

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第3993387号

(P3993387)

(45) 発行日 平成19年10月17日(2007.10.17)

(24) 登録日 平成19年8月3日(2007.8.3)

(51) Int. Cl.

F I

C O 7 K 7/23 (2006.01)

C O 7 K 7/23 Z N A

C O 7 K 7/08 (2006.01)

C O 7 K 7/08

C O 7 K 14/575 (2006.01)

C O 7 K 14/575

C O 7 K 19/00 (2006.01)

C O 7 K 19/00

A 6 1 K 38/00 (2006.01)

A 6 1 K 37/02

請求項の数 3 (全 95 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2000-555643 (P2000-555643)
 (86) (22) 出願日 平成11年6月21日(1999.6.21)
 (65) 公表番号 特表2002-518463 (P2002-518463A)
 (43) 公表日 平成14年6月25日(2002.6.25)
 (86) 国際出願番号 PCT/US1999/013975
 (87) 国際公開番号 W01999/066957
 (87) 国際公開日 平成11年12月29日(1999.12.29)
 審査請求日 平成13年7月27日(2001.7.27)
 (31) 優先権主張番号 09/100,412
 (32) 優先日 平成10年6月20日(1998.6.20)
 (33) 優先権主張国 米国(US)

前置審査

(73) 特許権者 500579235
 ユナイティド バイオメディカル インコ
 ーポレイティド
 アメリカ合衆国, ニューヨーク 1178
 8, ホーボウジ, デイビッズ ドライブ
 25
 (74) 代理人 100099759
 弁理士 青木 篤
 (74) 代理人 100077517
 弁理士 石田 敬
 (74) 代理人 100087871
 弁理士 福本 積
 (74) 代理人 100087413
 弁理士 古賀 哲次

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 合成ペプチド免疫原のための免疫刺激因子としての人工的Tヘルパー細胞エピトープ

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

配列番号6、9、12、14、15、16、17、18、19、20及び105から成る群から選択されるTヘルパー細胞エピトープ。

【請求項2】

配列番号41、45、46、49及び51-62から成る群から選択されるペプチド免疫原。

【請求項3】

請求項2に記載のペプチド免疫原を含んで成る医薬組成物を製造するための方法であって、当該ペプチド免疫原を合成し、次いでそれを医薬的に許容される担体及び免疫学的に有効なアジュバントを混合することを含んでなる方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

発明の分野

本発明は、B細胞エピトープを含んでなる所望のターゲット抗原部位および必要に応じて一般的免疫刺激配列に共有結合した新規な人工的Tヘルパー細胞エピトープ(Th)を含んでなるペプチド免疫原に関する。人工的Thエピトープは、強いTヘルパー細胞仲介免疫応答および「ターゲット抗原部位」に対して向けられた抗体の産生を誘導する能力をペプチド免疫原に付与する。本発明は、また、免疫原性を改良するために、担体タンパク質および確立されたペプチド免疫原中の病原体由来Tヘルパー細胞部位を新規な人工的Tヘルパー細胞エピトープで好都合に置換する。

【0002】

T細胞エピトープのアミノ酸配列を予測する、多数のルールが開発されてきている。しかしながら、T細胞エピトープとして特定のアミノ酸配列を有効とする方法または因子に関する中心となる統合された理論は存在しないので、ルールは経験的であり、万能に適用可能ではない。これらのルールを知ることによって、それにもかかわらず、実験的研究により、本発明の新規な人工的Tヘルパー細胞エピトープが開発された。

【0003】

本発明のペプチド免疫原は、免疫化された宿主において、病原性生物から取った部位、およびイムノサイレント自己抗原および腫瘍関連ターゲットから取った部位を包含する、所望のターゲット抗原部位に対して抗体応答を誘発するために有用である。したがって、本発明のペプチドは多様な医学的、獣医学的用途、例えば、下記の用途において有用である：感染症に対する保護免疫を提供するワクチン；正常の生理学的プロセスの機能障害から生ずる疾患を治療する免疫療法；癌を治療する免疫療法；および所望の結果を生成するための正常の生理学的プロセスに介入する因子として。

10

【0004】

例えば、本発明の新規な人工的Tヘルパー細胞エピトープは、黄体化ホルモン放出ホルモン（LHRH）に対してターゲッティングされた抗体を誘発し、避妊、ホルモン依存性腫瘍の抑制、雄豚腐敗（boar taint）の予防、および免疫去勢に有用である。本発明の新規な人工的Thエピトープは、種々の微生物／タンパク質／ペプチドのターゲットB細胞エピトープと組み合わせるとき、免疫応答を誘発することが見出された。LHRHに加えて、本発明の人工的Thエピトープは、下記のことを包含する他のターゲット抗原部位に結合させたとき、有効であることが見出された：飼育場の動物における成長を促進するソマトスタチン；アレルギー治療のためのIgE；HIV感染および免疫障害を治療および予防するためのTヘルパー細胞のCD4レセプター；口蹄疫を予防する口蹄疫ウイルスキャプシドタンパク質；HIV感染を予防および治療するためのHIVグィリオンエピトープ；マラリアを予防および治療するためのプラスモジウム・ファルパルム（*Plasmodium falciparum*）のサーカムスポロゾイト抗原；およびアテローム性動脈硬化症を予防および治療するためのコレステリルエステル輸送タンパク質（CETP）。

20

【0005】

発明の背景

30

大部分の抗体免疫応答は細胞仲介であり、抗原提示細胞、B細胞（また、抗原提示細胞として機能する、抗体産生細胞）、およびTヘルパー（Th）細胞の間の相互作用を必要とすることが知られている。結局、有効な抗体応答の誘発は、B細胞が主題の免疫原のターゲット抗原部位（B細胞エピトープ）を認識し、そしてTヘルパー細胞がThエピトープを認識することを必要とする。一般に、主題の免疫原上のTヘルパー細胞エピトープはその1またはそれ以上のB細胞エピトープと異なる（Babbitt他、Nature、1985；317：259 - 361）。B細胞エピトープは、応答において所望のターゲット部位に対する抗体を産生するB細胞により認識される所望のターゲット上の部位である。ターゲットの自然コンフォメーションは抗体が直接結合する部位を決定することが理解される。しかしながら、タンパク質のTヘルパー細胞の認識は非常にいっそう複雑であり、それほどよく理解されていない。（Cornette他、Methods in Enzymology、Vol. 178、Academic Press、1989、pp. 611 - 634）。

40

【0006】

現在の理論によると、Th細胞応答の誘発はTヘルパー細胞レセプターが所望のターゲットを認識することを必要としないが、ターゲットタンパク質のプロセッシングされたペプチドフラグメントと、結合したクラスII主要組織適合性複合体（MHC）との間で、抗原提示細胞の膜上に複合体が形成する。こうして、ターゲットタンパク質のペプチドのプロセッシングおよび3方認識がTヘルパー細胞の応答に必要とされる。3成分複合体は規定することが特に困難である。なぜなら、決定的なMHCクラスII接触残基は異なるMHC結合ペプチド（Thエピトープ）内の様々な位置に配置されており、そしてこれらのペプチドは異なるアミノ

50

酸配列を有して長さが異なるからである (Rudensky他、Nature、1991 ; 353 : 622 - 627) 。さらに、MHCクラスII分子はそれら自体宿主の遺伝的構成に依存して高度に多様性である。こうして、特定のThエピトープに対する免疫応答性は、一部分、宿主のMHC遺伝子により決定される。事実、ある種のペプチドは特定のクラスIIのMHCアレルの産物にのみ結合することが示された。こうして、プロミスカスThエピトープ、すなわち、種を横切ってかつ単一種の個体を横切って反応性であるもの、を同定することは困難である。Thエピトープの反応性は集団の個体の間においてさえ異なることが見出された。

【 0 0 0 7 】

T細胞認識の成分工程の各々についての多数の、変化する因子：抗原プロセッシング細胞による適当なペプチドのプロセッシング、遺伝的に決定されたクラスIIのMHC分子によるペプチドの提示、およびTヘルパー細胞上のレセプターによるMHC分子 / ペプチド複合体の認識は、広い応答性を提供するプロミスカスThエピトープについての要件の決定を困難とした (Bianchi他、EP 0427347 ; Sinigaglia他、chapter 6、Immunological Recognition of Peptides in Medicine and Biology、Zegers他、編、CRC Press、1995、pp. 79 - 87) 。

10

【 0 0 0 8 】

抗体を誘導するために、免疫原はB細胞の決定因子およびTh細胞の1またはそれ以上の決定因子の両方を含まなくてはならないことが明らかである。普通に、ターゲットの免疫原性を増加するために、ターゲットを担体タンパク質にカップリングさせることによって、Th応答が得られる。この技術の多数の欠点が存在する。下記の理由で、よく規定された、安全な、有効なペプチド - 担体タンパク質複合体を製造することが困難である：

20

【 0 0 0 9 】

1. 化学的カップリングは、サイズおよび組成の不均質性を導入するランダム反応である、例えば、グルタルアルデヒドとの複合化 (Borras - Cuesta他、Eur. J. Immunol.、1987 ; 17 : 1213 - 1215) ；
2. 担体タンパク質は、望ましくない免疫反応、例えば、アレルギー反応および自己免疫反応についての可能性を導入する (Bixler他、W089 / 06974号) ；
3. 大きいペプチド - 担体タンパク質は、ターゲット部位よりむしろ主として担体タンパク質に対して誤って向けられた無関係の免疫応答を誘発する (Cease他、Proc. Natl. Acad. Sci. USA、1987 ; 84 : 4249 - 4253) ；および
4. 担体タンパク質は、また、同一担体タンパク質を含んでなる免疫原で以前に免疫化された宿主において、エピトープの抑制の可能性を導入する。同一担体タンパク質が異なるハプテンにカップリングされている他の免疫原で宿主を引き続いて免疫化するとき、生ずる免疫応答は担体タンパク質について増強されるが、ハプテンについて阻害される (Schutze他、J. Immunol.、1985 ; 135 : 2319 - 2322) 。

30

【 0 0 1 0 】

これらの危険を回避するために、担体タンパク質を置換することが望ましい。T細胞のヘルパーを適切に特性決定されたプロミスカスTh決定因子に共有結合させることによって、それをターゲット抗原ペプチドに供給することができる。既知のプロミスカスThは、効力がある病原性因子、例えば、麻疹ウイルスタンパク質 (Greenstein他、J. Immunol.、1992 ; 148 : 3970 - 3977) およびB型肝炎ウイルス表面抗原 (Partidos他、J. Gen. Virol.、1991 ; 72 : 1293 - 1299) に由来する。本発明者らは、多数の既知のプロミスカスThは低い免疫原性のペプチド、例えば、デカペプチドホルモンの黄体化ホルモン放出ホルモン (LHRH) を増強するとき有効であることを示した (米国特許第5,759,551号) 。効力がある免疫原を発生する、既知のプロミスカスThエピトープおよび低い免疫原性の合成ペプチドを含んでなる他のキメラペプチドが開発された (Borras - Cuesta他、1987) 。適切に設計されたプロミスカスTh / B細胞エピトープキメラペプチドは、遺伝的に多様な集団の大部分のメンバーにおいて、Th応答を誘発してB細胞部位にターゲットされた抗体応答を生ずることができる (米国特許第5,759,551号) 。

40

【 0 0 1 1 】

50

既知のプロミスカスThエピトープを概観すると、それらはほぼ15～50アミノ酸残基の大きさの範囲であり（米国特許第5,759,551号）、しばしば普通の構造的特徴を共有し、特異的ランドマーク配列を有する。例えば、普通の特徴は両親媒性らせんである。これらはらせんの1つの面を支配する疎水性アミノ酸残基と、取り囲む面を支配帯電した極性残基とを有するアルファ - らせん構造である（Cease他、1987）。既知のThエピトープは、また、しばしば追加の主要なアミノ酸パターン、例えば、帯電した残基、- Gly -、引き続く2～3つの疎水性残基、引き続いて帯電したまたは極性の残基を含有する（RothbardおよびTaylor、EMBO J.、1988；7：93 - 101）。このパターンを有するエピトープはロトバード（Rothbard）配列と呼ばれる。また、Thエピトープはしばしば1、4、5、8ルールに従い、ここで正に帯電した残基に引き続いて、疎水性残基が第4、第5および第8位置に存在し、同一面に位置する位置1、4、5、および8を有する両親媒性らせんと一致することが見出された。疎水性および帯電したおよび極性のアミノ酸のこのパターンは単一のThエピトープ内で反復されることがある（Partidos他、J. Gen. Virol.、1991；72：1293 - 99）。既知のプロミスカスT細胞エピトープのすべてではなく、大部分は、前述の周期性の少なくとも1つを含有する。病原体に由来するプロミスカスThエピトープは下記のものを包含する：B型肝炎表面およびコア抗原ヘルパーT細胞エピトープ（HBsAg ThおよびHBc Th）、百日咳トキシンヘルパーT細胞エピトープ（PT Th）、破傷風トキシンヘルパーT細胞エピトープ（TT Th）、麻疹ウイルスタンパク質ヘルパーT細胞エピトープ（MVF Th）、トラコーマクラミジア（*Chlamydia trachomatis*）主要外膜タンパク質ヘルパーT細胞エピトープ（CT Th）、ジフテリアトキシンヘルパーT細胞エピトープ（DT Th）、熱帯熱マラリア原虫（*Plasmodium falciparum*）サーカムスポロゾイトヘルパーT細胞エピトープ（PF Th）、シストソマ・マンソニ（*Schistosoma mansoni*）トリオースホスフェートイソメラーゼヘルパーT細胞エピトープ（SM Th）、および大腸菌（*Escherichia coli*）TraヘルパーT細胞エピトープ（TraT Th）。これらの病原体由来Thエピトープの配列は下記の文献に記載されている：米国特許第5,759,551号（引用することによって本明細書の一部とされる）の中に配列番号2～9および42～52として；Stagg他、Immunology、1993；79：1 - 9；およびFerrari他、J. Clin. Invest.、1991；88：214 - 222（また、引用することによって本明細書の一部とされる）。

【0012】

LHRHに適用するペプチドB細胞部位を免疫増強するためにこのような病原体由来部位を使用することは、米国特許第5,759,551号、HIVについてGreenstein他（1992）、マラリアについてEP 0,427,347、レトロウイルスについてBorras - Cuesta他（1987）、および麻疹についてPartidos他（1991）に記載されている。

有用なThエピトープは、また、組合わせThを包含することができる。Wang他（W095/11998号）において、組合わせのエピトープの特定のクラス、「構造化合成抗原ライブラリー（Structured Synthetic Antigen Library）」（SSAL）が記載された。Th SSALエピトープは、特定の位置に置換基を有する不変残基の構造的フレームワークの回りに体制化されたアミノ酸配列を有する、多数のThエピトープを含んでなる。比較的不变の残基を保持させると同時に、他の残基を変化させて多様なMHC制限因子の認識を提供することによって、SSALの配列は決定される。これは次のようにして達成することができる。プロミスカスThの一次アミノ酸配列を整列し、骨格フレームワークとして、Thペプチドのユニーク構造の原因となる残基を選択しかつ保持し、そして既知のMHC制限因子に従い残りの残基を変化させる。MHC制限因子の好ましいアミノ酸を有する不変および可変位置のリストを利用して、MHC結合モチーフを得ることができる。（Meister他、Vaccine、1995；13：581 - 591）。

SSALのメンバーは、単一の固相ペプチド合成において、ターゲットB細胞エピトープおよび他の配列と縦列で同時に産生することができる。Thライブラリー配列は、プロミスカスThエピトープの構造モチーフを維持し、同時に、より広い範囲のハプロタイプに対する反応性を収容するように設計される。例えば、縮重Thエピトープ「SSAL1 TH1」（W095/11998号）に「SSAL1TH1」は、プロミスカスエピトープを麻疹ウイルスのFタンパク質から

10

20

30

40

50

取った後、モデル化された (Partidos他、1991)。SSAL1 TH1は、ターゲット抗原、LHRHと縦列で使用するよう設計された。それが由来する麻疹エピトープと同様に、SSAL1 TH1はロトバード (Rothbard) 配列および1、4、5、8ルールに従うよう設計され、そして4つのペプチドの混合物である：

【化1】

1	5	10	15	
Asp-Leu-Ser-Asp-Leu-Lys-Gly-Leu-Leu-Leu-His-Lys-Leu-Asp-Gly-Leu				(SEQ ID NO:2)
Glu Ile	Glu Ile Arg	Ile Ile Ile	Arg Ile Glu	Ile (SEQ ID NO:3)
Val	Val	Val Val Val	Val	Val (SEQ ID NO:4)
Phe	Phe	Phe Phe Phe	Phe	Phe (SEQ ID NO:5)

10

帯電した残基GluまたはAspを位置1に付加して、Thの疎水性面を取り囲む電荷を増加させる。次いで両親媒性らせんの疎水性面は2、5、8、9、10、13および16における疎水性残基により維持され、2、5、8、9、10、および13における位置を変化させて、広い範囲のMHC制限因子に対する結合能力を有する正面を提供する。SSALの特徴の正味の効果は、人工的Thの免疫応答性の範囲を拡大することである (W095/11998号)。

20

【0013】

既知のプロミスカスThエピトープの性質および特徴のすべての組込んだ「理想化された」人工的Thエピトープを設計する、他の試みがなされてきている。SSALの形態のものを包含する、これらの人工的プロミスカスThエピトープを含んでなる、いくつかのペプチド免疫原がまた構築された。人工的Th部位を自己抗原および外来抗原から取ったペプチド配列と組合わせて、高度に有効であると記載された部位特異的ターゲットに対する抗体応答が増強された (W095/11998号；Aleccander他、Immunity、1994、1:751；Del Guerio他、Vaccine、1997、15:441)。このようなペプチド免疫原は、有効かつ安全な抗体応答を提供し、かつ記載する理想化プロミスカスTh部位により付与された広く反応応答性から生ずる、それらの免疫効力を提供するために好ましい。

30

【0014】

発明の要約

本発明は、合成ペプチドB細胞エピトープまたは「ターゲット抗原部位」に結合されたプロミスカス人工的Tヘルパー細胞エピトープ競合免疫原性ペプチド組成物を提供する。免疫原性ペプチドは、人工的Tヘルパー細胞 (Th) エピトープおよびB細胞エピトープを含有するターゲット抗原部位および、必要に応じて、一般的免疫刺激配列を含んでなる。免疫原性ペプチド中の人工的Thエピトープの存在は、強いTヘルパー細胞仲介免疫応答を誘導して、「ターゲット抗原部位」に対して向けられた抗体を高いレベルで産生する能力を免疫原性ペプチドに付与する。本発明は、さらに、確立されたペプチド免疫原において、抗体タンパク質および病原体由来Tヘルパー細胞部位を、ペプチド免疫原の免疫原性を改良するように特別に設計された人工的Tヘルパー細胞エピトープと好都合に置換する。本発明の人工的Thエピトープを有する、新規な短いペプチド免疫原は、避妊、ホルモン依存的腫瘍の抑制、雄豚腐敗の防止、および免疫去勢に有用な黄体化ホルモン放出ホルモン (LHRH) に対してターゲットされた抗体を高いレベルで誘発する。

40

【0015】

人工的Thエピトープは、プロミスカスT細胞エピトープを予測する既知のルールを念頭に置いて、実験的に開発された。Thエピトープのメカニズムを説明する統合する理論の非存在下において、これらの「予測的」ルールは有効な人工的Thエピトープを設計するためのガイドラインとして単に働くだけである。本発明の人工的Thエピトープは、ターゲット抗

