

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2011-530309

(P2011-530309A)

(43) 公表日 平成23年12月22日(2011.12.22)

(51) Int.Cl.	F 1	テーマコード (参考)
C 12 N 15/09 (2006.01)	C 12 N 15/00	Z N A A 4 B 0 2 4
C 07 K 14/16 (2006.01)	C 07 K 14/16	4 C 0 8 4
A 61 K 48/00 (2006.01)	A 61 K 48/00	4 C 0 8 5
A 61 P 37/04 (2006.01)	A 61 P 37/04	4 H 0 4 5
A 61 K 39/295 (2006.01)	A 61 K 39/295	

審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 72 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願2011-523001 (P2011-523001) (86) (22) 出願日 平成21年8月14日 (2009.8.14) (85) 翻訳文提出日 平成23年4月12日 (2011.4.12) (86) 国際出願番号 PCT/US2009/004664 (87) 国際公開番号 WO2010/019262 (87) 国際公開日 平成22年2月18日 (2010.2.18) (31) 優先権主張番号 12/192,015 (32) 優先日 平成20年8月14日 (2008.8.14) (33) 優先権主張国 米国(US)	(71) 出願人 511039245 ロスアラモス・ナショナル・セキュリティ , エルエルシー アメリカ合衆国ニューメキシコ州8754 5, ロスアラモス, ロスアラモス・ナショ ナル・ラボラトリ, エルシー/アイピー (71) 出願人 505023559 ベス・イスラエル・ディーコニス・メディ カル・センター アメリカ合衆国マサチューセッツ州022 15, ボストン, ブルックリン・アベニュー - 330
---	--

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】多価ワクチン

(57) 【要約】

本発明は一般に、免疫原組成物（たとえばワクチン）、特に多価免疫源組成物、たとえば多価HIVワクチン、およびそれを使用する方法に関する。本発明はさらに、遺伝子アルゴリズムを用いてたとえばワクチン接種療法に使用するのに適切な多価抗原セットを作製する方法に関する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

図 2 1 または図 2 2 に示す少なくとも 1 つのアミノ酸配列を含む、ポリペプチドまたはタンパク質。

【請求項 2】

請求項 1 に記載のポリペプチドまたはタンパク質をコードする核酸。

【請求項 3】

図 2 2 に示す少なくとも 1 つのヌクレオチド配列を含む核酸。

【請求項 4】

請求項 2 または 3 に記載の核酸を含むベクター。

10

【請求項 5】

ベクターがウイルスベクターである、請求項 3 に記載のベクター。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の少なくとも 1 つのポリペプチドまたはタンパク質およびキャリヤーを含む組成物。

【請求項 7】

請求項 2 または 3 に記載の少なくとも 1 つの核酸およびキャリヤーを含む組成物。

【請求項 8】

哺乳動物において免疫応答を誘導する方法であって、哺乳動物にその誘導を生じるのに十分な量の請求項 1 に記載の少なくとも 1 つのポリペプチドまたはタンパク質を投与することを含む方法。

20

【請求項 9】

哺乳動物において免疫応答を誘導する方法であって、その誘導を生じるのに十分な量の請求項 2 または 3 に記載の少なくとも 1 つの核酸をその哺乳動物に投与することを含む方法。

【発明の詳細な説明】**【技術分野】****【0 0 0 1】**

本出願は下記の出願の一部継続出願である：U. S. Application No. 11/990,222, 2008年2月8日出願；これは下記の出願の米国出願である：国際特許出願 No. PCT/US2006/032907, 2006年8月23日出願；これは米国を指定し、U. S. Provisional Application No. 60/710,154, 2005年8月23日出願およびU. S. Provisional Application No. 60/739,413, 2005年11月25日出願に基づく優先権を主張する；これらの出願の内容全体を本明細書に援用する。

30

【0 0 0 2】

本発明は一般に、免疫源組成物（たとえばワクチン）、特に多価免疫源組成物、たとえば多価 H I V ワクチン、およびそれを使用する方法に関する。本発明はさらに、遺伝子アルゴリズムを用いてたとえばワクチン接種療法に使用するのに適切な多価抗原セットを作製する方法に関する。

40

【背景技術】**【0 0 0 3】**

有効な H I V ワクチンの設計には多方面の難題がある。ワクチンは、感染を予防することができる免疫応答、あるいは最小限でも、感染が起きた場合には自然感染に対する免疫応答が欠損しているにもかかわらずウイルス複製を抑制してウイルスを排除する(Nabel, Vaccine 20: 1945-1947 (2002))か、または重感染から保護する(Altfeld et al, Nature 420: 434-439 (2002))ことができる免疫応答を、好ましい状態で誘発する。最適化されたベクター、免疫化プロトコル、およびアジュバント(Nabel, Vaccine 20: 1945-1947 (2002))をもち、広域の循環ウイルスに対して交差反応性応答を刺激することができる抗原と組み合わせた、有効なワクチンが求められている(Gaschen et al, Science 296: 2354-23

50

60 (2002), Korber et al, Br. Med. Bull. 58: 19-42 (2001))。インフルエンザワクチン学者がここ数十年直面している問題は、HIV-1が課す難題を際立たせている：ヒトインフルエンザ株が毎年次第に生じている抗原変異分岐は約1～2%であるが、それでもなおワクチン抗原は年毎に交差反応性B細胞応答を誘発することができない場合がしばしばあり、同時期の株を継続的にモニターしてワクチンを数年毎に更新する必要がある(Korber et al, Br. Med. Bull. 58: 19-42 (2001))。これに対し、共循環している個々のHIV-1株が比較的保存されているタンパク質において互いに20%以上異なり、エンベロープタンパク質においては最高35%異なる可能性がある(Gaschen et al, Science 296: 2354-2360 (2002), Korber et al, Br. Med. Bull. 58: 19-42 (2001))。

【0004】

10

地域的HIV-1流行におけるウイルス多様度の相異は、ワクチン設計方法に有用な可能性のある分類体系を提供する。ある地域ではグローバルな多様性が繰り返され、大部分の既知のHIV-1サブタイプまたはクレード(分岐群、clade)が共循環する(たとえば、コンゴ共和国(Mokili & Korber, J. Neurovirol 11(Suppl. 1): 66-75 (2005))；他は2つのサブタイプおよびそれらの組換え体が優性であり(たとえば、ウガンダ(Barugahare et al, J. Virol. 79: 4132-4139 (2005))、他は単一サブタイプが優性である(たとえば、南アフリカ(Williamson et al, AIDS Res. Hum. Retroviruses 19: 133-144 (2003)))。主に単一サブタイプを伴う地域ですら、流行疫学は広範なクレード内多様性に対処しなければならない(Williamson et al, AIDS Res. Hum. Retroviruses 19: 133-44 (2003))けれども、国外旅行が地理的相異をさらに不明瞭にすると予想できるので、すべての国がグローバルワクチンの利益を受けるであろう。

20

【0005】

本発明は、共通のBおよびCサブタイプのいずれか、またはグローバルに循環している全HIV-1変異体[HIV-1主(M)グループ]について最適化した、Tリンパ球応答に注目した多価ワクチン抗原セットの設計を提供する。細胞傷害性Tリンパ球(CTL)は、ヒト白血球抗原(HLA)分子が感染細胞表面に提示するウイルスタンパク質フラグメント(エピトープ)により、感染したウイルス産生宿主細胞を認識して、それらを直接殺す。ヘルパーT細胞応答は、サイトカインの放出により免疫応答の多様な面を制御する。両方ともHIV-1ワクチンにとって重要であると思われる：CTL応答は疾患の進行速度を低下させることができており(Oxenius et al, J. Infect. Dis. 189: 1199-208 (2004))；ヒト以外の靈長類においてワクチンが誘発する細胞性免疫応答は、病原性SIVまたはSHIVを抑制して、攻撃後の疾患の可能性を低下させ(Barouch et al, Science 290: 486-92 (2000))；CD8+T細胞を実験的に枯渇させると、SIV感染したアカゲザル(rhesus macaques)においてウイルス血症が増大する(Schmitz et al, Science 283: 857-60 (1999))。さらに、疾患の進行に伴ってCTL回避変異が生じる(Barouch et al, J. Virol. 77: 7367-75 (2003))ので、潜在的回避経路を遮断するワクチン刺激による記憶応答は有用な可能性がある。

30

【0006】

40

変異性がきわめて高いエンベロープタンパク質は、HIVに対する抗体を中和するための重要なターゲットである；免疫防御にはB細胞応答とT細胞応答の両方が必要であると思われる(Moore and Burton, Nat. Med. 10: 769-71 (2004))ので、抗体応答を誘発するためにはエンベロープワクチン抗原を個別に最適化することも必要であろう。これに対しT細胞指向型ワクチン成分はより保存されたタンパク質をターゲティングすることができるけれども、最も保存されたHIV-1タンパク質ですら変異が問題になるのに十分なほど多様である。人工的な中枢配列ワクチン法(たとえば、あらゆるアミノ酸が複数の配列中にみられるコンセンサス配列、または祖先配列(ancestral sequence)の最大可能性再構築体(Gaschen et al, Science 296: 2354-60 (2002), Gao et al, J. Virol. 79: 1154-63 (2005), Doria-Rose et al, J. Virol. 79: 11214-24 (2005), Weaver et al, J. Virol., in press))が有望である；それにもかかわらず、中枢化した株ですら提供するHIV-1変異体適応範囲は限られており、またコンセンサスベースの試

50

薬は多くのオートロガス T 細胞応答を検出できない(Altfeld et al, J. Virol. 77: 7330-40 (2003))。

【 0 0 0 7 】

単一アミノ酸の変化によりエピトープが T 細胞による監視を回避する可能性がある；多くの T 細胞エピトープは 1 以上の位置において H I V - 1 株間で異なるので、いずれか単一ワクチン抗原に対する潜在的応答には限界がある。特定の変異の結果として回避が起きるかどうかは、個々のエピトープ / T 細胞の組合せによるが、ある変化はサブタイプ間の交差反応性に広範に影響を及ぼす(Norris et al, AIDS Res. Hum. Retroviruses 20: 315-25 (2004))。多数の変異体を多価ワクチンに組み込むことによって、より広範な循環変異体に対する応答が可能になり、共通の回避変異体に対する免疫系を初回抗原刺激することができる(Jones et al, J. Exp. Med. 200: 1243-56 (2004))。1 つの T 細胞受容体からの回避が、他の受容体に対して感受性である変異体を作り出す可能性があり(Allen et al, J. Virol. 79: 12952-60 (2005), Feeney et al, J. Immunol. 174: 7524-30 (2005))、したがってエピトープ変異体に対するポリクローナル応答を刺激することは有益となる可能性がある(Killian et al, Aids 19: 887-96 (2005))。プロセシングを阻害する回避変異(Milicic et al, J. Immunol. 175: 4618-26 (2005))または H L A 結合を阻害する回避変異(Ammaranond et al, AIDS Res. Hum. Retroviruses 21: 395-7 (2005))は異なる特異性をもつ T 細胞によって直接対抗することはできないが、オーバーラップするエピトープに対する応答がこれらの回避経路のうちあるものすら遮断する可能性がある。

10

【 0 0 0 8 】

本発明は、幾つかの“モザイク”タンパク質（またはこれらのタンパク質をコードする遺伝子）を含む多価ワクチンに関する。候補ワクチン抗原は、最大数の潜在的 T 細胞エピトープを入力ウイルスタンパク質セット中に含むように最適化した、1 個の複合タンパク質のカクテルであることができる（ n はカクテル中の配列変異体の個数である）。これらのモザイクは天然配列から作製される：それらは天然タンパク質に類似し、最大共通形の潜在的エピトープを含む。C D 8 + エピトープは連続的であり、一般にアミノ酸 9 個の長さであるので、モザイクのセットを天然配列中のノナマー (9 - m e r) の“適応範囲 (coverage)”によりスコアリングすることができる（類似長さのフラグメントも十分に表示される）。少なくとも 3 回見いだされない 9 - M e r は除外することができる。この方法によって、著しく多価であるけれども重要な利点をもつ多重ペプチドワクチンにより達成される多様性適応範囲のレベルが示される：これにより、無傷のタンパク質または遺伝子としてワクチンを送達することが可能になり、低頻度エピトープまたは循環株とは無関係な非天然エピトープが除外され、その無傷タンパク質抗原は自然感染の場合と同様にプロセシングされやすい。

20

30

【先行技術文献】

【特許文献】

【 0 0 0 9 】

【非特許文献】

【 0 0 1 0 】

【非特許文献 1】Nabel, Vaccine 20: 1945-1947 (2002)

40

【非特許文献 2】Altfeld et al, Nature 420: 434-439 (2002)

【非特許文献 3】Gaschen et al, Science 296: 2354-2360 (2002)

【非特許文献 4】Korber et al, Br. Med. Bull. 58: 19-42 (2001)

【非特許文献 5】Mokili & Korber, J. Neurovirol 11(Suppl. 1): 66-75 (2005)

【非特許文献 6】Barugahare et al, J. Virol. 79: 4132-4139 (2005)

【非特許文献 7】Williamson et al, AIDS Res. Hum. Retroviruses 19: 133-44 (2003)

【非特許文献 8】Oxenius et al, J. Infect. Dis. 189: 1199-208 (2004)

【非特許文献 9】Barouch et al, Science 290: 486-92 (2000)

【非特許文献 10】Schmitz et al, Science 283: 857-60 (1999)

【非特許文献 11】Barouch et al, J. Virol. 77: 7367-75 (2003)

50

- 【非特許文献 12】Moore and Burton, *Nat. Med.* 10: 769-71 (2004)
 【非特許文献 13】Gao et al, *J. Virol.* 79: 1154-63 (2005)
 【非特許文献 14】Doria-Rose et al, *J. Virol.* 79: 11214-24 (2005)
 【非特許文献 15】Weaver et al, *J. Virol.*, in press)
 【非特許文献 16】Altfeld et al, *J. Virol.* 77: 7330-40 (2003)
 【非特許文献 17】Norris et al, *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 20: 315-25 (2004)
 【非特許文献 18】Jones et al, *J. Exp. Med.* 200: 1243-56 (2004)
 【非特許文献 19】Allen et al, *J. Virol.* 79: 12952-60 (2005)
 【非特許文献 20】Feeney et al, *J. Immunol.* 174: 7524-30 (2005)
 【非特許文献 21】Killian et al, *Aids* 19: 887-96 (2005)
 【非特許文献 22】Milicic et al, *J. Immunol.* 175: 4618-26 (2005)
 【非特許文献 23】Ammaranond et al, *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 21: 395-7 (2005)

【発明の概要】

【0011】

一般に、本発明は免疫源組成物に関する。より具体的には、本発明は多価免疫源組成物(たとえばHIVワクチン)、およびそれを使用する方法に関する。本発明はさらに、ワクチンとして使用するのに適切な多価抗原セットを設計するための遺伝子アルゴリズムの使用を伴う方法に関する。

【0012】

本発明の目的および利点は以下の記載から明らかになるであろう。

【図面の簡単な説明】

【0013】

【図1】図1A～1Fは、HIV-1 Mグループの潜在的エピトープ適応範囲の上限を示す。 $\Delta = 1 \sim 8$ の変異体について、変異体数の増加に対する9-merの集団適応範囲の上限(upper bound)を示す。長さ9のスライディングウインドウを下方へ1位置移動させながら、アラインした配列にわたって適用した。異なる色は異なる配列数についての結果を表わす。各ウインドウにおいて、個の最大共通9-merにより与えられる適応範囲をGag(図1Aおよび1B)、Nef(図1Cおよび1D)およびEnv gp 120(図1Eおよび1F)についてプロットする。アラインメントを維持するために挿入したギャップをキャラクターとして処理する。が増加するのに伴って希有な形態がより多く追加されるので、より多数の変異体を追加すると収穫(return)が低下することは明らかである。図1A、1Cおよび1Eには、各連続9-merについてのスコアをそれらの自然順位でプロットして、異なるタンパク質領域で多様性がいかに変動するかを示す；Gagの中央およびNefの中央領域のp24は共に、特に高度に保存されている。図1B、1Dおよび1Fには、各9-merについてのスコアを適応範囲により記録して(図4でも採用する方法)、そのタンパク質の全集団適応範囲のセンスを示す。gp120の適応範囲は、8変異体の9-merですら、特に乏しい(図1Eおよび1F)。

【図2】図2A～2Cは、モザイクの立ち上げ、スコアリング、および最適化を示す。図2A) 個の集団のセットを天然配列のランダム2点組換えにより作製する(それぞれ50～500の配列の1～6集団を試験した)。モザイクカクテル用として各集団から1配列を選択し(最初はランダムに)、これを繰り返して最適化する。カクテル配列を適応範囲(カクテルに含まれる天然配列9-merの平均画分と定義；入力データセット中のすべての天然配列にわたって平均したもの)の計算によりスコアリングする。より多くのエピトープをカバー(cover)する新たな配列はいずれも、カクテル全体のスコアを増大させるであろう。図2B) いずれか個々の配列のフィットネススコアは、その配列-プラス-他の集団からの現時の代表配列を含むカクテルの適応範囲である。図2C) 最適化：1) 2つの“親”を選択する：ランダムに選択した組換え配列対のうちより高いスコアのもの、および第2のランダム対のうちより高いスコアの配列またはランダムに選択した天然配列のいずれか(50%の確率)。2) 2つの親の間の2点組換えを用いて、“子”配列を作製する。子が非天然または希有9-merを含む場合、それを直ちに棄却し、そうでなけ

10

20

30

40

50

ればスコアリングする(Gaschen et al, *Science* 296:2354-2360 (2002))。そのスコアがいずれか4つのランダムに選択した集団メンバーのスコアより高い場合、その子をこの4つのうち最も弱いものの代わりに集団に組み入れ、こうして改良された集団を進化させる；4)そのスコアが新たな高いスコアである場合、その集団からの現時カクテルメンバーをこの新たな子に置き換える。次いで、各集団について10サイクルの子作製を反復し、改良が止むまでこのプロセスを繰り返す。

【図3】図3は、すべてのHIVタンパク質についてのモザイク株適応範囲を示す。各HIVタンパク質について4モザイクタンパク質のセットにより達成される9-mer適応範囲のレベルを示す；MグループまたはCサブタイプのいずれかを用いてモザイクを最適化した。Cサブタイプについて最適化したモザイクによりカバーされるCサブタイプ配列9-merの画分(クレード内最適化)を灰色で示す。サブタイプC最適化したモザイクによる非CサブタイプMグループ配列中にみられる9-merの適応範囲(クレード間最適化)を白色で示す。Mグループ最適化したモザイクによるサブタイプC配列の適応範囲を黒色で示す。Bクレード比較は匹敵する結果を与えた(データは示していない)。

【図4A】図4A-4Fは、種々のワクチン候補によるMグループ配列の適応範囲を9-mer毎に示す。各プロットは、単一3価ワクチン候補によるMグループ天然配列アラインメントの部位毎の適応範囲(すなわち各9-merについて)を示す。x-軸に沿った棒は、そのアラインメント位置についてワクチン候補が一致した配列の割合を表わす：9/9の一一致(赤色)、8/9の一一致(黄色)、7/9の一一致(青色)。アラインした9-merをx-軸に沿って厳密一致適応範囲値(exact-match coverage value)によりソーティングする。656の位置に完全GagとNef中央領域の両方が含まれる。各アラインメント位置について、最大可能一致値(すなわち、その9-merにおいてギャップなしにアラインした配列の割合)を灰色で示す。図4A)ワクチン試験(Kong et al, *J. Virol.* 77:12764-72 (2003))に用いている株の中から選択した非最適-天然配列；個々のクレードA、BおよびCウイルス配列を含む(Gag:GenBank寄託番号AF004885、K03455およびU52953；Nefコア:AF069670、K02083、およびU52953)。図4B)最適な天然配列セット[分離体US2(サブタイプB,米国)、70177(サブタイプC,インド)、および99TH.R2399(サブタイプC RF15_01B,タイ)；寄託番号AY173953、AF533131および_AF530576]；Mグループ適応範囲について選択して、最大適応範囲をもつ単一配列を選び、続いて最初のものと合わせた際に最良適応範囲をもっていた配列(すなわち最良補充配列(complement))を選ぶ(以下同様)により選択したもの。図4C)コンセンサス配列カクテル(Mグループ、BおよびCサブタイプ)。図4D)3モザイク配列、図4E)4モザイク配列、図4F)6モザイク配列。図4D~4FはすべてMグループ適応範囲について最適化された。

【図4B】図4A-4Fは、種々のワクチン候補によるMグループ配列の適応範囲を9-mer毎に示す。各プロットは、単一3価ワクチン候補によるMグループ天然配列アラインメントの部位毎の適応範囲(すなわち各9-merについて)を示す。x-軸に沿った棒は、そのアラインメント位置についてワクチン候補が一致した配列の割合を表わす：9/9の一一致(赤色)、8/9の一一致(黄色)、7/9の一一致(青色)。アラインした9-merをx-軸に沿って厳密一致適応範囲値(exact-match coverage value)によりソーティングする。656の位置に完全GagとNef中央領域の両方が含まれる。各アラインメント位置について、最大可能一致値(すなわち、その9-merにおいてギャップなしにアラインした配列の割合)を灰色で示す。図4A)ワクチン試験(Kong et al, *J. Virol.* 77:12764-72 (2003))に用いている株の中から選択した非最適-天然配列；個々のクレードA、BおよびCウイルス配列を含む(Gag:GenBank寄託番号AF004885、K03455およびU52953；Nefコア:AF069670、K02083、およびU52953)。図4B)最適な天然配列セット[分離体US2(サブタイプB,米国)、70177(サブタイプC,インド)、および99TH.R2399(サブタイプC RF15_01B,タイ)；寄託番号AY173953

10

20

30

40

50

53、A F 5 3 3 1 3 1 および_A F 5 3 0 5 7 6] ; M グループ適応範囲について選択して、最大適応範囲をもつ単一配列を選び、続いて最初のものと合わせた際に最良適応範囲をもっていた配列（すなわち最良補充配列（complement））を選ぶ（以下同様）により選択したもの。図4C）コンセンサス配列カクテル（M グループ、B およびC サブタイプ）。図4D）3モザイク配列、図4E）4モザイク配列、図4F）6モザイク配列。図4D～4F はすべてM グループ適応範囲について最適化された。

【図4C】図4A～4F は、種々のワクチン候補によるM グループ配列の適応範囲を9-mer 每に示す。各プロットは、単一3価ワクチン候補によるM グループ天然配列アラインメントの部位毎の適応範囲（すなわち各9-mer について）を示す。x-軸に沿った棒は、そのアラインメント位置についてワクチン候補が一致した配列の割合を表わす：9/9 の一致（赤色）、8/9 の一致（黄色）、7/9 の一致（青色）。アラインした9-mer をx-軸に沿って厳密一致適応範囲値（exact-match coverage value）によりソーティングする。656 の位置に完全Gag とNef 中央領域の両方が含まれる。各アラインメント位置について、最大可能一致値（すなわち、その9-mer においてギャップなしにアラインした配列の割合）を灰色で示す。図4A）ワクチン試験(Kong et al, J. Virol. 77:12764-72 (2003))に用いている株の中から選択した非最適-天然配列；個々のクレードA、B およびC ウイルス配列を含む（Gag：Gen Bank 寄託番号AF004885、K03455 およびU52953；Nef コア：AF069670、K02083、およびU52953）。図4B）最適な天然配列セット[分離体US2（サブタイプB，米国）、70177（サブタイプC，インド）、および99TH.R2399（サブタイプCRF15_01B，タイ）；寄託番号AY173953、A F 5 3 3 1 3 1 および_A F 5 3 0 5 7 6]；M グループ適応範囲について選択して、最大適応範囲をもつ単一配列を選び、続いて最初のものと合わせた際に最良適応範囲をもっていた配列（すなわち最良補充配列（complement））を選ぶ（以下同様）により選択したもの。図4C）コンセンサス配列カクテル（M グループ、B およびC サブタイプ）。図4D）3モザイク配列、図4E）4モザイク配列、図4F）6モザイク配列。図4D～4F はすべてM グループ適応範囲について最適化された。

【図4D】図4A～4F は、種々のワクチン候補によるM グループ配列の適応範囲を9-mer 每に示す。各プロットは、単一3価ワクチン候補によるM グループ天然配列アラインメントの部位毎の適応範囲（すなわち各9-mer について）を示す。x-軸に沿った棒は、そのアラインメント位置についてワクチン候補が一致した配列の割合を表わす：9/9 の一致（赤色）、8/9 の一致（黄色）、7/9 の一致（青色）。アラインした9-mer をx-軸に沿って厳密一致適応範囲値（exact-match coverage value）によりソーティングする。656 の位置に完全Gag とNef 中央領域の両方が含まれる。各アラインメント位置について、最大可能一致値（すなわち、その9-mer においてギャップなしにアラインした配列の割合）を灰色で示す。図4A）ワクチン試験(Kong et al, J. Virol. 77:12764-72 (2003))に用いている株の中から選択した非最適-天然配列；個々のクレードA、B およびC ウイルス配列を含む（Gag：Gen Bank 寄託番号AF004885、K03455 およびU52953；Nef コア：AF069670、K02083、およびU52953）。図4B）最適な天然配列セット[分離体US2（サブタイプB，米国）、70177（サブタイプC，インド）、および99TH.R2399（サブタイプCRF15_01B，タイ）；寄託番号AY173953、A F 5 3 3 1 3 1 および_A F 5 3 0 5 7 6]；M グループ適応範囲について選択して、最大適応範囲をもつ単一配列を選び、続いて最初のものと合わせた際に最良適応範囲をもっていた配列（すなわち最良補充配列（complement））を選ぶ（以下同様）により選択したもの。図4C）コンセンサス配列カクテル（M グループ、B およびC サブタイプ）。図4D）3モザイク配列、図4E）4モザイク配列、図4F）6モザイク配列。図4D～4F はすべてM グループ適応範囲について最適化された。

【図4E】図4A～4F は、種々のワクチン候補によるM グループ配列の適応範囲を9-mer 每に示す。各プロットは、単一3価ワクチン候補によるM グループ天然配列アライ

10

20

30

40

50

メントの部位毎の適応範囲（すなわち各 9 - m e r について）を示す。x - 軸に沿った棒は、そのアラインメント位置についてワクチン候補が一致した配列の割合を表わす：9 / 9 の一致（赤色）、8 / 9 の一致（黄色）、7 / 9 の一致（青色）。アラインした 9 - m e r を x - 軸に沿って厳密一致適応範囲値（e x a c t - m a t c h c o v e r a g e v a l u e ）によりソーティングする。656 の位置に完全 G a g と N e f 中央領域の両方が含まれる。各アラインメント位置について、最大可能一致値（すなわち、その 9 - m e r においてギャップなしにアラインした配列の割合）を灰色で示す。図 4 A ）ワクチン試験(Kong et al, J. Virol. 77:12764-72 (2003))に用いている株の中から選択した非最適 - 天然配列；個々のクレード A 、 B および C ウイルス配列を含む（ G a g : G e n B a n k 寄託番号 A F 0 0 4 8 8 5 、 K 0 3 4 5 5 および U 5 2 9 5 3 ； N e f コア： A F 0 6 9 6 7 0 、 K 0 2 0 8 3 、および U 5 2 9 5 3 ）。図 4 B ）最適な天然配列セット [分離体 U S 2 (サブタイプ B , 米国) 、 7 0 1 7 7 (サブタイプ C , インド) 、および 9 9 T H . R 2 3 9 9 (サブタイプ C R F 1 5 _ 0 1 B , タイ) ； 寄託番号 A Y 1 7 3 9 5 3 、 A F 5 3 3 1 3 1 および _ A F 5 3 0 5 7 6] ； M グループ適応範囲について選択して、最大適応範囲をもつ単一配列を選び、続いて最初のものと合わせた際に最良適応範囲をもっていた配列（すなわち最良補充配列（ complement ））を選ぶ（以下同様）により選択したもの。図 4 C ）コンセンサス配列カクテル（ M グループ , B および C サブタイプ ）。図 4 D ） 3 モザイク配列、図 4 E ） 4 モザイク配列、図 4 F ） 6 モザイク配列。図 4 D ~ 4 F はすべて M グループ適応範囲について最適化された。

【図 4 F 】図 4 A - 4 F は、種々のワクチン候補による M グループ配列の適応範囲を 9 - m e r 毎に示す。各プロットは、単一 3 値ワクチン候補による M グループ天然配列アラインメントの部位毎の適応範囲（すなわち各 9 - m e r について）を示す。x - 軸に沿った棒は、そのアラインメント位置についてワクチン候補が一致した配列の割合を表わす：9 / 9 の一致（赤色）、8 / 9 の一致（黄色）、7 / 9 の一致（青色）。アラインした 9 - m e r を x - 軸に沿って厳密一致適応範囲値（e x a c t - m a t c h c o v e r a g e v a l u e ）によりソーティングする。656 の位置に完全 G a g と N e f 中央領域の両方が含まれる。各アラインメント位置について、最大可能一致値（すなわち、その 9 - m e r においてギャップなしにアラインした配列の割合）を灰色で示す。図 4 A ）ワクチン試験(Kong et al, J. Virol. 77:12764-72 (2003))に用いている株の中から選択した非最適 - 天然配列；個々のクレード A 、 B および C ウイルス配列を含む（ G a g : G e n B a n k 寄託番号 A F 0 0 4 8 8 5 、 K 0 3 4 5 5 および U 5 2 9 5 3 ； N e f コア： A F 0 6 9 6 7 0 、 K 0 2 0 8 3 、および U 5 2 9 5 3 ）。図 4 B ）最適な天然配列セット [分離体 U S 2 (サブタイプ B , 米国) 、 7 0 1 7 7 (サブタイプ C , インド) 、および 9 9 T H . R 2 3 9 9 (サブタイプ C R F 1 5 _ 0 1 B , タイ) ； 寄託番号 A Y 1 7 3 9 5 3 、 A F 5 3 3 1 3 1 および _ A F 5 3 0 5 7 6] ； M グループ適応範囲について選択して、最大適応範囲をもつ単一配列を選び、続いて最初のものと合わせた際に最良適応範囲をもっていた配列（すなわち最良補充配列（ complement ））を選ぶ（以下同様）により選択したもの。図 4 C ）コンセンサス配列カクテル（ M グループ , B および C サブタイプ ）。図 4 D ） 3 モザイク配列、図 4 E ） 4 モザイク配列、図 4 F ） 6 モザイク配列。図 4 D ~ 4 F はすべて M グループ適応範囲について最適化された。

【図 5 A 】図 5 A および 5 B は、ワクチン候補の全適応範囲を示す： C クレード配列の 9 - m e r の適応範囲であって、モザイク最適化のために種々の入力データセットを用い、種々の数の抗原が可能であり、種々の候補ワクチンと比較したものの。厳密（青色）、8 / 9 (1 - オフ；赤色) 、および 7 / 9 (2 - オフ；黄色) 適応範囲を、1 値および多価ワクチン候補につき、 G a g (図 5 A) および N e f (コア) (図 5 B) について、4 つの試験状況で計算した： クレード内 (C クレード - 最適化候補を C クレード適応範囲についてスコアリング) 、 クレード間 (B クレード - 最適化候補を C クレード適応範囲についてスコアリング) 、 グローバル - 対 - 単一 - サブタイプ (M グループ - 最適化候補を C クレード適応範囲についてスコアリング) 、 グローバル - 対 - グローバル (M グループ - 最適化候補を グローバル適応範囲についてスコアリング) 。各セットの結果内で、カクテル内

10

20

30

40

50

の配列数（1～6）によりワクチン候補を分類する；モザイク配列をより濃色でプロットする。“Non-opt”は、ワクチン試験(Kong et al, J. Virol. 77:12764-72 (2003))に採用する1セットの配列を表わす；“モザイク”は、遺伝子アルゴリズムにより作製した配列を表わす；“opt.natural”は、最大9-mer適応範囲について選択した無傷の天然配列を表わす；“MBCコンセンサス”は、Mグループ、B-サブタイプ、およびC-サブタイプについての3つのコンセンサス配列のカクテルを表わす。比較を容易にするために、破線は4配列セットのMグループモザイクの適応範囲をマークする（73.7～75.6%）。150を超える組合せのモザイク数、ウイルスサブセット、タンパク質領域、および最適化と試験のセットを試験した。この図に示したCクレード/Bクレード/Mグループの比較は一般に、クレード内、クレード間、およびMグループの適応範囲の代表例である。特に、BおよびCクレードについてのモザイク適応範囲のレベルは、Gagコレクション中にはより多数のCクレード配列があり、Nefコレクション中にはより多数のBクレード配列があるにもかかわらず、きわめて類似していた（完全なBおよびCクレード比較については図6を参照）。これらのアラインメント中にあるAおよびGクレード配列は比較的少なく（24 Gag, 75 Nef）、Mグループ最適化モザイクによる9-mer適応範囲はBおよびCクレードについてのサブタイプに関するものほど高くなかった（AおよびGサブタイプについての4モザイク適応範囲は、Gagにつき63%、Nefにつき74%であった）けれども、それは非最適カクテル（Gagにつき52%、Nefにつき52%）よりはるかに良好であった。

【図5B】図5Aおよび5Bは、ワクチン候補の全適応範囲を示す：Cクレード配列の9-merの適応範囲であって、モザイク最適化のために種々の入力データセットを用い、種々の数の抗原が可能であり、種々の候補ワクチンと比較したもの。厳密（青色）、8/9（1-オフ；赤色）、および7/9（2-オフ；黄色）適応範囲を、1価および多価ワクチン候補につき、Gag（図5A）およびNef（コア）（図5B）に関して、4つの試験状況で計算した：クレード内（Cクレード-最適化候補をCクレード適応範囲についてスコアリング）、クレード間（Bクレード-最適化候補をCクレード適応範囲についてスコアリング）、グローバル-対-単一-サブタイプ（Mグループ-最適化候補をCクレード適応範囲についてスコアリング）、グローバル-対-グローバル（Mグループ-最適化候補をグローバル適応範囲についてスコアリング）。各セットの結果内で、カクテル内の配列数（1～6）によりワクチン候補を分類する；モザイク配列をより濃色でプロットする。“Non-opt”は、ワクチン試験(Kong et al, J. Virol. 77:12764-72 (2003))に採用する1セットの配列を表わす；“モザイク”は、遺伝子アルゴリズムにより作製した配列を表わす；“opt.natural”は、最大9-mer適応範囲について選択した無傷の天然配列を表わす；“MBCコンセンサス”は、Mグループ、B-サブタイプ、およびC-サブタイプについての3つのコンセンサス配列のカクテルを表わす。比較を容易にするために、破線は4配列セットのMグループモザイクの適応範囲をマークする（73.7～75.6%）。150を超える組合せのモザイク数、ウイルスサブセット、タンパク質領域、および最適化と試験のセットを試験した。この図に示したCクレード/Bクレード/Mグループの比較は一般に、クレード内、クレード間、およびMグループの適応範囲の代表例である。特に、BおよびCクレードについてのモザイク適応範囲のレベルは、Gagコレクション中にはより多数のCクレード配列があり、Nefコレクション中にはより多数のBクレード配列があるにもかかわらず、きわめて類似していた（完全なBおよびCクレード比較については図6を参照）。これらのアラインメント中にあるAおよびGクレード配列は比較的少なく（24 Gag, 75 Nef）、Mグループ最適化モザイクによる9-mer適応範囲はBおよびCクレードについてのサブタイプに関するものほど高くなかった（AおよびGサブタイプについての4モザイク適応範囲は、Gagにつき63%、Nefにつき74%であった）けれども、それは非最適カクテル（Gagにつき52%、Nefにつき52%）よりはるかに良好であった。

【図6A】図6Aおよび6Bは、ワクチン候補の全適応範囲を示す：Bクレード、Cクレード、およびMグループ配列の9-merの適応範囲であって、モザイク最適化のために

10

20

30

40

50

種々の入力データセットを用い、種々の数の抗原が可能であり、種々の候補ワクチンと比較したもの。厳密（青色）、8 / 9（1 - オフ；赤色）、および7 / 9（2 - オフ；黄色）適応範囲を、1価および多価ワクチン候補につき、Gag（図6A）およびNef（コア）（図6B）に関して、7つの試験状況で計算した：クレード内（BまたはCクレード最適化候補を同一クレードに対してスコアリング）、クレード間（BクレードまたはCクレード最適化候補を他方のクレードに対してスコアリング）、グローバルワクチン - 対 - 単一サブタイプ（Mグループ最適化候補をBまたはCクレードに対してスコアリング）、グローバルワクチン - 対 - グローバルワクチン（Mグループ - 最適化候補を全Mグループ適応範囲に対してスコアリング）。各セットの結果内で、カクテル内の配列数（1～6）によりワクチン候補を分類する；モザイク配列をより濃色でプロットする。“Non-opt”は、ワクチンについて先に提唱された特定の天然配列セットを表わす（Kong et al, J. Virol. 77:12764-72 (2003)）；“モザイク”は、遺伝子アルゴリズムにより作製した配列を表わす；“opt.natural”は、最大9-mer適応範囲について選択した無傷の天然配列を表わす；“MBCコンセンサス”は、Mグループ、B - サブタイプ、およびC - サブタイプについての3つのコンセンサス配列のカクテルを表わす。Mグループに最適化した4価モザイクセットについて厳密一致Mグループ適応範囲のレベルに破線を示す。

【図6B】図6Aおよび6Bは、ワクチン候補の全適応範囲を示す：Bクレード、Cクレード、およびMグループ配列の9-merの適応範囲であって、モザイク最適化のために種々の入力データセットを用い、種々の数の抗原が可能であり、種々の候補ワクチンと比較したもの。厳密（青色）、8 / 9（1 - オフ；赤色）、および7 / 9（2 - オフ；黄色）適応範囲を、1価および多価ワクチン候補につき、Gag（図6A）およびNef（コア）（図6B）に関して、7つの試験状況で計算した：クレード内（BまたはCクレード最適化候補を同一クレードに対してスコアリング）、クレード間（BクレードまたはCクレード最適化候補を他方のクレードに対してスコアリング）、グローバルワクチン - 対 - 単一サブタイプ（Mグループ最適化候補をBまたはCクレードに対してスコアリング）、グローバルワクチン - 対 - グローバルワクチン（Mグループ - 最適化候補を全Mグループ適応範囲に対してスコアリング）。各セットの結果内で、カクテル内の配列数（1～6）によりワクチン候補を分類する；モザイク配列をより濃色でプロットする。“Non-opt”は、ワクチンについて先に提唱された特定の天然配列セットを表わす（Kong et al, J. Virol. 77:12764-72 (2003)）；“モザイク”は、遺伝子アルゴリズムにより作製した配列を表わす；“opt.natural”は、最大9-mer適応範囲について選択した無傷の天然配列を表わす；“MBCコンセンサス”は、Mグループ、B - サブタイプ、およびC - サブタイプについての3つのコンセンサス配列のカクテルを表わす。Mグループに最適化した4価モザイクセットについて厳密一致Mグループ適応範囲のレベルに破線を示す。

【図7A】図7Aおよび7Bは、天然、コンセンサス、およびモザイク配列中の出現頻度による9-merの分布を示す。幾つかの方法で作成したワクチンカクテルについて種々の9-mer頻度（x - 軸）に対する出現数（y - 軸）を示す。図7A：頻度0～60%（9-mer頻度 > 60%について；分布はすべての方法について同等である）。図7B：低頻度9-merの詳細。天然配列は多数の希有またはユニークに分離される9-merをもつ（下右，図7Aおよび7B）；これらは有用なワクチン応答を誘導しないと思われる。最適天然配列の選択によってより共通の9-merが選択されるのではなく、希有およびユニーク9-merがなお含まれる（上右，図7Aおよび7B）。これに対し、コンセンサスカクテルは、非共通9-mer、特に20%未満の頻度のものを低く表示する（下左，図7Aおよび7B）。モザイク配列については、より低頻度の9-merの数は配列数と共に単調に増加する（上左，各パネル）が、ユニークに分離される9-merは完全に除外される（右パネルの上左：*は、頻度 < 0.005の9-merが存在しないことを表わす）。

