

(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 I

C O 7 K 14/155 Z N A
 A 6 1 K 39/00 H
 A 6 1 P 31/18
 C 1 2 N 15/00 A

テーマコード (参考)

4 B O 2 4
 4 C O 8 5
 4 H O 4 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
(22) 出願日	平成15年5月19日 (2003.5.19)		アンステイテユ・パストゥール
(62) 分割の表示	特願平11-99449の分割		フランス国、75015・パリ、リュ・ド
原出願日	昭和63年1月15日 (1988.1.15)		ユ・ドクトゥール・ルー、25-28
(31) 優先権主張番号	003764	(74) 代理人	100062007
(32) 優先日	昭和62年1月16日 (1987.1.16)		弁理士 川口 義雄
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(72) 発明者	マルク・アリゾン
(31) 優先権主張番号	8701739		フランス国、75005・パリ、リュ・ド
(32) 優先日	昭和62年2月11日 (1987.2.11)		ユ・カルデイナル・ルモワヌ・71
(33) 優先権主張国	フランス (FR)	(72) 発明者	リュック・モンタニエ
(31) 優先権主張番号	8705398		フランス国、92350・ル・プレシ・ロ
(32) 優先日	昭和62年4月15日 (1987.4.15)		バンソン、リュ・ドウ・マラブリ・21
(33) 優先権主張国	フランス (FR)	(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
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ヒト免疫不全レトロウイルス (ウイルスH I V) 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

(57) 【要約】

【課題】 ヒト免疫不全ウイルス (H I V) 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】

H I V - 2 のエンベロープタンパク質と共通な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 - - - V T V - Y G V P - W - - A T - - L F C A - Z 又は
X V T V - Y G V P - W - - A T Z

[式中、X 及び Z は O H 基もしくは N H₂ 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

CTQYVTVFYGVPTWKNAT I P L F C A T

10

VTVFYGVPTWKNAT

CIQYVTVFYGVPAWRNAT I P L F C A T

VTVFYGVPAWRNAT

EKLWVTVYYGVPPVWKEATTTLFCAS

VTVYYGVPPVWKEAT

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]

20

(2) X---E--L-NVTE-F--W-NZ 又は

XL-NVTE-FZ

[式中、X 及び Z は O H 基もしくは N H₂ 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

PNPQEVVLNVNTENFNMWKN

30

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 O H 基もしくは N H₂ 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

40

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

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-DPEVTFMWTNCRGEFLYCKMNWFLN

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。

【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。

【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。

30

【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。

40

【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。

【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。

50

【 0 0 0 6 】

【 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、*Science*, 220 no. 45-99, 20, 868-871 ページで、F. Barre Sinooussi 他によっても記述されている。

【 0 0 0 7 】

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

【 0 0 0 8 】

【 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（immortalises）」細胞を好ましいターゲットとする。
- Mg^{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（dT）12 - 18）に対して大きな活性を示す。

- ショ糖勾配で 1 . 16 ~ 1 . 17 の密度を有する。
- 平均直径が 139 ナノメートルであり、且つ平均直径 41 ナノメートルの核を有する

20

- これらウイルスの溶解物（lysat）が H T L V - 1 のタンパク質 p 24 と免疫学的に交差反応しないタンパク p 25（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 42 を含む。

- 分子量 110,000 のエンベロープタンパク質 gp 110 も含む。

【 0 0 0 9 】

欧州特許 No . 87 / 400 , 151 , 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

【 0 0 1 0 】

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腺症又はエイズを引き起こすという特徴を有する。

【 0 0 1 1 】

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。

- Mg^{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（dT）12 - 18）に対して大きな活性を示す。

40

- ショ糖勾配で 1 . 16 の密度を有する。

- 平均直径が 140 ナノメートルであり、且つ平均直径 41 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 24 と免疫学的に交差反応しないタンパク質 p 26 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

50

タンパク質 p 1 9 により免疫学的に認識されないタンパク質 p 1 6 も含む。

- H T L V - I の g p 1 1 0 とは免疫学的に交差反応しないが、S T L V - I I I (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 g p 1 4 0 とは免疫学的に交差反応する分子量約 1 3 0 , 0 0 0 ~ 1 4 0 , 0 0 0 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 3 2 , 0 0 0 から 4 2 , 0 0 0 ~ 4 5 , 0 0 0 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 3 6 , 0 0 0 の抗原と分子量約 4 2 , 0 0 0 の抗原とを含み、これら抗原 (p 3 6 及び p 4 2) の一方がウイルス H I V - 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。

- H I V - 2 のゲノム R N A が緊縮条件下で H I V - 1 のゲノム R N A とハイブリダイズしない。 10

- 非緊縮条件下で H I V - 2 のゲノム R N A が H I V - 1 の e n v 遺伝子及びその隣の L T R と、H I V - 1 のゲノムの p o l 領域の配列ともハイブリダイズしない。

- 非緊縮条件下で、H I V - 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。

【 0 0 1 2 】

以前は S T L V I I I という呼称で知られており、現在は S I V - 1 と称する別のレトロウイルスは、アカゲザル (s i n g e m a c a q u e r h e s u s) から単離された (M . D . D a n i e l 他 , S c i e n c e 2 2 8 , 1 2 0 1 (1 9 8 5) 、 N . L . L e t w i n 他 , S c i e n c e 2 3 0 , 7 1 (1 9 8 5) 、 “ S T L V - I I I m a c ” という呼称で)。 20

【 0 0 1 3 】

野性ミドリザルからは更に別の “ S T L V - I I I _{A G M} ” (又は S I V _{A G M}) 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、” S T L V - I I I _{A G M} ” 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はないと推測される。

【 0 0 1 4 】

1 9 8 6 年 2 月 7 日にはレトロウイルス S I V - 1 m a c の株が番号 I - 5 2 1 で C N C M に寄託された。研究の結果レトロウイルス S I V - 1 は、H I V - 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 S I V - 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 S T L V - I I I と命名された (前出の文献参照)。 30

【 0 0 1 5 】

便宜上、これらのウイルスは以下の説明では S I V (英語の “ S i m i a n I m m u n o d e f i c i e n c y V i r u s ” (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 M A C (又は m a c)、アフリカミドリザルであれば A G M (“ A f r i c a n G r e e n M o n k e y ” の略字)を付加して示すことにする。

【 0 0 1 6 】

前述の方法と同じ方法を使用して調べたところ、S I V - 1 m a c 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 2 7 キロダルトンの主要核タンパク質 p 2 7。

- エンベロープの主糖タンパク質 g p 1 4 0。

- トランスメンブランと思われるタンパク質 p 3 2。このタンパク質は、ウイルスを予め 3 5 S - システインで標識しておくとも R I P A では殆ど観察されないが、ウェスタン法では広い帯の形態で観察され得る。

【 0 0 1 7 】

【 発明を解決するための手段 】

前述のウイルス H I V - 2 及び S I V を更に深く研究した。その結果レトロウイルス H I V - 2 に関しては、該レトロウイルスのゲノムの R N A の相補 D N A (c D N A) 配列も 50

得ることができた。H I V - 2 グループの代表的レトロウイルス (H I V - 2 R O D) の c D N A の完全ヌクレオチド配列を 1 9 8 6 年 2 月 2 1 日に番号 I - 5 2 2 、名称 L A V - I I R O D で C N C M に寄託した。

【 0 0 1 8 】

このヌクレオチド配列とその中に含まれる読取り枠 (p h a s e s d e l e c t u r e o u v e r t e) とを図 1 A に示す。

【 0 0 1 9 】

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 S I V のゲノム R N A から誘導した c D N A についてこれが得られた。ウイルス S I V - 1 m a c 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 S I V (D a n i e l 他により S c i e n c e (1 9 8 5) , 2 2 8 , p . 1 2 0 1 - 1 2 0 4 に記載の単離体 S T L V - I I I m a c 1 4 2 - 8 3) に感染した細胞 H U T 7 8 の D N A を制限酵素 S a u 3 A 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 L a m b d a E L B L 3 の B a m H I 位にクローニングしてゲノムライブラリー (b a n q u e g e n o m i q u e) 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 L a m b d a - R O D 4 、 L a m b d a - R O D 3 5 及び E 2 (C l a v e l 他 (1 9 8 6) , N a t u r e , 3 2 4 , p . 6 9 1) に由来するウイルス H I V - 2 の配列を用いて、安全性 P 3 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。

【 0 0 2 0 】

5 0 の 5 × S S C でハイブリダイゼーションを行い、5 0 の 2 × S S C 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 L a m b d a - S I V - 1 と称する。このファージ L a m b d a - S I V - 1 の挿入体は全体で 1 6 . 5 k b の大きさを有し、左方 L T R の最初の 2 5 0 個の塩基が欠失しているだけで右方 L T R は完全である組込みプロウイルスを含む。

【 0 0 2 1 】

この組込みプロウイルスを、ファージ M 1 3 m p 8 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。3 0 0 個のサブクローンが解析された。