50

原部位および必要に応じて免疫刺激配列と結合するとき、有用であることが見出された。
本発明の免疫原性ペプチドは、下記式により表される：

(A)n - (ターゲット抗原部位) - (B)o - (Th)m - X

または

(A)n - (B)o - (Th)m - (B)o - (ターゲット抗原部位) - X

または

(A)n - (Th)m - (B)o - (ターゲット抗原部位) - X

または

(ターゲット抗原部位) - (B)o - (Th)m - (A)n - X

または

(Th)m - (B)o - (ターゲット抗原部位) - (A)n - X

式中、

各Aはアミノ酸または一般的免疫刺激性配列、例えば、インベーシンドメイン (Inv) (配列番号78) であり、ここでnは1超であり、個々のAは同一であるか、あるいは異なることができ、

各Bはアミノ酸、-NHCH(X)CH₂SCH₂CO-、-NHCH(X)CH₂SCH₂CO(-N)Lys-、-NHCH(X)CH₂S-スクシニミジル(-N)Lys-、および-NHCH(X)CH₂S-(スクシニミジル)-から成る群から選択され、

Thは配列番号6~22、105、31~35またはそれらのアナログまたはセグメントから成る群から選択される人工的ヘルパーT細胞エピトープであり、

「ターゲット抗原部位」は、B細胞エピトープ、ペプチドハプテン、またはそれらの免疫学的反応性アナログであり、

Xはアミノ酸の-COOH、-COONH₂であり、

nは1~約10であり、

mは1~約4であり、そして

oは0~約10である。

【0016】

ターゲット抗原部位としてペプチドハプテンチドの例はLHRH (配列番号77) である。

本発明の組成物は、免疫化された宿主において、所望のターゲット抗原部位に対する抗体応答を誘発することができるペプチドを含んでなる。ターゲット抗原部位は病原性生物、通常イムノサイレント自己抗原および腫瘍関連ターゲット、例えば、LHRHに由来することができる。

【0017】

したがって、本発明の組成物は多数の多様な医学および獣医学の用途において有用である。これらは下記の用途を包含する：感染症に対する保護免疫を提供するワクチン；正常の生理学的プロセスの機能障害から生ずる疾患を治療する免疫療法；癌を治療する免疫療法；および正常の生理学的プロセスに介入し、変更する因子として。

【0018】

本発明のThエピトープに共有結合することができるターゲット抗原のいくつかは下記のものを含む：避妊、ホルモン依存的腫瘍の抑制および免疫去勢のためのLHRH；飼育場の動物における成長を促進するソマトスタチン；アレルギー治療のためのIgE；HIV感染および免疫障害を治療および予防するためのTヘルパー細胞のCD4レセプター；口蹄疫を予防する口蹄疫ウイルスキャプシドタンパク質；マラリアを予防するためのプラスモジウム (Plasmodium) のCS抗原；アテローム性動脈硬化症を予防および治療するためのCETP；およびHIV感染を予防および治療するためのHIVヴィリオンエピトープ。

【0019】

発明の詳細な説明

理想化された人工的Thエピトープが提供された。これらは2つの既知の自然ThエピトープおよびSSALペプチドプロトタイプ (W095/11998号に開示されている) に基づいてモデル化された。SSALSは、遺伝的に多様な集団のメンバーの間で広い免疫応答を誘発することを

10

20

30

40

50

意図して、組合わせのMHC分子結合モチーフ (Meister他、1995) を組んでいる。SSALペプチドプロトタイプは、麻疹ウイルスおよびB型肝炎ウイルスの抗原をベースとして設計され、多重MHC結合モチーフの導入により修飾された。他のThエピトープの設計は、他の既知のThエピトープ後に、多重MHC結合モチーフを簡素化し、付加し、および/または修飾して、1系列の新規な人工的Thエピトープを産生することによって、モデル化された。新しく採用されたプロミスカス人工的Th部位は、種々のターゲット抗原部位を担持する合成ペプチドの中に組み込まれた。生ずるキメラペプチドは、ターゲット抗原部位に対する有効な抗体応答を刺激することができた。

【0020】

表1a中に「SSAL1 Th1」、すなわち、4つのペプチドの混合物 (配列番号2、3、4、5) として示すプロトタイプ人工的ヘルパーT細胞 (Th) エピトープは、麻疹ウイルスのFタンパク質のプロミスカスThエピトープからモデル化された、理想化Thエピトープである (Partidos他、1991)。表1a中に「MVF Th」として示すモデルのThエピトープは、麻疹ウイルスFタンパク質の残基288~302に対応する。MVF Th (配列番号1) を次のようにしてSSAL1 Th1プロトタイプ (配列番号2、3、4、5) に修飾した: 「ロトバード (Rothbard) ルール」に従い、位置1に帯電した残基Glu/Aspを付加してエピトープの疎水性面を取り囲む電荷を増加する; 位置4、6、12および14において帯電した残基またはGlyを付加または保持する; そして位置7および11において帯電した残基またはGlyを付加または保持する。Thエピトープの疎水性面は、位置2、5、8、9、10、13および16における残基を含んでなる。普通にプロミスカスエピトープと結合する疎水性残基をこれらの位置において置換して、コンピナトリアルTh SSALエピトープ、SSAL1 Th1 (配列番号2、3、4、5) を生成した。ロトバード (Rothbard) 配列ルールに順応する疎水性残基はボールドフェイスで示されている (表1a、配列番号1)。1、4、5、8ルールに従う配列中の位置には下線が引かれている。プロトタイプSSAL1 Th1 (配列番号2、3、4、5) の他の有意な特徴は、位置1および4が位置9の各側においてパリンδροームとして不完全に反復してMHC結合モチーフを模擬していることである。SSAL1 Th1のこの「1、4、9」パリンδροームパターンを配列番号3 (表1a) においてさらに修飾して、もとのMVFモデルTh (配列番号1) の配列をいっそう密接に反映させた。また、可変位置1、12、および14にメチオニン残基を付加することによって、SSAL1 Th1プロトタイプ (配列番号2、3、4、5) の疎水性を配列番号6、7、および8において調節した。実験データが示すように、ターゲット抗原部位にカップリングした配列番号6、7、および8は、免疫化された動物において、ターゲット抗原部位に対する抗体応答を増強した。

【0021】

配列番号6、7、および8を配列番号6、9、10および11 (表1a) に簡素化して、それ以上の免疫原性SSAL Thエピトープを形成した。配列番号6、7、および8をさらに配列番号6、12~14 (表1a) に簡素化して、1系列の単一配列エピトープを形成した。ターゲット抗原部位にカップリングされた、SSAL Th配列番号4、9、10および11および単一配列Thエピトープ配列番号6、12~14は、また、増強された免疫原性を提供した。

【0022】

配列番号6、7、および8の免疫原性は、N-末端を非極性および極性の非帯電アミノ酸、例えば、IleおよびSerで延長し、そしてC末端を帯電したおよび疎水性アミノ酸、例えば、LysおよびPheで延長することによって、改良できることが見出された。これは表1a中に配列番号15、16および17として示されており、それらから簡素化されたSSAL Thエピトープ配列番号15および18、105および19を誘導した。配列番号15~17、15および18、105および19、並びに123および124から選択されるターゲット抗原部位およびThエピトープを含んでなるペプチド免疫原は、増強された免疫原性を表示した。単一配列ペプチド、例えば、配列番号15、20~22をまた合成し、動物において免疫原性について試験した。これらもまた有効なThエピトープであることが見出された。

【0023】

表1b中に「SSAL2 Th2」 (配列番号26~30) として示すSSAL人工的ヘルパーエピトープを

、プロミスカスエピトープの後において、B型肝炎表面抗原（HBsAg）の残基19～33に対応するB型肝炎ウイルス表面抗原からモデル化した（Greenstein他、1992）。3つのリシンを付加して水溶性を改良することによって、病原体由来モデルThを配列番号24に修飾した；C末端のAspを配列番号25において欠失させて、Gly-Glyがスペーサーとして導入されたキメラペプチドの合成を促進した。位置1、2、3および5におけるその中の正に帯電した残基を変化させて、らせん構造の疎水性面を取り囲む電荷を変化させることによって、SSAL2

Th2（配列番号26～30）を配列番号24からさらに修飾した。可変位置3における帯電したアミノ酸は、また、1、4、5、8ルールに従う理想化Thエピトープ、SSAL2 Th2（配列番号26～30）を発生させるために必要な残基を与えた（下線が引かれている残基）。両親媒性らせんの疎水性面は、配列番号26～30の位置4、6、7、10、11、13、15および17における疎水性残基から成る。ロトバード配列の残基はプロトタイプSSAL2 Th2（配列番号26～30）についてボールドフェイスで示されている。

【0024】

前述したように、配列番号31～35を理想化SSAL2 Th2プロトタイプ（配列番号26～30）から簡素化した。例えば、可変疎水性残基を単一アミノ酸、例えば、IleまたはMetで置換した（配列番号31～35）。位置4における疎水性Pheを配列番号34の特徴として組込んだ、3つのリシンを欠失させた。C末端のAspの欠失を配列番号32、34、および35の特徴として組込んだ。それ以上の修飾は、普通のMHC結合モチーフAxTxILによるC末端の置換を含んだ（Meister他、1995）。

【0025】

新規な人工的Thエピトープ、配列番号6、12～19、105、123、124、20～22および31～35の各々を種々のターゲット抗原部位にカップリングして、ペプチド免疫原を形成した。ターゲット抗原部位は、ペプチドホルモン、LHRHおよびソマトスタチン、免疫グロブリンIgEからのB細胞エピトープ、T細胞CD4レセプター、口蹄疫ウイルスのVP1キャプシドタンパク質；熱帯熱マラリア原虫（*Plasmodium falciparum*）のCS抗原；およびコレステリルエステル輸送タンパク質（CETP）；およびHIVからのB細胞エピトープを包含する。これらの結果が示すように、多様なグループの自己抗原および外来抗原と交差反応性である有効な抗ターゲット部位抗体が産生された。最も重要なことには、抗体応答はターゲット抗原部位に対して向けられ、新規なThエピトープに対して向けられなかった。LHRHについて新規なペプチド免疫原についての結果は表2および3に示されている。また、免疫原性の結果が示すように、産生された抗体はLHRHに対して有効であるが、Thエピトープそれら自体に対して有効ではなかった。LHRHはT細胞エピトープを欠くターゲット抗原部位であることを強調すべきである（Sad他、Immunology、1992；76：599 - 603および米国特許第5,759,551号）。こうして、本発明の新規な人工的ThエピトープはプロミスカスThエピトープの新しいクラスを表す。

【0026】

本発明の人工的Thエピトープは、クラスII MHC分子結合部位を含んでなるアミノ酸（自然または非自然アミノ酸）の連続配列である。それらはターゲット抗原部位に対する抗体応答を増強または刺激する。Thエピトープは連続的または不連続的アミノ酸セグメントから成ることができるので、Thエピトープのすべてのアミノ酸が必然的にMHC認識に関係するわけではない。本発明のThエピトープは、免疫学的に機能的な相同体をさらに包含する。Th相同体は、免疫増強相同体、交差反応性相同体およびこれらのThエピトープの任意のセグメントを包含する。機能的Th相同体は、1～約10アミノ酸残基の保存的置換、付加、欠失および挿入をさらに含み、ThエピトープのTh刺激機能を提供する。

【0027】

本発明のプロミスカスThエピトープはターゲット抗原部位のN-末端またはC-末端に共有結合して、キメラTh/B細胞部位ペプチド免疫原を産生する。用語「ペプチド免疫原」は、本明細書において使用するとき、単一のより長いペプチドを形成するように慣用のペプチド結合によるか、あるいは共有結合、例えば、チオエステルの他の形態の結合によるかにかかわらず、ターゲット抗原部位に共有結合したThエピトープを含んでなる分子を意味

10

20

30

40

50

する。したがって、Thエピトープ（例えば、配列番号6、12～19、105、123、124、20～22および31～35）は、化学的カップリングまたは直接的合成を介して、ターゲット抗原部位（例えば、配列番号77）に共有結合されている。Thエピトープはターゲット部位に直接結合するか、あるいはスペーサー、例えば、Gly - Glyまたは（ - N）Lysを通して結合することができる。ThエピトープをB細胞エピトープ（例えば、配列番号41～64、71～76、84～90、92～94、96～102、103、104、106、126～129、および136～153）から物理的に分離することに加えて、スペーサーはThエピトープの結合によりつくられた人工的二次構造またはターゲット抗原部位を有する機能的相同体を崩壊し、これによりThおよび/またはB細胞の応答に対する妨害を排除することができる。ThおよびIgEドメインの分離を増強する柔軟性ヒンジスペーサーは、また、有用である。柔軟性ヒンジスペーサーはしばしばプロリンに富んでいる。1つの特定の有用な柔軟性ヒンジは、免疫グロブリン重鎖の中に見出される柔軟性ヒンジ領域からモデル化された配列Pro - Pro - Xaa - Pro - Xaa - Pro（配列番号79）により提供される。その中のXaaは任意のアミノ酸、好ましくはアスパラギン酸である。スペーサー（配列番号80および82）により提供されるコンフォメーション的分離は、提示されたペプチド免疫原と適当なTh細胞およびB細胞との間のいっそう効率よい相互作用を可能とする。こうして、Thエピトープに対する免疫応答は増強されて、改良された免疫反応性を提供する。

【0028】

本発明のペプチド複合体免疫原は、また、必要に応じて一般的免疫刺激ペプチド配列を含むことができる。例えば、細菌エルシニア（*Yersinia*）種からのインベシントタンパク質（Inv）のドメイン（Brett他、Eur. J. Immunol.、1993、23：1608 - 1614）。Thエピトープ免疫刺激特性は、T細胞、特に活性化された免疫または記憶T細胞上に存在する1インテグリン分子と相互作用するThエピトープインベシンドメインの能力から生ずる。プロミスカスThエピトープに結合するために好ましいインベシンドメイン（Inv）の態様は以前に米国特許第5,759,551号に記載され、引用することによって本明細書の一部とされる。前記Invドメインは配列：Thr - Ala - Lys - Ser - Lys - Lys - Phe - Pro - Ser - Tyr - Thr - Ala - Thr - Tyr - Gln - Phe（配列番号78）であるか、あるいは他のエルシニア（*Yersinia*）種インベシントタンパク質中の対応する領域からのその免疫刺激相同体である。こうして、このような相同体は、相同体が免疫刺激特性を保持するかぎり、系統毎の変動を収容するアミノ酸残基の置換、欠失または挿入を含有することができる。一般的免疫刺激配列を必要に応じてスペーサーでThエピトープに結合することができる。

【0029】

本発明のペプチド複合体、すなわち、記載した人工的Thエピトープを含んでなるペプチド免疫原は、下記式により表すことができる：

(A)n - (ターゲット抗原部位) - (B)o - (Th)m - X

または

(A)n - (B)o - (Th)m - (B)o - (ターゲット抗原部位) - X

または

(A)n - (Th)m - (B)o - (ターゲット抗原部位) - X

または

(ターゲット抗原部位) - (B)o - (Th)m - (A)n - X

または

(Th)m - (B)o - (ターゲット抗原部位) - (A)n - X

式中、

各Aはアミノ酸または一般的免疫刺激性配列であり、ここでnは>1であり、各Aは同一であるか、あるいは異なることができ、

各Bはアミノ酸、-NHCH(X)CH₂SCH₂CO - 、-NHCH(X)CH₂SCH₂CO(- N)Lys - 、-NHCH(X)CH₂S - スクシニミジル(- N)Lys - 、および-NHCH(X)CH₂S - (スクシニミジル) - から成る群から選択され、

Thは人工的ヘルパーT細胞エピトープ（配列番号6、12～19、105、20～22および31～35）

10

20

30

40

50

またはその免疫増強相同体またはセグメントであり、

「ターゲット抗原部位」は、所望のB細胞エピトープまたはペプチドハプテン、またはそれらのアナログであり、

Xはアミノ酸の $-COOH$ または $-COONH_2$ であり、

nは1～約10であり、

mは1～約4であり、そして

oは0～約10である。

【0030】

本発明のペプチド免疫原は、約25～約100アミノ酸残基、好ましくは約25～約80アミノ酸残基を含んでなる。

10

【0031】

Aがアミノ酸であるとき、それは任意の天然に存在しないか、あるいは任意の天然に存在するアミノ酸であることができる。天然に存在しないアミノ酸は下記のものを含むが、これらに限定されない：D-アミノ酸、 α -アラニン、オルニチン、ノルロイシン、ノルバリン、ヒドロキシプロリン、チロキシン、 β -アミノ酪酸、ホモセリン、シトルリンおよびその他。天然に存在するアミノ酸は、アラニン、アルギニン、アスパラギン、アスパラギン酸、システイン、グルタミン酸、グルタミン、グリシン、ヒスチジン、イソロイシン、ロイシン、リシン、メチオニン、フェニルアラニン、プロリン、セリン、スレオニン、トリプトファン、チロシンおよびバリンを含む。そのうえ、nが1より大きく、かつ2またはそれ以上のA基がアミノ酸であるとき、各アミノ酸は独立して同一であるか、あ

20

【0032】

Aがインベシンドメイン配列であるとき、それは好ましくは本明細書において配列番号77として記載するエルシニア (Yersinia) 種のインベシントタンパク質からの免疫刺激エピトープである。

【0033】

nが3である態様において、各Aは引き続いてインベシン配列 (Inv)、グリシンまたはグリシンである。

【0034】

Bは任意であり、そして1またはそれ以上の天然に存在するか、あるいは天然に存在しないアミノ酸を含んでなるスペーサーである。(B)0において、 $o > 1$ である場合、各Bは同一であるか、あるいは異なることができる。BはGly-GlyまたはPro-Pro-Xaa-Pro-Xaa-Pro (配列番号79) または (α -N) Lysまたは-NHCH(X)CH₂SCH₂CO-、-NHCH(X)CH₂SCH₂CO(α -N) Lys-、-NHCH(X)CH₂S-スクシニミジル(α -N) Lys-、および-NHCH(X)CH₂S-(スクシニミジル)-であることができる。

30

【0035】

Thは配列番号6、12～19、105、123、124、20～22および31～35およびそれらの相同体から成る群から選択されるプロミスカスTヘルパー細胞エピトープである。本発明のペプチド免疫原は、当業者によく知られている化学的方法により作ることができる。例えば、下記の文献を参照のこと：Fields他、Chapter 3, Synthetic Peptides: A User's Guide, Grant、編、W. H. Freeman & Co., New York, NY, 1992, p. 77。ペプチドは、自動化メリフィールド (Merrifield) 固相ペプチド合成法に従い $-NH_2$ または側鎖アミノ酸を保護するためにt-BocまたはFmocを使用して合成することができる。ペプチド合成の装置は商業的に入手可能である。1つの例はアプライド・バイオシステムズ (Applied Biosystems) ペプチド合成装置430Aまたは431型である。

40

【0036】

所望のペプチド免疫原の組立てが完結した後、標準的手順に従い樹脂を処理して樹脂からペプチドを切断し、アミノ酸側鎖上の官能基を脱ブロックする。遊離ペプチドをHPLCにより精製し、例えば、アミノ酸分析、配列決定、または質量分析により、生化学的に特性決定する。ペプチドを精製し、特性決定する方法はこの分野においてよく知られている。

50

【0037】

本発明のThエпитープを含んでなるペプチド免疫原を発生させる他の化学的手段は、「チオエーテル」結合の形成によるハロアセチル化およびシステイン化ペプチドの結合を包含する。例えば、システインをTh含有ペプチドのC-末端に付加し、そしてシステインのチオール基を使用して求電子性基、例えば、リシン残基のNクロロアセチル修飾またはマレイミド誘導 - または - NH₂基に対する共有結合を形成することができ、引き続いてこれをターゲット抗原部位のペプチドのN-末端に結合する。この方法において、エピトープ/B細胞部位の複合体を得ることができる。