【図7B】図7Aおよび7Bは、天然、コンセンサス、およびモザイク配列中の出現頻度

10

20

30

40

50

による 9 - m e r の分布を示す。幾つかの方法で作成したワクチンカクテルについて種々の 9 - m e r 頻度 (x - 軸) に対する出現数 (y - 軸) を示す。図 7 A : 頻度 0 ~ 6 0 % (9 - m e r 頻度 > 6 0 % について ; 分布はすべての方法について同等である)。図 7 B : 低頻度 9 - m e r の詳細。天然配列は多数の希有またはユニークに分離される 9 - m e r をもつ (下右 , 図 7 A および 7 B) ; これらは有用なワクチン応答を誘導しないと思われる。最適天然配列の選択によってより共通の 9 - m e r が選択されるのではなく、希有およびユニーク 9 - m e r がなお含まれる (上右 , 図 7 A および 7 B) 。これに対し、コンセンサスカクテルは、非共通 9 - m e r 、特に 2 0 % 未満の頻度のものを低く表示する (下左 , 図 7 A および 7 B) 。モザイク配列については、より低頻度の 9 - m e r の数は配列数と共に単調に増加する (上左 , 各パネル) が、ユニークに分離される 9 - m e r は完全に除外される (右パネルの上左 : * は、頻度 < 0 . 0 0 5 の 9 - m e r が存在しないことを表わす) 。

【図 8 】図 8 A ~ 8 D は、ワクチン候補の H L A 結合力価を示す。図 8 A および 8 B) H L A 結合モチーフ数。図 8 C および 8 D) 好ましくないアミノ酸の数。すべてのグラフにおいて : 天然配列を黒丸 (●) ; コンセンサス配列を青三角 (▲) ; 推測祖先配列を緑四角 (□) ; およびモザイク配列を赤菱形 (△) でマークする。左パネル (図 8 A および 8 C) は、個々の配列について計算した H L A 結合モチーフ数 (図 8 A) および好ましくないアミノ酸の数 (図 8 C) を示す ; 右パネル (図 8 B および 8 D) は、配列カクテルについて計算した H L A 結合モチーフ数 (図 8 B) および好ましくないアミノ酸の数 (図 8 D) を示す。各グラフの上部分 (ボックスと細線のグラフ) は、それぞれの数 (モチーフ数または好ましくないアミノ酸の数) の分布を示す ; M グループ配列のアラインメント (個々の配列について , 図 8 A および 8 C) 、または各 A 、 B および C サブタイプから 1 つの 3 配列からランダムに構成した 1 0 0 のカクテル (配列カクテルについて , 図 8 B および 8 D) のいずれかに基づく。アラインメントは L o s A l a m o s H I V データベースからダウンロードされた。ボックスは 2 5 パーセンタイルから 7 5 パーセンタイルまでに及び、線は中央値にある。ボックスの外側へ延びた細線は、最高値および最低値を示す。C 末端アンカー残基としてきわめて稀にみられるアミノ酸は、G 、 S 、 T 、 P 、 N 、 Q 、 D 、 E および H であり、小型、極性、または負に荷電している傾向がある (Yusim et al , J. Virol. 76:8757-8768 (2002)) 。結果を G a g について示すが、 N e f コアおよび完全 N e f についても同じ定性結果が当てはまる。同じ操作をサブタイプモチーフについて行なって、 H L A 結合モチーフについての結果と定性的に類似の結果を得た (データを示していない) 。

【図 9 】図 9 は、 G a g および N e f 中央領域にわたる、サブタイプ B 、サブタイプ C 、および M グループについて最適化した、 4 配列 (n = 4) に限定したモザイクタンパク質セットを示す。

【図 10 】図 10 は、 E n v および P o l についてのモザイクセットを示す。

【図 11 】図 11 のプロットはアラインメント非依存型であり、すべての M グループタンパク質 (データベースおよび C H A V I ; 一人につき 1 配列) を、すべての可能な 9 - m e r にそれらの頻度に応じて分断し、次いで各ワクチン抗原またはカクテルにおけるデータベースとの一致および近一致を検索することに基づく。

【図 12 】図 12 は、適応範囲の追加のまとめを示す。

【図 13 】図 13 は、位置による 9 - m e r 適応範囲を示す (M o s . 3 ワクチンカクテル) 。

【図 14 】図 14 A ~ 14 D は、使用のために提唱した各ワクチンについて 9 - m e r 一致の頻度により再ソーティングしたプロットを示す。

【図 15 】図 15 A ~ 15 D は、完全データベースアラインメントにおけるあらゆる配列中のあらゆるアミノ酸をマッピングしたプロットを示す。

【図 16 】図 16 は、 3 モザイク、 M グループ最適化を示す。

【図 17 】図 17 は、 H I V データベース + C H A V I 配列 (N = 2 0 2 0) の適応範囲を示す。

【図18】図18は、患者のコンセンサス配列と比較した急性感染症患者の配列における相異を示す。

【図19】図19は、サブタイプ特異的設計と対比したE nv Mグループ特異的設計の適応範囲に関する妥協点と利点を示す。

【図20】図20は、提唱したワクチンモザイクのGagおよびEnvの適応範囲を示す。

【図21】図21は、Gag、NefおよびEnv配列を示す。

【図22-1】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-2】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。 10

【図22-3】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-4】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-5】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-6】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-7】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。 20

【図22-8】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-9】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-10】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-11】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-12】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。 30

【図22-13】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-14】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-15】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-16】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-17】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。 40

【図22-18】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-19】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-20】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-21】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサスgagおよびnefを示す。

【図22-22】図22は、モザイクgagおよびnef遺伝子ならびにMコンセンサス 50

g a g および n e f を示す。

【図 22-23】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-24】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-25】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-26】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-27】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-28】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-29】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-30】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-31】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-32】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-33】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-34】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-35】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-36】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-37】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-38】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-39】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-40】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-41】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-42】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-43】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【図 22-44】図 22 は、モザイク g a g および n e f 遺伝子ならびに M コンセンサス g a g および n e f を示す。

【発明を実施するための形態】

【0014】

本発明は、その配列が循環ウイルス配列の希有ではない短い領域の最大適応範囲を提供する合成ウイルスタンパク質を含む多価抗原セットが、良好なワクチン候補を構成するという認識から得られた。本発明は、そのような多価抗原セットを、入力として供給した天

10

20

30

40

50

然タンパク質配列の任意セットのフラグメントのモザイクブレンドとして作製するための“遺伝子アルゴリズム”方法を提供する。H I Vに関しては、タンパク質G a gおよびN e fがそのような抗原の理想的な候補である。適応範囲を拡大するために、P o lおよび/またはE n vも使用できる。本発明はさらに、これらのタンパク質について最適化したセットを提供する。

【0015】

本発明の遺伝子アルゴリズム方法は、一般集団からのアラインしていないタンパク質配列を入力データセットとして使用し、したがって“アラインメント非依存型”であるという長所をもつ。これにより、自然界で見出されるタンパク質に類似する人工的モザイクタンパク質を作製する - 小動物モデルにおけるコンセンサス抗原の成功は、これが良好に作動することを示唆する。9 m e rは本明細書に記載する試験の焦点であるが、意図するターゲットに応じて種々の長さのペプチドを選択できる。本発明方法によれば、自然界に存在しないかまたはきわめて希有な9 m e r（たとえば）は除外することができる - これは、コンセンサス配列と対比した [後者は自然界に見出されていないある9 m e r（たとえば）を含む可能性があるので]、またその株にユニークなある9 m e r（たとえば）をほぼ常に含む天然株と対比した、改良点である。遺伝子アルゴリズムに使用するフィットネスの定義は、最大“フィット”多価カクテルはその集団内のすべての9 m e rの最良適応範囲（最高の完全一致画分）を与えるモザイク株の組合せであり、かつその集団内に存在しないかまたは希有である9 m e rは無いという拘束を受けることである。

10

【0016】

本発明のモザイクタンパク質セットは、種々の入力データセットに関して最適化することができる - これにより、T細胞からみたサブタイプ特異的または領域特異的ワクチンの長所を評価するために現時データを利用できる。たとえば、比較したオプションには下記のものが含まれる：

20

1) Mグループ、BクレードおよびCクレードに基づく最適多価モザイクセット。提示した質問は、クレード内適応範囲がクレード間またはグローバルよりどのくらい良好であるかということであった；

2) 種々の抗原数：1、3、4、6；

3) “典型的な”株を単に例示するために、ワクチンプロトコルに現在用いられている天然株（M e r c k , V R C）；

30

4) 集団内の9 m e rの最良適応範囲を与えるように選択した天然株；

5) コンセンサスのセット：A + B + C；

6) 多価抗原中の1つの“特定”株、1つの祖先 + 3つのモザイク株、1つのコンセンサス + 3つのモザイク株を含む、最適化されたカクテル；

7) 完全に一致した9 m e rの適応範囲を8 / 9、7 / 9および6 / 9、またはそれ未満一致するものと比較した。

40

【0017】

1つの9 m e rをカバーするための最良セットが、オーバーラップする9 m e r類をカバーするための最良セットではない可能性があるので、これはコンピューター処理にとつて難しい問題である。

40

【0018】

本明細書に記載する方法はH I V免疫応答を試験するペプチド試薬を設計するために使用でき、かつ他の変異性病原体にも適用できることは、本明細書の開示内容を読むことにより認識されるであろう。たとえば、本発明方法は高度に変異性のウイルスであるC型肝炎にも適用できる。

50

【0019】

本発明のタンパク質 / ポリペプチド / ペプチド（“免疫原”）に、当技術分野で周知の技術により医薬的に許容できるキャリヤーおよび/またはアジュバントを配合して、組成物にすることができる。適切な投与経路には、全身（たとえば筋肉内または皮下）、経口、腔内、直腸内および鼻内が含まれる。

50

【0020】

本発明の免疫原は、当業者に周知の方法を用いて化学合成および精製することができる。これらの免疫原は、周知の組換えDNA技術により合成することもできる。

本発明の免疫原をコードする核酸を、たとえばコード配列が裸のDNAとして投与されるDNAワクチンの成分として使用でき、あるいは、たとえば免疫原をコードするミニ遺伝子がウイルスベクター中に存在してもよい。コード配列を、たとえばマイコバクテリウム属(*mycobacterium*,)中、組換えキメラアデノウイルス中、または組換え弱毒水疱性口内炎ウイルス中で発現させることができる。コード配列は、たとえば下記の中に存在してもよい：複製型もしくは非複製型アデノウイルスベクター、アデノ隨伴ウイルスベクター、弱毒化した結核菌(*mycobacterium tuberculosis*)ベクター、カルメット-ゲラン杆菌(*Bacillus Calmette Guerin (BCG)*)ベクター、ワクシニアまたは改良ワクシニア・アンカラ(*Modified Vaccinia Ankara (MVA)*)ベクター、他のポックスウイルスベクター、組換えポリオその他の腸内ウイルスベクター、サルモネラ属(*Salmonella*)種の細菌ベクター、赤痢菌属(*Shigella*)種の細菌ベクター、ベネズエラウマ脳炎ウイルス(*Venezuelan Equine Encephalitis Virus (VEE)*)ベクター、セムリキ森林ウイルス(*Semliki Forest Virus*)ベクター、またはタバコモザイクウイルス(*Tobacco Mosaic Virus*)ベクター。コード配列は、たとえばCMVプロモーターなどの活性プロモーターを含むDNAプラスミドとして発現させることもできる。他の生存ベクターを用いて本発明の配列を発現させることもできる。本発明の免疫原は、患者自身の細胞において、好ましくはヒト細胞における発現を最適化するコドンおよびプロモーターを用いて、これらの細胞に免疫原をコードする核酸を導入することにより誘導できる。DNAワクチンを製造および使用する方法の例は、U.S.Pat.No.5,580,859、5,589,466、および5,703,055に開示されている。コドン最適化の方法の例は、Haas et al, *Current Biology* 6:315-324 (1996)およびAndre et al, *J. Virol.* 72(2):1497-1503 (1998)に記載されている。

【0021】

アジュバントを本発明組成物に含有させる(あるいは、免疫原効果を増強するために別個に投与する)ことができるるのは認識されるであろう。適切なアジュバントの例には、TRL-9アゴニスト、TRL-4アゴニスト、ならびにTRL-7、8および9アゴニストの組合せ(およびミョウバン)が含まれる。アジュバントは油性および水性エマルジョンの形をとることができる。スクアレンアジュバントも使用できる。

【0022】

本発明の組成物は、免疫学的有効量の本発明の免疫原、またはそれらをコードする核酸配列を、医薬的に許容できる送達システム中に含む。これらの組成物をウイルス感染症(たとえばHIV感染症)の予防および/または治療のために使用できる。前記に指摘したように、本発明の組成物はアジュバント、乳化剤、医薬的に許容できるキャリヤー、またはワクチン組成物中に日常的に供給される他の成分を用いて配合できる。最適配合物は当業者が容易に設計でき、即時放出および/または持続放出のための配合物、ならびに全身性免疫の誘導および/または局所粘膜免疫の誘導のための配合物を含むことができる(たとえば、鼻内、膣内、または直腸内投与のための配合物を設計できる)。前記のように本発明組成物は、皮下、鼻内、経口、筋肉内、または他の非経口もしくは腸内経路を含めたいずれか好都合な経路で投与できる。免疫原を1回量または多数回量で投与できる。最適免疫化計画は当業者が容易に決定でき、患者、組成物、および目的とする効果に伴って異なる可能性がある。

【0023】

本発明は、本発明の免疫原および/またはそれらをコードする核酸および/または前記に従って発現させた免疫原の直接使用を共に考慮する。たとえば、免疫原をコードするミニ遺伝子を初回抗原刺激および/または追加抗原刺激として使用できる。

10

20

30

40

50

【0024】

本発明は、本明細書に開示するアミノ酸配列およびそれらをコードする核酸配列（およびそれらのコード配列に相補的な核酸）のいずれかおよびすべてを含む。

本明細書に詳細に記載するのは、地域流行をターゲティングした単一 B または C サブタイプ、およびグローバルに循環しているすべての H I V - 1 変異体 [H I V - 1 主 (M) グループ] について最適化したワクチン抗原セットである。後記の実施例 1 に記載する試験において、目標は特に T 細胞応答のための多価ワクチンの設計にある。H I V - 1 特異的 T 細胞は、H I V - 1 特異的ワクチン応答に重要であると思われる： C T L 応答はヒトにおける疾患進行速度の低下と相関し(Oxenius et al, J. Infect. Dis. 189:1199-1208 (2004))、ヒト以外の靈長類ワクチン接種モデルにおける C T L 応答の重要性は十分に確立されている。ワクチンにより誘発された細胞性免疫応答は、病原性 S I V または S H I V の抑制を補助し、病原性ウイルスによる攻撃後の疾患の可能性を低下させる(Barouch et al, Science 290:486-492 (2000))。C D 8 + T 細胞を一時的に枯渇させると、S I V 感染したアカゲザルにおいてウイルス血症が増大する(Schmitz et al, Science 283: 857-60 (1999))。さらに、疾患の進行に伴って C T L 回避変異が生じ、これは C T L 応答がインビオでのウイルス複製の束縛を補助することを指摘する(Barouch et al, J. Virol. 77: 7367-75 (2003))ので、潜在的回避経路を遮断するワクチン刺激による記憶応答是有用な可能性がある。変異性が高いエンベロープ (E n v) は H I V に対する抗体を中和するための主要なターゲットであり、ワクチン抗原はこれらの抗体応答の誘発にも適合させる必要がある(Moore and Burton, Nat. Med. 10: 769-71 (2004))が、T 細胞ワクチン成分は、より保存されたタンパク質をターゲティングして、交差反応する可能性がより大きい応答を始動させることができる。しかし、最も保存された H I V - 1 タンパク質ですら変異が問題になるのに十分なほど多様である。本質的に株間の“相異を断ち切る”人工的な中枢配列ワクチン法であるコンセンサス配列および祖先配列(Gaschen et al, Science 296: 2354-60 (2002), Gao et al, J. Virol. 79: 1154-63 (2005), Doria-Rose et al, J. Virol. 79: 11214-24 (2005))は有望性を示し、天然株ワクチンと比較して増強された交差反応性をもつ応答を刺激する(Gao et al, J. Virol. 79:1154-1163 (2005)) (Liao et al. and Weaver et al., 提出済み)。それにもかかわらず、中枢株ですら H I V 多様性スペクトルをカバーするのはごく限られた程度であり、コンセンサスベースのペプチド試薬は多くのオートロガス C D 8 + T 細胞応答を検出できない(Altfeld et al, J. Virol. 77: 7330-40 (2003))。

【0025】

単一アミノ酸置換が T 細胞回避を仲介する可能性があり、多くの T 細胞エピトープにおいて 1 以上のアミノ酸が H I V - 1 株間で異なるので、いずれか 1 つのワクチン抗原に対する応答の潜在的有効性には限界がある。特定の変異が T 細胞の交差反応性を低下させるかどうかはエピトープおよび T 細胞によるけれども、ある変化がクレード間の交差反応性に広範に影響を及ぼす可能性がある(Norris et al, AIDS Res. Hum. Retroviruses 20: 315-25 (2004))。より多くの変異体を多価ワクチンに組み込むことによって、より広域の循環変異体に対する応答が可能になる。それは共通の回避変異体に対する免疫系を初回抗原刺激することもできる(Jones et al, J. Exp. Med. 200: 1243-56 (2004))；1 つの T 細胞受容体からの回避が他の受容体に対して感受性である変異体を形成する可能性があり(Lee et al, J. Exp. Med. 200:1455-1466 (2004))、したがってエピトープ変異体に対するポリクローナル応答を刺激することは有益となる可能性がある(Killian et al, Aids 19: 887-96 (2005))。プロセシングを阻害する手段(Milicic et al, J. Immunol. 175: 4618-26 (2005))または H L A 結合を阻害する手段(Ammaranond et al, AIDS Res. Hum. Retroviruses 21: 395-7 (2005))を伴う免疫回避はエピトープ提示を妨げ、そのような場合、異なる特異性をもつ T 細胞によってその回避変異体に対抗することはできない。しかし、オーバーラップするエピトープを認識する T 細胞の存在は、場合によりこれらの回避経路ですら遮断する可能性がある。

【実施例】

10

20

30

40

50

【0026】

本発明の特定の観点を、限定ではない以下の実施例においてより詳細に記載することができる。

実施例 1

実験の詳細

HIV-1配列データ。一人当たり1つの配列を含む2005のHIV配列データベース(<http://hiv.lanl.gov>)からの基準アラインメントを用い、これに南アフリカ、ダーバンから最近入手できる追加のCサブタイプGagおよびNef配列(GenBank accession numbers AY856956 - AY857186)(Kiepiela et al, Nature 432:769-75 (2004))を補足した。このセットは、全世界からの551のGagおよび1,131のNef Mグループ配列を含んでいた；Mグループの多様性を調べるために、純粋なサブタイプ配列と共に組換え配列を含めた。18A、102B、228Cおよび6Gサブタイプ配列(Gag)、ならびに62A、454B、284Cおよび13Gサブタイプ配列(Nef)を含むこれらのアラインメントのサブセットを、单一クレード内および單一クレード間の最適化および比較のために用いた。

10

【0027】

遺伝子アルゴリズム。GAは、分析により回折するのが困難な問題に対する解を見出すために用いられる、生物学的方法(進化、集団、選択、組換え)のコンピューター類似法である(Holland, *Adaptation in Natural and Artificial Systems: An Introductory Analysis with Applications to Biology, Control, and Artificial Intelligence*, (M.I.T. Press, Cambridge, MA (1992))).。特定の入力に対する解を、“フィットネス”(最適性)基準に従ったランダムな改変および選択のプロセスにより“進化”させる。GAには多くの種類がある；“定常状態-共進化的多集団(steady-state co-evolutionary multi-population)”GAを実行した。“定常状態”は、新たな全集団を一度ではなく、一度に1つの新たな候補解を作製することを表わす；“共進化的”は、一緒に作業する幾つかの別個の集団を同時に進化させて完全解を作成することを表わす。入力はアラインしていない天然配列のセットである；候補解は個の擬似天然“モザイク”配列のセットであり、それらのそれぞれが天然配列の鎖状セクション(concatenating section)により形成されている。フィットネス基準は集団適応範囲(population coverage)であり、これはカクテル中にある入力配列中のすべての9-アミノ酸配列フラグメント(潜在的エピトープ)の集団と定義される。

20

【0028】

GA(図2)を立ち上げるために、n個の初期候補配列の集団 個を、ランダムに選択した天然配列間での2点組換えにより作製する。入力する天然配列はアラインしていないので、“相同”クロスオーバーを用いる：両配列中の短い一致ストリング(matching string)を探索することにより各配列のクロスオーバー点を選択する；典型的なエピトープ長さがc=9である場合、c-1=8のストリングを用いた。これにより、組換え配列は天然タンパク質に確実に類似する：異なる株に由来する配列のセクション間の境界は継ぎ目がなく、境界にまたがる局部配列は常に自然界で見出されるものであり、モザイクが大きな挿入/欠失または自然界に無い組合せのアミノ酸を取り込むのは阻止される。モザイク構築の結果、モザイク配列長さは天然配列長さの分布内にある：組換えは同一領域においてのみ許容され、反復領域の再重複を阻止するために過剰な長さに対するエクスプリシット・ソフトウェア(explicit software)禁止によって強化される(そのような再重複エピトープの“枠内”挿入は、自然界に無い9-merを生成することなく適応範囲を拡大するための他の方法を提供することができるが、それらを組み込むと“自然界に無い”タンパク質が作製されるであろう)。最初は、カクテルは各集団からランダムに選択した1つの“ウイナー(winner)”を含む。集団内のいずれかの個々の配列についてのフィットネススコアは、その配列-プラス-他の集団からの現時ウイナーからなるカクテルについての適応範囲値である。したがって、ある集団

30

40

50

内のいずれかの配列の個々のフィットネスは、他の集団内に見出される最良配列に動的に依存する。

【0029】

最適化は一度に1つの集団について進行する。それぞれの繰返しについて、2つの“親”配列を選択する。第1の親は、“2トーナメント(2-tournament)”選択を用いて選択される：現時集団から2配列をランダムに抜き出し、スコアリングし、より良いものを選択する。これにより、その集団内でのそれらのフィットネスランクに反比例する確率をもつ親が、すべての個々のフィットネスを実際に計算する必要なしに選択される。第2の親は、同じ方法で選択される(50%の時間)か、あるいは天然配列セットからランダムに選択される。次いで、親間の2点相同クロスオーバーを用いて“子”配列を作製する。その天然集団内できわめて稀であった9-mer(見出されたのが3回未満)を含む子はいずれも直ちに棄却される。棄却されなければ、この新たな配列をスコアリングし、そのフィットネスを同じ集団からランダムに選択した4配列と比較する。ランダムに選択した4配列のいずれかがこの新たな配列のものより低いスコアをもつ場合、それをこの集団においてこの新たな配列で置き換える。現時集団の“ウイナー”より良いスコアを与える配列に遭遇した場合は常に、その配列が現時集団のためのウイナーとなり、したがって以後はこのカクテル内で他の集団内の配列を評価するために用いられる。次いでそのような最適化サイクルを数回(一般に10回)各集団に適用し、このプロセスは進化が止む(すなわち、特定数の世代について改良がなされなくなる)までその集団全体に循環し続ける。この時点で、新たに作製したランダム出発集団を用いて操作全体を再開し、それ以上の改良が見られなくなるまでこの再開を続ける。GAをn=50または500の各データセットについて実施した；それ以上の改良が生じなくなるまで12~24時間、2GHz Pentiumプロセッサーで各操作を続けた。=1、3、4または6のモザイク配列を含むカクテルを作製した。

10

20

30

40

【0030】

GAは、関心のある1以上の固定配列(たとえばコンセンサス)を任意にカクテルに組み込むことも可能であり、その固定株を最適に補充するためにカクテルの他のエレメントを進化させるであろう。これらの解は最適以下であったので、それらは本明細書に含まれていない。追加プログラムは、入力ファイルから、組み合わせると最良の集団適応範囲を提供する個の最良天然株を選択する。

30

【0031】

他の多価ワクチン候補との比較。可能性のある他の1価または多価ワクチンについて集団適応範囲スコアを計算し、モザイク配列ワクチンとの直接比較を行なって、集団9-merとの同一性、ならびに8/9および7/9アミノ酸の類似性を追跡した。天然株に基づいた、可能性のあるワクチン候補には、単一株(たとえば、南アフリカのためのワクチンに関する単一C株(Williamson et al, AIDS Res. Hum. Retroviruses 19:133-44 (2003)))、または天然株の組合せ(たとえば、サブタイプA、BおよびCのそれぞれ1つ(Kong et al, J. Virol. 77:12764-72 (2003)))が含まれる。今まで、潜在的T細胞エピトープ適応範囲を最大にするために天然株ワクチン候補を系統的に選択することはなされていない；未選択ワクチン候補から期待できるものの代表例となるワクチン候補を文献より抜き出した。無傷の天然株のみを用いて適応範囲の上限も決定した：データセットのうち最良適応範囲をもつ単一配列を選択することによって最適天然配列カクテルを作製し、次いで一定のになるまで最大補充配列を連続的に追加した。この比較には、中枢合成ワクチンの概念を表わすために、種々のサイズの最適天然配列カクテルおよびコンセンサス配列が単独でまたは組み合わせて含まれていた(Gaschen et al, Science 296:2354-60 (2002))。最後に、固定配列オプションをGAに使用し、コンセンサス-プラス-モザイクと組合せて比較；これらのスコアは、一定のについて含まれる全モザイク組合せと本質的に同等であった(データは示していない)。これらの分析を実施するために用いたコードは、<ftp://ftp-t10/pub/btk/mosaics>において入手できる。

40

【0032】

50

結果

タンパク質の変異。保存された H I V - 1 タンパク質において、大部分の位置は本質的に非変異性であり、最も変異性である位置はかなりの頻度で生じる 2 ~ 3 個のアミノ酸をもつにすぎず、かつ変異性の位置は保存された位置の間に一般に十分に分散している。したがって、C D 8 + T 細胞エピトープ (8 ~ 12 個のアミノ酸、一般に 9 個) の境界内で、集団多様性の大部分はごく少数の変異体でカバーできる。図 1 は、G a g、N e f および E n v を変異体数の増加について比較し、最良適応範囲を提供する変異体を逐次追加した、9 - m e r (9 個の連続アミノ酸の長さ) の集団適応範囲の上限を示す。保存領域では、2 ~ 4 の変異体で高度の集団適応範囲が達成される。これに対し、E n v のような変異性領域では、8 つの変異体を用いてすら限られた集団適応範囲が可能であるにすぎない。新たな各追加はより希有なものであるので、各追加の相対的有益性は変異体数が増加するのに伴って漸減する。

10

【0033】

ワクチン設計の最適化方法。図 1 は、理想化したレベルの 9 - m e r 適応範囲を示す。実際には、高頻度 9 - m e r にはしばしば矛盾がある：局部共変異のため、1 つの 9 - m e r に対する最適アミノ酸はオーバーラップする 9 - m e r に対するものと異なる可能性がある。集団適応範囲を最適化するモザイクタンパク質セットを設計するためには、各アミノ酸の相対的有益性は近接する変異体との組合せにおいて評価されなければならない。たとえば、アラニン (A 1 a) とグルタミン酸 (G 1 u) がそれぞれ隣接位置に頻繁に生じる場合があるかもしれないが、A 1 a - G 1 u 組合せが自然界では決して見られなければ、それをワクチンから除外すべきである。幾つかの最適化方法を調べた：欲張リアルゴリズム (g r e e d y a l g o r i t h m)、半自動化した適合性 9 m e r アセンブリー方法、アラインメントベースの遺伝子アルゴリズム (G A)、およびアラインメント非依存型 G A。

20

【0034】

アラインメント非依存型 G A は、最良の集団適応範囲をもつモザイクを作製した。この G A は、アラインしていないタンパク質配列のセットから、ワクチン抗原特異的な非防御応答を誘導する可能性のある希有または自然界に無いエピトープ長さのフラグメント (組換え破断点に導入される可能性がある) を確実に除外して、ユーザーが特定した数のモザイク配列を作製する。これらの候補ワクチン配列は、天然配列に類似するが、相同破断点で組換えたデータベース配列の頻度重み付きフラグメントから組み立てられる (図 2)；それらは入力集団について 9 - m e r の最大適応範囲に近づく。

30

【0035】

初期モザイクワクチンのための H I V タンパク質領域の選択。特定の基準に適合するタンパク質領域に注目した初期設計：i) 比較的低い変異性、i i) 自然感染における高レベルの認識、i i i) 高密度の既知エピトープ、および i v) 感染に際しての早期応答、または感染患者における良好な転帰と関連する C D 8 + T 細胞応答のいずれか。最初に、種々の H I V タンパク質について、モザイクにより達成される 9 - m e r 適応範囲レベルの評価を行なった (図 3)。各タンパク質について、M グループ、または B および C サブタイプ単独のいずれかを用いて 4 モザイクのセットを作製した；適応範囲を C サブタイプについてスコアリングした。幾つかの結果が注目される：i) サブタイプ内での最適化はサブタイプ内 - 最良適応範囲を提供するが、サブタイプ間適応範囲より実質的に貧弱である-それにもかかわらず、B サブタイプ最適化したモザイクは、單一天然 B サブタイプタンパク質より良好な C サブタイプ適応範囲を提供する (Kong et al, J. Virol. 77:127 64-72 (2003))；i i) P o l および G a g は広域の交差反応性応答を誘発するための最大力値をもち、これに対し R e v 、 T a t 、および V p u は高度に変異性である E n v タンパク質よりさらに少ない保存 9 - m e r をもつ；i i i) M グループ最適化したモザイクセットのサブタイプ内適応範囲は、特に、より保存されたタンパク質について、サブタイプ内最適化したセットの適応範囲に近づいた。

40

【0036】

50

Gag および Ne f 中央領域は前記の 4 つの基準に適合する。Ne f は T 細胞により認識される頻度が最も高い HIV タンパク質であり (Frahm et al, J. Virol. 78:2187-200 (2004))、自然感染に際して最も早く応答するためのターゲットである (Lichterfeld et al, Aids 18:1383-92 (2004))。全体としてそれは変異性である (図 3) が、その中央領域は Gag と同程度に保存されている (図 1)。ワクチンに組み込むのに最適なタンパク質が何であるかはまだ明らかでなく、モザイクは最も変異性のタンパク質ですら潜在的適応範囲を最大化するように設計できる (図 3) けれども、グローバルな適応範囲が得られる見込みは保存タンパク質についての方が良好である。Gag、Pol および Env を含むワクチンに Rev、Tat および Ne f を追加することによりアンゲザルにおけるワクチン防御が改良されることは立証された (Hei et al, J. Immunol. 176:85-96 (2006)) が、これは同種攻撃に関してであり、この場合は変異性は問題でなかった。循環ウイルス集団における調節タンパク質の著しい変異性は、交差反応性応答を排除する可能性がある；保存性という点で、Pol、Gag (特に p24) および Ne f 中央領域 (HXB2 の位置 65 - 149) は有望な潜在免疫原である (図 1, 3)。しかし、Pol は自然感染に際して認識される頻度が低い (Frahm et al, J. Virol. 78:2187-200 (2004)) ので、それは初期の免疫原設計に際して組み込まなかった。組み込んだ Ne f の保存部分は HIV-1 中で最も高度に認識されたペプチドを含む (Frahm et al, J. Virol. 78:2187-200 (2004)) が、タンパク質フラグメントであるので、Ne f の免疫阻害機能は行なえないであろう (たとえば、HLA クラス I のダウンレギュレーション (Blagoveshchenskaya, Cell 111:853-66 (2002)))。Gag および Ne f は両方とも、十分に解明されたオーバーラップ CD8+ および CD4+ T 細胞エピトープと共に密に充填されており、多様な HLA 分子により提示され (<http://www.hiv.lanl.gov//content/immunology/maps/maps.html>)、Gag 特異的 CD8+ (Masemola et al, J. Virol. 78:3233-43 (2004)) および CD4+ (Oxenius et al, J. Infect. Dis. 189:1199-208 (2004)) T 細胞応答は、感染個体における低いウイルス設定値に関連があるとされている (Masemola et al, J. Virol. 78:3233-43 (2004))。

【0037】

地理的変動および入力サンプルサイズの潜在的な影響を調べるために、公開されているサブタイプ C 配列を用いて限定した試験を行なった。サブタイプ C の Gag データを同規模サイズの 3 セットに分けた - 2 つの南アフリカセット (Kiepiela et al, Nature 432:769-75 (2004))、および南アフリカ以外の 1 つのサブタイプ C セット。各セットについて独立してモザイクを最適化し、得られたモザイクを 3 セットすべてに対して試験した。9-mer の適応範囲は同等のトレーニングセットおよび試験セットについてわずかに良好であった (77 ~ 79 % の 9/9 適応範囲) が、トレーニングセットおよび試験セットが 2 つの異なる南アフリカデータセットである場合 (73 ~ 75 %)、またはいずれか一方の南アフリカデータセットおよび南アフリカ以外の C サブタイプ配列である場合 (74 ~ 76 %) には、本質的に同等であった。したがって、国間および国内の適応範囲はクレード内適応範囲とほぼ等しく、この例では国特異的 C サブタイプモザイク設計に利点はみられなかった。

【0038】

Gag および Ne f についてのモザイクの設計ならびにワクチン設計方法の比較。種々のワクチン設計方法についてサブタイプ内およびサブタイプ間の交差反応性を評価するために、それらが天然 M グループ配列について備えている適応範囲の計算を行なった。ワクチン抗原内の 9-mer が完全に一致した天然配列内の全 9-mer の画分を計算し、エピトープ内の単一 (時には二重) 置換が交差反応性を保持する可能性があるので、同様に 8/9 または 7/9 の一致アミノ酸をもつものを計算した。図 4 は、種々の方法で設計したカクテルについて、Gag および Ne f 中央領域の 9-mer 当たりの M グループ適応範囲を示す： a) ワクチン抗原として用いられている A、B および C サブタイプからの 3 つの非最適天然株 (Kong et al, J. Virol. 77:12764-72 (2003))； b) 最良 M グループ適応範囲を与えるようにコンピューターで選択した 3 つの天然株； c) M グループ、B サブ

10

20

30

40

50

タイプおよび C サブタイプコンセンサス配列；ならびに d、e、f) 3、4 および 6 モザイクタンパク質。多重株のカクテル、すなわち = 3、= 4、および = 6 のセットについて、モザイクは明らかに最良の性能を示し、適応範囲は 1 個の株の上限に近づく。それらに続くのは、最適選択した天然株、コンセンサスタンパク質カクテル、最後に非最適 - 天然株であった。より多数の抗原が可能であればより大きい適応範囲が得られるが、各追加についての利得は 1 が増加するのに伴って低下する（図 1 および 4）。

【 0 0 3 9 】

図 5 に、単一タンパク質からモザイクタンパク質の組合せまで種々のワクチン設計方法について全適応範囲をまとめ、サブタイプ内最適化を M グループ最適化と比較する。単一モザイクの性能は、最良單一天然株またはコンセンサス配列に匹敵する。単一コンセンサス配列は最良單一天然株より性能が劣るが、最適化した天然配列カクテルはコンセンサスカクテルより良好な性能をもつ：コンセンサス配列は相互に天然株の場合より類似するので、若干リダンダントである。しかし、2 モザイク変異体を組み込んだだけで、適応範囲が顕著に拡大し、4 および 6 モザイクタンパク質は天然株またはコンセンサス株の多価カクテルより漸次良好な適応範囲を与える。サブタイプ内最適化したモザイクは最良の性能を示す - 4 モザイク抗原は 80 ~ 85 % の 9 - m e r が完全に一致する - しかし、これらのセットのサブタイプ間適応範囲は 50 ~ 60 % に劇的に低下する。これに対し、全 M グループを用いて最適化したモザイクタンパク質は、個々のサブタイプについて約 75 ~ 80 % の適応範囲を与え、これは M グループ全体の適応範囲に匹敵する（図 5 および 6）。不完全な 8 / 9 一致を許容すれば、M グループ最適化モザイクおよびサブタイプ内最適化モザイクは両方とも 90 % の適応範囲に近づく。

10

20

30

【 0 0 4 0 】

適応範囲は、より希有な 9 - m e r を追加するほど拡大し、希有エピトープは問題が多い（たとえばワクチン特異的免疫優性応答を誘導することにより）ので、ワクチン構築体中の 9 - m e r の頻度分布を、それらが作製された天然配列と比較して調べた。= 6 のカクテル中の大部分の追加工エピトープは、= 4 のカクテルと比較して低頻度である (< 0.1, 図 7)。これらのエピトープは、適応範囲を拡大するけれども、比較的希有であり、したがってそれらが誘導する応答はより共通の、したがってより有用なエピトープに対するワクチン応答から遠ざかる可能性がある。天然配列カクテルは実際には、中等度に低い頻度のエピトープの発生率がモザイクより少ない；モザイクは適応範囲の最適化に伴って若干のより低頻度の 9 - m e r を付け加えている。他方、モザイクはユニークまたはきわめて希有な 9 - m e r を除外し、これに対し天然株は一般に他の配列中に存在しない 9 - m e r を含む。たとえば天然 M グループ Gag 配列は、配列当たり中央値 35 (0 ~ 148 の範囲) のユニーク 9 - m e r をもっていた。H L A - アンカーモチーフの保持率も調べ、アンカーモチーフの頻度は 4 モザイクと 3 つの天然株との間で同等であることが見出された。天然抗原は実際に抗原当たりのモチーフ数の増加を示した；これはおそらく株特異的モチーフを含むことによるものであろう（図 8）。

30

【 0 0 4 1 】

の増加に伴っていっそう希有なエピトープ (e v e r - r a r e r e p i t o p e) が増加することと合わせて、ワクチン接種点希釈 (v a c c i n a t i o n - p o i n t d i l u t i o n) および試薬開発費についての関心から、最初は、Gag および Nef 中央領域にわたる、サブタイプ B、サブタイプ C および M グループについて最適化した 4 配列 (= 4) に限定したモザイクたんぱく質を作製することになった（これらの配列は図 9 に含まれる； E n v および P o l についてのモザイクセットを図 10 に示す）。種々の 4 配列 Gag - Nef モザイクの合成および初期の抗原性試験が現在行なわれている。最初のモザイクワクチンにおいてターゲティングしたのは Gag および Nef タンパク質中央領域だけである；これらは卓越したグローバル集団適応範囲を提供するのに十分なほど保存されており、自然応答に関して前記の望ましい特性をもつ (Bansal et al, Aids 19:241-50 (2005))。さらに、感染に対する自然 C T L 応答を検出するために B サブタイプ p 24 変異体を E l i s p o t ペプチド混合物に含有させると、検出される応答の回

40

50

数および大きさが共に増大し、これは最も保存されたタンパク質ですらその変異体を組み込むのは有用であろうという考えを支持する。最後に、アカゲザルに与えた多価HIV-1ワクチンにおけるタンパク質カクテルは、各抗原に対する強い応答の発生を妨げず(Seaman et al, J. Virol. 79:2956-63 (2005))、抗原カクテルはネズミモデルにおいてアンタゴニスト応答を生じなかった(Singh et al, J. Immunol. 169:6779-86 (2002))；これは、これらの抗原混合物がT細胞ワクチンに適切であることを指摘する。

