

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-2421
(P2004-2421A)

(43) 公開日 平成16年1月8日(2004.1.8)

(51) Int.Cl.⁷**C07K 14/155**
A61K 39/00
A61P 31/18
// C12N 15/09

F 1

C 07 K 14/155 Z N A
A 61 K 39/00 H
A 61 P 31/18
C 12 N 15/00 A

テーマコード(参考)

4 B 02 4
4 C 08 5
4 H 04 5

審査請求 有 請求項の数 3 O L (全 35 頁)

(21) 出願番号	特願2003-140638 (P2003-140638)	(71) 出願人	594198558 アンスティテュ・パストウール フランス国、75015・パリ、リュ・ド ユ・ドクトゥール・ル、25-28
(22) 出願日	平成15年5月19日(2003.5.19)	(74) 代理人	100062007 弁理士 川口 義雄
(62) 分割の表示	特願平11-99449の分割	(72) 発明者	マルク・アリゾン フランス国、75005・パリ、リュ・ド ユ・カルディナル・ルモワヌ・71
原出願日	昭和63年1月15日(1988.1.15)	(72) 発明者	リュック・モンタニエ フランス国、92350・ル・プレシ・ロ パンソン、リュ・ドウ・マラブリ・21
(31) 優先権主張番号	003764	(72) 発明者	ドウニーズ・ゲタール フランス国、75015・パリ、リュ・ア ンセルム・ペヤン、4・ペー
(32) 優先日	昭和62年1月16日(1987.1.16)		最終頁に続く
(33) 優先権主張国	米国(US)		
(31) 優先権主張番号	8701739		
(32) 優先日	昭和62年2月11日(1987.2.11)		
(33) 優先権主張国	フランス(FR)		
(31) 優先権主張番号	8705398		
(32) 優先日	昭和62年4月15日(1987.4.15)		
(33) 優先権主張国	フランス(FR)		

(54) 【発明の名称】ヒト免疫不全レトロウイルス(ウイルスHIV)に対して誘導された抗体により認識できるペプチド、及び前記ウイルスの或る種に起因する感染の診断、場合によってはエイズに対するワクチ

(57) 【要約】

【課題】ヒト免疫不全ウイルス(HIV)のある種に起因する感染の診断を可能にする。
 【解決手段】ヒト免疫不全ウイルスによってヒト体内で誘導される抗体により認識され得る抗原ペプチド、免疫原性を有するペプチド、特定形態のエイズの潜在性をヒトに関して *in vitro* 診断するための組成物の製造における該ペプチドの使用、ヒトに関する特定形態のエイズの *in vitro* 診断法におけるこれらペプチドのうち特定のものの使用、診断用キットの構成におけるこれらペプチドの使用を提供する。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

HIV-2 のエンベロープタンパク質と共に免疫学的特性を有し、40個以下のアミノ酸残基を有するペプチドであって、

(1) X - - - VTV - YGVP - W - - AT - - LFC A - Z 又は
X V T V - Y G V P - W - - A T Z

[式中、X及びZはOH基もしくはNH₂基を表すか又は、X及びZは1～5個のアミノ酸残基を含む基を表すが、但し得られたペプチドは依然抗体産生を誘導できるものであり、各ダッシュは前述のごときペプチドが下記の配列

CTQYVTVFYGVPTWKNATIPLFCAT

VTVFYGVPTWKNAT

CIQYVTVFYGVPAWRNATIPLFCAT

VTVFYGVPAWRNAT

EKLWVTVYYGVPVWKEATTLCAS

VTVYYGVPVWKEAT

のうちの1つの免疫学的特性を保持できるようにするアミノアシル残基の中から選択したアミノアシル残基に対応する]

(2) X---E---L-NVTE-F---W-NZ 又は

XL-NVTE-FZ

[式中、X及びZはOH基もしくはNH₂基を表すか又は、X及びZは1～5個のアミノ酸残基を含む基を表し、各ダッシュは前述のごときペプチドが下記の配列

DDYQEITL-NVTEAFDAWNN

L-NVTE

DDYSELAL-NVTESFDAWEN

PNPQEVVLVNVTENFNWKN

LVNVTE

のうちの1つの免疫学的特性を保持できるようにするアミノアシル残基の中から選択したアミノアシル残基に対応する]

(3) X---N-S-I---C-Z 又は

XN-S-I-Z

[式中、X及びZはOH基もしくはNH₂基を表すか又は、X及びZは1～5個のアミノ酸残基を含む基を表し、各ダッシュは前述のごときペプチドが下記の配列

NHCNTSVITESCD

NTSVIT

NHCNTSVIQECCD

NTSVIQ

TSCNTSVITQACP

NTSVIT

のうちの1つの免疫学的特性を保持できるようにするアミノアシル残基の中から選択した

10

20

30

40

50

アミノアシル残基に対応する]

(4) X-G-DPE-----NC-GEF-YC-----NZ 又は

XNC-GEF-YC-Z

[式中、X及びZはOH基もしくはNH₂基を表すか又は、X及びZは1～5個のアミノ酸残基を含む基を表すし、各ダッシュは前述のごときペプチドが下記の配列

KGSDPEVAYMWTNCRGEFLYCNMTWFLN

NCRGEFLYCN

GG-DPEVTMWTNCRGEFLYCKMNWFLN

NCRGEFLYCK

-GGDPEIVTHSFNCGGEFFYCNSTQLFN

NCGGEFFYCN

10

のうちの1つの免疫学的特性を保持できるようにするアミノアシル残基の中から選択したアミノアシル残基に対応する]

から成る群より選択される前記ペプチド。

【請求項2】

請求項1に記載の少なくとも1つのペプチドを医薬上許容し得るビヒクルと組合せて含む抗原組成物。

20

【請求項3】

請求項1に記載の少なくとも1つのペプチド又はこのペプチドと担体分子との結合体を、ワクチン製造で用いる医薬上許容し得るビヒクルと組み合わせて含む免疫原組成物。

21

【発明の詳細な説明】

【0001】

本発明は、ヒトの体内で後天的免疫不全症候群（AIDS）に変性し得るリンパ節障害を誘発し得るウイルスから精製状態で得ることのできる抗原と共に通の免疫学的性質、場合によっては免疫原性を有するペプチドに係わる。

22

【0002】

本発明は特定的には、NATUREで規定された命名法に従いHIVと略して呼ばれるウイルスによってヒト体内で誘導される抗体により認識され得る抗原ペプチドに係わる。本発明はまた、免疫原性を有するか又はin vivoで免疫原になり得るペプチドにも係わる。この免疫原性は、ウイルスHIV-2の特徴的抗原を認識し且つ、少なくともこれらペプチドのうちの或るものに関しては、HIV-1に由来する抗原さえも認識する抗体のin vivo誘導という形で現れ得る。

23

【0003】

本発明は更に、特定形態のエイズの潜在性をヒトに関してin vitro診断するための組成物の製造における前記ペプチドの使用にも係わり、且つ前記エイズウイルスのうちの特定のものに関しては、レトロウイルスHIVに対する免疫原組成物及びワクチン組成物の製造における使用にも係わる。

24

【0004】

本発明はまた、免疫原ペプチドもしくは免疫原になったペプチドによりin vivo誘導され得る抗体の前記と同じ目的における使用にも係わり、且つこれら抗体のうちの特定のものに関しては、これらヒトエイズに対する薬剤の有効成分の製造における使用にも係わる。

25

【0005】

本発明は更に、ヒトに関する特定形態のエイズのin vitro診断法におけるこれらペプチドのうちの特定のものの使用と、診断用「キット」の構成におけるこれらペプチドの使用とにも係わる。

26

【0006】

【従来の技術】

L A V - 1 又は H I V - 1 と称する第 1 のレトロウイルスは、既に特許出願 G B . 8 3 / 2 4 . 8 0 0 及び 1 4 / 0 9 / 8 4 付出願 E P . 8 4 / 4 0 1 . 8 3 4 で単離され且つ開示されている。このウイルスはまた、S c i e n c e , 2 2 0 n o . 4 5 - 9 9 , 2 0 , 8 6 8 - 8 7 1 ページで、F . B a r r e S i n o u s s i 他によっても記述されている。

【0007】

L A V E L I 及び L A V M A L と称する前記ウイルス H I V - 1 の変異体も特許出願 E P . 8 4 / 4 0 1 . 8 3 4 で単離され且つ特徴分析されている。

10

【0008】

【発明が解決しようとする課題】

ウイルス H I V - 1 及びその変異体は下記の特性を有する：

- ヒト L e u 3 細胞（又は T 4 リンパ球）及びこれらの細胞から誘導した「無限増殖性（i m m o r t a l i s e e s ）」細胞を好ましいターゲットとする。
- M g ²⁺ イオンの存在を必要とする逆転写酵素活性を有し且つポリ（アデニレート - オリゴ - デオキシチミジラーゼ）
- ポリ（A） - オリゴ（d T）1 2 - 1 8 に対して大きな活性を示す。
- ショ糖勾配で 1 . 1 6 ~ 1 . 1 7 の密度を有する。
- 平均直径が 1 3 9 ナノメートルであり、且つ平均直径 4 1 ナノメートルの核を有する。
- これらウイルスの溶解物（l y s a t ）が H T L V - 1 のタンパク質 p 2 4 と免疫学的に交差反応しないタンパク質 p 2 5 （コアタンパク質）を含む。
- それ自体のエンベロープを構成するタンパク質 p 4 2 を含む。
- 分子量 1 1 0 , 0 0 0 のエンベロープタンパク質 g p 1 1 0 も含む。

【0009】

欧洲特許 N o . 8 7 / 4 0 0 , 1 5 1 , 4 には、別の部類に属し且つ前記レトロウイルスに対してわずかな免疫学的関係しかもたないレトロウイルスの単離及び特徴分析が記載されている。これらのレトロウイルスはまとめて H I V - 2 と称され、リンパ節障害又はエイズの症状を有する複数のアフリカ人患者から単離された。

30

【0010】

H I V - 2 型レトロウイルスは H I V - 1 型レトロウイルスと同様に T 4 ヒトリンパ球に対して指向性を示し、これらリンパ球中で増殖すると細胞変性効果を及ぼし、その結果全身に及ぶ慢性の多発腫瘍又はエイズを引き起こすという特徴を有する。

【0011】

より一般的には、H I V - 2 によって精製されたウイルスは通常下記の特性を有する：

- レトロウイルス H I V - 2 が好むターゲットはヒト L e u 3 細胞（又は T 4 リンパ球）及びこれら T 4 リンパ球から誘導された「無限増殖性」細胞である。
- T 4 ヒトリンパ球に対して細胞毒性を示す。
- M g ²⁺ イオンの存在を必要とする逆転写酵素活性を有し且つポリ（アデニレート - オリゴデオキシチルミジラーゼ）（ポリ（A） - オリゴ（d T） 1 2 - 1 8 ）に対して大きな活性を示す。
- ショ糖勾配で 1 . 1 6 の密度を有する。
- 平均直径が 1 4 0 ナノメートルであり、且つ平均直径 4 1 ナノメートルの核を有する。
- H U T 型の又は T 4 タンパク質を発現する永代細胞系で培養できる。
- T 8 リンパ球に対しては感染性を示さない。
- これらウイルスの溶解物がウイルス H T L V - I 又は H T L V - I I のタンパク質 p 2 4 と免疫学的に交差反応しないタンパク質 p 2 6 を含む。
- これらの溶解物が更に、放射線免疫沈降テストで H T L V - I 又は H T L V - I I の

40

50

タンパク質 p 19 により免疫学的に認識されないタンパク質 p 16 も含む。

- HTLV - I の gp 110 とは免疫学的に交差反応しないが、STLV - I II (サルから単離したウイルス) のエンベロープ糖タンパク質 gp 140 とは免疫学的に交差反応する分子量約 130,000 ~ 140,000 のエンベロープ糖タンパク質も含む。

- これらウイルスの溶解物が更に、分子量 32,000 から 42,000 ~ 45,000 の範囲の^{3,5} S - システインで標識できる抗原も含む。これらの抗原は特に分子量約 36,000 の抗原と分子量約 42,000 の抗原とを含み、これら抗原 (p 36 及び p 42) の一方がウイルス HIV - 2 のトランスメンブラン糖タンパク質を構成すると考えられる。

- HIV - 2 のゲノム RNA が緊縮条件下で HIV - 1 のゲノム RNA とハイブリダイズしない。 10

- 非緊縮条件下で HIV - 2 のゲノム RNA が HIV - 1 の env 遺伝子及びその隣のLTR とも、HIV - 1 のゲノムの pol 領域の配列ともハイブリダイズしない。

- 非緊縮条件下で、HIV - 1 領域のヌクレオチド配列と僅かにハイブリダイズする。

【0012】

以前は STLV - I II という呼称で知られており、現在は SIV - 1 と称する別のレトロウイルスは、アカゲザル (single macaque rhesus) から単離された (M. D. Daniel 他, Science 228, 1201 (1985)、N. L. Letwin 他, Science 230, 71 (1985)、“STLV - I I mac” という呼称で)。 20

【0013】

野性ミドリザルからは更に別の “STLV - I II AGM” (又は SIV AGM) と称するレトロウイルスが単離された。しかしながらアカゲザルの体内に存在する前記ウイルスと異なり、“STLV - I II AGM” の存在はアフリカミドリザルの体内でエイズタイプの病気を誘発することないと推測される。

【0014】

1986年2月7日にはレトロウイルス SIV - 1 mac の株が番号 I - 521 で CNC M に寄託された。研究の結果レトロウイルス SIV - 1 は、HIV - 2 から類似の条件で単離できる構造タンパク質又は糖タンパク質に対して或る程度の免疫学的関係を有する或る種のタンパク質を含むことが判明した。このレトロウイルス SIV - 1 はサル体内で感染性を示すことが判明しており、これを単離した研究者等によって STLV - I II と命名された (前出の文献参照)。 30

【0015】

便宜上、これらのウイルスは以下の説明では SIV (英語の “Simian Immuno deficiency Virus” (サルの免疫不全ウイルス) の略字) と称し、場合によってはその後に由来となるサルの種類を示す略字、例えばアカゲザルであれば MAC (又は mac) 、アフリカミドリザルであれば AGM (“African Green Monkey” の略字) を付加して示すこととする。

【0016】

前述の方法と同じ方法を使用して調べたところ、SIV - 1 mac からは下記のタンパク質も得られることが判明した： 40

- 分子量約 27 キロダルトンの主要核タンパク質 p 27。
- エンベロープの主糖タンパク質 gp 140。
- トランスメンブランと思われるタンパク質 p 32。このタンパク質は、ウイルスを予め 35 S - システインで標識しておくと RIPA では殆ど観察されないが、ウェスター法では広い帯の形態で観察され得る。

【0017】

【発明を解決するための手段】

前述のウイルス HIV - 2 及び SIV を更に深く研究した。その結果レトロウイルス HIV - 2 に関しては、該レトロウイルスのゲノムの RNA の相補 DNA (cDNA) 配列も 50

得ることができた。HIV-2 グループの代表的レトロウイルス (HIV-2 ROD) の cDNA の完全ヌクレオチド配列を 1986 年 2 月 21 日に番号 I - 522、名称 LAV-1 ROD で CNCM に寄託した。