【 0 0 2 2 】

プラスミド p S I V - 1 . 1 及び p S I V - 1 . 2 に挿入したクローン L a m b d a - S I V - 1 に由来する c D N A フラグメントを、1 9 8 7 年 4 月 1 5 日に番号 I - 6 5 8 (p S I V - 1 . 1) 及び I - 6 5 9 (p S I V - 1 . 2) で C N C M に寄託した。

【 0 0 2 3 】

結果を添付図面に示した。

【 0 0 2 4 】

これらの図面のうち、図 1 B は S I V のウイルスゲノムのヌクレオチド配列と、遺伝子生成物 g a g 、 p o l 、 e n v 、 Q 、 X 、 R 、 t a t 、 a r t 、 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。

【 0 0 2 5 】

図 3 から図 1 1 及び図 1 C は、ウイルス遺伝子及び L T R の理論的生成物を H I V 2 と S I V m a c との間で比較している (S I V - 1) 。

【 0 0 2 6 】

本発明は、S I V - 1 の完全ゲノムに由来する c D N A から得られる c D N A フラグメントにも係わる。これらのフラグメントは、c D N A 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 1 B に示し、該ウイルスの L T R 配列に関するものは図 1 C に示した。

【 0 0 2 7 】

L T R 配列 (図 1 C) に関しては、S I V の c D N A のヌクレオチド配列をウイルス H I

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 1 1 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プとして使用することにも係わる。これらのプロープ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プは、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。

10

【 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プは前述のプロープには限定されない。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プとして使用し得る。

【 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、前記プロープ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プとハイブリダイズできるような状態になっていれば、これらプロープ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、前記プロープ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 i n v i t r o 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プの混合物を用いて実施することもできる。

20

30

【 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プの 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 8 7 / 4 0 0 , 1 5 1 , 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

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、H I V - 2 のコアタンパク質 (g a g タンパク質) は H I V - 1 のコアタンパク質に対してエンベロープタンパク質 (e n v タンパク質) より小さい差を示す。全体的に言えば、H I V - 2 の e n v タンパク質はウイルス H I V - 1 の対応 e n v 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。

【 0 0 3 7 】

これに対し、ウイルス H I V - 2 及び S I V の c D N A 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。

【 0 0 3 8 】

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

【 0 0 3 9 】

H I V - 2 のエンベロープの主糖タンパク質は、免疫学的には、H I V - 1 のエンベロープの主糖タンパク質よりも S I V 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。

【 0 0 4 0 】

これは分子量レベル、即ち H I V - 2 及び S I V の主糖タンパク質が 1 3 0 ~ 1 4 0 キロダルトンであるのに対し H I V - 1 の主糖タンパク質が約 1 1 0 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、H I V - 2 に感染した患者から採取した血清、より特定のには H I V - 2 の g p 1 4 0 に対して形成された抗体は S I V - 1 m a c の g p 1 4 0 を認識するが、これと同じ血清及び同じ H I V - 2 抗体が類似のテストで H I V - 1 の g p 1 1 0 を認識することはないからである。H I V - 2 の g p 1 4 0 と反応しなかった抗 H I V - 1 血清は H I V - 2 抽出物の中に含まれる 3 5 S - システインで標識された分子量 2 6 キロダルトンのタンパク質を沈降させる。 20

【 0 0 4 1 】

H I V - 2 の主コアタンパク質は、H I V - 1 の p 2 5 と S I V の p 2 7 との中間の平均分子量 (約 2 6 , 0 0 0) を有すると思われる。

【 0 0 4 2 】

これらの所見は、前述のごとき患者の 1 人から単離した H I V - 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 H I V - 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

【 0 0 4 3 】

研究を更に進めた結果、本発明者等は H I V - 2 又は S I V 、更には H I V - 1 のタンパク質 g a g 及び e n v 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 H I V - 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。

【 0 0 4 4 】

そこで本発明は、より特定のにはウイルス H I V - 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 H I V - 2 又はその変異体に対する抗体の i n v i t r o 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 H I V - 2 による感染とウイルス H I V - 1 による感染との相違をより明確に示してくれる。 40

【 0 0 4 5 】

このような研究の推進の結果、H I V - 1 及び H I V - 2 の両者の e n v タンパク質を認識し得る抗体の産生を i n v i v o 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 H I V - 1 にもウイルス H I V - 2 にも結合して主にこれらウイルスの中和をより特定の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 H I V 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。

【 0 0 4 6 】

【 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単一文字（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
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
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

10

20

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。

30

【 0 0 4 7 】

説明の便宜上これらのペプチドは、場合に応じて特定のH I V - 1、H I V - 2又はS I Vのe n vもしくはg a g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e n v又はg a gで表すことにする。

【 0 0 4 8 】

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、

40

- 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。

【 0 0 4 9 】

本発明のペプチドはH I V - 2の抗原と共通の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H I V - 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。

50

これら本発明のペプチドの特徴は、S I V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。

env 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

env 2

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

env 3

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

10

env 4

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

env 5

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

env 6

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

env 7

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

env 8

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

20

env 9

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

env 10

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

env 11

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

本発明はより特定のには下記のペプチドに係わる。

env 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

env 2

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

30

env 3

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

env 4

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

env 5

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

env 6

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

env 7

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

40

env 8

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

env 9

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

env 10

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

env 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

env 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

env 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

env 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 env 1、env 2、env 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)。

env 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

env 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：

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 又は N

i は A 又は M

j は N、K 又は E

o は Q 又は S

env 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 又は W

b は E 又は D

c は T 又は Q

d は I 又は L

e は A、S 又は T

f は M 又は L

10

20

30

40

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 又は I

g は K 又は S 又は N 又は G

h は G 又は R 又は E

i は - 又は A 又は T

j は K 又は N 又は D 又は S

k は D 又は A 又は N 又は K 又は E

w は N、D 又は I

x は R 又は G 又は K

y は Q 又は K 又は R

z は K 又は E 又は Q 又は N

e n v 10

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 又は V

e は H 又は R

f は I 又は F

g は T 又は M

h は H 又は Q 又は A

i は K 又は E

j は R 又は K

k は N 又は A

l は V 又は M

w は P 又は Q

x は N 又は K

y は W 又は V

z は V 又は T 又は K

o は K 又は 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 No . 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变化させない範囲で、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变化させない範囲で、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。

10

【 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通の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 4 0 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

RVT AIEKYLQDQARLNSWGCAFRQVC

AIEKYLQDQ

RVSAIEKYLKDQAQLNAWGCAFRQVC

AIEKYLKDQ

env2

SLEQAQIQQEKNMYELQKLNSW

QIQQEKN

LLEEAQIQQEKNMYELQKLNSW

env3

ELGDYKLV EITP IGFAPTEEKRYSSAH

YKLV EITP IGFAPTEK

ELGDYKLV EITP IGLAPTNVKRYTTG-

YKLV EITP IGLAPTNVK

env4

CTQYVTVFYGVPTWKNAT IPLFCAT

VTVFYGVPTWKNAT

CIQYVTVFYGVPAWRNAT IPLFCAT

VTVFYGVPAWRNAT

EKLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCAS

VTVYYGVPVWKEAT

EDLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCAS

VTVYYGVPVWKEAT

DNLWVTVYYGVPVWKEATTTLFCAS

VTVYYGVPVWKEAT

env5

DDYQE I TL-NVTEAFDAWNN

L-NVTEAF

DDYSELAL-NVTE\$FDAWEN

10

20

30

40

L-NVTESF

PNPQEVVLVNVTFENFMWKN

LVNVTFEN

PNPQEIENVTETGFNMWKN

LENVTETGF

PNPQEIENVTENFMWKN

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

40

YCAPAGFAILKCRDKK

env9

NKRPRQAWCWFKG-KWKD

NERPKQAWCRFGG-NWKE

N--MRQAHCNISRAKUNA

D--IRRAYCTINETEWDK

I--IGQAHCNISRAQWSK

env10

KGS DPEVAYMWTNCRGEFLYCNMTWFLN

NCRGEFLYCN

GG-DPEVTFMWTNCRGEFLYCKMNWFLN

NCRGEFLYCK

-GGDPEIVTHSFNCGGEFFYCNSTQLFN

NCGGEFFYCN

-GGDPEITTHSFNCRGEFFYCNSTSKLFN

NCRGEFFYCN

-GGDPEITTHSFNCGGEFFYCNSTGLFN

NCGGEFFYCN

env11

RNYAPCHIKQIINTWHKVGRNVY

CHIKQII

RNYVPCHIRQIINTWHKVGNVY

CHIRQII

TITLPCRQKQFINMWQEVGKAMY

CRQKQFI

SITLPCRQKQFINMWQKTCKAMY

CRQKQII

NITLQCRQKQIEMVAGR-KAIY

CRQKQII

gag1

DCKLVLEGLGTNPTLEMLTA

本発明のペプチドは更に有利になことに、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。

【 0 0 5 6 】

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

10

20

30

40

, Stuttgart 1974でHOUVENWEYL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その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-ブチルエステルで保護する。

10

【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にするが好ましい。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。

20

【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。

30

【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。

40

【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。

50

【 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、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。 20