【0042】

モザイクは天然株と比較して適応範囲を改良するが、モザイクですら、Envのような変異性タンパク質がもつ9-merの適応範囲は限られる。たとえば、A、BおよびCクレードからそれぞれ1つ選択した3つのMグループ天然タンパク質であって、ワクチン設計について現在試験中のもの(Seaman et al, J. Virol. 79:2956-63 (2005))は、Mグループタンパク質中の9-merのわずか39%が完全に一致し、65%が少なくとも8/9一致する。これに対し、3つのMグループEnvのモザイクは、47%の9-merが完全に一致し、70%は少なくとも8/9一致する。多価モザイク抗原を設計するために書かれたコードが入手可能であり、これをいずれかの変異性タンパク質の入力セットに容易に適用していずれかの目的数の抗原につき最適化することができる。このコードは、個の天然株の最適組合せを選択することもでき、多価ワクチンのための天然抗原の妥当な選択が可能になる。表1に含まれるのは、現時データベースアライメントのGagおよびNef集団適応範囲についての最良天然株である。

10

20

【0043】

表1

種々の遺伝子、サブタイプセット、および配列数について得られる最良9-mer適応範囲をもつ天然配列カクテル

【0044】

【表1-1】

Gag, B-subtype, 1 natural sequence

B.US.86.AD87_AF004394

Gag, B-subtype, 3 natural sequences

B.US.86.AD87_AF004394

B.US.97.Ac_06_AY247251

B.US.88.WR27_AF286365

Gag, B-subtype, 4 natural sequences

B.US.86.AD87_AF004394

B.US.97.Ac_06_AY247251

B.US._.R3_PDC1_AY206652

B.US.88.WR27_AF286365

10

Gag, B-subtype, 6 natural sequences

B.CN._.CNHN24_AY180905

B.US.86.AD87_AF004394

B.US.97.Ac_06_AY247251

B.US._.P2_AY206654

B.US._.R3_PDC1_AY206652

B.US.88.WR27_AF286365

Gag, C-subtype, 1 natural sequence

20

C.IN._.70177_AF533131

Gag, C-subtype, 3 natural sequences

C.ZA.97.97ZA012

C.ZA.x.04ZASK161B1

C.IN._.70177_AF533131

Gag, C-subtype, 4 natural sequences

30

C.ZA.97.97ZA012

C.ZA.x.04ZASK142B1

C.ZA.x.04ZASK161B1

C.IN._.70177_AF533131

Gag, C-subtype, 6 natural sequences

C.ZA.97.97ZA012

C.ZA.x.04ZASK142B1

C.ZA.x.04ZASK161B1

C.BW.99.99BWMC168_AF443087

C.IN._.70177_AF533131

C.IN._.MYA1_AF533139

Gag, M-group, 1 natural sequence

【0 0 4 5】

【表1-2】

C.IN._.70177_AF533131

Gag, M-group, 3 natural sequences

B.US.90.US2_AY173953
 C.IN._.70177_AF533131
 15_01B.TH.99.99TH_R2399_AF530576

Gag, M-group, 4 natural sequences

B.US.90.US2_AY173953
 C.IN._.70177_AF533131
 C.IN.93.93IN999_AF067154
 15_01B.TH.99.99TH_R2399_AF530576

10

Gag, M-group, 6 natural sequences

C.ZA.x.04ZASK138B1
 B.US.90.US2_AY173953
 B.US._.WT1_PDC1_AY208656
 C.IN._.70177_AF533131
 C.IN.93.93IN999_AF067154
 15_01B.TH.99.99TH_R2399_AF530576

Nef (central region), B-subtype, 1 natural sequence

B.GB.94.028jh_94_1_NP_AF129346

20

Nef (central region), B-subtype, 3 natural sequences

B.GB.94.028jh_94_1_NP_AF129346
 B.KR.96.96KCS4_AY121471
 B.FR.83.HXB2_K03455

Nef (central region), B-subtype, 4 natural sequences

B.GB.94.028jh_94_1_NP_AF129346
 B.KR.96.96KCS4_AY121471
 B.US.90.E90NEF_U43108
 B.FR.83.HXB2_K03455

30

Nef (central region), B-subtype, 6 natural sequences

B.GB.94.028jh_94_1_NP_AF129346
 B.KR.02.02HYJ3_AY121454
 B.KR.96.96KCS4_AY121471
 B.CN._.RL42_U71182
 B.US.90.E90NEF_U43108
 B.FR.83.HXB2_K03455

Nef (central region), C-subtype, 1 natural sequence

C.ZA.04.04ZASK139B1

Nef (central region), C-subtype, 3 natural sequences

40

【0 0 4 6】

【表1-3】

C.ZA.04.04ZASK180B1
 C.ZA.04.04ZASK139B1
 C.ZA._ZASW15_AF397568

Nef (central region), C-subtype, 4 natural sequences

C.ZA.97.ZA97004_AF529682
 C.ZA.04.04ZASK180B1
 C.ZA.04.04ZASK139B1
 C.ZA._ZASW15_AF397568

Nef (central region), C-subtype, 6 natural sequences

C.ZA.97.ZA97004_AF529682
 C.ZA.00.1192M3M
 C.ZA.04.04ZASK180B1
 C.ZA.04.04ZASK139B1
 C.04ZASK184B1
 C.ZA._ZASW15_AF397568

Nef (central region), M-group, 1 natural sequence

B.GB.94.028jh_94_1_NP_AF129346

Nef (central region), M-group, 3 natural sequences

02_AG.CM._98CM1390_AY265107
 C.ZA.03.03ZASK020B2
 B.GB.94.028jh_94_1_NP_AF129346

Nef (central region), M-group, 4 natural sequences

02_AG.CM._98CM1390_AY265107
 01A1.MM.99.mCSW105_AB097872
 C.ZA.03.03ZASK020B2
 B.GB.94.028jh_94_1_NP_AF129346

Nef (central region), M-group, 6 natural sequences

02_AG.CM._98CM1390_AY265107
 01A1.MM.99.mCSW105_AB097872
 C.ZA.03.03ZASK020B2
 C.03ZASK111B1
 B.GB.94.028jh_94_1_NP_AF129346
 B.KR.01.01CWS2_AF462757

【0047】

subtype : サブタイプ

natural sequence : 天然配列

group : グループ

central region : 中央領域。

【0048】

要約すると、以上に記載した試験は、感染時点でHIVの多様性に対抗し、ウイルスの回避経路を遮断し、これにより感染個体における疾患の進行を最小限に抑えるための、T細胞ワクチン成分の設計に注目する。HIV-1ワクチン設計のために本発明において開発した多価モザイクタンパク質方法は、いずれかの変異性タンパク質、他の病原体、および他の免疫学的問題に適用できる。たとえば、最少数の変異ペプチドをT細胞応答アッセイに装入すると、著しい経費をかけずに感受性を顕著に高めることができる：1個のモザイクタンパク質のセットは、1個の抗原について可能な最大適応範囲を提供する。

【0049】

HIVの多様性に対抗するために、中枢化した（コンセンサスまたは祖先）遺伝子およびタンパク質方法が先に提唱された(Gaschen et al, Science 296:2354-2360 (2002))。免疫原として人工遺伝子を使用することについての概念証明 (proof-of-concept)

10

20

30

40

50

c e p t) が、野生型 H I V - 1 株に対する T および B 細胞応答の両方をグループ M コンセンサス免疫原で誘導することにより立証された(Gaschen et al, Science 296:2354-2360 (2002), Gao et al, J. Virol. 79:1154-63 (2005), Doria-Rose et al, J. Virol. 79:11214-24 (2005), Weaver et al, J. Virol., in press))。モザイクタンパク質設計は、ポリクローナルワクチンのための試薬を共最適化し、希有 C D 8 + T 細胞エピトープを排除し、そして集団レベルでのそれらの頻度に基づいて回避経路に関する可能性のある変異体を組み込むことにより、コンセンサスまたは天然免疫原設計を改良する。

【 0 0 5 0 】

モザイク抗原は、小規模の実用的な数のワクチン抗原中に存在するエピトープ長変異体の数を最大化する。鎖状エピトープ (concatenated epitope) のセットをポリエピトープ擬似タンパク質状に連結する(Hanke et al, Vaccine 16:426-35 (1998))のではなく、天然タンパク質に類似する多数の抗原を使用するという決定を行なった；それは、天然類似ワクチン抗原のインビオプロセシングは自然感染に際してのプロセシングにいっそう近似し、オーバーラップするエピトープの適応範囲の拡大も可能にするであろうという理由からであった。T 細胞モザイク抗原の使用は、強い多価免疫応答に関して最良であろう；ワクチン設計の他の領域における改良、および多様性をカバーするためにモザイク抗原を組み込む最良な方法の組合せは、最終的に、H I V - 1 に対して有効な交差反応性ワクチン誘導型の免疫応答を可能にすることができる。

【 0 0 5 1 】

実施例 2

グループ M コンセンサスエンベロープおよび 3 倍モザイクエンベロープ（両方とも in silico モデリングにより設計され、野生型エンベロープより優れていると推定される）を、4 アーム免疫原性臨床試験において、1 倍野生型エンベロープおよび 3 倍野生型伝播エンベロープと比較する。モザイク抗原は、現時 Los Alamos データベースに基づいて設計された；これは、2 0 0 0 を超える個体からグローバルにサンプリングされた、主として C H A V I データベースからの伝播ウイルスの配列の大きなセットをもつ、より多くの全長エンベロープを含むセットである。

【 0 0 5 2 】

比較のために用いる天然株の選択は、下記の基準に基づく：1 倍天然抗原については、潜在 T 細胞エピトープの適応範囲提供に関してグローバルデータベース中の最良選択である単一の伝播ウイルスを使用する。データベースを B クレードエンベロープの方へバイアスさせ、したがってこの単一の最良急性 E n v は B クレード代表である。サンプリングに際してのグローバル配列収集に固有なバイアスを補償しつつ循環パンデミック株をより良く反映させるために、1 つの A、1 つの B および 1 つの C サブタイプの伝播ウイルス配列を 3 倍セットに組み込むものとして提案する。A および C 天然配列は、データベースの潜在的エピトープ適応範囲を提供する最良 B クレード配列を最適状態に補充するものである。ワクチン抗原は、入手可能な S G A 配列決定された急性サンプルから選択され、それぞれ伝播ウイルスを代表する。したがって、この試験は主として T 細胞試験ではあるが、伝播エンベロープワクチンが中和抗体を誘発する能力に関しても重要な追加データを提供する。

【 0 0 5 3 】

モザイク / コンセンサス - ヒト試験のために、グループ当たり 2 0 人、陰性対照付きの下記の 4 アーム試験を提案する：

1) C o n S (各クレードのコンセンサスの十分に研究されたコンセンサス、2 0 0 2 のデータベースに基づく；C o n S は動物モデルにおいて徹底的に試験されており、ほぼ単一モザイクに匹敵する理論的適応範囲をもつ)；

2) 合わせてデータベース中の 9 アミノ酸長さの配列の最適グローバル適応範囲を提供するように設計した、3 モザイク M グループ抗原セット。そのような 9 - m e r は、そのデータベースの潜在的エピトープ適応範囲を表わす。非天然 9 - m e r はモザイク中に除外され、希有変異体は最小限に抑えられる；

10

20

30

40

50

3) S G A 配列を入手できる急性感染患者からサンプリングされた配列から選択した最適単一最良天然タンパク質；これらの配列は生存可能な伝播配列に相当するはずである。
(2)の場合と同様に、この配列はデータベースの最適 9 - m e r 適応範囲を提供するものとなるように選択されるであろう。B クレードは配列データベースについてのサンプリングにおいて現時優性であるので、最良データベース適応範囲をもつ配列は B クレード配列であろう；

4) 合わせて最良グローバル適応範囲を提供する急性感染症 S G A 配列からの最良天然株（注釈：B および C は M グループサンプリングより優性であるので、コードはそれぞれのうちの 1 つを 2 つの最良として自然に選択する。したがって、このバイアスに対抗しあつグローバルな流行をより良く反映させるために、第 3 の補充配列を急性 S G A A クレードセットから強制的に選択されるようにした）；

5) 陰性対照緩衝液 / 生理食塩水。

【0 0 5 4】

H I V データベースにおける現時 M グループアラインメントをより新しい C H A V I 配列すべてと組み合わせた - これには合計 2 0 2 0 の配列が含まれる：

7 2 8 B クレード

5 9 9 C クレード

6 9 3 他のすべてのクレード、循環組換え形、およびユニーク組換え配列。これを M グループワクチン設計に用いた。

【0 0 5 5】

このサンプリングは明らかに B および C クレードの方へ傾いている。後に示すように、他のクレードの“潜在的エピトープ”（9 - m e r ）の適応範囲がやはり優れている。

配列
M コンセンサス

【0 0 5 6】

【化1-1】

>ConS

MRVRGIQRNCQHLWRWGTLLGMLMICSAAENLWVTVYYGVPVWK
EANTTLFCASDAKAYDTEVHNWATHACVPTDPNPQEIVLENVTENF
NMWKNNMVEQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLNCTNVNTNT
TNNTEEKGEIKNCFSNITTEIRDKKQKVYALFYRLDVVPIDDNNNNSSN
YRLINCNTSAITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNDKKFNGTGPCK
NVSTVQCTHGIKPVVSTQLLNGLAEEEIIIRSENITNNAKTIIVQLNES
VEINCTRPNNTNTRKSIRIGPGQAFYATGDIIGDIRQAHCNISGTKWNKT
LQQVAKKLREHFNNKTIIFKPSSGGDLEITTHSFNCRGEFFYCNTSGLF
NSTWIGNGTKNNNNTNDTITLPCRIKQIINMWQGVGQAMYAPPIEGKI
TCKSNITGLLTRDGGNNNTNETEIFRPGGDMRDNRSELKYKVV
KIEPLGVAPTKAKRRVVEREKRAVGIGAVFLGFLGAAGSTMGAASITL
TVQARQLLSGIVQQSNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARVLA
RYLKDDQQLGIWGCSGKLICTTVPWNSSWSNKSQDEIWDNMTWME
WEREINNYTDIYSLIEESQNQQEKNEQELLALDKWASLWNWFDITNW
LWYIKIFIMIVGGLIGLIVFAVLSIVNRVRQGYSPLSFQTLIPNPRGPDR
PEGIEEGGEQDRDRSIRLVNGFLALA WDDLRSCLFSYHRLRDFILIA
ARTVELLGRKGLRRGWEALKYLWNLLQYWQELKNSAISLLDTAIA
VAEGTDRVIEVVQRACRAILNIPRRIRQGLERALL

10

20

30

【0057】

【化1-2】

3モザイク

>M_mos_3_1

MRVKGIRKNYQHLWRWGTMLLGMLMICSAAEQLWVTVYYGVPVW
 RDAETTLFCASDAKAYEREVHNWATHACVPTDPNPQEIVLENVTEE
 FNMWKNNMVDQMHEDIISLWDESLKPCVKLTPLCVTLNCTDVNVTK
 TNSTSWGMMEKGEIKNCFSNMTTELRDKKQKVYALFYKLDIVPLEEN
 DTISNSTYRLINCNTSAITQACPKVTFEPPIHYCTPAGFAILKCNDKKFN
 GTGPKNVSTVQCTHGIRPVVTQLLLNGSLAEEEIIIRSENLTNNAKTI
 IVQLNESVVINCTRPNNNTRKSIRIGPGQTFYATGDIIGNIRQAHCNISRE
 KWINTTRDVRKKLQEHNKTIIFNSSSGDLEITTHSFNCRGEFFYCNTS
 KLFNSVWGNSSNVTKVNGTKVKETITLPCIKQIINMWQEVRGRAMYA
 PPIAGNITCKSNITGLLVRDGGNVTNNTEIFRPGGGNMKDNWRSELY
 KYKVVEIKPLGIAPTKAKRRVVEREKRAVGLGAVFLGLGAAGSTMG
 AASMTLTQARQLLSGIVQQQSNLLRAIEAQHQMLQLTVWGIKQLQA
 RILAVERYLRDQQLLGIWGCSGKLICTTNVPWNSSWSNKSLEIWN
 MTWMQWEKEIDNYTSLIYTLIESQNNQQEKNEQDLLALDKWANLWN
 WFDISNWLWYIRIFIMIVGGLIGLIRIVFAVLSIVNRVRKGYSPLSFQTLT
 PNPRGPDRRLGRIEEEGGEQDKDRSIRLVNGFLALA WDDLRLNCLFSYH
 RLRDLLLIVTRIVELLGRRGWEALKYLWNLLQYWIQELKNSAVSLLN
 ATAIAVAEGTDRVIEVVQRACRAILHIPRRIRQGLERALL

10

20

30

40

>M_mos_3_2

MRVKETQMNWPNLWKWGTLLGLVIICSA SDNLWVTVYYGVPVWKE
 ATTLFCASDAKAYDTEVHNWATYACVPTDPNPQEVV LGNVTFENF
 NMWKNNMVEQMHEDIISLWDQSLKPCVRLTPLCVTLNCSNANTNT
 NSTEEIKNCFSNITTSIRDKVQKEYALFYKLDVVPIDNDNTSYRLISCNT
 SVITQACPKVSFEPPIHYCAPAGFAILKCKDKKFNGTGPCTNVSTVQC
 THGIRPVVSTQLLLNGSLAEEEVIRSENFTNNAKTIIVHLNKSVEINCT
 RPNNNTRKSIHIGPGRAYATGEIIGDIRQAHCNISRAKWNNTLKQIVK

【0058】

【化1-3】

KLKEQFNKTIIFNQSSGGDPEITTHSFNCGGEFFYCNTSGLFNSTWNST
 ATQESNNTELNGNITLPCRIKQIVNMWQEVGKAMYAPPIRGQIRCSSNI
 TGLILTRDGGNNNSTNETFRPGGDMRDNRSELKYKVVKIEPLGV
 APTKAKRRVVQREKRAVGTIGAMFLGFLGAAGSTMGAASLTDTVQA
 RLLLSGIVQQQNNLLRAIEAQHQHLLQLTVWGIKQLQARVLAVERYLK
 DQQLLGIWGCSGKLICTTVPWNTWSNKSLSNEIWDNMTWMEMEREI
 DNYTGLIYTLLEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFDITKWLWYI
 KIFIMIVGGLVGLRIVFTVLSIVNVRQGYSPLSFQTHLPAPRGPDPEG
 IEEEGGERDRDRSGRLVDGFLAIIWVDLRLCLFSYHQLRDFILIAARTV
 ELLGHSSLKGLRRGWEALKYWWNLLQYWSQELKNSAISLLNTTAIVV
 AEGTDRIIEVLQRAGRAILHIPTRIRQGLERLLL

10

>M_mos_3_3

MRVRGIQRNWPQWWIWGILGFWMICNVVGNLWVTVYYGVPVW
 KEAKTTLFCASDAKAYEKEVHNWATHACVPTDPSPQEVVLENVTEN
 FNMWKNDMVDQMHDVISLWDQSLKPCVKLTHLCVTLNCTNATNT
 NYNNSTNTSSMIGEMKNCSFNITTEIRDKSKEYALFYRLDIVPLNEQ
 NSSEYRLINCNTSTITQACPKVSFDPIPIHYCAPAGYAILKCNNKTFNGT
 GPCNNVSTVQCTHGIKPVVSTQLLNGSLAEGEIIIRSENLTNAKTIIV
 HLNESVEIVCTRPNNTKSVRIGPGQAFYATGDIIGDIRQAHCNLSRT
 QWNNTLQIVTKLREQFGNKTIVFNQSSGGDPEIVMHSFNCGGEFFYC
 NTTQLFNSTWENSNTQPLTLNRTKGPNDTITLPCRIKQIINMWQGVGR
 AMYAPPIEGLIKCSSNITGLLTDGGNNSETKTETFRPGGGNMRDN
 WRNELYKVKVQIEPLGVAPTRAKRRVVEREKRAVVGIGAVFLGFLGT
 AGSTMGAASITLTQARQVLSGIVQQQSNLLKAIEAQHQHLLKLTWGI
 KQLQTRVLAIERYLKDJQQLLGLWGCSGKLICTTAVPWNSSSWSNKSQT
 DIWDNMTWMQWDREISNYTDIYRLLEDSQNQQEKNEKDLLALDSW
 KNLWNWFDITNWLYIKIFIIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRCRQGYSPLSL
 QTLIPNPRGPDRLLGGIEEEGGEQDRDRSIRLVSGFLALA WDDLRLSLCLF

20

30

40

【0059】

【化1-4】

SYHRLRDFILIVARAVELLGRSSLRGLQRGWEALKYLGSLVQYWGLEL
 KKSAISLLDTIAIAVAEGTDRIIEVIQRICRAIRNIPRRIRQGFEAALL

入手可能な急性(acute)S G A配列から選択した単一の最適天然配列：

>B.acute.Con.1059

MRVTEIRKNYLWRWGIMLLGMLMICSAAEQLWVTVYYGVPVWKEA
 TTLFCASDAKAYTAEAHNVWATHACVPTDPNPQEVVLENVTENFN
 MWKNNMVEQMHEIDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLNCTDLANNTNL
 ANNTNSSISSWEKMEKGEIKNCFSNITTVIKDKIQKNYALFNRLDIVPID
 DDDTNVTNNASYRLISCNTSVITQACPKISFEPIPIHYCAPAGFAILKCN
 DKKFNGTGPCTNVSTVQCTHGIKPVYSTQLLNGSLAEEEVIRSENFT
 DNVKTIIVQLNESVIINTRPNNNTRKSITFGPGRAYTTGDIIGDIRKAY
 CNISSTQWNNTLRQIARRLREQFKDKTIVFNSSSGDPEIVMHSFNCGG
 EFFYCNTTQLFNSTWNGNDTGEFNNNTGKNITYITLPCRIKQIINMWQEV
 GKAMYAPPIAGQIRCSSNITGILLTRDGGSSEDKEIFRPEGGNMRDNW
 RSELYKYKVVKIEPLGVAPTKAKRRVVQREKRAVGIGAVFLGFLGAA
 GSTMGAASMTLTQARLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGI
 KQLQARVLAVERYLKDDQQLGIWGCSGKLICTTAVPWNASWSNRSLD
 NIWNNMTWMEWDREINNYTNLIYNLIEESQNQQEKNEQELLELDKW
 ASLWNWFDITKWLWYIKIFIMIVGGLVGLRIVFVILSIVNRVRQGYSPL
 SFQTHLPTPRGLDRHEGTEEEGGERDRDRSGRLVDGFLTLIWIDLRLSC
 LFSYHRLRDLLIVTRIVELLGRRGWEILKYWWNLLQYWSQELKNSA
 VSLLNATAIAVAEGTDRIIEIVQRIFRAILHIPTRIRQGLERALL

10

20

30

入手可能な急性(acute)サンプルS G A配列から選択した3つの最適天然配列：

>B.acute.Con.1059

MRVTEIRKNYLWRWGIMLLGMLMICSAAEQLWVTVYYGVPVWKEA
 TTLFCASDAKAYTAEAHNVWATHACVPTDPNPQEVVLENVTENFN
 MWKNNMVEQMHEIDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLNCTDLANNTNL
 ANNTNSSISSWEKMEKGEIKNCFSNITTVIKDKIQKNYALFNRLDIVPID

40

【0060】

【化1-5】

DDDTNVTNNASYRLISCNTSVITQACPKISFEPIPIHYCAPAGFAILKCNDKKFNGTGPCTNVSTVQCTHGIKPVNSTQLLNGLAEEEVIRSENFTDNVKTIIVQLNESVIINCRPNNNTRKSITFGPGRAYTTGDIIGDIRKAYCNISSTQWNNTLRQIARRLREQFKDKTIVFNSSSGDPEIVMHSFNCGGEFFYCNTTQLFNSTWNGNDTGEFNNTGKNITYITLPCRIKQIINMWQEVGKAMYAPPIAGQIRCSSNITGILLTRDGGNSSEDKEIFRPEGGNMRDNWRSELYKYKVVKIEPLGVAPTKAKRRVVQREKRAVGIGAVFLGFLGAAGSTMGAASMTLTQARLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQARVLAVERYLKDQQLGIWGCSGKLICTTAVPWNASWSNRSLDNIWNNMTWMEWDREINNYTNLIYNLIEESQNQQEKNEQELLELDKVASLWNWFDITKWLWYIKIFIMIVGGLVGLRIVFVILSIVNRVRQGYSPLSFQTHLPTPRGLDRHEGTEEEGGERDRDRSGRLVDGFLTLIWIDLRSCLLFSYHRLRDLLLIVTRIVELLGRRGWEILKYWWNLLQYWSQELKNSAVSLLNATAIAVAEGTDRIIEIVQRIFRAILHIPTRIRQGLERALL

10

20

>C.acute.Con.0393

MRVRGILRNYQQWWIWGILGFWMLMICSVGGNLWVTVYYGVPVWR
EAKTTLFCASDAKYEREVHNWATHACVPTDPNPQELFLENVTENF
NMWKNDMVDQMHDIIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLNCNSANITRNS
TDGNTTRNSTATPSDTINGEIKNCSFNITTELKDKKKKEYALFYRLDIV
PLNEENSNFNEYRLINCNTSAVTQACPKVSFDPIPIHYCAPAGYAILKC
NNKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIKPVNSTQLLNGLAEEEIIIRSENLT
NNAKTIIVHLKEPVEIVCTRPNNTTRKSMRIGPGQTFYATDIIGDIRQAS
CNIDEKTWNNTLNKVGEKLQEHPNKTLNFAPSSGGDLEITTHSFNCR
GEFFYCNTSKLFYKTEFNSTTNSTILQCRIKQIINMWQGVGRAMYAPP
IEGNITCKSNITGLLTRDGGTNDSMTETFRPGGGDMRDNWRSELYKY
KVVEIKPLGVAPTEAKRRVVEREKRALTLGALFLGFLGTAGSTMGA
SITLTQARQLLSGIVQQQSNLLKAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQTRVL
AIERYLQDQQLLGLWGCSGKLICTTAVPWNSSWSNKSQGEIWNMT
WMQWDREISNYNTIYRLLEDSQIQQEKENKDLLALDSWKNLWSWFS

30

40

【0061】

【化1-6】

ITNWLYIKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVRQGYSPLPFQTLIPNPR
 GPDRLGRIEEEGGEQDRDRSIRLVNGFLAIAWDDLRLSLCLFSYHRLRDF
 ILIAARAAELLGRSSLRGLQRGWEALKYLGSLVQYWGLELKSAISLL
 DTVAITVAEGTDRIIEVVQRICRAICNIPRRIRQGFEAALQ

【0062】

4ワクチン抗原の適応範囲の比較

10

モザイクおよび天然配列を各ワクチンにつき左の最初の赤い棒について最適化した（全体）。この“全体（total）”は、全配列、すなわちデータベース+CHAVIを表わす。“B”はBクレードであるサブセット、“C”はCクレードであるサブセット、“N”はBまたはCではない残りのMグループ配列（他のすべてのクレードおよび組換え配列）である。Bは最大共通であるので、単一最良天然配列はもちろんBであり、したがってBはNat.1について最良適応範囲をもつ。Con Sは、予想通りすべてのクレードについてはるかに均一な適応範囲を提供し、Bクレード以外のすべてのグループについてより良好な適応範囲を提供する（注釈：Con Sアカゲザル試験において、天然Bは最適化となるように選択されず、Con SはBクレード内ですら、使用されているBワクチン株より良好な適応範囲をもっていた；これは、不均一Bに対して検出された応答の数に反映されていた。この相異は、最適適応範囲を提供する急性感染症からの天然Bクレード配列となるように天然Bを選択したことである）。Nat.3は、良好な広域適応範囲を与え、Mos.3はより良好である（図11を参照）。

20

【0063】

モザイクは希有9-merを最小限に抑えるであろうが、Envにおいてそれらを除外することはできず、あるいは特定の実際に変異性である領域を補って無傷タンパク質を作製することは不可能である。試験した他のすべてのHIVタンパク質について、3回未満見られた9-merを除外することが可能であった。それでもなお、3つの最良Envは、3Envモザイクと比較して2倍を超える数の希有9-mer変異体を含む。

30

【0064】

図12は、適応範囲の追加のまとめを含む；Con S gp160は、予想通り、gp140DCFI中に含まれないごく少数の保存9-merを含む。Con Sは単一モザイクよりわずかに低い適応範囲を提供するが、Con Sはアカゲザルにおいてきわめて良好に作動することが既に知られているので、良い陽性対照として用いられる。1、2および3モザイクは漸次、より良好な適応範囲を与え、Nat.3はMos.3ほど良好ではない。

【0065】

図13は、アラインメント依存型であり、データベースアラインメントに基づく（この上方の2プロットはアラインメント非依存型である）。各位置は、1つがタンパク質上を移動するのに伴ってそれが開始する9-merを表わす。上方境界（黒い破線）は、各位置から出発する3つの最大共通9-merの頻度の和である；それは3つのタンパク質による適応範囲について達成できる最大限界を表わす；オーバーラップする9-merについての特定位置に矛盾のある可能性があるので、これは実際にはかなり達成不可能であるが、3モザイク組合せはそれをきわめて近接して達成する。灰色で示した“全9-mer”が変動する理由は、アラインメントに際しての挿入および欠失のためである。

40

【0066】

Mos.3ワクチンカクテルのみを図13に示す。しかし、図14には適応範囲により再ソーティングした4配列すべてを示す；この場合、そのワクチンによって最も良好にカバーされる9-merを出発させる位置を左へ移動させる。厳密一致の線は、4プロットすべてにおいて基準点に対して左にある。Mos.3（赤色）が最大に近づくだけでなく

50

、交差反応性の潜在性をもつ橙色および黄色の近一致も、他と比較してこのワクチンカクテルにおいて改良される。

【0067】

図15に示すプロットは、全データベースアラインメントにおけるあらゆる配列のあらゆるアミノ酸をマッピングする。ピクセルの列は配列であり、カラムはアラインメント位置である。白色パッチはアラインメントを維持するための挿入である。あるアミノ酸を含むすべての9-merを考慮する。そのアミノ酸を含むあらゆる9-merがワクチンカクテルにおいて完全に一致する場合、そのピクセルは黄色であり、したがって黄色は良である。1つがオフである場合は淡橙色、2つがオフである場合はより濃い橙色。9-mer一致を含まないものは黒色で表わされる。注釈：3モザイクについては他のワクチンと比較して多数の黄色。単一最良天然配列はBクレードであるので、Nat.1のBクレードについては最も黄色い大きなパッチがある。すべての濃いピットに注目：これらの領域において、データベース中の配列はワクチン中のいずれの9-merとも異なるので、交差反応性は幾らか限定されるであろう。

10

20

30

40

50

【0068】

9-merを使用する最適化

9-merを選択したのは、それが最適CD8+T細胞エピトープの最大共通のサイズだからである。それらは8~12の範囲にわたり、最適CD4+T細胞エピトープはこれより大きいかまたは小さい可能性すらある。分かるように、9-merの適応範囲は9-mer適応範囲について最適化した際に最良であるが、異なるサイズに対して最適化した場合には9-merについての適応範囲はごくわずかに低下する。すべての長さ8~12について同じことが当てはまり、ピーク適応範囲は選択したサイズについてであるが、その適応範囲は解に関する限り他の長さについても優れている。9-merと12-merの対比を図16に示す；12は妥当と考えられる最大極限値である。適応範囲は、9もしくは12について最適化した9-mer、または9もしくは12について最適化した12-merについて、ほぼ同一である；それは最適化のために選択した長さについて他より1~2%高い。当然、12-merは一般に9-merより少ない同一性をもつ；それらはより長いので完全一致を見出すのがより困難だからである。これにつきHIVタンパク質に関してより包括的な試験を行なって、12-merについては9-merにおいて最適化した場合に逆の場合より損失が一貫して大きく、他のタンパク質においてはこの差は最高4~5%となる可能性があることが示された。したがって、Envについては9-merの選択は問題がより少ない。以上のすべてを考慮して、9-merを選択した；これは最大共通の最適CTLエピトープ長さであり、かつ9-merの最適適応範囲は他の長さについて近接する最適適応範囲を提供するからである。

【0069】

3つの最良天然株についてのオプション：急性伝播症例、SGA配列

ワクチンカクテル用の天然株源としてすべてのデータベース配列の使用をまず探索し、次いでそれと、本質的に伝播ウイルスである急性SGA配列だけの限定したグループからの選択との比較を行なった。急性感染症配列に限定することにより、本質的に全データベースに匹敵する適応範囲を得ることができた。これらは他の明らかな利点をもつので、それらを天然配列として使用する。

【0070】

最初に、全データベースを天然カクテル源として用いて適応範囲を探索した。前記のように、現時のMグループEnv一人当たり1配列のデータセットはBクレード感染症が優性であり、Cクレードがこれに近接して続く。したがって、(データベース+C H A V I)データセットにおいて9-merをカバーするワクチン設計プログラムにより選択される単一最良最適天然配列はBである。もしデータベース中のいずれかの配列から1つを抜き出すと、YU-2が最良単一配列として現れる。他のクレードをより良好に提示するために、最良のBを固定し、次いでYU-2に補充するために次の最良配列を追加した：これは(理論的に)Cクレード配列DU467である。次いでこれら2つを固定し、第3

の補充抗原を選択した（最初の2つを固定せずにプログラムに第3を選択させると、理論的にB/C組換え配列を見出るので、Aを選択するように強制しなければならない。ABCセットの強制はグローバル適応範囲を改良し、かつ配列間のB&Cクレードサンプリングのバイアスに部分的に対抗すると考えられる）。

【0071】

データベースからの最適天然配列は、より古い配列へ逆戻りする傾向がある；より古い配列ほど系統樹の中央にあり、したがって他の循環株にいっそう類似する傾向があるので、これは意外ではない。しかし、この試験には、急性感染に際してサンプリングしてSGAにより配列決定した、より同時代のエンベロープタンパク質を用いるのが好ましい；これらの配列は伝播ウイルスを厳密に反映するからである。この拘束を考えると、天然配列のカクテルにモザイクとの比較に際して成功する最良の機会が与えられるように、9-mer適応範囲について最適化するのがやはり望ましい。これを行うと、急性SGA配列のうちから選択した3価カクテルを全データベースから選択した3価抗原と比較した際、適応範囲の損失がきわめて小さいことが分かった（両方の場合とも、全データベースの適応範囲について最適化する）。したがって、抗原カクテルを伝播ウイルスに限定することにより適応範囲が損なわれることはない。この代替法は幾つかの利点をもつ。最も重要なことは、これにより、T細胞応答適応範囲の幅の比較に注目した一次エンドポイントを損なうことなく、二次的な目的エンドポイントとして、天然カクテルに用いた急性感染症ウイルスから產生された抗体の交差反応力値をコンセンサスまたはモザイクに関して決定できることである。CHAVI試験から配列決定したB(113)およびC(40)クレード急性サンプルの大きなセットを入手でき、最適組合せを選択するための大きなデータセットが得られる。Aクレードから補充配列を選択してBおよびCを3価ワクチンに完成するために、幾つかの急性配列が得られた。

10

20

30

40

50

【0072】

8サブタイプのA gp160を含むgp160の分析を行ない、V1-V4中の15すべてについての下位領域分析も行なって、より多くの配列決定が必要かどうかの指標を得た。幸い、入手可能な全長配列のひとつが、BおよびC急性配列に対する優れた補充配列となつた；これは、本質的に他のいすかと同様に良好である。この比較により、この時点でより多くの配列決定をする特別な必要はないことが示された。これはそのような限定したAベースラインで選択するのに適切であると考えられる；A配列は選択したBおよびCクレード株に補充することが必要であるにすぎず、選択する多くのBおよびCがあつたからである。Nat.3カクテルが由来する2人の患者は下記のものである。Nat.1は最初の人そのものである。

【0073】

B患者1059

患者の性別 = M

リスク因子 = PPD

サンプルの国籍 = 米国

サンプルの市 = カリフォルニア州ロングビーチ

患者のコホート = CA-UCSF

患者の健康状態 = 急性

ウイルス負荷 = 2,800,000

感染国 = 米国

サンプルの日付 = 03/26/98

C患者0393

Feeling病期 = 4

感染国 = マラウイ

サンプルの日付 = 17-Jul-2003

ウイルス負荷 = 12,048,485

患者の性別 = F

C D 4 カウント = 6 1 8 (サンプルの配列決定後、13日目に測定)

患者の年齢 = 23

S T D = G U D 、 P I D

図 17 および 18 は、急性 S G A 配列から選択する際の適応範囲の最小損失、および 3 患者のエンベロープ配列それぞれのハイライタープロットを示す；これは、各患者のコンセンサスが最大共通株と同等であり、したがって急性伝播ウイルスの優れた推定値であることを示す。

【0074】

なぜ M グループ特異的適応範囲であってクレード特異的適応範囲ではないか？

多くの国に多重クレードの流行があり、かつ人々は旅行するので、もし可能であれば、これらのような探索方法でグローバル H I V ワクチンを得ることを試みるのが重要であると考えられる。クレード内 (i n t r a - c l a d e) 適応範囲はクレード内で (w i t h i n - c l a d e) 最適化したワクチンによって確実に取得できるが、そのような方法の結果としてクレード間適応範囲の著しい損失が生じるであろう。多価モザイクは実質的にいかなるクレードまたは組換え体のウイルスにも対抗するのに十分な幅を提供できるであろうと期待する。サブタイプ特異的設計と対比した E n v M グループ特異的設計の適応範囲に関する妥協点と利点を図 19 に示す。

【0075】

なぜ E n v か？

この概念証明試験は、E n v を試験抗原として用いた応答の幅の相異を調べるために十分に確立されている。その理由は、一部は本明細書に記載した理論的考察によるものであり (E N V は最良天然株と比較してモザイク中に 2 倍多い保存 9 m e r をもち、希有変異体は半数にすぎない)、一部はこれまでの動物試験によるものである。アカゲザルにおいて天然と対比したコンセンサスについての E n v 試験は、応答幅において著しく有意な増大を示した：E n v タンパク質当たり 3 ~ 4 倍多いエピトープが認められた (Santra et al, in press, PNAS)。E n v モザイクは、マウス試験ではよりいっそう顕著な利点を示した (同等数の天然抗原より最高 10 倍；V R C と共同で原稿を作成中)。先行するこの研究に基づいて、E n v に対する応答の幅を試験する小規模なヒト試験から開始するのは理にかなっている。最終的に、E n v について得た概念証明をより保存されたタンパク質、たとえば最大幅の保護を提供できる可能性がある G a g に適用することを期待する。G a g は優れた全 M グループ適応範囲を与える。4 モザイクワクチンカクテル法を用いて、G a g および N e f の試験がアカゲザルにおいて進行中である (実施例 3 を参照)。現時データベースに対比したアカゲザル 4 モザイク G a g ワクチンおよび提唱したヒト E n v 3 モザイクワクチンの適応範囲比較は、図 20 にある。G a g ワクチンの方に交差反応性について大きな理論的力価があるが、E n v の方が動物モデルで現在まで多くの進歩がなされているので、E n v は前進を正当化するための最良の根拠をもつ。前記の 3 モザイク E n v 配列および実施例 3 に用いた配列を図 21 に示す。

【0076】

D N A

使用する D N A は全 g p 1 6 0 E n v の形であろう。g p 1 6 0 は P C M V R プラスミド (G a r y N a b e l) 中にあり、すべての V R C D N A 免疫化試験に用いる同一プラスミドであろう。用量は 4 m g と予想される。下記の D N A 構築体を使用する：