【0018】

このヌクレオチド配列とその中に含まれる読み取り枠 (phases de lecture ouverte) とを図 1A に示す。

【0019】

また、別のレトロウイルスに関しては、これらレトロウイルスの完全ヌクレオチド配列も得ることができた。特に SIV のゲノム RNA から誘導した cDNA についてこれが得られた。ウイルス SIV-1mac のヌクレオチド配列を解明するに必要な該ウイルスのクローニング及び配列決定は下記の条件で実施した：

ウイルス SIV (Daniel 他により Science (1985), 228, p. 1201-1204 に記載の単離体 STLV-1 IIMac 142-83) に感染した細胞 HUT 78 の DNA を制限酵素 Sau3A で部分的に消化したものをバクテリオファージベクター Lambda E LBL3 の BamHI 位にクローニングしてゲノムライブラリー (banque génomique) を構成した。このようにして形成したゲノムライブラリーの 2 百万個の組換えファージを、クローン Lambda-ROD4、Lambda-ROD35 及び E2 (Clavel 他 (1986), Nature, 324, p. 691) に由来するウイルス HIV-2 の配列を用いて、安全性 P3 条件の下にその場でスクリーニングし、ニックトランスレーションにかけた。

【0020】

50 の 5 × SSC でハイブリダイゼーションを行い、50 の 2 × SSC で洗浄した。ウイルス配列を全部含むクローンが 1 つだけ得られた。このクローンは Lambda-SIV-1 と称する。このファージ Lambda-SIV-1 の挿入体は全体で 16.5 kb の大きさを有し、左方LTR の最初の 250 個の塩基が欠失しているだけで右方LTR は完全である組込みプロウイルスを含む。

【0021】

この組込みプロウイルスを、ファージ M13mp8 におけるランダムフラグメントのサブクローニングの後でジデオキシヌクレオチド法により配列決定した。300 個のサブクローンが解析された。

【0022】

プラスミド pSIV-1.1 及び pSIV-1.2 に挿入したクローン Lambda-SIV-1 に由来する cDNA フラグメントを、1987 年 4 月 15 日に番号 I - 658 (pSIV-1.1) 及び I - 659 (pSIV-1.2) で CNCM に寄託した。

【0023】

結果を添付図面に示した。

【0024】

これらの図面のうち、図 1B は SIV のウイルスゲノムのヌクレオチド配列と、遺伝子生成物 gag、pol、env、Q、X、R、tat、art、F に対応するウイルスタンパク質に関して前記ヌクレオチド配列から誘導した配列とを示している。

【0025】

図 3 から図 11 及び図 1C は、ウイルス遺伝子及びLTR の理論的生成物を HIV-2 と SIVmac との間で比較している (SIV-1)。

【0026】

本発明は、SIV-1 の完全ゲノムに由来する cDNA から得られる cDNA フラグメントにも係わる。これらのフラグメントは、cDNA の完全配列に由来し且つ本発明の有利なペプチドをコードする 1 つ以上の配列を含む。これらの配列は図 1B に示し、該ウイルスの LTR 配列に関するものは図 1C に示した。

【0027】

LTR 配列 (図 1C) に関しては、SIV の cDNA のヌクレオチド配列をウイルス HIV

10

20

30

40

50

V - 2 R O D のヌクレオチド配列に対応させて配置した。図 1 B を図 3 から図 11 までと対比させるとゲノム全体に関して得られるこの対応状態によって、これら 2 つのウイルスに共通の基本的構造エレメントを有するヌクレオチド配列の位置付け又は演繹が可能になる。

【 0 0 2 8 】

本発明は勿論、S I V に由来する c D N A 及びそのフラグメント（又はそれらを含む組換体）を、ウイルス H I V - 2 保菌者の疑いのある患者から得た血清又はその他の生物学的液体もしくは組織の試料中にウイルス H I V - 2 が存在するか否かを診断する場合のプローブとして使用することにも係わる。これらのプローブは標識するのが好ましい（放射性標識、酵素標識、蛍光標識、等）。ウイルス H I V - 2 又は H I V - 2 変異体の診断で使用するのに特に適したプローブは、ウイルス S I V のゲノムの相補 c D N A の全体もしくは一部分を含むか、又は特に種々のクローンに含まれる組換えフラグメントを含むことを特徴とし得る。

【 0 0 2 9 】

ウイルス H I V - 2 の診断法及び診断キットで使用されるプローブは前述のプローブには限定されない。エイズの疑いのある個体の生物学的流体中で H I V - 2 又はこれに類似したウイルスに対する抗体を検出できるものであれば、ウイルス S I V 、 S I V 変異体又はこれらと類似の構造をもつウイルスに由来する総てのヌクレオチド配列をこの種のプローブとして使用し得る。

【 0 0 3 0 】

前記検出はそれ自体公知の任意の方法で実施し得る。一例として、前記プローブを血清又はその他の生物学的流体、例えば髄液、唾液等の中に含まれる細胞から得た核酸と接触させてもよい。あるいは、前述のごとき生物学的流体中の核酸がこれらプローブとハイブリダイズできるような状態になっていれば、これらプローブと核酸との間のハイブリダイゼーションを生起させる条件の下に、前記プローブを前記流体自体と接触させる方法も使用し得る。この場合には、ハイブリダイゼーションが生起したか否かの検出が in vitro 診断の最終ステップとなる。ハイブリダイゼーション反応を利用する前記診断は、所期のウイルスのタイプを区別する必要がない場合には、夫々 H I V - 2 及び S I V - 1 又は H I V - 1 、 H I V - 2 及び S I V に由来する複数のプローブの混合物を用いて実施することもできる。

【 0 0 3 1 】

一般的には、ウイルス H I V - 2 保菌者の疑いのある患者から得た血清又は他の生物学的液体もしくは組織の試料中にウイルス H I V - 2 又はその変異体が存在するか否かを診断する方法は、下記の諸ステップからなる：

1 / 疑いのある患者から採取した試料中の細胞の D N A を、適当な膜上で標識を付けた前記プローブの 1 つと接触させることにより、緊縮条件下で少なくとも 1 回のハイブリダイゼーションを行う。

【 0 0 3 2 】

2 / 前記ハイブリダイゼーションの緊縮条件を保持できる溶液で前記膜を洗浄する。

【 0 0 3 3 】

3 / 免疫検出法でウイルス H I V - 2 の存在を検出する。

【 0 0 3 4 】

本発明の方法の別の好ましい実施態様では、前記ハイブリダイゼーションを非緊縮条件で実施し、且つ前記膜の洗浄を該ハイブリダイゼーション条件に適合した条件で行う。

【 0 0 3 5 】

本発明は勿論、S I V 変異体の類似領域に位置した配列に対応する核酸、並びに遺伝子コードの縮重による修飾を利用することによって得られる総ての核酸に係わる。

【 0 0 3 6 】

前出の欧州特許 87 / 400 , 151 , 4 には、以後 “ g a g タンパク質 ” と称するコアタンパク質、及び以後 “ e n v タンパク質 ” と称するエンベロープタンパク質の解明にも

10

20

30

40

50

つながった比較研究も記載されている。この研究の結果によれば、HIV-2のコアタンパク質(gagタンパク質)はHIV-1のコアタンパク質に対してエンベロープタンパク質(envタンパク質)より小さい差を示す。全体的に言えば、HIV-2のenvタンパク質はウイルスHIV-1の対応envタンパク質に対する免疫学的関係が無いとはいわないまでも極めて薄い。

【0037】

これに対し、ウイルスHIV-2及びSIVのcDNA配列構造の比較検査では、タンパク質レベルに現れる或る共通の特徴が明らかになった。

【0038】

全体的に言えば、HIV-2及びSIV-1のタンパク質には大きな免疫学的関係が存在する。 10

【0039】

HIV-2のエンベロープの主糖タンパク質は、免疫学的には、HIV-1のエンベロープの主糖タンパク質よりもSIVのエンベロープの主糖タンパク質の方に近いことが判明した。

【0040】

これは分子量レベル、即ちHIV-2及びSIVの主糖タンパク質が130～140キロダルトンであるのに対しHIV-1の主糖タンパク質が約110キロダルトンであるという点だけにとどまらず、免疫学的特性についても言えることである。というのも、HIV-2に感染した患者から採取した血清、より特定的にはHIV-2のgp140に対して形成された抗体はSIV-1macのgp140を認識するが、これと同じ血清及び同じHIV-2抗体が類似のテストでHIV-1のgp110を認識することはないからである。HIV-2のgp140と反応しなかった抗HIV-1血清はHIV-2抽出物の中に含まれる35S-システインで標識された分子量26キロダルトンのタンパク質を沈降させる。 20

【0041】

HIV-2の主コアタンパク質は、HIV-1のp25とSIVのp27との中間の平均分子量(約26,000)を有すると思われる。

【0042】

これらの所見は、前述のごとき患者の1人から単離したHIV-2から得たウイルス抽出物について行ったテストの結果に基づくものである。第2の患者から単離したHIV-2のウイルス抽出物に関しても同様の結果が得られた。 30

【0043】

研究を更に進めた結果、本発明者等はHIV-2又はSIV、更にはHIV-1のタンパク質gag及びenvの構造内に含まれる配列と同じか又は類似のアミノ酸配列をもつ第1のペプチドグループを発見するに至った。これらのペプチドは特に、ウイルスHIV-2又はその変異体の1つによるヒトの感染の診断に使用できる。

【0044】

そこで本発明は、より特定的にはウイルスHIV-2に感染した患者の生物学的試料、特に血清中のウイルスHIV-2又はその変異体に対する抗体のin vitro検出を行うための診断方法及び診断組成物にも係わる。これらペプチドのうちの或るものは、ウイルスHIV-2による感染とウイルスHIV-1による感染との相違をより明確に示してくれる。 40

【0045】

このような研究の推進の結果、HIV-1及びHIV-2の両者のenvタンパク質を認識し得る抗体の産生をin vivoで誘導することができるような構造的特徴を有する免疫原ペプチド又は免疫原になり得るペプチドの合成も可能になった。これらのペプチドの少なくとも一部分は、ウイルスHIV-1にもウイルスHIV-2にも結合して主にこれらウイルスの中和をより特定的に行うことができるような構造的特徴も有する。このようなタイプのペプチドは特にウイルスHIVに対するワクチン、従ってエイズに対するワ 50

クチンの有効成分の製造に使用すると有利であるといえる。

【0046】

【発明の実施の形態】

以後、本発明のペプチドの構造に含まれるアミノ酸残基は、一義的意味を有するアミノ酸残基に関しては下記の表に示すように单一文字（大文字）で各天然アミノ酸を示す国際命名法を用いて表すことにする。

M	メチオニン	10
L	ロイシン	
I	イソロイシン	
V	バリン	
F	フェニルアラニン	
S	セリン	
P	プロリン	
T	スレオニン	
A	アラニン	
Y	チロシン	
H	ヒスチジン	
Q	グルタミン	
N	アスパラギン	
K	リジン	20
D	アスパラギン酸	
E	グルタミン酸	
C	システイン	
W	トリプトファン	
R	アルギニン	
G	グリシン	

所定タンパク質の特徴的アミノ酸鎖中の位置に起因して複数の意味を有し得るアミノ酸は、その意味が重要でなければ（どのアミノ酸でもよければ）「-」で示し、そのアミノ酸が1つより多い限定数の好ましい意味を有する場合には小文字で示し得る。この場合には、その小文字が表し得る意味はそのアミノ酸が属するペプチドに対して必ず正確に定義される。

【0047】

説明の便宜上これらのペプチドは、場合に応じて特定のHIV-1、HIV-2又はSIVのenvもしくはgagタンパク質に含まれるアミノ酸配列に関する数字を後に付加した略字env又はgagで表すことにする。

【0048】

また、下記の式では、

- 基Xは遊離NH₂基、もしくは特に炭素原子を1~5個含む1つ又は2つのアルキル基によってアミド化されたNH₂基を表すか、又はアミノ酸を1~5個含み、そのN末端アミノ酸自体が前述のごとき遊離もしくはアミド化NH₂基を有するようなペプチド基を表し、

- 基Zは遊離-OH基、もしくは1~5個の炭素原子含むアルキル基を有するアルコキシルを表すか、又はアミノ酸を1~5個含み、そのC末端アミノ酸自体が前述のごとき遊離-OH基もしくはアルコキシルを有するようなペプチド基を表す。この場合XもしくはZ又はその両方に含まれる1~5個のアミノ酸を有する基は、その存在がこれらを含まないペプチドの免疫学的特性、場合によっては免疫原性の保持と基本的に両立するような基である。

【0049】

本発明のペプチドはHIV-2の抗原と共に免疫学的特性を有し、これらペプチドのうちのあるものはHIV-1もしくはその変異体の抗原とも共通の免疫学的特性を有する。

10

20

30

40

50

これら本発明のペプチドの特徴は、SIVの抗原と共通のペプチド構造も有することにある。これらのペプチドは通常40個以下のアミノ酸残基を含むと有利である。

【0050】

以下に好ましいペプチドを挙げる。

e n v 1

X R V - A I E K Y L - D Q A - L N - W G C A F R Q V C Z

e n v 2

X - L E - A Q I - Q Q E K N M Y E L Q K L N Z

e n v 3

X E L G D Y K L V E I T P I G - A P T - - K R - - - - Z

10

e n v 4

X - - - - V T V - Y G V P - W K - A T - - L F C A - Z

e n v 5

X - - - Q E - - L - N V T E - F - - W - N Z

e n v 6

X L - - - S - K P C V K L T P L C V - - Z

e n v 7

X - - - N - S - I T - - C - K - - - - Z

e n v 8

X - I - - - Y C - P - G - A - L - C - N - T Z

20

e n v 9

X - - - - - A - C - - - - - W - - Z

e n v 10

X - G - D P E - - - - - N C - G E F - Y C N - - - - N Z

e n v 11

X - - - - - C - I K Q - I - - - - - G - - - Y Z

本発明はより特定的には下記のペプチドに係わる。

e n v 1

X R V - A I E K Y L - D Q A - L N - W G C A F R Q V C Z

30

e n v 2

X - L E - A Q I Q Q E K N M Y E L Q K L N Z

e n v 3

X E L G D Y K L V E I T P I G - A P T - - K R - - - - Z

e n v 4

X - - - - V T V - Y G V P - W - - A T - - L F C A - Z

e n v 5

X - - - E - - L - N V T E - F - - W - N Z

e n v 6

X L - - - S - K P C V K L - P L C - - - Z

40

e n v 7

X - - - N - S - I - - - C - K - - - - Z

e n v 8

X - I - - - Y C - P - G - A - L - C - N - T Z

e n v 9

X - - - - - A - C - - - - - W - - Z

e n v 10

X - G - D P E - - - - - N C - G E F - Y C - - - - - N Z

e n v 11

X - - - - - C - I - Q - I - - - - - G - - - Y Z

前記ペプチドに対応する有利なペプチドは下記の構造を有する。

50

e n v 1

X R V T A I E K Y L Q D Q A R L N S W G C A F R Q V C Z、又は

X R V T A I E K Y L K D Q A Q L N A W G C A F R Q V C Z

e n v 2

X S L E Q A Q I Q Q E K N M Y E L Q K L N S W Z、又は

X L L E E A Q I Q Q E K N M Y E L Q K L N S W Z

e n v 3

X E L G D Y K L V E I T P I G F A P T K E K R Y S S A H Z、又は

X E L G D Y K L V E I T P I G L A P T N V K R Y T T G - Z

(これから明らかなように、ペプチド e n v 1、e n v 2、e n v 3 は

H I V - 2 と S I V - 1 との間の極めて大きい免疫学的関係を証明している。実際、第 1 番目のペプチドは H I V - 2 ゲノムに含まれ、第 2 番目のペプチドは S I V - 1 に含まれる)。