【0038】

主題の免疫原をまた重合することができる。重合は、日常的方法に従い、例えば、グルタルアルデヒドとリシン残基の - NH₂基との反応により達成することができる。他の方法により、線状構築物のN-末端に付加した追加のシステインを利用することによって、線状Th/B細胞部位の免疫原を重合または共重合することができる。N-末端のシステインのチオール基を使用してハロアセチル修飾アミノ酸との「チオエーテル」結合を形成するか、あるいはリシン残基のマレイミド誘導 - または - NH₂基を形成し、これを分枝鎖状ポリ-リシイルコア分子（例えば、K₂K、K₄K₂KまたはK₈K₄K₂K）のN-末端に結合する。主題の免疫原は、また、分枝鎖状ポリ-リシイルコア樹脂上に直接的に所望のペプチド構築物を合成することによって、分枝鎖状構造として重合することができる（Wang他、Science、1991；254：285 - 288）。

【0039】

別法として、よく知られている核酸クローニング技術により、より長い合成ペプチド複合体を合成することができる。分子クローニング技術についての標準的マニュアルは、組換えDNAおよびRNAの発現により、本発明のThエピトープを含んでなるペプチドを産生する詳細なプロトコルを提供する。本発明のTh/ターゲット抗原部位のペプチド（例えば、配列番号36～64、106、71～76および80～82）を発現する遺伝子を構築するために、好ましくは遺伝子を発現する生物について最適化されたコドンを使用して、アミノ酸配列を核酸配列に逆転写する。次に、典型的にはペプチドをコードするオーバーラッピングオリゴヌクレオチドおよび必要な調節因子を合成することによって、ペプチドをコードする遺伝子を作る。合成遺伝子を組立て、所望の発現ベクターの中に挿入する。本発明に包含される合成核酸配列は、本発明のThエピトープおよびそれらのThエピトープを含んでなるペプチドをコードする配列、それらの免疫学的に機能的な相同体、およびそれによりコードされるペプチドまたはThエピトープの免疫原特性を変更しない非コーディング配列の変化により特徴づけられる核酸構築物を包含する。合成遺伝子を適当なクローニングベクターの中に挿入し、組換え体を獲得し、特性決定する。次いで選択した発現系および宿主のための適当な条件下に、ThエピトープおよびThエピトープを含んでなるペプチドを発現させる。Thエピトープまたはペプチドを標準的方法により精製し、特性決定する。

【0040】

本発明のペプチド免疫原を単独でまたは組合わせて使用して、黄体化ホルモン放出ホルモンに対する抗体応答を誘発することができる。黄体化ホルモン放出ホルモン（LHRH）またはゴナドトロピン放出ホルモン（GnRH）は、雄および雌の両方における有性生殖の調節のためのマスターホルモンである。LHRHはLHおよびFSHの放出を調節し、これらは引き続いて精子形成、排卵および発情、性的発達をコントロールする。LHRHは究極的に男性ホルモンのアンドロゲンおよびテストステロンの分泌、および女性ホルモン、エストロゲンおよびプロゲステロンの分泌をコントロールし、ここでエストロゲンおよびプロゲステロンは、それぞれ、男性および女性における生殖能のための必須である。（Basic and Clinical Endocrinology、FS GrenspanおよびJD Baxter編、Appleton & Lnage、コネチカット州ノーウォーク、1994）。

【0041】

LHRHに対する活性免疫化は、男性において、血清および下垂体LHおよびFSHの減少、血清テストステロンの減少、精子形成の抑制および生殖腺および補助的性的器官の可逆的萎縮

10

20

30

40

50

を包含する多数の作用を発揮することが長い間知られてきている。(例えば、下記の文献を参照のこと: Fraser他、J. Endocrinol., 1974; 63: 399 - 405; Giri他、Exp. Molec. Pathol., 1991; 54: 255 - 264; Ladd他、J. Repro. Immunol., 1989; 15: 85 - 101; およびその中に引用されている参考文献)。LHRHに対する免疫化は男性における避妊薬として有効であることが証明され、前立腺癌の治療薬として効力のある(Thau、Scand. J. Immunol., 1992; 26 Suppl. 11: 127 - 130; および米国特許第5,759,551号)。

【0042】

また、女性における性ホルモンを阻害するために、LHRHに対する活性免疫化による視床下部 - 脳下垂体生殖線系に対する免疫関与を使用することができる。LHRHは前下垂体によるFSHの産生を調節し、これは引き続いて卵巣によるエストロゲンの産生を調節し、LHRHの作用のブロックは女性における性ホルモン依存的疾患の治療である。例えば、異所性発育および子宮筋系の外側の子宮内膜組織の維持はエストロゲンにより仲介される。したがって、LHRHの作用のブロックは子宮内膜炎の治療として有効である。さらに、前立腺癌と同様に、乳房のエストロゲン推進腫瘍もまたLHRH免疫治療に対して応答性であろう。事実、抗LH誘導ワクチンは女性においてLHおよびFSHの血清レベルを効果的に減少することが示され、これは避妊およびホルモン依存的障害の治療を行うこの方法の可能性の例示である(Gual他、Fertility and Sterility, 1997; 67: 404 - 407)。

【0043】

男性および女性の両方における多数の重要な疾患および可逆的不妊の治療を提供することに加えて、LHRHをベースとする免疫療法は雄および雌の動物(例えば、イヌ、ネコ、ウマおよびウサギ)における可逆的避妊の手段ならびに望ましくないアンドロゲン誘導行動、例えば、発情、なわばりおよび攻撃を緩和する手段を提供する。

【0044】

最後に、免疫学的去勢(LHRH作用の抗体をベースとする阻害)は家畜産業において用途を有する。雄動物からの食用獣肉は、雄豚腐敗(boar taint)として知られている、不快な芳香および味覚のために、極上の肉片に加工されない。雄豚腐敗は機械的去勢により普通に排除される; しかしながら、雄の食用動物の去勢は人情的であると考えられない。そのうえ、去勢しない雄に比較して、機械的去勢は低い成長性能および体の部分の病変を生じ、また、死体の特徴(carass traits)と呼ばれる。これに対して、免疫去勢した動物の成長性能および死体特徴は去勢した動物のそれらよりも影響を受けていない(Bonneau他、J. Anim. Sci., 1994; 72: 14 - 20および米国特許第5,573,767号)。したがって、免疫学的去勢は機械的去勢よりも好ましい。

【0045】

LHRH(またはGnRH)は、抗LHRH抗体を発生させるために、Th成分に結合しなくてはならない(Sad他、Immunology, 1992; 1992; 76: 599 - 603)。LHRHのいくつかのこのような免疫原性形態が試験された。例えば、LHRH免疫原は担体タンパク質に対して複合化させるか、あるいは病原性生物に由来する効力があるTh部位に結合させることによって製造されている(W094/07530号、米国特許第5,759,551号、Sad他、1992)。LHRHおよび人工的Thエピトープを含んでなる改良されたLHペプチド免疫原は、実施例1~3において例示されている。

【0046】

本発明は、また、ペプチド免疫原を投与するための薬学上許容される送出系を含んでなる組成物を提供する。組成物は免疫学的に有効量の1またはそれ以上の本発明のペプチド免疫原を含んでなる。そのように処方されるとき、ターゲット抗原部位としてLHRHまたはその相同体を含んでなる本発明の組成物は、雄豚腐敗(boar taint)の予防、動物の免疫去勢、子宮内膜炎、乳癌および生殖腺ステロイドホルモンにより影響を受ける婦人科学的癌の治療、および男性および女性の避妊のために使用される。LHRH以外のターゲット抗原部位を有する本発明のペプチドの実用性は、ターゲット抗原部位の特異性に従い変化するであろう。

【0047】

10

20

30

40

50

本発明のペプチド免疫原は、アジュバント、乳化剤、薬学上許容される担体またはワクチン組成物において日常的に提供される他の成分を使用して免疫原性組成物として処方することができる。本発明において使用できるアジュバントまたは乳化剤は、明礬、不完全フロインドアジュバント (IFA)、リポシン、サポニン、スクアレン、L121、エマルシゲン、モノホスホリル脂質A (MPL)、臭化ジメチルジオクタデシルアンモニウム (DDA)、SQ21、およびISA720、ISA51、ISA35またはISA206ならびに他の有効なアジュバントおよび乳化剤を包含する。このような処方物は当業者により容易に決定され、また、即時放出および/または持続放出について処方物を包含する。本発明のワクチンは、任意の好都合な経路、例えば、皮下、経口、筋肉内、腹腔内、または他の非経口または腸内経路により投与することができる。同様に、免疫原は単一投与量または多投与量で投与することができる。当業者は免疫化スケジュールを容易に決定する。

10

【0048】

本発明の組成物は有効量の1またはそれ以上の本発明のペプチド免疫原と、薬学上許容される担体とを含有する。このような組成物は、適当な投与単位形態において、約0.5 μ g ~ 約1mgのペプチド免疫原 / kg体重を含有する。多投与量で送出すとき、それは好都合には適当な量 / 投与に分割することができる。例えば、投与量、例えば、0.2 ~ 2.5mg、好ましくは1mgは注射、好ましくは筋肉内注射により投与することができる。次いで反復 (ブースター) 投与することができる。ワクチンおよび療法の分野においてよく知られているように、投与は被検体の年齢、体重および一般的健康に依存するであろう。

【0049】

20

本発明のペプチド免疫原の混合物、特にMVF Th、すなわち、配列番号6、12 ~ 19、105、123、124、20 ~ 22、およびHBsAg Th、すなわち、配列番号31 ~ 35の両方から誘導されるTh部位を含んでなる混合物を含んでなるワクチンは、より広い集団において免疫効能を増強することができる、こうしてLHRHまたは他のターゲット抗原部位に対する免疫応答を改良することができる。

【0050】

Thエпитープ / LHRHペプチド複合体または他のTh / ターゲット抗原部位複合体に対する免疫応答は、O'Hagan他 (Vaccine, 1991; 9: 768) が記載する型の生物分解性微小粒子中にまたはそれらの上に捕捉させて送出すことによって改良することができる。免疫原はアジュバントを使用するか、または使用しないでカプセル化することができ、そしてこのような微小粒子は免疫刺激性アジュバントを有することができる。微小粒子は、また、ペプチド免疫原とともに同時投与して免疫応答を増強することができる。

30

【0051】

特定の例として、本発明は、哺乳動物において不妊状態を産生する時間の間および条件下に、Th / LHRHペプチド免疫原を含んでなる医薬組成物を哺乳動物に投与することによって、抗LHRH抗体を誘導する方法を提供する。本明細書において使用するとき、不妊状態は妊娠を防止する状態である。不妊はこの分野において知られている方法、例えば、精子形成または排卵の評価により、または実験動物のデータの統計学的モデル化により測定することができる。男性における不妊の他の指示は、血清テストステロンの去勢レベルへの減少および精巣の衰退を包含する。組成物の適当な投与量は、約0.5 μ g ~ 約1mgの各ペプチド / kg体重である。多投与量で送出すとき、この投与量は適当な量 / 投与に分割することができる。

40

【0052】

同様に、本発明のLHRH態様は、癌腫のそれ以上の増殖を防止する時間の間および条件下に、本発明のペプチド組成物を哺乳動物に投与することによって、アンドロゲン依存性癌腫を治療する方法に関する。適当な単位投与量は、約0.5 μ g ~ 約1mgの各ペプチド / kg体重である。多投与量で送出すとき、この投与量は適当な量 / 投与に分割することができる。

【0053】

さらに、LHRH態様は、雄の家畜からの食用獣肉の感覚器官を刺激する品質およびもろさ (tenderness) を改良すると同時に、無傷の雄の好都合な成長性能を維持する方法に関する

50

。無傷の雄のアンドロゲンステロイドホルモンは速い成長に寄与するが、それらの存在は食用獣肉に不快な味覚および芳香を付与する非アンドロゲンステロイド（例えば、5 アンドロステノン）およびスカトール（トリプトファンの微生物代謝産物）を伴う。この状態は、ブタの場合において雄豚腐敗（boar taint）として知られており、食用獣肉の品質を低下させる。しかしながら、屠殺の数週直前に免疫去勢を行うスケジュールで、本発明のLHRHペプチドを含んでなる組成物で若い雄を活性免疫化することによって、非去勢雄の成長の利点の多数を保持すると同時に、改良された香味およびもろさを有する食用獣肉を提供することができる。

【0054】

ターゲット抗原部位、LHRHを含んでなる本発明のペプチド組成物の効能は、実施例1～3に記載する手順により試験することができる。

10

【0055】

また、本発明のペプチド免疫原において使用された他のターゲット抗原部位は、実施例4～9に記載されている。ペプチド免疫原組成物は、哺乳動物において特定のターゲット抗原に対して免疫応答を誘導するために有用であり、そして疾患の予防または治療、または正常の生理学的状態を有効に改変する関与を提供する。

【0056】

実施例1

LHRHを含有するペプチド免疫原を使用するラットの免疫化

後述するように、表2aおよび表2bに列挙するペプチドを合成し、試験した。

20

A. ペプチドの合成

メリフィールド固相技術によりアプライド・バイオシステムス自動化ペプチド合成装置（430、431および433A）を使用してFmoc化学に従い、表2aおよび表2bに列挙するペプチドを合成した。構造化合成抗原ライブラリー（SSAL）、例えば、配列番号6～8と表示する人工的Th部位を含んでなるペプチド複合体の製造は、所定の位置のために選択された所望のアミノ酸混合物を形成することによって達成される。所望のペプチドまたは組合わせのペプチドが完全に組立てられた後、標準的手順に従いトリフルオロ酢酸を使用して樹脂を処理してペプチドを樹脂から切断し、アミノ酸側鎖上の保護基を脱ブロックした。

【0057】

切断し、抽出し、洗浄したペプチドをHPLCにより精製し、質量分析および逆相HPLCにより特性決定した。

30

【0058】

表2aおよび表2bに列挙するように表示したThエピトープの各々と縦列でLHRHターゲット抗原ペプチド（配列番号77）を有するように、ペプチドを合成した。Thエピトープは表1aおよび表1bに示すもの（配列番号6、12～19、105、20～22および31～35）であった。比較の目的で、モデルTh部位（配列番号36および65）、およびプロトタイプTh部位（配列番号37～40および66～70）を含んでなる先行技術ペプチド免疫原およびペプチド/担体タンパク質複合体、KLH-LHRH（表2b）をまた合成し、試験した。ターゲット抗原部位とThエピトープとの間にスペーサーとしてgly-glyを使用し、そしてThエピトープとInv免疫刺激配列との間にgly-glyを使用するか、または使用しないで、Th/LHRHおよびInv/Th/LHRHペプチド複合体を合成した。さらに、Th部位とターゲット抗原部位との間にスペーサーとして配列番号79を使用して、配列番号80～82を合成した。ペプチド免疫原配列番号80～82についての結果はまだ入手可能ではない。

40

【0059】

B. 免疫化プロトコル

下に概説する実験的免疫化プロトコルおよび血清試料についての免疫原性を測定する血清学的アッセイにより特定したように、5～10匹のラットのグループについて、表2aおよび表2bに示すLHRHペプチド免疫原を評価した：

動物：SDラット、雄

グループの大きさ：5～10匹のラット/グループ

50

免疫原：個々のペプチド免疫原

投与量：0.5mの特定した量（ μg ）

アジュバント：（1）フロインド不完全アジュバント（IFA）または

2）明礬（水酸化アルミニウム）

1つのアジュバント／免疫原／グループ

投与スケジュール：特定したように0、3、および6週、または0、3週

経路：筋肉内

血液を収集し、血清にプロセッシングし、血清テストステロン値を測定するELISAおよびラジオイムノアッセイ（RIA）前に貯蔵した。

【0060】

10

C. 免疫原性を測定する方法

免疫吸着剤としてLHRHペプチド（配列番号77）で被覆した96ウェルの平底マイクロタイタープレートを使用するELISA（酵素結合イムノアッセイ）により、抗体活性を測定した。5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度のペプチド免疫原溶液のアリコート（100 μl ）を37 °Cにおいて1時間インキュベートした。プレートを3%のゼラチン／PBS溶液と37 °Cにおいてさらに1時間インキュベートすることによって、プレートをブロックした。次いでブロックしたプレートを乾燥し、アッセイのために使用した。被験免疫血清のアリコート（100 μl ）をまず試料希釈緩衝液中で1：100に希釈し、その後10倍に連続希釈し、ペプチド被覆したプレートに添加した。プレートを37 °Cにおいて1時間インキュベートした。

【0061】

20

プレートをPBS中の0.05%のTWEENR（登録商標）で6回洗浄した。100 μl のセイヨウワサビペルオキシダーゼ標識化ヤギ抗ラットIgG抗体を、複合体希釈緩衝液（0.5MのNaCl、および正常ヤギ血清を含有するリン酸塩緩衝液）中で適当な希釈で添加した。前述したように、プレート37 °Cにおいて1時間インキュベートし、次いで洗浄した。次いでo-フェニレンジアミン基質溶液を添加した。色を5～15分間発生させた後、50 μl の2N H_2SO_4 の添加により、酵素の色反応を停止させた。各ウェルの内容物のA492nmをプレートリーダーで読んだ。0.5に設定したカットオフA492nmで、吸収の線形回帰分析に基づいて、ELISA力価を計算した。各アッセイで実験した希釈した正常対照試料についての値は0.15より低かったので、このカットオフ値は厳格であった。

D. 免疫原の効能の測定

30

RIAにより、免疫原を血清テストステロン値について評価した。ダイアグノスチック・プロダクツ（Diagnostic Products）（カリフォルニア州ロサンゼルス）からのRIAキットを製造業者のインストラクションに従い使用して、血清テストステロンレベルを測定した。テストステロンの検出下限は0.01～0.03nmol/lの範囲であった。各試料を二重反復実験で分析した。テストステロンレベルが検出限界より低いとき、去勢レベルであるとて、そして<0.1nmol/lであるとき「ほぼ去勢」であるとして、血清試料にスコアをつけた。機械的に去勢したラットからの血清中のテストステロンレベルとの比較により、結果を確認した。

【0062】

E. 結果

40

第10週または第12週に収集した血清試料からの結果を表2aおよび表2bに示す。（表のペプチドは、表1aおよび表1bにおけるように、それらのThエピトープの誘導順序で配列されている）。列挙した免疫原のすべてによる免疫化はすべての動物において抗体応答を生ずることを、ELISAデータ（示されていない）は証明した。抗ペプチド抗体の応答の効能は、自然LHRHに対する交差反応性の結果であり、血清テストステロンレベルの測定により確立された。去勢レベルの血清テストステロンを有する動物の数／グループ中の全動物として、これらの結果は表2aおよび表2bの右欄に要約されている。

【0063】

これらの結果が示すように、本発明のペプチドは、強いアジュバントのIFAを使用し、高い投与量で3回投与したか、あるいは弱いアジュバントの明礬を使用し、低い投与量で2回

50

投与したかどうかにかかわらず、免疫去勢の生成において有効なであった。Th部位配列番号6、9および15の免疫原性は、Invドメイン配列の添加により改良された。配列番号41、44および45、46および配列番号53および60を比較参照せよ。しかしながら、Invドメイン配列の添加は、例えば、配列番号51および52、配列番号61および62、および配列番号74および75を比較すると、常に免疫原性を改良するわけではなかった。本発明の2つのペプチド（配列番号50および76）をわずかに低い投与量で弱いアジュバントを使用して試験し、それらは免疫去勢を引き起こすことができなかったが、他のペプチド、例えば、配列番号73を使用した結果が示すように、それらはより高い投与量において強いアジュバントを使用したとき有効であった。本発明のLHRHペプチド免疫原の多数は、KLH / LHRHペプチド担体タンパク質複合体またはHBsAg Th（配列番号65および66～70）を有するペプチド免疫原よりも、免疫去勢の誘導において有意にいっそう有効であった。表2b参照。