- D N A 最適野生型 E n v 伝播 / 創始 e n v (W T E n v)
- D N A グループ M コンセンサス E n v (C o n S E n v)
- D N A 3 値最適野生型伝播 / 創始 E n v (W T T r i E n v)
- D N A 3 値モザイク E n v

N Y V A C

N Y V A C (v P 8 6 6) は組換えポックスウイルスベクターであり、これは野生型ウイルスと対比して 18 の遺伝子欠失をもつ。N Y V A C ベクターは S a n o f i - P a s t e u r からライセンスを受け、第三契約者が製造し、C E F 支持細胞上で増殖させる。

10

20

30

40

50

NYVAC 中で発現した Env 構築体は、gp140C (Env 全体において、膜貫通ドメインおよび細胞質ドメインを欠失し、gp41 / gp120 開裂部位が変異したもの) であるか、または完全 gp160 であろう。構築体設計の選択は、gp140 と対比して gp160 形を含む NYVAC を作成する能力に依存するであろう。NYVAC の用量は約 1×10^7 TCID50 と予想される。下記の NYVAC 構築体を使用する：

- NYVAC WT Env
- NYVAC ConS Env
- NYVAC 3価天然 Env
- NYVAC 3価モザイク Env

ワクチン接種は筋肉内注射により行なわれるであろう。

10

【0077】

【表2】

表：プロトコルスキーム

グループ	人数	用量	注射計画(週)			
			0	4	20	24
1	20	DNA WT	DNA WT	NYVAC WT	NYVAC WT	
		Env	Env	EnvA	EnvA	
2	20	Placebo	Placebo	Placebo	Placebo	
		DNA ConS	DNA ConS	NYVAC ConS	NYVAC ConS	
3	20	Env	Env	NYVAC	NYVAC	
		Placebo	Placebo	Placebo	Placebo	
4	20	DNA	DNA	NYVAC	NYVAC	
		Trivalent	Trivalent	Trivalent	Trivalent	
5	20	Native Env	Native Env	Native Env	Native Env	
		Placebo	Placebo	Placebo	Placebo	
6	20	DNA	DNA	NYVAC	NYVAC	
		Trivalent	Trivalent	Trivalent	Trivalent	
7	4	Mosaic Env	Mosaic Env	Mosaic Env	Mosaic Env	
		Placebo	Placebo	Placebo	Placebo	
合計		96 (80/16)				

【0078】

30

WT: 野生型 Placebo: プラセボ ConS: コンセンサス Trivalent: 3価 Native: 天然配列 Mosaic: モザイク

参加者：

健康、HIV-1 非感染ボランティア、年齢 18 ~ 50 歳：

80 人のワクチン被接種者

16 人の対照レシピエント

96 人の合計参加者

設計：

ランダム化、プラセボ対照付き、二重盲検試験

参加者当たりの期間：

40

約 12 か月

推定全試験期間：

約 18 か月。

【0079】

実施例 3

プラスミド DNA ワクチンおよび組換えワクシニア (rVV) の構築。Gag および Nef、グループ M コンセンサス Gag および Nef CON-S のアミノ酸配列を、最適遺伝子発現のための方法を用いてヌクレオチド配列に変換することにより、モザイク gag および nef 遺伝子、グループ M コンセンサス gag および nef 遺伝子を作製した。DNA ワクチンとして使用するために、モザイク gag および nef 遺伝子、グループ M

50

コンセンサス *g a g* および *n e f* 遺伝子を、WL V 0 0 0 1 - AM DNA ワクチンベクター内へサブクローニングした。アカゲザルの免疫化のために、内毒素を含まないプラスミド DNA 調製物を PureSyn, Inc. (ペンシルベニア州モールバーン) が製造した。追加免疫化のために、個々のモザイク *g a g* および *n e f* 遺伝子、グループ M コンセンサス *g a g* および *n e f* 遺伝子を発現する組換えワクシニアウイルスを作製した。使用した方法は先に記載されている (Liao et al, Virology 353:268-282 (2006); Earl, Biotechniques 23:1094-1097 (1997))。

【0080】

実験グループおよびワクチン接種計画。3 グループのアカゲザルを、10 mg の空の DNA ベクタープラスミド (グループ 1、6 匹のサル)、または各 5 mg のグループ M *g a g* および *n e f* プラスミド DNA (グループ 2、12 匹のサル)、または各 1.25 mg の 4 モザイク *g a g* および 4 *n e f* プラスミド DNA (グループ 3、12 匹のサル) のいずれかで、0 および 30 日目に筋肉内免疫化した。初回免疫化免疫原を発現する対応する rVV (10^9 pfu / サル) で、2 回目の DNA 免疫化による免疫化の 5 か月後に、サルを追加免疫化する。

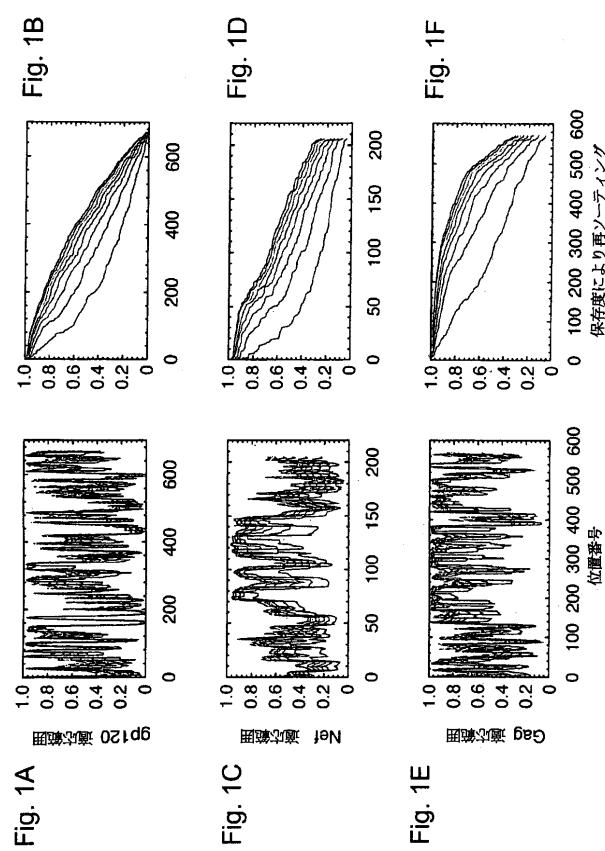
【0081】

G a g および *N e f* のミリストイル化は免疫応答に対して潜在的ダウンレギュレーション作用をもつので、この試験に用いた配列においては *G a g* および *N e f* のミリストイル化を変異させた。

【0082】

前記に引用したすべての文書その他の情報の全体を本明細書に援用する。

【図 1】



【図 2】

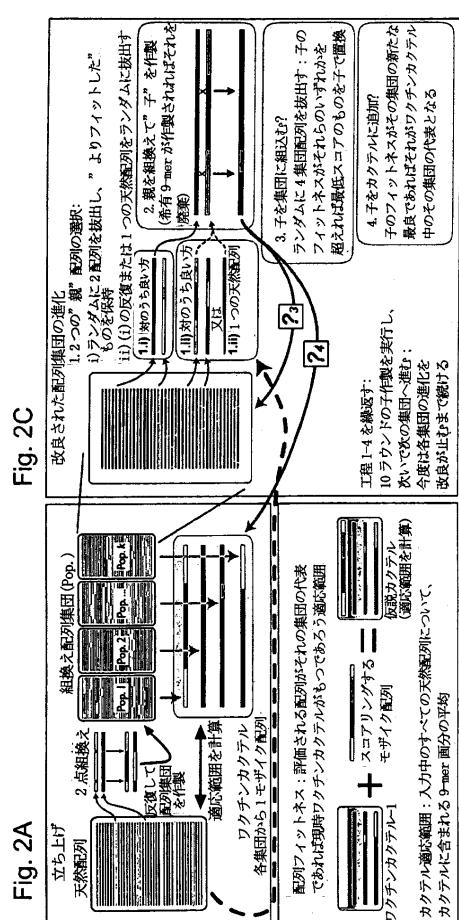
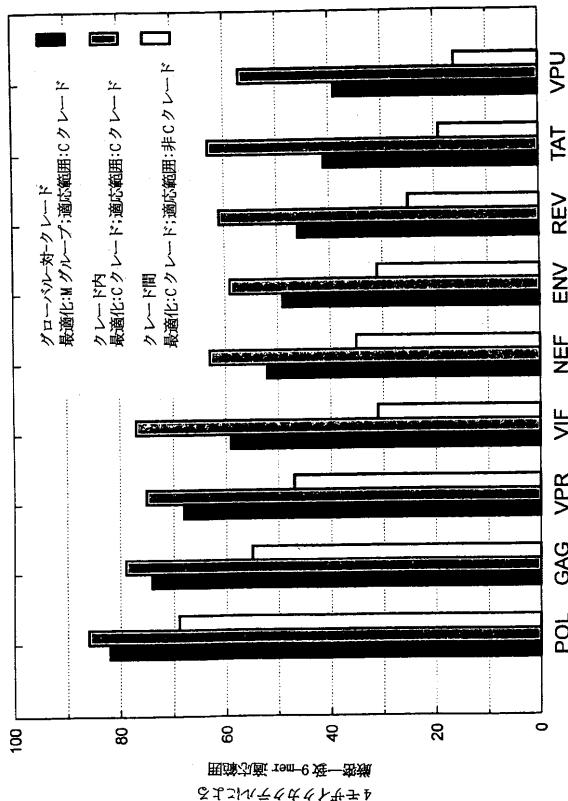


Fig. 2B

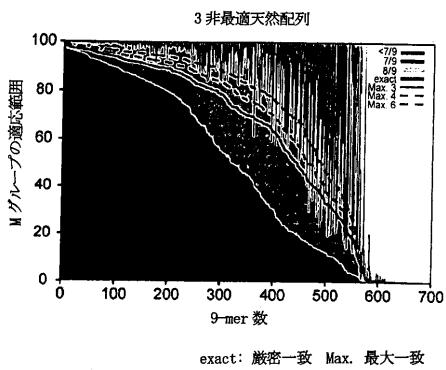
10

20

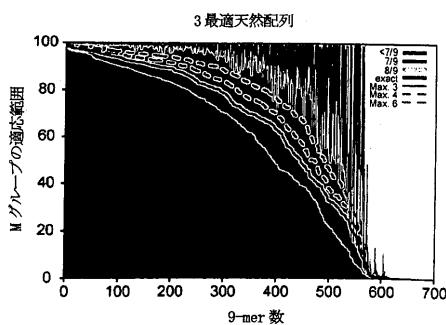
【図3】



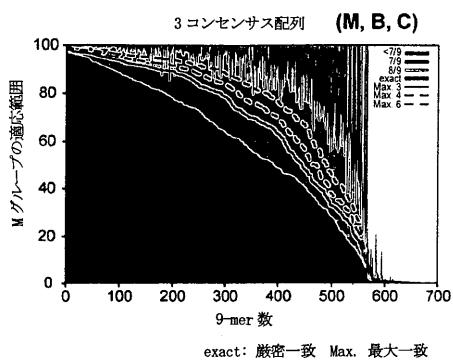
【図4 A】



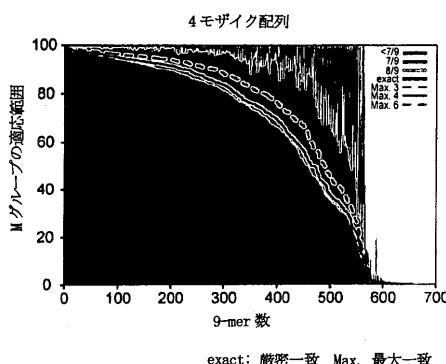
【図4 B】



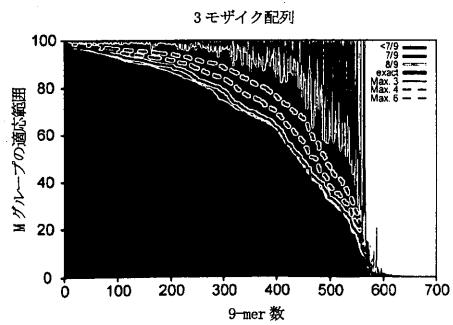
【図4 C】



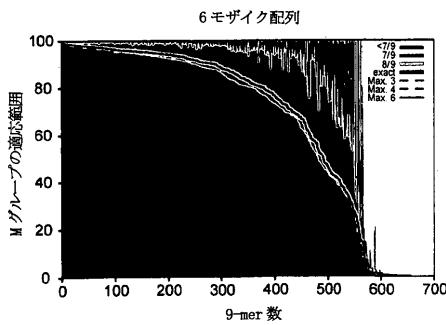
【図4 E】



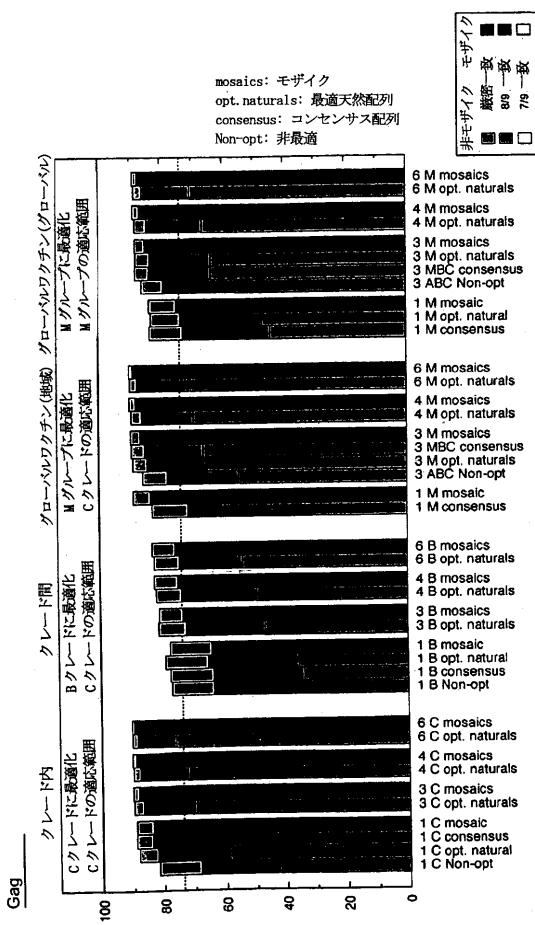
【図4 D】



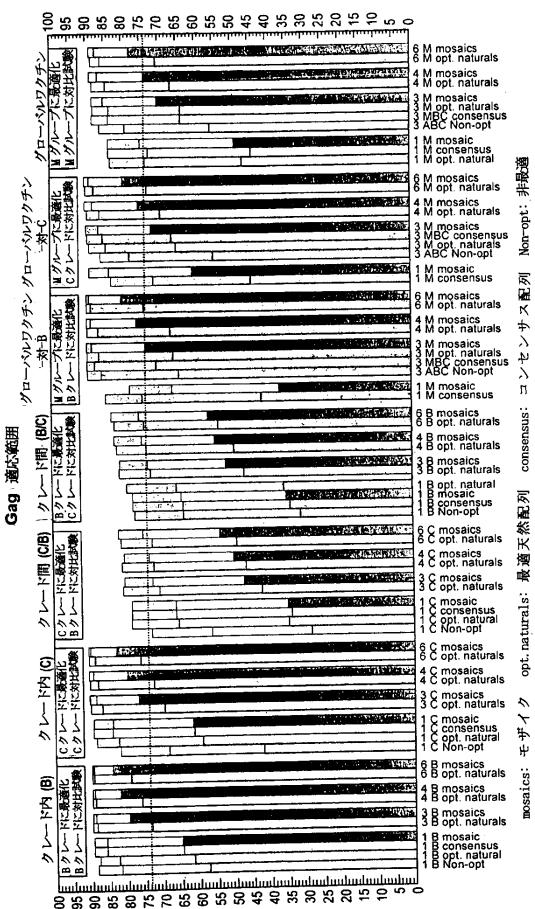
【図4 F】



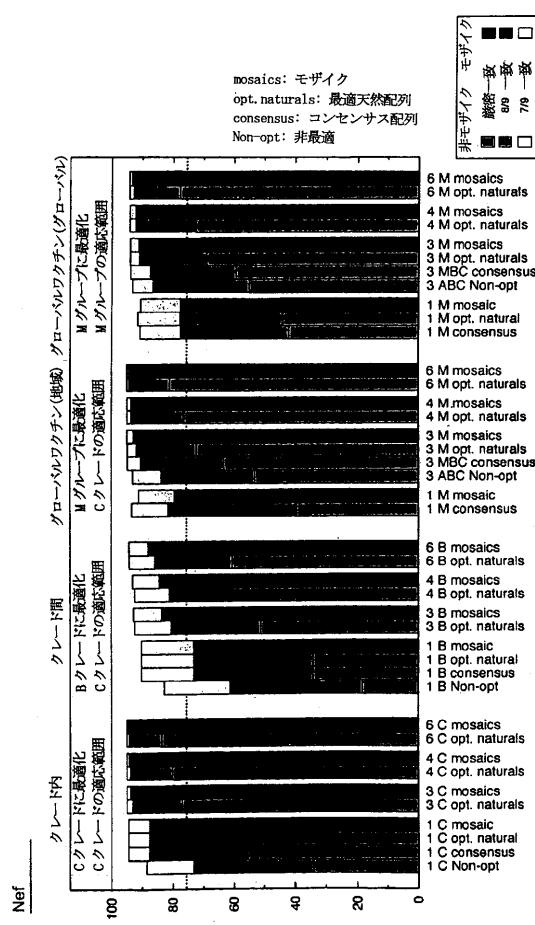
【 図 5 A 】



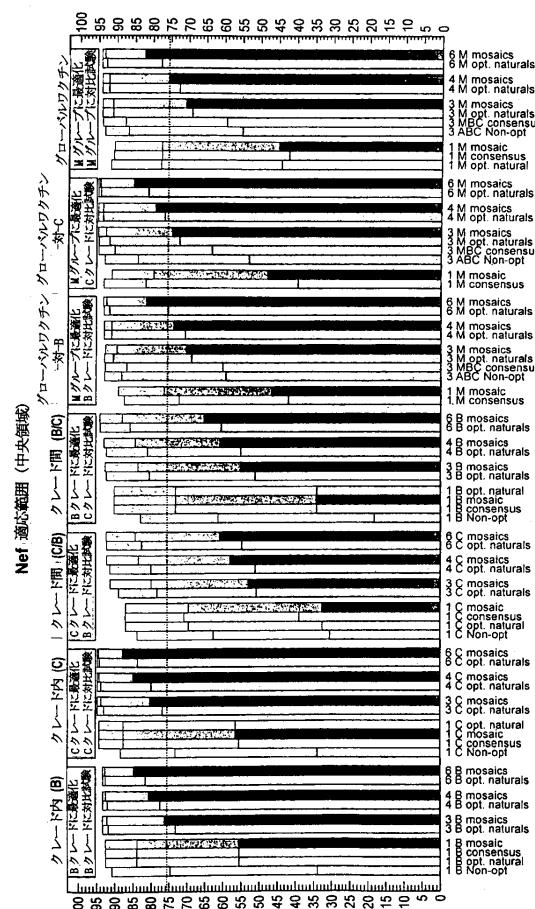
【図 6 A】



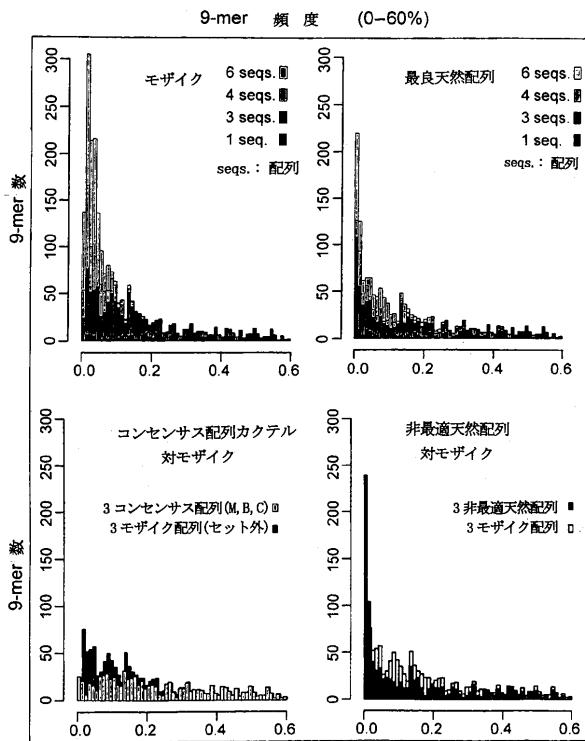
【図5B】



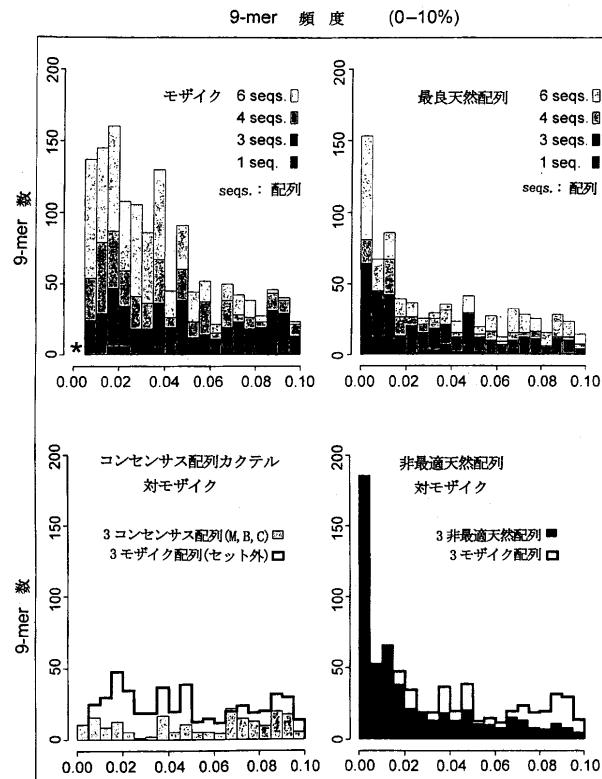
【 図 6 B 】



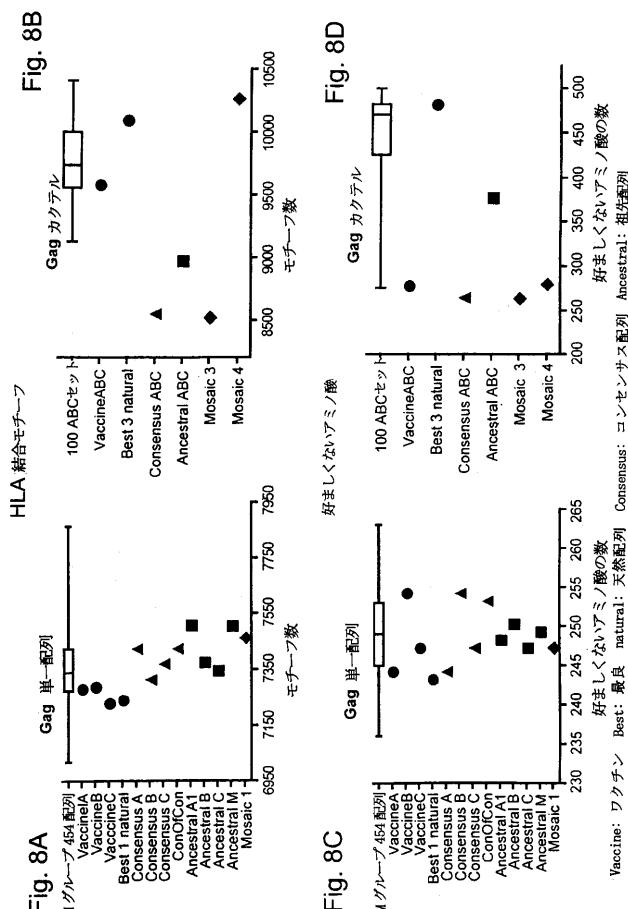
【図 7 A】



【図 7 B】



【図 8】



【図 9 - 1】

Fig. 9

```

>nef_coreB.syn1.1
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLLEGGLIYSQRQDILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn3.1
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLREKGGLLEGGLIYSQRQDILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn3.2
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLREKGGLLEGGLIYSQRQEILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn3.3
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLLEGGLIYSQRQDILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn3.4
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLDGGLIYSQRQDILDLWVYNTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn4.1
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLREKGGLLEGGLIHSQRQDILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn4.2
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLREKGGLLEGGLIHSQRQDILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn4.3
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLLEGGLIYSQRQDILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn4.4
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLDGGLIYSQRQDILDLWVYNTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn5.1
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLDGGLIYSQRQDILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn5.2
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLDGGLIYSQRQDILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn5.3
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLDGGLIYSQRQDILDLWVYNTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn5.4
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLDGGLIYSQRQDILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn5.5
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLDGGLIYSQRQDILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreB.syn5.6
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLDGGLIYSQRQDILDLWVYNTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

>nef_coreC.syn1.1
EVGFPPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLLEGGLIYSKKRQEILDLWVYHTQGYFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLKLVFVE

```

【 図 9 - 2 】

Fig. 9 cont'd-1

【 図 9 - 3 】

Fig. 9 cont'd-2

```

>ref _coreM.syn3.1
DVGFPVRPQVPLRPMTYKAGDLSHFLKEKGGLLEGGLVYSQKRQDILDLWVYHTQGFPDW
QNYPGPGPGRYPLTFGNCFKLVPVD
>ref _coreM.syn3.2
EVGFPVRPQVPLRPMTYKAGFDLSFLKEKGGLLEGGLIYSKKRQEILDLWVYHTQGFPDW
HNNTYPCGCTRPLTFGNCFKLVPVD
>ref _coreM.syn3.3
EVGFPVRPQVPLRPMTYKAGDLSHFLKEKGGLDGGLIYSKKRQEILDLWVYNTQGFPDW
QNYPGPGIRYPLTFGNCFKLVPVE

>ref _coreM.syn4.1
EVGFPVRPQVPLRPMTYKAGDLFGLFFLEKEKGGLLEGGLIYSKKRQEILDLWVYHTQGFPDW
QNYPGPGPGRYPLTFGNCFKLVPVE
>ref _coreM.syn4.2
EVGFPVRPQVPLRPMTYKAGAVALDSHFLKEKGGLLEGGLVYSQKRQDILDLWVYHTQGFPDW
QNYPGPGIRYPLTFGNCFKLVPVD
>ref _coreM.syn4.3

DVGFPVRPQVPLRPMTYKAGDLSHFLKEEGGLLEGGLIYSQKRQEILDLWVYNTQGFPDW
QNYPGPGPGRYPLTFGNCFKLVPVD
>ref _coreM.syn4.4
EVGFPVRPQVPLRPMTYKAGFDLSFLKEKGGLDGGLIYSKKRQEILDLWVYNTQGFPDW
HNNTYPCGCTRPLTFGNCFKLVPVD

>ref _coreM.syn6.1
EVGFPVRPQVTPRPMTYKAGAVDLSHFLKEKGGLLEGGLVYSQKRQDILDLWVHTQGFPDW
QNYPGPGPGRYPLTFGNCFKLVPVD
>ref _coreM.syn6.2
DVGFPVRPQVPLRPMTYKAGAFLDSFLKEKGGLLEGGLIYSKKRQEILDLWVYNTQGFPDW
QNYPGPGVRFPLTFGNCFKLVPVD
>ref _coreM.syn6.3
NVGFPVRPQVPLRPMTYKAGFDGLFFLEKEKGGLLEGGLIYSKKRQEILDLWVYHTQGFPDW
HNNTYPCGCTRPLTFGNCFKLVPVE
>ref _coreM.syn6.4
EVGFPVRPQVPLRPMTYKAGFDLSFLKEKGGLDGGLIYSKKRQEILDLWVYNTQGFPDW
QNYPGPGIRYPLTFGNCFKLVPMD
>ref _coreM.syn6.5
EVGFPVRPQVPLRPMTYKAGAVALDSHFLKEKGGLLEGGLIHSQRRQDILDLWVYHTQGFPDW
QNYPGPGVRFPLTFGNCFKLVPVD
>ref _coreM.syn6.6
GUGFPVRPQVPLRPMTYKAGDLSHFLKEEGGLLEGGLIYSQKRQDILDLWVYHTQGFPDW
HNNTYPCGCTRPLTFGNCFKLVPVD

```

【 図 9 - 4 】

Fig. 9 cont'd-3

【 図 9 - 5 】

Fig. 9 cont'd-4

RLVAEAMSQNTSMMQRNQFRNQTKVFCNCKGHEHIAACRPAKRRKGWCCKGEG
HQMKC-TERQANFLGKIPWXYKG- RPNFLQSP- -EPSAP
PAESFRGEETTTSQPKQTEIDKELYPLTSLRSLFNDPDSLQ
-gagB, syn.4
- 5GARASLISVSGLSELDEWKE1RLLRGGKKYKLLHWWASRERELFVNPGLETSSEGRCQI
LQDQLQSP-7QGSELSLNSLNTYVATLYCQHVIEKDTKEALEKE1EEBNQSKKKAAQQA
DTGNSQVSQNVYPIVQNLQGMQHVPISPTLNWVAKVIEKEPEFPIVPMFSALEAGAT
PDLNMLNTVGGQHAAQAMMLKETINEEADWLRHPHAGPVQGPMDRPFRGSDIAGTT
SNLQEACIWTMNNPPIVPEYK1WRLINKN1VWYSP15TSD1LQGPQFKEPFRDVRF
YTRT1RAEQAODVNQWNTTLLVQDNANCPT1KALGPATLIEEMMTACQVGVGGPSHKA
RLVAEAMSQVTNSMMQRNQFRNQTKVFCNCKGHEHIAACRPAKRRKGWCCKGEG
HQMKC-TERQANFLGKIPWXYKG- RPNFLQNP- -EPSAP
PEESFRGEETTTSQPKQTEIDKELYPLASLRSLFNDPDSLQ
-gagB, syn.4
- 5GARASLISVSGLSELDEWKE1RLLRGGKKYKLLHWWASRERELFVNPGLETSSEGCKQI
LQDQLQSP-7QGSELSLNSLNTYVATLYCQHVIEKDTKEALEKE1EEBNQSKKKAAQQA
DTGNSQVSQNVYPIVQNLQGMQHVPISPTLNWVAKVIEKEPEFPIVPMFSALEAGAT
PDLNMLNTVGGQHAAQAMMLKETINEEADWLRHPHAGPVQGPMDRPFRGSDIAGTT
SNLQEACIWTMNNPPIVPEYK1WRLINKN1VWYSP15TSD1LQGPQFKEPFRDVRF
YTRT1RAEQAODVNQWNTTLLVQDNANCPT1KALGPATLIEEMMTACQVGVGGPSHKA
RLVAEAMSQVTNSMMQRNQFRNQTKVFCNCKGHEHIAACRPAKRRKGWCCKGEG
HQMKC-TERQANFLGKIPWXYKG- RPNFLQNP- -EPSAP
PEESFRGEETTTSQPKQTEIDKELYPLASLRSLFNDPDSLQ
-gagB, syn.4
- 5GARASLISVSGLSELDEWKE1RLLRGGKKYKLLHWWASRERELFVNPGLETSSEGCKQI
LQDQLQSP-7QGSELSLNSLNTYVATLYCQHVIEKDTKEALEKE1EEBNQSKKKAAQQA
DTGNSQVSQNVYPIVQNLQGMQHVPISPTLNWVAKVIEKEPEFPIVPMFSALEAGAT
PDLNMLNTVGGQHAAQAMMLKETINEEADWLRHPHAGPVQGPMDRPFRGSDIAGTT
SNLQEACIWTMNNPPIVPEYK1WRLINKN1VWYSP15TSD1LQGPQFKEPFRDVRF
YTRT1RAEQAODVNQWNTTLLVQDNANCPT1KALGPATLIEEMMTACQVGVGGPSHKA
RLVAEAMSQVTNSMMQRNQFRNQTKVFCNCKGHEHIAACRPAKRRKGWCCKGEG
HQMKC-TERQANFLGKIPWXYKG- RPNFLQSP- -EPSAP
PEESFRGEETTTSQPKQTEIDKELYPLASLRSLFNDPDSLQ
-gagB, syn.6.1
- 5GARASLISVSGLSELDEWKE1RLLRGGKKYKLLHWWASRERELFVNPGLETSSEGRCQI
LQDQLQSP-7QGSELSLNSLNTYVATLYCQHVIEKDTKEALEKE1EEBNQSKKKAAQQA
DTGNSQVSQNVYPIVQNLQGMQHVPISPTLNWVAKVIEKEPEFPIVPMFSALEAGAT
PDLNMLNTVGGQHAAQAMMLKETINEEADWLRHPHAGPVQGPMDRPFRGSDIAGTT
SNLQEACIWTMNNPPIVPEYK1WRLINKN1VWYSP15TSD1LQGPQFKEPFRDVRF
YTRT1RAEQAODVNQWNTTLLVQDNANCPT1KALGPATLIEEMMTACQVGVGGPSHKA
RLVAEAMSQVTNSMMQRNQFRNQTKVFCNCKGHEHIAACRPAKRRKGWCCKGEG
HQMKC-TERQANFLGKIPWXYKG- RPNFLQSP- -EPSAP
PEESFRGEETTTSQPKQTEIDKELYPLASLRSLFNDPDSLQ
-gagB, syn.6.2
- 5GARASLISVSGLSELDEWKE1RLLRGGKKYKLLHWWASRERELFVNPGLETSSEGCKQI
LQDQLQSP-7QGSELSLNSLNTYVATLYCQHVIEKDTKEALEKE1EEBNQSKKKAAQQA
DTGNSQVSQNVYPIVQNLQGMQHVPISPTLNWVAKVIEKEPEFPIVPMFSALEAGAT
PDLNMLNTVGGQHAAQAMMLKETINEEADWLRHPHAGPVQGPMDRPFRGSDIAGTT
SNLQEACIWTMNNPPIVPEYK1WRLINKN1VWYSP15TSD1LQGPQFKEPFRDVRF
YTRT1RAEQAODVNQWNTTLLVQDNANCPT1KALGPATLIEEMMTACQVGVGGPSHKA
RLVAEAMSQVTNSMMQRNQFRNQTKVFCNCKGHEHIAACRPAKRRKGWCCKGEG
HQMKC-TERQANFLGKIPWXYKG- RPNFLQNP- -EPSAP
PEESFRGEETTTSQPKQTEIDKELYPLASLRSLFNDPDSLQ

【 図 1 0 - 3 】

Fig. 10 cont'd-2

N-NGTWRNTR--DTERNSRTE--EHTILPGLQKINNNMUVQEVGKAMAPYRQKRCSS
NTIGLQLTFRDGGNTT---SGTEFTRPGGDKMCKINNNMUVQEVGKAMAPYRQKRCSS
RRVVRQEVKRAVG-IAVGFLFGAGSTMAAATVLTQARLIVYQVQNNRLLRAIEA
QQLRLQLTQWGIQKOLQARLIVAYERLWQDQLQGFGWCGSCNLTCTVWPNTWSNSRINE
IWNNTMWWEMEWEKJNTINLTYLNNLEESQNQKNEQELLDLWDKANLWNWFDSINWLWY
1K1F1VUVGLGVLQARLIVAYERLWQDQLQGFGWCGSCNLTCTVWPNTWSNSRINE
DRRSRVLWQDFGLALWIDDRSLCILSFLYQHRLDRLLT---VELLG----RRGWEILK
YWNLLNQYQGQELKNSAVSLLNATAIAVAEGBTDRIVEVQRAYRAILHPTTRQGLERA
LL-
--ENV-B.syn.4
MRVKTKEKRNQYHLLWRWGIML-----LGMLMCSATEKLNWVTTVVYGVFWKEATTLLF
CASDAKAYAQEKEVHNTPCPDPSQFVWLNENVTFENNNWQKHMEDINLWD
QSLQPKVRCPVLTPLCVCNTNCN-VNNTLNKNTNEKNTSSGGEEEMGKNCNSFTNTSIRD
KVQKQYALQYFLKDVWLT-NDNTS-----YRLISCTNSVYQKACPWSFEPIPH
FCPAGAPFALLKNCNDKNGFKGPTCNUSTVCTQHIGRIVSTQTLQNLSSAEEVVIRSEN
FTDNNAKTIVLQNEATEVNEINCTRPSNNTKRSIPIGPGRAFYTTGDIQDIDRQAYCNISRAK
NNNTLQVQKLTQVTKRQGPNKNTT1FQKSSGDFPEV1HNSFCGCGFVYCNSTLKFNTSTW
N-NSTW---N---NTKRSNDE-----EITLPCRQIINQRMUVQEVGKAMAPYFPIQCRCL
NTIGLQLTDRDGNTT---NTNETRPGGDMNDWNSRELYKLYQV1EPLGAPVTKA
RRVVRQEVKRAVG-IAVGFLFGAGSTMAAATVLTQARLIVYQVQNNRLLRAIEA
QQLRLQLTQWGIQKOLQARLIVAYERLWQDQLQGFGWCGSCNLTCTVWPNTWSNSRINE
IWNNTMWWEMEWEIINDNTYLTLLIETEESQNQKNEQELLDLWDKANLWNWFDSINWLWY
1F1F1VUVGLGVLQARLIVAYERLWQDQLQGFGWCGSCNLTCTVWPNTWSNSRINE
DRRSRVLWQDFGLALWIDDRSLCILSFLYQHRLDRLLT---VELLG----RRGWEILK
YWNLLNQYQGQELKNSAVSLLNATAIAVAEGBTDRIVEVQRAYRAILHPTTRQGLERA
LL-
--ENV-B.syn.6.1
MRVKTKEKRNQYHLLWRGTMLLWRKGTMLLGILMCSAAGKLWVTTVVYGVFWKDATTLLF
CASDAKAYAOTEHNWVATHACVCPDPMQEVWLENVTFENNNWQKHMEDINLWD
QSLQPKVRCPVLTPLCVCNTNCN-ATNTSSW---GKPMKEVNCNSFTNTSIRD
KVQKQYALQYFLKDVWLT-NDNTS-----YRLISCTNSIITQACPKEFPIPIH
YCTPAGAPFALLKNCNDKNGFKGPTCNUSTVCTQHIGRIVSTHLLNLSSAEEVVIRSEN
FTDNNAKTIVLQNVLNQNEINCTRPSNNTKRSIPIGPGRAFYTTGDIQDIDRQAHKCNISRA
NNNTLQVQKLTQVTKRQGPNKNTT1FNTSSHFCGCGFVYCNSTLKFNTSTW
N-NSTW---N---NTKRSNDE-----EITLPCRQIINQRMUVQEVGKAMAPYFPIQCRCL
NTIGLQLTDRDGNTT---NTNETRPGGDMNDWNSRELYKLYQV1EPLGAPTEAK
RRVVRQEVKRAVG-IAVGFLFGAGSTMAAATVLTQARLIVYQVQNNRLLRAIEA
QQLRLQLTQWGIQKOLQARLIVAYERLWQDQLQGFGWCGSCNLTCTVWPNTWSNSRINE
IWNNTMWWEMEWEIINDNTYLTLLIETEESQNQKNEQELLDLWDKANLWNWFDSINWLWY
1K1F1VUVGLGVLQARLIVAYERLWQDQLQGFGWCGSCNLTCTVWPNTWSNSRINE
DRRSRVLWQDFGLALWIDDRSLCILSFLYQHRLDRLLT---VELLG----RRGWEILK
YWNLLNLYWQSLKNSAISLLNATAIAVAEGBTDRIVEVQRAYRAILHPTTRQGLERA
LL-
--ENV-B.syn.6.2
MRVKTKEKRNQYHLLWKGML-----LGMLMCSATELWVTTVVYGVFWKEATTLLF
CASDAKAYAQEKEVHNTPCPDPSQFVWLNENVTFENNNWQKHMEDINLWD
QSLQPKVRCPVLTPLCVCNTNCN-LRNTNQDNTNTSS-REMMGGEMKNCNSFTNTSIRD
KVQKQYALQYFLKDVWLT-NDNTS-----YRLISCTNSVYQKACPWSFEPIPH
FCPAGAPFALLKNCNDKNGFKGPTCNUSTVCTQHIGRIVSTQTLQNLSSAEEVVIRSEN