10

e n v 4

X a b c d V T V e Y G V P f W o g A T h i L F C A j Z

a から j までの文字は下記の意味を有し得る：

a は C、E 又は D

b は T、K、D、N 又は I

c は Q 又は L

d は Y 又は W

e は F 又は Y

f は T、V 又は A

g は N 又は E

h は I 又は T

i は P 又は T

j は T 又は S

o は K 又は R

20

e n v 5

X a b c o E d e L f N V T E g F h i W j N Z

a から j までの文字は下記の意味を有し得る：

30

a は D 又は P

b は D 又は N

c は Y 又は P

d は I、V、I 又は L

e は T、V、E 又は A

f は V、G 又は E 又は -

g は A、N、G 又は S

h は D 又是 N

i は A 又是 M

j は N、K 又是 E

40

o は Q 又是 S

e n v 6

X L a b c S d K P C V K L o P L C u e f K Z

a から f までの文字は下記の意味を有し得る：

a は F 又是 W

b は E 又是 D

c は T 又是 Q

d は I 又是 L

e は A、S 又是 T

f は M 又是 L

50

o は T 又は S

u は V 又は I

e n v 7

X a b C N x S y I o c d C e K f g h i Z

文字 a から i 並びに x 及び y は下記の意味を有し得る :

a は N 又は T 又は I

b は H 又は S 又は N

c は E 又は Q

d は S 、 A 又は C

e は D 又は P

f は H 、 V 又は D

g は Y 又は S

h は W 又は F

i は D 又は E

x は T 又は R

y は V 又は A

o は T 又は Q

e n v 8

X a I b c d Y C x P e G f A g L h C i N j T Z

文字 a から k 並びに x は下記の意味を有し得る :

a は A 又は P

b は R 又は P

c は F 、 I 又は C

d は R 又は H

e は P 又は A

f は Y 又は F

g は L 又は I

h は R 又は K

i は - 又は N

j は D 又は K

x は A 又は T

e n v 9

X w a b c x y A d C e f g h i z W j k Z

文字 a から k 並びに x から z は下記の意味を有し得る :

a は K 又は - 又は E

b は R 又は -

c は P 又は M 又は I

d は W 又は H 又は Y

e は W 又は N 又は T 又は R

f は F 又是 I

g は K 又是 S 又是 N 又是 G

h は G 又是 R 又是 E

i は - 又是 A 又是 T

j は K 又是 N 又是 D 又是 S

k は D 又是 A 又是 N 又是 K 又是 E

w は N 、 D 又是 I

x は R 又是 G 又是 K

y は Q 又是 K 又是 R

z は K 又是 E 又是 Q 又是 N

e n v 1 0

10

20

30

40

50

X a G b D P E c d e f g h N C i G E F j Y C o k x l m n N Z

文字 a から n 並びに x は下記の意味を有し得る：

a は K 又は - 又は G

b は S 又は G 又は -

c は V 又は I

d は A 又は V 又は T

e は Y 又は T 又は M 又は F

f は M 又は H

g は W 又は S

h は T 又は F

i は R 又は G

j は L 又は F

o は N 又は K

k は M 又は S

l は W 又は Q 又は K 又は G

m は F 又は L

n は L 又は F

x は T 又は S 又は N

e n v 1 1

X a b c d w C e I o Q f I x g y h i z G j k l Y Z

文字 a から l 並びに w から z は下記の意味を有し得る：

a は R 又は T 又は S 又は N

b は N 又は I

c は Y 又は T

d は A 又は L 又是 V

e は H 又是 R

f は I 又是 F

g は T 又是 M

h は H 又是 Q 又是 A

i は K 又是 E

j は R 又是 K

k は N 又是 A

l は V 又是 M

w は P 又是 Q

x は N 又是 K

y は W 又是 V

z は V 又是 T 又是 K

o は K 又是 R

遺伝子 g a g によりコードされ且つ g a g 1 で表される抗原ペプチドの構造も以下に示す

：

X D C K L V L K G L G a N P T L E E M L T A Z

文字 a は M 又は T を意味する。

【 0 0 5 1 】

一般的には、本発明のペプチドの前記式中に存在する単一の意味をもつ（従って国際命名法に対応する大文字で表される）アミノ酸は、H I V 又は S I V - 1 のうち少なくとも一方の e n v 又は g a g タンパク質の対応 e n v 又は g a g 配列中に同じ順序で配列された同一のアミノ酸に対応することが知見されよう。

【 0 0 5 2 】

これらの配列の位置は、図 2 に示した H I V - 2 R O D (C N C M N o . I - 5 3 2) 及び H I V - 1 B R U (C N C M N o . I - 2 3 2) 夫々の e n v タンパク質のアミ

10

20

30

40

50

ノ酸配列中で下線によって明示されている。

S I V - 1 m a c (C N C M N o . I . 5 2 1) 及び H I V - 2 R O D 夫々の e n v 及び g a g タンパク質のアミノ酸配列は図 3 及び図 4 に示した。これらの配列の特定位置に出現する実線は、H I V - 1 及び

H I V - 2 の対応タンパク質配列並びに S I V 及び H I V - 2 の対応タンパク質配列において互いに同じアミノ酸（その場合は星印がつく）又は 2 つの点を同一鉛直線上に配置できるように、これらの配列に含まれる特定アミノ酸を図面から故意に除去したことを示すためのものである。

【 0 0 5 3 】

本発明は前述のペプチドの他に、これらペプチドの抗原性又は免疫原性を変化させない範囲で、且つこれらのペプチドによる抗原又は抗体の認識の特性を実質的に変化させない範囲で、1 つ以上のアミノ酸の挿入及び / 又は欠失及び / 又は置換によって修飾したペプチドにも係わる。

【 0 0 5 4 】

特に好ましい具体例として、本発明は H I V - 2 型ウイルスのエンベロープ糖タンパク質のペプチド構造と共に免疫学的特性を有するペプチドに係わる。これらのペプチドは 40 個以下の個数のアミノ酸残基を含む。

【 0 0 5 5 】

本発明のこれらの好ましいペプチドは下記の配列を有する：

env1

RVTAIEKYLQDQARLNSWGCAFRQVC

AIEKYLQDQ

RVSAIEKYLKDQAQLNAWGCAFRQVC

AIEKYLKDQ

env2

SLEQAQIQQEKNMYELQKLNSW

QIQQEKN

LLEEAQIQQEKNMYELQKLNSW

env3

ELGDYKLVEITPIGFAPTEKRYSSAH

YKLVEITPIGFAPTEK

ELGDYKLVEITPIGLAPTNVKRYTTG-

YKLVEITPIGLAPTNVK

env4

CTQYVTVFYGVPTWKNATIPLFCAT

VTVFYGVPTWKNAT

C1QYVTVFYGVPAWRNATIPLFCAT

VTVFYGVPAWRNAT

EKLWVTVYYGVPVWKEATTLFCAS

VTVYYGVPVWKEAT

EDLWVTVYYGVPVWKEATTLFCAS

VTVYYGVPVWKEAT

DNLWVTVYYGVPVWKEATTLFCAS

VTVYYGVPVWKEAT

env5

DDYQEITL-NVTEAFDAWNN

L-NVTEAF

DDYSELAL-NVTESFDAWEN

10

20

30

40

L-NVTESF

PNPQEVVLVNVTENFNMWKN

 LVNVTENF

PNPQEIELENVTEGFNMWKN

 LENVTEGF

PNPQEIALENVTENFNMWKN

 LENVTENF

10

env6

ETSIKPCVKLTPLCVAMK

ETSIKPCVKLSPLCITMR

DQSLKPCVKLTPLCVSLK

DQSLKPCVKLTPLCVTLN

 PCVKLTPLCV

env7

20

NHCNTSVITESCD

 NTSVIT

NHCNTSVIQECCD

 NTSVIQ

TSCNTSVITQACP

 NTSVIT

INCNTSVITQACP

30

 NTSVIT

INCNTSAITQACP

 NTSAIT

env8

YCAPPGYALLRC-NDT

YCAPAGFAILKCNNKT

YCAPAGFAILKCNDKK

YCAPAGFAILKCRDKK

40

env9

NKRPRQAWCWFKG-KWKD

NERPKQAWCRFGG-NWKE

N-MRQAHCNISRACKNA

D-IIRRAYCTINETEWDK

I-IGQAHCNISRQWSK

env10

KGSDPEVAYMWTNCRGEFLYCNMTWFLN

NCRGEFLYCN

GG-DPEVTFMWTNCRGEFLYCKMNWFLN

NCRGEFLYCK

-GGDPEIVTHSFNCGGEFFYCNSTQLFN

NCGGEFFYCN

-GGDPEITTHSFNCRGEFFYCNTSKLFN

NCRGEFFYCN

-GGDPEITTHSFNCGGEFFYCNTSGLFN

NCGGEFFYCN

env11

RNYAPCHIKQIINTWHKVGRNVY

CHIKQII

RNYVPCHIRQIINTWHKVGRNVY

CHIRQII

TITLPCRIKQFINMWQEVGKAMY

CRIKQFI

SITLPCRIKQIINMWQKTCKAMY

CRIKQII

NITLQCRIKQIIMVAGR-KAIY

CRIKQII

gag1

DCKLVLKGLGTNPTLEEMLT

本発明のペプチドは更に有利になることに、ペプチド合成分野で一般に使用されている方法によって製造することができる。この合成は、均質溶液中又は固相上で実施し得る。

【0056】

一例として、E. Wunsch 編 "Methoden der Organischen Chemie (有機化学の方法)" , Vol. 15-I 及び II. , THIEME 50

, Stuttgart 1974 で HOUVENHWEYL により記載されている均質溶液中合成法を使用してもよい。

【0057】

この合成法は、連続したアミノ酸を2つずつ所定の順序で逐次縮合させるか、又はアミノ酸と予め形成されており既に複数のアミノ酸を含んでいるフラグメントとを適切な順序で縮合させるか、又は前述のごとく予め形成した複数のフラグメントを縮合させることからなる。勿論、これらのアミノ酸又はフラグメントが有する反応基は、特にカルボキシル基の活性化の後でペプチド結合に通常使用されることになる前記成分の一方のアミノ基及び他の成分のカルボキシル基を除いて、ペプチド合成でよく知られている方法により予め総て保護しておく必要がある。別 の方法として、カルボジイミド型の一般的結合試薬、例えば1-エチル-3-(3-ジメチル-アミノプロピル)-カルボジイミドを用いる結合反応を使用することもできる。使用するアミノアシルが更に別の酸官能基を有する場合(特にグルタミン酸の場合)には、これらの官能基を例えばt-ブスチルエステルで保護する。

【0058】

アミノ酸を1つずつ結合させていく漸進的合成法では、先ずC末端アミノ酸を所望配列中の近隣アミノアシルに対応するアミノ酸と縮合させることによって合成を開始し、これをN末端アミノ酸まで順次繰り返すようとするが好ましい。本発明の別の好ましい方法では、"Solid phase peptide synthesis" (J. Am. Soc., 45, 2149-2154)と題する論文でR.D.MERRIFIELDによって開示されている方法を使用する。

【0059】

MERRIFIELDの方法でペプチド鎖を形成するには、多孔率の極めて高いポリマー樹脂を使用し、これに当該鎖の第1のC末端アミノ酸を固定する。このアミノ酸はそのカルボキシル基を介して前記樹脂に固定し、そのアミン官能基は例えばt-ブチルオキシカルボニル基で保護する。

【0060】

このようにして第1のC末端アミノ酸を樹脂に固定したら、この樹脂を酸で洗浄して前記アミン官能基の保護基を除去する。

【0061】

アミン官能基の保護基がt-ブチルオキシカルボニル基の場合には、前記樹脂をトリフルオロ酢酸で洗浄することによって該保護基を除去し得る。

【0062】

次いで、C末端アミノアシル残基から数えて所期の配列の第2アミノアシルを供給する第2のアミノ酸を、当該鎖に固定した第1C末端アミノ酸の脱保護アミン官能基に結合させる。好ましくは、この第2アミノ酸のカルボキシル官能基を例えばジシクロヘキシルカルボジイミドによって活性化し且つアミン官能基を例えばt-ブチルオキシカルボニルで保護する。

【0063】

このようにして、アミノ酸を2つ含み且つその末端アミン官能基が保護された所期のペプチド鎖の第1部分が得られる。次いで、前記アミン官能基の脱保護を前述のごとく行い、第3のアミノアシルの固定を第2番目のC末端アミノ酸の付加の場合と類似の条件で実施し得る。

【0064】

このようにして、ペプチド鎖を構成することになるアミノ酸を、既に形成され且つ樹脂に固定されたペプチド鎖部分にあってその都度予め脱保護されたアミン基に次々に結合させていく。

【0065】

所望のペプチド鎖が完成したら、このペプチド鎖を構成する種々のアミノ酸の保護基を除去し、例えばフッ化水素酸によって樹脂からペプチドを離脱させる。

【 0 0 6 6 】

本発明は、前述のごときペプチドモノマーの水溶性オリゴマーにも係わる。このオリゴマー化は本発明のペプチドモノマーの免疫原性を増加させ得る。これらのオリゴマーはモノマー単位を例えれば2~10個含み得るが、この個数は限定的なものではない。

【 0 0 6 7 】

このオリゴマーに含まれるモノマー単位は総てが配列1のポリペプチドもしくは配列2のポリペプチドのみで構成されるか、又はこれらポリペプチドの双方によって構成される。

【 0 0 6 8 】

このオリゴマー化の実施には、ペプチド分野で通常使用されている任意の重合法を使用し得る。この重合は、所望の免疫原性を得るのに必要な数のモノマー単位を含むオリゴマー又はポリマーが得られるまで続ける。 10

【 0 0 6 9 】

このモノマーのオリゴマー化又は重合は、1つの方法として、該モノマーと架橋剤、例えばグルタルアルデヒドとを反応させることにより実施し得る。

【 0 0 7 0 】

その他、例えば、ホモ二官能性又はヘテロ二官能性結合剤の存在下でモノマー単位をそのカルボキシル末端基及びアミン末端基を介して逐次結合させることからなる別のオリゴマー化又は結合方法を使用することもできる。

【 0 0 7 1 】

また、前述のごときアミノ酸を17個含む単位を1つ以上有する分子を製造する場合には20、適当な対応ヌクレオチド配列を含む所定の核酸によって形質転換した微生物を用いる遺伝子工学技術を使用し得る。

【 0 0 7 2 】

本発明は、ウイルスHIV-2 RODのcDNA配列に由来する配列を1つ以上含む核酸にも係わる。これらの配列は前述の配列で使用した番号付けによって示され、本発明の有利な特定ペプチドをコードする。