10

【0064】

また、本発明のペプチド免疫原は、ペプチド / 担体タンパク質複合体タンパク質または先行技術のいっそう複雑なプロトタイプThエピトープ（配列番号2～5または26～30）を有するペプチド免疫原よりも、容易に合成された。しかも、本発明の人工的Thエピトープを含んでなるペプチド免疫原を使用すると、より少ない回数およびより低い投与量で、同等であるか、あるいは改良された免疫原性が得られた。

【0065】

本発明のLHRHペプチドを投与されたラットの抗体応答の血清学的分析において、ペプチドに対する抗体応答はターゲット抗原部位に対して特異的に向けられ、新規な人工的Th部位に対して向けられないことが証明された。これは従来のペプチド / 担体タンパク質複合体を越えたこれらのペプチド免疫原の明確な利点である。表3に示すペプチド免疫原で、明礬を使用して25 μ gの投与において、第0週および第3週に免疫化したラットからの血清試料を、反応性について、LHRHターゲット部位およびThエピトープに対して、ペプチドをベースとするELISAにおける固相基質としてELISAによりLHRHエピトープ（配列番号77）および適当なThエピトープ（配列番号15および18、31、または34）を使用して比較した。これらのELISAについての結果を表3に示す。この表3が示すように、Th / LHRHペプチド複合体のLHRH部分に対する高い力価の応答性にかかわらず、人工的Th部位についての反応性はバックグラウンドレベルであった。

20

【0066】

実施例2

ラットにおける広い免疫去勢を誘導するLHRHペプチド混合物

上記実施例1に示す種々の人工的Thエピトープ / LHRH構築物の相対的効能を確立して、増強された免疫原性のペプチド混合物に組立てるための最も有効な構築物を選択できるようにした。Th / LHRHペプチド免疫原の混合物は、混合物内の個々のペプチドよりも高い効能を有する（米国特許第5,759,551号）。そのうえ、MVF Th（配列番号1）およびHBsAg Th（配列番号23～25）から誘導されたプロミスカスThエピトープを有する個々の構築物の混合物は、ただ1つのプロミスカスThエピトープから誘導されたThエピトープを有するペプチド組成物よりも、遺伝的に多様な集団において、いっそう広い応答を提供する。したがって、MVF ThおよびHBsAg Thから誘導された本発明のペプチドの混合物を含んでなるペプチド組成物を組立て、そしてこの混合物の効能を試験し、混合物の個々のペプチドを含んでなる組成物と比較した。

30

40

【0067】

表4に示すペプチド組成物の25 μ gの投与量（全投与量）で、6または8匹の雄ラットのグループを免疫化した。混合物中のペプチドを等モル比率で組合わせた。ペプチドを0.4%の明礬で処方し、第0週および第3週に筋肉内投与した。血清テストステロンレベルを23週間追跡し、結果を去勢レベルのテストステロンを有する動物の数 / グループ中の動物の総数として記録した。これらの結果を表4に示す。これらの結果が証明するように、低い投与量のペプチド組成物は、比較的無効のアジュバントを使用すると、第5週までに去勢レベルのテストステロンに達成し、そしてこの応答は22週を通して維持された。そのうえ、ペ

50

プチド混合物は個々のペプチドを含んでなるペプチド組成物の1つよりも有意にすぐれた性能を有した。混合物は他の個々のペプチド組成物を超えた改良された免疫原性を示し、真の集団より大きい、それをいっそう象徴する実験動物の数を有したと仮定することができる。

【0068】

実施例3

ブタの免疫去勢のためのLHRHペプチド混合物および処方物

1グループの被験動物は、単一ペプチド免疫原を含有する組成物に対してよりも、異なるThエпитープを有するペプチド免疫原の混合物に対して、いっそう広く応答性であることが示された。しかしながら、ブタにおける雄豚腐敗 (boar taint) の予防について、免疫増強LHRHペプチド免疫原は、大部分の動物において所望の応答を誘発すると同時に食用動物において使用するために十分に、効力があることを必要とする。成長速度に対して悪い即時作用が存在せず、かつペプチド免疫原またはアジュバントの残留物が食用獣肉中に残らないか、あるいは死体の市販可能な部分において病変を引き起こしてはならないことが重要である。

10

【0069】

本発明のLHRHペプチドの混合物の有効な免疫原性を評価するために、混合物をブタに3つの処方物で0.4%の明礬、IFA、またはISA206/DDAで投与した。ISA206/DDAは水中油型エマルジョンであり、ここで臭化ジメチルジオクタデシルアンモニウム (DDA) がMONTANIDE (登録商標) ISA206中に30mg/mlで分散されている (MONTANIDE (登録商標) ISA206はSEP PIC Inc.、ニュージャージー州フェアフィールド、により供給される油性代謝可能な溶液である)。次いで0.5mlの最終調製物においてペプチドの所望の投与量を提供するようにペプチド濃度を調節した水性ペプチド溶液中に、油分散液を1:1容量比で乳化した。

20

【0070】

免疫化プロトコルは次の通りであった：

動物： ヨークシャイアー・ハンプシャイアー・クロス・スワイン
 (Yorkshire Hampshire Cross Swine)、雄
 3〜4週齢の非去勢

グループの大きさ：2〜3匹の動物／グループ

免疫原： 配列番号57〜58、71および75の等モル混合物

30

投与量： 0.5ml中の400μgの1またはそれ以上のペプチド

アジュバント： (1) 0.4%の明礬、
 (2) IFA、
 (3) ISA206/DDA

スケジュール： 第0、4、および13週または第0、4週

経路： 筋肉内

【0071】

研究を通じて収集したブタ血清試料をアッセイすることによって、ペプチド免疫原処方物の効能をモニターし、結果を第1図〜第3図にグラフで表示する。これらのアッセイは後述する溶液中の自然LHRHに対して交差反応性の抗体の存在を決定するRIA、および実施例1に記載するテストステロンについてのRIAを包含した。さらに、キャリパーを使用するパルピテーション (palpitation) により、平均精巣断面積を測定した。

40

【0072】

抗LHRH RIAのための抗血清を1%のウシ血清アルブミン (BSA)、pH7.4中で1:100に希釈した。等しい体積の希釈血清を100μlの $[^{125}\text{I}]$ -LHRH (New England Nuclear Company、マサチューセッツ州ボストン) に添加し、5.25pgのLHRHについてほぼ15,000cpmを含有するように1%のBSA中で希釈した。この溶液を室温において一夜インキュベートし、そして400μlの0.01Mのリン酸塩緩衝液 (PBS)、pH7.6中の25%のポリエチレングリコール (分子量8,000)、および200μlのPBS中の5mg/mlのウシガンマグロブリンで抗体結合LHRHを沈降させた。抗LHRH抗体濃度をnmolの結合したヨウ素化LHRH/リットルの血清として表す

50

(Ladd他、1988、Am. J. Reprod. Immunol.、17:121-127)。

【0073】

3種類のアッセイについての結果を第1図～第3図にグラフで描写する。免疫原の投与間隔はグラフの下部において矢印で示されている。各図面における個々の実験動物についての測定値を、黒塗り円形、三角形、および正方形で表す。抗LHRH抗体の存在およびテストステロンの付随的抑制により示されるように、ブタはすべての3種類の処方物に対して免疫学的に応答した。

【0074】

明礬調製物(第1図)は有効性が最低であり、より低いレベルの抗体応答を生成した。このグループの1匹の動物は第11週までテストステロンの去勢レベルを達成せず、このグループの両方の動物は精巣の完全な衰退を発現しなかった。明礬グループの動物は第13週に免疫化されず、処置の効果は逆転した。

10

【0075】

IFAグループの動物(第2図)は高いレベルの抗体応答を表示し、3匹のうちの2匹は第6週までにテストステロンの去勢レベルに到達し、そのレベルを保持した。しかしながら、第13週にブースター投与すると、3匹のうちの2匹は応答が最低のブタは応答することができず、テストステロンの正常レベルおよび非衰退精巣に戻った。このグループの2匹の応答性動物は第23週までに精巣の完全な衰退を達成した。

【0076】

ISA206/DDAグループの両方のブタ(第3図)は、高くかつ比較的均一なレベルの抗体応答を提供した。このグループにおけるテストステロンの免疫去勢レベルは第9週までに達成され、第12週を通して安定に維持された。両方の動物は第13週におけるブースター投与に対して応答性であり、テストステロンの去勢レベルを維持した。両方の動物の精巣は第23週までに検出不可能であった。

20

【0077】

得られた結果から、ISA206/DDA処方物は、こうして、雄豚腐敗(boar taint)の予防のために最も好ましい。ISA206/DDA処方物を使用して、2匹の動物について高くかつ均一な効果が達成される。そのうえ、明らかにIFA処方物が容易に代謝されないために、病変を引き起こしたIFA処方物に比較して、この処方物はブタにおいていっそう許容される。

【0078】

30

実施例4

飼育場の動物において成長を促進するソマトスタチン免疫原

ソマトスタチンに対する抗体を誘発するために、本発明の免疫原は単独でまたは組合わせて使用することができる。ソマトスタチンは全体の体の成長の主要なインヒビターである。それは14アミノ酸の環状ペプチドホルモン(配列番号80、表5)であり、そしてその構造は種を通して保存される。ソマトスタチンは多数の胃腸のホルモンの放出を阻害し、ならびに成長ホルモン、インスリン、および甲状腺ホルモンの放出を阻害し、栄養素を吸収する動物の能力およびこれらの栄養素を組織の成長に向ける動物の引き続く能力に影響を与える。免疫化によるソマトスタチンの中和は、ヒツジ、ヤギ、ニワトリ、およびブタ(Spencer、Dom. Anim. Endocr.、1986; 3:55; Spencer他、Reprod. Nutr. Develo p.、1987; 27(2B):581; Laarveld他、Can. J. Anim. Sci.、1986、66:77)、および畜牛(Lawrence他、J. Anim. Sci.、1986、63(Suppl.):215)における成長を刺激することが示された。

40

【0079】

成長速度を刺激し、飼育時間の20%の短縮に導く(Spencer、1986; Spencer他、1987)に加えて、ソマトスタチンに対する活性免疫化は、また、食物変換効率に有益に影響を与える、すなわち、いっそう急速な成長により飼料が節約されることに加えて、動物は成長期間の間に食物をいっそう効率よく実際に利用し、これは少なくとも部分的に消化管の運動性が変化した結果である(Fadlalla他、J. Anim. Sci.、1985、61:234)。処置は死体の組成に対して顕著な効果を示さない(Spencer他、1987)が、等しい体重で屠殺し

50

たとき、処置した動物は脂肪が少なくかつ赤肉が多いことが示される。実験データを総合すると、ソマトスタチンに対する有効な活性免疫化（抗ソマトスタチン抗体の存在により証明されるように）は、成長を増強するために強力な、安全な、有効な道具である（Spencer, 1986）。

【0080】

しかしながら、ソマトスタチンは短いペプチドでありかつ自己抗原であり、そしてそれ自体非免疫原性である（表5参照）。それにもかかわらず、文献において報告されているように、ソマトスタチンのいくつかの免疫原性形態が設計され、試験されてきている。例えば、免疫効力を増強するためにソマトスタチンはタンパク質担体と複合化されてきている。しかしながら、タンパク質担体は飼育場の動物において経済的に使用するためには費用がかかり過ぎる。さらに、ソマトスタチンを使用する有効免疫化は、担体をソマトスタチンに複合化させる方法に高度に依存する。ほとんどの場合において、グルタルアルデヒドはソマトスタチン上に存在するリシン残基とのカップリングのための担体として使用される。ソマトスタチン上の2つのリシンは12マーの機能的ループ内のカップリング残基のために利用可能である。これらのループの複合化は、自然ソマトスタチン構造の有意な損失を生ずることがある。その結果、自然ソマトスタチンに対する抗体の交差反応性が減少する。そのうえ、タンパク質担体を使用すると、免疫応答の大部分はソマトスタチンよりむしろ担体に対して向けられる（1またはそれ以上の担体分子の質量はソマトスタチンの質量より非常に大きい）。小さいペプチド担体複合体を使用する免疫化はしばしば担体誘導免疫抑制に導いた（Schutz他、J. Immunol., 1985, 135 : 2319）。したがって、飼育場の動物のためにいっそう適当である免疫原性を増強する、種々の方法が必要とされている。ワクチンは安価であり、ソマトスタチンに対して初期の強い免疫応答を刺激し、担体誘導抑制を回避できるべきである。

【0081】

表5に示すソマトスタチン/Thエピトープペプチド免疫原を合成し、ラットに投与した。実施例1に記載するようにペプチドELISAにより、免疫化作用を測定した。試験したペプチド免疫原（配列番号80）の1つにおいて環化ソマトスタチンを使用して、そしてアッセイにおいてELISAの固相基質として使用した。ソマトスタチンを完全に環化するために、切断したペプチドを水中の15%のDMSO中に溶解して、内部のジサルファイド結合の形成を促進した。

【0082】

表5に示す結果から、ソマトスタチン単独は免疫原性を欠くが、これに対して本発明のペプチド免疫原は免疫化宿主において高い力価のソマトスタチン特異的抗体を誘発したことが明らかである。Thエピトープ（配列番号6、7、8および31）を使用して、配列番号81~83、配列番号84~86および配列番号87について発生した抗ソマトスタチンの応答は、Thエピトープの有効性を示す。しかしながら、免疫原性について抗体力価の厳密に比較すると、C-末端にThエピトープを配置することが好ましいことが示される。配列番号6、7、8のようなThエピトープを使用した、配列番号84~86についての結果は、より初期のより高いレベルの抗体が誘発されたことを示す。表5の結果は人工的Th/ソマトスタチン組成物を使用する免疫化に対する強い抗体応答を例示し、これにより飼育場の動物における成長促進のための本発明のこれらのペプチドの実用性を確立する。

実施例5

HIV感染の予防のペプチド組成物

本発明の理想化Th部位と、HIVの宿主細胞レセプター/コレセプター複合体に対して交差反応性のターゲット抗原部位とを含んでなるペプチド免疫原は、免疫化宿主における宿主細胞複合体に対する抗体を誘発するために使用できる。CD4を発現する宿主リンパ球の表面上に位置する前記複合体は、ケモカインレセプタードメインに関連するCD4を含んでなる。この複合体は、T細胞の中へのHIVの進入のための主要なレセプターである。このCD4複合体に対して向けられた抗体は、HIVとそのレセプターとの間の相互作用、およびCD4-クラスIIおよびCD4を発現するT細胞と他の活性化されたT細胞との間の相互作用を

ブロックする。こうして、この複合体に対して向けられた抗体は、HIV - 1、HIV - 2、およびSIVの一次単離物に対して広い中和活性を有し、そしてCD4 + 細胞仲介免疫応答に関与する(W097/46697号)。

【0083】

ヒトを包含する哺乳動物における活性免疫化により、CD4複合体に対する血清抗体の高い力価を発生させるために、CD4複合体の抗原部位に関係するペプチド免疫原は、単独でまたは組合わせて使用することができる。これらの抗体は、免疫不全ウイルスの感染の予防および治療のために、ならびに望ましくない免疫応答、例えば、移植拒絶反応、慢性関節リウマチ、全身性エリテマトーデス、および乾癬の治療のために有効である。

【0084】

ターゲット抗原部位としてCD4のCDR2様ドメインから修飾された配列を使用して、人工的Thエピトープ/ターゲット抗原部位のペプチド免疫原を設計した。修飾された部位は、次のようにして修飾されたヒトCD4のCDR2様ドメインから取ったペプチド配列を含んでなる(Maddon他、Cell、1985; 42: 93; およびLittman他、Cell、1988; 55: 541のナンバリングシステムに従うアミノ酸39-66): (1)天然に存在するCD4配列の位置39のN-末端側のシステイン残基の挿入、(2)その位置66のC-末端側のシステイン残基の挿入、および(3)環状構造を生成する挿入されたシステイン間のジサルファイド結合の形成。下記の配列のCD4-CDR2の最適化されかつ修飾された(すなわち、環化された)ターゲット部位が提供される:

1. Cys - Asn - Gln - Gly - Ser - Phe - Leu - Thr - Lys - Gly - Pro - Ser - Lys - Leu - Asn - Asp - Arg - Ala - Asp - Ser - Arg - Arg - Ser - Leu - Trp - Asp - Gln - Gly - Asn - Cys

2. (配列番号88)

環化を完結するために、修飾されたペプチドを水中の15%のDMSO中に48時間溶解して、システイン間の内部のジサルファイド結合の形成を促進した。配列番号84をペプチド免疫原の中に組込んだ:

(配列番号6、7、8) - GG - (配列番号88)

(配列番号89~91)

【0085】

第0、3、6にISA206/DDA中で処方した配列番号85を100 μg / 投与で投与し、そのモルモットにおける免疫原性を評価した。実施例1に記載したようにペプチドELISAにより、免疫原性を測定した。環化したターゲット抗原部位のペプチドをELISAにおいて固相基質として使用した。標識化複合体はモルモットIgGに対して特異的であった。6匹のモルモットの6匹は、得られたELISA反応性により首尾よく血清変換(seroconvert)された。配列番号85は高度に免疫原性であり、そして大型動物において機能的であることは意味がある。

【0086】

配列番号85を含んでなる免疫原性組成物をIFA中で処方し、300 μg / 投与を第0、3、6に筋肉内注射によりブタに投与した。ブタは血清変換され、第8週からの血清を一次単離物に対する中和活性について試験した。HIV - 1 VL135、サブタイプBの一次単離物について、MT - 2 マイクロブランク中和アッセイ(Hanson他、J. Clin. Microbiol.、1990; 2030; W097/46697号)により、中和活性をアッセイした。ブタの血清試料は1:249の希釈で50%の中和、そして1:97の希釈で90%の中和を提供した。したがって、本発明のペプチド免疫原組成物を使用する大型動物宿主の免疫化は、CD4を含んでなる宿主レセプターに結合し、HIVを中和する抗体を産生した。

【0087】

実施例6

アレルギーの処理のペプチド組成物

本発明の理想化人工的Th部位と、IgEのイプシロン()重鎖の第3定常ドメイン(CH3)上のエフェクター部位と交差反応するターゲット抗原部位とを含んでなるペプチド免疫

10

20

30

40

50

原が提供される。免疫化された宿主中のIgE エフェクター部位に対して自己抗体を発生させるために、これらの免疫原を使用することができる。そのIgE - CH3 エフェクター部位は、ヒトIgE のイプシロン () 重鎖のCH3 ドメインのセグメントから修飾する (アミノ酸413 - 435 (DorringtonおよびBennich、1978; 41: 3))。それを次のようにして天然に存在するIgE 配列のそれから修飾する: (1) 位置413 におけるN - 末端側に対するシステイン残基の挿入、(2) セリンによる自然IgE 配列における自然システインの置換、(3) 位置435 におけるC - 末端側におけるシステインの挿入、および(4) 環状構造を生成するN - 末端およびC - 末端におけるシステイン間のジサルファイド結合の形成。このプロセスにより、ヒトIgE のターゲット抗原部位は最適化される。