【 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。

e n v 1 をコードする配列 ヌクレオチド 7 8 5 0 ~ 7 9 2 7

e n v 2 " " 8 0 3 0 ~ 8 0 9 5

e n v 3 " " 7 6 0 1 ~ 7 6 3 6

e n v 4 " " 6 1 7 0 ~ 6 2 4 7

e n v 5 " " 6 2 9 4 ~ 6 3 4 9

e n v 6 " " 6 3 9 2 ~ 6 4 4 5

e n v 7 " " 6 7 2 4 ~ 6 7 6 3

e n v 8 " " 6 7 9 4 ~ 6 8 3 8

e n v 9 " " 7 1 1 2 ~ 7 1 6 2

e n v 1 0 " " 7 2 5 3 ~ 7 3 3 6

e n v 1 1 " " 7 3 5 8 ~ 7 4 2 6

g a g 1 " " 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。 30

【 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ア分子（天然又は合成）とを、これらキャリア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ア分子又は高分子支持体の具体例としては、破傷風アノトキシン、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 20,000より大きい分子量を有する。 10

【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ア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、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, HCl]、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 Scand. J. Immunol., (1978), Vol. 8, p. 7-23 (AVRAMEAS, TERNYNCK, 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。 20

【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ア分子の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ア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。 40
第1のグループ(I)はペプチド gag 1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。

【0083】

第2のグループ(II)は、より特定の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 env 1、env 2 及び env 3 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、より特定のには 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る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。

10

【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(IFAタイプ)、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。

20

【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、

30

- 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ってよい。

40

【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髓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。

50

【 0 0 9 4 】

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、又はキャリア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み合わせにより、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。

【 0 0 9 5 】

ワクチン製造用の前記免疫原組成物は、より特定のには前記ペプチド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

【 0 0 9 6 】

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。

【 0 0 9 7 】

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

【 0 0 9 8 】

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

env7

X N - S - I - Z

env10

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

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。

30

40

【 0 0 9 9 】

本発明はより特定のには、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。

【 0 1 0 0 】

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。

【 0 1 0 1 】

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10～500 µg/kg、好ましくは50～100 µg/kgになるような用量で投与し得る。

【 0 1 0 2 】

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、H I V - 2、S I V又はH I V - 1の別の変異体のc D N Aの領域中の、H I V - 2 R O D、S I V及びH I V - 1 B R U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、C N C Mに寄託されたc D N A、特に寄託番号I - 5 0 2、I - 6 4 2（H I V - 2 I R M O）、I - 6 4 3（H I V - 2 E H O）における前述のごとき領域、並びに場合によつてはC N C Mに番号I - 2 3 2、I - 2 4 0、I - 2 4 1、I - 5 5 0、I - 5 5 1で寄託されたH I V - 1変異体のc D N A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。

10

【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）。

XRVAIEKYL-DQA-LN-WGCAFRQVCZ

XAIEKYL-DZ

X-LE-AQIQQEKNNMYELQKLNSWZ

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

30

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

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S I Vペプチド以外に、ウイルスS I Vのc D N A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S I V - 1 m a c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c D N A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

【 0 1 0 5 】

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 1 0 に示したタンパク質 *T A T*。

10

【 0 1 0 6 】

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。

【 0 1 0 7 】

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。

【 0 1 0 8 】

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。

20

- <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
7		
- X	"	" 5 2 9 8 ~ 5 6 3
3		
- R	"	" 5 6 3 7 ~ 5 9 3
9		
- F	"	" 8 5 6 9 ~ 9 3 5
4		
- T A T - 1	"	" 5 7 8 8 ~ 6 0 8
4		
- A R T - 1	"	" 6 0 1 4 ~ 6 1 3
0		
- T A T - 2	"	" 8 2 9 6 ~ 8 3 9
1		
- A R T - 2	"	" 8 2 9 4 ~ 8 5 4
8		
- E N V	"	" 6 0 9 0 ~ 8 7 3
2		

30

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。

【 0 1 0 9 】

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H I V - 2抗体の存在を検出するのに使用できる。E N Vタンパク質は好ましくはH I V - 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H I V - 2又はH I V - 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H I V - 2に対する抗体、及び場合によってはH I V - 1に対する抗体も検出する*in vitro*診断の方法にも係わる。S I V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H I V - 2に対する抗体、及び場合によってはH I V - 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S I VのE N Vタンパク質の一部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ア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H I V - 2のタンパク質、更にはレトロウイルスH I V - 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、S I Vタンパク質の診断に使用できるのはE N V又はG A G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】H I V - 2 R O Dのc D N A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】H I V - 2 R O Dのc D N A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】H I V - 2 R O Dのc D N A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】H I V - 2 R O Dのc D N A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】H I V - 2 R O Dのc D N A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】H I V - 2 R O Dのc D N A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】H I V - 2 R O Dのc D N A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】H I V - 2 R O Dのc D N A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】H I V - 2 R O Dのc D N A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】S I Vのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物g a g , p o l , e n v , Q , X , R , t a t , 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である。

【図1B2】S I Vのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物g a g , p o l , e n v , Q , X , R , t a t , 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である。

【図1B3】S I Vのウイルスゲノムのヌクレオチド配列とgene生成物g a g , p o l , e n v , Q , X , R , t a t , 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である。

【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関し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関し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関し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関し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関し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。

[illegible]

【 図 1 B 1 】

AGTCGGCTGCGGAGAGGGTGGCAAGATGACCGCTTGAGGCTTCTCTCCAGCATAGCA
 GTACACCGTGGGCTTCCCTCGTACGCTTCAACAGACATCGGCGGCTGCGGACAGAT
 GTGCTCGACGCTTGTCTGTTAAAGACGCTTCAATAAAAGCTGCAATGTAGAACTAAGTA
 GTGTGTCTTGCCGATCTCTCTAGTCCGGCGCTGGTCAACTGGTATCGGTATGATAAAAG
 ACCCTGGTCTGTAGACAGCTTGGTGTGTAGGACCGCTTCTGCTGTGGGAACCGAGCA
 GGAAATTCCTACAGAGATGGCGCCGCAACAGGAGCTTGAAGCAGGCTGAGACATCTGT
 ATACGGCTTGATGAGGCGATGAGGGCGAGGAACACGACGAGGCTGGCTCTAGT
 AATGCGCGCGGTCGCTACGACGGCGCTGAGCAGCGGGCAAGCAGGCGCTCTGGTGT
 CAGCTAAGCTCAACACAAAAGGAATAGCTCTTTATCTAGGAAGGAAGATAAATAGT
 GAGGAGTETATLALARGANSINERVALLEUSERGTLVYLSYLAASPLGLVLE
 AGAGTGGGATCGGGCGGCAAACTCCGCTGTCCAGGAAGAAGACATGAATATG
 VYLSLEARGLEUARPGRDGLVGLYSYLYSTYRMELEUYSYLSYVALVATLTPGL
 AAAATATGACTACGACCGCCGCGGAAGAASAAAGTACATGTGGAAGCTATGATATRRP
 ALAASNGLEUASPARPHEGLVLEUALAGUSERLEUGLVAASLYSGLUGLYYS
 AGCAATGAATATGATAGATGATTGATTACAGCAAGAAGCTGTGGCAACAAGAAGGATG
 GLMYLSILEUASINERVALLEAPROLEUVALPROTHRYGERSLGUAAASLYYSER
 TCGMSAATAACTTTCGCTCTAGCTGCTATGTCGACAGCGCTCGAAGAAATTTAAAG
 LEUTRYASTHRYVALCYSLILETRPCTLYSLEHLSALAGLUGLYLSYLYSYSTH
 CTCTATAAATCTCTCGCTCATTTGCTGGCATTCGACGAGAAGAAAGCTGAACACAC
 GCUUVALVLYSGNLNILEGLNAGHLSLCAUVALTETGLUETHRGLVTHRALAGL
 TCGAGCAAAAACAGCATGACGAGAACAACATGCTGAGGAACGAAGCAAGCAAG
 METPROLYSTHRSERAGPROTHRALAPROPIHESERGLYAREGLVGLYASNYPRVAL
 TATCGCAAAAACAGTACGACACAGCAACCATTTACGGCGAGGAAGGAATATACCG
 GLNHLNILEGLVGLYASNYKTRHISLEUAPROLEUYSERPROKTRHEUASALNATP
 ACAGAAATGCTGGTGAATCATATCCCACTACCATATACCGCGGAGCATATTAATGCTG
 VALLYSLEULEGLUGLYLSYLYSTHEDGLVAGLUALVYALSERGLVLEHNLAL
 GGTAAATATTAATGACAGCAAGAAATTTGAGCAGCAAGATGTGCGAGGATTCGAGCT
 SERGLUGLYLSLEUPROTRYASPILEASNGLEULEASUSYVALGLYASPHISGL
 GTCAAGAGGCTGGCTCGCTGACATTAATCAGATGTAAATGTTGTGGGACGACATCA
 ALALALAGLNLNILEGLNILEGLNILEASNGLUGLYLALAAASPTRAPSLLEU
 AGCGGCTATGACGATCATCAGACATATTATTAATGACGAGGAGCTGAGATGTGCGA
 HISPROGLNHLNAPROGLNOLNGLNGLVLEUARGAGLUPRDSERGLYERASPTLE
 CGCCGCAACAGCAATCCCAACAGGACAGCATAGGAGAGCTGCGGATCAGATAGATAT
 GLVTHRYSTHRYVALGLUGLUGLGLNGLNGLTGLNGLVTRPHTYHRAAGLNLNINPROLE
 AGCAACACTAGTACAGTACAGCAAGCAACTTCAGTATGATACAGCAACAGACCCCA