<u>e n v 1</u> をコードする配列	ヌクレオチド	7 8 5 0 ~ 7 9 2 7
<u>e n v 2</u> "	"	8 0 3 0 ~ 8 0 9 5
<u>e n v 3</u> "	"	7 6 0 1 ~ 7 6 3 6
<u>e n v 4</u> "	"	6 1 7 0 ~ 6 2 4 7
<u>e n v 5</u> "	"	6 2 9 4 ~ 6 3 4 9
<u>e n v 6</u> "	"	6 3 9 2 ~ 6 4 4 5
<u>e n v 7</u> "	"	6 7 2 4 ~ 6 7 6 3
<u>e n v 8</u> "	"	6 7 9 4 ~ 6 8 3 8
<u>e n v 9</u> "	"	7 1 1 2 ~ 7 1 6 2
<u>e n v 1 0</u> "	"	7 2 5 3 ~ 7 3 3 6
<u>e n v 1 1</u> "	"	7 3 5 8 ~ 7 4 2 6
<u>g a g 1</u> "	"	1 5 3 5 ~ 1 5 9 7

本発明はまた、ウイルスSIVに対応する核酸にも係わる。これらの核酸はウイルスSIV-1のcDNAに由来する配列を1つ以上含む。ペプチドe n v 1~e n v 1 1とg a g 1とをコードするこれらの配列は、HIV-2に関して説明した対応配列との比較によって図3で位置決定し得る。 40

【 0 0 7 3 】

勿論、本発明はHIV-2 ROD又はSIVの変異体から誘導されたcDNAの類似領域に配置された配列に対応する核酸、並びに遺伝子コードの縮重を利用することによる前記核酸の修飾によって得られるような核酸にも係わる。

【 0 0 7 4 】

本発明は更に、本発明のペプチド（又は前記オリゴマー）と生理学的に許容し得る非毒性キャリヤ分子（天然又は合成）とを、これらキャリヤ分子及びペプチドに夫々担持された相補的反応基を介して共有結合させることにより得られる結合体にも係わる。適切な基の 50

具体例は下記の通りである。

【0075】

本発明の結合体の構成に使用されるキャリヤ分子又は高分子支持体の具体例としては、破傷風アナトキシン、卵白アルブミン、血清アルブミン、ヘモシアミン等のような天然タンパク質が挙げられる。

【0076】

合成高分子支持体としては、例えばポリリジン又はポリ(D-L-アラニン)-ポリ(L-リジン)が挙げられる。

【0077】

文献には別のタイプの使用可能な高分子支持体も記載されており、これらの支持体は通常 10 20,000より大きい分子量を有する。

【0078】

本発明の結合体はそれ自体公知の方法、例えば Infect. and Immunity, 33, 193-198 (1981) で FRANTZ 及び ROBERTSON により開示されている方法、又は Applied and Environmental Microbiology, (1981年10月), Vol. 42, no. 4, 611-4, 614 に P. E. KAUFFMAN により開示されている方法に従い、適当なペプチド及びキャリヤ分子を用いて合成し得る。

【0079】

実際の操作では、非限定的具体例として下記に挙げるような化合物：グルタルアルデヒド 20 、クロルギ酸エチル、水溶性カルボジイミド即ち [N-エチル-N'(3-ジメチルアミノ-プロピル)カルボジイミド, HC1]、ジイソシアネート、ビス-ジアゾベンジジン、ジクロロ-s-トリアジン、トリクロロ-s-トリアジン、臭化シアン、及び Scan. J. Immunol., (1978), Vol. 8, p. 7-23 (AVRAMEA S, TERNYNCZ, GUESDON) に記載の結合剤を結合剤として使用すると有利である。

【0080】

結合方法としては、ペプチドの1つ以上の反応基とキャリヤ分子の1つ以上の反応基とを用いる任意の方法を使用し得る。有利には、カルボキシル官能基及びアミン官能基を使用する。これらの官能基はタンパク質の合成で使用されている種類の結合剤、例えば 1-エチル-3-(3-ジメチルアミノプロピル)-カルボジイミド、N-ヒドロキシベンゾトリアゾール、等の存在下で結合反応を生起し得る。特にペプチド及びキャリヤ分子に夫々担持されたアミノ基を相互に結合する場合には、結合剤としてグルタルアルデヒドも使用し得る。 30

【0081】

本発明のペプチドは抗原性を有する。従ってこれらのペプチドはウイルスHIV-2による感染の診断に使用できる。

【0082】

前述のごとく、ウイルスHIV-2に対する抗体をヒトの生物学的流体、特に血清又は髄液中で検出する方法に使用できるペプチドは研究の結果2つのグループに分けられた。

第1のグループ(I)はペプチド gag1を含む。これらのペプチドは抗HIV-2抗体を識別し、従ってHIV-2による感染を検出することができる。これらのペプチドは抗HIV-1抗体も或る程度認識し得る。 40

【0083】

第2のグループ(II)は、より特定的にはトランスメンブラン部分及びエンベロープタンパク質の外側部分の末端に存在するペプチドに対応するペプチドを含む。これらのペプチドは先に env1、env2及びenv3と称したペプチドである。これらのペプチドを用いればHIV-2に対する抗体の存在を特異的に識別することができ、従ってヒト体内でHIVに起因する過去又は現在の感染、より特定的にはHIV-2によって生じた感染とHIV-1によって生じた感染とを区別することができる。 50

【0084】

本発明は更に、前記ペプチドのうちの少なくとも1つ、又はこのペプチドのオリゴマーの少なくとも1つを含む組成物にも係わる。この組成物は、ウイルスHIV-2に対する抗体を含むヒト由来血清によって認識され得るという特徴を有する。

【0085】

本発明は、生物学的流体、特にヒト血清中でHIV-2に対する抗体を検出すべく本発明のペプチドを1種以上使用するin vitro診断法に係わる。

【0086】

一般的には、前記in vitro診断法は下記のステップを含む：

- 前記生物学的液体を前記ペプチドと接触させ、
- 物理学的又は化学的方法により前記生物学的液体中にペプチド-抗体複合体が存在するか否かを検出する。

【0087】

本発明の好ましい実施態様の1つでは、抗原-抗体複合体の検出を免疫酵素テスト(ELISAタイプ)、免疫蛍光テスト(IFAType)、放射線免疫テスト(RIAタイプ)又は放射線免疫沈降テスト(RIPAタイプ)によって行う。

【0088】

従って本発明は、酵素、蛍光性、放射性等の適当な標識で標識された本発明のペプチドにも係わる。

【0089】

このような方法は例えば下記のステップを含む：

- 所定量の本発明ペプチド組成物を微量滴定プレートの複数の凹部に沈着させ、
- 診断すべき血清を希釈度を上げながら前記凹部に導入し、
- 前記微量滴定プレートをインキュベーションにかけ、
- 前記微量滴定プレートを繰り返し洗浄し、
- 基質を加水分解して該基質の吸収スペクトラムを少なくとも1つの所定波長で変化させることのできる酵素の中から選択した酵素を用いて標識した血液のイムノグロブリンに対する抗体を前記微量滴定プレートの凹部に導入し、
- 加水分解された基質の量を対照との比較により検出する。

【0090】

本発明は、生物学的流体中にウイルスHIV-2に対する抗体が存在するか否かを診断し、場合によってはHIV-1に対する抗体の存在も診断するin vitro診断に使用するためのキットにも係わる。このキットは、

- 本発明のペプチド組成物と、
- 免疫反応を生起させるのに適した媒体を構成するための試薬と、
- 免疫反応によって生じた抗原-抗体複合体を検出するための試薬と、
- 前記ペプチド組成物によって認識される抗体を含まない基準となる生物学的流体組織とを含み、前記抗原-抗体複合体検出用試薬は、特に前記ポリペプチド組成物が標識されていない場合には、標識を有し得、又は標識した試薬で認識され得るようなものであつよい。

【0091】

本発明は本発明のペプチドに対して形成された抗体自体にも係わる。

【0092】

本発明の抗体は勿論、ポリクローナル抗体には限定されない。

【0093】

本発明は、本発明のペプチドの1つに対して免疫した動物、特にマウス又はラットの脾臓細胞と適当な骨髄腫細胞系の細胞とから通常の方法で形成し得、且つこれら動物の免疫のために最初に使用されたペプチドを認識するモノクローナル抗体を産生する能力に鑑みて選択され得る任意のハイブリドーマによって産生される総てのモノクローナル抗体にも係わる。

10

20

30

40

50

【0094】

本発明はまた、有効成分が本発明のペプチドの少なくとも1つ又は該ペプチドのオリゴマー、又はキャリヤ分子と結合した状態のペプチドからなるようなワクチンの製造に使用するための免疫原組成物であって、製薬的に許容し得るベヒクルとの組合せにより、レトロウイルスHIV-2のタンパク質の阻害、更にはレトロウイルスHIV-2自体の阻害を生起するに十分な量で前記ペプチドに対する抗体の産生を誘導することを特徴とする。

【0095】

ワクチン製造用の前記免疫原組成物は、より特定的には前記ペプチドenv4、env5、env6、env7、env8、env9、env10、env11のうちの少なくとも1つ、更にはこれらの混合物を含むと有利である。

10

【0096】

ワクチンの有効成分を構成するのに適したこれらのペプチドのうちの或るものは、HIV-2及びSIV中だけでなくHIV-1中でも大きな保存度を示すエンベロープ糖タンパク質の領域に対応するアミノ酸基本構造を有するため特に好ましい。これらの特に好ましいペプチドはenv4と称するペプチド、並びにペプチドenv5、env6及びe10のうち特定のものである。

【0097】

本発明の好ましい実施態様の1つでは、ワクチンの有効成分を構成するのに適した免疫原ペプチド（又はこれらペプチドのフラグメント）を、HIV-2、SIV及びHIV-1のエンベロープ糖タンパク質中で50%を越えるアミノ酸相同性を示し、ウイルスのエンベロープの外側部分に属し、欠失が全くもしくは殆ど無く、且つ結合の安定化と結合ループの構成とに有利なシステイン残基を含む配列に対応する式で示されるものの中から選択する。

20

【0098】

下記のペプチドはこの好ましいペプチドの部類に属する。

env4

X V T V - Y G V P - W - - A T Z

env5

X L - N V T E - F Z

env6

X K P C V K L - P L C - Z

30

env7

X N - S - I - Z

env10

X N C - G E F - Y C - Z

40

env11

X C - I - Q - I Z

有利な薬剤組成物は、本発明の少なくとも1種類の生成物を有効量含む溶液、懸濁液又は注射用のリポソームからなる。これらの溶液、懸濁液又はリポソームは滅菌等張水相、好ましくは食塩水又はグルコース含有水相で構成する。

【0099】

本発明はより特定的には、真皮内注射、筋内注射又は皮下注射、又は乱切法で投与するのに適した溶液、懸濁液又はリポソームに係わる。

【0100】

本発明はまた、別の投与形態、特に経口投与に適した薬剤組成物にも係わる。

【0101】

ウイルスHIV-2に対する抗体の産生において有効なワクチンとして使用し得る本発明の薬剤組成物は、例えば、本発明のペプチドの量が10~500μg/kg、好ましくは50~100μg/kgになるような用量で投与し得る。

【0102】

50

但し、これらの用量値は非限定的なものにすぎない。

【0103】

前述のごとく、先に述べた種々のペプチドはその免疫学的特性を根本的（実質的に）に変えることはないような修飾を含み得る。このような修飾の結果得られる等価ペプチドも後の請求の範囲に含まれる。これら等価ペプチドの具体例としては、HIV-2、SIV又はHIV-1の別の変異体のcDNAの領域中の、HIV-2 ROD、SIV及びHIV-1 BRUに関して説明した条件と類似の条件で一直線に並べた時の等価領域に対応する構造を有するペプチドが挙げられる。これらのペプチドの別の具体例としては、CNCMに寄託されたcDNA、特に寄託番号I-502、I-642（HIV-2 IRMO）、I-643（HIV-2 EHO）における前述のごとき領域、並びに場合によってはCNCMに番号I-232、I-240、I-241、I-550、I-551で寄託されたHIV-1変異体のcDNA中の等価領域に対応する構造を有するペプチドが挙げられる。

【0104】

本発明のペプチドは更に下記の式で示すこともできる（式中、X、Z及びダッシュ「-」は前述の意味を表す）。

XRV-AIEKYL-DQA-LN-WGCAFRQVCZ

XAIKEYL-DZ

X-LE-AQIQQEKNMYELQKLNSWZ

20

XQIQQEKNZ

XELGDYKLVEITPIG-APT--KR-----Z

XYKLVEITPIG-APT--KRZ

X---VTV-YGVP-W--AT--LFCA-Z

XVTV-YGVP-W--ATZ

X---E---NVTE-F--W-NZ

XL-NVTE-FZ

XL---S-KPCVKL-PLC---Z

30

XKPCVKL-PLC-Z

XS-KPCVKL-PLC-Z

X---N-S-I---C-Z

XN-S-I-Z

XYC-P-G-A-L-C-N-TZ

X---A-C-----W-Z

40

NKRPRQAWCWFKG-KWKD

X-G-DPE-----NC-GEF-YC-----NZ

X---C-I-Q-I-----G---YZ

本発明は、前述のSIVペプチド以外に、ウイルスSIVのcDNAでコードされたタンパク質にも係わる。本発明はまた、免疫学的にSIV-1macと密接な関係をもつ総てのウイルスのタンパク質、特にそのエンベロープのタンパク質及び糖タンパク質が免疫学的に交差反応し且つcDNAが少なくとも95%、好ましくは98%以上の相同性を有する総てのウイルスのタンパク質にも係わる。

50

【0105】

本発明は特に下記のタンパク質に係わる。

- 1 / 遺伝子 e n v によってコードされた図 3 のエンベロープのタンパク質及び糖タンパク質、
- 2 / 図 4 に示したタンパク質 G A G 、
- 3 / 図 5 に示したタンパク質 P O L 、
- 4 / 図 6 に示したタンパク質 Q 、
- 5 / 図 7 に示したタンパク質 R 、
- 6 / 図 8 に示したタンパク質 X 、
- 7 / 図 9 に示したタンパク質 F 、
- 8 / 図 10 に示したタンパク質 T A T 。

10

【0106】

S I V の前述のタンパク質のアミノ酸はウイルス H I V - 2 の対応タンパク質のアミノ酸配列と一直線上になるように示した。これら 2 つの配列の間に配置された鉛直点はこれら 2 つのウイルスのタンパク質に共通のアミノ酸に対応する。

【0107】

前述のタンパク質をコードする c D N A 配列は図 1 B に示した。本発明は、前述のヌクレオチド配列以外に、やはりリレトロウイルス S I V 又はその変異体のタンパク質をコードする修飾ヌクレオチド配列にも係わる。

