番号 12 - 毒素 B フラグメント - TxB3 (毒素タイプ 3) (残基 957-2366)
NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSE
GLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISA
GIPSLVNNELILRDKATKVVDYFSHISLAESEGAFTSLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSITLGKCEIWR
MEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTP
GLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIR
EKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMNINIELNENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDN
KIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILEGINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANSNSVQQKIDYIGL
NSELQKNIPYSFMDDKGKENGFINCSTKEGLFVSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKVITK
DDVIILTGYYLKDDIKISLSFTIQDENTIKLNGVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSI
FINSLQSNTKLILDTNFIISGTTSIGQFEFICDKDNNIQPYFIKFNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDD
SGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVIISPNIYTDEINITPIYEANNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRY
VWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRFTNVFKGNTISDKISFNFSDKQDVSINKVISTFTPSYYVEGLL
NYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYINDSLYYFKPPIKNLITGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGET
IIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDENLEGEAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEW
QTLDDEVYYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYFNSDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGK
YFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHDEDLGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDL
EDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYYFNDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYID
ENGLVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENES
DKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSED
GIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDP
DTAQLVISE

配列番号 13 - 毒素 B フラグメント - TxB 4 (毒素タイプ 0) (残基 767-2366)
SIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEE
RIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVE
TEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVA
MKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL

RQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSL
VETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREP
HLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWR
YFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIEL
SESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEG
INAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGL
FVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNS
VHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICD
ENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPN
IYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFV
NVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYI
NDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKY
FAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDY
KYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAH
HNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQY
YFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVN
DNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDE
KGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDEN
FEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 14 - 毒素 B フラグメント - TxB 4 (毒素タイプ 3) (残基 767-2366)

SIIKDISSKEYISFNPKENKIIVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLAECEINVISNIDTQVVEG
RIEEAKSLTSDSINYIKNEFKLIESISDALYDLKQQNELEESHFISFEDILETDEGFSIRFIDKETGESIFVE
TEKAIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDATHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVA
MKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPVIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLL
RQEIEAKIGIMAVNLTAATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELILRDKATKVVDYFSHISLA
ESEGAFTSLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSITLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPH
LSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRY
FAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPVITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMNINIEL
NENDTWVIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIENILSKLSIEDNKIILDNHEINFSGTLNGGNGFVSLTFSILE
GINAVIEVDLLSKSYKVLISGELKTLMANSNSVQQKIDYIGLNSELQKNIPYSFMDDKGKENGFINCSTK
EGLFVSELSDVVLISKVYMDNSKPLFGYCSNDLKDVKVITKDDVIILTGYYLKDDIKISLSFTIQDENTIKL
NGVYLDENGVAEILKFMNKKGSTNTSDSLMSFLESMNIKSIFINSLQSNTKLILDTNFIISGTTSIGQFEFI
CDKDNNIQPYFIKFNTLETKYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVIIS
PNIYTDEINITPIYEANNTYPEVIVLDTNYISEKINININDLSIRYVWSNDGSDFILMSTDEENKVSQVKIRF
TNVFKGNTISDKISFNFSDKQDVSINKVISTFTPSYYVEGLLNYDLGLISLYNEKFYINNFGMMVSGLVYI
NDSLYYFKPPIKNLITGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKY
FAPADTLDENLEGEAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDDEVYYFSTDTGRAFKGLNQIGDD
KFYFNSDGIMQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHH
DEDLGNEEGEALSYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYYF
NDSGIMQIGFVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDN
IYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENG
IMRTGLITFEDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGE
SINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 15 - 毒素 B フラグメント - 毒素 B-A ハイブリッド (毒素タイプ 0)

NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSE
GLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGI
PSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRM
EGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGL
RSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKL
SYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIIL
NSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSEL
QKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNV
NILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFV
NFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDS
GDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIR
YVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGL
IGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYK
IINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVT

GWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTID
GKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGW
QTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGK
HFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIIN
NKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYF
APANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDG
KKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFA
PANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKK
YYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHD
NIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAP
ANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVI
YFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 16 - 毒素 B フラグメント - 毒素 A-B ハイブリッド (毒素タイプ 0)
IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKL
EPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLK
KELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSES
KKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSI
YSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDL
WIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEIN
LVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNI
LEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVY
SSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIY
FGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININT
NYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQS
FNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDP
IEFNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDEN
LEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVM
QKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEG
EEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVG
FVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSG
LVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFEN
NNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLD
LDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 17 - 毒素 B フラグメント - 毒素 A-B ハイブリッド (毒素タイプ 0 および 3)
IMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKL
EPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVE
TEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTS
VKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLK
KELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSES
KKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSI
YSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFF
DYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDL
WIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEIN
LVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNI
LEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVY
SSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIY
FGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININT
NYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQS
FNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDP
IEFNLITGFTTIGDDKYYFNPDNGGAASVGETIIDGKNYYFSQNGVLQTGVFSTEDGFKYFAPADTLDE
NLEGEAIDFTGKLTIDENVYYFGDNYRAAIEWQTLDDEVYYFSTDTGRAFKGLNQIGDDKFYFNSDGI
MQKGFVNINDKTFYFDDSGVMKSGYTEIDGKYFYFAENGEMQIGVFNTADGFKYFAHHDEDLGNEE
GEALSYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGISIINDGKYYFNDSGIMQIG
FVTINNEVFYFSDSGIVESGMQNIDDNYFYIDENGLVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYS
GLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFDPETKKAYKGINVIDDIKYYFDENGIMRTGLITF

EDNHYYFNEDGIMQYGYLNIEDKTFYFSEDGIMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWL
DLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 18 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 His-NusA-[トロンビン部位]-TxA4-His
HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDN
KLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEF
NLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEIS
TIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTI
YDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSI
AATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPID
DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIM
MLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKI
KLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGT
IKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYL
ISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIA
EDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTS
NFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGN
GRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNT
FHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYI
MSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYY
FDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGK
KYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYY
FDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNT
AIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGS
DSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTG
VFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTA
EAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGV
FKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVA
VTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQA
IRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVF
KGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMA
AAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYGGGSGGSLVPRGSGGSHHHHHH