【 図 1 0 - 5 】

Fig. 10 cont'd-4

【 図 1 0 - 4 】

Fig. 10 cont'd-3

【 図 10 - 6 】

Fig. 10 cont'd-5

【図 10-7】

【図10-8】

ENV-C, syn.4 ----- MVRGICRQNWQWIWGLG----- FWWIIICRVMGNHNVWTVYGGPVWREAKTLLF
 CADSKAYAKEVKEHNWATHACPTGPNDPQEWLNVNTENFNMWKNDOMQHDLISI
 QSLPKCVRKPLCLVCTLNCTNATVPTNRNGSDMTTS---ND--- EKNCNSFNTVEITLRD
 KCKQAYALCCKNDRFTNGTCRPNHNSVCTQCPKLAZGEMFPIPIH
 YCAPASYALCKNCNTTNGTCRPNHNSVCTQCPKLAZGEMFPIPIH
 LTNKNAKTTIWHLNKSEVLCIRTRNNRNTKRSVIRGCPFVATNDIDIGIRQHANISEK
 NTLTQLQVCKLAEHP---NKTIEPKSSGGLDEWHTHNSCFCGEFYTCTNSGLFGNTE---
 ---DGT----- ESNSTSNA----- TPICTKIQIINNMVQWKRGAJAYAPPAGTNTC
 NTLGLLVRBDGNGKND---NDTETFRPFGGDDNMWNSLSELYKKVVFKEVPLGPVAK
 RVRVRCRRAVG---IAGVFLGVLGAGSTMAAQMNTLVCORQTLVGSVQNSNLRAIEA
 QHQJLQLTWMQJQKORVLALEYLQRDQGKQKNSSEYEE---YIINLNCNSTTIPPIH
 INWNTMWMQDKEISNTNTYTRLLESDNQNEERKEHDLALDLSWNSLWLSDFITNWLY
 KF1IIMIGLIGLIRIPIAVLNSVNRVYQGSPSLQYTFNPFRGDRGRIEVEEQQED
 KDSRSLVGLPFLAWDLRDLCLFVSYHDFLILARAVELLGNSLRLGQRGWELT
 L8TQJLQYVNLGEKSAISSLTDTIAVAEGTDRIELIQRICRRAINIPIRIRQGLEA
 L-----
 ENV-C, syn.4.3 ----- MVRGICRQNWQWIWGLG----- FWWIIICRVMGNHNVWTVYGGPVWREAKTLLF
 CADSKAYAKEVKEHNWATHACPTGPNDPQEWLNVNTENFNMWKNDOMQHDLISI
 QSLPKCVRKPLCLVCTLNCTNATVPTNRNGSDMTTS---ND--- EKNCNSFNTVEITLRD
 KCKQAYALCCKNDRFTNGTCRPNHNSVCTQCPKLAZGEMFPIPIH
 YCAPASYALCKNCNTTNGTCRPNHNSVCTQCPKLAZGEMFPIPIH
 LTNKNTVLTWHLNKSEVLCIRTRNNRNTKRSVIRGCPFVATNDIDIGIRQHANISEK
 NTLTQLQVCKLAEHP---NKTIEPKSSGGLDEWHTHNSCFCGEFYTCTNSGLFGNTE---
 ---NDTND--- DGT---TGNNTS----- ITLPCRKIQIINNMVQWKRGAJAYAPPAGTNTC
 SITGLLERTKVRKAVG---ENTEFRPFGGDDNMWNSLSELYKKVVFKEVPLGPVATEA
 RVRVRCRRAVG---IAGVFLGVLGAGSTMAAQMNTLVCORQTLVGSVQNSNLRAIEA
 QHQJLQLTWMQJQKORVLALEYLQRDQGKQKNSSEYEE---YIINLNCNSTTIPPIH
 INWNTMWMQDKEISNTNTYTRLLESDNQNEERKEHDLALDLSWNSLWLSDFITNWLY
 KF1IIMIGLIGLIRIPIAVLNSVNRVYQGSPSLQYTFNPFRGDRGRIEVEEQQED
 KDSRSLVGLPFLAWDLRDLCLFVSYHDFLILARAVELLGNSLRLGQRGWELT
 L8TQJLQYVNLGEKSAISSLTDTIAVAEGTDRIELIQRICRRAINIPIRIRQGLEA
 L-----
 ENV-C, syn.4 ----- MVRGICRQNWQWIWGLG----- FWWIIICRVMGNHNVWTVYGGPVWREAKTLLF
 CADSKAYAKEVKEHNWATHACPTGPNDPQEWLNVNTENFNMWKNDOMQHDLISI
 QSLPKCVRKPLCLVCTLNCTNATVPTNRNGSDMTTS---ND--- EKNCNSFNTVEITLRD
 KCKQAYALCCKNDRFTNGTCRPNHNSVCTQCPKLAZGEMFPIPIH
 YCAPASYALCKNCNTTNGTCRPNHNSVCTQCPKLAZGEMFPIPIH
 LTNKNTVLTWHLNKSEVLCIRTRNNRNTKRSVIRGCPFVATNDIDIGIRQHANISEK
 NTLTQLQVCKLAEHP---NKTIEPKSSGGLDEWHTHNSCFCGEFYTCTNSGLFGNTE---
 ---DGT----- TGNNTS----- ITLPCRKIQIINNMVQWKRGAJAYAPPAGTNTC
 SITGLLERTKVRKAVG---ENTEFRPFGGDDNMWNSLSELYKKVVFKEVPLGPVATEA
 RVRVRCRRAVG---IAGVFLGVLGAGSTMAAQMNTLVCORQTLVGSVQNSNLRAIEA
 QHQJLQLTWMQJQKORVLALEYLQRDQGKQKNSSEYEE---YIINLNCNSTTIPPIH
 INWNTMWMQDKEISNTNTYTRLLESDNQNEERKEHDLALDLSWNSLWLSDFITNWLY
 KF1IIMIGLIGLIRIPIAVLNSVNRVYQGSPSLQYTFNPFRGDRGRIEVEEQQED
 KDSRSLVGLPFLAWDLRDLCLFVSYHDFLILARAVELLGNSLRLGQRGWELT
 L8TQJLQYVNLGEKSAISSLTDTIAVAEGTDRIELIQRICRRAINIPIRIRQGLEA
 L-----
 ENV-C, syn.4.4 ----- MVRGICRQNWQWIWGLG----- FWWIIICRVMGNHNVWTVYGGPVWREAKTLLF
 CADSKAYAKEVKEHNWATHACPTGPNDPQEWLNVNTENFNMWKNDOMQHDLISI
 QSLPKCVRKPLCLVCTLNCTNATVPTNRNGSDMTTS---ND--- EKNCNSFNTVEITLRD
 KCKQAYALCCKNDRFTNGTCRPNHNSVCTQCPKLAZGEMFPIPIH
 YCAPASYALCKNCNTTNGTCRPNHNSVCTQCPKLAZGEMFPIPIH
 LTNKNTVLTWHLNKSEVLCIRTRNNRNTKRSVIRGCPFVATNDIDIGIRQHANISEK
 NTLTQLQVCKLAEHP---NKTIEPKSSGGLDEWHTHNSCFCGEFYTCTNSGLFGNTE---
 ---DGT----- TGNNTS----- ITLPCRKIQIINNMVQWKRGAJAYAPPAGTNTC
 SITGLLERTKVRKAVG---ENTEFRPFGGDDNMWNSLSELYKKVVFKEVPLGPVATEA
 RVRVRCRRAVG---IAGVFLGVLGAGSTMAAQMNTLVCORQTLVGSVQNSNLRAIEA
 QHQJLQLTWMQJQKORVLALEYLQRDQGKQKNSSEYEE---YIINLNCNSTTIPPIH
 INWNTMWMQDKEISNTNTYTRLLESDNQNEERKEHDLALDLSWNSLWLSDFITNWLY
 KF1IIMIGLIGLIRIPIAVLNSVNRVYQGSPSLQYTFNPFRGDRGRIEVEEQQED
 KDSRSLVGLPFLAWDLRDLCLFVSYHDFLILARAVELLGNSLRLGQRGWELT
 L8TQJLQYVNLGEKSAISSLTDTIAVAEGTDRIELIQRICRRAINIPIRIRQGLEA
 L-----
 ENV-C, syn.6.1 ----- MVRGICRQNWQWIWGLG----- FWWIIICRVMGNHNVWTVYGGPVWREAKTLLF
 CADSKAYAKEVKEHNWATHACPTGPNDPQEWLNVNTENFNMWKNDOMQHDLISI
 QSLPKCVRKPLCLVCTLNCTNATVPTNRNGSDMTTS---ND--- EKNCNSFNTVEITLRD
 KCKQAYALCCKNDRFTNGTCRPNHNSVCTQCPKLAZGEMFPIPIH
 YCAPASYALCKNCNTTNGTCRPNHNSVCTQCPKLAZGEMFPIPIH
 LTNKNTVLTWHLNKSEVLCIRTRNNRNTKRSVIRGCPFVATNDIDIGIRQHANISEK
 NTLTQLQVCKLAEHP---NKTIEPKSSGGLDEWHTHNSCFCGEFYTCTNSGLFGNTE---
 ---DGT----- TGNNTS----- ITLPCRKIQIINNMVQWKRGAJAYAPPAGTNTC
 SITGLLERTKVRKAVG---ENTEFRPFGGDDNMWNSLSELYKKVVFKEVPLGPVATEA
 RVRVRCRRAVG---IAGVFLGVLGAGSTMAAQMNTLVCORQTLVGSVQNSNLRAIEA
 QHQJLQLTWMQJQKORVLALEYLQRDQGKQKNSSEYEE---YIINLNCNSTTIPPIH
 INWNTMWMQDKEISNTNTYTRLLESDNQNEERKEHDLALDLSWNSLWLSDFITNWLY
 KF1IIMIGLIGLIRIPIAVLNSVNRVYQGSPSLQYTFNPFRGDRGRIEVEEQQED
 KDSRSLVGLPFLAWDLRDLCLFVSYHDFLILARAVELLGNSLRLGQRGWELT
 L8TQJLQYVNLGEKSAISSLTDTIAVAEGTDRIELIQRICRRAINIPIRIRQGLEA
 L-----

【 図 1 0 - 9 】

【 図 1 0 - 1 0 】

Fig. 10 cont'd-8

Fig. 10 cont'd-7

Fig. 10 cont'd-9

YWNNLQWSQELNSAISLNNATAVAAEVTDRVIEALQRACRALIHPRRIRQGLERL
IL-
->ENV-M.syn_3.1
MVRGJLORVWPPWINGILC-----FWMLICNVGNLWHTVTVYGVPPWKEAKTTLF
CASKADAYKEEVHNWHTVACVPTDPNQFHLNWTBEEFNWMMNDM/DOMHEDE1S10
LSKPCVKPLTPCLVCTLNCT-----FVNWTLNLTWNTKSSGEGMEKGCKNSFN1TSIR
KVQKQYALFKLWDLVI-----DNDNTSN-----YRLNCNTSTVQTCPKVTFEP1P1H
ICTPAGFAFLKKCWNF-----FVNWTQNCVSTQVNCNTHQVQCNLTSIR
LTTNNAKTIQLVQANSEVNLNTC-----YRLNCNTSTVQTCPKVTFEP1P1H
WNLQKQYALFKLWDLVI-----NFTVQPSQGDPV1E1M3NCFCGFFVNTQTLNLSR
N-----ST-----EP-----NUTTERPBCGKHMNDWNSR-----LSTVYVKKYF1EPLWPTAK
RVRVREKRAVGTGMLGFLGAGSTMAASML-----YRLNCNTSTVQCNLTSIR
QOLQQLTWTWVQIKOLQARLAVLERYLQDQOL-----WGMCGSKLIC1TWT
INDNNTMWEERSEIINQYVLLY1LIESNQEQNEEQLDLEKQASLW1NNP1T1KWD
K1FT1MVQVGLVGLR1FVAF1LNSVNNRQK5PSFQLT1FNPDRGR1EVEEGGD
RDRS1RVLWSGLFLAALDWSL1S1C1F1YQHLDPLF1LIVARAVELLGRSSRLQGRWEALK
YLGSVQWGLQELNSAISLNNATAVAAEVTDRVIEALQRACRALIHPRRIRQGLERL
IL-
->ENV-M.syn_3.2
MRTVGJLORVWPPWINGILC-----FWMLICNVGNLWHTVTVYGVPPWKEAKTTLF
CASKADAEHTEVHNWHTVACVPTDPNQFHLNWTBEEFNWMMNVMVYEQVWHDAT1LW
ES1SKPCVKPLTPCLVCTLNCTD1VNTWVNT-----NNTATNTSSW-----GPEMGKEKGCKNSFN1T
KQKQYALFKLWDLVI-----NSNSE-----YRLNCNTSTVQTCPKVTFEP1P1H
YCAPAGFAFLKKCWNF-----FVNWTQNCVSTQVNCNTHQVQCNLTSIR
FTNNTAKM1VQLNVSWEVNLNT-----NNTATNTSSW-----GPEMGKEKGCKNSFN1T
KQKQYALFKLWDLVI-----NNTATNTSSW-----YRLNCNTSTVQTCPKVTFEP1P1H
N-----N-----DTERNSNTE-----EHT1PLR1QV1WQMVQRMQVAPPIRQGFLNCS
NT1L1G1L1R1DRTGNDNT-----SGTE1PLR1QV1WQMVQRMQVAPPIRQGFLNCS
RRVVEREKR1VAG-----LNGVFLVFLGAAGSTMAAS1T-----YRQAVQLSV1QVQNSN1KIA
QOHL1L1WV1QK1L1R1V1L1R1V1L1R1L1QD1L1W1G1T1G1C1K1T1W1P1N1NS1K1W
INNNNTMWEERSEIINQYVLLY1LIESNQEQNEEQLDLEKQASLW1NNP1T1KWD
1K1F1MVQVGLVGLR1FVAF1LNSVNNRQK5PSFQLT1FNPDRGR1EVEEGGD
RDRS1RVLWSGLFLAALDWSL1S1C1F1YQHLDPLF1LIVARAVELLGRSSRLQGRWEALK
YWNNLQWSQELNSAISLNNATAVAAEVTDRVIEALQRACRALIHPRRIRQGLERL
IL-
->ENV-M.syn_3.3
MRKETKVRVWPPWINGILC-----LGMLIMC5AAEQLWHTVTVYGVPPWKEAKTTLF
CASKADAYKEEVHNWHTVACVPTDPNQFHLNWTBEEFNWMMNDM/DOMHEDE1S10
LSKPCVKPLTPCLVCTLNCTD1VNTWVNT-----NNTATNTSSW-----GPEMGKEKGCKNSFN1T
KQKQYALFKLWDLVI-----DNDNTS-----YRLNCNTSTVQTCPKVTFEP1P1H
YCAPAGFAFLKKCWNF-----FVNWTQNCVSTQVNCNTHQVQCNLTSIR
FTNNTAKM1VQLNVSWEVNLNT-----NNTATNTSSW-----GPEMGKEKGCKNSFN1T
KQKQYALFKLWDLVI-----NNTATNTSSW-----YRLNCNTSTVQTCPKVTFEP1P1H
N-----N-----TEGNSNTE-----NITLPC1R1QV1WQMVQRMQVAPPIRQGFLNCS
NT1L1G1L1R1DRTGNDNT-----SGTE1PLR1QV1WQMVQRMQVAPPIRQGFLNCS
RRVVEREKR1VAG-----LNGVFLVFLGAAGSTMAAS1T-----YRQAVQLSV1QVQNSN1KIA
QOHL1L1WV1QK1L1R1V1L1R1V1L1R1L1QD1L1W1G1T1G1C1K1T1W1P1N1NS1K1W
INNNNTMWEERSEIINQYVLLY1LIESNQEQNEEQLDLEKQASLW1NNP1T1KWD
1K1F1MVQVGLVGLR1FVAF1LNSVNNRQK5PSFQLT1FNPDRGR1EVEEGGD
RDRS1RVLWSGLFLAALDWSL1S1C1F1YQHLDPLF1LIVARAVELLGRSSRLQGRWEALK
YLGSVQWGLQELNSAISLNNATAVAAEVTDRVIEALQRACRALIHPRRIRQGLERL
IL-

【 図 1 0 - 1 1 】

【図 10-12】

Fig. 10 cont'd-10

V-M. syn4.2

KETQMNWPNLW

CASDAKAYTADEVEWVYATPDPNQYIHLNENFTEEFNWWNNQDMVQWHHEIDISI
ESLPCVKPLTCVLTNCNTDVRWNT-NNAATNTNSW-GPEMGKEKNCNSFTISIR
KVKEQAYLAFLYKVKLWPI-NDNSNNTN-----YRLISNTCSVTOIACPKFVEFPIPI
YCAPAYALIKNCKNDKFGNTVQCNNSVSTCVOCHIGKPTVLLQNSLAEIGIIRSEN
ITNNKAATVQLVNEQNSVINCTRPNTRNNTKRI1GPGQFAYATDIGN1QIRGNACHSIRAN
NNTNNL1QWVKEFQGNNQKNTVHENNSGDDPEIVTHNSPCAGEYFTCNRKTLAHFWTSW
N-NTWTN-----DTERNSNTE-----E1H1PLCRIKQ1N1VEMGQYRQGCRSS
NTLIGL1JTRDGGNNN-----STNETRFPGGNDMUNWRSLELYKKVYQ1EPLGJAPTKA
RVRVREERKAVG-LAFLVFLGFTAGSTGMSAAS1T1VQAROVLQG1VQCOJNRLRAIE
QOHLKL1WVQ1GKQ1ARLA1YLLQDQ0LGMWCGSCKL1CTNNPWNNSWSKQSD
1WNNNTWNLQWQDEI1SYNTLS1YL1TIEESQNOQNEKENQD1LALD1WASL1WDF1S1NWL
K1F1I1VGL1GL1F1EAVL1S1NVRBQGSPS1L0T1PNPGRDPLR1GIEE1GEQ0
RDRS1L1VSGFL1ALWDD1RSLC1F1SY1HR1RDF1L1A1RTVELLGHSLK1GLRGWEG1K
YLSN1L1YLWQGKEL1SAINL1DT1A1VAGW7D1RVE1TGQGRAG1L1N1P1R1RQGFERA
LL-----
ENV-M..svn_4.4
MSRWT1GK1K9QH1LWRLPML1RWTGDM1L1V1C1M1S1A1F1K1W1V1Y1Q1V1P1W1R1D1T1L1S1
MSRWT1GK1K9QH1LWRLPML1RWTGDM1L1V1C1M1S1A1F1K1W1V1Y1Q1V1P1W1R1D1T1L1S1
GSKLQK1V1P1L1C1V1L1C1N1T1-N1V1N1L1K1N1T1-----Y1S1G1S1E1Z1M1C1K1P1F1D1T1B1R1
K1Q1K1V1P1L1C1V1L1C1N1T1-----Y1S1G1S1E1Z1M1C1K1P1F1D1T1B1R1
Y1L1N1C1T1E1M1K1P1F1D1T1B1R1-----Y1S1G1S1E1Z1M1C1K1P1F1D1T1B1R1

Fig. 10, cont'd-12

7-M.syn6.5

Fig. 10 cont'd-11

YCTPAGAIIKLNKNKPKTFGPKVNUSSVTHCPIKVISPTDILINGSLAEVEEWR
FTTNAKTIWMLVNLNSWEINCTRNPNNTRSPICRGPFRATTGTDI10IRKHCNISLRAQ
WNNTLHLVKEVKLGQFGNNKII1F2PKSSGDPPEHMSNGFPEFVNTCSLNFSTV
---N---NSTLPSNTN---GTTICLPRQKUINMNGWGRYAMPAIIGNTTCKS
NTTIGLVLVROGTT---EP---NOTETRPRGGDMQHNSWRSLEYKXPLVGPVATRA
RRVRVEERKRAIGA-LAMGLFGLPGRAGSTMASVLTILPGLSIVQONNLLRAEA
QHLLR17WVGQKOLQARLVAEYRVLDRQOLINGCSKGLITTAWPNTVNTT
INNMMTWWMEKEIDNTYNTLMLILESSONQNEQKELLAQWNLWNPNSDINNWLW
IRIFIMVIGGLRJLVRIVFALSIVKVRQGSPSOTRPLPAPGRDPREGIEEGERGD
RDRSRVLLDGFGLA1WBDLRSLCLFSYH1LRLD1L1AARVELLPG
WYNNLQYQW1QELKNSAISLNLNATAVAAEVTDRVIEALQRACRAILH1PPIRRIQGFEEA
LL--
->ENV.M.syn.6
MRMLGIVQWQOWINGILG-----FWMLMICNVMGNLWWTYVYGVPVWKEANTTFL
CASKADAYEREVHNWATHASVFTPDPNPOVVELNNTEDFVNMMKVNNEQMDV1ISWD
OSLQCPVLCPLVCTLNCTD---LNATNNTDNTTSSS---REMMGEGMKNCNSFTTIE
KKVOKYALFYLKDDVPI---DNDNTSNM---YLRISNTSAAVQACPVTFDPIPH
YCTPAGFKCRKQKNGTCNTGCVNNSTVQTCHG1PKVPTTQLLNGSLAEE1VRSR
FTDNTOKA1QKLAKEINCPTRNNPRTKIH1GPIGFRAYTTEE1GDIQRAHVNNSRSE
WNKLQ1QVATQQLRKHKE---NKT1FNTSSGDELETT1HNSFCRGEGLNSLNTW
-NDTNTINR---TEGSNTR---NITLPRQKIFNMMVEGRYAMPAIIGNTTCKS
NTTIGLVLVROGTTNGGNNKII---NTEGLPRGGDMQHNSWRSLEYKXV1EPLG1APTR
RRVVEERKRAVG---IGAVLQFGLA1GASTMGCAAS1LTIVARLWV1QVQNSLKA1EA
QHLLR17WVGQKOLQARLVAEYRVLDRQOLINGCSKGLITTAWPNTVNTT
INNMMTWWMEKEIDNTYNTLMLILESSONQNEQKELLAQWNLWNPNSDINNWLW
IRIFIMVIGGLRJLVRIVFALSIVKVRQGSPSOTRPLPAPGRDPREGIEEGERGD
RDRSRVLLDGFGLA1WBDLRSLCLFSYH1LRLD1L1AARVELLPG
WYNNLQYQW1QELKNSAISLNLNATAVAAEVTDRVIEALQRACRAILH1PPIRRIQGFEEA
LL--
->ENV.M.syn.6

DATA SYSTEM

NWR

Fig. 10 cont'd-13

FRNGLAFLFOCCTPSSWTRANSPTST--EIQWGGDNNSLBSAGD
--QCVTS--FSFPOJLITWPRUVTKINGQOKEALLDTGADVLEMLPGRKWP
LIGGIGFKUWQKQDOLLIETCCKHAGLWVGLPPTPANIIGRNLIOTGCTP
TVTPVRLKPMODCWPCKVQWMLKQKQDCELETEKIKALIETCELEMEGKIS
DGTWKVLRDLEERNLKTRDFTQEWVQLHPPGLKKVTSVLDVQASPVOLFEDR
YTATFISINNPETPGRYIYQWNLPGWGSFSSPOMSMKTLPEFRKQNPYV
LVGSDLEETQHQLLKEIQLRHLQKQFPTDKHQLKQHKEPPFLWVYEL
PKEDSWSVTNDQIQLGKLNQSAQIYKQGKQHQLKQHKEPPFLWVYELPKD
REIILKEPVGWYBPSDKBLAIBQKQHQLKQHKEPPFLWVYELPKD
OLTEQVAKTISEVWINGKTPFRPLKQJETEWAHMEWYQATWPIFEWVNTPLV
YQLEKEPVGATFVYDGAANRDTKLKGAGVYDTRGQRKVWSLTDTQNEKLAIIHL
DQSGLVEINVTDQSAQIIGIISQDPELSEVLSQIQLKKEWVLAWPQHGICG
ODVKLWSVSGIRKLFLDIDQAQEDHEHWSNQAMASDMSDNPPVAAEIVACCDQKJLQ
GEMHGGDQCPGSCVWQDLCRLEKGVWVAVHAGSYEIAEVAPTEQFTYFLK
RWPVTTIHTDNGNSFTVATAKACWQAGKQFEGVYPNQSGQVSINELK1K1QVR
DQAEHLTAVQMVFWHFKRGGIGGSAGEERIDATDQITLQDTELQKQTLQNRV
DQAEHLTAVQMVFWHFKRGGIGGSAGEERIDATDQITLQDTELQKQTLQNRV

ERLE

【 10 - 15 】

Fig. 10 cont'd-14

>POL-B..syn.4
FFRNELAJFQGEAREFSESEQNQRANSPTR-----ELQVWQGDNNNSLSEAGA
DR---GCTVS---FSLPQITLWRPLRVTIRLQGKLEALLTDGTDFVEMSLPGRWKNS
MIGGIGGKIVKQDQYVPLTEIEIGKHAIGTCVLTGPTVNNIENGRDGTGTCVPTG
TPTVVKPLKGMGDKQVPLTEIEKKEGKISIGPENFVNPYTFPAIKEDV
DGTCKRKLWDFRENLNKRQDTEWEVQQLPIGHPLQGKKSQVWGDAYFSPLDFKE
LYVGSDELELQKLUKLNQWQYAKCVRKPLCOKLRLKGKALTEVPLTRBAAELEJAN
QLEKEPEIAGETVPTVQDPLAATDQPKSSESLVSQIELEIJKKEVLAWMWPAHGIGE
QD1KULSAGIRVFLPFLDQGQDQDIEKQHNSWRMADSNFLPPIVAKEIVACSKDCL
GEAHQIGVCPGSPWOLLTCHEKJLIVVAVHAGSYGEVIAPEIPTGETAYFVFLKLAG
RWFVPTVHTDNGNSFVSTYKACWQGKQFEGPQYIYNSQGCVVSEMMKELKKIIJ
DQAEHLTQAVMOWFHNFKRGKQGEYESAGERIDIDTIAQDTEQQLKQITNQFRVY
YRNODRLPKWGPKA1LWKGEAVVYQDNSD1KVPRRKAKI1IRDYQKGMAGDCCVGRQD
ED->
>POL-B..syn.4
FFRNELAJFQGEAREFSESEQNQRANSPTR-----ELQVWQGDNNNSLSEAGD
DR---GCTVS---FSFPQITLWRPLRVTIRLQGKLEALLTDGTDFVEMSLPGRWKNS
MIGGIGGKIVKQDQYVPLTEIEIGKHAIGTCVLTGPTVNNIENGRDGTGTCVPTG
TPTVVKPLKGMGDKQVPLTEIEKKEGKISIGPENFVNPYTFPAIKEDV
DGTCKRKLWDFRENLNKRQDTEWEVQQLPIGHPLQGKKSQVWGDAYFSPLDFKE
LYVGSDELELQKLUKLNQWQYAKCVRKPLCOKLRLKGKALTEVPLTRBAAELEJAN
QLEKEPEIAGETVPTVQDPLAATDQPKSSESLVSQIELEIJKKEVLAWMWPAHGIGE
QD1KULSAGIRVFLPFLDQGQDQDIEKQHNSWRMADSNFLPPIVAKEIVACSKDCL
GEAHQIGVCPGSPWOLLTCHEKJLIVVAVHAGSYGEVIAPEIPTGETAYFVFLKLAG
RWFVPTVHTDNGNSFVSTYKACWQGKQFEGPQYIYNSQGCVVSEMMKELKKIIJ
DQAEHLTQAVMOWFHNFKRGKQGEYESAGERIDIDTIAQDTEQQLKQITNQFRVY
YRNODRLPKWGPKA1LWKGEAVVYQDNSD1KVPRRKAKI1IRDYQKGMAGDCCVGRQD
ED->

【図 10-16】

Fig. 10 cont'd-15

【図 10-17】

Fig. 10 cont'd-16

【図 10-18】

Fig. 10 cont'd-17

ED-
->POL-B. syn. 6
FREDFALALFGKAREFSEQQTRAISPTR-----ELQVGRDNNNSPSEAGA
DR---QCT---TFSVNT-FNPQF1ITLWRPLTIVR1IGQK1EALLTDGADTVLLEM5LPGRKPW
MIGGIGF1KVRQDYLQ1IE1C5HGA7V1G1LPTFV1NIGRNL10T1C7TNP1S1D
PTVPLKVLKMDGDPVKGQWP1TEEKK1KALIE1CTELEN6EGK1S1GENPNTY1PA1KK
DSTWKRLVDFRNLNKR7QDFEVOLQH1G1P1SHGS1KKKVS1LWDGDAY1S1P1LDEDFR
YTA1F1PS1NNETT1PT1RQY1VNL1PQ1GKWS1PA1QF1SSM1R1P1FR1QDNP1Y1V0D
LYVGSD1ELQ1G9H1K1E1L1R1H1L1G1H1L1H1L1H1P1Y1L1H1P1Y1P1T1
PEKSDWNTD1Q1VK1W1K1N1S1Y1A1G1V1K1Q1L1C1K1R1T1S1K1V1P1V1
R1L1K1E1P1V1H1G1Y1P1S1K1V1E1Q1G1Q1W1T1Y1P1E1P1K1R1H1D1V1
Q1L1T1A1V1Q1A1T1E1V1I1G1T1P1K1E1Q1P1L1T1D1W1A1T1E1W1A1
Q1L1T1A1V1Q1A1T1E1V1I1G1T1P1K1E1Q1P1L1T1D1W1A1T1E1W1A1
Y1Q1L1E1P1V1G1A1G1T1R1G1Y1D1R1G1R1K1V1P1T1D1T1Q1E1Y1A1
D1Q1S1V1E1V1D1S1V1Q1A1P1S1K1E1S1Q1I1E1L1K1V1L1W1H1P1G1G1
Q1V1K1S1A1G1R1V1L1G1D1K1A1Q1H1Y1H1W1N1R1N1A1S1D1F1V1A1C1Q1L1Q1
G1E1A1Q1H1C1D1S1P1G1Q1L1C1Q1D1L1H1K1I1V1W1H1V1A1S1V1A1
R1P1W1F1T1D1N1R1T1S1V1K1A1C1Q1F1G1Y1P1N1Q1S1V1E1M1R1K1Q1G1R1
D1Q1A1H1L1T1Q1V1A1M1F1K1R1K1Q1T1Q1P1K1Q1L1T1Q1F1V1R1N1F1V1
Y1R1D1R1P1W1K1G1P1A1L1W1L1K1W1G1E1G1Y1V1D1N1D1K1V1P1R1K1V1
ED-
->POL-C. syn. 1
FRTENL1A1P1G1C1E1R1P1F1E1P1T1R1S1A1N1P1S1T1R1S1P1T1R1S1P1
-----ELQV---RGDNP1R1S1E1A1G1A1
ER---QCT---IN1P1Q1S1M1L1O1R1L1V1R1S1N1P1S1T1R1S1P1T1R1S1P1
M1G1C1G1C1V1P1Y1D1Q1D1L1E1C1C1G1A1T1V1C1P1U1P1T1N1G1M1R1P1S1T1
PTVPLKVLKMDGDPVKGQWP1TEEKK1KALIE1CTELEN6EGK1S1GENPNTY1PA1KK
DSTWKRLVDFRNLNKR7QDFEVOLQH1G1P1SHGS1KKKVS1LWDGDAY1S1P1LDEDFR
YTA1F1PS1NNETT1PT1RQY1VNL1PQ1GKWS1PA1QF1SSM1R1P1FR1QDNP1Y1V0D
LYVGSD1ELQ1G9H1K1E1L1R1H1L1H1L1H1L1H1P1Y1L1H1P1Y1P1T1
PEKSDWNTD1Q1VK1W1K1N1S1Y1A1G1V1K1Q1L1C1K1R1T1S1K1V1P1V1
R1L1K1E1P1V1H1G1Y1P1S1K1V1E1Q1G1Q1W1T1Y1P1E1P1K1R1H1D1V1
Q1L1T1A1V1Q1A1T1E1V1I1G1T1P1K1E1Q1P1L1T1D1W1A1T1E1W1A1
Q1L1T1A1V1Q1A1T1E1V1I1G1T1P1K1E1Q1P1L1T1D1W1A1T1E1W1A1
Y1Q1L1E1P1V1G1A1G1T1R1G1Y1D1R1G1R1K1V1P1T1D1T1Q1E1Y1A1
D1Q1S1V1E1V1D1S1V1Q1A1P1S1K1E1S1Q1I1E1L1K1V1L1W1H1P1G1G1
Q1V1K1S1A1G1R1V1L1G1D1K1A1Q1H1Y1H1W1N1R1N1A1S1D1F1V1A1C1Q1L1Q1
G1E1A1Q1H1C1D1S1P1G1Q1L1C1Q1D1L1H1K1I1V1W1H1V1A1S1V1A1
R1P1W1F1T1D1N1R1T1S1V1K1A1C1Q1F1G1Y1P1N1Q1S1V1E1M1R1K1Q1G1R1
D1Q1A1H1L1T1Q1V1A1M1F1K1R1K1Q1T1Q1P1K1Q1L1T1Q1F1V1R1N1F1V1
Y1R1D1R1P1W1K1G1P1A1L1W1L1K1W1G1E1G1Y1V1D1N1D1K1V1P1R1K1V1
ED-

【図10-19】

Fig. 10 cont'd-18

【図 10 - 20】

Fig. 10 cont'd-19

[図 10 - 22]

Fig. 10 cont'd-21

MIGGIGGGFIKVRDYOIPIEISICGKRAIGTIVLGVGPTPINIIGRNMNLTLQGCTLNFIPISTE
 TVPVOLKPGMDGPVRKQNLPIEIKKIKALTEIICEMEKEGKISKIGPENYNTPIFAIKKK
 DSTWKRLKVLDFRELNKRTRDEFWEVOLGIPHAGLKKRKSFTVLDGDAFYSVPLDEDFR
 YTAFTIPSINNETPGVYRQYONVLPGOKNGPSPIFOSMTXKLEPFTQNEPIIVYQYMD
 LYIGSDELEIQCIRKIELEREHLLWKGFTTDPDKHHQKEPPFLWMGYELHPDKWTQVPIKL
 PERDSWTVNTDIOIRLVGKLNWASQSIYAGIVKRVCLCKLKGAKALTDIVLTELTEAELAEN
 REILKEPVYGVYVPPDSKDLVAEIQKQGNDQWTQYIQYQESFKNLTKGKYMRTAHTNDIK
 LTQEVATQKIAQESTVWIKVQKPFKRLPRTTQGKAGVYDTRGRKWTITTEFTNKTQLEAIAL
 YQLEKEPMAGFETTVWDGANNRERETQGKAGVYDTRGRKWTITTEFTNKTQLEAIAL
 QDGSQSVNIVTDBQSYALGQIQCQAPDKSLEIQSQIIEOLINKEKYLTSWVPAHKIGGNE
 QVKLVLSKIRVLFVLFQDCKAEDEHRYHSNWRAMASDFNLPIVAKIVASCDQCLQ
 GEAMHGQVDCSPWQMLQCDTLCRLEAKGKIIIVAHVAVSGYIEAEVIAQETPDWEVNTPLVW
 RWPVKVH: TNGNSNTSAVAKVKAAGWQVQEFQGIPYVNPQSOGVSEMMKELKRIIQCVR
 DQAEHLAKTQAVMVAIHTHNFKRGCGIGGYASAGERIDIMATDITQKTELQKQI1QINQFRVY
 YRSRDPWIKPGKPAKLWKGEGAVVIVQDKGDIKVVPVRKVKI1RDYQKQMGACDMGRQD
 ED >
 >POL-C. syn6.3
 FFRDLEAFPGCEAKPPEQUTRQNSPTSRNSPTSR----->KLQV---RGDNPLSEAGV
 ER--->CQT---LNPQIITLWRPLSVKQGQQRERALLDTGADDTWLEEMLPGLWKWP
 MIGGIGGGFIKVRQYQBLIEEIKKIKALTEIICEMEKEGKISKIGPENYNTPIFAIKKK
 DSTWKRLKVLDFRELNKRTRDEFWEVOLGIPHAGLKKRKSFTVLDGDAFYSVPLDEDFR
 YTAFTIPSINNETPGVYRQYONVLPGOKNGPSPIFOSMTXKLEPFTQNEPIIVYQYMD
 LYIGSDELEIQCIRKIELEREHLLWKGFTTDPDKHHQKEPPFLWMGYELHPDKWTQVPIKL
 PERCSWTVNTDIOIKVGLNWSAISYPTGQVQKCLCKLKGAKALTDIVLTELTEAELAEN
 REILKEPVYGVYVPPDSKDLVAEIQKQGNDQWTQYIQYQESFKNLTKGKYMRTAHTNDIK
 LTQEVATQKIAQESTVWIKVQKPFKRLPRTTQGKAGVYDTRGRKWTITTEFTNKTQLEAIAL
 YQLEKEPMAGFETTVWDGANNRERETQGKAGVYDTRGRKWTITTEFTNKTQLEAIAL
 QDGSQSVNIVTDBQSYALGQIQCQAPDKSLEIQSQIIEOLINKEKYLTSWVPAHKIGGNE
 QVKLVLSKIRVLFVLFQDCKAEDEHRYHSNWRAMASDFNLPIVAKIVASCDQCLQ
 GEAMHGQVDCSPWQMLQCDTLCRLEAKGKIIIVAHVAVSGYIEAEVIAQETPDWEVNTPLVW
 RWPVKVH: TNGNSNTSAVAKVKAAGWQVQEFQGIPYVNPQSOGVSEMMKELKRIIQCVR
 DQAEHLAKTQAVMVAIHTHNFKRGCGIGGYASAGERIDIMATDITQKTELQKQI1QINQFRVY
 YRSRDPWIKPGKPAKLWKGEGAVVIVQDKGDIKVVPVRKVKI1RDYQKQMGACDMGRQD
 ED >
 >POL-C. syn6.4
 FFRDLEAFPGCEAKPPEQUTRQNSPTSRNSPTSR----->ELQV---RGDNPLSEAGV
 ERQEQTQ---LNPQIITLWRPLSVKQGQQRERALLDTGADDTWLEEMLPGLWKWP
 MIGGIGGGFIKVRQYQBLIEEIKKIKALTEIICEMEKEGKISKIGPENYNTPIFAIKKK
 DSTWKRLKVLDFRELNKRTRDEFWEVOLGIPHAGLKKRKSFTVLDGDAFYSVPLDEDFR
 YTAFTIPSINNETPGVYRQYONVLPGOKNGPSPIFOSMTXKLEPFTQNEPIIVYQYMD
 LYIGSDELEIQCIRKIELEREHLLWKGFTTDPDKHHQKEPPFLWMGYELHPDKWTQVPIKL
 PERCSWTVNTDIOIKVGLNWSAISYPTGQVQKCLCKLKGAKALTDIVLTELTEAELAEN
 REILKEPVYGVYVPPDSKDLVAEIQKQGNDQWTQYIQYQESFKNLTKGKYMRTAHTNDIK
 LTQEVATQKIAQESTVWIKVQKPFKRLPRTTQGKAGVYDTRGRKWTITTEFTNKTQLEAIAL
 YQLEKEPMAGFETTVWDGANNRERETQGKAGVYDTRGRKWTITTEFTNKTQLEAIAL
 QDGSQSVNIVTDBQSYALGQIQCQAPDKSLEIQSQIIEOLINKEKYLTSWVPAHKIGGNE
 QVKLVLSKIRVLFVLFQDCKAEDEHRYHSNWRAMASDFNLPIVAKIVASCDQCLQ
 GEAMHGQVDCSPWQMLQCDTLCRLEAKGKIIIVAHVAVSGYIEAEVIAQETPDWEVNTPLVW
 RWPVKVH: TNGNSNTSAVAKVKAAGWQVQEFQGIPYVNPQSOGVSEMMKELKRIIQCVR
 DQAEHLAKTQAVMVAIHTHNFKRGCGIGGYASAGERIDIMATDITQKTELQKQI1QINQFRVY
 YRSRDPWIKPGKPAKLWKGEGAVVIVQDKGDIKVVPVRKVKI1RDYQKQMGACDMGRQD
 ED >
 >POL-C. syn6.5
 FFRDLEAFPGCEAKPPEQUTRQNSPTSRNSPTSR----->ELQV---RGDNPLSEAGV
 ERQEQTQ---LNPQIITLWRPLSVKQGQQRERALLDTGADDTWLEEMLPGLWKWP
 MIGGIGGGFIKVRQYQBLIEEIKKIKALTEIICEMEKEGKISKIGPENYNTPIFAIKKK
 DSTWKRLKVLDFRELNKRTRDEFWEVOLGIPHAGLKKRKSFTVLDGDAFYSVPLDEDFR
 YTAFTIPSINNETPGVYRQYONVLPGOKNGPSPIFOSMTXKLEPFTQNEPIIVYQYMD
 LYIGSDELEIQCIRKIELEREHLLWKGFTTDPDKHHQKEPPFLWMGYELHPDKWTQVPIKL
 PERCSWTVNTDIOIKVGLNWSAISYPTGQVQKCLCKLKGAKALTDIVLTELTEAELAEN
 REILKEPVYGVYVPPDSKDLVAEIQKQGNDQWTQYIQYQESFKNLTKGKYMRTAHTNDIK
 LTQEVATQKIAQESTVWIKVQKPFKRLPRTTQGKAGVYDTRGRKWTITTEFTNKTQLEAIAL
 YQLEKEPMAGFETTVWDGANNRERETQGKAGVYDTRGRKWTITTEFTNKTQLEAIAL
 QDGSQSVNIVTDBQSYALGQIQCQAPDKSLEIQSQIIEOLINKEKYLTSWVPAHKIGGNE
 QVKLVLSKIRVLFVLFQDCKAEDEHRYHSNWRAMASDFNLPIVAKIVASCDQCLQ
 GEAMHGQVDCSPWQMLQCDTLCRLEAKGKIIIVAHVAVSGYIEAEVIAQETPDWEVNTPLVW
 RWPVKVH: TNGNSNTSAVAKVKAAGWQVQEFQGIPYVNPQSOGVSEMMKELKRIIQCVR
 DQAEHLAKTQAVMVAIHTHNFKRGCGIGGYASAGERIDIMATDITQKTELQKQI1QINQFRVY
 YRSRDPWIKPGKPAKLWKGEGAVVIVQDKGDIKVVPVRKVKI1RDYQKQMGACDMGRQD
 ED >