【0108】

前述の配列(図 1 B)における番号付けで示されるこれらの c D N A 配列には下記のものがある。

- <u>G A G</u> をコードする配列、ヌクレオチド	5 5 1 ~ 2 0 6 8			
- <u>P O L</u> "	"	1 7 2 6 ~ 4 8 9 3		
- Q	"	"	4 8 2 6 ~ 5 4 6	
- X	"	"	5 2 9 8 ~ 5 6 3	
- R	"	"	5 6 3 7 ~ 5 9 3	
- F	"	"	8 5 6 9 ~ 9 3 5	30
- T A T - 1	"	"	5 7 8 8 ~ 6 0 8	
- A R T - 1	"	"	6 0 1 4 ~ 6 1 3	
- T A T - 2	"	"	8 2 9 6 ~ 8 3 9	
- A R T - 2	"	"	8 2 9 4 ~ 8 5 4	
- E N V	"	"	6 0 9 0 ~ 8 7 3	40

従って本発明は、前述のタンパク質がウイルス S I V から得られる場合又は、特により小さいペプチドの合成に関して説明した前述のごとき方法の 1 つに従い合成によって製造される場合には、当然これらのタンパク質にも係わる。

【0109】

本発明はまた、H I V - 2 のタンパク質、更には H I V - 2 自体に対する抗体が存在するか否かを調べる診断における前述のごときタンパク質の使用、又はこれらタンパク質のうちの或るものに関しては、いずれかのウイルス H I V に起因する感染の診断における使用にも係わる。例えば、対応遺伝子によってコードされたペプチド G A G は、抗 H I V - 1

50

抗体又は抗HIV-2抗体の存在を検出するのに使用できる。ENVタンパク質は好ましくはHIV-2又はその変異体の1つに起因する感染の特異的診断に使用され、時にはHIV-2又はHIV-1による感染の診断に使用される。

【0110】

従って本発明は更に、生物学的流体特にヒト血清中のHIV-2に対する抗体、及び場合によってはHIV-1に対する抗体も検出するin vitro診断の方法にも係わる。SIVの前記タンパク質を診断目的に使用し得るこのような方法は、本発明で既に説明した。

【0111】

本発明はまた、生物学的流体中のウイルスHIV-2に対する抗体、及び場合によってはHIV-1に対する抗体の存在をin vitro診断するための「キット」にも係わる。前述のごときペプチドを使用するこの種のキットについても本発明で既に説明した。

【0112】

本発明は更に、ワクチンの製造に使用するための、有効成分が有利には少なくともウイルスSIVのENVタンパク質の一部分で構成されるような免疫原組成物にも係わる。前記タンパク質はキャリヤ分子と結合した形態を有していてもよい。この免疫原組成物はレトロウイルスHIV-2のタンパク質、更にはレトロウイルスHIV-2自体を阻害するのに十分な量で前記ペプチドに対する抗体の産生を誘導する。

【0113】

但し、SIVタンパク質の診断に使用できるのはENV又はGAGタンパク質のみに限らない。先に説明したタンパク質のうちの別のタンパク質も診断用、更にはワクチン用の組成物の製造に使用し得る。

【図面の簡単な説明】

【図1A1】HIV-2 RODのcDNAの完全ヌクレオチド配列及びその中に含まれる読み取り枠である。

【図1A2】HIV-2 RODのcDNAの完全ヌクレオチド配列及びその中に含まれる読み取り枠である。

【図1A3】HIV-2 RODのcDNAの完全ヌクレオチド配列及びその中に含まれる読み取り枠である。

【図1A4】HIV-2 RODのcDNAの完全ヌクレオチド配列及びその中に含まれる読み取り枠である。

【図1A5】HIV-2 RODのcDNAの完全ヌクレオチド配列及びその中に含まれる読み取り枠である。

【図1A6】HIV-2 RODのcDNAの完全ヌクレオチド配列及びその中に含まれる読み取り枠である。

【図1A7】HIV-2 RODのcDNAの完全ヌクレオチド配列及びその中に含まれる読み取り枠である。

【図1A8】HIV-2 RODのcDNAの完全ヌクレオチド配列及びその中に含まれる読み取り枠である。

【図1A9】HIV-2 RODのcDNAの完全ヌクレオチド配列及びその中に含まれる読み取り枠である。

【図1B1】SIVのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物gag, pol, env, Q, X, R, tat, Fに対応するウイルスタンパク質について前記ヌクレオチド配列から誘導した配列である。

【図1B2】SIVのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物gag, pol, env, Q, X, R, tat, Fに対応するウイルスタンパク質について前記ヌクレオチド配列から誘導した配列である。

【図1B3】SIVのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物gag, pol, env, Q, X, R, tat, Fに対応するウイルスタンパク質について前記ヌクレオチド配列から誘導した配列である。

10

20

30

40

50

【図1B4】SIVのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物gag, pol, env, Q, X, R, tat, Fに対応するウイルスタンパク質について前記ヌクレオチド配列から誘導した配列である。

【図1B5】SIVのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物gag, pol, env, Q, X, R, tat, Fに対応するウイルスタンパク質について前記ヌクレオチド配列から誘導した配列である。

【図1B6】SIVのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物gag, pol, env, Q, X, R, tat, Fに対応するウイルスタンパク質について前記ヌクレオチド配列から誘導した配列である。

【図1B7】SIVのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物gag, pol, env, Q, X, R, tat, Fに対応するウイルスタンパク質について前記ヌクレオチド配列から誘導した配列である。 10

【図1B8】SIVのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物gag, pol, env, Q, X, R, tat, Fに対応するウイルスタンパク質について前記ヌクレオチド配列から誘導した配列である。

【図1C1】ウイルス遺伝子及びLTRの理論的生成物をHIV2とSIVmacとの間で比較した図である。

【図1C2】ウイルス遺伝子及びLTRの理論的生成物をHIV2とSIVmacとの間で比較した図である。

【図2a】HIV-2 ROD及びHIV-1 BRU夫々のenvタンパク質のアミノ酸配列である。 20

【図2b】HIV-2 ROD及びHIV-1 BRU夫々のenvタンパク質のアミノ酸配列である。

【図2c】HIV-2 ROD及びHIV-1 BRU夫々のenvタンパク質のアミノ酸配列である。

【図3a】SIV-macのenvタンパク質のアミノ酸配列である。

【図3b】HIV-2 RODのenvタンパク質のアミノ酸配列である。

【図4a】SIV-macのgagタンパク質のアミノ酸配列である。

【図4b】HIV-2 RODのgagタンパク質のアミノ酸配列である。

【図5a】SIV-mac及びHIV-2 ROD夫々のpolタンパク質のアミノ酸配列である。 30

【図5b】SIV-mac及びHIV-2 ROD夫々のpolタンパク質のアミノ酸配列である。

【図5c】SIV-mac及びHIV-2 ROD夫々のpolタンパク質のアミノ酸配列である。

【図6】SIV-mac及びHIV-2 ROD夫々のQタンパク質のアミノ酸配列である。

【図7】SIV-mac及びHIV-2 ROD夫々のRタンパク質のアミノ酸配列である。

【図8】SIV-mac及びHIV-2 ROD夫々のXタンパク質のアミノ酸配列である。 40

【図9】SIV-mac及びHIV-2 ROD夫々のFタンパク質のアミノ酸配列である。

【図10】SIV-mac及びHIV-2 ROD夫々のtatタンパク質のアミノ酸配列である。

【図11】SIV-mac及びHIV-2 ROD夫々のartタンパク質のアミノ酸配列である。

【 図 1 A 1 】

HIV2.ROD

【図 1 A 2】

【図1A3】

GlyAspThrLeuGlnGlyAlaThrAspGlyLeuAlaAspProGlnPheSerLeuTrp
 GluThrPheSerArgLeuAlaAspLeuLeuLysLeuAspSerLeuAspThr
 CGACAGACATACAGGAGGCCACCAAGACGACTGTCGACCCATTCTCTTCG
 210
 LysAspArgProValIleThrAlaTyrIleGluGlyGlnProValIleLeuAspThr
 LysAspGln
 AAAAGACGACTAGTCACACCATACATTGGAGGTCAACCGAGTACAAGTCCTCTGACACA
 220
 GlyAlaAspPheSerLeuIleAlaIleGluLeuAspSerAspAsnTyrSerProLysIle
 GGGGTGAGGACTCATATAGACGCGGAAATGACTGCGGAAACATATAGCCAAAAAA
 230
 ValGlyGlyIleGlyGlyIleIleAspThrLysAspValIleGluVal
 CTAGGGGAAATAGCGGCGATGATAAACTAACAGGAAATATAAAATCTAGAAATGAGACT
 240
 LeuAsnAspLysValArgIleThrIleIleThrIleGlyAspThrAlaAspIleAspIle
 CTAAATAAAAAGCTTACGGGCCACCATATAAGCACAGGGACACCCCAATCAAATTTTGGC
 250
 ArgAspIleIleLeuThrAlaLeuGlySerLeuAspLeuProValIleAspIle
 AGAAATATCTCAGCCCTTACGGCATGTCATAAAATCTACCTACCTGCCAACAGGCC
 260
 IleIlyIleIleLeuLysPheGlyLysAspGlyPheLysLeuArgGlnIleTrpProLeuThr
 ATAAAAAAATATGCCAAAGCCAGGGAAAGATGCGACCAAAACTGACACATAAGGCCCTAA
 270
 LysGluIleGlyGluAlaIleLeuGlySerGlyAspGluIleGluGlyIleIle
 AGAAAAAAATAGACGACTAAAGAAATCTGCAAAAGAAATAGGCAAGAGGCCAGCTA
 280
 GluGluAlaAspProLeuThrAspProLysIlePheThrPheAlaIleIlyIleAspP
 GAGGGAGGACCTCACAATCTTATAATACCCCACTATTCGCAATCAAAGAACAG
 290
 LysAspLysTrpArgMetLeuIlePhePheArgGluLeuAsnIleValThrGlnAspPhe
 AAAAACAAATGAGGACATCTAACATAGATTCATAAACGACTAACTCAAGATTCGAGATTC
 300
 ThrGluIleGlyGluAlaIleLeuGlySerGlyAspGluIleGluIleGlyIleIle
 TACCAAATTCAGTAAAGGCTTACACCCACCAAGGGTGGGCCAGACAGAGAACAA
 310
 ValIleWAspValGlyAspIleTyrPheSerIleProLeuEisGluAspPheAspProTyr
 GCTACTAGATCTAGGGATCCTTACCTTACCATACATGAGGACTTACCATAC
 320
 ThraIlePheThrLeuProSerIlePheAsnIleGluProGlyLysArgIleIle
 ATGCTTACATCTACCATCAGTCACAACTGCGAGAACAGGAAAAGATACATAATAAA
 330
 ValIleWAspValGlyAspIleTyrPheSerIleProLeuEisGluAspPheAspProTyr
 GCTCTGCCCCACAGGGATGGAAAGGATCACACCAATTTTCAACAAACATGAGCAGACTA
 340
 LeuIleProPheArgLysIleAsnIlyAspValIleIleLeuIleGlnIleMetAspAspIle
 TTGAAACCATTCAGAAACAAACAAAGGATGTCATCATACATGAGCAGATGAGTAC
 350
 LeuIleIleAspPheArgTrpAspLeuIlePheAspIleGlyIleIleAspIle
 TTTAAATGCTGAGCAGACGAGATTAACATGAGCTACATGAGCTTACATGAGCAGACTA
 360
 LeuIleAspPheArgLysIlePheSerIleProAspGluIlePheGlyAspAspProTyr
 CTCTAAATGGCCCTAGGATTTCATACCCAGATGAGACTGTCGACAAAGACCTCATAC
 370
 HisTrpMetGlyGlyGluIleTrpProThrLysTrpLysLeuGlnIleIleGlnLeuPro
 CACTGGATGGCTATGAGACTATGCCCAACTAAATGGCAAGTCGACAAAGAAATCACTGGCC
 380
 GluIleGluIleTrpThValAspIlePheAspIleGlyLeuIleGlyValIleIleAspIle
 CAAAGAAATAGATGAGCAGCTTACATGACATCAGGACAGGAGTGGCTTCATAC
 390

CACTCAATGAGAATGCCA

【図1A4】

【 図 1 A 5 】

```

Pro1Leu1Thr1His1Leu1His1Leu1Thr1Asp1Gly1Ala1Asn1Phe1Thr1Ser1Glu1Val1Ser1Met
GCAATACACACATGCACTACAGATAATGGTGGCAATCTACTCAGCAGGAGGAGCATC
4400

Val1ala1Trp1Phe1Gly1Leu1Glu1Leu1Phe1Gly1Val1Pro1Tyr1Asp1Pro1Gln1Ser1Gln
GTACATGGTCATAGGTAGAACATACCTTTCGACTACCTAACATCCACAGGCCA
4500

Gly1Val1Gly1Ala1Met1Leu1Met1His1Leu1Gly1Val1Pro1Tyr1Asp1Pro1Gln1Ser1Gln
GAGCTAGTAGAACCCATAATCACCATTCATTTAAACCAAAATACTGAAACAAACTACTA
4600

Met1Ala1Ile1His1Gly1Met1Asn1Phe1Leu1Arg1Arg1Gly1Ile1Gly1Asp1Met1Thr1Pro1Ser
ATGCCAACTTCATGGTCACTAAAGAACAGGGGCCAGATACGGGATATGACTTCATCA
4700

Glu1Arg1Leu1Leu1Asn1Met1Ile1Thr1Glu1Gln1Ile1Glu1Phe1Leu1Gln1Ala1lys1Ser1
GAAAGATTAATCAATGATCACAGCACAGAACAGGATACATACTTCGACAGAACAAAT
4800

Ser1Lys1Leu1lys1Asp1Phe1Arg1Val1Tyr1Phe1Arg1Gly1Asp1Gln1Leu1Trp1Phe1Gly
TCAAAATTAAGAATTTGGCTGCTTTCAGAGAACGAGCAGACATGACTTGTGAGAACGAG
4900

Phe1Gly1Glu1Leu1Leu1Trp1Phe1Gly1Glu1Val1Leu1Phe1Val1Gly1Thr1Ser1Phe1
TCCTGGCGAACACTTCGCGAACAGGAAAGGACGACAGTCATGACGCTTACGACACACATA
5000

Lys1Ile1Le1Pro1Arg1Arg1Gly1As1Lys1Ile1Le1Arg1Asp1Tyr1Phe1Gly1Arg1Glu1Leu1Met
Met1Glu1Gly1Asp1Arg1Trp1
5100

AAAATAATACCAACAGAAAGCCAAAGCCAAAGCATCAGCAGACATATGGAGGAACACAAGACATG

Asp1Ser1Gly1Ser1Leu1Glu1Gly1Ala1Arg1Ser1Gly1Cly1Met1Ala
5200

Ile1Val1Val1Phe1Trp1Trp1Arg1Val1Pro1Gly1Arg1Met1Leu1Phe1Trp1His1Ser1Leu1Val1
GATAGCTGCTTCTCCACCTTCGAGGCGTCCACAGGAGGATGCGAACATGCGCATAGCCCTTGTCAGA
5300

Tyr1Leu1Tyr1Lys1Trp1Leu1Asp1Leu1Gly1Asp1Tyr1Val1Pro1His1Ser1Val1
5400

CTATCTACAAAAATACACAAACAGGATCTACAGAACAGGACTCTGCTCTATGCTCCACCATAAAGCT

Gly1Trp1Ala1Trp1Trp1Thr1Gly1Ser1Arg1Val1Ile1Phe1Pro1Leu1Gly1Asp1Ser1His1Ile1
5500

GGCTGCGCTGCTGGTGGCTGCTGAGCAGCTTAATTCUCCATTAAGAAAGAACAGCTCATG
5600

Glu1Ile1Gln1Ala1Ile1Tyr1Leu1Leu1Trp1Frog1Iu1Lys1Gly1Ser1Ser1Ser1Ser1Val1
AGAGATACAGGCACTATGGACACTTAACAGCAGAACAGAACAGGAGGCTCTCCTCTTATTCAGT
5700

Arg1Ile1Thr1Phe1Trp1Thr1Gly1Asp1Phe1Trp1Asp1Cys1Ala1Asp1Val
5800

Arg1Ala1ACTTGCTACAGACAGAACAAACTTCGAGGACAGATCTAACCCGAGACTTGCGAGCATGT

Leu1Ile1Ile1Ser1Thr1Phe1Pro1Gly1Phe1Thr1Ala1Ile1Gly1Val1Arg1Arg1Ala1Ile1Ile1
5900

CCTAATACATGCACTTATTTCGCTCTTACAGCAGGCTAAAGTAAGAAGAACAGCCATCAG
6000

Gly1Ile1Gln1Ala1Ile1Tyr1Leu1Leu1Trp1Frog1Iu1Lys1Gly1Ser1Val1Phe1
AGGGAAAGACTTATCTCTCTGCTCCAAATATCCCGGAGCTCTAACGACCCGAGACTTCGCGCTC
6100

Leu1Gln1Phe1Leu1Ala1Leu1Val1Val1Gln1Asn1Asp1Arg1Pro1Gln1Arg1Asp1Ser1Thr
6200

ACTTCGATTTCTGGCTTCTATGGTACTGTCAGAACAAAATGACAGACCCGAGAGACACTAC
6300

Thr1Arg1Gly1Glu1Arg1Arg1Asp1Arg1Tyr1Arg1Arg1Gly1Leu1Arg1Leu1Ala1Ile1Gly1Asp1Ser1
6400

Pro1Gly1Asp1Ser1Gly1Glu1Thr1Ile1Gly1Glu1Ala1Phe1Asp1Trp1Asn1Asp1Thr1Val1
GACCAAGGAAACAGCCGGCAAGAGACTATCGGAGAGGCCCTTCGCTCGCTAACAGAGACAG
6500

Arg1Ser1Lys1Gly1Asp1Ser1Gly1Ser1Pro1Thr1Pro1Arg1Thr1Phe1Pro1Gly1Val
6600

Glu1Ala1Ile1Asn1Arg1Glu1Ala1Ile1Ile1Leu1Pro1Arg1Glu1Ile1Ser1Phe1Gln1Val1Phe
TAGAACGGCTATAACAGGAAAGACTTGCGCTAACGACTCTGGCTCCAGAACACTATTTTTCGAGCTGT
6700

(Fig. 1a—suite 4)