配列番号 19 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 His-NusA-[トロンビン部位]-TxA4
HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDN
KLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEF
NLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEIS
TIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTI
YDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSI
AATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPID
DLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIM
MLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKI
KLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGT
IKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYL
ISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIA

EDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTS
NFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGN
GRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNT
FHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYI
MSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYY
FDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGK
KYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYY
FDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNT
AIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGS
DSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTG
VFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTA
EAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGV
FKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVA
VTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQA
IRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVF
KGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMA
AAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 20 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[トロンビン部位]-TxA4
HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSA
AAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGD
YIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNG
ESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVL
NDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDE
HDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYF
NHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISS
HIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYW
RFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNIN
LSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDD
KISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHY
KKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGL
YLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICD
NNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLY
TSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGI
LSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININN
SLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAP
ANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYY
FNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTY
NNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNT
NTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANN
IEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQ
NGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDN
DSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIA
STGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSD
SKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVF
KGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMG
ANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNS
KAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 21 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 - His-チオレドキシン-[トロンビン部位]-TxA3
HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSA
AAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSI
SSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKF
YWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPIST
NINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCEL
DDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSII
HYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVN

GLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFI
CDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAP
DLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIR
IKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLINI
NNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYF
APANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNK
YYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPAN
TYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYF
NTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDA
NNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGI
LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYF
DNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTF
IASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGS
DSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIG
VFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTA
MGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGN
NSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 22 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[トロンビン部位]-TxA3

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILV
PIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKK
IMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNI
KIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIEN
GTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDK
NYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSK
DFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGH
HNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTI
FSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVL
NPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKL
SLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTIN
GKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFL
TLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSR
YYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLN
GKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKY
YFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGK
KYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNE
SKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYY
FNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGI
MQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNT
NTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANN
IEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLP
QIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPD
TAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 23 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[トロンビン部位]-TxB4-His

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKE

NKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKD
EFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEIS
KIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNT
ITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTA
TTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMP
QDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLS
KDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYED
TNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVT
IESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISG
ELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDD
SKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRK
GNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETN
YTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTY
PEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNF
SDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITG
FVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAID
FTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSI
NDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGI
LNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDK
VFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGE
DVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYF
NENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKR
YYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISEGHHHHHH

配列番号 24 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原 - His-NusA-[トロンビン部位]-TxB4

HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKE
NKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKD
EFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEIS
KIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNT
ITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTA
TTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMP
QDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLS
KDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYED
TNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVT
IESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISG
ELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDD
SKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRK
GNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETN
YTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTY
PEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNF
SDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITG
FVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAID
FTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSI
NDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGI
LNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDK
VFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGE
DVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYF
NENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKR
YYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 25 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原 - His-チオレドキシン-[トロンビン部位]-TxB4

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSA

AAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNID
TQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETG
ESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESL
SNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSE
TSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDY
FKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPS
ITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEG
EFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNM
GINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLT
FSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGS
TKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEK
TIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQ
FEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNK
VVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQ
VKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMV
SGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTE
DGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLN
QIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGF
KYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLIN
DGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPA
NTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKY
YFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNT
LDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 26 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原 - His-NusA-[トロンビン部位]-TxB3
HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVPRGSVTSLYKKAGSAAGGSMPQDDLVISEIDFNNNSIV
LGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFA
WETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIV
PIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGIL
STLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQK
IDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKD
VKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLE
SMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVE
PNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKIN
VNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFT
PSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPIN
GGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDD
NYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVM
KVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSF
TAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGV
QNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETG
WIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIE
DKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVI
IDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 27 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原 - His-チオレドキシン-[トロンビン部位]-TxB3 (-hyd)
HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSA
AGGSMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQ
KEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITT
LKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVD
NVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSK
SYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLI

SKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAE
ILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIK
FNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVY
ETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLAN
KLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPP
VNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDEN
LEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVM
QKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEG
EEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVG
FVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSG
LVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFEN
NNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLD
LDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 28 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-NusA-[トロンビン部位]-TxA4
HHHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPRE
KIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLG
DYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAE
AVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARD
PGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIV
VDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLD
IDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADD
LLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVP
RGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTK
FILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKN
NSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFF
IQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILD
GINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNE
LILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVT
GNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLL
DSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTY
SLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDN
KDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYF
GAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSIS
LVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLV
GKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGI
DRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLE
ESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYD
EDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLG
VFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAI
AAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFS
TSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAAT
GWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPN
GFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTI
NNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQN
KFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTI
DGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKF
LTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKH
FYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTID
GNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRF
LHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG.

配列番号 29 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-NusA-[トロンビン部位]-TxA4
HHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKA
LPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDES
LNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLG
NNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKA
AARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPAD

VASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTF
TKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDN
KPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEAS
GALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASV
SPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISF
EDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNT
LNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPI
VSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPS
LVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGS
GHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLEND
GTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDG
AGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFS
GDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESN
NKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSI
DFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKY
FTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEP
LYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILV
RYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTY
YYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVM
QLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPN
NAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIG
VFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAE
AATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFK
GPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIH
LCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIV
YQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATG
WQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILY
QNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTII
SGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATG
WVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIR
YQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIY
G

配列番号 30 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[直鎖スペーサー]- [トロンビン部位]-TxA4
HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSLVPRGSGS
AAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIG
DYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSN
GESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDV
LNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDE
HDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYF
NHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISS
HIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYW
RFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNIN
LSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDD
KISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHY
KKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGL
YLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICD
NNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLY
TSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGI
LSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININN
SLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAP
ANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYY

FNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTY
NNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNT
NTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANN
IEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQ
NGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDN
DSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIA
STGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSD
SKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVF
KGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMG
ANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNS
KAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 31 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 - His-NusA-[ヘリカルスペーサー]-[トロンビン部位]-TxA4
HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRG
SGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIE
SSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFIN
KSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSN
KDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKE
LLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSV
VNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSS
PSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPG
KFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPI
STNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTC
ELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQK
SIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKV
NGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVE
FICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIA
PDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKI
RIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLI
NINNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFE
YFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDN
NKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAP
ANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKK
YYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPAN
TDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSY
DGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKK
YYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNT
NTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYY
FGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIM
QIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPN
TAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYF
GNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 32 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-NusA-[トロンビン部位]-TxA3
HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPRE
KIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLG
DYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAE
AVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARD
PGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIV
VDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLD
IDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADD

LLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVP
RGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGH
TVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGT
RLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAG
GTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGD
IDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNK
YFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFS
ISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTL
VGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLY
GIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRY
LEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYY
DEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQL
GVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNN
AIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGV
FSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEA
ATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKG
PNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHL
CTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVY
QNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGW
QTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQ
NKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIIS
GKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGW
VTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQ
NRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 33 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-NusA-[トロンビン部位]-TxA3
HHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKA
LPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDES
LNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLG
NNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKA
AARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPAD
VASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTF
TKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDN
KPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEAS
GALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAME
GGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRS
LENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSY
SFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQ
TIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYT
DESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNT
DKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFV
IDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDF
SYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGS
DFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKII
DNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNN
DGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKY
YFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDC
VVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFN
TNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIM
QIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPN
NAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNI
EGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTA
EAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIE
GQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA
STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNS
KAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIE
GQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVK
APGIYG

配列番号 34 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 His-NusA-[直鎖スペーサー]- [トロンビン部位]-TxA3
HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSLVPRGSGS
AAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSP
SISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGK
FYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPIS
TNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCE
LDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSI
IHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVN
GLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFI
CDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAP
DLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIR
IKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLINI
NNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYF
APANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNK
YYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPAN
TYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYF
NTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDA
NNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGI
LQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYF
DNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTF
IASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGS
DSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIG
VFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTA
MGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGN
NSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 35 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[ヘリカルスペーサー]-[トロンビン部位]-TxA3
HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRG
SGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFF
SSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLY
PGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSY
PISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLT
CELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQ
KSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVK
VNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYV
EFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLI
APDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQ
KIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKG
LININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGF
EYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVID
NNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYF
APANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDG
KKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAP
ANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYF

SYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNG
KKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYF
NTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKK
YYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDG
IMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFE
PNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIY
YFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 36 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-チオレドキシン- [トロンビン部位]-TxA4

HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGA
ILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVG
ALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIP
GLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDEL
YELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVN
GNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLIS
NAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIG
AEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNN
NSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVF
WWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIM
PTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLS
KIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINT
LGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDI
NTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNIS
FWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYN
PDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDS
SSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSE
NELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALIS
YKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKA
VTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTI
DGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTG
WQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIIN
GKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGW
RIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGF
EYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTI
DGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEY
FAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTING
KKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYL
HDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYF
APANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDG
VIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 37 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-チオレドキシン- [トロンビン部位]-TxA4

HHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLK
ADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVA
ATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAK
SKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLEN
VSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSII
TDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQL
VNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVA
SIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVIS
EIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNA
PSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDT
RNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLI
KDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNI
IEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVF
MKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNL
FLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVV
VEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKV

NINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNF
KSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDIN
TGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYY
FDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAI
AFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDN
NSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIA
STGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDS
KAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVF
KGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEA
ATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFK
GPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVT
GWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIR
YQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFK
GSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAA
AGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 38 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン- [直鎖スペーサー]-[トロンビン部位]-TxA4

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGGSGGSGGSGG
SGGSGGSGGSGGSLVPRGSGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLL
LDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDE
KYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHT
SQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTI
TEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGIS
AGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAM
EGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLR
SLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLS
YSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGN
QTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYN
YTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDN
NTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENIN
FVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSL
DFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTE
GSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGF
KIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYF
NNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNE
KYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDS
DCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYY
FNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGI
MQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNP
NNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNN
NIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNT
AEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIE
GQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIA
STGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNS
KAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIE
GQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVK
APGIYG

配列番号 39 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[ヘリカルスペーサー]-[トロンビン部位]-TxA4

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAKEAAA
KEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIK
TLLLDASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNL
DEKYLISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLD
HTSQVNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVL
PTITEGIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIA
GISAGIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNI

LAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVP
GLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRN
KLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLII
GNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIA
YNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYV
DNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFE
NINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDIS
TSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWS
TEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHL
GFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHF
YFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN
NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYF
DSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKK
YYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNT
DGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYY
FNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANT
HNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYF
NLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTH
NNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNT
NTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYF
GNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTD
ANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFG
VDGVKAPGIYG

配列番号 40 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-チオレドキシン- [トロンビン部位]-TxA3

HHHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGA
ILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVG
ALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDF
NNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSR
VFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNF
IMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDV
LSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKI
NTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKD
DINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDN
ISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPI
YNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINL
DSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFN
SENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAA
LISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDND
SKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNG
YKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKA
VTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGY
TIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVT
GWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPN
GFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGW
QTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGF
EYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTI
NGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRF
LYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGF
EYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLF
EIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 41 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-チオレドキシン- [トロンビン部位]-TxA3

HHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLK
ADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVA
ATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDL
VISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMML
PNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKL

DKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIK
KGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLIS
NLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAE
DINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSN
FMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNG
RNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTF
HKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYI
MSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYY
FDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGK
KYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDT
DTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYY
FDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNT
AIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGS
DSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTG
VFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTA
EAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGV
FKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVA
VTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQA
IRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVF
KGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMA
AAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 42 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[直鎖スペーサー]-[トロンビン部位]-TxA3

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGGSGGSGGSGG
SGGSGGSGGSGGSLVPRGSGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNI
LAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVP
GLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRN
KLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLII
GNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIA
YNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYV
DNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFE
NINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDIS
TSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWS
TEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHL
GFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHF
YFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIIN
NEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYF
DSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKK
YYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNT
DGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYY
FNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANT
HNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYF
NLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTH
NNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNT
NTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYF
GNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTD
ANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFG
VDGVKAPGIYG

配列番号 43 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[ヘリカルスペーサー]-[トロンビン部位]-TxA3

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAKEAAA
KEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLG
TCNILAMEGGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETG
AVPGLRSLENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTN
EIRNKLSYSFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINK
NKLIIGNQTIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDS

KNIAYNYTDESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITG
KYYVDNNTDKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKL
FGFENINFVIDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTG
EDISTSLDFSYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEY
KWSTEGSDFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDR
DHLGFKIIDNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIING
KHFYFNNDGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGW
RIINNEKYYFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKH
FYFDSDCVVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTID
SKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYF
NTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKK
YYFNPNNAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPA
NTHNNNIEGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKY
YFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPAN
THNNNIEGQAILYQNKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYF
NTNTSIASTGYTIISGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIY
YFGNNSKAATGWVTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANT
DANNIEGQAIRYQNRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFF
GVDGVKAPGIYG

配列番号 44 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-NusA-[トロンビン部位]-TxB4
HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPRE
KIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLG
DYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAE
AVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARD
PGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIV
VDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLD
IDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADD
LLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALVP
RGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEE
KVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDIS
ETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAA
FFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIAT
IIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVN
NELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGS
GHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLE
NDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSF
YGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEI
NFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIP
YSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGY
YLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQS
NIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISST
VINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSN
DGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLG
LVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKN
YYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDG
EMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYF
AENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGS
KYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGI
VQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYY
FNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQ
IGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQ
LVISE.

配列番号 45 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[直鎖スペーサー]-[トロンビン部位]-TxB4
HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL

FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSLVPRGSGS
AAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNI
DTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKET
GESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKES
LSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELS
ETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVD
YFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAP
SITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYE
GEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYN
MGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSL
TFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFING
STKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDE
KTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIG
QFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVN
KVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVS
QVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMM
VSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFST
EDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGL
NQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDG
FKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLI
NDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAP
ANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIK
YYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQN
TLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE.

配列番号 46 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]- [トロンビン部位]-NusA-B4
HHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASNKEILAVVEAVSNEKA
LPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDES
LNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLG
NNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKA
AARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPAD
VASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTF
TKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDN
KPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEAS
GALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSS
DIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFI
SFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEV
NTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSE
GLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGI
PSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRM
EGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGL
RSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKL
SYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIIL
NSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSEL
QKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNV
NILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFV
NFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDS
GDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIR
YVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGL
IGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGE
TIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVE
WKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEID
GKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWK
DLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYF
YIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMEN

ESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFG
EDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYY
FDPDTAQLVISE

配列番号 47 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[ヘリカルスペーサー]- [トロンビン部位]-TxB4
HHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSGDFDTF
RRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAERAMVV
DQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEARGAQL
FVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARVQAVSTE
LGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRLASQLSG
WELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIEGLDEPT
VEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGIDDLADI
EGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRG
SGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINV
ISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFIN
KETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSS
KESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIK
ELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATK
VVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFF
SAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRD
NYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLS
QYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNG
FVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENG
FINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTL
QDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGT
TSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGID
SCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEE
NKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINN
FGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQT
GVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGK
AFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVF
NTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEA
YIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDG
YKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGI
NLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKY
FAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 48 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-チオレドキシン-[トロンビン部位]-TxB4
HHHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADG
AILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKV
GALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNL
PELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISD
ALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTV
NGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVE
LVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLG
IASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEI
DFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPN
APNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDS
NTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKG
DLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNS
NHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYY
SNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSD
SLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNR
QNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDAN
YINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPV
SEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDK
YYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDE
NIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYF

DDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIY
YFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSG
IIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGET
YTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQF
GYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIA
ATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 49 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[直鎖スペーサー] –[トロンビン部位]-TxB4

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGGSGGSGGSGG
SGGSGGSGGSGGSLVPRGSGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNN
SNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELE
DSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDT
THEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLL
PTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLA
GISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKC
EIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETG
WTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTE
YIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIE
ENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGF
NSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITK
DNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIK
SIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDL
DDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDL
SIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYE
DGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAA
SIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRG
AVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGY
TEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVV
GWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDD
NYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYD
MENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMF
YFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGE
EYYFDPDTAQLVISE

配列番号 50 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-チオレドキシン-[トロンビン部位]-TxB4

HHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLK
ADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVA
ATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVK
SKNLPELSTLLQEIRNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIE
SISDALCDLKQQNELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTI
FDTVNGKLVKKVNLDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAA
KVVELVSTALDETIDLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIIT
SSLGIASGFSILLVPLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDL
VISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLM
VLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRI
NLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESD
KIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKI
LMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKP
SFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGN
TNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTL
YVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVI
VLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDK
QDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVT
VGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTG
KLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSIND
NKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILN
FNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVF

YFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDV
YYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNE
NGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYY
FTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 51 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン–[Helical spacer]-[トロンビン部位]-TxB4

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAKEAAA
KEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRGSGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEI
RNNSNSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQN
ELEDSHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVN
LDTTHEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETI
DLLPTLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLV
PLAGISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVL
GKCEIWRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAW
ETGWTPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPII
TTEYIREKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILST
LSIEENKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKID
YIGFNSELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVK
VITKDNVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLES
MNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEP
NYDLDDSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINV
NINDLSIRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTP
SYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPING
GAASIGETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDN
YRGAVEWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMK
VGYTEIDGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFT
AVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQ
NIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETG
WIYDMENESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIE
DKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVI
IDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 52 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[ヘリカルスペーサー]-チオレドキシン -[トロンビン部位]-TxB3

HHHHHHHHHHGGSLAEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKEAAAKAAAGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLK
ADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVA
ATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAGGSMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEI
WRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGW
TPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYI
REKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEE
NKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFN
SELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKD
NVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSI
FVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLD
DSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLS
IRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYED
GLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASI
GETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAV
EWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEI
DGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGW
KDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNY
FYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDME
NESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYF
GEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEY
YFDPDTAQLVISE

配列番号 53 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[ヘリカルスペーサー]- [トロンビン部位]-TxB3

HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALLAEAAAKEAAAKEAAA
KEAAAKEAAAKAAAGGSLVPRGSGSAAGGSMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVT
DDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTK
LLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGG
TYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGE
VNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDS
EGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDI
KISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILD
ANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQ
KYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFI
LMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYN
EKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQ
SGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYF
SPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGE
MQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDE
DTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVF
DTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETK
KACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNT
PDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 54 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-[直鎖スペーサー]-チオレドキシン-[トロンビン部位]-TxB3
HHHHHHHHHGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSGGSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGA
ILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVG
ALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSVTSLYKKAGSAAGGSMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRME
GGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLR
SLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLS
YSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILN
SHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQ
KNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNI
LTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNF
LQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDI
SSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYV
WSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIG
YDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETII
DDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWK
ELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGK
HFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLE
DGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDD
NGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDK
YYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGV
MQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPD
TAQLVISE

配列番号 55 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-チオレドキシン-[直鎖スペーサー]-[トロンビン部位]-TxB3
HHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLTVAKL
NIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALGGSGGSGGSGGSGG
SGGSGGSGGSGGSLVPRGSGSAAGGSMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEIWRMEGGSGHTVTDDI
DHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGWTPGLRSLENDGTKLLD
RIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYIREKLSYSFYGSGGTYA
LSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEENKIILNSHEINFSGEVNG
SNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFNSELQKNIPYSFVDSEGK
ENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKDNVNILTGYYLKDDIKISL
SLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSIFVNFLQSNIKFILDANFII
SGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLDDSGDISSTVINFSQKYLY
GIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLSIRYVWSNDGNDFILMST
SEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYEDGLIGYDLGLVSLYNEKFY
INNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASIGETIIDDKNYYFNQSGVL

QTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAVEWKELDGEMHYFSPET
GKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEIDGKHFYFAENGEMQIG
VFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGWKDLEDGSKYYFDEDTAE
AYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNYFYIDDNGIVQIGVFDTSD
GYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDMENESDKYYFNPETKKACK
GINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYFGEDGVMQIGVFNTPDGF
KYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEYYFDPDTAQLVISE

配列番号 56 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[インテイン A 配列]-TxB4-His
MGSSHHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSG
DFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAER
AMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEA
RGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARV
QAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRL
ASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIE
GLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGI
DDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALRTRVKVVKNKALAEGTRIFDPVTGTTHRIEDVVD
GRKPIHVVAAAKDGTLHARPVVSWFDQGTRDVIGLRIAGGAILWATPDHKVLTEYGWRAAGELRKGD
RVAQPRRFDGFGDSAPIPARVQALADALDDKFLHDMLAEELRYSVIREVLPTRRARTFGLEVEELHTL
VAEGVVVHNSSPPFKQAEFGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNS
NSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED
SHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTT
HEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLP
TLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAG
ISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEI
WRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGW
TPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYI
REKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEE
NKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFN
SELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKD
NVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSI
FVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLD
DSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLS
IRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYED
GLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASI
GETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAV
EWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEI
DGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGW
KDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNY
FYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDME
NESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYF
GEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEY
YFDPDTAQLVISEGHHHHHH

配列番号 57 - 毒素 B 由来リコンビナント抗原- His-NusA-[インテイン BT 配列]-TxB4-His
MGSSHHHHHHSHMASNKEILAVVEAVSNEKALPREKIFEALESALATATKKKYEQEIDVRVQIDRKSG
DFDTFRRWLVVDEVTQPTKEITLEAARYEDESLNLGDYVEDQIESVTFDRITTQTAKQVIVQKVREAER
AMVVDQFREHEGEIITGVVKKVNRDNISLDLGNNAEAVILREDMLPRENFRPGDRVRGVLYSVRPEA
RGAQLFVTRSKPEMLIELFRIEVPEIGEEVIEIKAAARDPGSRAKIAVKTNDKRIDPVGACVGMRGARV
QAVSTELGGERIDIVLWDDNPAQFVINAMAPADVASIVVDEDKHTMDIAVEAGNLAQAIGRNGQNVRL
ASQLSGWELNVMTVDDLQAKHQAEAHAAIDTFTKYLDIDEDFATVLVEEGFSTLEELAYVPMKELLEIE
GLDEPTVEALRERAKNALATIAQAQEESLGDNKPADDLLNLEGVDRDLAFKLAARGVCTLEDLAEQGI
DDLADIEGLTDEKAGALIMAARNICWFGDEASGALEVFGEFGSGKAFARDTEVYYENDTVPHMESIEE
MYSKYASMNGELPFDNGYAVPLDNVFVYTLDIASGEIKKTRASYIYREKVEKLIEIKLSSGYSLKVTPSH
PVLLFRDGLQWVPAAEVKPGDVVVGVREEVLRRRIISKGELEFHEVSSVRIIDYNNWVYDLVIPETHNF
IAPNGLVLHNTQLAHTLAVMGSAAAPFTMSIIKDISSKEYISFNPKENKITVKSKNLPELSTLLQEIRNNS
NSSDIELEEKVMLTECEINVISNIDTQIVEERIEEAKNLTSDSINYIKDEFKLIESISDALCDLKQQNELED
SHFISFEDISETDEGFSIRFINKETGESIFVETEKTIFSEYANHITEEISKIKGTIFDTVNGKLVKKVNLDTT
HEVNTLNAAFFIQSLIEYNSSKESLSNLSVAMKVQVYAQLFSTGLNTITDAAKVVELVSTALDETIDLLP
TLSEGLPIIATIIDGVSLGAAIKELSETSDPLLRQEIEAKIGIMAVNLTTATTAIITSSLGIASGFSILLVPLAG

