

(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 I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
<b>C O 7 K 14/16 (2006.01)</b>	C O 7 K 14/16	4 C O 8 4
<b>A 6 1 K 48/00 (2006.01)</b>	A 6 1 K 48/00	4 C O 8 5
<b>A 6 1 P 37/04 (2006.01)</b>	A 6 1 P 37/04	4 H O 4 5
<b>A 6 1 K 39/295 (2006.01)</b>	A 6 1 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)	(71) 出願人	511039245
(86) (22) 出願日	平成21年8月14日 (2009.8.14)		ロスアラモス・ナショナル・セキュリティ
(85) 翻訳文提出日	平成23年4月12日 (2011.4.12)		, エルエルシー
(86) 国際出願番号	PCT/US2009/004664		アメリカ合衆国ニューメキシコ州8754
(87) 国際公開番号	W02010/019262		5, ロスアラモス, ロスアラモス・ナショ
(87) 国際公開日	平成22年2月18日 (2010.2.18)		ナル・ラボラトリー, エルシー／アイビー
(31) 優先権主張番号	12/192, 015	(71) 出願人	505023559
(32) 優先日	平成20年8月14日 (2008.8.14)		ベス・イスラエル・ディーコニス・メディ
(33) 優先権主張国	米国 (US)		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アを含む組成物。

**【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アを含む組成物。

**【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】****【0001】**

本出願は下記の出願の一部継続出願である：U . S . A p p l i c a t i o n N o . 1 1 / 9 9 0 , 2 2 2 , 2 0 0 8 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 N o . P C T / U S 2 0 0 6 / 0 3 2 9 0 7 , 2 0 0 6 年 8 月 2 3 日出願；これは米国を指定し、U . S . P r o v i s i o n a l A p p l i c a t i o n N o . 6 0 / 7 1 0 , 1 5 4 , 2 0 0 5 年 8 月 2 3 日出願および U . S . P r o v i s i o n a l A p p l i c a t i o n N o . 6 0 / 7 3 9 , 4 1 3 , 2 0 0 5 年 1 1 月 2 5 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

**【0002】**

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た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】****【0003】**

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(Altfield 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、H I V - 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 H I V - 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、エンベロッ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))。

#### 【 0 0 0 4 】

地域的 H I V - 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 H I V - 1 サブタイプまたはクレード (分岐群、c l a d e ) 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。

#### 【 0 0 0 5 】

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 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、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 ( C T L ) は、ヒト白血球抗原 ( H L A ) 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 H I V - 1 ワクチンにとって重要であると思われる：C T L 応答は疾患の進行速度を低下させることが示唆されており (Oxenius et al, J. Infect. Dis. 189: 1199-208 (2004)) ; ヒト以外の霊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 S I V または S H I V 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)) ; C D 8 + T 細胞を実験的に枯渇させると、S I V 感染したアカゲザル ( r h e s u s m a c a q u e s ) 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。

#### 【 0 0 0 6 】

変異性がきわめて高いエンベロップタンパク質は、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ッ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 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。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 ( a n c e s t r a l s e q u e n c e ) 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 H I V - 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

10

20

30

40

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))。

#### 【0007】

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HIV-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でもできる(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))。プロセッシングを阻害する回避変異(Milicic et al, J. Immunol. 175: 4618-26 (2005))またはHLA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。

#### 【0008】

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、個の複合タンパク質のカクテルであることができる（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。CD8+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-mer）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-Mer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ッシングされやすい。

#### 【先行技術文献】

#### 【特許文献】

#### 【0009】

#### 【非特許文献】

#### 【0010】

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

【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)

- 【非特許文献 1 2】Moore and Burton, Nat. Med. 10: 769-71 (2004)  
 【非特許文献 1 3】Gao et al, J. Virol. 79: 1154-63 (2005)  
 【非特許文献 1 4】Doria-Rose et al, J. Virol. 79: 11214-24 (2005)  
 【非特許文献 1 5】Weaver et al, J. Virol., in press)  
 【非特許文献 1 6】Altfeld et al, J. Virol. 77: 7330-40 (2003)  
 【非特許文献 1 7】Norris et al, AIDS Res. Hum. Retroviruses 20: 315-25 (2004)  
 【非特許文献 1 8】Jones et al, J. Exp. Med. 200: 1243-56 (2004)  
 【非特許文献 1 9】Allen et al, J. Virol. 79: 12952-60 (2005)  
 【非特許文献 2 0】Feeney et al, J. Immunol. 174: 7524-30 (2005)  
 【非特許文献 2 1】Killian et al, Aids 19: 887-96 (2005)  
 【非特許文献 2 2】Milicic et al, J. Immunol. 175: 4618-26 (2005)  
 【非特許文献 2 3】Ammaranond et al, AIDS Res. Hum. Retroviruses 21: 395-7 (2005)  
 【発明の概要】