【 ㊦ 1 B 3 】

[illegible]

PHENE¹TRTPH²THRAS³NTSY⁴SARG⁵LG⁶UPLH⁷UPEU⁸LEU⁹TRC¹⁰YS¹¹LSME¹²TASN¹³TRP¹⁴MHEL¹⁵EUA¹⁶S¹⁷
CCTTCATCGTGCACAAATCTCCAGACGAGCATCTCTCATCATCTCTCA¹⁸AAATGCAATCTGGTTCCTTA¹⁹

7500

TRYPAL²⁰GLVSARG²¹SPER²²LEU²³TRH²⁴TRH²⁵RL²⁶NY²⁷SPR²⁸YSG²⁹LGU³⁰ARH³¹YS³²LSARG³³ASTY³⁴
ATTGGCGTAGACATAGAGCTCTAACTACCCAGAAGCCAAAGCAAGCCAGCTAARAAGCGCT³⁵

15000

VAL³⁶PRQ³⁷SH³⁸ILE³⁹LEU⁴⁰ARG⁴¹U⁴²LEU⁴³LY⁴⁴TRH⁴⁵TRH⁴⁶TRH⁴⁷RL⁴⁸YS⁴⁹LV⁵⁰AL⁵¹YS⁵²LV⁵³SN⁵⁴VAL⁵⁵
ACGTACCATGTATGATATAGACAATAATCAACACTTGGCCAAATACGATAGCGAAAAATGTT⁵⁶

22500

LEU⁵⁷PRD⁵⁸PRAG⁵⁹GLU⁶⁰LY⁶¹ASP⁶²LEU⁶³TRH⁶⁴YS⁶⁵TRH⁶⁶TRH⁶⁷TRH⁶⁸TRH⁶⁹TRH⁷⁰TRH⁷¹LEU⁷²AL⁷³AS⁷⁴
ATTTCGCTGACGACAGGAGGACACCTCACTCACTCACTCACTGACACATGACCATCTCATAGCA⁷⁵

30000

ILE⁷⁶ASN⁷⁷TRH⁷⁸TRH⁷⁹ASP⁸⁰LY⁸¹SNGL⁸²TRH⁸³SER⁸⁴ILE⁸⁵TRH⁸⁶TRH⁸⁷SER⁸⁸ACGL⁸⁹VAL⁹⁰AL⁹¹GL⁹²LE⁹³
ACATAAATGGCATGGCATGGAAACCAACTCACTCATCACTGACATGACATGACATGGCATGGCATGGCA⁹⁴

37500

TYR⁹⁵ARG⁹⁶LEU⁹⁷LEU⁹⁸LY⁹⁹SPY¹⁰⁰TRLY¹⁰¹LEU¹⁰²GLU¹⁰³LEU¹⁰⁴TRH¹⁰⁵PRD¹⁰⁶LEGL¹⁰⁷LY¹⁰⁸LEU¹⁰⁹
TGCTAGCTATGGGATATGGGCAATATAAATAGTACGAAGAAGCTCAATGGTGGCTGGCCG¹¹⁰

45000

THRASN¹¹¹LY¹¹²LY¹¹³ASRT¹¹⁴TRH¹¹⁵TRH¹¹⁶GLY¹¹⁷TRH¹¹⁸SER¹¹⁹ARG¹²⁰SNLY¹²¹LEU¹²²VAL¹²³PH¹²⁴LE¹²⁵
CCCAACATGTGAAGAGGCTACACTAGCTGGCCACCTCAACAAATAAAGAAGGGCTGTTT¹²⁶

52500

LEU¹²⁷LY¹²⁸PHEL¹²⁹EU¹³⁰LY¹³¹LEU¹³²AL¹³³TRH¹³⁴ACLY¹³⁵SER¹³⁶AL¹³⁷YSER¹³⁸AL¹³⁹GL¹⁴⁰VAL¹⁴¹ASER¹⁴²TRH¹⁴³
TGCTAGGGTCTTCTGGCTTCTTCGCAACGCGGACGCTTGCATAGTCGGCGGCGGCTGGTGA¹⁴⁴

60000

VAL¹⁴⁵TRHAL¹⁴⁶AGLN¹⁴⁷SERAR¹⁴⁸THR¹⁴⁹LEU¹⁵⁰VAL¹⁵¹GLY¹⁵²LY¹⁵³VAL¹⁵⁴GL¹⁵⁵NGL¹⁵⁶NGL¹⁵⁷NGL¹⁵⁸NGL¹⁵⁹LEU¹⁶⁰
CGCTGACCGCTCATCGCTCCGCAATCTATATGGCTGGGATAGCTGACGACACACCAACGCTG¹⁶¹

67500

ASP¹⁶²VAL¹⁶³LY¹⁶⁴SARG¹⁶⁵GLN¹⁶⁶LEU¹⁶⁷LEU¹⁶⁸LEU¹⁶⁹ARG¹⁷⁰LEU¹⁷¹TRH¹⁷²TRP¹⁷³LY¹⁷⁴TRH¹⁷⁵LY¹⁷⁶AS¹⁷⁷
TGCGATGGCTGCAAGACACCAAGAAGTCTTGGCATGACGCTTGGCGCTGGCGCAACCAAGCA¹⁷⁸

75000

GL¹⁷⁹TRH¹⁸⁰VAL¹⁸¹SER¹⁸²ALA¹⁸³ILE¹⁸⁴GLY¹⁸⁵LY¹⁸⁶LY¹⁸⁷LY¹⁸⁸LY¹⁸⁹LY¹⁹⁰LY¹⁹¹LY¹⁹²LY¹⁹³LY¹⁹⁴LY¹⁹⁵LY¹⁹⁶LY¹⁹⁷LY¹⁹⁸LY¹⁹⁹LY²⁰⁰LY²⁰¹LY²⁰²LY²⁰³LY²⁰⁴LY²⁰⁵LY²⁰⁶LY²⁰⁷LY²⁰⁸LY²⁰⁹LY²¹⁰LY²¹¹LY²¹²LY²¹³LY²¹⁴LY²¹⁵LY²¹⁶LY²¹⁷LY²¹⁸LY²¹⁹LY²²⁰LY²²¹LY²²²LY²²³LY²²⁴LY²²⁵LY²²⁶LY²²⁷LY²²⁸LY²²⁹LY²³⁰LY²³¹LY²³²LY²³³LY²³⁴LY²³⁵LY²³⁶LY²³⁷LY²³⁸LY²³⁹LY²⁴⁰LY²⁴¹LY²⁴²LY²⁴³LY²⁴⁴LY²⁴⁵LY²⁴⁶LY²⁴⁷LY²⁴⁸LY²⁴⁹LY²⁵⁰LY²⁵¹LY²⁵²LY²⁵³LY²⁵⁴LY²⁵⁵LY²⁵⁶LY²⁵⁷LY²⁵⁸LY²⁵⁹LY²⁶⁰LY²⁶¹LY²⁶²LY²⁶³LY²⁶⁴LY²⁶⁵LY²⁶⁶LY²⁶⁷LY²⁶⁸LY²⁶⁹LY²⁷⁰LY²⁷¹LY²⁷²LY²⁷³LY²⁷⁴LY²⁷⁵LY²⁷⁶LY²⁷⁷LY²⁷⁸LY²⁷⁹LY²⁸⁰LY²⁸¹LY²⁸²LY²⁸³LY²⁸⁴LY²⁸⁵LY²⁸⁶LY²⁸⁷LY²⁸⁸LY²⁸⁹LY²⁹⁰LY²⁹¹LY²⁹²LY²⁹³LY²⁹⁴LY²⁹⁵LY²⁹⁶LY²⁹⁷LY²⁹⁸LY²⁹⁹LY³⁰⁰LY³⁰¹LY³⁰²LY³⁰³LY³⁰⁴LY³⁰⁵LY³⁰⁶LY³⁰⁷LY³⁰⁸LY³⁰⁹LY³¹⁰LY³¹¹LY³¹²LY³¹³LY³¹⁴LY³¹⁵LY³¹⁶LY³¹⁷LY³¹⁸LY³¹⁹LY³²⁰LY³²¹LY³²²LY³²³LY³²⁴LY³²⁵LY³²⁶LY³²⁷LY³²⁸LY³²⁹LY³³⁰LY³³¹LY³³²LY³³³LY³³⁴LY³³⁵LY³³⁶LY³³⁷LY³³⁸LY³³⁹LY³⁴⁰LY³⁴¹LY³⁴²LY³⁴³LY³⁴⁴LY³⁴⁵LY³⁴⁶LY³⁴⁷LY³⁴⁸LY³⁴⁹LY³⁵⁰LY³⁵¹LY³⁵²LY³⁵³LY³⁵⁴LY³⁵⁵LY³⁵⁶LY³⁵⁷LY³⁵⁸LY³⁵⁹LY³⁶⁰LY³⁶¹LY³⁶²LY³⁶³LY