ISAGIPSLVNNELVLRDKATKVVDYFKHVSLVETEGVFTLLDDKIMMPQDDLVISEIDFNNNSIVLGKCEI
WRMEGGSGHTVTDDIDHFFSAPSITYREPHLSIYDVLEVQKEELDLSKDLMVLPNAPNRVFAWETGW
TPGLRSLENDGTKLLDRIRDNYEGEFYWRYFAFIADALITTLKPRYEDTNIRINLDSNTRSFIVPIITTEYI
REKLSYSFYGSGGTYALSLSQYNMGINIELSESDVWIIDVDNVVRDVTIESDKIKKGDLIEGILSTLSIEE
NKIILNSHEINFSGEVNGSNGFVSLTFSILEGINAIIEVDLLSKSYKLLISGELKILMLNSNHIQQKIDYIGFN
SELQKNIPYSFVDSEGKENGFINGSTKEGLFVSELPDVVLISKVYMDDSKPSFGYYSNNLKDVKVITKD
NVNILTGYYLKDDIKISLSLTLQDEKTIKLNSVHLDESGVAEILKFMNRKGNTNTSDSLMSFLESMNIKSI
FVNFLQSNIKFILDANFIISGTTSIGQFEFICDENDNIQPYFIKFNTLETNYTLYVGNRQNMIVEPNYDLD
DSGDISSTVINFSQKYLYGIDSCVNKVVISPNIYTDEINITPVYETNNTYPEVIVLDANYINEKINVNINDLS
IRYVWSNDGNDFILMSTSEENKVSQVKIRFVNVFKDKTLANKLSFNFSDKQDVPVSEIILSFTPSYYED
GLIGYDLGLVSLYNEKFYINNFGMMVSGLIYINDSLYYFKPPVNNLITGFVTVGDDKYYFNPINGGAASI
GETIIDDKNYYFNQSGVLQTGVFSTEDGFKYFAPANTLDENLEGEAIDFTGKLIIDENIYYFDDNYRGAV
EWKELDGEMHYFSPETGKAFKGLNQIGDYKYYFNSDGVMQKGFVSINDNKHYFDDSGVMKVGYTEI
DGKHFYFAENGEMQIGVFNTEDGFKYFAHHNEDLGNEEGEEISYSGILNFNNKIYYFDDSFTAVVGW
KDLEDGSKYYFDEDTAEAYIGLSLINDGQYYFNDDGIMQVGFVTINDKVFYFSDSGIIESGVQNIDDNY
FYIDDNGIVQIGVFDTSDGYKYFAPANTVNDNIYGQAVEYSGLVRVGEDVYYFGETYTIETGWIYDME
NESDKYYFNPETKKACKGINLIDDIKYYFDEKGIMRTGLISFENNNYYFNENGEMQFGYINIEDKMFYF
GEDGVMQIGVFNTPDGFKYFAHQNTLDENFEGESINYTGWLDLDEKRYYFTDEYIAATGSVIIDGEEY
YFDPDTAQLVISEGHHHHHH

配列番号 58 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 (TxA4; residues 770-2710) 発現構築物

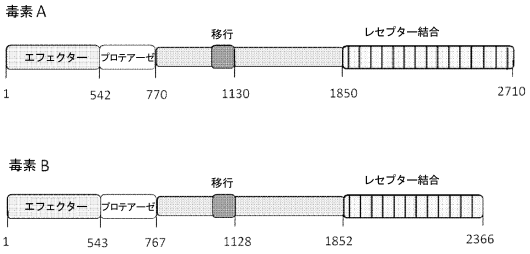
MGSSHHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLT
VAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALEVLFQGPGGSA
DARAKAQFEEYKRNYFEGAGGSIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLDASVSP
DTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYLISFEDI
SKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQVNTLN
AAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITEGIPIVS
TILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISAGIPSLV
NNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAMEGGSG
HTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRSLENDG
TRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSYSFDGA
GGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQTIDFSG
DIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYTDESNN
KYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNTDKSIDF
SISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFVIDKYFT
LVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDFSYEPLY
GIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGSDFILVRY
LEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKIIDNKTYYY
DEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNNDGVMQL
GVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKYYFNPNN
AIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDCVVKIGV
FSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFNTNTAEA
ATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIMQIGVFKG
PNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPNNAIAAIHL
CTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAIVY
QNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGW
QTIDGKKYYFNTNTFIASTGYTSINGKHFYFNTDGIMQIGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNIEGQAILYQ
NKFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGLRTIDGKKYYFNTNTAVAVTGWQTINGKKYYFNTNTSIASTGYTIIS
GKHFYFNTDGIMQIGVFKGPDGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQNRFLYLHDNIYYFGNNSKAATGW
VTIDGNRYYFEPNTAMGANGYKTIDNKNFYFRNGLPQIGVFKGSNGFEYFAPANTDANNIEGQAIRYQ
NRFLHLLGKIYYFGNNSKAVTGWQTINGKVYYFMPDTAMAAAGGLFEIDGVIYFFGVDGVKAPGIYG

配列番号 59 - 毒素 A 由来リコンビナント抗原 (TxA4 切断型; residues 770-2389) 発現構築物

MGSSHHHHHHSHMASDKIIHLTDDSFDTDVLKADGAILVDFWAEWCGPCKMIAPILDEIADEYQGKLT
VAKLNIDQNPGTAPKYGIRGIPTLLLFKNGEVAATKVGALSKGQLKEFLDANLARALVPRGSGGSADA
RAKAQFEEYKRNYFEGAGGSAAAPFTMIMSDLSSKEYIFFDSIDNKLKAKSKNIPGLASISEDIKTLLLD
ASVSPDTKFILNNLKLNIESSIGDYIYYEKLEPVKNIIHNSIDDLIDEFNLLENVSDELYELKKLNNLDEKYL