```

【 図 1 A 6 】

AlaGluValLeuGluGluLeuAla
 GluGlnSerTrpArgTyrTrpAspGluGluGlyMetSerGluSerTyrThrLysTyr
 GCGAGAGCTCTGCAGATCACTGCGCATGATGAAACAGGCTTCAGAAAGCTTACACAAAGT
 5500
 ArgTyrLeuGlyLeileGluGlyLeileGluGlyLeileGluGlyLeileGlyCysThrCty
 ATATACATATATTCGCTCATATACAAACAGGACTGATCATCGATGATGAAACGGCTGTC
 LesGlyArgGlyBisGlyProGlyGlyTrpArgProGlyProProProProProPro
 GGCCTGGGGAGGGGGACATGGGGCCAGGAGGCTGGGGAGGACCGCCGCTCCGCTCCGCTC
 3600
 MetalAlaGluAlaProThrGluLeuProProValAspGlyThrProLeu
 GlyLeuValLeu
 CAGCTCTGCTATGCTGCAACGGCCACACAGGCTCCCGCCGCTGGATGAGGACCCACT
 ArgGluProGlyPepGluPepGluPileLeuArgGluGluLeuAspGluCysLeuAlaLeu
 GAGGGAGGCGACGGGATGAGCTGGATAATACAAATTTGAGAGATAAATAAAAGAACAGCTT
 LysHisPheAspProArgLeuLeuIleAlaLeuGlyLysTyrIleTyrThrArgIleGly
 MetGly
 AAAGGATTTCGACCCCTGCCCTGCTAAATGCTCTTGGCAAAATATATCTATACTACACATGG
 5800
 AspThrLeuGluGlyAlaArgGluLeuLeuIleLeuValleuLmArgAlaLeuPheThrHis
 ThrProLeuLeuAlaProGluSerLeuLeuSerCysAlaLmProPheSerArgAspArg
 AGACGACCTTGAAGGGCCGAGAGGCTCTTAAAGTCTCCGCAACGAGCTTCTTCACCGCA
 PheGlyAlaGlyCysCysIleSerArgIleGlyGlnArgArgGlyCysAspProLeuSer
 SerGluGlnAspValAlaThrGluLeuLeuAlaArgGlyGluGluLeuLeuSerGly
 CTCAGACGAGATGTCGGCACTCAAGAAATTCGGCCAGACAAAGGGAGGAAATCTCTC
 5900
 AslAlaIleThrProGlyAspMetGly
 LeuLeuIleArgProLeuGluThrCysAsnAsnSerCysTyrCysLysArgCysCysTyrEi
 ACCTATACCGACCCCTGAAACACATGCAATAACTCTGCTATGTCAGGATCTGACCC
 6000
 MetAsnGluGluArgLeuLeuGlyLeuLeuGlyLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeu
 CysGluMetGlyPheLeuAspCysGlyLeuGlyIleCysTyrGluArgLysCysTyrArgAsp
 ATTCGTCAGATGTCCTTCTAAACAGGCGCTGGGATCTGATGTCAGGAAACAGGCGACAG
 6100
 GluGluLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeu
 TyrThrValPheAspTyrValPheAspTyrLeuAsnAlaThrIleProLeuLeu
 ATATGCAAGCTTTCAGACCCGCTACCCACCTGGAAATTCGCTTACATGTC
 6200
 AspGluLeuAspTyrLeuAspTyrLeuAspTyr
 AsnAsnGluLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeuLeu
 GATGCAATGACCCCTGAAATTCGCTTACATGTCAGTACTGCTTCTGCTTACATGTCACCGA
 6300
 TyrThrValPheAspTyrValPheAspTyrLeuAsnAlaThrIleProLeuLeu
 ATATGCAAGCTTTCAGACCCGCTACCCACCTGGAAATTCGCTTACATGTC
 6400
 AslAlaIleGluAspPheAspTyrLeuAspTyrLeuAspTyrLeuAspPheAspAspPheAsp
 TGCACCAAGAAATAGGGACTCTCGGCAACCATACATGCTCTGCTGCTGCTGCTTTC
 6500
 GluGluIleThrLeuAspValThrGluAlaIleAspAlaIleAsnAsnThrValThrGlu
 TCGAGGAATAACTTCAAGTCATGCAACAGGCGCTTTCGATCAGGAAATATACTAGCAACAGA
 6600
 GluAlaIleGluAspPheAspTyrLeuAspTyrLeuAspTyrLeuAspPheAspAspPheAsp
 AACAGCAATAAGAATGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
 6700
 *(fig.1A-suerte 5) 6800

【 図 1 A 7 】

【 図 1 A 8 】

【図1A9】

GluThrLeuAlaGlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArgGly
 ArgLeuLeuArgAlaArgAlaGlyAlaCysGlyGlyTyrTrpAsnGluSerGlyGlyGlu
 AGAGACTCTGGGGGGCGCTCAGGGCTTGAGGGGTTGGCAACCAATCGGAGGG
 8600
 IleLeuIleValPheArgArgIleLeuGluGlyAlaLeuIleAlaLeuLeu
 TyrSerArgPheGluGlySerAspArgGluGlyLysSerProSerGluGlyArg
 ATAACTCCGGTTCACAAACAGATCACAGACAGGACACAAATGCCCTCTCTGAGGAC
 8700
 GluTyrGlnGluGlyAspPheMetAsnThrProTrpLysProAlaIleGluArgGlu
 GCGACTATCACAGGGAGCATCTTAACTCATGAAAGGACGAGCACAGAACAGG
 LysAsnLeuTyrArgGluIleAsnMetAspAspValAspAspAspAspAspGlnVal
 AGAAATTTGAGGGAAACAAATTTGATGATGATGATGATGACAAAC
 8800
 ArgValSerValIleValPheArgProMetThrIleArgLeuIleAsp
 TAAGACTTCTGTCACACAAAAGTACACCAAGACACATGACACATAGATGAGGAAATAC
 MetSerLeuIleArgGlyLeuGluGlyIleLeuIleAspTrpGlnAsn
 ATATGTCAGATTTAAACAAACGGGGGAGCTGGAAAGGCACTTTACAGATGAAAGAA
 8900
 HisLysIleLeuLeuIleLeuGluGlyIleLeuIleAspTrpGlnAsn
 GACATAAAATCTTAAATATATACATGAAAGGAGAAAGGATAATTCACATGCGA
 9000
 TyrThrHisProGlyLeuTrpAspProMetPhePheGlyTrpLeuTrpLeuVal
 ACTACACIATGGCCAGGAGTAACTACCAATGTTCTGGGTGCTATGGCAAGCTAG
 ProValAspValProGlnGluGlyGluAspTbrGluThrHisCysLeuValIleProAla
 TACCACTAGATGGCCACAGAACAGGGAGCACATGAGACTGATGAGACTACAGG
 9100
 GlnThrSerLysProAspAspHisCysGlyIleThrLeuValIleTrpGluPheAspProLeu
 CACAAACAAACAAAGCTTCAGACCCCCATGGGGAGACACTGTCGGACTTGTGCTCT
 LeuAlaIleArgTyrGluIleAspArgTyrProGluIlePheGlyIleHisLysSer
 TGCTGCTCTTAACTTACAGGCTTTTATTCGGTACCCAGAGGAATTTCGGGACAACTGAG
 9200
 LeuPheGluGluIleTrpIleAlaArgLeuIleAspTrpPheSer
 GCTGCCAGCAGAACACTGGGGCAGACTGGGGCAGAACACTGGGGGAGACTGCG
 9300
 GACAGGAAACAGCTATACTGGTCAAGGGGAGGAACTAACAGAACAGGGTGAAC
 AGGGGACTTCCAGGGGGCTGTAACCAAGGGGAGGGGACATGGGGAGGGCTGGGG
 9400
 GCGCTATATCTCTCTGATAAAATACCCGCTGAGCTGCAITGTTACTCTGGCTCTGC
 CGAGAGCTGGGAGATTCAGGGCTGGGAGCTGCTCTCCAGGAGCTGAGGCTGG
 9500
 CTGTTCCCTGCTAGACCTCTCACGACCAATTGGGGGTTCTGGGGAGACGGGGGG
 9600
 GCTTGCTTAAACCTCTTAAATAAGCTGGCAGTIAAGCA
 * * * * *