【 1 B 8 】

SERPHEPRDASPPRODPROTHASPTHEPROLEUASPLUVALTEGLNGENGLUENRASH
 HISPMELUJLEARGGLUUELEARGLEUELEUTHRIPLUPEHSEHASCNVSARGTHR
 TICATTTCCTGATCCGCCACTGATAGCCCTCTTGACCTTGGCTATTGACCACTGCAGAA
 LEUALILEGLUSERILEPROASPPRODPROTHASMLEPRDGLUALLEUCYSASPLU
 LEULEUSERAGLATTTCGLNILEGLUENPRODLEPEHCLNARGLUESEALATHTYR
 CCTTGCATCCAGCAGCATACCAAGATCCCAACCAATATTCCACAGGCTCTCGCACCT
 8500 F METGLYGLYALA
 ARGARGILEARGCGERPROGLNALA ● ART2 (Fin)
 GLYGLUPHEGLYGLUVALLEUARGLEUGLUUEUTHRIPLUPEHSEHASCNVSARGTHR
 ACGGAGAAATTCGGAAGCTCTCAGGCTTGAACTGACCTACATAATATGGCTGAGCT
 ILESERLYSLSARGSERLYSPRODPROGLUTLECYASPARCASPSERSEYGLYARGVAL
 PHEGLNGLUALYALGLNALAALAAARGASPLUEARGGLNARGLUEUARGALAAARGGLY
 ATTTCCAAAGAGCGCTCCAGGCGCCAGAGATCTCGCAGAGAGACTCTCGCGCGCGCTG
 8600
 GLYARGASNTRYGLYARGLEUPHEGLYGLYVALGLUASPGLYSERSEGLNLSERLEUGLY
 GLULYSLEUTRPLUVALLEUARGGLYGLYARGTRIPLEUUALILEPRDARGARG
 GGGAGAAATTCGGAAGCTCTTCAAAGGGGCGGAGATGCTCTCGCAATCCCTAGGA
 8700
 GLYLEUASPLYSGLYLEUSERSERLEUSERCYSGLUUGLYGLNLYTYRASNGLNGLYGLU
 ILEARGGLNGLYGLUUELEUTHRIPLU ●
 GGATTAGCAAGGCTTGCCTCCTCTCTTGAGGGCCAAAATACAAATCAGCGAGAA
 TYRMTASINTHRPRODTRPARGASNPADALAGLUUARGLYSLSLEUPROTYRARGLYS
 TACATGAATCTCCATGCGAAGAACCGAGCTGAAGAGAGGAAAAAATACCATACAGAAAA
 8800
 GLNASHILEASPSPILEASPGLUGLUASPSASPLUVALGLYILEPROVALGLUALA
 CAAATATAGATGATATAGTAGGAGAGATGATGATCTGCTAGGAGATCCAGTTGAGGCC
 9000
 ARGVALPROLEUARGTHMETSERLYRYSLEUALALEASPMETSERHISPMELILEYS
 AGATTCCCTTACGACATGAGTTACAATTTGGCAATAGATATGTCTCATTTATAA
 8900
 GLULYSGLYGLYGLUUGLYLETYRYSERLAAARGGARGHISARGILELEUASPILE
 GAAAGGGGGGAGCTCGAAGGATTTATTACAGTCAAGAAAGACATAGAACTCTTAGACATA
 9000
 TYRLEUGLYGLYGLUUGLYLEILEPRDASPTTRPGLNILEHISERGLYPROGLYILE
 TACTTAGAAAAGGAGCAAGGCTATACAGGATTTGGCAGATACATCTCGGACCGAGAAAT
 9100
 ARGTYRLEULYSMETHE ● TYRPLLEUTHRIPLU ● TYRLEUVALLEUVALSERASPLU
 AGATACCTAAAGATGTTTGGCTGGCTATGGAATTAATCCCTGTAAATGATACAGATGAG
 9200
 ALADNGLUASPGLUGLUHI ● TYRLEUVALHISPRDAGLNLNTHRSERGLNTRPASPAS
 GCACGAGGATGAGGAGCATTTATTAGTGGACCGAGCTCAACTCTCCAGCTGGGATGAG
 PROTRPGLYGLUVALLEUALATRPLYSPEASPPROTHLEUALATYRTHRYRGLUALA
 CCTTGGGCGAGGCTTACGATGGAAGTTTGTATCCAACTCTAGCTACATCTATGAGCA
 9200
 TYRILEARGTYRPROGLUUPHEGLYSERLYSERGLYUSERGLYGLYGLYGLYGLYGLY
 TATATTAGATCCCAAGAGGTTTGGAGCAAGTGGAGGCTCTGAGAGAAAGAGGTTAA
 9300
 ARGARGLEUALAALAAARGGLYLEUUGLUUETALAASPARGLYGLYGLYGLYGLYGLY
 AGAAGGCTAGGCGCAAGAGGCTCTCTTCAAAATGGCTGACAGGAGGAAATAGCTGAGAC
 ACGAGGAGCTTCCACAGGAGTGTATGCGGAGGCTAGCTGGGAGGAGCGGCTGGGAA
 9400
 CAGCCGACTTCTTGTATGATATAAGATACAGCTGATTTGCTGTATTCAGTGGCTGGC
 GAGAGGCTGGCAGATGAGGCTGGGAGGTTCTCTCAGGCTAGCAGGTAGAGGCTGGG
 9500
 TGTCTGCTGTAGCTCTCAGCAGCAGCTTGGCGGCTGCTGGGAGGCTGCTCAGGCTT
 9600

【 1 C 2 】

9360 9370 9380 9390
 -----AGCTGAGACAGCAGGAGCTTTCCACAGGGGATGTCATG-----GGGA
 GTAACTAACAGAAACAGCTCTGAGGAGCTTTCCAGAGGGGCTGTAAACAGGGGA
 9370 9380 9390 9400 9410
 9400 9410 9420 9430 9440 9450
 GGTACTGGGAGGAGGCGCTTGGGAGACCGGCTTTCTTGATGTATAAATATCAGTCA
 9400 9410 9420 9430 9440 9450
 GGGACATGGGAGGAGCTGCTGGGAGGCGGCTCATATCTCTGTATAAATATACCGCTA
 9430 9440 9450 9460 9470
 9460 XX 10 20 30 40
 TTGCTGCTGTA---TTCTGGAAGGATTTATTACAGTCAAGAGACATAGAACTTTAGAC
 9470 9480 9490 9500 9510 9520 9530 9540 9550
 GCTTGCATTTGATCTTCTGGAAGGAGATGTTTACAGTCAAGAGACATAGAAATCTTAAAT
 9490 XX 10 20 30 40
 50 60 70 80 90
 ATATACCTTAGAAAAGGAAGAGGCTCATACAGGATTTGGCAGATACACTCCGGA---CCA
 50 60 70 80 90 100
 ATATACCTTAGAAAAGGAAGGAGATATTGAGATTTGGCAGAACTACACTCATGGGCA
 50 60 70 80 90 100
 110 120 130 140 150
 GGAATTAGATACCTAAAGATTTTGGCTGGCTATGGAATTAATCCCTGTAAATGTATCA
 110 120 130 140 150 160
 GGAGTAAGATACCAATGCTCTTGGCTGGCTATGGAAGCTAGTACCAGTAGATGTCCTCA
 110 120 130 140 150 160
 170 180 190 200 210
 CATGAGGACAGGAGGAGGATGAGGAGCATATTATTAGTCAACCCAGCTCAAACTTCCAGTG
 170 180 190 200 210 220
 CAAGAAGGGAGGAGGACCTGAGGAGCTGCTAGTATCCAGCAGCAACAGCAAGGAGTTT
 170 180 190 200 210 220
 230 240 250 260 270
 GATGAGCCTTGGGAGAGGCTTATGATGGAAGTTTGTATCCAACTCTAGCTACACTTAT
 230 240 250 260 270 280
 GATACCCGAGTGGGAGAGACTAGTCTGGGAGTTGATCCCTTGGCTGCTATATGTTAC
 230 240 250 260 270 280
 290 300 310
 GAGGATATATTAGATACCCAGAGGATTTGGAAGCA
 290 300 310
 GAGGCTTTTATCGG
 290

