

atarrhalis) の受容体は、鉄結合トランスフェリン (すなわち、フェリトランスリン) に対して、優先的な親和性を有している (リファレンス 29)。この 2 つのカタル球菌 (M. catarrhalis) のトランスフェリン受容体 (TfR) の見かけ分子量は、1 つは 115 kDa (TfR1) であり、もう一方は 80 から 90 kDa (TfR2) である (リファレンス 27)。

#### 【0007】

外膜タンパク質 OMP・B2 (リファレンス 30、31) の分子量は、この TfR2 に近く、さらに、この OMP・B2 の発現は、鉄の存在量により制御されていると報告されている (リファレンス 32)。

#### 【0008】

Yu と Schryvers は、カタル球菌 (M. catarrhalis) 由来のトランスフェリン受容体タンパク質 (TfR1 と TfR2) の精製法、つまり、変性剤であるグアニジン・HCl を使用して、トランスフェリン・セファロース親和性カラムから選択的に溶出させる方法を記載している (リファレンス 29)。

#### 【0009】

この受容体タンパク質の生産的分離方法では、鉄欠乏カタル球菌 (M. catarrhalis) の未精製細胞膜に、EDTA を 20 mM、サルコシル (Sarkosyl) を 0.75% まで添加して溶解させ、その混合物を 20、000 g で 15 分間遠心分離して、碎片を取り除く。その上清に、20 ml の Fe<sub>2</sub>hTf - セファロース (すなわち、鉄飽和ヒト・トランスフェリン) を添加し、攪拌しながら室温で 45 分間インキュベートした。その混合物をカラムに掛け、結合溶液を取り除いた後、樹脂を 250 ml の 50 mM トリス HCl、1 M・NaCl、20 mM・EDTA、0.75% サルコシル (Sarkosyl)、250 mM・グアニジン・HCl を含む緩衝液 (pH 8) で洗浄した。1.5 M のグアニジン・HCl を含む緩衝液 (サルコシルを含まない) を使用して、TfR2 タンパク質を溶出させ、その後、TfR1 タンパク質を、4 M グアニジンを含む緩衝液を使用して溶出させた。その分画を、50 mM トリス HCl (pH 8) に対して、24 時間透析した。

#### 【0010】

この手順を更に改良した方法では、TfR1 と結合させるために、アポ・hTf - セファロースを溶解膜調製物に混合し、その後、この処理を施した溶解膜調製物を、Fe<sub>2</sub>hTf - セファロースに曝して、残っている TfR2 と結合させる。その後、各アフィニティ樹脂を洗浄し、受容体タンパク質を上記ように溶出させた。

#### 【発明の開示】

#### 【発明が解決しようとする課題】

#### 【0011】

カタル球菌 (M. catarrhalis) 感染は重大な疾病に発展する可能性がある。従って、ワクチンを含む免疫原性調製物、その他の抗原ならびに免疫原の担体、診断試薬の生産において、抗原として使用するため、カタル球菌 (M. catarrhalis) 由来の未変性のトランスフェリン受容体タンパク質を提供することには利点がある。

#### 【課題を解決するための手段】

#### 【0012】

##### 発明の概要

本発明の目的は、モラクセラ属カタル球菌 (Moraxella catarrhalis) およびその他のモラクセラ属 (Moraxella) 菌株から分離して精製した、見かけの分子量が約 80 ~ 90 kDa のトランスフェリン受容体タンパク質を提供することである。

#### 【0013】

本発明の態様の 1 つによれば、ドデシル硫酸ナトリウム・ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (SDS - PAGE) により分析した際、見かけの分子量が約 80 ~ 約 90 kDa である、モラクセラ属 (Moraxella) 菌株由来の、分離精製された、未変性トランスフェリン受容体タンパク質 (TfR2)、またはそのフラグメントあるいは類似体が提供される。本発明のトランスフェリン受容体タンパク質は、(該モラクセラ属 (Moraxella) 菌株

10

20

30

40

50