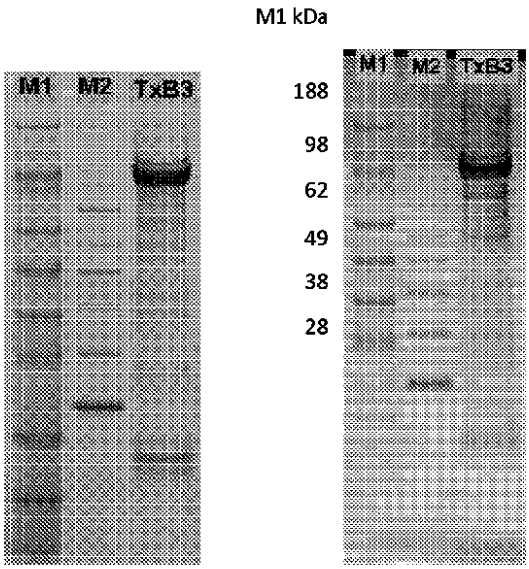
ISFEDISKNNSTYSVRFINKSNGESVYVETEKEIFSKYSEHITKEISTIKNSIITDVNGNLLDNIQLDHTSQ
VNTLNAAFFIQSLIDYSSNKDVLNDLSTSVKVQLYAQLFSTGLNTIYDSIQLVNLISNAVNDTINVLPTITE
GIPIVSTILDGINLGAAIKELLDEHDPLLKKELEAKVGVLAINMSLSIAATVASIVGIGAEVTIFLLPIAGISA
GIPSLVNNELILHDKATSVVNYFNHLSESKKYGPLKTEDDKILVPIDDLVISEIDFNNNSIKLGTCNILAME
GGSGHTVTGNIDHFFSSPSISSHIPSLSIYSAIGIETENLDFSKKIMMLPNAPSRVFWWETGAVPGLRS
LENDGTRLLDSIRDLYPGKFYWRFYAFFDYAITTLKPVYEDTNIKIKLDKDTRNFIMPTITTNEIRNKLSY
SFDGAGGTYSLLLSSYPISTNINLSKDDLWIFNIDNEVREISIENGTIKKGKLIKDVLSKIDINKNKLIIGNQ
TIDFSGDIDNKDRYIFLTCELDDKISLIIEINLVAKSYSLLLSGDKNYLISNLSNIIEKINTLGLDSKNIAYNYT
DESNNKYFGAISKTSQKSIIHYKKDSKNILEFYNDSTLEFNSKDFIAEDINVFMKDDINTITGKYYVDNNT
DKSIDFSISLVSKNQVKVNGLYLNESVYSSYLDFVKNSDGHHNTSNFMNLFLDNISFWKLFGFENINFV
IDKYFTLVGKTNLGYVEFICDNNKNIDIYFGEWKTSSSKSTIFSGNGRNVVVEPIYNPDTGEDISTSLDF
SYEPLYGIDRYINKVLIAPDLYTSLININTNYYSNEYYPEIIVLNPNTFHKKVNINLDSSSFEYKWSTEGS
DFILVRYLEESNKKILQKIRIKGILSNTQSFNKMSIDFKDIKKLSLGYIMSNFKSFNSENELDRDHLGFKII
DNKTYYYDEDSKLVKGLININNSLFYFDPIEFNLVTGWQTINGKKYYFDINTGAALISYKIINGKHFYFNN
DGVMQLGVFKGPDGFEYFAPANTQNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWRIINNEKY
YFNPNNAIAAVGLQVIDNNKYYFNPDTAIISKGWQTVNGSRYYFDTDTAIAFNGYKTIDGKHFYFDSDC
VVKIGVFSTSNGFEYFAPANTYNNNIEGQAIVYQSKFLTLNGKKYYFDNNSKAVTGWQTIDSKKYYFN
TNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAEAATGWQTIDGKKYYFNTNTAIASTGYTIINGKHFYFNTDGIM
QIGVFKGPNGFEYFAPANTDANNIEGQAILYQNEFLTLNGKKYYFGSDSKAVTGWRIINNKKYYFNPN
NAIAAIHLCTINNDKYYFSYDGILQNGYITIERNNFYFDANNESKMVTGVFKGPNGFEYFAPANTHNNNI
EGQAIVYQNKFLTLNGKKYYFDNDSKAVTGWQTIDGKKYYFNLNTAEAATGWQTIDGKKYYFNLNTA
EAATGWQTIDGKKYYFNTNTFIAST

【図１】



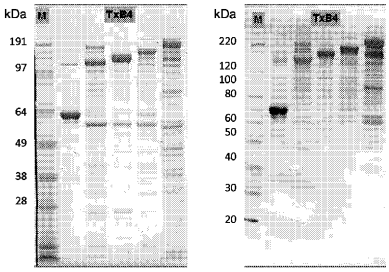
【図２】

Figure 2



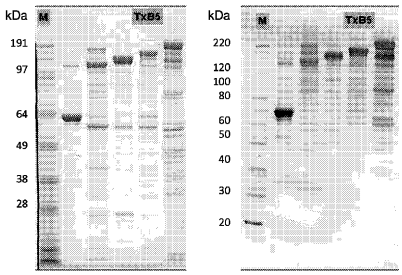
【図３】

Figure 3



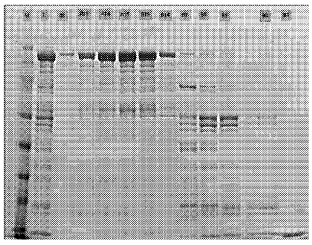
【図４】

Figure 4



【図５】

Figure 5



【配列表】

0006377907000001.app

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI		
A61K	*45/00*	*(2006.01)*	A61K	39/395	D
A61P	*31/04*	*(2006.01)*	A61K	45/00	
C07K	*1/22*	*(2006.01)*	A61P	31/04	
C07K	*16/12*	*(2006.01)*	C07K	1/22	
C07K	*19/00*	*(2006.01)*	C07K	16/12	
C12N	*15/31*	*(2006.01)*	C07K	19/00	
G01N	*33/53*	*(2006.01)*	C12N	15/31	
G01N	*33/531*	*(2006.01)*	G01N	33/53	D
G01N	*33/569*	*(2006.01)*	G01N	33/53	N
			G01N	33/531	A
			G01N	33/569	F

(74)代理人　110001508
特許業務法人　津国
(72)発明者　ショーン，クリフォード
イギリス国、ウィルトシャー　エスピー４　０ジェイジー、ソールズベリー、ポートン・ダウン、ヘルス・プロテクション・エージェンシー
(72)発明者　ロバーツ，エイプリル
イギリス国、ウィルトシャー　エスピー４　０ジェイジー、ソールズベリー、ポートン・ダウン、ヘルス・プロテクション・エージェンシー
(72)発明者　アハーン，ヘレン
イギリス国、ウィルトシャー　エスピー４　０ジェイジー、ソールズベリー、ポートン・ダウン、ヘルス・プロテクション・エージェンシー
(72)発明者　メイナードースミス，マイケル
イギリス国、ウィルトシャー　エスピー４　０ジェイジー、ソールズベリー、ポートン・ダウン、ヘルス・プロテクション・エージェンシー
(72)発明者　ランドン，ジョン
イギリス国、カーマーゼンシャー　エスエイ３８　９ビーエックス、ニューキャッスル・エムリン、ステーション・ロード・インダストリアル・エステート、マイクロファーム・リミテッド