【 1 C 1 】

X 8960 8970 8980 8990 9000 9010
 TGAAGGGATTTATTACAGTCAAGAGACATAGAACTTTAGACATATACCTAGAAAGG
 8960 8970 8980 8990 9000 9010
 TGAAGGGATTTATTACAGTCAAGAGACATAGAACTTTAGACATATACCTAGAAAGG
 X 8950 8960 8970 8980 8990
 9020 9030 9040 9050 9060
 AAGAAGGCATCATACAGATTTGGCAGATACACTCCGGA---CCAGGAATTAGATACCTAA
 9010 9020 9030 9040 9050
 AAGAAGGATAATTGCAAGATTTGGCAGAACTACACTCATGCGGAGGAGTAAATACCCAA
 9010 9020 9030 9040 9050
 9080 9090 9100 9110 9120
 AGATGTTTGGCTGGCTATGGAATTAATCCCTGTAAATGTATCAGATCAGGACAGGAGG
 9070 9080 9090 9100 9110
 TGTCTTTGGCTGGCTATGGAAGCTAGTACCAGTATGATGCTCCACAGAGGAGGAGGACA
 9140 9150 9160 9170 9180
 ATGAGGAGCATATTATTAGTCCAGCAGCTCAACTTCCAGTGGGATGAGCTTGGGAGC
 9130 9140 9150 9160 9170
 CTGAGACTCACTGCTTATGATACATCCAGCAGCAACAAAGCAAGTGTATGAGCAGCTATCGG
 9200 9210 9220 9230 9240
 AGGTTCTAGCATGGAAGTTTGTAGCTCAACTCTAGCTACACTTATGAGGATATATTAGAT
 9190 9200 9210 9220 9230
 AGACACTAGCTGGGAGTTTGTAGCTTGTGCTGGCTTATGATGAGGCTTTTATTCGGT
 9260 9270 9280 9290 9300
 ACCCAGAGAGGTTTGGAGCAAGCTAGGCTGAGCTGAGAGGAGGCTTAAAGAGAGGCTAG
 9250 9260 9270 9280 9290
 ACCCAGAGGATTTGGCAGCAAGCTAGGCTGAGCAGAGGAGGCTTAAAGAGAGGCTAG
 9320 9330 9340 9350
 CCGCAGAGGCTTCTGGAATGCTGAGCAGAGGAGGCTTAAAGAGAGGCTTAAAGAGAGGCTAG
 9310 9320 9330 9340 9350
 AGCAGAGGAGGATTTGGCAGCAAGCTAGGCTGAGCAGAGGAGGCTTAAAGAGAGGCTAG

【 2 a 】

env4
 10 20 30 40 50
 RIV2-----HNDQLLIA ILIA-SAGLV KCHNVEVY CVPTUHQH
 RIV1-----HNVKRYQRL WNVGNVQTH LIGILHICSA TERLVTVVY CVPVKRAIT
 5
 env5
 60 70 80 90 100
 RIV2-----PFGCAARE -DT- TIQCLPDDDE YBETTL-NVT FAEBAHNV
 RIV1-----TLFCASDAXA YDEVHNVFA TRACVPTDPN PQEVVLVHVZ INFNMKNDM
 10
 env6
 110 120 130 140 150
 RIV2-----TQAIEDVVM LFETISNCT KLTLCAVHNLCSSTESSTON NTSKSTST
 RIV1-----VEQNHEDTIS LUDQSLPCV KLTPLCVSLK CTDL---GR ATNTHSSTW
 15
 env7
 160 170 180 190 200
 RIV2-----TTFTDQE QISEDTPCA RADNCSGLGE SETINGCFNM TGLERKREK
 RIV1-----SSGCEHMKZ GTEK---NCSFNIS TSIRGVQKE YAFVYKLDII
 20
 env8
 210 220 230 240 250
 RIV2-----Y-NET-UTS KVCETMNST NQTCVMMHC HSWITESSE KVVHDAIRP
 RIV1-----PIBNDTISYV -----TSC NTSVITQACF EVSFSPPIE
 25
 env9
 260 270 280 290 300
 RIV2-----YCAPPEVALL RC-NBI-NYS GFAPNCKVY ASTCTRMHET QSTVUF-GPM
 RIV1-----TCAPAGFALL KCHNVEVY GP---CTNVS TVQCTGIRP VVSTQLLL-N
 30
 env9
 310 320 330 340 350
 RIV2-----GTRAE---H RYIYVGRSD H-RTII-SLN KYVHLSECK RFGHXIVKQI
 RIV1-----GSLAREVVI ESNFT---D NAKTIIVQLN QBEV---HCT RFXNHTRESI
 350 360 370 380 390 400
 RIV2-----HLMS---GHTV HSHTQPIBK PROANHFEC -KURBANQEV KETLAKHPRY
 RIV1-----RIQRCGCAF VTIQKIGH--HRQACHISR AKWHAT---L KQIASKLREQ

【図 2 b】

```

      410      420      430      440      450
HIV2----- RCTNDTRNIS FAATGKGGSD EYATKNTNCC GILLYCNHTM FLH--V1--
HIV1----- FGRHKT--I1 FKQSS--GGDP EIVTHNFKCC GEPFYCNSTQ LFUSTWFNST
.....
      460      470      480      490      500
HIV2----- CH KTHENYARCB IKQIINTVHR VGRHVVYPPR EGELSCNSTV
HIV1----- WSTEGSNHTE GSDGTLFPCR IKQFINHWQE VGRHNYAPPI SGQIRCSHNI
.....
      510      520      530      540      550
HIV2----- TSIANINISW NNRQTNITFS AEVARYEL-- ELGQYKLV EITPGFART
HIV1----- TOLLTRDGC NNRHNGSEIFA PGCGDHRDHW ESELYTKYVV KIEPLGVAPT
.....
      560      570      580      590      600
HIV2----- ENV3 KIRISSAPG KNTGCVTVLG --FLGLATA GSAMGAAS-- LTVSACSRTL
HIV1----- KAKRE--VVG EKXRAVGL--C ALPLGLGAA GSTHGARSMT LTVQA--RQL
.....
      610      620      630      640      650
HIV2----- LAGIVQQQQQ LLDVYKQQE LRLITVQCTK NQARATAT KTGQDARLM
HIV1----- LSGIVQQQNN LLRAIAAQNN LLQLTVGQIK QIQAIRLAVE RYKQDQQLG
.....
      660      670      680      690      700
HIV2----- EVGCAFRDVG EITVVV-- VNDSLAPDWD NHTQELWEKQ VRYLEAKISK
HIV1----- IVGCSGELIC CTAVVHAST ENKSLQIUB NNTMHENDRE INHYTSLINS
.....
      710      720      730      740      750
HIV2----- SLEGAQZQDS ENMYLQGLE EDPDIFGDFD LTRUYTIQI GTLIYAVIA
HIV1----- LIEESQWQE KNEQELLELD KWAELNWFN ITHVLYTIKI FIMIVGGLTG
.....

```

【図 2 c】

```

      760      770      780      790      800
HIV2----- LRIVIVVQNN LSRLKGYRT V-FSSPPGTI QQIHNKDCG QPAMEEED
HIV1----- LRIVFAVLSI VNRVQCYSF LSFQT-- --HLTPRC PDRPEGIEEL
.....
      810      820      830      840      850
HIV2----- GCSNGGDRYV TUPAIYHPL IRQLIKLLT- --LYSIC RDLISKFLT
HIV1----- GCSNDRDRST ELVNGSLA-L IVDOLRLCL FSYHKL-- RDLILIVYAI
.....
      860      870      880      890      900
HIV2----- LQLTYQHLRD WRLRLTA--F LQYGCEWQIF AFQ--AAA RARETL
HIV1----- VELLG--RKG HEALEYWNWL LQTVSGELN SAVSLKATA IAAEGTDKV
.....
      910      920      930      940      950
HIV2----- --AGACRG LRVTLERIOR GILAVPERIE QCAETALL
HIV1----- IETVQACRA -- --LRIPAKIK QLEKILL
.....

```

【図 3 a】

```

      10      20      30      40      50
HIV2----- MCCLGNQLLIAIC--SKCLWICIGIYTVFYGVPAWRNATIPLCATKRDNTGTTQCL
HIV1----- MM--NOLLIAILLASACLV--CTGYTVFYGVPTKKNATIPLCATKRDNTGTTQCL
.....
      60      70      80      90      100      110
HIV2----- PDNDYSELALNVTESFOAWENTYVTEQAIEDVWOLFETSIKPCVKLSPLCTHRCNKSET
HIV1----- PDNDYGEITLNVTEAFOAWNNTYVTEQAIEDVWOLFETSIKPCVKLTPLCVAMKCSSTES
.....
      120      130      140      150      160      170
HIV2----- DKNGLTKSSTTTTASTITTTAKSVTRDIYNETS--PCVYHNDCTGLEQEPNISCCKPMH
HIV1----- STGNHTTSKST--STTTTTP--T--DOEQEISEDTPCARADNCSGLGEETINCOFNM
.....
      180      190      200      210      220      230
HIV2----- TGLKROKKKEYNETMYSADLVCEOGNSTGNESRCYNNHCNTSVIOECDDNDYDAIRCRY
HIV1----- TGLERDKKKQYNETMYSKDYVCENNST--NOTQCYNNHCNTSVITESCDKHYDAIRCRY
.....
      240      250      260      270      280      290
HIV2----- CAPPGYALLRCNDNTNYSGFAPNCSKYVASTCTRMETQTSTWFRFNGTRAENRTIYHMG
HIV1----- CAPPGYALLRCNDNTNYSGFAPNCSKYVASTCTRMETQTSTWFRFNGTRAENRTIYHMG
.....
      300      310      320      330      340      350
HIV2----- RDNRITISLNKHYNLTHKCRPGNKTVQIIMLSGMYVFNHSHYOPINKRPGANCWFKGKM
HIV1----- RDNRITISLNKHYNLTHKCRPGNKTVQIIMLSGMYVFNHSHYOPINKRPGANCWFKGKM
.....
      360      370      380      390      400
HIV2----- KEATKEVKOTIVKHPRTYGTGNTDKINLTAPRG--DPEVTFMNTNCRGEFLYCKMNFNL
HIV1----- KOAMDEYKETLAKHPRYGRTNDTRNISFAAPKGSDEPVATMNTNCRGEFLYCKMNFNL
.....