【 1 0 - 2 3 】

【図 10-24】

Fig. 10 cont'd-22

ED-
=>POL-M.syn1.1
FFRNEIAPFAEGRREEPFSQETRANSPTSR-----ELQV-----RGDNPRSEAGA
-----OGT-----LNNFQJTLWQRPLVTK1KGQQLKEALLDGADDTVLEDILNPKWPKWP
MIGGGGFIKVKYRQDOLLIEK1GKGKA1VLTWVGPCTVPI1IGRNM10I1GCTT1NPF1S1P1
PTVPLKVKMGPDKVPUQWL1TEK1K1T1E1T1C1T1EMKEK1SK1P1G1N1P1V1Y1F1K1K
D5TWRKVLKDFRDLRNTQDFTWVQ1G1P1H1P1G1L1V1D1G1D1F1V1S1E1S1E1S1
YTA1F1S1P1NET1P1G1R1Q1V1N1F1Q1W1G1W1G1K1P1F1P1R1K1P1R1N1D1V1Y1Q1M1D
LY1VGS1D1E1L1G1Q1H1R1E1L1E1R1H1L1W1K1P1F1P1D1K1P1H1D1P1K1W1P1Q1F1Q1P1
P1K1D1P1S1W1D1T1Q1K1L1W1K1N1Q1W1A1Y1G1K1V1P1K1Q1L1C1K1G1A1L1D1T1V1L1T1E1A1E1A1
P1K1F1P1V1G1H1V1D1K1P1E1A1Q1G1K1D1Q1Y1Q1O1P1F1K1N1K1G1Y1K1A1R1H1T1D1W1Q1
Q1L1E1A1Q1K1S1E1S1T1V1W1G1K1D1P1L1P1Q1K1T1E1W1T1W1E1Q1D1Q1W1P1I1F1W1N1T1V1P1L1W1K1L1
Y1Q1E1L1K1E1P1G1A1T1S1E1Q1R1E1N1L1K1G1R1Y1G1V1D1T1R1D1R1V1S1P1H1A1C1Q1L1Q1A1
D1G1S1E1G1V1D1T1V1D1Q1G1I1Q1Q1P1D1K1S1E1S1N1Q1I1Q1B1L1K1E1K1V1Y1W1S1P1V1A1H1G1C1G1N1
Q1V1K1L1W1S1G1R1K1F1L1D1G1Q1A1K1E1H1E1Y1H1S1N1R1M1A1D1F1N1L1P1V1A1K1E1V1A1S1C1Q1K1D1C1K1L1Q1A1
G1E1H1G1Q1C1P1G1S1P1G1W1D1L1C1H1T1C1H1V1A1V1A1H1S1V1A1G1Y1C1V1A1P1E1T1A1P1E1T1A1Q1Y1A1T1F1L1K1A1
R1P1W1V1I1H1D1G1N1S1F1A1H1V1K1R1A1G1C1Y1G1C1P1G1F1P1V1N1Q1S1P1G1E1S1M1E1N1K1L1K1Q1I1C1Q1F1R1V1
D1A1Q1H1L1K1T1A1V1Q1M1V1A1F1V1K1R1A1G1C1Y1G1C1P1G1F1P1V1N1Q1S1P1G1E1S1M1E1N1K1L1K1Q1I1C1Q1F1R1V1

【 10 - 25 】

【図 10 - 26】

Fig. 10 cont'd-24

GEAIH9QVDCPSGPIW0LDC7TLEK911LVAVH>VASGLEYAEV1PAETG0TQF0L9KFLAG
RNPVKT1H7DNGNSF1T7KACWAG1QDFGIPVNPNSQSGVYESINKELK1KIIQVR
DQAEHLKTA1VIMAVH1HNFKRQGGIGGYSAGER1DVIATID1QTKLEQKQIT1K1QNPRVY
YRDSRDPWLGKPAKLLWKGEGAVV1QDNESEIKVPPRRKAKI1IRDYQGKQHGDCCVASRQD
E0

Fig. 10 cont'd-23

ENQ
EOL
P-M, syn.3
FRENLIAPOOGKEARFSSQETQRANSPTS-----ELRV-RGRDNPDLSEAGA
ER---QGTVPSIS-FSPQF01L0JRLRJUVK1QGQLEALLDGTDDTLDLNEIDLNGKWPX
MTGGIGGFKVYQKQDOLIE1ZCCKGAKT1VLCWPTVNP11NRMGLT01GCTNIP1SFSPID
TVPLVVKLPGMDKBC1Q09PLTEEEKIAK1E1CTEMEKGK1S1RGP1F1P1FAIKK
DSTKWRKLVJDEPRE1NKTD07F0VBLW1HPC1GK1KRSV71VUDGDAY1P1L50LDFER
YRATF1STNNPTEC1Q1Y0M1V1BOKCGK1P1F1F0SMSTP1LEPRAKPE1V1Y0WYD
LVVGS3DLE1QFEG1V1R0LJLRRH1QW1P1T1PDKKHOKEP1M1NGYEL1HDPW1P1V1P1
PEKWSHNTUD1Q1K1V1L1K1L1W1Q1Y1AG1K1Q1L1C1R1K1T1G1R1K1A1E1L1E1
D1R1K1P1H1V1G1P1H1Q1L1K1W1Q1Y1AG1K1Q1L1C1R1K1T1G1R1K1A1E1
Q1L1T1V1Q1A1E1T1V1W1G1K1P1F1R1E1Q1T1E1W1T1W1D1W1A1T1W1P1V1L1K1
YOLEK1P1F1Q1A1E1T1V1W1G1K1P1F1R1E1Q1T1E1W1T1W1D1W1A1T1W1P1V1L1K1
ODGSSEV1NT1D5V1Q1A1G1Q1Q1P1D1S1E1N1Q1B1T1L1K1W1Q1L1V1S1P1H1G1C1
RNPV1V1HTDNGNS1TA1Q1A1W1H1S1N1R1S1D1F1P1V1A1C1V1D1C1K1C1L1G1
EQAEHL1T1Q1M1V1M1L1H1F1N1K1G1C1G1S1A1R1E1I1D1S1J1D1T1Q1L1K1Q1W1V1F1R1
YRDSRDPVWKGPKA1L1W1G1E1G1A1V1V1A1C1V1D1C1K1C1L1G1
EDQ
>P-M, syn.3.3
FRENLIAPOOGKEARFSSQETQRANSPTS-----ELQVWGRDNNS1LSEAGA
ER---QGTVPSIS-FSPQF01L0JRLRJUVK1QGQLEALLDGTDDTLDLNEIDLNGKWPX
MTGGIGGFKVYQDOLIE1ZCCKGAKT1VLCWPTVNP11NRMGLT01GCTNIP1SFSPID
TVPLVVKLPGMDKBC1Q09PLTEEEKIAK1E1CTEMEKGK1S1RGP1F1P1FAIKK
DSTKWRKLVJDEPRE1NKTD07F0VBLW1HPC1GK1RSV71VUDGDAY1P1L50LDFER
YRATF1STNNPTEC1Q1Y0M1V1BOKCGK1P1F1F0SMSTP1LEPRAKPE1V1Y0WYD
LVVGS3DLE1QFEG1V1R0LJLRRH1QW1P1T1PDKKHOKEP1M1NGYEL1HDPW1P1V1P1
PEKWSHNTUD1Q1K1V1L1K1L1W1Q1Y1AG1K1Q1L1C1R1K1T1G1R1K1A1E1L1E1
D1R1K1P1H1V1G1P1H1Q1L1K1W1Q1Y1AG1K1Q1L1C1R1K1T1G1R1K1A1E1
Q1L1T1V1Q1A1E1T1V1W1G1K1P1F1R1E1Q1T1E1W1T1W1D1W1A1T1W1P1V1L1K1
YOLEK1P1F1Q1A1E1T1V1W1G1K1P1F1R1E1Q1T1E1W1T1W1D1W1A1T1W1P1V1L1K1
ODGSSEV1NT1D5V1Q1A1G1Q1Q1P1D1S1E1N1Q1B1T1L1K1W1Q1L1V1S1P1H1G1C1
RNPV1V1HTDNGNS1TA1Q1A1W1H1S1N1R1S1D1F1P1V1A1C1V1D1C1K1C1L1G1
EQAEHL1T1Q1M1V1M1L1H1F1N1K1G1C1G1S1A1R1E1I1D1S1J1D1T1Q1L1K1Q1W1V1F1R1
YRDSRDPVWKGPKA1L1W1G1E1G1A1V1V1A1C1V1D1C1K1C1L1G1
EDQ

Fig. 10 cont'd-25

YQLEKPIAGAETTYVDGAAANRETKIGRAGYVTRGRQKIVS1LTETTNQKAELAQIQLAQDGSPEVN1VNGTQSALG1QAPQDSEES1VQ1IEKLLKDVYLSVWPAHKG1GNEQ1DKW1VNR1KRV1FLD1GIEKAQEEHEK1YNSWRAMASEFNL1P1VKEA1VSACDK0LGEATHQVCDSCPS1D7LEGK11V1HAWVHSAGY1P1TETG1TETGQTY1Y1L1Q1R1WPV1K1HTDNGNS1FTSTA1VAKC1WAQ1CQEFQ1V1PNPQGQVW1K1H1G1QV1QEAEHL1KTAQV1M1H1N1K1RRGG1K1G1S1D1R1V1K1D1T1Q1K1Q1V1K1F1R1Y1RS1D1P1W1K1P1K1L1K1G1E1V1Q1D1N1V1K1V1P1R1V1R1Q1M1Q1G1A1D1C1V1S1R1

--EN--
-POL-M.syn4.4
FREDRALLFOGKARESSECTTRANSITR-----ELQWGRDNNSLSE
DR---GCTTFS-FSPQJITLWQRPLWTK1KGGKALELLDTGADDTYLLEEMNLPGRWPKP
MIGGIGFJKVIRWQDQDIP1ECKGKAIGTWTG1LPTV1I1GRN1LQIGCTTNP1F1P1S1
T1PVLKMKGDPKVGQWPLTEK1KAL1VETCMEKGGK1R1S1GPN1NP1V1P1F1P1S1
DGTWKRLVFLDRENR1LQDFTWELQ1G1P1A1G1K1S1V1S1V1D1G1Y1S1F1V1D1
T1A1P1S1INNETG1F1R1Y1C1V1N1Q1G1W1G1K1S1V1D1P1V1Y1Q1M1D1Y1M1
LY1G1S1D1E1Q1G1K1T1E1L1R1Q1H1R1W1L1P1D1P1K1H1N1P1F1W1P1E1
PEK1SDW1T1D1L1Q1K1L1K1W1Q1N1A1Y1G1K1V1K1C1L1K1L1G1A1J1E1V1P1E1
T1P1V1F1H1G1V1P1S1D1L1Q1E1I1Q1G1K1G1Q1W1Q1Y1T1P1V1L1P1E1
Q1L1T1E1V1Q1A1C1Q1C1V1W1G1P1K1F1L1K1E1W1T1W1M1D1Q1A1W1P1E1
V1Q1L1E1Q1G1A1T1E1P1G1A1G1T1D1R1E1Q1L1E1K1V1W1P1L1K1W1
Q1D1S1V1E1T1V1D1S1Q1Y1I1Q1Q1P1K1S1E1S1Q1E1L1K1E1V1W1P1A1H1G1N1
Q1V1K1L1S1N1G1R1L1F1D1G1Q1A1Q1E1H1E1Y1H1N1R1M1A1S1D1F1P1V1A1E1P1T1
G1A1H1Q1G1C1Q1P1S1R1W1L1H1E1L1K1H1V1W1V1A1S1G1L1A1E1P1A1T1P1G1T1E1
R1P1W1F1V1P1T1H1D1G1N1S1T1V1Y1K1R1Q1G1S1Q1E1R1D1S1T1D1Q1G1V1E1S1M1R1E1L1
Q1D1Q1A1H1K1T1A1Q1W1M1V1F1Q1M1R1Q1L1O1Q1K1T1Q1P1N1F1R1P1
-----EN-----

YRDSDRWPWKPGAKLWLWKGEGAVVQDNEIKVPRRKAKIIRDYKGQMGDDCVASRQD
ED-
=>POL-M.syn6.1
FREDLADLPGQEARKFPSEQTTRANSPTRG-
---ELQWGRDNNNSLSEAGD
DR---QCTVS-FNLNPQTLWPRPLWVTRIGQOLIEALLDGTADLWMDPKWKPX
MIGGIGFV1KVRQWQFPIE1CIGKHA1GTVLWIGPTPVNIGRNLTQGTC1NPFISIP
PTVPLVFKLWGDQK1KQWMLP1TAKT1CMEKEKGSIRISIGPENPYTVEA1KKK
NSTRNWLKDWFRENLKRDTPQFCEVOGLIPHAPLKKRSRWDGDAVSPEVLFN
TYAFTFSPINNETHTGVRYQWNLNPGCQWQFPAFOSMTHKPLPFPRTKPNLWV1QYMD
LVGDSLEI0HKT1BELLRALLSHWSGFTTPKDHKPLWPMGELWYHLDPKWVQPIEL
PEKDSWTND1QK1VQKLNQSAQ1YQV1RQLRCRJRTK1ALD7V1PLATEAELAEN
RE1L2PZBHVQYDVSPELLEIAZQ1KQHGDWY1QYDQPFNLKNTGKQYARRSAHTND
Q1TEAVQK1TTE1VWKGKTFPKLFR1PQTREWAHMEWQAT1WPEFINTP1VLYK
YOLEKDPVGAETTYD1GAASRETLKQGAVTWHNKGROKVS1LNSETTQNLKHEI1AL
DQGSESSAN1VTD1VWKGKTFPKLFR1PQTREWAHMEWQAT1WPEFINTP1VLYK
QV1DKLWV1QK1RVLFLD1QDKADEHRY1V1QD1P1V1P1V1P1V1P1V1CQKQ
GEAMHGQV1DCGPQ1WQ1LQDTC1LHERLKV1WAVHVSQY1EAEV1PAT1QETQY1FV1LKG
RPLWPKV1HTDNTNSGSAVAKC1WANVY1QD1P1Q1P1Q1P1Q1P1Q1P1Q1P1Q1
Q1EAEHL1KTA1V1M1H1NFKRKG1GGSYAGER1D1A1S1Q1T1L1Q1N1Q1P1Q1R
FRDSRDPW1WKGAKLWLWKGEGAVVQDNEIKVPRRKAKIIRDYKGQMGDDCVASRQD
EN-
=>POL-M.syn6.2
FREDLADLPGQEARKFSSEQTTRANSPTSR-
---ELRWVG-GDNT1SETGA
ER---QCT---LNFQPT1WLRPLW1T1KVGQ1KEALLDTGADTVLED1NLPKGWKPX
MIGGIGFV1KVRQWQFPIE1CIGKHA1GTVLWIGPTPVNIGRNLTQGTC1NPFISIP
PTVPLVFKLWGDQK1KQWMLP1TAKT1CMEKEKGSIRISIGPENPYTVEA1KKK
DGTWKLWVDFRENLKRDTPQFCEVOGLIPHAPLKKRSRWDGDAVSPEVLFN
TYAFTFSPINNETHTGVRYQWNLNPGCQWQFPAFOSMTHKPLPFPRTKPNLWV1QYMD
LVGDSLEI0HKT1BELLRALLSHWSGFTTPKDHKPLWPMGELWYHLDPKWVQPIEL
PEKDSWTND1QK1VQKLNQSAQ1YQV1RQLRCRJRTK1ALD7V1PLATEAELAEN
RE1L2PZBHVQYDVSPELLEIAZQ1KQHGDWY1QYDQPFNLKNTGKQYARRSAHTND
Q1TEAVQK1TTE1VWKGKTFPKLFR1PQTREWAHMEWQAT1WPEFINTP1VLYK
YOLEKDPVGAETTYD1GAASRETLKQGAVTWHNKGROKVS1LNSETTQNLKHEI1AL
DQGSESSAN1VTD1VWKGKTFPKLFR1PQTREWAHMEWQAT1WPEFINTP1VLYK
QV1DKLWV1QK1RVLFLD1QDKADEHRY1V1QD1P1V1P1V1P1V1P1V1P1Q1
GEAMHGQV1DCGPQ1WQ1LQDTC1LHERLKV1WAVHVSQY1EAEV1PAT1QETQY1FV1LKG
RPLWPKV1HTDNTNSGSAVAKC1WANVY1QD1P1Q1P1Q1P1Q1P1Q1P1Q1P1Q1
Q1EAEHL1KTA1V1M1H1NFKRKG1GGSYAGER1D1A1S1Q1T1L1Q1N1Q1P1Q1R
FRDSRDPW1WKGAKLWLWKGEGAVVQDNEIKVPRRKAKIIRDYKGQMGDDCVASRQD
EN-

【 10 - 27 】

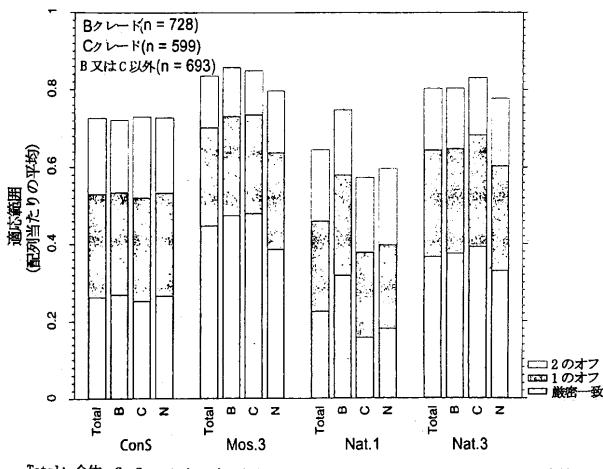
【 10 - 28 】

Fig. 10 cont'd-26

Fig. 10 cont'd-27

〔 四 1 1 〕

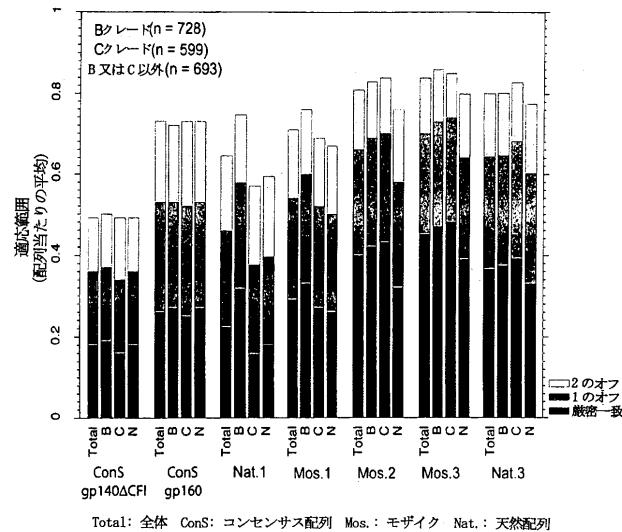
このプロットはアライメント非依存型であり、すべてのMグループパンク質（データベースおよびCHAVI 1；一人につき 1 配列）を、すべての可能な 9-mers にそれらの頻度に応じて分離し、次いで各ケモチ抗原またはカクテルにおけるデータベースとの一致および近似を検査することに基づく



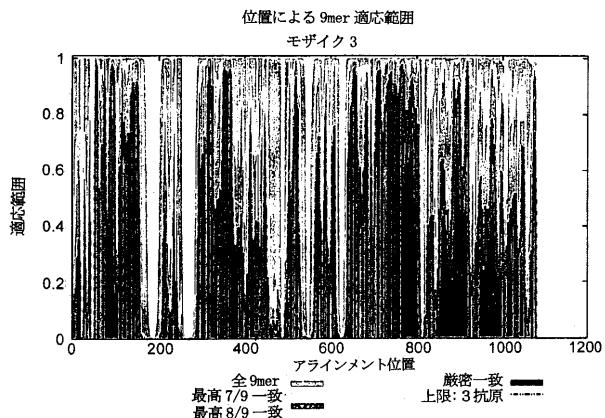
total: 全体 ConS: コンセンサス配列 Mos.: モザイク Nat.: 天然配列 acute: 急性

ワクチン	サブセット	0のオフの1のオフのオフ(<3,1>)	イク不在	希有	<
ConSgp160	Total	0.2628 0.5301 0.7267 9	12 45	66	
ConSgp160	B	0.2682 0.5344 0.7223 2	8 45		
ConSgp160	C	0.2526 0.5214 0.7302 1	0 45		
ConSgp160	N	0.2662 0.5324 0.7283 7	4 45		
Mos.3	Total	0.4485 0.7032 0.8358 15	164 8	179	
Mos.3	B	0.4749 0.7139 0.8576 3	40 8		
Mos.3	C	0.4809 0.7363 0.8498 8	65 8		
Mos.3	N	0.3868 0.6383 0.7970 11	59 8		
Nat.1.acute	Total	0.2258 0.4598 0.6458 125	0 0		
Nat.1.acute	B	0.3190 0.5803 0.7482 125	0 0		
Nat.1.acute	C	0.1589 0.3781 0.5726 0	0 0		
Nat.1.acute	N	0.1815 0.3979 0.5963 0	0 0		
Nat.3.acute	Total	0.3673 0.6449 0.8036 164	252 0	416	
Nat.3.acute	B	0.3765 0.6483 0.8045 130	0 0		
Nat.3.acute	C	0.3940 0.6840 0.8307 19	102 0		
Nat.3.acute	N	0.3311 0.6036 0.7766 21	150 0		

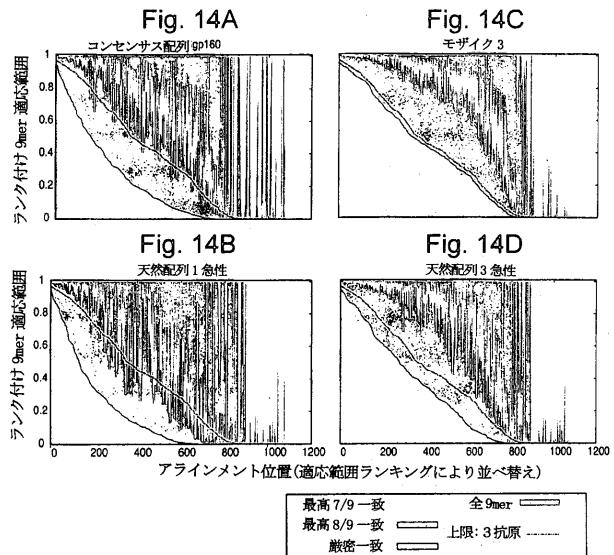
【図12】



【図 13】



【図 14】



【図 15】

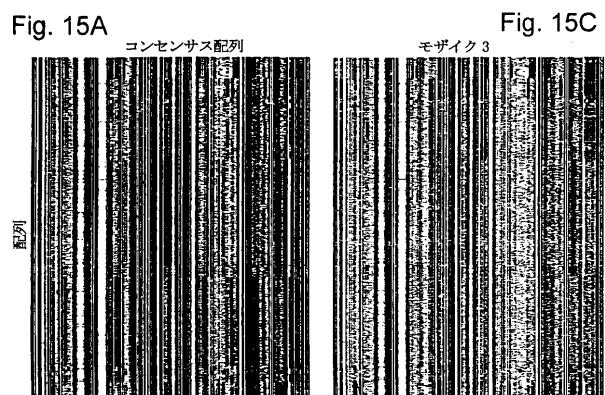
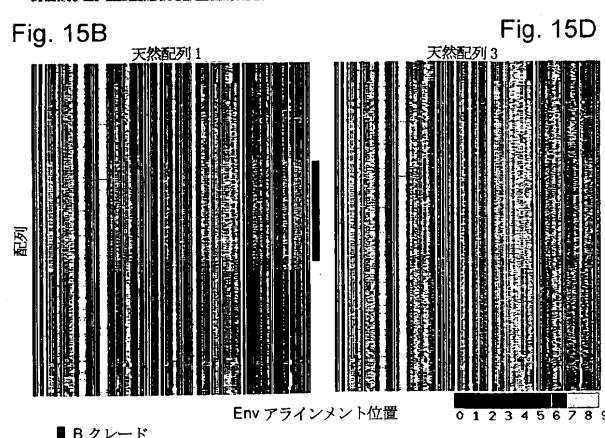
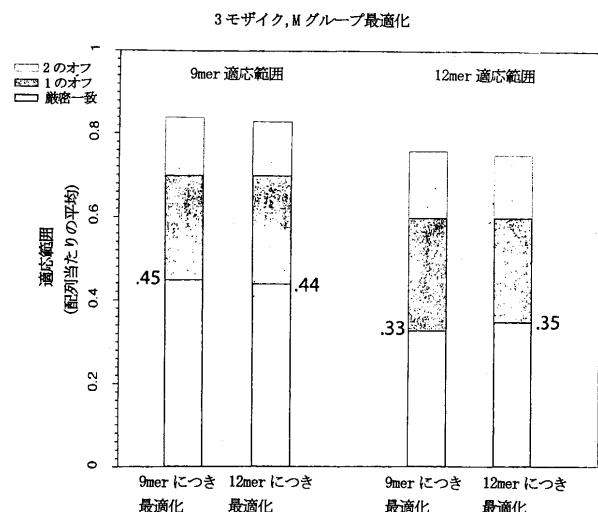


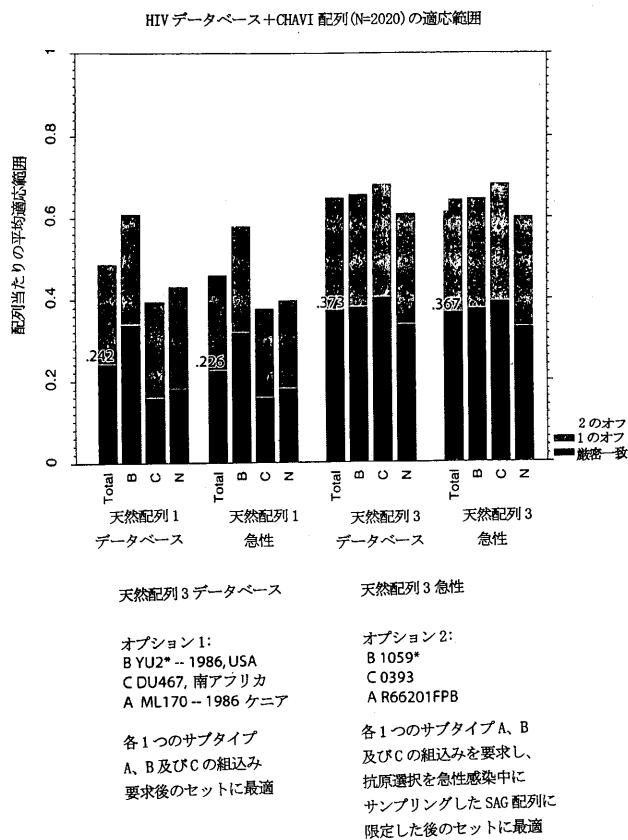
Fig. 15C



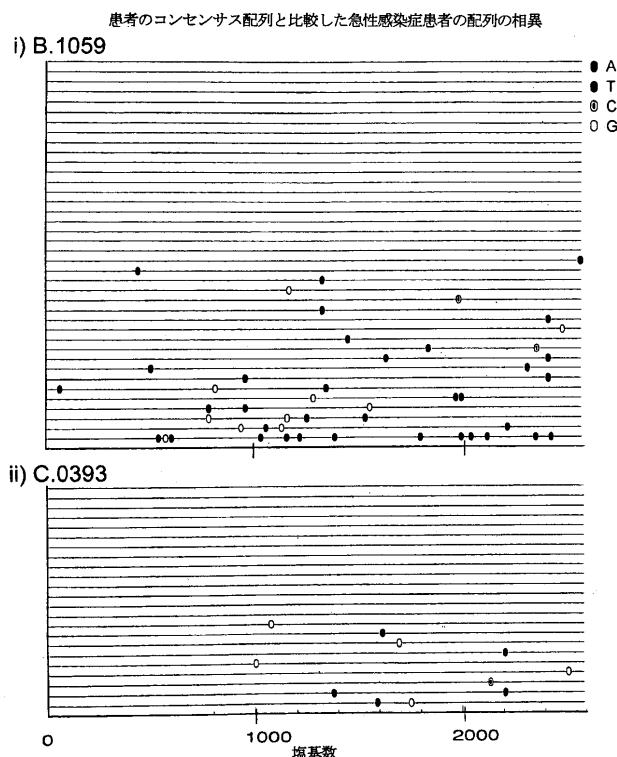
【図 16】



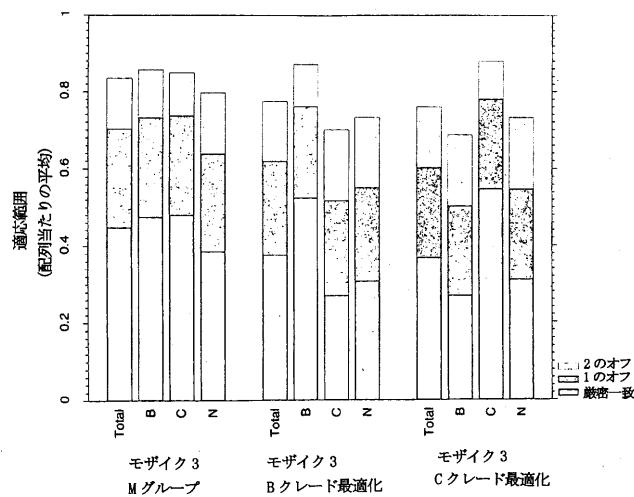
【図17】



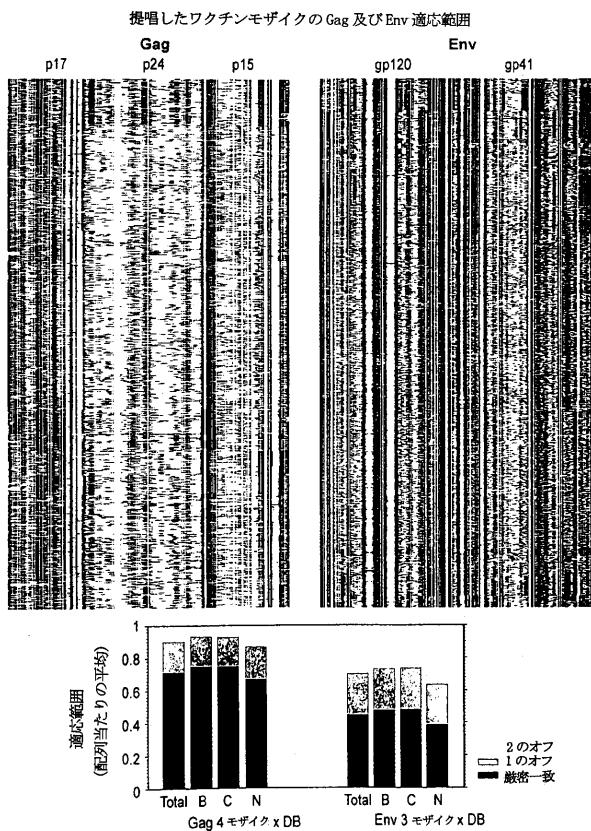
【図18】



【図19】



【図20】



【 図 2-1-1 】

Fig. 21

>nef.M.4.Dmyr
MAAKWSKSSVGVWPAVRERMRRAEPAADGVGA VSRDLKKGHAJTSNTAA TNA DCWLEAQEE
DSEGVFPYRHPVLPRLPMTYKA VADLSHFLKEQGGLEGILYISQKRQDIDLWLVYHTQGYFPDWQN
TYPGCPKRYXPLPFWCGLKLPVPDVPREVEEANKGENNCLLHPMSQHGMDPEKEVLMWKFDSRLA
FHHMRKALPTEFVYKDC

```
>nefM_4.2Dmyr
>MSKWSRKTRTGVWPAIRMRMRTPEAEGVGAASQDLDKYGLALTSSNTAQTNPDCWALEAQEE
>EEVGFPPVRQPVPRMTYKGAIDLSHFLKEKGGLDGILYSSRKRQLEIDLWVYNTQGYFPDWQNY
>TKPGARELYPTFVGCKYCLVVPDPEEVEKANEGENNSLLHPMSLHGMDPEREVLKWKFDRLA
```

>enc 4.3Dmy
MAANWKSQSSVWGPWEIRJRRTDPAEGVGAAASRDLRERHGAAITSSNTATTNAACAWLEAQEDEEVGFGPVRPQVPLRPMTFKGAFDLGFLKKEKGLEGLIYSSKRQDIDLWVYNTQGFPPDWQNYTPGPGTRPLFTYWGCFELVFPVDPKEVEEANEGENNCLLHPIQCQHGMDDEREVLMWKFDSLARRHLERKHPKTYKDC

>neM_4.4Dmyr
MASKWSKSSVWVGPVQRERIRQTTPAAEVGVAQSQDLDKHGAVTSSNTAANNADCAWLQQAEE
EEVEGPVKPQVPLRPMTYKGAFDLSFLKEKGGLDGLIYSKKRQEILDLWVYHTQGFPDWINY
TPGPGTRYPLVWCGFCFLVPMDFAEVEEATGEENNSSLHPCIQHGMEDEDREVLLVWRFDSSLARR
HIARELPEVYKDC

→Gag M2 Dp2
MAA-RRSLSSGGKLDLAWEAKIRLPRGGKKYKRLKHLVWASRELDRLFALNPLSLLTEAEGKKOIMKQL
QPLAKTGTTEELKSYLNTWATLYCVCHEKUDVDTKEBALDKEEESNCIQKQCKTQKAEDKGKVSQYNN
PVINQHQGMVQIQSPRILNAWVAKVEEPEAFPSVPEMFTALSDG2PQDLNMSLNAVGHHQAA
MQKLDITNTEAEADWDRLHPVHAGVAFQGMERPRGSDIDACTTS7LQEOWGMWNTNNPPFVQEYKJ
WRLGILNLKVRMYPVSFLNLDIQKGKFESPEYDTRFLKQVWYKVNMTD11LNLQFANP
CKKLQKQPLGATLMEKQACQGVQGKSHARLAFAAMS0VNTNSATM1QMGKRNFRQKTFVCKF
NGKCBGHLRANKQPKRQDQVWYKQKUPLHMKCETKTRQANFGLKWPSSKGRNUPFQSRSPEFIA
PPESPFRECEETTISPKQFOPKQDCEKUPLHMKCETKTRQANFGLKWPSSKGRNUPFQSRSPEFIA

【図21-2】

Fig. 21 cont'd-1

M_3_mos_3_1_(M_mos_Env_3_1)
MRVKYKQHNLWYRWTGMLGLMILCIAEQLWVTVYYGPVWWRDAETLFCASDAKAYER
EVNVRNATHACVPTDPDPOEVLNEVTEFFNMWKNNMNDHMEISLWDSESLVKPVLTKLH
TLNTCDVNTKNTSTWGMMEKGNKSNFMTTLEDRDKKXVAFLYLFDLVPELENTDISNST
LRLNTNRCSNTAQACPXVTEEPFIPKQHBLCKNDKNDNGFNGTCPGKVNQSTVCTHGPB
VWTQQTLLLNGSLAEEIINRSHNNPAKTHVQLNQESVNVCTRNTRNNTKSIRGPBFGVAT
GNDIQRNIGAHCNISLEKWINTRDVRKLQHQBHFNNKTFEWSQGDLEITTHFSNCRFYCF
LNSVWGNSSNTVKYTKVETTLPCKJWQHNMWVEGRAMYAPIJAGTCNTSNGLLVLRDGNVNT
E1FPRPGGNMKNDWSELYRVEPPLGIAPIATKAKRVRVVEKARVGLAFLGFLGAAGST
MGAASMTLTVQAROLLSIVQOOSVQAAEIAQOHMLQTVKQWIKOARLAVERYLRDQOOL
GIWGCWSKGLTNTVNPWSNLLDSEIWNMTHWMWEOKEDINTSLSQNOQEKNKEQ
DLALLDQKWNJLWNFDSNLWVYRIFPMLVWVGLGJLRFVAFVLSVNRVKYQSPSFLTPPN
GPDRDLRGEEEGPPDTSRDLVNGFLAALWDLNLRCFLVSYDPLRLLHUVVTCRLLGRGW
ALKLYKLNLWQVWDEOKNSAVSLNAIYAEGRDTTVEVORACRULHPRIGRORLEA