【図1B1】

ACTCCCTCTGGGGAGGGCTGGCAAGATGAGCTCTGGGGCTCTCCAGCACTAGCAG
 GTAGAGCTGGCTGGCTTCCCTGCTAGACTCTCACAGGACACTGGGGGGCTGGGGAGAG
 100
 GGCTCAGCCTGCTGGCTTAAAGGCTCTCAATAAGCTGCGCTTAAAGGAGTAAAGCTA
 GTGTTGTTCCCATCTCTGGCTGGCTGGCTGAACTCGGGTCTGGCTAAATAAAA
 200
 ACCCTGGCTGGTCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCTGGCT
 300
 CGAAAATCTCAGCAGATGGGGGGAGACGGGACTGAGAGACTCTG
 AGTACGGCTGAGCTGAGGAGCTAAGGGGGAGGAACCAACGACAGGGAGTGGCTCTAG
 400
 AAAGGGGGGGGGCTGAGCAGGGGGGGAGAGGGGGAGGGGGAGGGGGAGGGGG
 500
 CAGGTAAAGTCACACAAAGGAAATAGCTGCTTATCAGGAAAGGCTTAAAGGAT
 GAGDMETGlyLARAGSMSERALLEUSERGLYLYSLSALASPGLULEU
 AGAGTGGGGAGATGG
 600
 LYSLysLeuLysLeuLysLeuLysLeuLysLeuLysLeuLysLeuLysLeuLys
 700
 800
 900
 1000
 1100
 1200
 1300
 1400
 1500
 1600
 1700
 1800
 1900
 2000
 2100
 2200
 2300
 2400
 2500
 2600
 2700
 2800
 2900
 3000
 3100
 3200
 3300
 3400
 3500
 3600
 3700
 3800
 3900
 4000
 4100
 4200
 4300
 4400
 4500
 4600
 4700
 4800
 4900
 5000
 5100
 5200
 5300
 5400
 5500
 5600
 5700
 5800
 5900
 6000
 6100
 6200
 6300
 6400
 6500
 6600
 6700
 6800
 6900
 7000
 7100
 7200
 7300
 7400
 7500
 7600
 7700
 7800
 7900
 8000
 8100
 8200
 8300
 8400
 8500
 8600
 8700
 8800
 8900
 9000
 9100
 9200
 9300
 9400
 9500
 9600
 9700
 9800
 9900
 10000
 10100
 10200
 10300
 10400
 10500
 10600
 10700
 10800
 10900
 11000
 11100
 11200
 11300
 11400
 11500
 11600
 11700
 11800
 11900
 12000
 12100
 12200
 12300
 12400
 12500
 12600
 12700
 12800
 12900
 13000
 13100
 13200
 13300
 13400
 13500
 13600
 13700
 13800
 13900
 14000
 14100
 14200
 14300
 14400
 14500
 14600
 14700
 14800
 14900
 15000
 15100
 15200
 15300
 15400
 15500
 15600
 15700
 15800
 15900
 16000
 16100
 16200
 16300
 16400
 16500
 16600
 16700
 16800
 16900
 17000
 17100
 17200
 17300
 17400
 17500
 17600
 17700
 17800
 17900
 18000
 18100
 18200
 18300
 18400
 18500
 18600
 18700
 18800
 18900
 19000
 19100
 19200
 19300
 19400
 19500
 19600
 19700
 19800
 19900
 20000
 20100
 20200
 20300
 20400
 20500
 20600
 20700
 20800
 20900
 21000
 21100
 21200
 21300
 21400
 21500
 21600
 21700
 21800
 21900
 22000
 22100
 22200
 22300
 22400
 22500
 22600
 22700
 22800
 22900
 23000
 23100
 23200
 23300
 23400
 23500
 23600
 23700
 23800
 23900
 24000
 24100
 24200
 24300
 24400
 24500
 24600
 24700
 24800
 24900
 25000
 25100
 25200
 25300
 25400
 25500
 25600
 25700
 25800
 25900
 26000
 26100
 26200
 26300
 26400
 26500
 26600
 26700
 26800
 26900
 27000
 27100
 27200
 27300
 27400
 27500
 27600
 27700
 27800
 27900
 28000
 28100
 28200
 28300
 28400
 28500
 28600
 28700
 28800
 28900
 29000
 29100
 29200
 29300
 29400
 29500
 29600
 29700
 29800
 29900
 30000
 30100
 30200
 30300
 30400
 30500
 30600
 30700
 30800
 30900
 31000
 31100
 31200
 31300
 31400
 31500
 31600
 31700
 31800
 31900
 32000
 32100
 32200
 32300
 32400
 32500
 32600
 32700
 32800
 32900
 33000
 33100
 33200
 33300
 33400
 33500
 33600
 33700
 33800
 33900
 34000
 34100
 34200
 34300
 34400
 34500
 34600
 34700
 34800
 34900
 35000
 35100
 35200
 35300
 35400
 35500
 35600
 35700
 35800
 35900
 36000
 36100
 36200
 36300
 36400
 36500
 36600
 36700
 36800
 36900
 37000
 37100
 37200
 37300
 37400
 37500
 37600
 37700
 37800
 37900
 38000
 38100
 38200
 38300
 38400
 38500
 38600
 38700
 38800
 38900
 39000
 39100
 39200
 39300
 39400
 39500
 39600
 39700
 39800
 39900
 40000
 40100
 40200
 40300
 40400
 40500
 40600
 40700
 40800
 40900
 41000
 41100
 41200
 41300
 41400
 41500
 41600
 41700
 41800
 41900
 42000
 42100
 42200
 42300
 42400
 42500
 42600
 42700
 42800
 42900
 43000
 43100
 43200
 43300
 43400
 43500
 43600
 43700
 43800
 43900
 44000
 44100
 44200
 44300
 44400
 44500
 44600
 44700
 44800
 44900
 45000
 45100
 45200
 45300
 45400
 45500
 45600
 45700
 45800
 45900
 46000
 46100
 46200
 46300
 46400
 46500
 46600
 46700
 46800
 46900
 47000
 47100
 47200
 47300
 47400
 47500
 47600
 47700
 47800
 47900
 48000
 48100
 48200
 48300
 48400
 48500
 48600
 48700
 48800
 48900
 49000
 49100
 49200
 49300
 49400
 49500
 49600
 49700
 49800
 49900
 50000
 50100
 50200
 50300
 50400
 50500
 50600
 50700
 50800
 50900
 51000
 51100
 51200
 51300
 51400
 51500
 51600
 51700
 51800
 51900
 52000
 52100
 52200
 52300
 52400
 52500
 52600
 52700
 52800
 52900
 53000
 53100
 53200
 53300
 53400
 53500
 53600
 53700
 53800
 53900
 54000
 54100
 54200
 54300
 54400
 54500
 54600
 54700
 54800
 54900
 55000
 55100
 55200
 55300
 55400
 55500
 55600
 55700
 55800
 55900
 56000
 56100
 56200
 56300
 56400
 56500
 56600
 56700
 56800
 56900
 57000
 57100
 57200
 57300
 57400
 57500
 57600
 57700
 57800
 57900
 58000
 58100
 58200
 58300
 58400
 58500
 58600
 58700
 58800
 58900
 59000
 59100
 59200
 59300
 59400
 59500
 59600
 59700
 59800
 59900
 60000
 60100
 60200
 60300
 60400
 60500
 60600
 60700
 60800
 60900
 61000
 61100
 61200
 61300
 61400
 61500
 61600
 61700
 61800
 61900
 62000
 62100
 62200
 62300
 62400
 62500
 62600
 62700
 62800
 62900
 63000
 63100
 63200
 63300
 63400
 63500
 63600
 63700
 63800
 63900
 64000
 64100
 64200
 64300
 64400
 64500
 64600
 64700
 64800
 64900
 65000
 65100
 65200
 65300
 65400
 65500
 65600
 65700
 65800
 65900
 66000
 66100
 66200
 66300
 66400
 66500
 66600
 66700
 66800
 66900
 67000
 67100
 67200
 67300
 67400
 67500
 67600
 67700
 67800
 67900
 68000
 68100
 68200
 68300
 68400
 68500
 68600
 68700
 68800
 68900
 69000
 69100
 69200
 69300
 69400
 69500
 69600
 69700
 69800
 69900
 70000
 70100
 70200
 70300
 70400
 70500
 70600
 70700
 70800
 70900
 71000
 71100
 71200
 71300
 71400
 71500
 71600
 71700
 71800
 71900
 72000
 72100
 72200
 72300
 72400
 72500
 72600
 72700
 72800
 72900
 73000
 73100
 73200
 73300
 73400
 73500
 73600
 73700
 73800
 73900
 74000
 74100
 74200
 74300
 74400
 74500
 74600
 74700
 74800
 74900
 75000
 75100
 75200
 75300
 75400
 75500
 75600
 75700
 75800
 75900
 76000
 76100
 76200
 76300
 76400
 76500
 76600
 76700
 76800
 76900
 77000
 77100
 77200
 77300
 77400
 77500
 77600
 77700
 77800
 77900
 78000
 78100
 78200
 78300
 78400
 78500
 78600
 78700
 78800
 78900
 79000
 79100
 79200
 79300
 79400
 79500
 79600
 79700
 79800
 79900
 80000
 80100
 80200
 80300
 80400
 80500
 80600
 80700
 80800
 80900
 81000
 81100
 81200
 81300
 81400
 81500
 81600
 81700
 81800
 81900
 82000
 82100
 82200
 82300
 82400
 82500
 82600
 82700
 82800
 82900
 83000
 83100
 83200
 83300
 83400
 83500
 83600
 83700
 83800
 83900
 84000
 84100
 84200
 84300
 84400
 84500
 84600
 84700
 84800
 84900
 85000
 85100
 85200
 85300
 85400
 85500
 85600
 85700
 85800
 85900
 86000
 86100
 86200
 86300
 86400
 86500
 86600
 86700
 86800
 86900
 87000
 87100
 87200
 87300
 87400
 87500
 87600
 87700
 87800
 87900
 88000
 88100
 88200
 88300
 88400
 88500
 88600
 88700
 88800
 88900
 89000
 89100
 89200
 89300
 89400
 89500
 89600
 89700
 89800
 89900
 90000
 90100
 90200
 90300
 90400
 90500
 90600
 90700
 90800
 90900
 91000
 91100
 91200
 91300
 91400
 91500
 91600
 91700
 91800
 91900
 92000
 92100
 92200
 92300
 92400
 92500
 92600
 92700
 92800
 92900
 93000
 93100
 93200
 93300
 93400
 93500
 93600
 93700
 93800
 93900
 94000
 94100
 94200
 94300
 94400
 94500
 94600
 94700
 94800
 94900
 95000
 95100
 95200
 95300
 95400
 95500
 95600
 95700
 95800
 95900
 96000
 96100
 96200
 96300
 96400
 96500
 96600
 96700
 96800
 96900
 97000
 97100
 97200
 97300
 97400
 97500
 97600
 97700
 97800
 97900
 98000
 98100
 98200
 98300
 98400
 98500
 98600
 98700
 98800
 98900
 99000
 99100
 99200
 99300
 99400
 99500
 99600
 99700
 99800
 99900
 100000

【図1B2】

PROVALGYSNLYSGLYNSLYGLNLYPROLGLYNSLYGCTGCTGCTGCTGCTGCTG
 1400
 GLYGLYNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSL
 1500
 GLYGLYNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSL
 1600
 GLYGLYNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSL
 1700
 GLYGLYNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSL
 1800
 GLYGLYNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSL
 1900
 GLYGLYNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSL
 2000
 GLYGLYNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSL
 2100
 GLYGLYNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSL
 2200
 GLYGLYNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSLPRHNSL
 2300
 GLYGLYNSLPRHNSL

【 図 1 B 4 】

〔 四 1 B 6 〕

【 図 1 B 5 】

THRLYSASPLEUGLASHCAYSTYRVALPROHSISLVSYLSPYLTPRATP
TCAACTGATACCAAAAGGCTTCATGTCATGCCCATACGATGCCGATCGATGTC
TIREYSERARGVALILEPHEPROLEUGLANGLUGLYSERHISLEUQLVALGLGLYTYR
GACCTGCGACGAACTGATACCTTCTTCAACTGAGGAGGACGATTCAGAACAGGTA
TRPASLMEHTPRUPLHQLARGGLYRFLPEERHTHRYLARALVALCILETHTRPTYR
TYGGAATTGACACCAAAAGCCTGCTCACTGAGTATTCAGCGTGAGATAACCTGCTA
CTCAAAACATTGTCAGATCTAACAGAACAGATACTTACTCGATCAGAC
TYRPHFPRDGYSPMTHALACGLYUMLARAGCALAILERGQLYGLAURLEU
TTATTCCTCCCTTACCGGGAGAAGTGAAGGGCCATACGGGGGACGACGTC
5100
SERCVSYASRFGHFRDAGRALAHISLVSISLHQLVALPROSERLVEULNLYRLEU
GCTTCTGCTCAGGTTTCAACAGCTCATACCAACAGGTAACCTACAGACTTAC
LEUARGVALVALSERVALSERDNLGLYNSPNPRTHTRPLSGLHTP
XHPTTCTTCTTACCGGGAGAAGTGAAGGGCCATACGGGGGACGACGTC
5200
ACTGAGACTAGTAACTGATACGATCCAGGGKAGGAAACCCACTAACAGACTGAG
5300
ARGASPASHARGCERLEUARGVALALGLYNSLNSNARERGGLYASPLSGLYHARG
GLUTHRLLEGLYALUPLAPHEGLUTRLPEUASHRGHLGLUQGLUQLEASNRGL
ACAGACATACTAGGACAGCTTACGACTGCTAACACACAGTACAGGAGATAACAG
5400
GLYGLYLYTSPROSPHQLGLYUMLARAGCALAILERGQLYGLAURLEU
ALVALKALASHMISLURDORGLULUVELEPHEGLNPLWTRPLGNGHERTSPOLUTYR
AGGGCTTAACACCCATACCGAGGAGCTAATTTCAGGTTGGCAGAACGGTTGGGAA
5500
LEUALA
TRPHTASPLGLUQLNLGYNETSERGLQNLSETRYRTHRLYSTYRAGTYHLEUCYSL
ACTGGCATCATGACAAAGCCGCTTACCAACAGTATACAAACATGACTTACGTTTAA
5600
GLNLYSLAALUPEHREHTHISYRGLYISLVSICYSGLYSLUQGLYUOLHYGLY
TACAAAAAGGCTTATTATGATTGCAAGAACAGCTTAGATCTGAGGGCAAGGAC
5700
ALAGLYLYTSPRDPFRDGYSPRDPDPRODPFRDPRODPFRDLYLUALR
GGCCAGGGCTTACGACAGGACCTCTCCCTCCACGACTACATATAAGT
5800
GLUARGPLPDRQLIAHGLULYPROPLARHGGLUTPLPDRPLPGLYRPLWALGLU
AAAGAACAGCTCCGAAARAAAGCCGCAACAGGACCATGCGATGACTGGCTACG
5900
VALLEYLUSGLUYLEUYSGLYSLUQALALEWYSHPSHEASPPRQAGLUEUHTIRALA
AAGTTCTGAAGAACACTGAAACACAGCTTACACAGCTTGTACGCTCCGCTTCAACG
6000
TATIHEGLYUHTPRUPLHQLARGGLYRFLPEERHTHRYLARALVALCILETH
LEUGLYASHMISILETYRASHMASHGTSISLVSYLSPYLTPRATP
CACTGTTGATCATATACATACACATACACGCTTCTCAGGAGGAGAGAC
6100
LEUGLUSERASPLGLUARGERSERTVILESERGLUALALALALALILEPROGLU
ARIGLELEUQLNARALCALEUPEHLEIHEPHEARGLYHISYCSERHSERAGL
TATAGATCTCAGGCTTCTCATACATACAGAGGEGGTCGAGCATTCTCAGA
6200
SERALASASLUEHGQLYUOLGLUELEUERLSEHQLUETYRPHQLPDRUQGLACAYSTYR
CQLYGLPDRQGLYLYTSPRDPFRDPRODPFRDLYLUALR
6300
ASNTHRYCSTYRSPSISLVSYLYSCTYCSYSTYRISLVSICYSGLYHCEYSPYLSPYL
ACACATGCTTACCTGAAAGCTTCTCAGGCTTCTCAGGCTTCTCAGGCTTCTCAG
6400
LEUGLYLYTSPRDPFRQGLYLYTSPRDPFRDPRODPFRDLYLUALR
ARTHETAGRSERHISLHSTGGLUQGLUQGLUQGLUQGLUQGLUQGLUQGLUQGL
6500

【 义 1 B 8 】

【 図 1 C 1 】

【図1C2】

【図2a】

env4
 KIV2----- 40 40 30 40 30
 ***** HNUQLLIA ILLA-SACLV METKQYKQV QYVTTKQI
 KIV1----- HRYKKEKTYQHL WEWQKUWHTT LLGILHICSA TEKLGWTVVY GUVPKWEATT
 5
 env5
 KIV2----- 60 70 60 env5 90 100
 TLFCAKDRH- DT- TIOCLPMPDHE YOSLTH-NH- FADRAHME
 KIV1----- TLFCAKDAKA YDTEBHNWHA THACWPDPN PQEVWLVWVZ ENFNNWKKND
 10
 env6
 KIV2----- 130 120 130 140 130
 TEQAAEDVBB LFPESTKCPY KLTPLCQVANHAGSSTESTON NTTSKSTST
 KIV1----- 160 170 180 190 200
 VEQHHMEDIIS LWDQSLKPCY KLTPLCQVSLK CDTL---GE ATTMWSSEN
 15
 env7
 KIV2----- 160 170 180 190 200
 --TTPFTDQE QEISETDPCA RADNCDSQHE SETINCFQHM TOLERDKKE
 KIV1----- SSSGHHMHX GELI ---HCSFNIS TSIRGKVQKE YAFFPKYLDII
 20
 env8
 KIV2----- 210 220 230 240 250
 Y--NET-WYS KVVCETNNS HNQQGTYHNC HSSVITESCD KHYVNAIREE
 KIV1----- 210 220 230 240 250
 PIDIHDITSYT ---TSC HSSVITQACP EVSFSFPIPI
 25
 env9
 KIV2----- 260 270 280 290 300
 YCAPPGYALL RC--NET-WYS GFAFPCCSSTV ASTCTKHEI QTSTW-GW
 KIV1----- 260 270 280 290 300
 YCAPGAGFAIL KCKNFTENG CP---CINVS TWQTCGICP VVSTQLLL-N
 30
 env9
 KIV2----- 310 320 330 340 350
 GTRAS 110 H RTYVWHRGD H-RTII-SLN KYYHLSLQK EPGKVKTVK
 KIV1----- 310 320 330 340 350
 GSIAKZEVVI ISAFNTT---D HAKTIVLQHN QSV--INCT EPNMNTKES
 35
 env9
 KIV2----- 360 370 380 390 400
 NMHS--CHV ESHYQHPTT PROAHCQHFGK EBUKQANGK KETLAKHPR
 KIV1----- 360 370 380 390 400
 RIQPREGKAF VTIQKICH---H RQHQAHNSC AKWHT--L EKQIAHLRQ