```

【図 3 b】

```

      420      430      440      450      460
HIV2----- WVEDRSLITTKPKERHKNYVPCIRIINTHWHYKGNVYLPFGELGTCNSTVTSILAN
HIV1----- WIEIEN-----KT-H-RNYAPCHIKIINTHWHYKGNVYLPFGELGTCNSTVTSILAN
.....
      480      490      500      510      520
HIV2----- INWTDGNTSITMSAEVAELRYLELDYKLVETIPTGLAPTNKRYTTG--GTSRNRKGVF
HIV1----- IDWQNNNOTNITFSAEVAELRYLELDYKLVETIPTGLAPTNKRYTTG--GTSRNRKGVF
.....
      540      550      560      570      580
HIV2----- VLGFLGLATAGSAMGAASLTYSASRTLLAGIVQOQQLLDVYKROGELRLTYVNGTKN
HIV1----- VLGFLGLATAGSAMGAASLTYSASRTLLAGIVQOQQLLDVYKROGELRLTYVNGTKN
.....
      600      610      620      630      640
HIV2----- LOTRYSAIEKYLKDOAGLNAMGCAFRVCHTTPWPNASLTPOWNNHTEWEMKVOFLE
HIV1----- LGARYTAIEKYLKDOAGLNAMGCAFRVCHTTPWPNASLTPOWNNHTEWEMKVOFLE
.....
      660      670      680      690      700
HIV2----- ANITALLEEAQIOQEKNNYELQKLSNDVFGNFDLTSMWYIOYGIYIIVGILLRIVI
HIV1----- ANISKLEQAQIOQEKNNYELQKLSNDVFGNFDLTSMWYIOYGIYIIVGILLRIVI
.....
      720      730      740      750      760
HIV2----- YIVOMLRLRQGYRPFVSSPPSYFQ*HTTQDDPALPTKEGKKGGGSGNSWHPGIEY
HIV1----- YVVOHLSRLKGYRPFVSSPPSYFQIHIHKDRGOPANEETEEGGSGNGGORYWMPYIAY
.....
      780      790      800      810      820
HIV2----- IHFLIROLIRLLTHLFSNCRLLSRAYOILQPIFORLSATYGEFGEVRLLELYOYGS
HIV1----- IHFLIROLIRLLTHLFSNCRLLSRAYOILQPIFORLSATYGEFGEVRLLELYOYGS
.....
      840      850      860      870      880
HIV2----- YFOEAVQAA--RDLRQRLRA--RGEKLWEALORGRWILAIPRRIRROGLLELL
HIV1----- WIOEAFQAAARATRETLACACRG--LWRVLERIGRILAVPRRIRROGAETALL
.....

```


【 図 4 a 】

```

10      20      30      40      50
VOHKKEIAVFPGRDNKIEWHENGARNVLSGKKADELEKIRLRPGCKKKYMLKHVYWAAN
      10      20      30      40      50
      MGARNVSLRGKKADELERIRLRPGCKKKYMLKHVYWAAN
      10      20      30
ELDRFLGLAESLLENKEGGOKILSVLAPLVPGTSENLSKLYNTYVCYINCIAEAEKVKHTEE
      10      20      30      40      50
      KLDRFLGLAESLLENKEGGOKILSVLAPLVPGTSENLSKLYNTYVCYINCIAEAEKVKDTG
      40      50      60      70      80      90
      130      140      150      160      170
AKQIVORHLVHETGTAEITMPKTSRPTAPFSGRGGNYPVQEGGNYTHLPLSPRTLNAWVK
      10      20      30      40      50
      AKQIVRRHLVAETGTAEKMPSTSRPTAPFSGRGGNYPVQEGGNYTHLPLSPRTLNAWVK
      100      110      120      130      140      150
LIEKKKFAEYVSGFQALSEGCPYDINQMLHCYGDHQAAMDIITRIINEEAADWLQHP
      10      20      30      40      50
      LVEKKKFAEYVSGFQALSEGCPYDINQMLHCYGDHQAAMDIITRIINEEAADWLQHP
      160      170      180      190      200      210
      250      260      270      280      290
OQAPQ--GQLREPSGSDIAGTISTVEEQIWHYRQGNPIVGNHYRMIQLGLQKCYRKY
      10      20      30      40      50
      IPGLPAGQLREPSGSDIAGTISTVEEQIWHYRQGNPIVGNHYRMIQLGLQKCYRKY
      220      230      240      250      260      270
      300      310      320      330      340      350
NPTNILDYKGGPKFPFOSYDORFYKSLRAEQDTPAVKWNMTOTLLIONANPCKLVKGL
      10      20      30      40      50
      NPTNILDYKGGPKFPFOSYDORFYKSLRAEQDTPAVKWNMTOTLLIONANPCKLVKGL
      280      290      300      310      320      330
      360      370      380      390      400      410
GNPTLEEMLTACGGVGGPGOKARLMAELKEALAPAPIFAAQKQKPRKPKCMWCKG
      10      20      30      40      50
      GNPTLEEMLTACGGVGGPGOKARLMAELKEALAPAPIFAAQKQKPRKPKCMWCKG
      340      350      360      370      380      390

```

【 図 4 b 】

```

420      430      440      450      460      470
EGHSAROCRAPRROGCKKCGMDHYNACKPNRAGFLCLGPNGKKPRKPFMAOVHQLTLP
      10      20      30      40      50
      EGHSAROCRAPRROGCKKCGMDHYNACKPNRAGFLCLGPNGKKPRKPFMAOVHQLTLP
      400      410      420      430      440      450
      480      490      500      510
TAPPEEPAYDLKLYMHLKQDRESRGKPYKEVTEDDLHL-----NS
      10      20      30      40      50
      TAPPEEPAYDLKLYMHLKQDRESRGKPYKEVTEDDLHL-----NS
      460      470      480      490      500      510

```

【 図 5 b 】

```

410      420      430      440      450      460
DRYVLQKELLNSIGFSSPEEFKQDPFOWNGYELNPTKWKLOKIELPQREITNYDIO
      10      20      30      40      50
      DRYVLQKELLNSIGFSSPEEFKQDPFOWNGYELNPTKWKLOKIELPQREITNYDIO
      390      400      410      420      430      440
      470      480      490      500      510      520
KLVGVNLWAAOITPGIKTKHLCLIRGKMLTTEEVQWTEMAEAEFENKJILSOEGGCT
      10      20      30      40      50
      KLVGVNLWAAOITPGIKTKHLCLIRGKMLTTEEVQWTEMAEAEFENKJILSOEGGCT
      450      460      470      480      490      500
      530      540      550      560      570      580
YQESKPLEATYKSDOHNSYKIHODKILKYGKFAIKNTHTNGVLLAHYKIGKEA
      10      20      30      40      50
      YQESKPLEATYKSDOHNSYKIHODKILKYGKFAIKNTHTNGVLLAHYKIGKEA
      510      520      530      540      550      560
      590      600      610      620      630      640
JYVNGOVKFKHLPYKDYWEQWNTDWTWYVPIPEHFIPTPLVPLVNLKXDPTEGET
      10      20      30      40      50
      JYVNGOVKFKHLPYKDYWEQWNTDWTWYVPIPEHFIPTPLVPLVNLKXDPTEGET
      570      580      590      600      610      620
      650      660      670      680      690      700
YVYDSCSKSGKCKAGYTDGCKKXKYLEOTTNOGAELFAFLKALTOGPKAKIIVDS
      10      20      30      40      50
      YVYDSCSKSGKCKAGYTDGCKKXKYLEOTTNOGAELFAFLKALTOGPKAKIIVDS
      630      640      650      660      670      680
      710      720      730      740      750      760
QYVNGEITGCTPTESESLVNGIIEEMIKKTEIYVAVVPAAHKGIGGNOEIDHLYSGIRQV
      10      20      30      40      50
      QYVNGEITGCTPTESESLVNGIIEEMIKKTEIYVAVVPAAHKGIGGNOEIDHLYSGIRQV
      690      700      710      720      730      740
      770      780      790      800      810      820
LFLEKIEPAREENSHYNSHKLVPKQLPVAKOVIDTCOKCHOKGAIHGOVNSDLG
      10      20      30      40      50
      LFLEKIEPAREENSHYNSHKLVPKQLPVAKOVIDTCOKCHOKGAIHGOVNSDLG
      750      760      770      780      790      800
      830      840      850      860      870      880
TWONDCTHLEKGIIVAVHYASGFIIEAEVPIETGTOTALLFLKLASRNPITLHNTONGA
      10      20      30      40      50
      TWONDCTHLEKGIIVAVHYASGFIIEAEVPIETGTOTALLFLKLASRNPITLHNTONGA
      810      820      830      840      850      860
      890      900      910      920      930      940
MFASQEVKMYAWHAGIEHTFGVYPNPSQGVYEAHMHKLKNOIDRIEAGANSVETIYVLA
      10      20      30      40      50
      MFASQEVKMYAWHAGIEHTFGVYPNPSQGVYEAHMHKLKNOIDRIEAGANSVETIYVLA
      870      880      890      900      910      920
      950      960      970      980      990
VHCNFKRRGGTIGONTFAERLNNITTEOEIOPQSNWSKFNKAVYVYREGRODLWKGPG
      10      20      30      40      50
      VHCNFKRRGGTIGONTFAERLNNITTEOEIOPQSNWSKFNKAVYVYREGRODLWKGPG
      930      940      950      960      970      980
      1010      1020      1030      1040      1050
ELLWKGEAVILKYGTDIRVPRKAKIIRYGGGCKEDSSSHNEOTGEAREVA