【 図 2-1-3 】

Fig. 21 cont'd-2

>M_mos_3_3 (mos_Env_3_3)
MRVGRQHNRNPWWP>WGLGFLWMLMCNIVGNLWVTYVGVPW/KEAKTTLFCASDAKAYKE
EVHNTWATHACVCPDTSPOSEVNLWTFBFRNNWVKNMDVOMHEDPISVLSWDOSLKPVCVLTHL
CTVCLNTNATNTNNTNNTNNTSNTTMSIGEMCNKCSNTTFRERDKSXRKEALFYLVPLNEQNSSEY
RLNCINTTQTACQPKVSEFDPIPHYACAGYLLAKCNCNTNFTGCPFCNVTSTQCTHNGPVSQSTL
LNLGSLEAHEBIRSEBIRSEBIRSEBIRSEBIRSEBIRSEBIRSEBIRSEBIRSEBIRSEBIRSEB
HNLCSRITWNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQ
NMSNTPQTLPNTQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQ
NMSNTPQTLPNTQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQWTNQ
EKTTEITRPGGONMRDNWNRNLYKVKYQVJPELQGVPATRAXRVRVERREKAVIGAFLVGL
TAGTGSTMAASLTTLTQARQQLSIVGQVQNSNLKJAEQAQQLKJLTTVQWGLQKQLTRVLAJERYLKD
QQLGLWGCGLKJCTA VFWPNNSWNSKNSLQKJAEQAQQLKJLTTVQWGLQKQLTRVLAJERYLKD
QKNEKMDPDRLLGHBEEGQDPRDRSLRSLRSLFLLA DWDLRLSLPSYLSHRLDFILVARA VELGRSS
INPPGFDPLRLLGHBEEGQDPRDRSLRSLRSLFLLA DWDLRLSLPSYLSHRLDFILVARA VELGRSS
SLRQGKQWRALKYLGSLSVQYWGELKKSASLSDTIAIA VAEGTDRIIIEVQCRJCAJRNPURRQ
GFEALL

【 図 2 2 - 1 】

HVI 番号	遺伝子名	Nef	変異した ミリスチル化シグナル
HVI13236	M.con_Nef01_Dmyr.wlv	グループ M (2001)	Yes
HVI13319	nefM_4.1Dmyr.wlv	Mosaic No. 1	Yes
HVI13231	nefM_4.2Dmyr.wlv	Mosaic No. 2	Yes
HVI13230	nefM_4.3Dmyr.wlv	Mosaic No. 3	Yes
HVI13232	nefM_4.4Dmyr.wlv	Mosaic No. 4	Yes
HVI13001	未検		

5つすべての構築体を HV10001 (WLV001AM DNA) ワクチンプラスミド中へクローニング

Yes: 有り Mosaic: モザイク

M.con_Nef01_Dmyr.WLV (657nt.) (hv13236), 67% GC
XbaI

MAAKWSKSSIVCPAVRERIRRTHPAAEVGAVSQDLDKHGAITSSNTAAANPDCAWLEAQEEE
EEVGFPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGGLLEGLYTSKKRQEILLDLWVYHTQGYFPDWQNY
TPGPGYRFLPTWGFCKWLPVPDPEEEVEANESEGENNSSLHPCMQHGMEDEEREVLWMWKFDSRLAL
RHIARELHPEYYKDC

【 図 2 2 - 2 】

Mosaic and Group M nef_Dmyz-Patent.doc

【 図 2 2 - 3 】

SeqN	CCGG	55	771	1175	25 Sites
13 Sites		1423	1857	1875	52 1172 1520
52	1718	1751	1886	1738 1751 1872	
1872	2475	2668	2268	2469 2662	
2977		3073	3096	3128	2475 2668 2977 3020
3270	3381	3444	3168	3367	3138 3270 3297
3476	3657	3801	3399	3323 3342	3361 3444 3456 3478
Cftr1	RGCGGY		3379	3481 3660	3483 3684 3540
2 Sites		5 Sites	Bp1A1	GTGCGC	3657 3677 3678 3690
Cfr1	VGGCC	1587	2085	2953	3801
4 Sites		3114	3685	BhA1	GGCCGC
769	3094	3126	3190	GGCG	1 Site
Clai	ATTCGAT	11	496	1273	3130
1 Site		1382	1556	1656	MeII
2287		1723			CCGGG
DdeI	CTTAC	1593	2026	2165	1172 3520 3620
12 Sites		2249	3045	3047	3138 3297 3456
12	204	397	3145		3483
711	787	1234	3183	3255	3484 3540 3677
2288	2158	2229	3655	3667	3178 3690
3118	3061		BmCI	GTTCAC	3657
DpnI	GATC	5 Sites	3181	3222	3657
13 Sites		413	886	2369	1 Site
190	195	460	3051	3336	2745
1239	1247	1258	BmFI	GANTC	3657
1331		15 Sites	3182	3222	3657
2972	3028	3216	43	59	3677
3437	3725	3771	303	401	3677
DraIII	CCACCCGTC	807	1527	1923	3717
1 Site		1998	2222	2795	3657
1161		3487			3657
Hsc47I	GGGCC	3648			3657
7 Sites		HinfI	GGCC	518 538	
132	586	919	19 Sites	3657	
1048	3021	3133	3191	2024	762 864
2298		494	1271		891 1011 1108
EcRI	CCGG	1380	1554	1654	1101 2219 2345
13 Sites		1721			3657
50	1736	1745	2247	3043	2652 3023
1870	2473	2666	3143		3657
2975		3181	3253	3623	3657
3268	3379	3442	3655	3665	3725 3809
3476	3655	3799	BpII	CCGG	3657
RecR	GATATC	16 Sites	3182	3222	3657
1 Site		848	1172	1329	3657
2294		1519	1545	1692	3657
Fnu11	GCNGC	1991	2024	2167	3657
20 Sites		3043	3045		3657
3193		3129	3137	3149	3657
324	769	1283	3297	3456	3657
1489	1492	1557	3540		3657
1700		3677	3690		3657
1855	1973	1976	MeII	CTAG	3657
1994	2110	2250	7 Sites		3657
2270		378	801	1034	3657
2262	3094	3166	1404	2385	3134 3165 3500
3215	3315	3340	3751		3657
PmlDII	CCGG	12 Sites	MeII	ACGT	3657
17 Sites		663	1160	1196	3657
494	1273	1854	2306	2507	2717 2730
2169	2257	2281	2560		2730 2804 2684
2445		2643	2724	2829	2768 2925 3333
3039	3045	3047	2791	3310	3657
3062	3165	3183	3193	3330	3657
3237		8 Sites	MeII	GTNAC	3657
3255	3625	3653	3270	1134	3657
BasII	RGCCGY	3 Sites	1477	1540	2446
12	1657	2027	2531		3657
BasIII	GGCC	2082			3657
20 Sites		MvaI	CCGG	3657	

MosaiX and Group M nef_Dmyr_Patent.doc

【図22-5】
nefM_4.1Dmyr (hvl13225 in), (663nt.), GC=67%
CTCGAGAAGAAAATCGCGGCAAGTGTGCGAAGAGCTCTACGTCGCTGGGTGGCCGGCTCCGGAGAGGA
CTCGGGGCGCGAGCGCGCCGCGACGGGTCTCGGGCGCTCTCGGGGACCTCGAGAACCGGGCG
CACGTCGAGCACACGGCGCAGCACAGCGGACTCGCGCTGCGTGGAGGCCAGGGAGGACTCGAG
GTGGCTTCGGCGGCGCACCTCCGGCTCGGGCGTACAGCTAACGGCGCGCTGACCTTC
ATCTCTCAAGAGCAGGGGGCTGAGGGGCTACTACATCTACGTCAGAACGGAGGAGGACATCTCGAC
GTGGGTCTAACACACCCAGGGCTACTTCAGGACTCGCAGAACTACAGCCAGGCCGGGAATCGCTAC
CCGGTACCTTCGGGTGTTCTTCAGGCTCTCCGGGACCGGGGAGGTTGAGGAGGACCAAG
GGAGAGAACACTCTCTCCAGGGCTGTCGCAACCGGGTGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG
GTGGAGAATTGCACTCGCGCTGGCGTTCACACATGGCCCGGAGAGGAGGAGGAGGAGGAG
TGTCTGATAAGCTGTGATCAGGATCAGCGCT

MAAKWSKSS1IVGWPVAKERMRRAEPADGVGAVSRDLEKHGAIITSNTAATNADCAWLEAQEEDSEVGF
RPHVPLRPMYTAAGAIDLSHLFLKEGGLEGGLIYOSKQDRLILWYHTQGYFWPDWQNTPTSGGIRYPLTF

HV13319 (nefM_4.1Dmyr.wlv), 3918nt.
AAATGGGGGCCCTGAGCTGCTCGTGAAGAAGGTGTCGACTCATACCGCCCTGAATGCCCAT
CATCCGGACCAAGGAGGAGGACCGACCGTGTAGAGGACTTGTGAGGTCGACCTGGTGTATT
GAACCTTGTCTTGTGCGACCGAGGCTCGCTGTGCGGAGGATGCGCTGATCTCTTCACTCAGCA
AAAGTTGCTGATTTCTACRAACAGGCCGCGCTCGCTGAAGTCGCTGCAATGCTGCCAGTGTACANCA
ATTAACAAATTCCTGCTTCAAAATGTAATSGCTTITGCAACATCCACTATATACTGGCTGCTTCTGTC
ACTCTGGATAACCTTCCAGGAACTTCTGAGCTTCCAGGAACTGTTCTGAGCTGGAAAGTTCAGGCC
CATTAGGAACTGCGACAGATGCTGTAACCTGGAAAGGACTGTAGTGTCTTAACTGCTGCTGCTGTT
GAGCCGCTGCTGTTAATACAGGATCGGATGAGGACCAATCAACATGGCCTCTGCCTGGTACTGGTA
CAGTCAGGATGCTGAGGAAATCTTGTGGCTCTTCGCAACAGGAAATATTAGCCTTGTGCTGATTTCAA
CAGCTCTCTCTGAGGAACTGAGGCAAACTTCACTGGAAAGCTTGGGCTTCTACGGGTTTACGGCT
TACACTCTCTCTAAGTCTTCAAGTCTTCAAGTCAATGCTGAACTGGAGCTTGGGCTTCTACGGCT
GCCAACTGTTGAGTCTTCAAGTCAATGCTGAACTGGAGCTTGGGCTTCTACGGCT
CCACTTCAAGGGTCTGTTCTACATGCTGCTGACTCTGCTCTTCCTGTTGATCAGACATCAGCTCA
TCCGAATACGGGACRCTGACTCTGACGACCCAGRGCCCTAAACACCATAGGCCCTRACTCATC
ATTATTCACCAATATTCGCTGCTTAACTTCTGAGAACACTTCATCTTCTTCTCTGTTAGCTGATTTGG
TCTGCTTCAACAACTCTTCTGTTACTTACTGTTAGTACAGCAGACTTGTGATCTGATATTAT
TTACTTGTGCTGAGTAACTCATGAGATTTGAGACATTTGAGACACTGGCTTCTCCGGCCGCTGACCAA
CTTCAAGGGTCTGTTCTGCTTCACTGGCTGAGGCTGACGGCCCTGAGAAAATGACAACTTGGATTT
CTTGGATCAGGCTTCTGGCTGAGTAACTCATGAGATTTGAGACACTGGCTTCTCCGGCCGCTGACCAA
CTTCTGAGTCTGGCCCTAGTGGCCACTTCAAGGCTGAGTAACTCATGAGATTTGAGACACTGGCT
TTCTGGTCTGAGGCTGCTGCTGCTGAGTAACTCATGAGATTTGAGACACTGGCTTCTCCGGCCGCTGACCAA
GTGACCGGATAACTGGCCGACGGCTGGGGCTGAGGCGGGGTTCTGCTGACAGCAGGCTGAGGAG
ACCTAACCGCAGACTGAGATACCTACAGCTGAGCTTATGAGAAAGCGCACGCTTCCGAGGGAGAAGG
CGGACAGATGTTCTGGTGAAGCGGAGGGCTGAGGAGACAGGAGGAGCAGGAGGAGCTTCCGGGG
CTGGTGTATTTATGAGTCTGGCTGGGTTCTGGCTGACTCTGAGCTGAGCTGCTGCTGATTT
GGGGGGGGGGGGGCTGATGAGAAAACCGGAGACAGGAGGAGCTGGCTGAGGAGCTTCCGGGG
TTCTGCT
TTCTGCT
TGATACCGCTTCCCGCAGCGGAAGCAGCCAGGAGCAGGAGTCTGAGTACGGHGGAGCGAGGAG
GAGCTGGTATTTCTCTTCTGAGCTTGTGAGGCTGTTACCCGGCTATGTTGCTGACTCTGAGTAC
GCTGCTGAGTCTGGCTGAGTCTGGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCT
GAGCAAAATTTGAGCTTACAAAGGAGGAGCTGGCTGAGGAGCTTGGAGTCTGAGTCTGGGTTAG
GCTTCTGGCTGCTTCTGGCTGAGTACGGGAGGAGCTTGGAGGAGCTTGGAGGAGCTTGGGTTAG
GTATCTATATCATATAATGTGACATTATATGGCTCATGTCCTACATGAGCCTGGCTGAGTCTGG
GTATCTATATCATATAATGTGACATTATATGGCTCATGTCCTACATGAGCCTGGCTGAGTCTGG

Mosaic and CON nef_Dmyr_final.doc

【 図 2 2 - 6 】

Thursday, August 2, 2007	2953	3065	3362	3169	3241	3352
Sequence 0 Length : 3918						
	1 Site	TCATCA		3411	3449	3766
	2 Sites	3694		CfrI101	KCCGTY	
ATII	GACGTC					
4 Sites		CCBGG		847	3099	3132
2831	2563	2646	1173	1521	3021	
			3113	3269	3428	
2 Sites	GTTHAC			7 Sites		
	3455				769	3065
3 Sites		3456	3590	3662	3097	
3317	3404				3313	3274
AfIIII	ACRYGT				ClaI	
1 Site		3475	2597	3668	1 Site	
3 Sites					2267	
1597	1597					
AlwI	AGCT			DdeI	CTHAG	
13 Sites		458		11 Sites		
109	633	1340				
1597	1643	1773	3952	3085	3362	
1958	1958				2088	2150
2184	2951	3003	652	1587	2085	1622
3455	3689	3692			3862	2124
AlwII	GAAGNNTG				DpnI	GATC
2 Sites					11 Sites	
1488	2129					
1822	2129				1239	1247
AcII	GRCCYC				1258	
5 Sites					1333	
3107	2560	2643	52	1738	1751	
2822	2881		1872	2475	2668	
ApAI	GTGAC		2977			
2 Sites					DraII	CACNNNTG
1563	2081				1 Site	
AvaI	CCYCGC				1162	
1 Site					9 Sites	
3453			3415	3449	3766	
BanI	GGYNNC				EcoC471	GGGCC
3 Sites					1 Site	
538	2850	3772	3045		1047	
BanII	GRCCYC		52	1738	1751	
3 Sites			1872	2475	2668	
			2977			

Mosaic and CON nef_Dmyr_final.doc

【 図 2 2 - 7 】

9		494		1271		M14V		GGNNCC	
50	1736	1749	1380	1554	1654	11	Sites	92	540
1870	2472	2666	1721			1869	2852	30	
2975			1993	2024	2167	1131			
3167	3239	3350	2247	3043	3045	3166	3349		
3413	3447	3764	3224			3774			
EcovR		QATATC	HpaII	CGGG		NruII	TCGCGA		
1 Site			17	Sites					
3424			946	1172	1329	1 Site			
3449			1519	1545	1692	2257			
PavMIV	GCGGC		3109	3108	3131	HaeII	ATGGCAT		
22	Sites		1268	3273	3291				
234	769	1283	1427			796			
1489	1492	1557	3454	3589	3661	575241	RCATGY		
1700			HaeII	CTAG		2 Sites			
1855	1973	1976	7	Sites		3163	3907		
1934	2110	2250	3778	803	1024	HpaII	CGCGKG		
2279			1404	2385	3689	6	Sites		
2382	3065	3337	3716			3114	1559		
3206	3277	3311	2306	2507	2519	3039	3471	39	
3571			2560			3642			
3625			2643	2724	2829	PspI	RGGWCCY		
PnudII	COCG		2190	3281	3301	1 Site			
17	Sites		HaeIII	GTGAC		3168	3351		
494	1273	1854	270	1134	1361	ReaI	GTAC		
2162	2257	2281	1477	1540	2446	10	Sites		
2445			2533			2310	355	2093	
3039	3045	3047	2882			2717			
3162	3209	3217	HpaII	CCHGG		2768	2925		
3226			23	Sites		GCAGWCG			
3513	3624	3650	55	1172	1520	KerI			
HaeII	RGCGCT		1730	1751	1872	2	Sites		
3	Sites		2475			3105	3270		
12	1557	2027	2668	2977	3020	SacI	GAAGCT		
HaeIII	GGCC		3109	3169	3241	2	Sites		
20	Sites		3268			2953	3085		
55	771	1175	3352	3425	3427	SacII	CCGGCG		
1423	1857	1875	3449	3454	3455	3	Sites		
1886			3589			2828	3040		
2268	2469	2662	3661	3766		SaiI	GTGCGAC		
3067	3099	3139	HaeII	GGCGGC		1	Sites		
3226	3294	3313	3101	3134		3116	3316		
3350	3452	3646	NciI	CCCGG		Sau3A	GAATC		
HpaII	GNCGWC		10	Sites		11	Sites		
4	Sites		1172	1520		188	193		
3877	2085	2953	3109	3268	3427	1237	1245	1	
3085			3454			1331			
HpaII	GCAC		3465	3589	3661	3594	3870	3026	
14	Sites		HpaII	CCAGGG		3266	3266		
11	496	1273	2745			3273	3273		
1382	1556	1656	HpaII	CATATO		3451	3507		
1723			2076	2619		3571			
1993	2026	2169	3465			3668			
2249	3045	3047	3101	2219	2349	3668			
HincII	GTTRAC		2306	2689	2749	3668			
4	Sites		3109			3109	3159	3	
413	886	2369	HpaII	CATATG		3268			
3118			358	762	864				
HinfI	GANTC		892	1011	1109	1181	1736	1751	X
16	Sites		1901			2475			
43	59	357	3688			2668	2977		
383	401	725	3645			3268			
807	1527	1923	3907						
1998	2222	2795	15	Sites					
3250									
3458	3619								
HpaII	GCAC								
14	Sites								

Mosaic and CON nef_Dmyr_final.doc

【圖 2.2 - 8】

			Sep1	ANJATT	XmaIII	CGGCCG
3445	3454	3455		2 Sites	4 Sites	
3588				603	3137	3274
	3662	3766		991		3292
Sdnl	GDSGWC			AGGCCT	3311	
6 Sites				1 Site	XmaII	GAANNNNNTC
	6562	1587	2085		55	1 Site
2953	3065	3162		sty1	811	
Sini	GGGCC			CCWGGG		
9 Sites				1 Site		
	123	587	920			
1048	3022	3105		TAG1		
2166				TCGA		
				11 Sites		
				216	1799	2287
3270	3507			3050	3076	1193
SmaI	CCCGGG			3317		
1 Site				3392	3521	3617
	3455			3703		
SnaBI	TACGTA			TbIII		
1 Site				GAACNNNNTC		
	2725			1 Site		
				1145		
SphI	ACTACT			XbaII		
1 Site				RGATCY		
	2384			3 Sites		
SphI	GCATGC			458	1245	1256
1 Site				XbaI		
				CCCGGG		

```

nefM_4_2Dmyr (654nt.) hv13231, GC=65%
ctcgagAGAAAATGCGCCGAAAGTGGCTGAGCGCTCATCGCTGGTGGCCGGCAGTCGGGAGAGCA
TCGGCGAGACCGGCGCCGGCGCAGGGGGTGGCGGCGCGCTGCAGGACCTCGACAAAATACGGGGCGCT
CACOTCGACACACCCGCCAGCAGCAACCCGACTGCGCGTGGCGGGCCAGGGAGGAAAGGGATCTG
GGCTTCTCGCGTCGGCGCAAGTCTCGAGCTGGCCGATGAGCTAAAGGGCGCCCTGGACACTCTCCACT
TCTCGGAGAGAGGGGGGGCTGAGCGGGCTCATCTACTCGGAGAAGGGCGAGGAGATCTCGACCTG
GGCTTCTACACACCAAGGGGGTGGCTGAGCGGGCTCATCTACTCGGAGAAGGGCGAGGAGATCTCGACCTG
GGCTTCTACACACCAAGGGGGTGGCTGAGCGGGCTCATCTACTCGGAGAAGGGCGAGGAGATCTCGACCTG
CTGACCTCTGGGGTGGCTGAGCTAACAGCTCTGGCTCCGGCTGAGCCGGAGGGGGTGGAGAGGAAAGGGG
AGAAGAACCTCTCCCTGAGCAGGGGGTGGCTGAGCTAACAGCTCTGGCTCCGGCTGAGCCGGAGGGGG
GAAGGTTCTGAGCTGGGGTGGCTGAGCTAACAGCTCTGGCTCCGGCTGAGCCGGAGGGGGTGGAGAGT
GAAGGTTCTGAGCTGGGGTGGCTGAGCTAACAGCTCTGGCTCCGGCTGAGCCGGAGGGGGTGGAGAGT
TGATAAGCTAGGGATCTGATCA

```

MAAKWKSRSIVGWPVPAIRMRRTPEAAVGASQQLDKYGAITSNTPDCAWLEAQEEVYGFVPRQPVPRMTYKGALDLHSLFKEGKDLGIVSRSRKREIILDWVNTQYFPDWWQNTYPPGCVYRPLTFCWCYKLVPVDPPEEVEKANEGENNSSLHPMSLHGMEDPEREVLWKWKFDSRLALKHRARELHPBFYKDC_

TCGAAATACGGACCATCAGTCCTA

〔 図 22 - 9 〕

Thursday, August 2, 2007			Allele	ACRYGT	2 Sites	
			I Site		1488 2129	
Sequence	Length	3950	1897		locII QRCYC	
			AluI	AGCT		
			12 Sites		7 Sites	
4 Sites	GACGTG	109	633	1340	1507 2560 2643	
2510	3563	2646	1587	1643	1733	2857 2983 3186
2832			1959			3337
						ApAl GGCGCC
2 Sites	GTTHKAC		2184	2951	3521	2 Sites
3050	3430		3680	3714		3075 3674
			AluWI	CAGNNNCTC		ApAlI GTGCAC

【 図 2 2 - 1 0 】

2 Sites	Clai	ATGCAT
1593 2081	1 Site	
Asp718 GTTAC	2287	
1 Site	DdeI	CTTAC
3490	11 Sites	
AvrII CYCGRC	711	12 204 397
3078 3615 3673	2088	787 1214 1623
BamHI GCAATC	3858	1580 2229
1 Site	DpnI	GAATC
3720	13 Sites	
BanI GGYRCC	190	195 460
5 Sites	1239	1247 1258
558 2850	1333	
3890 3804	2972	3028 3135
BanI GRCG	3414	3732 3728
5 Sites	DraII	CACMNNGTG
2953 3075	1 Site	
3674 3682	1161	
BpuI GGCGCC	EcoP71	GGGCC
1 Site	11 Sites	
3740	122	586 913
Bell TGATCA	1048	3021 3111
1 Site	3193	
3726	3295	3343 3532
BenI CCGGG	3610	
12 Sites	EcoB109	RGCGNCCY
1573 1521 3021	4 Sites	
3139 3247 3295	3194	3374 3477
3538 3670 3675	3611	
3676 3688	EcoRII	CCMGG
BglI GCGGNNNNCC	13 Sites	
3 Sites	50	1736 1749
2475 2597 2668	1070	2473 2666
BglII AGATCT	2975	
458	3268	3340 3376
BpuB186 GDDGCH	EcoRV	GATATC
8 Sites	1 Site	
652 1587 2085	2974	
2951 3075 3388	FnuAI	GCNC
1674	20 Sites	
3682	334	769 1283
BpuHII TCATOA	1489	1492 1557
2 Sites	1700	
1007 1105	1855	1873 1976
BpuHII CCGGG	1994	
13 Sites	2282	3094 3166
52 1738 1751	3184	3303 3651
1872 2475 2668	FnuDII	CGCC
2970 3342 3378	14 Sites	
3461 3475 3798	494	1273 1854
BpuHII GCGGCC	2164	2257 2281
1 Site	2446	
3045	3039	3045 3047
BpuHII CCGGG	3062	3255 3398
13 Sites	3650	
52 1738 1751	HaeIII	RGCG
1872 2475 2668	6 Sites	
3370 3342 3378	1421	1657 2027
3441 3475 3798	3216	3340 3660
CfrI 101 RCGCGY	HaeIII	GGCC
3 Sites	21 Sites	
847 3128 3161	55	773 1175
CfrI 101 YGGCCR	1422	1857 1875
5 Sites	2268	2469 2662
769 3094 3126	3073	3096 3128
3166 3100	3168	
Mosaic and CON nef_Dmyr_final.doc		

【 図 2 2 - 1 1 】

【図22-12】

CACTGCGAACAAACCGCCACAGGACAGCCGGCTCGTGGCTGCGAGGCCCAGAGGAGGAGGAGCTG
GGCTTCCGGCGTCGGCGCAAGCTTCCGGTCAAGGGCTGATCGCTTCAAGGGGGCTTCGACCTCGCTTCT
TCTCTGAAAGGAGAAGGGGGCTGGAGGGCTCATCTACTCGAAGAGGAGGAGGACCATCTTCGACTCT
GGCTTCAACACCCAGGGTCTTCGGGACTCGGACAGATCACCGCAGGGGGAGGAGGCTGGCG
TCGACCTTCGGGTGGCTTCGGCTCGCTCCGGGGTGGACCCAGGGTCAAGGGAGAAGGCCAACGGGGCTGG
AGAACAACTGGCTCTGGCTCCGGGGTGGACCCAGGGTCAAGGGAGAAGGCCAACGGGGCTGG
GAAGTTGGCACTCTGCTCCGGGGTGGACCCAGGGTCAAGGGAGAAGGCCAACGGGGCTGG
TATGAACTGGCGGATCTCTGCA

MAANANWSKKSSIVWPEIRRTDPAEEVGWAASRDLERHGAIITSNTTATNNAQWCALEAQEDDEEVGFPV
RQPVQLRPMFTKGAFDRLGGEEKGGLELLYISVSKRQDILDWLWNTQGFPFWQNYTPGCPTRFLPT
WCFELVPUVDPKEEVEANEGENNCLLHPICQHGMDDEREELVLMWKFDSSILARRHLAREKHPYVYKDC_

CHINESE LANGUAGE

【図22-13】

Mosaic and CON nef_Dmyr_final.doc

【図22-22】

DraIII	CACNNNGTC	4179	4240	4282	52	1172	1520
2 Sites		4305	4400	4418	1718	1751	1872
1161	3740	4442			2475		
Eco47X	GGGCC	4455			2668	2977	3020
11 Sites		HgIIaI	GWGDCW		3157	3189	3231
		21 Sites			3227		
1044	522	586	919	3587	2085	2953	3522
3534				3355	3745		3551
1634	3724	4054		HbaI	GGCG		3672
4151				21 Sites			3858
Eco47XII	AGCGCT	11	496	1273	3936	4002	4071
2 Sites		1382	1556	1656	4104	4105	4140
1216	3289	1723			4139		
EcoP59	GGGGCCY	1993	2026	2169	4192	4102	4374
5 Sites		2249	3045	3047	4420	4671	
3605	3750	3951		HinfI	CCGG		NciI
4152	4204			3102			3221
EcoRII	CCNGC	3217	3224	3290	3231	3232	3762
19 Sites		3316	4169	4246	3231		
		4374			3763		
50	1736	1749		HincII	GTTRAC		3988
1870	2473	2666		5 Sites			4002
2975				413	BBG		4105
3155	3187	3520		3051	3980		4292
3549	3670	3831		HinfI	GAATC		
3934				14 Sites			NcoI
3138	4192	4372		43	59	357	4240
4146	4669			383	401	725	3799
EcoRV	GTATNC	807	1527	1923	3841		
1 Site		1998	2222	2795	3842		
2294		3995		HpaII	GCAC		
Pvu48II	GGCNC			21 Sites			NlaIII
32 Sites				3216	3222	3288	3947
314	769	1283		3314	4167	4244	4012
1486	1492	1557		3445	3766	3875	4127
1700				3570	3683	3799	4279
1855	1973	1976		3686	3699	3799	4360
1994	2114	2250		3726	3822	3944	4482
2279				3841	3952	4073	4602
2282	3094	3276		3846	3957	4073	4612
3102	3312	3423		3851	3962	4073	4622
3142				3861	3972	4073	4632
3445	3676	3735		3876	3985	4094	4642
3780	4207	4221		3881	3992	4103	4652
4271				3893	3983	4094	4662
4322	4416	4440		3901	3984	4094	4671
4594				3916	3984	4094	4680
YodII	CGCG			3927	3923	3985	4094
22 Sites				3932	3983	4094	4685
494	1273	1854		3941	3983	4094	4694
2169	2257	2281		3951	3983	4094	4703
2445				3961	3983	4094	4712
3039	3045	3047		3971	3983	4094	4721
3062	3100	3222		3981	3983	4094	4730
3747				3986	3983	4094	4739
3783	3798	3970		3991	3983	4094	4748
4134	4169	4209		3996	3983	4094	4757
4310				4001	3983	4094	4766
4439	4464			4001	4071	4104	4775
HaeII	GGCCY			4024	4292	4301	4784
7 Sites				4047	4292	4301	4793
12	1657	2027		4056	2507	2559	4801
3218	3291	4247		4065	2643	2724	4812
4373				4074	2643	2724	4821
HaeIII	GGCC			4074	4024		4822
29 Sites				4075	4024		4823
55	772	1175		4076	4024		4824
1423	1857	1875		4077	270	1134	4825
1886				4077	1540	2446	4826
2268	2469	2662		4078	2533		4827
3073	3155	3235		4082	2862	4196	4828
3447				4083	2862	4196	4829
3525	3576	3678		4084	33 Sites		4829
3752	3766	3953		4085			4830
4102				4085			4831
Mosaic and Group M Gag_dmyr-patent.doc				4085			4832

【 図 22-24 】

【 図 2-2-23 】

1 Site	2668	2977	3020	3975
3505	CGATCC	3157	3189	3231
PvuII		3232		XbaI
1 Site		3522	3551	CTCGAG
3490		3762	3763	3078
RsaI	GTAC	3858		XbaII
11 Sites		3836	4002	RGATCY
555	2033	2263	4071	7 Sites
2330	2604	2684	4140	458
2717		4194	4140	1245
2768	2925	3174	4292	1256
3918		4420	4102	3868
SacI	GAGCTC	4671		4393
1 Site		5dNII		
3553		652	1587	
SacII	CGCGGG	2953	3075	
5 Sites		3760		
2282	3040	3783	3745	
4311	4465		3754	
SalI	GTCGAC	3955	3864	
2 Sites		4107		
3049	3978			
Sau3A	GATC	1123	587	
27 3458		1049	3022	
188	193	3107		
1237	1245	458	3515	
1331		1635	3725	
2970	3026	3142	4055	
3265	3161			
3487		4152		
3562	3786	3853	3 Sites	
3868	3883	3904	3232	
4084		3904	3763	
4210	4249	4393	4105	
4489	4553	4599		
Sau96A	GGNC	2384		
29 Sites		SphI		
122	587	GCATGC		
1049	1174	2266		
2468		1 Site		
2661	3022	3071	2853	
3072	3107	3233		
3515		2 Sites		
3635	3725	3750	3681	
3735	3764	3951	4812	
3952		2 Sites		
4055	4101	4152	4812	
4238	4280	4303	55	
4304		3 Sites		
4454		StyI		
SceFI	CCCGG	3576		
33 Sites		CGWWGG		
1120	1120	1520	3050	
1120	1120	1520	3079	
1120	1120	1520	3364	
1120	1120	1520	3400	
1120	1120	1520	3456	
1120	1120	1520	3520	
1120	1120	1520	3550	
1120	1120	1520	3574	
1120	1120	1520	3620	
1120	1120	1520	3650	
1120	1120	1520	3680	
1120	1120	1520	3708	
1120	1120	1520	3735	
1120	1120	1520	3755	
1120	1120	1520	3775	
1120	1120	1520	3800	
1120	1120	1520	3820	
1120	1120	1520	3840	
1120	1120	1520	3860	
1120	1120	1520	3880	
1120	1120	1520	3900	
1120	1120	1520	3920	
1120	1120	1520	3940	
1120	1120	1520	3960	
1120	1120	1520	3980	
1120	1120	1520	4000	
1120	1120	1520	4020	
1120	1120	1520	4040	
1120	1120	1520	4060	
1120	1120	1520	4080	
1120	1120	1520	4100	
1120	1120	1520	4120	
1120	1120	1520	4140	
1120	1120	1520	4160	
1120	1120	1520	4180	
1120	1120	1520	4200	
1120	1120	1520	4220	
1120	1120	1520	4240	
1120	1120	1520	4260	
1120	1120	1520	4280	
1120	1120	1520	4300	
1120	1120	1520	4320	
1120	1120	1520	4340	
1120	1120	1520	4360	
1120	1120	1520	4380	
1120	1120	1520	4400	
1120	1120	1520	4420	
1120	1120	1520	4440	
1120	1120	1520	4460	
1120	1120	1520	4480	
1120	1120	1520	4500	
1120	1120	1520	4520	
1120	1120	1520	4540	
1120	1120	1520	4560	
1120	1120	1520	4580	
1120	1120	1520	4600	
1120	1120	1520	4620	
1120	1120	1520	4640	
1120	1120	1520	4660	
1120	1120	1520	4680	
1120	1120	1520	4700	
1120	1120	1520	4720	
1120	1120	1520	4740	
1120	1120	1520	4760	
1120	1120	1520	4780	
1120	1120	1520	4800	
1120	1120	1520	4820	
1120	1120	1520	4840	
1120	1120	1520	4860	
1120	1120	1520	4880	
1120	1120	1520	4900	
1120	1120	1520	4920	
1120	1120	1520	4940	
1120	1120	1520	4960	
1120	1120	1520	4980	
1120	1120	1520	5000	
1120	1120	1520	5020	
1120	1120	1520	5040	
1120	1120	1520	5060	
1120	1120	1520	5080	
1120	1120	1520	5100	
1120	1120	1520	5120	
1120	1120	1520	5140	
1120	1120	1520	5160	
1120	1120	1520	5180	
1120	1120	1520	5200	
1120	1120	1520	5220	
1120	1120	1520	5240	
1120	1120	1520	5260	
1120	1120	1520	5280	
1120	1120	1520	5300	
1120	1120	1520	5320	
1120	1120	1520	5340	
1120	1120	1520	5360	
1120	1120	1520	5380	
1120	1120	1520	5400	
1120	1120	1520	5420	
1120	1120	1520	5440	
1120	1120	1520	5460	
1120	1120	1520	5480	
1120	1120	1520	5500	
1120	1120	1520	5520	
1120	1120	1520	5540	
1120	1120	1520	5560	
1120	1120	1520	5580	
1120	1120	1520	5600	
1120	1120	1520	5620	
1120	1120	1520	5640	
1120	1120	1520	5660	
1120	1120	1520	5680	
1120	1120	1520	5700	
1120	1120	1520	5720	
1120	1120	1520	5740	
1120	1120	1520	5760	
1120	1120	1520	5780	
1120	1120	1520	5800	
1120	1120	1520	5820	
1120	1120	1520	5840	
1120	1120	1520	5860	
1120	1120	1520	5880	
1120	1120	1520	5900	
1120	1120	1520	5920	
1120	1120	1520	5940	
1120	1120	1520	5960	
1120	1120	1520	5980	
1120	1120	1520	6000	
1120	1120	1520	6020	
1120	1120	1520	6040	
1120	1120	1520	6060	
1120	1120	1520	6080	
1120	1120	1520	6100	
1120	1120	1520	6120	
1120	1120	1520	6140	
1120	1120	1520	6160	
1120	1120	1520	6180	
1120	1120	1520	6200	
1120	1120	1520	6220	
1120	1120	1520	6240	
1120	1120	1520	6260	
1120	1120	1520	6280	
1120	1120	1520	6300	
1120	1120	1520	6320	
1120	1120	1520	6340	
1120	1120	1520	6360	
1120	1120	1520	6380	
1120	1120	1520	6400	
1120	1120	1520	6420	
1120	1120	1520	6440	
1120	1120	1520	6460	
1120	1120	1520	6480	
1120	1120	1520	6500	
1120	1120	1520	6520	
1120	1120	1520	6540	
1120	1120	1520	6560	
1120	1120	1520	6580	
1120	1120	1520	6600	
1120	1120	1520	6620	
1120	1120	1520	6640	
1120	1120	1520	6660	
1120	1120	1520	6680	
1120	1120	1520	6700	
1120	1120	1520	6720	
1120	1120	1520	6740	
1120	1120	1520	6760	
1120	1120	1520	6780	
1120	1120	1520	6800	
1120	1120	1520	6820	
1120	1120	1520	6840	
1120	1120	1520	6860	
1120	1120	1520	6880	
1120	1120	1520	6900	
1120	1120	1520	6920	
1120	1120	1520	6940	
1120	1120	1520	6960	
1120	1120	1520	6980	
1120	1120	1520	7000	
1120	1120	1520	7020	
1120	1120	1520	7040	
1120	1120	1520	7060	
1120	1120	1520	7080	
1120	1120	1520	7100	
1120	1120	1520	7120	
1120	1120	1520	7140	
1120	1120	1520	7160	
1120	1120	1520	7180	
1120	1120	1520	7200	
1120	1120	1520	7220	
1120	1120	1520	7240	
1120	1120	1520	7260	
1120	1120	1520	7280	
1120	1120	1520	7300	
1120	1120	1520	7320	
1120	1120	1520	7340	
1120	1120	1520	7360	
1120	1120	1520	7380	
1120	1120	1520	7400	
1120	1120	1520	7420	
1120	1120	1520	7440	
1120	1120	1520	7460	
1120	1120	1520	7480	
1120	1120	1520	7500	
1120	1120	1520	7520	
1120	1120	1520	7540	
1120	1120	1520	7560	
1120	1120	1520	7580	
1120	1120	1520	7600	
1120	1120	1520	7620	
1120	1120	1520	7640	
1120	1120	1520	7660	
1120	1120	1520	7680	
1120	1120	1520	7700	
1120	1120	1520	7720	
1120	1120	1520	7740	
1120	1120	1520	7760	
1120	1120	1520	7780	
1120	1120	1520	7800	
1120	1120	1520	7820	
1120	1120	1520	7840	
1120	1120	1520	7860	
1120	1120	1520	7880	
1120	1120	1520	7900	
1120	1120	1520	7920	
1120	1120	1520	7940	
1120	1120	1520	7960	
1120	1120	1520	7980	
1120	1120	1520	8000	
1120	1120	1520	8020	
1120	1120	1520	8040	
1120	1120	1520	8060	</td

3445
GILLETS EGGRCQILGQL
DKTQQAKAADGKVQSQN
TPQDNLNTMLNTIGGHQ
QEIQGWMTSNPPPIPVG
QASQEVKNNWMTETLLV
DQPNIMMMQRGNFKGQKR
WPSNKGRPGNQLQSRP