3. Cys - Gly - Glu - Thr - Tyr - Gln - Ser - Arg - Val - Thr - His - Pro - His 10
-

4. Leu - Pro - Arg - Ala - Leu - Met - Arg - Ser - Thr - Thr - Lys - Cys
(配列番号92)

【0088】

自然配列からのアミノ酸置換は下線で示されている。結果が示すように、誘発されたポリクローナル抗体は免疫化宿主におけるIgE のCH3 エフェクター部位に対する特異性を有する。抗体はIgE によるマスト細胞および好塩基球の感作を防止し、マスト細胞/好塩基球の誘発および活性化を防止し、IgE 合成のダウンレギュレーションに導く。そのうえ、表6 に示すペプチドにより誘発され、このターゲット抗原部位を含んでなる抗体はヒトIgE と交差反応し、そしてこれらの抗体は安全でありかつ非アナフィラキシー性である。さらに、抗体は高いアフィニティーの細胞レセプターに結合したIgE に架橋して脱顆粒を誘導しない。 20

【0089】

IgE - CH3 抗原部位に関係するペプチド複合体は、単独でまたは組合わせて処方し、ヒトを包含する哺乳動物を免疫化して、アレルギー症候群の予防および治療のために有効である、高い力価の血清抗体を発生させるために使用できる。

【0090】

修飾されたIgE - CH3 ターゲット部位 (配列番号92) の中に組込むペプチド免疫原は、配列番号87~90として表6 に示されている。これらのペプチド免疫原を使用して、100 μg / 投与において、CFA 中で処方して第0 週に、IFA 中で処方して第3 および6 週に3 匹のモルモットのグループを免疫化し、筋肉内に投与した。比較のため、2 匹の動物のグループを200 μg / 投与においてペプチド/KLH 担体タンパク質複合体 (同様に投与された) で免疫化した。第8 週に収集した血清試料のELISA 結果を示す。ELISA において、ヒトIgE 骨髄腫タンパク質 (Applied Biosystems, Inc., カタログNo.A113) を固相免疫吸着剤として使用した。使用した手順は以前に記載されたペプチドをベースとするELISA と同一であったが、ただしIgE 骨髄腫を固相免疫吸着剤として使用した。こうして、結果はヒトIgE との免疫反応性を示す。また、ELISA の結果は、構築物のすべてが免疫原性であり、ヒトIgE と、よりすぐれた免疫原性を提供する本発明のペプチド免疫原と交差反応性であったことを証明する。配列番号98を超えた配列番号99の免疫原性の増強により示されるように、Inv ドメイン配列 (配列番号78) の付加は免疫原性を増強した。 40

【0091】

生物学的活性および安全性についてのアッセイにおいて抗ヒトIgE を試験するために、手順は前述した通りであるが、ただし動物にまた第10週にIFA 中のペプチド免疫原をブースター投与した。モルモットのIgG 抗体を精製し、そして次のようにしてアレルゲン特異的IgE によるヒト好塩基球の感作を阻害する精製された抗体の能力を測定した。

【0092】

第8 および12週に収集した血清からモルモットのIgG を、プロテインA アフィニティークロマトグラフィー (ImmunoPureR Immobilized RecombR Protein A、Pierce) により精製した。配列番号98、99で免疫化した動物からの血清をプールした。溶離した抗体を標準的濃度の25mMのPIPES 緩衝液、0.15M のNaCl、pH7.2 中の8mg / mlにおいて調製し 50

た。無関係のペプチド免疫原で免疫化されたモルモットのプールした血清から、対照抗体調製物を調製した。ヒト好塩基球のIgE 仲介感作の減少を測定するアッセイにおいて、パーコール (Percoll) 密度勾配の遠心を使用してボランティアの静脈血液から、ヒト好塩基球を調製した (MacGlashan, J. Allerg. Clin. Immunol., 1993; 91: 605 - 615)。バンド化白血球を収集し、洗浄し、記載されているように (MacGlashan, 1993) 0.1 ml のPAGCM 緩衝液中に再懸濁させ、ただし細胞を懸濁させるために使用した緩衝液は44%のD₂O を含有する水を使用して構成した。アッセイに使用したIgE はアレルゲン特異的であり、ヒトBP0 特異的IgE からのものであるか、あるいはHIV 糖タンパク質gp120 に対する特異性を有するグラフト化可変ドメインを有するキメラヒトIgE からのものであった。0.25 µg / mlのアレルゲン特異的IgE を37 °Cにおいて、等しい体積の8mg / mlの精製された抗体と15分間前インキュベートした。抗体混合物を添加し、20分間インキュベートして、非複合化IgE による好塩基球の感作を可能とした。次いで記載されているように (MacGlashan, 1993) 感作物をアレルゲン、BP0₂₁ - HSA またはgp120 ポリペプチドの添加により刺激した。適当なインキュベート期間 (通常45分) 後、好塩基球を上清から分離し、上清を自動化蛍光測定技術 (Siraganian, Anal. Biochem., 1974; 57: 383 - 394) によりヒスタミン含量についてアッセイした。すべての反応を二重反復実験において実施した。試料 / (総ヒスタミン - 両方の自発的ヒスタミン放出量) の比から、ヒスタミン放出百分率を計算した。実験抗体によるヒスタミン放出を無関係の特異性を有する対照抗体によるヒスタミン放出に対して比較し、比を得た。(ヒト好塩基球についてのヒスタミン放出は、Donald W. McGlashan 博士、The Johns Hopkins University School of Medicine, Johns Hopkins Asthma and Allergy Center、バルチモアによりコード化された条件下に実施された)。抗特異的抗IgE によるヒスタミン放出の比阻害は、それぞれ、第8 週および第12週に採取した放血から精製された抗体について61%および71%であった。

【0093】

次いで、これらの活性的に誘導されたポリクローナル抗体を安全性についてさらに試験した。それらを、アレルゲンの非存在下に、レセプター結合したIgE を架橋し、自発的ヒスタミン放出を誘導する能力および不能について試験した。これはそれらが非アナフィラキシー性抗IgE 抗体であるか否かを確立する。モルモット抗配列番号98の産生を、アレルゲンの非存在下に、IgE 感作好塩基球の直接的チャレンジにより試験して、レセプター結合したIgE を架橋し、脱顆粒を誘導する能力について評価した。抗配列番号98によるヒスタミン放出は、ドナー細胞による自発的ヒスタミン放出のレベルに等しかった。この結果に基づいて、配列番号98のターゲット抗原部位、すなわち、配列番号92に対して特異的な抗体は非アナフィラキシー性であることが結論された。

【0094】

また、第12週の抗配列番号98調製物をIgE 特異性について評価して、イソ型特異的免疫抑制に対するこれらの抗体の潜在的能力を決定した。ヒトIgE およびIgG に対する抗配列番号98モルモット抗体の交差反応性をELISA により比較した。手順をヒトIgE について記載する。ヒトIgE ELISA のために、ヒトIgG を固相免疫吸着剤として使用した。

【0095】

IgE ELISA プレートにヒトIgE 骨髄腫で5 µg / mlにおいて被覆した。IgG ELISA のために、プレートをヒト精製IgG (Sigma、試薬級ヒトIgG) で、また、5 µg / mlにおいて被覆した。精製モルモット抗配列番号98を、両方のELISA において0.5 および0.1 µg / mlの濃度において反応性について試験した。結果を対照モルモット血清から精製された抗体、および「非抗体」対照と比較した。IgE に対する抗配列番号98抗体について得られたA490値は、0.5 µg / mlにおいて1.126 および0.1 µg / mlにおいて0.344 であった。IgG に対する抗配列番号98抗体について得られたA490値は、対照抗体に等しく、バックグラウンド値であった。これが示すように、ヒトIgG に対するモルモット抗配列番号98の交差反応性は存在しなかった。

【0096】

本発明のペプチド免疫原組成物は、IgG 抗体を認識し、したがってIgE に対して特異的であるイソ型である抗体を誘発しなかった。こうして、本発明のTh / IgE ターゲット抗原部位の免疫原を使用する活性免疫化は安全な非アナフィラキシー性抗IgE 抗体を誘発すると、結論することができる。抗体はIgE 仲介感作の阻害において有効であり、そしてイソ型IgE の抗体に対して特異的な免疫抑制の潜在的能力を表示した。

【 0 0 9 7 】

実施例7

口蹄疫の予防のためのペプチド組成物

本発明の理想化人工的Th部位と、口蹄疫ウイルス (FMDV) のVP1 キャプシドタンパク質上の「G - H ループ」に対して交差反応性のターゲット抗原部位とを含んでなるペプチド免疫原を使用して、FMDVに対する中和抗体を誘発することができる。

口蹄疫 (FMD) は家畜の最も経済的に重要な疾患である。畜牛、ブタ、ヒツジおよびヤギを包含する双蹄種は感受性である。7 つの明確な血清型が記載された：A、O、C、アジア、および南アフリカSAT - 1、2、および3、それらの各々は多数のサブタイプに細分することができる。血清型A、O、およびアジア - 1 のウイルスは最も普通である。血清型A ウイルスは最も可変性であり、30より多いサブタイプを有する。血清型の交差保護は存在しないので、1 つの血清型のウイルスの感染から回収された動物またはそれに対してワクチン接種された動物は、残りの6 つの血清型からのウイルスの感染に対してなお感受性である。そのうえ、ある血清型内の抗原の変動の程度は、1 つのサブタイプに対して作られたワクチンがその同一血清型内の他のサブタイプに対して保護的でないことがある (Brown、Vaccine、1992；10：1022 - 1026)。

【 0 0 9 8 】

すべての7 つのFMDV血清型に属する単離物のVP1 キャプシドタンパク質の141 - 160 領域 (G - H ループ) に対応する血清型特異的ペプチドは、モルモットにおいて保護レベルの型特異的中和抗体を誘発することが示された (Francis 他、Immunology、1990；69：171 - 176)。明らかなように、この領域はウイルスの血清型特異性をまた担持する優性免疫原部位を含有する。これらの141 - 160 VP1 ペプチドの免疫原性の初期観測は、担体タンパク質KLH (キーホールリンペットヘモシアニン) に複合化した合成ペプチド、すなわち、よく規定された合成免疫原を製造する利点を無効にする手順、を使用して達成された。しかしながら、VP1 合成免疫原の発生はDiMarchiおよびBrook (米国特許第4,732,971号) により開発され、彼らは200 - 213 Pro - Pro - 141 - 158 - Pro - Cys - Gly (配列番号100) キメラ構築物で結合された、サブタイプ0 単離物からの2 つのVP1 は、チャレンジに対して畜牛を保護する抗体レベルを誘発することを示した。それにもかかわらず、この作用の効能はペプチド免疫原の免疫原性およびその狭い血清型特異性により制限された。実際の用途において、ワクチン処方物は、少量のペプチド免疫原を使用して、ホモ型およびヘテロ型の両方の暴露に対する保護を提供することを要求される。

【 0 0 9 9 】

広く中和性の抗体を誘導するために免疫原性および能力を最適されたG - H ループ免疫優性部位を、本発明のペプチド免疫原の中にターゲット抗原部位として組込む。この部位はA12 のFMDV VP1 タンパク質株のアミノ酸位置134 - 169 に対して相同的であり (Robertson 他、J. Virol.、1985；54：651 - 660) G - H ループの各末端を越えて延びる。ターゲット部位を下記によりさらに修飾した：(1) 位置134 におけるAsp および位置157 におけるGln をシステインで置換する、(2) 置換基システイン間にジサルファイド結合を形成して環状構造を生成する、そして(3) サブタイプの選択から対応するVP1 配列を使用してそのSSALを構築する。FMDV VP1 のために最適化されたターゲット抗原は、表7 に列挙するペプチドにより例示される。2 つのペプチド免疫原、配列番号101 および配列番号102 は、それぞれ、FMDV血清型0 およびアジアの株から収集されたSSALターゲット抗原部位である。血清型0 およびアジアの両方のターゲット抗原部位を本発明のThエピトープ、配列番号31にカップリングさせた。Inv ドメイン配列 (配列番号78) をまた配列番号102 の中に組込んだ。

10

20

30

40

50

【0100】

これらの2つのSSALペプチド免疫原を合成し、3匹のダンカン・ハートレイ (Duncan Hartley) モルモット (雌、9週齢、450g、無ウイルス) のグループを超免疫化するために使用した。各動物を100 µg / 投与の示した合成構築物でCFA中に乳化して第0週に免疫化するか、あるいはIFA中に乳化して第3および6週に免疫化した。動物を第0、5および10週で試験のために放血した。

【0101】

血清試料を第5および10週の放血から獲得し、各グループからプールした。固相免疫吸着剤として中和エピトープ (VP1 134 - 169) のための配列を有するペプチドを使用して、ペプチドをベースとするELISAにより、プールした血清をVP1中和エピトープに対する反応性について評価した。また、FMDV株A1A12_{FP}、A_{FL}、A23、0-1_{JH}、およびアジア-1を中和するそれらの能力を測定した。前述のウイルス株のアリコート (10,000MPD₅₀) を使用して、インプットウイルス負荷を連続的に増加することによって、血清試料の1:100希釈のウイルス中和活性を測定した。結果を表7に示す。実施した試験方法 (MorganおよびMoore、Am. J. Vet. Res.、1990; 51: 40 - 45) は、本発明のペプチド抗原を使用する免疫化が1:100希釈において2.5log₁₀FMDVマイクロプラークだけ減少した血清を提供しすることを証明した。また、FMDV感染に対する保護免疫を結果は高度に予測する。

10

【0102】

表7により示されるように、ターゲット抗原部位に対する高い抗ペプチド力価 (> 5log₁₀) は第5週までに誘発された。3つの異なるFMDV血清型 (すなわち、A、0、アジア) に属する、すべての試験した株の広くかつ有効な中和が、これらの株および血清型間の広い変動にかかわらず、観測された。

20

【0103】

さらに、これは、外来病原体からのエピトープに対して有効な抗体応答を刺激する、本発明の人工的Thエピトープの効能を証明する。

【0104】

実施例8スポロゾイトマラリアワクチンのペプチド組成物

理想化人工的Th部位と、熱帯熱マラリア原虫 (Plasmodium falciparum)、ヒトマラリア寄生生物からのサーカムスポロゾイト (circumsporozoite) (CS) ターゲット抗原とを含んでなるペプチド免疫原を準備する。CSタンパク質は寄生生物のスポロゾイト段階の主要な表面抗原である。免疫原の研究およびヒト、サル、および齧歯類のプラスモジウムの多数のCS遺伝子についての配列データが記載されてきており、これらはすべてのCSタンパク質が免疫優性B細胞エピトープの多数のコピーを包含する、1系列の縦列反復から成る中央領域を含有することを示している。熱帯熱マラリア原虫 (P. falciparum) において、反復エピトープは次のように表される：

30

(Asn - Ala - Asn - Pro) n

(配列番号103)

ヒトマラリア寄生生物、熱帯熱マラリア原虫 (P. falciparum) および三日熱マラリア原虫 (P. vivax) のCSタンパク質の反復に対して向けられた抗体は、スポロゾイトにより肝細胞の侵入を阻害し、それらの感染性を壊滅させる。したがって、CSエピトープの反復は種々のヒトマラリアワクチンの試験において使用されるサブユニットワクチンのターゲット抗原である (Nussenzweig 他、Adv. Immunol.、1989, 45: 283; Hoffman 他、Science、1991, 252: 520)。しかしながら、現在臨床試験における種々の合成マラリアワクチンの欠点の1つは免疫原性が低いことである。こうして、潜在的マラリアワクチンは開発し続けられている。(Calvo - Calle 他、J. Immunol.、1994, 150: 1403)。

40

【0105】

熱帯熱マラリア原虫 (P. falciparum) のCSタンパク質の反復に関連する免疫原性の問題を克服するために、表1に示す人工的ThエピトープをCSペプチド免疫原の中に組込む。例

50

えば、ペプチド構築物

(配列番号15、18) - NLys - (Asn - Ala - Asn - Pro)₄

(配列番号104、105)

を合成し、小型動物、霊長目(例えば、ヒヒ)およびヒトにおいて熱帯熱マラリア原虫(*P. falciparum*)スポロゾイトに対する効力のある保護的抗体を誘発するために、マラリアワクチンにおける主要な免疫原として使用する。

【0106】

実施例9

アテローム性動脈硬化症および心臓血管性疾患

の予防および治療のためのペプチド組成物

コレステリルエステル輸送タンパク質(CETP)はHDLからTGに富んだりリポタンパク質、例えば、VLDLおよびLDLへのコレステリルエステルの輸送を仲介し、また、VLDLおよびLDLからのTGの往復交換を仲介する(Tall、J. Internal Med.、1995、237:5-12; Tall、J. Lipid Res.、1993、34:1255; Hesler他、J. Biol. Chem.、1987、262:2275; Quig他、Ann. Rev. Nutr.、1990、10:169)。CETPは、リポタンパク質の種々のクラスに関連するコレステリルエステルおよびトリグリセリドのレベルのモジュレートにおいてある役割を演ずることができる。高いコレステリルエステル輸送活性は、LDL関連コレステロールおよびVLDL関連コレステロールのレベルの増加と相関されてきており、後者は引き続いて心臓血管性疾患の危険の増加と相関される(例えば、下記の文献を参照のこと:Tato他、Arterioscler Thromb. Vascular Biol.、1995、15:112)。

【0107】

ヒト血漿から単離されたCETPは476アミノ酸を有する疎水性糖タンパク質である。ヒトCETPをコードするcDNAはクローニングされ、配列決定された(Drayna他、Nature、1987、327:632)。モノクローナル抗体TP2:以前には5C7と表示された)が製造され、これはCETPのコレステリルエステルおよびトリグリセリドの輸送活性を完全に阻害し、そして、より少ない程度に、リン脂質の輸送活性を阻害する(Hesler他、J. Biol. Chem.、1988、263:5020)。TP2のエピトープはカルボキシル末端の26アミノ酸、すなわち、ヒトCETPのArg451-Ser476に局在化された(Hesler他、1988、参照)：

【化2】

```
Arg Asp Gly Phe Leu Leu Leu Gln Met Asp
Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp
Phe Leu Gln Ser Leu Ser
```

【0108】

TP2はin vitroにおいてヒトおよびウサギの両方のCETP活性を阻害し、そしてin vivoにおいてウサギCETPを阻害することが報告された(Yen他、J. Clin. Invest.、1989、83:2018)。TP2により境界されるCETPの領域のそれ以上の分析により、Phe463とLeu473との間のアミノ酸が明らかにされた。

【化3】

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu
Ser

(配列番号 107)

はTP2 の結合のために、そしてCETP中性脂質結合および輸送活性を中和するために必要である (Wang他、J. Biol. Chem.、1992、270 : 612、参照)。

10

【 0 1 0 9 】

動物モデルおよびヒトを利用する多数のin vivo研究において、CETP活性は循環コレステロール含有HDL のレベルに影響を与えることができることが示された。CETPコレステリルエステル輸送活性は、LDLCおよび/またはVLDLC レベルに関するHDL - C レベルの減少および低いHDL を生成することができ、低いHDL は引き続いてアテローム性動脈硬化症に対する感受性の増加と相関される。したがって、CETP活性をコントロールする化合物および方法の発見は、心臓血管性疾患の予防または治療において有利であろう。