```

【 図 5 c 】

```

1010      1020      1030      1040      1050
ELLWKGEAVILKYGTDIRVPRKAKIIRYGGGCKEDSSSHNEOTGEAREVA
      990      1000      1010      1020      1030

```

【 図 5 a 】

```

10      20      30      40      50
VLEWEGRTLCAMOSPKKTGLEMKKNGPCYGDMPKOTGCGFFRPMFLKEAPQFPHGSS
      10      20      30      40      50
      VLEWEGRTLCAMOSPKKTGLEMKKNGPCYGDMPKOTGCGFFRPMFLKEAPQFPHGSS
      10      20
      70      80      90      100
ASCADANCSPRTSCGSAKELHALGAAERKOREALOGGDRGF-----
      10      20      30      40      50
      SAGADINTSPSGSSSGTGEIYAAREKTERAERETIQSORDLTAPRAGGDTIGGATNRG
      30      40      50      60      70      80
      110      120      130      140      150      160
--AAPQSLWRRPVYTAHIEGQPVVEVLDTGADDSIVTCIELCPHYTPNIVGGIGGFINTK
      10      20      30      40      50
      LAAPQSLWRRPVYTAHIEGQPVVEVLDTGADDSIVTCIELCPHYTPNIVGGIGGFINTK
      90      100      110      120      130      140
      170      180      190      200      210      220
EYKNVEIEVLGKRIKGTINTGDTPIINIFGRNLTALGSLNLPYKVEPKSLPKGKDG
      10      20      30      40      50
      EYKNVEIEVLGKRIKGTINTGDTPIINIFGRNLTALGSLNLPYKVEPKSLPKGKDG
      150      160      170      180      190      200
      230      240      250      260      270      280
PKLKOWPLSKEIKYALREICEKMEKOGGLEAPPTNPTNPTFAIKKKDKMKWRLIDFR
      10      20      30      40      50
      PKLKOWPLSKEIKYALREICEKMEKOGGLEAPPTNPTNPTFAIKKKDKMKWRLIDFR
      210      220      230      240      250      260
      290      300      310      320      330      340
ELNRYTQDTEYQLGIPHPAGLAKKRITVLDIGDAYFSLPDEEFQYTAFTLPSVYNA
      10      20      30      40      50
      ELNRYTQDTEYQLGIPHPAGLAKKRITVLDIGDAYFSLPDEEFQYTAFTLPSVYNA
      270      280      290      300      310      320
      350      360      370      380      390      400
EPGKRYIYKVLPGCKGSPALFQYTHRWLVEPRKANKPQVLYVOYMDILASDRTOLEH
      10      20      30      40      50
      EPGKRYIYKVLPGCKGSPALFQYTHRWLVEPRKANKPQVLYVOYMDILASDRTOLEH
      330      340      350      360      370      380

```

【 図 6 】

```

10      20      30      40      50
MEEKRRIVVPTWRIPERLEKWHSLIKLYKYTKDLQAKCYVPHHKYGVAMWTCRVYFP
      10      20      30      40      50
      MEEKRRIVVPTWRIPERLEKWHSLIKLYKYTKDLQAKCYVPHHKYGVAMWTCRVYFP
      10      20      30      40      50
      70      80      90      100      110
LQGSNLEHVEGQYVNLTPERGWLSTYAVRITWYKDFMTDVTPEADILLSTYFPCTAG
      10      20      30      40      50
      LQGSNLEHVEGQYVNLTPERGWLSTYAVRITWYKDFMTDVTPEADILLSTYFPCTAG
      70      80      90      100      110
      130      140      150      160      170
EVKRAIRGEALLSCCRFPAHKKHOVPSLOYLALRYVSHY-RSOGENTPKKQWRRNRSL
      10      20      30      40      50
      EVKRAIRGEALLSCCRFPAHKKHOVPSLOYLALRYVSHY-RSOGENTPKKQWRRNRSL
      130      140      150      160      170
      180      190      200      210
RYAKONSROGDKORGKPPTEGANFPLGLAKYLGLA
      10      20      30      40      50
      RYAKONSROGDKORGKPPTEGANFPLGLAKYLGLA
      190      200      210

```

【 図 7 】

```

10      20      30      40      50
NE---ERPPENEGPOREPHQWYVEYLKELKEALKHFDRLLTALGNHLYNRHGOTLE
      10      20      30      40      50
      MAEAPTELPPYDGTPLRPGDENIIEILKEIKELKHFDRLLTALGKYIYIRHGOTLE
      10      20      30      40      50
      60      70      80      90      100
GAGELIRILORALFTHFRSGCSHSRIGPGGGNPLSTIPPSRSL
      10      20      30      40      50
      GAGELIRILORALFTHFRSGCSHSRIGPGGGNPLSTIPPSRSL
      70      80      90      100

```

【 図 8 】

```

10      20      30      40      50
MSDPRERIPPNGSGEETIGEAFAWLNRTVEEINREAYNHLPRELIFQYVORSWEYMHDEQ
      10      20      30      40      50
      MTDPRERIPPNGSGEETIGEAFAWLNRTVEEINREAYNHLPRELIFQYVORSWEYMHDEQ
      10      20      30      40      50
      70      80      90      100      110
GMSQSYTKYRYLCLIOKALFMHCKKGRCLCEGHGAGGWRPGPPPPPPGLA
      10      20      30      40      50
      GMSQSYTKYRYLCLIOKALFMHCKKGRCLCEGHGAGGWRPGPPPPPPGLA
      70      80      90      100      110

```

【 図 1 1 】

```

      30      40      50
NRSHTEGEELRRRLRLILLHLLHSTKYKLSWKSAAVRRHLVPTGTSQSSANORRKKRRRR
      1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24
MNERADEGLCKRLRLILLHLLHSTKYKLSWKSAAVRRHLVPTGPGTQSSANORRKKRRR
      10      20      30      40      50      60      70      80      90      100      110
RGRWQDLALADRIEYFSPDPDTPLDLATGLOLNLATFSPDPPTNPEALCKLRKR
      1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24
KGRWQDLALADSIYTFPPDPSPDGTGLOLGLTGELPDTNPEALCKLRKR
      50      60      70      80      90      100
SPGA

```

```

      10          20          30          40          50
METPLRQENSLNESSRSYSIEAAAIIPESANLGEIISQLYPLEACVTCYEKKCC
||||| : : : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : | : |
METPLKAPESLSCKNEPFASTSEODVATOEALRQCQEILSQLYRPLEFCNHSCTYKRCC
      10          20          30          40          50

      70          80          90          100         110
YHCQCFGLKGLGISYEKSHRRRTTPKKAKNTSSASNERP---IPNRIRLKCPHKAKKE
||| : : : ||| : : : ||| : : : ||| : : : ||| : : : ||| : : : ||| : : :
YHCOMFLNKGLGICYERKGRARRTPKTKTHPSPT----PKSISTATGDSPQTKQMK
      70          80          90          100         110

    120       130
TYEAVATAAPGLGR
144 : : : | : | :
TYEATVEIDTGPR
    120       130

```

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、ポートルー・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・ギュタンベール・２３
- (72)発明者 ミレイユ・ギアデル
フランス国、７５０１７・パリ、リュ・ロジエ、６８
- (72)発明者 ピエール・テイオレ
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・シャクラバルティ
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・デイスロジャーズ
アメリカ合衆国、マサチューセッツ・０１７４９、ユーデイサン、コーズウェイ・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ャーズ		
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・デイスロジャーズ		
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。 Ž