【 図 2 b 】

		410	420	430	440	450
HIV2-----	RC	NDTNRIS FAATGKGSDF	EVAWHTNCTC	GEFLYKSMTH FHN	WT	
HIV1-----	FGCHKKT-11	FRQSS-GGDF	LIVTHSTFHCG	GEFYCNSQTQ	LTFSTWPNST	
		460	470	480	490	500
5 HIV2-----	EN	XTRHNAPCH IXQIOLINTH E	VERHIV	PPR	EGELSCNSIV	
HIV1-----	WSTEGSNNT E	GSDFTILPCE	IXQFPIHNUQE	VGRAMHAPI	SQGICRSNSI	
		510	520	530	540	550
HIV2-----	ISIIANIDWQ	NHHQTNHITIS	AEVAEYLRL	-FLGDYKXIS	EITTCGK	
HIV1-----	TGLLLTBDG	NHHNGSEIPE	PGGCDHMRDN	ESGLKXKTF	KIEPILGWT	
		env3	560	570	580	590
HIV2-----	KERRYSSAEG	RHTRGVFWVIG	--FLGGLATA	GSAMGAAS	-LIVSAGSRTL	600
HIV1-----	KAKRE- ***	***	***	***	***	
		560	570	580	590	600
10 HIV2-----	LAGIVQQQQQ	LLRDVVKRQE	LLRLTIVWGT	BLQAAATEY	KYLDQDARL	
HIV1-----	LSGIVQQQQQ	LLRAIAEQH	LLQLTIVWGIK	QICQAKILAVE	KYLDQDQLG	
		610	620	630	640	650
HIV2-----	SWGCCAFROYC	WTTFVPPV	WNDLSDAPWD	MHTWQEWQK	VRXLYANIS	
HIV1-----	IMGCCSGKLIC	TAIVWHAU	ENKNSLEQIN	MHTWHDRE	INHNTYSLINS	
		660	670	680	690	700
20 HIV2-----	SLPQGAIQDE	KNHTEYLOKIN	SHDIFGEWDF	LTSWUKEVQI	GYLIIVAVIA	
HIV1-----	LIEESQHQQE	KHKEQELLEID	KWASLWRWVH	TTWAWLTIKI	PMITVQGLTC	
		710	env2	720	730	740
HIV2-----	SLPQGAIQDE	KNHTEYLOKIN	SHDIFGEWDF	LTSWUKEVQI	GYLIIVAVIA	750
HIV1-----	LIEESQHQQE	KHKEQELLEID	KWASLWRWVH	TTWAWLTIKI	PMITVQGLTC	

【 図 2 c 】

HIV2-----	760	770	780	790	800
	IRIVIVYVQH LSRZLXKGK* V-FSSPGCVY QQIHNKQD QCNAMEEED	**	**	**	**
KIVI-----	LRIVIAVLSI VNRVHQRCVSP LSFQT-----	-----	-----	HLTFPRG FDRPEGIEEE	
HIV2-----	810	820	830	840	850
	GCGSGGDDWV FWFIAATIPLI IIGLILHIL-----	-----	LYSIC RDLLSRAKFT		
	**	**	**	***	***
BIVI-----	-----	-----	-----	-----	-----
	GGERDRDERSI KLVNGGLA-L IWDGLSCLK PSYHRL-----	-----	-----	-----	-----
HIV2-----	860	870	880	890	900
	LQLIYQHRLD VLRVLTAA-F LQGCGEWIEQ AFQ-----	-----	AAA RATTETL		
	**	**	**	**	**
BIVI-----	-----	-----	-----	-----	-----
	PELLO--RRC HEALKYVWNL LQTMWSQELHN SAVSLRNATA IAVETGDRW	-----	-----	-----	-----
HIV2-----	910	920	930	938	
	-----	-----	-----	-----	
	ACACRG LVRVLEKIGR GILAVYDQH QGAEATL	-----	-----	-----	
	**	**	**	**	
BIVI-----	-----	-----	-----	-----	
	IEVWVQGACRA -----	-----	-----	IESEPIERK QGLERILL	

【図3a】

【 図 3 b 】

420 430 440 450 460
 WVEDRSLTTOKPKEHNRKHNYPCHIROLINTWHKVKWVYLPPREGOLCNSTVTSILIAN
 :
 WIEN-----KTH-RNYAPCHIKOINTWHKVKRNVYLPPREGELCNSTVTSILIAN
 410 420 430 440 450
 480 490 500 510 520
 INNTDGNQISITKSAEVAEYLRELGKVEITPTGLAFTNVKRYTTC-GTSRNKRQGVF
 :
 EDHWNHNNNTITNEKSAEVAEYLRELGDKYLVEITPFGAPTFKKEKRYSSAHG--RHTRGCV
 460 470 480 490 500 510
 540 550 560 570 580
 VLGLFLGLATAGSAMGAASLTVAQSRTLLAGIVQQQQQLDVKRQQLLRLTHGTC
 :
 VLGLFLGLATAGSAMGAASLTVAQSRTLLAGIVQQQQQLDVKRQQLLRLTHGTC
 520 530 540 550 560 570
 600 610 620 630 640
 LQTRVSAIEKVKLDOAQLNANGCAFROCHTVPWPNSLTPDWNNETKDEWERYKVDFL
 :
 LQARVATEKYLDOQARLNNSGCCAFROCHTVPWNDSLAPDMDNNTWNEDEKOVRYL
 580 590 600 610 620 630
 660 670 680 690 700
 ANITALLESAIOQEKNNYELOKLNSDWFGNWFDLTSWVKYIIOGYIIVYGVILLRIV
 :
 ANISKSLEAQAOI0EKNNYELOKLNSDWFGNWFDLTSWVKYIIOGYIIVYGVILLRIV
 640 650 660 670 680 690
 720 730 740 750 760
 YIVOMLARLRLRKGYRPVFSSPPSYOFHTQDGLPLPTKECKGKGDDGGSSGNNSSWPHDIE
 :
 YVVOMLSLRSLRKGYRPVFSSPPGYI0QIIMHKDRGOPANEETEDGGSSNGORYMPHPJAY
 700 710 720 730 740 750
 780 790 800 810 820
 IHFLIROLIRLLTWHFSNCRTLLSRSAYAIOPLFOIRLSATGEGFVEVLRLRELTLYOGWS
 :
 IHFLIROLIRLLTLYSICRDLLSRSFLTLQIYI0NLRDV-----LRLRATFLQYGC
 760 770 780 790 800
 840 850 860 870 880
 YFDEAOVAA---RDLRORLRA---RGEKLHEALGORGHMIALPPIROGELLT
 :
 WIGEAFDAARARATRETLAGACRC---LWRVLERICRGILVALYPRRIROGAEFALL
 810 820 830 840 850

【 図 4 a 】

10 20 30 40 50
 VQHKKEIAVYFPGDRDNKIEWMGNRSVLSCKKADDELEKIRLPRPGKKYKMLVHHVWAA
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 MCGRNSVLRGKKADELERLRLPRGKKYKYLHVWAA
 10 20 30

 70 80 90 100 110
 ELDRFLGAESSLNKECCOKLISVAPLWTGSENLKSYCIVTMCHAEVKVHTE
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 KLDRLGAESSLLESKEGQKILTYLDPHYPTGSENLKSLFNTYCVINCIMAEKVKDTEG
 40 50 60 70 80 90

 130 140 150 160 170
 AKOIVORHLWVETGTAEKPSTRTPAFSSKEGQKLYPPVHGVHNTYPLSPRTLNHWK
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 AKQIVVRKHLVAETGTAEKPSTRTPAFSSKEGQKLYPPVHGVHNTYPLSPRTLNHWK
 100 110 120 130 140 150

 190 200 210 220 230
 LIEEKKFGAEVYSGFQALSEGGCLPYOINQMLNCYGDHOAHAAIIDIROIINEEAADHDLQHP
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 LVEEKKFGAEVYSGFQALSEGGCLPYOINQMLNCYGDHOAHAAIIDIROIINEEAADHDLQHP
 160 170 180 190 200 210

 250 260 270 280 290
 QQAPOQ-QGLREPSGSDIAGTTSTVEEQIOWHRYRQONPIPVGNIYRRWIGLGLOKCVRM
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 IPGPLQAGLREPSGSDIAGTTSTVEEQIOWHRYRQONPIPVGNIYRRWIGLGLOKCVRM
 220 230 240 250 260 270

 300 310 320 330 340 350
 NPTNLIQDKGPKEPFOSYWDRFYKSLRAEQDPAVKNMHTQILLIONANPDCKLVLKGL
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 NPTNLIQDKGPKEPFOSYWDRFYKSLRAEQDPAVKNMHTQILLIONANPDCKLVLKGL
 280 290 300 310 320 330

 360 370 380 390 400 410
 GTNPTLEMLTACQGVGPGQPKARLMAEALKELAPAPIFAAAQQGPKRPKINCKWNCGK
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: ::::::::::::::::::::: :::::::
 GRNPTLEMLTACQGVGPGQPKARLMAEALKELAPAPIFAAAQQGPKRPKINCKWNCGK
 340 350 360 370 380 390

【 义 4 b 】

【 5 b 】

(5 c)

【 図 5 a 】

〔 図 6 〕

10 20 30 40 50
 NEEKEKRHIVVPTWTRIPERLERKHHSLINKYKTKDLOKACYPPHHKVGWANHWTCSRIVPP
 11 22 33 44 55 66 77 88 99 100 111
 HEEDKRHIVVPTWTRIPERLERKHHSLINKYKTKDLOKACYPPHHKVGWANHWTCSRIVPP
 10 20 30 40 50
 70 80 90 100 110
 LQEGSHLVEQYNNLTPRCPGWLSTYAVRPTWYKSDFWIDVTPYEAIDLHSTYPCFCTAG
 71 82 93 104 115 126 137 148 159 170 181
 LKGNSHLEI0AYWNLTPEKGWLSSSYVRITYMTEKFWTDVTPCADVLTHSTYPCFTAG
 70 80 90 100 110
 130 140 150 160 170
 EVRRAIRGERLSSLCCRFPRAHKHOVPSLOYALRVRVSH-YRSGOPENTHKQQRNRRNRLS
 141 152 163 174 185 196 207 218 229 240 251
 EVRRAIRGEKLLSCCNYPRAHQAQVPSLFLAQVWQONDPRQRDSTTKRQRDRYRGL
 130 140 150 160 170
 180 190 200 210
 YRQAKNSRQGDGRGKPPTEANGFPGLAKVLGILA
 191 202 213 224 235 246 257 268 279 280 291
 RLAKDOSRSKHKRSSESPTRPTYFPGAEVLEILA

【図 7】

【 図 8 】

【 四 9 】

【 図 1 0 】

【 図 1 1 】

```

10      20      30      40      50
HRSHTCEEFLRRRLRLHLLHOTSKYGLSWKSAAVRHLLYDOPPTSGSANRROKRRRM
1      11      12      13      14      15      16      17      18      19
HNERADEEGLQRKRLRLHOTHN-----PYPOGPGTASORRNRRRM
10      20      30      40

```

70 80 90 100 110

RORWOLLLALADREYSFPDPTOTPLDLAICOLNLAIESTOPPTNIPFACOLRKRIR

111 112 113 114 115 116 117 118 119

KORMWORILALADSIYTFFDPDPADSPLODUTIOHLOGLTIQELPDPPTHLPESORLAET

50 60 70 80 90 100

SPGA

フロントページの続き

(72)発明者 フランソワ・クラベル

アメリカ合衆国、ロツクビル・エム・デー・20852、ポートリー・ドライブ・12103

(72)発明者 ピエール・ソニゴ

フランス国、75015・パリ、リュ・ギュタンペール・23

(72)発明者 ミレイユ・ギアデール

フランス国、75017・パリ、リュ・ロジエ、68

(72)発明者 ピエール・ティオレ

フランス国、75013・パリ、リュ・ドウ・ラ・グラシエール・16

(72)発明者 リザ・シヤクラバルティ

フランス国、75005・パリ、リュ・デ・トロワ・ポルト・16

(72)発明者 ロナルド・デイスロジヤーズ

アメリカ合衆国、マサチューセッツ・01749、ユーデイサン、コースウェイ・ストリート・1
3

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA35 CA04

4C085 AA03 BB11 CC08 CC21 EE01 GG01

4H045 AA11 BA17 BA18 CA05 DA86 EA20

(54)【発明の名称】ヒト免疫不全レトロウイルス(ウイルスHIV)に対して誘導された抗体により認識できるペプチド、及び前記ウイルスの或る種に起因する感染の診断、場合によってはエイズに対するワクチン接種における該ペプチドの使用。

专利名称(译)	被人抗逆转录病毒 (HIV 病毒) 诱导的抗体识别的多肽 , 诊断由同一病毒种类引起的感染 , 在某些情况下 , 使用相同的多肽接种辅助疫苗		
公开(公告)号	JP2004002421A	公开(公告)日	2004-01-08
申请号	JP2003140638	申请日	2003-05-19
[标]申请(专利权)人(译)	巴斯德研究所		
申请(专利权)人(译)	Ansuteiteyu过去的羊毛		
[标]发明人	マルク・アリゾン リュック・モンタニエ ドゥニーズ・ゲタール フランソワ・クラベル ピエール・ソニゴ ミレイユ・ギアデール ピエール・ティオレ リザ・シヤクラバルティ ロナルド・デイスロジヤーズ		
发明人	マルク・アリゾン リュック・モンタニエ ドゥニーズ・ゲタール フランソワ・クラベル ピエール・ソニゴ ミレイユ・ギアデール ピエール・ティオレ リザ・シヤクラバルティ ロナルド・デイスロジヤーズ		
IPC分类号	A61K39/21 A61K38/00 A61K39/00 A61K39/235 A61P31/12 A61P31/18 C07H21/04 C07K7/06 C07K7/08 C07K14/00 C07K14/155 C07K14/16 C07K14/705 C07K14/76 C07K16/00 C07K19/00 C12N7/00 C12N15/09 C12P21/02 C12Q1/68 C12Q1/70 G01N33/53 G01N33/569		
CPC分类号	A61K39/00 A61P31/12 A61P31/18 C07K7/06 C07K14/005 C12N7/00 C12N2740/15022 C12N2740/16122 C12N2740/16222 C12Q1/703 G01N33/56988 G01N2333/162 G01N2469/20		
FI分类号	C07K14/155.ZNA A61K39/00.H A61P31/18 C12N15/00.A		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/BA35 4B024/CA04 4C085/AA03 4C085/BB11 4C085/CC08 4C085/CC21 4C085/EE01 4C085/GG01 4H045/AA11 4H045/BA17 4H045/BA18 4H045/CA05 4H045/DA86 4H045/EA20		
优先权	07/003764 1987-01-16 US 1987001739 1987-02-11 FR 1987005398 1987-04-15 FR		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

要解决的问题 : 为一种人类免疫缺陷病毒 (HIV) 引起的感染做出诊断。解决方案 : 这是为了提供由人免疫缺陷病毒在人体内诱导的抗体识别的抗原肽 , 具有免疫原性的肽 , 这些肽在制备用于诊断特定形式的艾滋病潜伏期的组合物中的用途就人而言 , 这些肽中的特定肽在用于诊断与人有关的特定形式的 AIDS 的体外诊断方法中的用途 , 以及这些肽在构成诊断试剂盒中的用途。 ↗