【 0 1 1 0 】

Rittershaus 他、W096/34888号において、B 細胞エピトープ部分、例えば、CETPの中性脂質結合または輸送活性に関係するヒトCETPのカルボキシル末端部分の中に見出される部分に、結合された、好ましくは共有結合された、「万能」または「広い領域」の免疫原性ヘルパーT 細胞エピトープを含んでなるペプチド組成物の使用が提案されている。ヒトCETP上の機能的部位、すなわち、ヒトCETPのカルボキシル末端のアミノ酸 (配列番号96および97) の免疫原性を増強するために、表1 からの人工的Thエピトープと、CETPターゲット抗原ペプチドとを含んでなる抗原ペプチドに結合したそれらのアナログが合成された。表8 に示されている、これらのペプチド抗原を使用して、小型の動物、霊長目およびヒトにおけるCETPに対する抗体を誘発する。抗CETP抗体はCETP活性をコントロールする。これにより、CETP抗原ペプチドは、血漿中のLDL 関連コレステロールの蓄積を減少させ、そしてアテローム性動脈硬化症および冠状心臓疾患の保護または治療を提供することが期待される。

20

30

【 0 1 1 1 】

実施例 10

HIVに対する中和抗体の誘発するHIV ワクチン成分としてのペプチド組成物

HIV - 1 に対して有効なワクチンの開発における進歩は、大きい部分において、測定可能なウイルス特異的CD8⁺細胞障害性T リンパ球 (CTLs) および中和抗体、すなわち、保護的免疫応答の主要インジケータを誘導する能力を測定することによって正確に測られた。感染に対する保護とHIV - 1 またはサルHIV (SHIV) が感染した霊長目における中和抗体のレベルとの間において、強い相関が観測された。しかしながら、過去数十年にわたって中和抗体の発生において進歩はほとんどなされてきていない。この問題の一部分は、候補のHIV - 1 ワクチンにより発生される中和抗体応答が弱いことである。「効力のある、広く交差反応性の中和抗体を発生するHIV 型1 ワクチンに関して (Toward an HIV Type 1 vaccine that generates potent, broadly cross-reactive neutralizing antibodies)」と題するMontefiori他最近の論文 (AIDS Res. and Hum. Retrovir.、1999、15 : 689 - 698) は、HIV ワクチンの開発において直面する困難の技術水準の概観を提供する。

40

【 0 1 1 2 】

HIV に対する中和抗体の応答を増強するために、我々は効力のある中和抗体を誘発することを目的とした合成抗原を設計した。これらの合成抗原の設計において、従来モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体により認識されるHIV 中和B 細胞エピトープ (例えば、Korber他、HIV Mol. Immunol. Database 1997、Part III Antibody Binding

50

Sites) または中和ミメトープ (mimotope) (例えば、Scala 他、J. Immunol., 1999、162 : 6155 - 6161) に共有結合された構築物の免疫刺激因子として、特別に設計された人工的Thエプトープを使用する。 HIV 中和B 細胞エプトープの中で、HIV gp120 のV3 主中和決定因子の最適フレームを含んでなる人工的V3コンセンサス配列が設計された (配列番号125) (Wang, C. Y., 米国特許第5,763,160 号)。これらはサブタイプA ~ G の1,000 を超える単離物からのアミノ酸配列の分析に基づいて、そのフレーム内のアミノ酸位置の各々について最も頻度の高いアミノ酸、ならびに本明細書において表9 および10において配列番号125、126 ~ 129、148 ~ 153 に示すHIV gp120 / gp41領域の線状またはコンフォメーションのエプトープに由来する配列を含む。また、表9 に示すように、本発明のペプチド、配列番号136 ~ 147 として、Scala 他 (配列番号130 ~ 135) の中和ミメトープを合成する。

10

【0113】

表10に示す本発明の免疫原性ペプチド構築物は完全に合成的であり、実施例1 に概説されている固相法により合成した。これらの免疫原性ペプチド構築物は、さらに、HIV ワクチンの開発における本発明の人工的Thの実用性を例示する。

表10における各ペプチドは、式 (A)_n - (Th)_m - (B)_o - (HIV B 中和エプトープ) - X または (HIV 中和エプトープ) - (B)_o - (Th)_m - (A)_n - X により表すことができる。HIV 中和エプトープは、配列番号125 および130 ~ 135 を包含する。免疫原性ペプチドは、人工的Thに由来する1 またはそれ以上のThを含んでなる (表1 に示すように)。この実験の各ペプチドはGly - Gly または (- N) Lys スペースを免疫原性因子間に有するが、本発明のペプチドは他のスペースをもつか、あるいはもたないことができる。

20

【0114】

これらの実施例のペプチドは任意のInv 免疫刺激部位 (配列番号27) を含んでなることができる。しかしながら、本発明は追加の免疫刺激因子としてInv の使用に限定されないことが理解される。

【0115】

表10に列挙するような本発明の代表的なペプチド複合体 (配列番号148 ~ 153) を、実施例1 に記載したように、合成し、環化し、精製した。免疫原性の評価において、小型動物、例えば、モルモット、または大型動物、例えば、ブタまたはヒヒを免疫化するために各ペプチド複合体を処方した。ペプチドの各々を代表的乳化剤またはアジュバント、例えば、ISA51、ISA720、DDA またはモノホスホリル脂質A (MPL) を含有する0.5ml の体積中に、ペプチドの各々を懸濁させた。投与量はモルモットについて100 μg またはブタまたはヒヒについて300 μg であり、そして動物を筋肉内的に免疫化した。

30

【0116】

表10に示すように、動物に第0、3 および6 週に注射した。初期免疫化後第5、8、10 および11週における試験放血を、実施例1 に記載したようにB 細胞エプトープのペプチドELISA によりターゲットエプトープとの反応性について評価し、さらに実施例5 において詳述するようにHIV - 1 を中和する能力について試験した。

【0117】

4 より大きい抗B エプトープペプチドELISA のlog₁₀ 力価により示されるように、試験したすべてのペプチドは対応するターゲットペプチドに対して強い部位特異的交差反応性を誘発した。HIV - 1 の中和は、また、モルモットおよびヒヒから得られた免疫血清について観測された。ヒヒ血清によるヒトHIV の中和はほとんどヒト系であるので、ヒヒ血清によるこの機能的反応性は注目に値する。これらの結果は、活性免疫化によるHIV 感染の予防および/または免疫療法のための因子として、本発明のペプチド複合体の効力の強いインジケーターである。

40

【0118】

【表1】

表 1

モデル、プロトタイプ、および人工的理想化Thエピトープ

a. MVF Thおよびから誘導されたThエピトープ

Th同定因子	アミノ酸配列
MVF Th	SEQ ID NO:1 LSEIKGVIVHRLEGV
SSAL1 Th1	SEQ ID NO:2 DLSDLKGLLLHKLDGL
	SEQ ID NO:3 EI EIR <u>III</u> RIE I
	SEQ ID NO:4 V V <u>VVV</u> V V
	SEQ ID NO:5 F F <u>FFF</u> F F
SEQ ID NO:6	ISEIKGVIVHKIEGI
SEQ ID NO:7	MT RT TRM TM
SEQ ID NO:8	L L V
SEQ ID NO:6	ISEIKGVIVHKIEGI
SEQ ID NO:9	T RT TR T
SEQ ID NO:10	MSEIKGVIVHKLEGM
SEQ ID NO:11	LT MRT TRM TV
SEQ ID NO:6	ISEIKGVIVHKIEGI
SEQ ID NO:12	ITEIRTVIVTRIENTI
SEQ ID NO:13	MSEMKGIVIVHKMEGM
SEQ ID NO:14	LTEIRTVIVTRLETV
SEQ ID NO:15	ISISEIKGVIVHKIEGILF
SEQ ID NO:16	MT RT TRM TM
SEQ ID NO:17	L L V
SEQ ID NO:15	ISISEIKGVIVHKIEGILF
SEQ ID NO:18	T RT TR T
SEQ ID NO:19	ISLSEIKGVIVHKLEGMF
SEQ ID NO:105	MT MRT TRM TV
SEQ ID NO:123	ISLTEIRTVIVTRLETVLF
SEQ ID NO:124	I I I
SEQ ID NO:15	ISISEIKGVIVHKIEGILF
SEQ ID NO:20	ISITEIRTVIVTRIENTILF
SEQ ID NO:21	ISMSEMKGIVIVHKMEGMF
SEQ ID NO:22	ISLTEIRTVIVTRLETVLF

b. HBsAg Th、プロトタイプおよび誘導体

Th同定因子	アミノ酸配列
HbsAg.Th	SEQ ID NO:23 FFLTRILTIPOSLD
	SEQ ID NO:24 KKKFFLLTRILTIPOSLD
	SEQ ID NO:25 FFLTRILTIPOSL
SSAL2 Th2	SEQ ID NO:26 KKKLFLTKLLTLPQSLD
	SEQ ID NO:27 RRRIKII <u>RII</u> I L IR
	SEQ ID NO:28 <u>VRVV</u> <u>VV</u> V I V
	SEQ ID NO:29 F <u>FF</u> <u>FF</u> F V F
	SEQ ID NO:30 F
SEQ ID NO:31	KKKIITITRIITITID
SEQ ID NO:32	KKKIITITRIITITTI
SEQ ID NO:33	KKKMMTMRMITMITID
SEQ ID NO:34	FITMDTKFLLASTHIL
SEQ ID NO:35	KKKFITMDTKFLLASTHIL

【 0 1 1 9 】

【 表 2 】

表 2

LHRHペプチドの免疫原性

a. MVF Th誘導体

SEQ ID NO:	抗原ペプチドの説明	処方物		去勢された数	
		去勢された数		去勢された数	
36	(SEQ ID NO:1)-GG-(LHRH) ^a	400 μ g/投与量 IFA (0,3,6wpi)	8/10	400 μ g/投与量 明礬 (0,3,6wpi)	5/5
37	(SEQ ID NO:2)-GG-(LHRH) ^a	400 μ g/投与量 IFA (0,3,6wpi)	9/10	400 μ g/投与量 明礬 (0,3,6wpi)	2/5
38	(SEQ ID NO:3)-GG-(LHRH) ^a				
39	(SEQ ID NO:4)-GG-(LHRH) ^a				
40	(SEQ ID NO:5)-GG-(LHRH) ^a				
41	(SEQ ID NO:6)-GG-(LHRH) ^a	400 μ g/投与量 IFA (0,3,6wpi)	6/6	25 μ g/投与量 明礬 (0,3,6wpi)	3/8
42	(SEQ ID NO:7)-GG-(LHRH) ^a				
43	(SEQ ID NO:8)-GG-(LHRH) ^a				
41	(SEQ ID NO:6)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3,6wpi)	1/6
44	(SEQ ID NO:9)-GG-(LHRH) ^a				
45	(Inv) ^a -GG-(SEQ ID NO:6)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	5/5
46	(Inv) ^b -GG-(SEQ ID NO:9)-GG-(LHRH) ^a				
47	(SEQ ID NO:10)-GG-(LHRH) ^a	100 μ g/投与量 IFA (0,3,6wpi)	4/6	25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	1/8
48	(SEQ ID NO:11)-GG-(LHRH) ^a				
45	(Inv) ^a -GG-(SEQ ID NO:6)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	2/6
49	(SEQ ID NO:12)-GG-(LHRH) ^a				
50	(SEQ ID NO:13)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	0/6
51	(SEQ ID NO:14)-GG-(LHRH) ^a				
52	(Inv) ^b -GG-(SEQ ID NO:14)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	3/6
53	(SEQ ID NO:15)-GG-(LHRH) ^a				
54	(SEQ ID NO:16)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	4/8
55	(SEQ ID NO:17)-GG-(LHRH) ^a				
53	(SEQ ID NO:15)-GG-(LHRH) ^a				
56	(SEQ ID NO:18)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	6/6
57	(Inv) ^b -GG-(SEQ ID NO:15)-GG-(LHRH) ^a				
58	(Inv) ^b -GG-(SEQ ID NO:18)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	6/6
59	(SEQ ID NO:19)-GG-(LHRH) ^a				
		100 μ g/投与量	6/6	25 μ g/投与量	14/14

【 0 1 2 0 】

【 表 3 】

表 2 (続 き)

106	(SEQ ID NO:105)-GG-(LHRH) ^a	IFA (0,3,6wpi)		明礬 (0,3 wpi)	
53	(SEQ ID NO:15)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	1/6
60	(Inv) ^b -(SEQ ID NO:15)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	4/6
61	(SEQ ID NO:20)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	4/6
62	(Inv) ^b -GG-(SEQ ID NO:20)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	2/6
63	(Inv) ^b -(SEQ ID NO:21)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	1/6
64	(SEQ ID NO:22)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	4/6

10

b. HBsAg_{Th}誘導体

SEQ ID NO:	抗原ペプチドの説明	処方物		去勢された数	
		去勢された数		去勢された数	
65	(SEQ ID NO:23)-GG-(LHRH) ^a	400 μ g/投与量 IFA (0,3,6wpi)	10/10	400 μ g/投与量 明礬 (0,3,6 wpi)	0/5
66	(SEQ ID NO:26)-GG-(LHRH) ^a	400 μ g/投与量 IFA (0,3,6wpi)	9/10	400 μ g/投与量 明礬 (0,3,6 wpi)	2/5
67	(SEQ ID NO:27)-GG-(LHRH) ^a				
68	(SEQ ID NO:28)-GG-(LHRH) ^a				
69	(SEQ ID NO:29)-GG-(LHRH) ^a				
70	(SEQ ID NO:30)-GG-(LHRH) ^a				
71	(SEQ ID NO:31)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	8/8
72	(SEQ ID NO:32)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	4/6
73	(SEQ ID NO:33)-GG-(LHRH) ^a	100 μ g/投与量 IFA (0,3,6wpi)	4/6	25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	0/6
74	(SEQ ID NO:34)-GG-(LHRH) ^a	100 μ g/投与量 IFA (0,3,6wpi)	6/6	25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	5/8
75	(Inv) ^b -GG-(SEQ ID NO:34)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	4/6
76	(SEQ ID NO:35)-GG-(LHRH) ^a	N.D.		25 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	0/8
	KLH ^c -(LHRH) ^a	N.D.		50 μ g/投与量 明礬 (0,3 wpi)	2/8

20

30

^a LHRH=EHWSYGLRPG (配列番号77)^b INV=インベシンドメイン (配列番号78)^c KLH=キーホールリンペットヘモシアニン^d ヒンジスペーサー=PPXPX (配列番号79)

【 0 1 2 1 】

【 表 4 】

40

表 3

ターゲット抗原部位に対する抗体の特異性の評価

SEQ ID NO:	LHRH 反応性 ^a	Th 反応性 ^a
53 and 56	6/6	0/6 ^c
71	8/8	0/8 ^d
74	4/8	0/8 ^e

- ^a 抗LHRH力価 $>1:100$ ／免疫化した全動物を有する動物の数。
ELISAペプチドは配列番号77であった。
- ^b 抗Th反応性 $>0.100A_{490}$ ／免疫化した全動物を有する動物の数。
血清を1:100に希釈し、すべての A_{490} 値はそれぞれのThペプチドについてバックグラウンド値であった。
- ^c ELISAペプチドは2つのペプチドの混合物であった：配列番号15および18。
- ^d ELISAペプチドは配列番号31であった。
- ^e ELISAペプチドは配列番号34であった。

【 0 1 2 2 】

【 表 5 】

表 4

混合物を包含する人工的Th／LHRHペプチド組成物の評価

免疫原 ^a	0 wpi	5 wpi	8 wpi	10 wpi	14 wpi	18 wpi	22 wpi
配列番号：64 + 明礬	0/8 ^b	3/8	8/8	8/8	7/8	5/8	3/8
SEQ ID NOS:57 および 58 + 明礬	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
SEQ ID NO:64 + SEQ ID NOS:57 および58 + 明礬	0/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6

- ^a 個々のLHRHペプチド組成物または混合したLHRHペプチド組成物を明礬上で処方した。免疫化スケジュール：0および3wpiにおいて $25\mu\text{g}$ ／投与。
- ^b 免疫去勢された動物の数／グループ中の全動物数。血清テストステロン値が $<0.1\text{nmol/l}$ ～検出不可能であるとき、動物を免疫去勢されたと記録した。

10

20

30

40

50

【 0 1 2 3 】

【 表 6 】

表 5 ソマトスタチン抗原ペプチドの免疫原性

SEQ ID NO:	抗原ペプチドの説明	アジュバント	免疫原性 ty		
			WPI ^b	応答 n=4	Log ₁₀ ELISA 力価 ^c
80	ソマトスタチン ^a	0.4% 明礬 (0, 2, 4 WPI)	6 8	0 0	- -
81, 82, 83	(SEQ ID NOS: 6, 7, 8) -GG- (ソマトスタチン)	0.4% 明礬 (0, 3, 6 WPI)	5 8	1/4 4/4	2.38 3.33
84, 85, 86	(ソマトスタチン) -GG- (SEQ ID NOS: 6, 7, 8)	0.4% 明礬 (0, 3, 6 WPI)	5 8	3/4 4/4	3.24 3.12
87	(SEQ ID NO: 31) -GG- ソマトスタチン	0.4% 明礬 (0, 3, 6 WPI)	8	4/4	3.12

^a ソマトスタチンの配列: AGCKNFFWKFTSC (配列番号80)^b 週後の免疫化^c ELISA反応性動物からプールした血清についての結果

【 0 1 2 4 】

【 表 7 】

10

20

30

40

表 6
IgE-CH3抗原ペプチドの免疫原性

SEQ ID NO:	抗原ペプチドの説明	免疫原性	
		応答の数	Log ₁₀ ELISA ^b
93, 94	(SEQ ID NOS:15,18)-GG-(SEQ ID NO:92) ^a	3/3	3.30
95, 96, 97	(SEQ ID NOS:6,7,8)-GG-(SEQ ID NO:92) ^a	3/3	3.32
98	(SEQ ID NO:31)-GG-(SEQ ID NO:92) ^a	3/3	2.35
99	Inv ^c -GG-(SEQ ID NO:31)-GG-(SEQ ID NO:92) ^a	3/3	3.28
	KLH ^d -(SEQ ID NO:92) ^a	2/2	0.49

^a 修飾されたIgE-CH3部位 (配列番号92)

^b グループの動物についての平均

^c インベーションドメインペプチド (配列番号78)

^d キーホールリンペットヘモシアニン

【 0 1 2 5 】

【 表 8 】

表 7
免疫原性を改良する人工的ThおよびSSALターゲット抗原ペプチドおよびFMDV中和の広さ

SEQ ID NO:	ターゲット抗原ペプチド	WPI	応答する 動物の数 (n=3)	log ₁₀ 抗FMDV -VP1 ^d ELISA力価	血清により中和されたFMDV (MPD ₅₀) のlog ₁₀ ^{d, e}						
					A ₁₂ FP	O-1 (JH)	A- FL	O-1 P2	A- 23	Asia 1	A 1
101	(SEQ ID NO:31)-GG- -O _{complete} SSAL[134- 158 (T→C) ^a -169], 環化	5	3	5.158	3.0	4.5	2.0				5.0
		10	3				2.5	4.5	6.0		
102	Inv-GG-(SEQ ID NO:31)-GG-Asia SSAL[134 (T→C) ^b - 158 (R→C) ^c -169], 環化	5	3	5.256	3.0	4.5	2.0				4.5
		10	3				1.0	3.0	2.5		

^a 自然配列のT₁₅₈をCで置換した。
^b 自然配列のT₁₃₄をCで置換した。
^c 自然配列のR₁₅₈をCで置換した。
^d ELISA反応性動物からブールした血清の反応性。
^e 中和アッセイのための血清を1:100に希釈した。

表 8

CETP抗原ペプチド

SEQ ID NO	抗原ペプチドの説明
110,111	(SEQ ID NOS:15,18)-□NLys-(SEQ ID NO:106)
112,113	(SEQ ID NOS:15,18)-□NLys-(SEQ ID NO:107)
114	(SEQ ID NO:31)-□NLys-(SEQ ID NO:107)
115	(SEQ ID NO:22)-□NLys-(SEQ ID NO:107)
116,117	(SEQ ID NO:15,18)-□NLys-(SEQ ID NO:108) ^a
118,119	(SEQ ID NO:15,18)-□NLys-(SEQ ID NO:109) ^b