Mosaic and Group M Gag_dmyr-patent.doc

【図22-24】

HV13309 (Gag-M4.1Dmyr.wlv)
 CTCGACAAGAAAATGCGCCGGCCCTCGGTCCTAGGGGGGAGTTGGATCGGTG
 GGGAAAGATCGCTTGTAGGCCGAGGGAAAGAGAAGTACAAGCTCAAGCACATCGTCT
 GGGCGCAGCAGAGCTCGAGGGCTTGCAGGGCTCAACCGGGCTCTGGAGACATCGGAG
 GGCTGTCGGCAAATCTGGGGCAGCTTCACCGTCTTGCACAAACGGGAGCAGGAGCT
 GCGATCGCTATACACACGGCTAGCGCTCTTACTGCGTGCACCGAGATCGACGTC
 AGGACAGCAGGAGGGCTTGTAGAGGAGGAGCAGAACAGTCGAGCAGAAG
 CGACGAGCAGGGCAAGGGCAGACGGAAACTATCTCAGAACATCCGGATTCGAGAAG
 CGCGCAGGGACAGATGGTCACAGGCCATCTCCCACGGACGTTAACGCTGGTCA
 AAGTAATCGGAGAGAGGGATTCAGCGGAGGATCTGGTACCTTCATGTTCTCGGCACTTGGC
 GAGGGGGACCCCGCCCGAGGACCTTGTAGAACAGCTTGTGACACCATGGGGGGACCGGG
 GGCATGCGAGATGCTTAAAGCACCATCAACGAGGAGCTGGGGAGTGGGAGCCGCTTC
 ACCCGGTGTCAGGCGGGGCCGCTCGGCCGGGCAAGATCAGAGGGAGCCGGGAGTCGGAC
 ATCGCGGGAAACACCAGCAACTCGGGAGGACAAATCGGGTGGATGACTTCGAACCCCC
 GATTCGGGCTGGGGACATCTCAAGAGATGGATCATCGGGTTGAAACAAGATCGTGG
 GGATGTACAGCCCAGCACAGCATCTGGACATCCGACAGGGACCGAAGGAGTCGTTCAAGA
 GACTCTGGAGACGGGGCTTCTCCGACTTCGGCGGAGCAGCCGCTCCAGGAGCTCA
 GAACTCTGGATAGCGGAGACCTTTTGTGTCAGAACCTGCAACGGGAGCTGGAGAC
 TGAAGGCTCTCGGCCCCGGGGCGACGTTGAGAAGAGATGATGACGGCGTGCAGGGAGT
 GGGGGACCCGCCAAAGCGGGGCTTGGGCCAGGGCGATGGGAGGCTGAGCAGGCC
 GAATCATCTGATGAGCGGGGCAACTTCAGGGAGCAGAGCGGATCAAGTGTTCACCT
 TGTGGCGGGGGGACACCTCGGGAGGACTCGGGCCCCGGGAAGAGGGCTCGTGG
 AAGTGCAGGGAGGGAGGGCACCCTAAAGTGAAGGACTGCAAGGGAGTCAGGCAAGGG
 CGGGAAAGATCTGGCCCTCAACAAAGGGGGCCAGGGAACTTCTTCAGAACAGCGGCC
 AGCGCTGGGGCCGGGGGGCTTGTGGGTCAGGGGGAGGAGATCAGCGGCTTCGAG
 AAGCAAGAGCAAAAGGACAAGGAGCTACCCCTTGCCTCCCTCAAGTGCCTTCGG
 AACGAGCCGCTTCGAATGATACTAGGGATCTGATCAGGGGGCC

HV13309 in HV10001, 4836bp
AAATGGGGCGCTGAGGTCTGCCTCGTGAAGAAGGGTGTGCTGACTCATACCAGGCTGAAATCG
CCCCATCATCAGCGAACAAAAGTGGAGGCGACCGACCTGTGATGAGAGCTTGTGTTAGGGACCA
GTTGGTGTATTTCGAACTTGTGCGGACAGCTGCGGTGTCGGAAAGATGCGTGGATC
TGATGCTTCAACTCGAACAAAAGTGTGATTATTCAACAAAGCCGGCTCCGGTCAAGCTAGCG
AATGCTGTCGCACTGTTACACRAAATTAACCAARTCTCGGCTTAAATTAGTGTGCTTGTGACA
CATCACAATATACTGGTGTGTTCTGTCACCTCTCGAATCCCATTCCGAAAATTTCTAGCGA
TTCCGAAAGATTTCTCAGAGTCGTTAGTGGACACATTCAGGAATCTGGCAAGATGTGCTCAT
CCTGAGGGAGATCTGTCATGTTCAACTGCTCTGAGTAAAGCCGACCGCTCGCTGATTAACAGA
TGGCGATGATCAGACCAATCAACATGGCACCTGCATTGCTACCTGTGACTAGTCAGGATGTGAG
AAATGTTGTTGGCTTCGTCACGAAATTATTCACCCATTGGCTGCTGATTAACACCGCTTCT
ACGATAAGGGCAAAATCCCATCTGGAAAGCTTTGGGCTTCACGGATTAGCAGTTGGTATCA
CTTCTCTAAGTATCCACCTGAAATCATTAATCGCAAATAGAGAAAATTCTACCATGTTAAAG
CGGGCAACTCTGATTTCCACCTGGATGATGATCATATCTAGATAACCTTGTGCTCTGATCAA
TCTACCATCTTCCACATCCACGGTTCTGCAATTGCTGCAACTCTGCTTCTGCTGATCAA
ACATCATCTCATATCCGAATACGGACCCATGCTGTCAGCAGCCAAAGAGGCCATAACACCAA
AGCCCTTAACCATCTCCCATATTTATCCAAATCTGCTGCTGATTAATCTGAAACATCTCAT
CTTCTCTCTAGTCATTATTATGGCTGCTGCTGATTAACACCCCTGTTAGTACTGTTTATGAA

Mosaic and Group M Gag_dmyr-patent.doc

6

Mosaic and Group M Gas dmvr-patient do

【図22-26】

GTCAAGAACCTGGATGACGGAGACCTTGTGGTCAGAACCTGAACTGACCCGGACTGCAAGAC
CATCTCTGAAGGCTCTCCGGCCGGCGGACGTTGGAGAGATGTGACGGCTTCGAGG
GAGTCGGGGACACGGCCGGCAAAAGGGCGGGCTTGGCGGAGGGCATGAGCCGGT
CAGGGCAACATCATGATGCGAGGGGAACTTCAGGGACAGAACGGATCAAGTGT
CAACTGTGCGAGGGAGGACACTCGCCAGGAACCTGGCGGGCCCGGGAAAGAGGCT
GCTGAGGTGGAGGGAGGGAGGACCAAACTGGAGGACTGCACGGACTGAGGGAAAT
TCTCTGGAGAATCTGGCCCTTCAACAGGGGGCCGGAGGAACTTCTGCAAAAGGG
GCGGGAGCGTGGCCCCGGCGGGAGTCCTTGGGTCGGGGAGGAGATCACGCC
CCGAGAACAGAACAGAACAGGAGTCCTACCTTCCTGCTCCTCAAGTCGTC
TCGCGAACCCAGGGCTTCCTGCAATGATAAGGTCAGGGACTCTGCTCCT
TGATCGCCCTGACTGTGCTCTGAGCTGGCAGCCATCTGTTTGGCCCTCCCCGGCT
CTTGTGACCTGGAGGCTCAGGCTTCAACTCCACTGTCCTTCTTAAATAAATGGAGG
TGTGTCAGGAGTGGTGTCTTCTTCTTCTGGGGGTGGGGCAGGACAGGAAGGGGGAG
TGGGAAGACAATAGCAGGCGATCTGGGAAATT

Thursday, August 2, 2007	1 Site	4584	4185	4280	4408
Sequence 0 Length : 4836	Bank	GGYRC	BBHII	GGCGC	
5 Sites	5 Sites	538 2850 3658	4 Sites	3098 3100	
AtIII 2510 2563 2646		4333 4690		4599	
2812 3370	BankII	GRGCYC	BBNJI	CCWGG	
AccII GTMKAC	7 Sites	2952 3075 3211	18 Sites		
2 Sites		3746 4295 4539		1738 1751	
3055 3170		4608		2872 2475 2666	
AcIII TCCCGA	8 Sites	951		2377	
1 Site	BelII	TGATCA			
3982		4590 4612		3542 3663 3927	
AfIII CTTAAG	14 Sites	CCSGG		4131	
1 Site		4604			
3681		1173 1521 3021		4135 4280 4408	
AfIII ACRYGT	13 Sites	3232 3233 3577		4604	
1 Site		1730			
1897		3755 3850 3994		352101 RCCGGY	
16 Sites	BelII	4096 4148	5 Sites		
109 633 1340		4251		3447 3718 3973	
1587 1643 1733		951			
1959		4590		4416 4448	
2184 2951 3179	4 Sites	4275 2597 2668	7 Sites	4521 YGGCCR	
3209 3278 3331		4449			
4517	2 Sites	4812			
4578 4606		4812		4168 4385 4404	
AluII CAGNNNTCTG	13 Sites	AGATCT			
4 Sites	BglII			4428	
1488 2129 3629		BglII ⁸⁶⁶ GGCCHC			
4285		13 Sites		4121 ATCGAT	
AcIII GRGCYC	13 Sites	652 1587 2085		2287	
7 Sites		3385 3075 3211			
2507 2560 2643		3745 4295		DdeI CTNAG	
2821 2983 3367	3 Sites	4336 4514 4608	13 Sites		
4005		BspNII		711 12 204	
Apal		TCATGA		787 1114 1611	
3 Sites		4801		2085 2158 2229	
3075 3745 4295	1 Site	1105 4204			
ApalII		BspNII		3111 4647 4744	
3 Sites		CCCGA			
1583 2081 3351	18 Sites	CCWGG			
AmuII TTCCGA		52 1738 1751		3144 3317 3163	
1 Site		1872 2475 2666		3480	
3834		2977			
Avai		3157 3270 3813		3585 3762 3779	
3 Sites		3542 3663 3927		3846 3876 3897	
3210 4374	4 Sites	4111		4280 4433 4479	
BamHI		GGATCC		4592 4614	
				DraII	CACNNNTG

Mosaic and Group H Gag_dmyr-patent.doc

【図22-27】

GATTGAGGAAGGCAAGAACAGATCCAGCAGAACGCGCAGGGCAAGGGCAGACGGCAA
 GTATCTCGAACTACCCGATCGTCAGAACATCCAGGGACAGATGGTCACCGCCGATCTCCC
 CACGGCGCTTAACCCCTGGGTCAGAAGTAGTCAGGGAAAGGCATTCAAGCCGGAAAGTGTACCC
 CATGTTCTACTGACTTACGGACGCCAACCCCGACGGACCTAACAGCTATGGTCAGACGGCTC
 GGCGGCACAGGGGCCATCGACGCTTAAAGGACACATCAACAGGGGGCTCGCAGGCTTGG
 ACGCGCTTCACCCGGGTGACCGCGGGCCCGTGCAGCAGGGCCAGATGAGAGAGCGCGGGGATC
 GGACATGGGGGAACCCACAGGCTTCAGGGACCAACTCGGGTTGAGTACTAACACCCCG
 ATCCGGCTGGGGGAATCTCAGGAGATCTCAAGAGATGGATCATCTGGGACATCAAGCAGGGAC
 ACAGCCCAGTCAGCATCTGGACATCAAGCAGGGACGAAGGAGTCGTTAGAGACTACGTGCA
 CGCGGTTCTCAAACTGCTCCGGGGGAGACGGCGCAGGGACAGCTGAAGAACTGATGAGCAGAC
 AACCTTGTGATCCTCAAAAGCAGGGACACCCGAGCTCAAGTGCATCTGGGGCTTCAGGGGG
 CGAGTGTGGAAAGGATGATGACGGCGTGCAGGGAGTCGGGGGACCTCCACAAAGGGCGGATC
 CTGGCGAGGGAGCTGATCAGTCAAGTGCATAACAGCGCAGCACCATGATGCGAGGGCAACTTC
 CGNACAGCGGAAAGACGGCTGAAGTTCAACTGTGCGAAAGGGGACACCTTCAGGAGGAG
 GCAAGGCCCCGGGAAAGGGGGCTGGGAAGTCGGAAGGAGGGGCAACAAATGAGGAGTG
 CACGGACCGGCGGCGGAACTTCTCGGGAAAGTCTGGGGCTTCAGGAAAGGGCGGCGGAG
 TTCTCGGAAAGCGGCGGCGGAGCGCAGGGCCCGCGAGGAGTCCTTCGGTTGGGAGGAG
 CGACGGACGGCTTCAGGAAAGCAGGGATCGACAAGGGAGCTCTCCCTTCAGGGCTCC
 FTGCGCTTCTGGCAACAGCGGCTCGCAAGCGCTGCTGATAAACCTAGGGATCCGGGGCGCC

Gag_M4.2_Dmyr
MAARASVLSGGKLDAAWEKIRLRRPGGKKYVRLKHLVWASRELDRFALNPSLLETAECKQIMKQI
QPKALFQVQKQVQKQVQKQVQKQVQKQVQKQVQKQVQKQVQKQVQKQVQKQVQKQVQKQVQKQVQ
YIVQVONIQCMVHQPISTRLNAWVKKVVEEKFASPEVIMFTALSDGATPQDLSNMSLNAVGCHV
AAMQILKDTINNEAADWDRLLPHVAGPVGMRERPGSDIAFGTTSLQEIQWGMVNTPPIPV
E1YKQKWLGLNQKQKWLGLNQKQKWLGLNQKQKWLGLNQKQKWLGLNQKQKWLGLNQKQ
VPSLIDLQKQPKESFREDYVDRFFKVLRAEQATQDVKNWMTDQKQKWLGLNQKQKWLGLNQ
QNANPDKWCLSLRALGPQATLEMMTAQCGVGVGSHKARLIAABAMSQVNTNSATIMMQRGNFRNQF
KTVKFCNGKEGKHLNRAKCPRAKRCGKWCNGKEGKHLNRAKCPRAKRCGKWCNGKEGKHLN
PPEPFTDPPEFSFEEFGETTPTPSOKOPIKDEYVPLA1SL1EFGNDPSSSOAS

HV13316 (Cag_M4.2 Dmyr.wlv) cloned in to XbaI
GTCGAGAAGAAAATGCCGCTCGGCCCTCGCTTACGGGGGCGAACATTGGATGCGTGGAAAA
AGATCCGCTTACGGCCAGGAGGAGAAGAGTACCCGCTCAAGCACCTTGTCTGGCGAGCAG
AGAGCTTCAGCCCCCTGGCGCTAACGGCTCGCTCTGAGACAGCCGGAGGGCTCGAACAAAT
ATGAAGCAGCTTACACCGCGTCAAGACGGCAGCGAGGCTGAAGCTGGCTAACACAGCG
TAGCGGCCCTACTCGTCGACAGAGATCAGCTCACGAGCTAACAGGAGGCTCTTCGCA

Mosaic and Group M Gag dmyr-patent.doc

【 図 2 2 - 3 0 】

GCATGCTGGGGATTT
Thursday, August 2, 2007 Sequence 1 Length : 4816 AatII GACGTC
6 Sites

Mosaic and Group M Gag_dmyr-patent.doc

【図22-31】

2510	2563	2646	3632	3707	3716	3596	3686	3912
2832	3341	3989	4059	4113	4330	4113		
AccI	GTINAC		4499			Eco1019	RGGNNCY	
1 Site			4588			4 Sites		
3941			BspHII	TCATGTA		3597	3712	4114
AccII	TCCCGA		4 Sites			4268		
1 Site			1007	1105	3239	Eco1011	CCWGG	
4199			4178			17 Sites		
AFII	CTTAAG		BspMII	TCCCGA		50	1736	1749
1 Site			1 Site			1870	2473	2666
3652			4199			2975		
AFIII	ACRYGT		BspNI	CCWGG		3126	3464	3531
1 Site			17 Sites			3632	3851	3895
1897			52	1738	1751	4104	4255	4383
ApaI	AGCT		2977	2475	2668	EcoRV	GATATC	4662
109	1093	1340	3128	3466	3513	FnuHII	GCNCG	
1597	1643	1713	3624	3853	3898	27 Sites		
1959			4102	4257	4385	1484	234	769
2184	2951	3180	3241	3651	3899	1492	1557	
3245	3282	4497	3654	3853	3898	1700		
4596			2 Sites			1855	2170	2197
AluI	CAAGNNCTG		BstNI	CCWGG		1994	2120	2250
4 Sites			17 Sites			2279		
1488	2129	3600	52	1738	1751	2282	3065	3208
4262			1872	2475	2668	2282	3247	3406
AspAI	GRCCYC		2977	3466	3513	3638		
2507	2560	2663	3128	3466	3513	3677	3742	4186
2829	2983	3338	4102	3853	3898	4287	4336	4381
3986			4257	4385	4664	FnuDII	CCCG	
ApAI	GGCCCC		CtrI01	RCGGGY		21 Sites		
1 Site			7 Sites			494	1273	1954
3716			847	3146	3185	2163	2257	2281
ApalI	GTGCGC		3255	3689	3944	2445		
1583	2081	3122	4403			3039	3045	3047
3703	4326		CtrI	YGGCCC		3072	3193	3199
Avai	CYCCRG		769	3638	4139	3721		
2 Sites			4162	4381	4405	3744	3760	4027
4365			ClaI	ATCGAT		4132	4171	4175
BamHI	GUATCC		1 Site			4579		
1 Site			2287			HaeII	RCCOCY	
4570			DdeI	CTNAG		3 Sites		
BamI	GGYRCG		14 Sites			12	1657	2027
5 Sites			71	787	1234	HaeIII	GGCC	
538	2150	3629	2088	2158	2229	22 Sites		
4375	4670		3082	3437	3574	1435	55	771
BamII	GRCCYC		4724			1423	1857	1875
6 Sites			DpnI	GATC		1886		
2953	3182	3716	28 Sites			2268	2469	2662
4059	4499	4588	190	195	460	3226	3640	3714
BclI	TGATCA		1335	1247	1258	3728		
1 Site			1335	1247	1258	4064	4141	4270
4592			1335	1247	1258	4365	4383	4407
BpuI	CCSGG		2972	3028	3115	4420		
11 Sites			3324	3391	3451	HpaII	GGNCWC	
1173	1521	3021	3490			9 Sites		
3548	3701	3726	3556	3649	3750	1587	2085	2953
3825			3817	3823	3847	3162	3326	3707
3965	4034	4067	3868			4330		
4082			4018	4048	4135	4493	4588	
BglI	GCCNNNNNGC		4260	4446	4572	HhaI	GGCC	
5 Sites			4594			20 Sites		
2475	2597	2668	4594			11	496	
BglII	AGACGT		2972	3028	3115	BpuI	GGNCWC	
3 Sites			3324	3391	3451	3324		
458	3830	4158	1161	3702		3597		
BpuI	GGGCRG		Eco472	GGCC		3723		
15 Sites			11 Sites			3195	3723	4131
552	1587	2085	122	586	919	HincII	GTYRAC	
2953	3182	3274	1048	3021	3077	4173	4579	4881
3322			3476			4 Sites		

Mosaic and Group M Gag_dmyr-patent.d

【図22-32】

413	886	2369	3964	4013	4066	3940	GATC
1842	GANTC		4066			0aa3a	
HinfI			MacI	CCATGG		28 Sites	
16	Sites	1	Site			188	193
43	59	357	2745			1237	1245
383	401	725	779	Hdrl	CATATG	1331	
807	1527	1923		2 Sites		2970	3026
1998	2222	2795	2076	2619		3332	3389
3924			WbaI	GCTAAC		3486	
1106	4412		1 Site			3554	3647
HindIII	GGCC		4554			3835	3830
20	Sites	MacII	CATG			3866	
9	494	1271	19 Sites			4016	4046
1380	1854	1654	538	762	864	4133	
1721			892	1011	1109	4158	4484
1991	2024	2167	1301	2219	2349	4555	
3240	3043	3045	3367	2685	2794	5aa3a	GGGCC
3073			3243			21 Sites	
3193	3721	4129	3564	3612	3645	123	587
4169	4577	4579	4182	4505		1049	1174
HpaII	CCGG		MacIV	GGNCC		2468	
25	Sites	22	Sites			2661	3022
848	1172	1129	92	540	1830	3477	3597
1353	1545	1692	1869	2852	3023	3687	3713
3019			3585			3726	3913
3147	3186	3256	3631	3688	3713	4063	4114
3630	3690	3700	3714	3765	3914	4419	
3724			4116	4204	4271	8cpII	CCNGG
3820	1945	3963	4136	4412	4431	28	Sites
4003	4066	4200	4572			52	1172
4404			4672			1738	1751
4408	4426	4518	NruI	TCGCGA		2475	
4574			1 Site			2668	2977
MacI	CTAG		1901			3128	3466
7	Sites	MacII	CGCC			3547	
378	801	1034	1314	2527		3584	3700
2144	2085	4565	1 Site	ATGCAT		3725	
4514	ACGT		1 Site			3820	3853
MacII			1 Site			3898	
14	Sites	796				1964	
669	1160	1196	Nep524I	RCATGY		4033	4066
2305	2507	2519	3 Sites			4102	4257
2506			1901	3612	4805	4664	
1643	2724	2829	MacII	CGCC		5aa3a	GGGCC
3338	3938	3986	8	Sites		15	Sites
4075			1314	1559	2281	551	1587
MacII	GTNAC		3039	3744	4188	2953	3182
10	Sites	4209				3226	
270	1134	1361	4275			3633	3707
1477	1540	2446	PspI	RGGWCCY		3716	
2533			2 Sites			4059	4313
2882	4151	4158	3557	4124		4330	
WbaI	CCNGG		PstI	RGCGNCY		4495	
28	Sites	3600	3715	4117		4588	
52	1172	1520	4722			5aa3a	
1786	1751	1872	1 Site	CGATCG		5681	
2465	2977	3020	3452	4487		5700	
3228	3466	3513	Real	GTAC		5881	
3547			11	Sites		5911	
3634	3700	3725	559	2093	2263	6067	
3820	3853	3898	2330	2604	2884	5aa3b	TACGTA
3964			2710			3125	
4033	4066	4067	3268	2925	3145	3477	
4102	4257	4385	3890			3597	3687
4664	GGCCGC		SeI	GAGCTC		3913	
MacI			3953	3182	4499	3961	
1	Sites	4551				4085	
NCII	CCCGG		5aa3I	CCCGGG		4091	
11	Sites	2882	3040	3745		4125	
1172	1520	3020	4276			4163	
3547	3700	3725	5211	GTGCGAC		4201	
3820			1 Site			4455	

Mosaic and Group M Gag_dmyr-patent.doc

【 図 2 2 - 3 3 】

Sty1	CCGGGG	Tttttttt	GACNNNNTC	1 Site
1 Site		1 Site		4065
2745		3937		XmaIII
Tag1	TCGA	XbaII	RGATCT	1 Site
12 Sites		10 Sites		4405
216	1799	2287	458	XbaI
3050	3182	3335	1245	GAANNNNTC
3527		3313	1256	3 Sites
3941	4045	4372	3389	611
4487	4601		3647	3536
			4570	4225
		XbaI	CCCCGG	

```

Primer:
Gag_M2-4 - fG/C:
GGGCCTCGAGAAGAAAATGGCGGCTCG

Gag_M4.3 Dmyr
MAARASILRGKGLDKWEKIRLRLPGGKKRYMLKHLIWIASRELERFALNPGLLETAEGCQQIIEC
QSTLTKTGESELKSLFNPNTVATLYCWHQRIEVWDTKELDKVEEBQNSKKKAQQAADTGNSQ
SNQYVPIVNLQGQMVHQALSPRTLNNAWVYIEEKAFPSPEIIPMFATLSEGAATPSDLNTMLNT
GHOQAMAMQLMKTIDNEEAAEWDVRPHVPHGQIPPCQMRPREGSIAETTSSLQEQIAWNTSPN
PVGEIYKRWIVLNLKVNMPYMSPVSLIDRQGPKPEPFRDVRVDFFKTLRAEQAOSDQVNMN
LLVQVANPDCKTILRLALPGGASLLEMMTCAGVGGPSHKARVLAEAMSQTSNAILMQRNSNFK
KRIVKFCNCFGKEHIGRANCRPRAKRGCCQCEQHGKMDCNERQANFLGIKWMHSGRGPNTF
NRPPTPAFPETTAAPAEFSFEETTAPPAKOKBDREPLTSLKSLSLFGSDPLSOS

```

www.astro.umd.edu/~brown/color/

HV13317 (Gag_M4.3 Dmyf.WIV)
CTGCCAGAAGAAAATGGCCGCTCGCCGCTCGATCCTTCGAGGGGGCAAGTTGGATAAAGTGGGA

Gaq M4.3 Dmyz

Mosaic and Group M Gag_dmyr-patent.d

【図22-34】

CTCCCTCAAGTCGCTTCGCGACCCGTTTCGCAAGCGTCG **TGATAAGCTAGCGGATCC**
GGCCCGC
AsCl NheI
Need re-create **Xba**I site at the 5' end

Mosaic and Group M Gag_dmyr-patent.doc

【図 22-35】

Thursday, August 2, 2007		2184	2951	3180	6 Sites
Sequence 2	Length : 4824	3249	3282	3785	3201 3600 3862
		447			4074 4354 4429
		4573	4594		
AspII	GACOTC	4 Sites	CAGNNCTG		
5 Sites				1 Site	
2510	2563	2646	1488	2129	3471
2832	3998		4265		
AccI	GTTAAC	AccI	GRCGTC		
1 Site		7 Sites		538	2850 3638
3950		2507	2560	2643	4311 4676
AfIII	CTTAAG	2823	3983	3985	6 Sites
1 Site		3995			2953 3725 3935
3661					
AfIII	ACRYGT	Apal	GGGCC		
1 Site		2 Sites		4275 4499	4596
1897		3725	4275		
AluI	AGCT	Apal	GTTCAC		
16 Sites		5 Sites		4600	
109	633	1340	1583	2081	3322
1597	1643	1733	3701	3712	
1959					
		AspII	TTCGAA		
		1 Site		3203 3204	3557
				2701	
		Avai	CYCGRC		

Mosaic and Group M Cag dmyr-patent.doc

【 図 2 2 - 3 6 】

【図22-37】

52	1172	1520	1314	1559	2281	3823	3829	3907
1738	1751	1872	1019	3220	3330	3973	4042	4075
2475			3753			4076		
2668	2977	3020	4191	4278		4111	4260	4276
3128	3202	3203	PpuM1	RGGWCY		4342	4388	4672
3493			1 Site			8dM1	GDGCHC	
3522	3556	3643	4123			14 Sites		
3700	3709	3734	Ppu1	RGGNCY		152	158	208
3804			4 Sites			2953	3326	3641
3823	3829	3907	3498	3724	4126	3716	3735	3931
3973	4042	4075	4275			3707		
4076			Pet1	CTCACG		4275	4316	4499
4111	4260	4270	1 Site			4596		
4342	4388	4672	3476			81h1	GGGCC	
NheI	GCGGC		PvuII	CGATCG		13 Sites		
1 Site			1 Site			123	123	
4446			3461			1049	3022	3486
NheI	CCCGG		3461			3696		
16 Sites			Real1	GTAC		3825	3922	402
1172	1520	3020	10 Sites			4123	4193	4503
3202	3203	3556	559	2093	2263	3825		
3700			2310	2604	2684	3825		
3709	3734	3823	2711			3825		
3823	3973	4042	2768	2925	3889	3825		
4075			3491	3497		3825		
4076	4270		3493	4499	4596	3825		
NcoI	CCATGG		3493	CCGGCG		3825		
1 Site			4 Sites			3825		
2745	CATATG		3493			3825		
2 Sites			3493			3825		
2016	2619		3493			3825		
NheI	GCTTAC		3493			3825		
1 Site			3493			3825		
4573			3493			3825		
NlaIII	CATG		3493			3825		
18 Sites			3493			3825		
510	762	864	188	193	458	603	603	991
892	1011	1109	1237	1245	1256	892	892	892
1901	2210	2349	1311			55	55	55
2367	2689	2749	2799	3026	3077	3547	3547	3547
3150			3113	3161	3332	3547	3547	3547
3573	3654	4188	3458			3547	3547	3547
4113			3757	3839	3854	3547	3547	3547
NlaIV	GGNRCC		3875	4217	4361	3547	3547	3547
24 Sites			3875	4217	4361	3547	3547	3547
92	160	1830	4579			3547	3547	3547
1869	2852	3023	4600			3547	3547	3547
3594			3493			3547	3547	3547
3640	3697	3722	3493			3547	3547	3547
3723	3774	3827	3493			3547	3547	3547
3923	3932	4124	3493			3547	3547	3547
4273	4274	4315	3721			3547	3547	3547
4424			3721			3547	3547	3547
4542	4581	4680	3721	3735	3825	3547	3547	3547
NruI	TCGCGA		3922	4026	4072	3547	3547	3547
1 Site			4123	4271	4272	3547	3547	3547
2257			4193	4271	4272	3547	3547	3547
NsiI	ATGCAT		4422	4503		3547	3547	3547
1 Site			4593	CCGG		3547	3547	3547
796			4671			3547	3547	3547
Map75241	RCATGY		4671			3547	3547	3547
3 Sites			4671			3547	3547	3547
1901	3150	4813	4671			3547	3547	3547
Map821	CGCGCG		4671			3547	3547	3547
9 Sites			3522	3556	3643	3547	3547	3547
			3700	3709	3734	3547	3547	3547
			3804			3547	3547	3547

【図 22-42】

3573	3618	3654	1 Site	4210	4509
4188	4820		3949		ccggcc
W1aIV		GNNCC	Sau3A		
31 Sites			GATC		
92	540	1830	20 Sites		
1869	2852	3023	188	193	458
3115			1237	1245	1256
3273	3423	3594	1331		
3640	3697	3722	2970	3026	3113
3723			3368	3458	3757
3774	3817	3827	3772		
3932	3924	3932	3149	3354	4220
4124			4364	4586	4607
4277	4318	4427	29 Sites		
4439			123	587	920
4548	4587	4687	1049	1174	2266
W1aV	TCGCGA		2468		
1 Site			32661	3022	3078
2257			3606	3422	3486
NeRI	ATGCAT		3204		
1 Site			3696		
3735	3825	3921	3922		
396			3721		
Wsp7524I	RCATGY		3826	4123	4195
3 Sites			4210	4274	4275
3901	3150	4820	4425		
Wsp8II	CMGGCG		4509		
8 Sites			5crFI	CCNGG	
1314	1859	2281	3643		
3019	3753	4194	3804		
4211			3823		
4425			3829		
PpuMI	RGGNCCY		3907		
2 Sites			3973	4042	4111
3606	4123		4165		
PsrlI	RGGNCCY		4273	4345	4391
6 Sites			4479		
3609	3724	3924	4585		
3925	4126	4278	5crII	CCGGG	
PstI	CTGCA		3644		
1 Site			3709	3734	
3476			3804		
PvuI	CGATCG		3823		
1 Site			3829		
3461			3907		
ReaI	GTAC		3973		
10 Sites			4042		
559	2093	2263	4111		
2330	3604	2684	4165		
2711			4273		
3768	3925	3889	4345		
SacI	GAGCTC		4391		
2 Sites			4479		
2953	4603		4585		
SacII	CCCGCG		4685		
5 Sites			4793		
3282	3040	3754	4879		
4282	4426		4936		
Sall	GTGAC		5crIII	GAANNNTTC	
			3641		
			3725		
			3925		
			4039	4278	4319
			4603		
			4879		
			5crII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crIII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crIII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crIII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crIII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crIII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crIII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crIII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crIII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crII	GAANNNTTC	
			559		
			2093		
			2263		
			3604		
			2684		
			3716		
			3725		
			3925		
			4039		
			4278		
			4319		
			4603		
			4879		
			5crIII	GAANNNTTC	
			5		

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US2009/004664
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
C07K 14/155(2006.01)i, C12N 15/49(2006.01)i, A61K 39/21(2006.01)i		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)		
IPC 8: A61K 48/00, A61K 39/21, C12Q 1/68, A61K 39/29, A61K 31/70		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Korean utility models and applications for utility models		
Japanese utility models and applications for utility models		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
eKOMPASS (KIPO internal) & keywords: HIV, polyvalent, vaccine, T lymphocyte response, polypeptide, protein, nucleic acid, etc.		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2007-024941 A2 (THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA et al., US) 01 March 2007 See the whole document	1-7
A	WO 2007-047916 A2 (NOVARTIS AG., CH) 26 April 2007 See the whole document	1-7
A	US 2006-0216305 A1 (RENU B. LAL and SHERRY M. OWEN, US) 28 September 2006 See the whole document	1-7
A	US 2006-0275897 A1 (GARY J. NABEL et al., US) 07 December 2006 See the whole document	1-7
A	US 2003-0194411 A1 (ARYE RUBINSTEIN et al., US) 16 October 2003 See the whole document	1-7
A	US 2003-0180314 A1 (ANNE DEGROOT, US) 25 September 2003 See the whole document	1-7
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.
<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
05 APRIL 2010 (05.04.2010)	06 APRIL 2010 (06.04.2010)	
Name and mailing address of the ISA/KR  Korean Intellectual Property Office Government Complex-Daejeon, 139 Seonsa-ro, Seo-gu, Daejeon 302-701, Republic of Korea Facsimile No. 82-42-472-7140	Authorized officer Heo, Joo-Hyung Telephone No. 82-42-481-8150	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2009/004664

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 2002-0198162 A1 (JUHA PUNNONEN et al., US) 26 December 2002 See the whole document	1-7
A	KAORI SHINODA et al. 'Polygene DNA vaccine induces a high level of protective effect against HIV-vaccinia virus challenge in mice.' In: Vaccine. September 2004, Vol.22(27-28), pp.3523-3815. See the whole document	1-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2009/004664

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. Claims Nos.: 8, 9
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Claims 8 and 9 pertain to methods for treatment of the human body by therapy, and thus relate to a subject matter which this International Searching Authority is not required, under Article 17(2)(a)(i) of the PCT and Rule 39.1(iv) of the Regulations under the PCT, to search.
2. Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

See Extra Sheet.

1. As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.
- The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.
- No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US2009/004664

This ISA found multiple inventions as follows:

- Group I, claim(s) 1-7(in part), drawn to peptides/nucleic acids comprising HIV-1 gag-encoded antigenic epitopes.
- Group II, claim(s) 1-7(in part), drawn to peptides/nucleic acids comprising HIV-1 nef-encoded antigenic epitopes.
- Group III, claim(s) "1, 2, 4, 6, and 7"(in part), drawn to peptides/nucleic acids comprising HIV-1 env-encoded antigenic epitopes.

The inventions listed as Group I, II, and III do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons; The claims are drawn to "Markush" type groups peptides/nucleic acids. Under PCT Rule 13.2, the "Markush" grouping possess unity if:

- (A) All alternatives have a common property or activity; and
- (B1) A common structure is present, i.e., a significant structural element is shared by all of the alternatives; or
- (B2) In the cases where the common structure cannot be the unifying criteria, all alternatives belong to a recognized class of chemical compounds in the art to which the invention pertains.

In the instant case, neither criteria A or B1 or B2 is met between the groups. Only within each groups do the alternatives have a common property: gag-, nef-, or env-encoded epitopes each and independently have the capacity to induce an immune response to respective class of epitopes because to the significantly different structure of the epitope.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/US2009/004664

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2007-024941 A2	01.03.2007	US 2009-0324631 A1 US 2009-0198042 A1 EP 1917040 A2 CA 2620874 AA AU 2008-283101 AA	31.12.2009 06.08.2009 07.05.2008 01.03.2007 01.03.2007
WO 2007-047916 A2	26.04.2007	ZA 2008-04099 A JP 2009-511640 T2 EP 1954309 A2 CN 11351223 A CA 2626257 AA AU 2006-304725 AA	29.04.2009 19.03.2009 13.08.2008 21.01.2009 26.04.2007 26.04.2007
US 2006-0216305 A1	28.09.2006	WO 2004-085466 A2 EP 1608675 A2 CA 2519025 AA AU 2004-223855 AA	07.10.2004 28.12.2005 07.10.2004 07.10.2004
US 2006-0275897 A1	07.12.2006	ZA 2006-02858 A WO 2006-020071 A2 WO 2005-034992 A2 JP 2008-508866 T2 EP 1675613 A2 CN 1913919 A CA 2539068 AA AU 2004-279362 AA	28.05.2008 23.02.2006 21.04.2005 27.03.2008 05.07.2006 14.02.2007 21.04.2005 21.04.2005
US 2003-0194411 A1	16.10.2003	WO 92-17590 A1 JP 05-508165 T2 EP 0536352 A1 DE 69233271 C0 CA 2083949 AA AT 0256745 E	15.10.1992 18.11.1993 14.04.1993 29.01.2004 03.10.1992 15.01.2004
US 2003-0180314 A1	25.09.2003	US 2002-0182222 A1	05.12.2002
US 2002-0198162 A1	26.12.2002	WO 99-41402 A2 WO 99-41383 A1 WO 99-41369 A2 WO 99-41368 A2 MX 0007893 A JP 2002-503461 T2 EP 1053312 A2 CA 2320431 AA	19.08.1999 19.08.1999 19.08.1999 19.08.1999 23.10.2002 05.02.2002 22.11.2000 19.08.1999

フロントページの続き

(51) Int.Cl. F I テーマコード(参考)
A 6 1 P 31/18 (2006.01) A 6 1 P 31/18

(81) 指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,SE,SI,S,K,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KM,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PE,PG,PH,PL,PT,RO,RS,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,ZA,ZM,ZW

(特許序注: 以下のものは登録商標)

1. PENTIUM

(71) 出願人 506159437
 デューク ユニバーシティ
 アメリカ合衆国 ノースカロライナ 27708-0083 ダラム, ピー. オー. ボックス 9
 0083
 (71) 出願人 311009457
 ザ ユーエイビー リサーチ ファンデーション
 アメリカ合衆国アラバマ州35294-0107, バーミンガム, サード・アベニュー・サウス
 1530
 (74) 代理人 100140109
 弁理士 小野 新次郎
 (74) 代理人 100075270
 弁理士 小林 泰
 (74) 代理人 100080137
 弁理士 千葉 昭男
 (74) 代理人 100096013
 弁理士 富田 博行
 (74) 代理人 100162455
 弁理士 辻本 典子
 (72) 発明者 コーバー, ベット・ティー
 アメリカ合衆国ニューメキシコ州87545, ロスアラモス, ロスアラモス・ナショナル・ラボラトリ, エルシー/アイピー, ロスアラモス・ナショナル・セキュリティ, エルエルシー
 (72) 発明者 フィッシュヤー, ウィリアム
 アメリカ合衆国ニューメキシコ州87545, ロスアラモス, ロスアラモス・ナショナル・ラボラトリ, エルシー/アイピー, ロスアラモス・ナショナル・セキュリティ, エルエルシー
 (72) 発明者 レトヴィン, ノーマン
 アメリカ合衆国マサチューセッツ州02215, ボストン, ブルックリン・アベニュー 330, ベス・イスラエル・ディーコニス・メディカル・センター
 (72) 発明者 リヤオ, フア-シン
 アメリカ合衆国ノース・カロライナ州27708-0083, ダーラム, ボックス 90083, デューク ユニバーシティ
 (72) 発明者 ヘインズ, パートン・エフ
 アメリカ合衆国ノース・カロライナ州27708-0083, ダーラム, ボックス 90083, デューク ユニバーシティ
 (72) 発明者 ハーン, ベアトリス・エイチ
 アメリカ合衆国アラバマ州35294-0111, バーミンガム, サード・アベニュー・サウス

1530, エイビー 1120ジー, ザ・ユニバーシティ・オブ・アラバマ・アット・バーミンガム・リサーチ・ファウンデーション

F ターム(参考) 4B024 AA01 BA35 CA02 EA02 HA17
4C084 AA13 NA14 ZB091 ZB331 ZC551
4C085 AA03 AA04 BB11 BB23 EE03
4H045 AA11 BA09 CA05 DA86 EA31