合議体
審判長　大宅　郁治
審判官　中島　庸子
審判官　松浦　安紀子

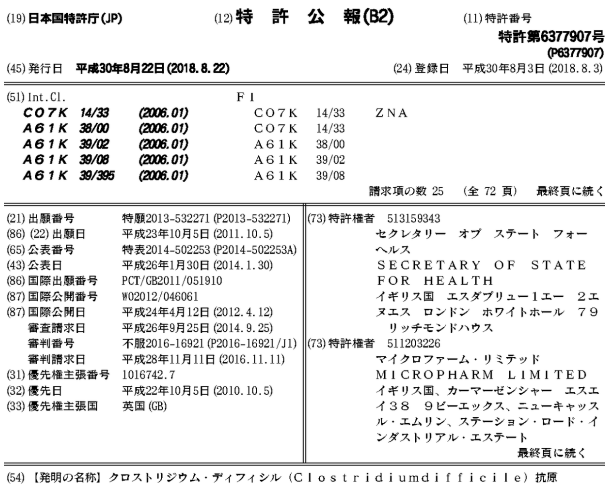
(56)参考文献　特表２００２－５１４８８６号公報（ＪＰ，Ａ）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
IPC　C12N 15/00-15/90
C07K
ＣＡｐｌｕｓ／ＢＩＯＳＩＳ／ＥＭＢＡＳＥ／ＷＰＩＤＳ（ＳＴＮ）
ＰｕｂＭｅｄ
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０／ＪＭＥＤＰｌｕｓ（ＪＤｒｅａｍ３）

专利名称(译)	艰难梭菌（Clostridium difficile）抗原		
公开(公告)号	JP6377907B2	公开(公告)日	2018-08-22
申请号	JP2013532271	申请日	2011-10-05
[标]申请(专利权)人(译)	辛泰森公司 MICROPHARM		
申请(专利权)人(译)	健康保护局 微型农场有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	卫生大臣 微型农场有限公司		
[标]发明人	ショーンクリフォード ロバーツエイプリル アハーンヘレン メイナードスミスマイケル ランドンジョン		
发明人	ショーン,クリフォード ロバーツ,エイプリル アハーン,ヘレン メイナード-スミス,マイケル ランドン,ジョン		
IPC分类号	C07K14/33 A61K38/00 A61K39/02 A61K39/08 A61K39/395 A61K45/00 A61P31/04 C07K1/22 C07K16/12 C07K19/00 C12N15/31 G01N33/53 G01N33/531 G01N33/569		
FI分类号	C07K14/33.ZNA C07K14/33 A61K38/00 A61K39/02 A61K39/08 A61K39/395.D A61K45/00 A61P31/04 C07K1/22 C07K16/12 C07K19/00 C12N15/31 G01N33/53.D G01N33/53.N G01N33/531.A G01N33/569.F		
优先权	2010016742 2010-10-05 GB		
其他公开文献	JP2014502253A JP2014502253A5		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及一种基于一个融合蛋白的重组艰难梭菌抗原包括从所述第一氨基酸序列和第二氨基酸序列，其包含或它：在这种情况下，a）第一氨基酸序列，C艰难梭菌毒素A的序列提供由残基1500的氨基酸序列的残基1851的500-1850的序列的，具有至少80％序列同一性的氨基酸序列或艰难梭菌毒素b;和b）第二氨基酸序列，氨基酸残基1851至2710年中或艰难梭菌毒素A的序列是氨基酸序列至少80％序列同一性，包括位于内的氨基酸残艰难梭菌毒素B的序列的1852至2366年长期重复单元的条件是融合蛋白不是包含艰难梭菌毒素A的氨基酸残基543至2710的多肽，并且条件是融合蛋白蛋白质是，C.随着它不是一个多肽，其包含氨基酸残基543到2366艰难梭菌毒素B的前提条件艰难梭菌感染（CDI）预防/治疗/抗体在原抑制使用，并且用于制备抗原，用于产生结合到所述抗原的抗体的方法，和防止方法CDI /治疗/还提供了使用所述抗体抑制它。



(19) 日本国特許庁(JP)　(12) 特　許　公　報(B2)　(11) 特許番号 特許第6377907号 (P6377907)

(45) 発行日　平成30年8月22日 (2018. 8. 22)　(24) 登録日　平成30年8月3日 (2018. 8. 3)

(51) Int.Cl.		F I		
C07K 14/33	(2006.01)	C07K	14/33	ZNA
A61K 38/00	(2006.01)	C07K	14/33	
A61K 39/02	(2006.01)	A61K	38/00	
A61K 39/08	(2006.01)	A61K	39/02	
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/08	

請求項の数 25　(全 72 頁)　最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2013-532271 (P2013-532271)
(86) (22) 出願日	平成23年10月5日 (2011. 10. 5)
(65) 公表番号	特表2014-502253 (P2014-502253A)
(43) 公表日	平成26年1月30日 (2014. 1. 30)
(86) 国際出願番号	PCT/GB2011/051910
(87) 国際公開番号	WO2012/046061
(87) 国際公開日	平成24年4月12日 (2012. 4. 12)
審査請求日	平成26年9月25日 (2014. 9. 25)
審判番号	不服2016-16921 (P2016-16921/J1)
審判請求日	平成28年11月11日 (2016. 11. 11)
(31) 優先権主張番号	1016742. 7
(32) 優先日	平成22年10月5日 (2010. 10. 5)
(33) 優先権主張国	英国 (GB)

(73) 特許権者　513159343
セクレタリー　オブ　ステート　フォー　ヘルス
SECRETARY OF STATE FOR HEALTH
イギリス国　エスダブリュー1エー　2エヌエス　ロンドン　ホワイトホール　79　リッチモンドハウス

(73) 特許権者　511203226
マイクロファーム・リミテッド
MICROPHARM LIMITED
イギリス国、カーマーゼンシャー　エスエイ38　9ビーエックス、ニューキャッスル・エムリン、ステーション・ロード・インダストリアル・エステート

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】クロストリジウム・ディフィシル（Clostridiumdifficile）抗原