10

注: ^a = Phe Gly Phe Pro Lys His Leu Leu Val Asp Phe
Leu Gln Ser Leu Ser

(SEQ ID NO:108)

^b = Leu Asp Gly Cys Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe
Gly Phe Pro Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu
Gln Ser Leu Ser

20

(SEQ ID NO:109)

【 0 1 2 7 】

【 表 1 0 】

表 9

HIV中和エピトープのアミノ酸配列 (SEQ ID NO)	Thエピトープの説明	ペプチド のコード	代表的ペプチド構築物のアミノ酸配列
ESVEINCTRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGD (SEQ ID NO:125)	簡素化 (SEQ ID NO:15,18) MV F Th lib (I, L) MV F Th (SEQ ID NO:110,111)	p2046b	ISISEIKGVIVHKIEGILF- (EN) K-ESVEINCTRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGD T RT TR T (SEQ ID NO:126,127)
KSSGKLISL (SEQ ID NO:130)	簡素化 (SEQ ID NO:15,18) MV F Th	p2042	ISITEARTVIVTRLETVLFI- (EN) K-ESVEINCTRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGD I I I I (SEQ ID NO:128,129)
CNGRLYCGP (SEQ ID NO:131)	簡素化 (SEQ ID NO:15,18) MV F Th	p2937	KSSGKLISL- (EN) K-ISEIKGVIVHKIEGILF T RT TR T (SEQ ID NO:136,137)
(C)GTRKLVCFAA (SEQ ID NO:132)	簡素化 (SEQ ID NO:15,18) MV F Th	p2939	CNGRLYCGP- (EN) K-ISEIKGVIVHKIEGILF T RT TR T (SEQ ID NO:138,139)
KRIVIGFQT (SEQ ID NO:133)	簡素化 (SEQ ID NO:15,18) MV F Th	p2944	(C)GTRKLVCFAA- (EN) K-ISEIKGVIVHKIEGILF T RT TR T (SEQ ID NO:140,141)
CAGGLTCSV (SEQ ID NO:134)	簡素化 (SEQ ID NO:15,18) MV F Th	p2940	KRIVIGFQT- (EN) K-ISEIKGVIVHKIEGILF T RT TR T (SEQ ID NO:142,143)
(C)SGRLYCHESW (SEQ ID NO:135)	簡素化 (SEQ ID NO:15,18) MV F Th	p2941	CAGGLTCSV- (EN) K-ISEIKGVIVHKIEGILF T RT TR T (SEQ ID NO:144,145)
			(C)SGRLYCHESW- (EN) K-ISEIKGVIVHKIEGILF T RT TR T (SEQ ID NO:146,147)

【 0 1 2 8 】

【 表 1 1 】

10

20

30

40

表10

本発明の代表的ペプチドの免疫原性

種	グループ	アジュバント および免疫化 スケジュール	ペプチドの コード	代表的ペプチド構築物の説明	WPI	ターゲット・ 抗原上のlog ₁₀ ELISAカ価	中和アッセイによる 血清カ価 (HIV-1 MN/R9)	90% 阻害
モルモット	1	水中油型 エマルジョン (0, 3, 6 WPI)	P2846 b (Seq ID Nos. 148, 149)	IS(1,4,9 PALINDROMIC Th 簡素化 lib)LF-GG-"V3"すべてコンセンサス	5	4.461	3972	425
					8	4.383	10276	535
					10	4.245	4245	1006
ヒヒ	2	水中油型 エマルジョン (0, 3, 6 WPI)	P2868 (Seq ID Nos. 150, 151)	lib(1, L) - (cNIK -"V3"すべてコンセンサス	5	4.489	1198	206
					8	4.291	3295	1092
					10	4.239	4233	1147
ヒヒ	1	水中油型 エマルジョン (0, 3, 6 WPI)	P2868 (Seq ID Nos. 150, 151)	lib(1, L) - (cNIK -"V3"すべてコンセンサス	8	4.375	948	152
					11	過度	23745	2811

【 0 1 2 9 】

【 表 1 2 】

10

20

30

40

配列表

(1) GENERAL INFORMATION:

(i) APPLICANT: UNITED BIOMEDICAL INC., ET AL.

(ii) TITLE OF INVENTION: ARTIFICIAL T HELPER CELL
EPITOPES AS IMMUNE STIMULATORS FOR SYNTHETIC
PEPTIDE IMMUNOGENS

(iii) NUMBER OF SEQUENCES: 151

(iv) CORRESPONDENCE ADDRESS:

(A) ADDRESSEE: Morgan & Finnegan, L.L.P.
(B) STREET: 345 Park Avenue
(C) CITY: New York
(D) STATE: NY
(E) COUNTRY: USA
(F) ZIP: 10154-0054

10

(v) COMPUTER READABLE FORM:

(A) MEDIUM TYPE: Floppy disk
(B) COMPUTER: IBM PC compatible
(C) OPERATING SYSTEM: PC Windows
(D) SOFTWARE: Word 97

20

(vi) CURRENT APPLICATION DATA:

(A) APPLICATION NUMBER: TO BE ASSIGNED
(B) FILING DATE: 21-JUNE-1999
(C) CLASSIFICATION:

(vii) PRIOR APPLICATION DATA:

(A) APPLICATION NUMBER: 09/100,412
(B) FILING DATE: 20-JUNE-1998

(viii) ATTORNEY/AGENT INFORMATION:

(A) NAME: Maria H. Lin
(B) REGISTRATION NUMBER: 29,323
(C) REFERENCE/DOCKET NUMBER: 1151-4158PC1

30

(ix) TELECOMMUNICATION INFORMATION:

(A) TELEPHONE: 212-758-4800
(B) TELEFAX: 212-751-6849

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:1:

【表 1 3】

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 15 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: peptide
- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:1:
- | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Leu | Ser | Glu | Ile | Lys | Gly | Val | Ile | Val | His | Arg | Leu |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | |
| Glu | Gly | Val | | | | | | | | | |
| | | 15 | | | | | | | | | |
- 10
- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:2:
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 16 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: peptide
- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:2:
- | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Leu | Ser | Asp | Leu | Lys | Gly | Leu | Leu | Leu | His | Lys |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | |
| Leu | Asp | Gly | Leu | | | | | | | | |
| | | 15 | | | | | | | | | |
- 20
- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:3:
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 16 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (C) TOPOLOGY: LINEAR
- (ii) MOLECULE TYPE: peptide
- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:3:
- | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Glu | Ile | Ser | Glu | Ile | Arg | Gly | Ile | Ile | Ile | His | Arg |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | |
| Ile | Glu | Gly | Ile | | | | | | | | |
| | | 15 | | | | | | | | | |
- 30
- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:4:
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 16 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (C) TOPOLOGY: LINEAR
- (ii) MOLECULE TYPE: peptide
- 40

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:4:

```

Asp Val Ser Asp Val Lys Gly Val Val Val His Lys
 1           5           10
Val Asp Gly Val
    15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:5:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 16 amino acids

10

(B) TYPE: amino acid

(C) TOPOLOGY: LINEAR

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:5:

```

Asp Phe Ser Asp Phe Lys Gly Phe Phe Phe His Lys
 1           5           10
Phe Asp Gly Phe
    15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:6:

20

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 15 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 6:

```

Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile
 1           5           10
Glu Gly Ile
    15

```

30

【表 1 5】

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:7:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 15 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO: 7:

Met	Thr	Glu	Ile	Arg	Thr	Val	Ile	Val	Thr	Arg	Met	10
1				5					10			
Glu	Thr	Met										
		15										

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:8:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 15 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:8:

Leu	Ser	Glu	Ile	Lys	Gly	Val	Ile	Val	His	Lys	
1				5				10			
Leu	Glu	Gly	Val								
		15									

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:9:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 15 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:9:

【表 1 6】

```

Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile
1           5           10
Glu Thr Ile
           15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:10:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 15 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

- (ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:10:

```

Met Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu
1           5           10
Glu Gly Met
           15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:11:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 15 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

20

- (ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:11:

```

Leu Thr Glu Met Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met
1           5           10
Glu Thr Val
           15

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:12:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 15 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

- (ii) MOLECULE TYPE: peptide

【表 17】

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:12:

```

Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile
1           5           10
Glu Thr Ile
           15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:13:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 15 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:13:

```

Met Ser Glu Met Lys Gly Val Ile Val His Lys Met
1           5           10
Glu Gly Met
           15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:14:

20

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 15 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:14:

```

Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Leu
1           5           10
Glu Thr Val
           15

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:15:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 19 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:15:

40

【表 18】

```

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe
          15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:16:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 19 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:16:

```

Ile Ser Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Met Glu Thr Met Leu Phe
          15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:17:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 19 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:17:

```

Ile Ser Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Leu Glu Gly Val Leu Phe
          15

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:18:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 19 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:18:

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe

```

40

15

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:19:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 19 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:19:

```

Ile Ser Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Leu Glu Gly Met Leu Phe
15

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:20:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 19 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:20:

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe
15

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:21:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 19 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:21:

```

Ile Ser Met Ser Glu Met Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Met Glu Gly Met Leu Phe
15

```

30

40

【表 2 0】

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:22:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 19 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:22:

```

Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe
          15

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:23:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 15 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

20

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:23:

```

Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln
1           5           10
Ser Leu Asp
          15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:24:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 18 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

30

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:24:

```

Lys Lys Lys Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr
1           5           10
Ile Pro Gln Ser Leu Asp
          15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:25:

40

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 14 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:25:

Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln
 1 5 10
 Ser Leu

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:26:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 18 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:26:

Lys Lys Lys Leu Phe Leu Leu Thr Lys Leu Leu Thr
 1 5 10
 Leu Pro Gln Ser Leu Asp
 15

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:27:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 18 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:27:

Arg Arg Arg Ile Lys Ile Ile Thr Arg Ile Ile Thr
 1 5 10
 Ile Pro Leu Ser Ile Arg
 15

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:28:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 18 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

40

【表 2 2】

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:28:

```

Lys Lys Lys Val Arg Val Val Thr Lys Val Val Thr
1           5           10
Val Pro Ile Ser Val Asp
           15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:29:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 18 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:29:

```

Lys Lys Lys Phe Phe Phe Phe Thr Lys Phe Phe Thr
1           5           10
Phe Pro Val Ser Phe Asp
           15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:30:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 18 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:30:

```

Lys Lys Lys Leu Phe Leu Leu Thr Lys Leu Leu Thr
1           5           10
Leu Pro Phe Ser Leu Asp
           15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:31:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 18 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:31:

```

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr
1       5       10
Ile Ile Thr Thr Ile Asp
15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:32:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 17 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:32:

```

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr
1       5       10
Ile Ile Thr Thr Ile
15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:33:

20

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 18 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:33:

```

Lys Lys Lys Met Met Thr Met Thr Arg Met Ile Thr
1       5       10
Met Ile Thr Thr Ile Asp
15

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:34:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 16 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:34:

40

【表 2 4】

Phe Ile Thr Met Asp Thr Lys Phe Leu Leu Ala Ser
 1 5 10
 Thr His Ile Leu
 15

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:35:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 19 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

10

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:35:

Lys Lys Lys Phe Ile Thr Met Asp Thr Lys Phe Leu
 1 5 10
 Leu Ala Ser Thr His Ile Leu
 15

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:36:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 27 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:36:

Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Arg Leu
 1 5 10
 Glu Gly Val Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
 15 20
 Arg Pro Gly
 25

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:37:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 28 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:37:

Asp Leu Ser Asp Leu Lys Gly Leu Leu Leu His Lys

40

```

1           5           10
Leu Asp Gly Leu Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly
      15           20
Leu Arg Pro Gly
25

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:38:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 28 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:38:

```

Glu Ile Ser Glu Ile Arg Gly Ile Ile Ile His Arg
1           5           10
Ile Glu Gly Ile Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly
      15           20
Leu Arg Pro Gly
25

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:39:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 28 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:39:

```

Asp Val Ser Asp Val Lys Gly Val Val Val His Lys
1           5           10
Val Asp Gly Val Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly
      15           20
Leu Arg Pro Gly
25

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:40:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 28 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

40

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:40:

```

Asp Phe Ser Asp Phe Lys Gly Phe Phe Phe His Lys
1       5       10
Phe Asp Gly Phe Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly
15       20
Leu Arg Pro Gly
25

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:41:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 27 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:41:

```

Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile
1       5       10
Glu Gly Ile Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
15       20
Arg Pro Gly
25

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:42:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 27 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:42:

30

```

Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met
1       5       10
Glu Thr Met Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
15       20
Arg Pro Gly
25

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:43:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 27 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

40

【表 2 7】

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:43:

```

Leu Ser Glu Ile Lys Gly val Ile Val His Lys Leu
1           5           10
Glu Gly Val Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
          15           20
Arg Pro Gly
25

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:44:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 27 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:44:

```

Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile
1           5           10
Glu Thr Ile Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
          15           20
Arg Pro Gly
25

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:45:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 45 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

30

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:45:

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1           5           10
Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Ile Ser Glu Ile Lys Gly
          15           20
Val Ile Val His Lys Ile Glu Gly Ile Gly Gly Glu
25           30           35
His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
          40           45

```

40

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:46:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 45 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:46:

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1          5          10
Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Ile Thr Glu Ile Arg Thr
15          20
Val Ile Val Thr Arg Ile Glu Thr Ile Gly Gly Glu
25          30          35
His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
40

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:47:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 27 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:47:

```

Met Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu
1          5          10
Glu Gly Met Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
15          20
Arg Pro Gly
25

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:48:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 27 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:48:

40

Leu Thr Glu Met Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met
 1 5 10
 Glu Thr Val Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
 15 20
 Arg Pro Gly
 25

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:49:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 27 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:49:

Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile
 1 5 10
 Glu Thr Ile Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
 15 20
 Arg Pro Gly
 25

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:50:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 27 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:50:

Met Ser Glu Met Lys Gly Val Ile Val His Lys Met
 1 5 10
 Glu Gly Met Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
 15 20
 Arg Pro Gly
 25

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:51:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 27 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

40

【表 3 0】

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:51:

```

Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Leu
1           5           10
Glu Thr Val Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
      15           20
Arg Pro Gly
25

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:52:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 45 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:52:

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1           5           10
Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Leu Thr Glu Ile Arg Thr
      15           20
Val Ile Val Thr Arg Leu Glu Thr Val Gly Gly Glu
25           30           35
His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
      40           45

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:53:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

30

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:53:

```

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Gly Gly Glu His Trp
      15           20
Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

40

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:54:

【表 3 1】

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:54:

```

Ile Ser Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Met Glu Thr Met Leu Phe Gly Gly Glu His Trp
          15           20
Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:55:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

20

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:55:

```

Ile Ser Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Leu Glu Gly Val Leu Phe Gly Gly Glu His Trp
          15           20
Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:56:

30

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:56:

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Gly Gly Glu His Trp
          15           20
Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

40

【表 3 2】

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:57:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 49 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:57:

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1          5          10
Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Ile Ser Ile Ser Glu Ile
          15          20
Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile Glu Gly Ile Leu
25          30          35
Phe Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro
          40          45
Gly

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:58:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 49 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:58:

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1          5          10
Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Ile Ser Ile Thr Glu Ile
          15          20
Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile Glu Thr Ile Leu
25          30          35
Phe Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro
          40          45
Gly

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:59:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:59:

40

【表 3 3】

```

Ile Ser Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Leu Glu Gly Met Leu Phe Gly Gly Glu His Trp
          15           20
Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:60:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 47 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:60:

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1           5           10
Thr Tyr Gln Phe Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly
          15           20
Val Ile Val His Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Gly
25           30           35
Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
          40           45

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:61:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:61:

30

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Gly Gly Glu His Trp
          15           20
Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:62:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 49 amino acids
 (B) TYPE: amino acid

40

【表 3 4】

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:62:

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1          5          10
Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Ile Ser Ile Thr Glu Ile
          15          20
Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile Glu Thr Ile Leu
25          30          35
Phe Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro
          40          45
Gly

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:63:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 47 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:63:

20

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1          5          10
Thr Tyr Gln Phe Ile Ser Met Ser Glu Met Lys Gly
          15          20
Val Ile Val His Lys Met Glu Gly Met Leu Phe Gly
25          30          35
Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
          40          45

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:64:

30

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:64:

```

Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1          5          10
Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe Gly Gly Glu His Trp
          15          20
Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly

```

40

【表 3 5】

25

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:65

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 27 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

10

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:65

```

Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu Thr Ile Pro Gln
1           5           10
Ser Leu Asp Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu
      15           20
Arg Pro Gly
25

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:66

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 30 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:66

```

Lys Lys Lys Leu Phe Leu Leu Thr Lys Leu Leu Thr
1           5           10
Leu Pro Gln Ser Leu Asp Gly Gly Glu His Trp Ser
      15           20
Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:67

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 30 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:67

40

```

Arg Arg Arg Ile Lys Ile Ile Thr Arg Ile Ile Thr

```

【表 3 6】

```

1           5           10
Ile Pro Leu Ser Ile Arg Gly Gly Glu His Trp Ser
          15           20
Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:68

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 30 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:68

```

Lys Lys Lys Val Arg Val Val Thr Lys Val Val Thr
1           5           10
Val Pro Ile Ser Val Asp Gly Gly Glu His Trp Ser
          15           20
Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:69

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 30 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:69

```

Lys Lys Lys Phe Phe Phe Phe Thr Lys Phe Phe Thr
1           5           10
Phe Pro Val Ser Phe Asp Gly Gly Glu His Trp Ser
          15           20
Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:70

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 30 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

40

【表 3 7】

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:70

```

Lys Lys Lys Leu Phe Leu Leu Thr Lys Leu Leu Thr
1           5           10
Leu Pro Phe Ser Leu Asp Gly Gly Glu His Trp Ser
           15           20
Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:71:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS: 10
- (A) LENGTH: 30 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid
 - (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:71:

```

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr
1           5           10
Ile Ile Thr Thr Ile Asp Gly Gly Glu His Trp Ser
           15           20
Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:72:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
- (A) LENGTH: 29 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid
 - (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:72:

```

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr
1           5           10
Ile Ile Thr Thr Ile Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr
           15           20
Gly Leu Arg Pro Gly
25

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:73:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS: 40
- (A) LENGTH: 30 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid

【表 3 8】

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:73:

```

Lys Lys Lys Met Met Thr Met Thr Arg Met Ile Thr
1      5      10
Met Ile Thr Thr Ile Asp Gly Gly Glu His Trp Ser
      15      20
Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25      30

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:74:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 28 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:74:

```

Phe Ile Thr Met Asp Thr Lys Phe Leu Leu Ala Ser
1      5      10
Thr His Ile Leu Gly Gly Glu His Trp Ser Tyr Gly
      15      20
Leu Arg Pro Gly
25

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:75:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 46 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

30

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:75:

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1      5      10
Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Phe Ile Thr Met Asp Thr
      15      20
Lys Phe Leu Leu Ala Ser Thr His Ile Leu Gly Gly
25      30      35
Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
      40      45

```

40

【表 3 9】

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:76:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:76:

Lys Lys Lys Phe Ile Thr Met Asp Thr Lys Phe Leu
 1 5 10
 Leu Ala Ser Thr His Ile Leu Gly Gly Glu His Trp
 15 20
 Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
 25 30

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:77:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 10 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:77:

Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
 1 5 10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:78:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 16 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

30

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:78:

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
 1 5 10
 Thr Tyr Gln Phe
 15

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:79:

40

【表 4 0】

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 6 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: peptide
- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:79:
- Pro Pro Xaa Pro Xaa Pro
 1 5
- 10
- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:80:
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 14 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: peptide
- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:80:
- Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Thr
 1 5 10
 Ser Cys
- 20
- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:81:
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: peptide
- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:81:
- Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile
 1 5 10
 Glu Gly Ile Gly Gly Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe
 15 20
 Trp Lys Thr Phe Thr Ser Cys
 25 30
- 30
- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:82:
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
- 40

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:82:

```

Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met
1      5      10
Glu Thr Met Gly Gly Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe
      15      20
Trp Lys Thr Phe Thr Ser Cys
25      30

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:83:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 31 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:83:

```

Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu
1      5      10
Glu Gly Val Gly Gly Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe
      15      20
Trp Lys Thr Phe Thr Ser Cys
25      30

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:84:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 31 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:84:

```

Ala Gly Cys Lys Asn Phe Phe Trp Lys Thr Phe Thr
1      5      10
Ser Cys Gly Gly Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile
      15      20
Val His Lys Ile Glu Gly Ile
25      30

```

40

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:85:

【表 4 2】

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: peptide
- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:85:
- | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Ala | Gly | Cys | Lys | Asn | Phe | Phe | Trp | Lys | Thr | Phe | Thr | |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | |
| Ser | Cys | Gly | Gly | Met | Thr | Glu | Ile | Arg | Thr | Val | Ile | 10 |
| | | 15 | | | | | 20 | | | | | |
| Val | Thr | Arg | Met | Gly | Thr | Met | | | | | | |
| 25 | | | | 30 | | | | | | | | |
- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:86:
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 31 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: peptide
- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:86:
- | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|--|
| Ala | Gly | Cys | Lys | Asn | Phe | Phe | Trp | Lys | Thr | Phe | Thr | |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | |
| Ser | Cys | Gly | Gly | Leu | Ser | Glu | Ile | Lys | Gly | Val | Ile | |
| | | 15 | | | | | 20 | | | | | |
| Val | His | Lys | Leu | Glu | Gly | Val | | | | | | |
| 25 | | | | 30 | | | | | | | | |
- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:87:
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 34 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear
- (ii) MOLECULE TYPE: peptide
- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:87:
- | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| Lys | Lys | Lys | Ile | Ile | Thr | Ile | Thr | Arg | Ile | Ile | Thr | |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | |
| Ile | Ile | Thr | Thr | Ile | Asp | Gly | Gly | Ala | Gly | Cys | Lys | |
| | | 15 | | | | | 20 | | | | | |
| Asn | Phe | Phe | Trp | Lys | Thr | Phe | Thr | Ser | Cys | | | |
| 25 | | | | 30 | | | | | | | | 40 |

【表 4 3】


```

Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met
1           5           10
Glu Thr Met Gly Gly Cys Asn Gln Gly Ser Phe Leu
15           20
Thr Lys Gly Pro Ser Lys Leu Asn Asp Arg Ala Asp
25           30           35
Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Gly Asn Cys
40           45

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:91:

10

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 47 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:91:

```

Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu
1           5           10
Glu Gly Val Gly Gly Cys Asn Gln Gly Ser Phe Leu
15           20
Thr Lys Gly Pro Ser Lys Leu Asn Asp Arg Ala Asp
25           30           35
Ser Arg Arg Ser Leu Trp Asp Gln Gly Asn Cys
40           45

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:92:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 25 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

30

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:92:

```

Cys Gly Glu Thr Tyr Gln Ser Arg Val Thr His Pro
1           5           10
His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys
15           20
Cys
25

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:93:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

40

- (A) LENGTH: 46 amino acids

(B) TYPE: amino acid
(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:93:

```

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Gly Gly Cys Gly Glu
          15           20
Thr Tyr Gln Ser Arg Val Thr His Pro His Leu Pro
25           30           35
Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Cys
          40           45

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:94:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
(A) LENGTH: 46 amino acids
(B) TYPE: amino acid
(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

20

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:94:

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Gly Gly Cys Gly Glu
          15           20
Thr Tyr Gln Ser Arg Val Thr His Pro His Leu Pro
25           30           35
Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Cys
          40           45

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:95:

30

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
(A) LENGTH: 42 amino acids
(B) TYPE: amino acid
(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:95:

```

Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile
1           5           10
Glu Gly Ile Gly Gly Cys Gly Glu Thr Tyr Gln Ser
          15           20

```

40

【表 4 6】

```

Arg Val Thr His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met
25                      30                      35
Arg Ser Thr Thr Lys Cys
                      40

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:96:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 42 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

- (ii) MOLECULE TYPE: peptide

- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:96:

```

Met Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Met
1                      5                      10
Glu Thr Met Gly Gly Cys Gly Glu Thr Tyr Gln Ser
                      15                      20
Arg Val Thr His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met
25                      30                      35
Arg Ser Thr Thr Lys Cys
                      40

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:97:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 42 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

- (ii) MOLECULE TYPE: peptide

- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:97:

```

Leu Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Leu
1                      5                      10
Glu Gly Val Gly Gly Cys Gly Glu Thr Tyr Gln Ser
                      15                      20
Arg Val Thr His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met
25                      30                      35
Arg Ser Thr Thr Lys Cys
                      40

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:98:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 45 amino acids
 (B) TYPE: amino acid

40

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:98:

```

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr
1           5           10
Ile Ile Thr Thr Ile Asp Gly Gly Cys Gly Glu Thr
          15           20
Tyr Gln Ser Arg Val Thr His Pro His Leu Pro Arg
25           30           35
Ala Leu Met Arg Ser Thr Thr Lys Cys
          40           45

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:99:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 63 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:99:

20

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1           5           10
Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Lys Lys Lys Ile Ile Thr
          15           20
Ile Thr Arg Ile Ile Thr Ile Ile Thr Thr Ile Asp
25           30           35
Gly Gly Cys Gly Glu Thr Tyr Gln Ser Arg Val Thr
          40           45
His Pro His Leu Pro Arg Ala Leu Met Arg Ser Thr
          50           55           60
Thr Lys Cys

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:100:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 38 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:100:

```

Arg His Lys Gln Lys Ile Val Ala Pro Val Lys Gln
1           5           10

```

40

【表 4 8】

```

Thr Leu Pro Pro Ser Val Pro Asn Leu Arg Gly Asp
      15                20
Leu Gln Val Leu Ala Gln Lys Val Ala Arg Thr Pro
25                30                35
Cys Gly

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:101:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 56 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:101:

```

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr
1      5                10
Ile Ile Thr Thr Ile Asp Gly Gly Cys Lys Tyr Gly
      15                20
Glu Asn Ala Val Thr Asn Val Arg Gly Asp Leu Gln
25      30                35
Val Leu Ala Gln Lys Ala Ala Arg Cys Leu Pro Thr
      40                45
Ser Phe Asn Tyr Gly Ala Ile Lys
      50                55

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:102

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 72 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

30

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:102

```

Thr Ala Lys Ser Lys Lys Phe Pro Ser Tyr Thr Ala
1      5                10
Thr Tyr Gln Phe Gly Gly Lys Lys Lys Ile Ile Thr
      15                20
Ile Thr Arg Ile Ile Thr Ile Ile Thr Thr Ile Asp
25      30                35
Gly Gly Cys Thr Tyr Gly Thr Gln Pro Ser Arg Arg
      40                45
Gly Asp Met Ala Ala Leu Ala Gln Arg Leu Ser Arg
      50                55                60
Cys Leu Pro Thr Ser Phe Asn Tyr Gly Ala Val Lys
      65                70

```

40

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:103

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 4 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:103

Asn Ala Asn Pro

1

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:104

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 36 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:104

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His

1

5

10

Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Lys Asn Ala Asn Pro

15

20

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

25

30

35

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:105

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 36 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:105

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

1

5

10

Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Lys Asn Ala Asn Pro

15

20

Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro

25

30

35

30

40

【表 5 0】

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:106

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 26 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:106

```

Arg Asp Gly Phe Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly
1          5          10
Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser
          15          20
Leu Ser
25

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:107

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 16 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:107

```

Phe Gly Phe Pro Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu
1          5          10
Gln Ser Leu Ser
          15

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:108

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 16 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

30

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:108

```

Phe Gly Phe Pro Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu
1          5          10
Gln Ser Leu Ser
          15

```

40

【表 5 1】

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:109

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 26 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:109

```

Leu Asp Gly Cys Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly
1           5           10
Phe Pro Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser
          15           20
Leu Ser
25

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:110

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 46 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:110

```

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Lys Arg Asp Gly Phe
          15           20
Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly Phe Pro Glu His
25           30           35
Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
          40           45

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:111

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 46 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:111

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

```

40

```

1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Lys Arg Asp Gly Phe
           15           20
Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly Phe Pro Glu His
25           30           35
Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
           40           45

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:112

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 36 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:112

```

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Lys Phe Gly Phe Pro
           15           20
Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
25           30           35

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:113

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 36 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:113

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Lys Phe Gly Phe Pro
           15           20
Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
25           30           35

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:114

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 35 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

40

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:114

```

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr
1           5           10
Ile Ile Thr Thr Ile Asp Lys Phe Gly Phe Pro Glu
          15           20
His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
25           30           35

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:115

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 36 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:115

```

Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe Lys Phe Gly Phe Pro
          15           20
Glu His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
25           30           35

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:116

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 36 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:116

```

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Lys Phe Gly Phe Pro
          15           20
Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
25           30           35

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:117

40

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 36 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:117

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Lys Phe Gly Phe Pro
          15           20
Lys His Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
25           30           35

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:118

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 46 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

20

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:118

```

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10

Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Lys Leu Asp Gly Cys
          15           20
Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly Phe Pro Lys His
25           30           35
Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
          40           45

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:119

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 46 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:119

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Lys Leu Asp Gly Cys

```

40

【表 5 5】


```

          15                      20
Leu Leu Leu Gln Met Asp Phe Gly Phe Pro Lys His
25                      30                      35
Leu Leu Val Asp Phe Leu Gln Ser Leu Ser
          40                      45

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:120:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 35 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:120:

```

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1                      5                      10
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Pro Pro Xaa Pro Xaa
          15                      20
Pro Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25                      30                      35

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:121:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 35 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:121:

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1                      5                      10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Pro Pro Xaa Pro Xaa
          15                      20
Pro Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25                      30                      35

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:122:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 34 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

40

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

【表 5 6】

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:122:

```

Lys Lys Lys Ile Ile Thr Ile Thr Arg Ile Ile Thr
1           5           10
Ile Ile Thr Thr Ile Asp Pro Pro Xaa Pro Xaa Pro
          15           20
Glu His Trp Ser Tyr Gly Leu Arg Pro Gly
25           30

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:123:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 19 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:123:

```

Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe
          15

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:124:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 19 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:124:

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe
          15

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:125:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 31 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

40

【表 5 7】

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:125:

```

Glu Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn
1           5           10
Asn Thr Arg Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln
          15           20
Ala Phe Tyr Ala Thr Gly Asp
25           30

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:126:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 51 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: Modified site

(B) LOCATION: 22

(C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:126:

```

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
1           5           10
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Xaa Glu Ser Val Glu
          15           20
Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys
25           30           35
Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala
          40           48
Thr Gly Asp
50

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:127:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 51 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: Modified site

(B) LOCATION: 22

(C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

【表 5 8】

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:127:

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Xaa Glu Ser Val Glu
15           20
Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys
25           30           35
Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala
40           48
Thr Gly Asp
50

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:128:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 51 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: Modified site
- (B) LOCATION: 20
- (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

20

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:128:

```

Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe Xaa Glu Ser Val Glu
15           20
Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys
25           30           35
Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala
40           48
Thr Gly Asp
50

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:129:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 51 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: Modified site

40

【表 5 9】

(B) LOCATION: 20

(C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:129:

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1          5          10
Arg Ile Glu Thr Val Ile Phe Xaa Glu Ser Val Glu
15          20
Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys
25          30          35
Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala
40          48
Thr Gly Asp
50

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:130:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 9 amino acids

20

【表 6 0】

(B) TYPE: amino acid (D) TOPOLOGY: linear	
(ii) MOLECULE TYPE: peptide	
(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:130:	
Lys Ser Ser Gly Lys Leu Ile Ser Leu 1 5	
(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:131:	10
(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS: (A) LENGTH: 9 amino acids (B) TYPE: amino acid (D) TOPOLOGY: linear	
(ii) MOLECULE TYPE: peptide	
(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:131:	
Cys Asn Gly Arg Leu Tyr Cys Gly Pro 1 5	
(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:132:	20
(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS: (A) LENGTH: 10 amino acids (B) TYPE: amino acid (D) TOPOLOGY: linear	
(ii) MOLECULE TYPE: peptide	
(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:132:	
Cys Gly Thr Lys Leu Val Cys Phe Ala Ala 1 5 10	
(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:133:	30
(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS: (A) LENGTH: 9 amino acids (B) TYPE: amino acid (D) TOPOLOGY: linear	
(ii) MOLECULE TYPE: peptide	
(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:133:	
	40

【表 6 1】

Lys Arg Ile Val Ile Gly Pro Gln Thr
 1 5

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:134:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 9 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

10

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:134:

Cys Ala Gly Gly Leu Thr Cys Ser Val
 1 5

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:135:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 11 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:135:

Cys Ser Gly Arg Leu Tyr Cys His Glu Ser Trp
 1 5 10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:136:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 29 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

30

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: Modified site
- (B) LOCATION: 10
- (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:136:

Lys Ser Ser Gly Lys Leu Ile Ser Leu Xaa Ile Ser
 1 5 10
 Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile

40

15 20
 Glu Gly Ile Leu Phe
 25

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:137:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 29 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

10

- (ii) MOLECULE TYPE: peptide

- (ix) FEATURE:
 (A) NAME/KEY: Modified site
 (B) LOCATION: 10
 (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:137:

Lys Ser Ser Gly Lys Leu Ile Ser Leu Xaa Ile Ser
 1 5 10
 Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile
 15 20
 Glu Thr Ile Leu Phe
 25

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:138:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 29 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

- (ii) MOLECULE TYPE: peptide

30

- (ix) FEATURE:
 (A) NAME/KEY: Modified site
 (B) LOCATION: 10
 (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:138:

Cys Asn Gly Arg Leu Tyr Cys Gly Pro Xaa Ile Ser
 1 5 10
 Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile
 15 20
 Glu Gly Ile Leu Phe
 25

40

【表 6 3】

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:139:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 29 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: Modified site
- (B) LOCATION: 10
- (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

10

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:139:

```

Cys Asn Gly Arg Leu Tyr Cys Gly Pro Xaa Ile Ser
1          5          10
Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile
          15          20
Glu Thr Ile Leu Phe
25

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:140:

20

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 30 amino acids
- (B) TYPE: amino acid
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: Modified site
- (B) LOCATION: 11
- (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

30

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:140:

```

Cys Gly Thr Lys Leu Val Cys Phe Ala Ala Xaa Ile
1          5          10
Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys
          15          20
Ile Glu Gly Ile Leu Phe
25          30

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:141:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 30 amino acids
- (B) TYPE: amino acid

40

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: Modified site

(B) LOCATION: 11

(C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:141:

```

Cys Gly Thr Lys Leu Val Cys Phe Ala Ala Xaa Ile
1           5           10
Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg
          15           20
Ile Glu Thr Ile Leu Phe
25           30

```

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:142:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 29 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

20

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: Modified site

(B) LOCATION: 10

(C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:142:

```

Lys Arg Ile Val Ile Gly Pro Gln Thr Xaa Ile Ser
1           5           10
Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile
          15           20
Glu Gly Ile Leu Phe
25

```

30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:143:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 29 amino acids

(B) TYPE: amino acid

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

40

(ix) FEATURE:

【表 6 5】

(A) NAME/KEY: Modified site
 (B) LOCATION: 10
 (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:143:

Lys Arg Ile Val Ile Gly Pro Gln Thr Xaa Ile Ser
 1 5 10
 Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile
 15 20
 Glu Thr Ile Leu Phe
 25

10

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:144:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 29 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: Modified site
 (B) LOCATION: 10
 (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

20

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:144:

Cys Ala Gly Gly Leu Thr Cys Ser Val Xaa Ile Ser
 1 5 10
 Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His Lys Ile
 15 20
 Glu Gly Ile Leu Phe
 25

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:145:

30

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 29 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: Modified site
 (B) LOCATION: 10
 (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

40

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:145:

【表 6 6】

```

Cys Ala Gly Gly Leu Thr Cys Ser Val Xaa Ile Ser
1      5      10
Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr Arg Ile
      15      20
Glu Thr Ile Leu Phe
25

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:146:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
- (A) LENGTH: 31 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid
 - (D) TOPOLOGY: linear

10

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: Modified site
- (B) LOCATION: 12
- (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:146:

20

```

Cys Ser Gly Arg Leu Tyr Cys His Glu Ser Trp Xaa
1      5      10
Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
      15      20
Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe
25      30

```

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:147:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
- (A) LENGTH: 31 amino acids
 - (B) TYPE: amino acid
 - (D) TOPOLOGY: linear

30

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: Modified site
- (B) LOCATION: 12
- (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:147:

```

Cys Ser Gly Arg Leu Tyr Cys His Glu Ser Trp Xaa
1      5      10
Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr

```

40

15 20
 Arg Ile Glu Gly Ile Leu Phe
 25 30

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:148:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 52 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:148:

Ile Ser Ile Ser Glu Ile Lys Gly Val Ile Val His
 1 5 10
 Lys Ile Glu Gly Ile Leu Phe Gly Gly Glu Ser Val
 15 20
 Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg
 25 30 36
 Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr
 40 45
 Ala Thr Gly Asp
 50

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:149:

- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 52 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:149:

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
 1 5 10
 Arg Ile Glu Thr Ile Leu Phe Gly Gly Glu Ser Val
 15 20
 Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg
 25 30 36
 Lys Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr
 40 45
 Ala Thr Gly Asp
 50

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:150:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 50 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:
 (A) NAME/KEY: Modified site
 (B) LOCATION: 20
 (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

10

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:150:

```

Ile Ser Leu Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Leu Glu Thr Val Leu Phe Xaa Glu Ser Val Glu
15           20
Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys
25           30           35
Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala
40           48
Thr Gly
50

```

20

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:151:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 (A) LENGTH: 50 amino acids
 (B) TYPE: amino acid
 (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: peptide

(ix) FEATURE:
 (A) NAME/KEY: Modified site
 (B) LOCATION: 20
 (C) OTHER INFORMATION: /note= "(e-N)Lys"

30

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:151:

```

Ile Ser Ile Thr Glu Ile Arg Thr Val Ile Val Thr
1           5           10
Arg Ile Glu Thr Val Ile Phe Xaa Glu Ser Val Glu
15           20
Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys
25           30           35
Ser Ile Arg Ile Gly Pro Gly Gln Ala Phe Tyr Ala
40           48
Thr Gly
50

```

40

フロントページの続き

(51) Int.Cl.

F I

A 6 1 K 39/00 (2006.01)

A 6 1 K 39/00

H

A 6 1 K 39/39 (2006.01)

A 6 1 K 39/39

A 6 1 P 15/00 (2006.01)

A 6 1 P 15/00

A 6 1 P 37/04 (2006.01)

A 6 1 P 37/04

(74)代理人 100117019

弁理士 渡辺 陽一

(72)発明者 ワン, チャン イー

アメリカ合衆国, ニューヨーク 11724, コールド スプリング ハーバー, スネイク ヒル
ロード 47

審査官 六笠 紀子

(56)参考文献 特表平09-503742(JP, A)

特表2003-504302(JP, A)

特表2002-518038(JP, A)

特表2002-518461(JP, A)

特表2002-518033(JP, A)

J.Gen.Virol., 1991, Vol.72, p.1293-1299

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C07K 1/00-19/00

CA(STN)

REGISTRY(STN)