10

# 【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】

20

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 1 A ~ 1 F 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。 = 1 ~ 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 1 A および 1 B）、Nef（図 1 C および 1 D）および Env gp 120（図 1 E および 1 F）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 1 A、1 C および 1 E 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 p 24 は共に、特に高度に保存されている。図 1 B、1 D および 1 F 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。gp 120 の適応範囲は、8 変異体の 9 - mer ですら、特に乏しい（図 1 E および 1 F）。

30

【図 2】図 2 A ~ 2 C 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 2 A ) 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）、これを続いて最適化する。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 2 B ) 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 2 C ) 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

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、その子はこの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H  
IV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: A  
F069670、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AY1739  
53、AF533131および\_A F530576]；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は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4  
D~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: A  
F069670、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AY1739

10

20

30

40

50

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は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 C】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 - 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。6 5 6 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 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（Gag : Gen Bank 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 ; Nef 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 US 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 TH . 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は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 D】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 - 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。6 5 6 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 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（Gag : Gen Bank 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 ; Nef 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 US 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 TH . 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は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 E】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 - 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

10

20

30

40

50

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 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（Gag：Gen Bank 寄託番号 AF004885、K03455 および U52953；Nef コア：AF069670、K02083、および U52953）。図 4 B）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、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 - 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 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（Gag：Gen Bank 寄託番号 AF004885、K03455 および U52953；Nef コア：AF069670、K02083、および U52953）。図 4 B）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、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 - 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 5 A）および Nef（コア）（図 5 B）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

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 ; “ M B C 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、G a g コレクション中にはより多数の C クレード配列があり、N e f 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 G a g , 75 N e f ) 、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、G a g につき 63 % 、N e f につき 74 % であった ) けれども、それは非最適カクテル ( G a g につき 52 % 、N e f につき 52 % ) よりはるかに良好であった。

【図 5 B】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 - 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、G a g ( 図 5 A ) および N e f ( コア ) ( 図 5 B ) 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 ; “ M B C 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、G a g コレクション中にはより多数の C クレード配列があり、N e f 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 G a g , 75 N e f ) 、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、G a g につき 63 % 、N e f につき 74 % であった ) けれども、それは非最適カクテル ( G a g につき 52 % 、N e f につき 52 % ) よりはるかに良好であった。

【図 6 A】図 6 A および 6 B 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、G a g（図6 A）およびN e f（コア）（図6 B）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 - o p t”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6 B】図6 Aおよび6 B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、G a g（図6 A）およびN e f（コア）（図6 B）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 - o p t”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7 A】図7 Aおよび7 B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7 A：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7 B：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 - 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 - mer、特に20 %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 - 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7 B】図7 Aおよび7 B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 - 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 ( = 4 ) に限定したモザイクタンパク質セットを示す。

【図 1 0】図 1 0 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 1 1】図 1 1 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 1 2】図 1 2 は、適応範囲の追加のまとめを示す。

【図 1 3】図 1 3 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 1 4】図 1 4 A ~ 1 4 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 1 5】図 1 5 A ~ 1 5 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 1 6】図 1 6 は、3 モザイク、M グループ最適化を示す。

【図 1 7】図 1 7 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。

10

20

30

40

50

【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 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示す。

【図 20】図 20 は、提唱したワクチンモザイクの G a g および E n v の適応範囲を示す。

【図 21】図 21 は、G a g、N e f および E n v 配列を示す。

【図 22 - 1】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 - 2】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 - 3】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 - 4】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 - 5】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 - 6】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 - 7】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 - 8】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 - 9】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 - 10】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 - 11】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 - 12】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 - 13】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 - 14】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 - 15】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 - 16】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 - 17】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 - 18】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 - 19】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 - 20】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 - 21】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 - 22】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

10

20

30

40

50

g a g および n e f を示す。

【図 2 2 - 2 3】図 2 2 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 2 2 - 2 4】図 2 2 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 2 2 - 2 5】図 2 2 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 2 2 - 2 6】図 2 2 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 2 2 - 2 7】図 2 2 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。

10

【図 2 2 - 2 8】図 2 2 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 2 2 - 2 9】図 2 2 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 2 2 - 3 0】図 2 2 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 2 2 - 3 1】図 2 2 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 2 2 - 3 2】図 2 2 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。

20

【図 2 2 - 3 3】図 2 2 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 2 2 - 3 4】図 2 2 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 2 2 - 3 5】図 2 2 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 2 2 - 3 6】図 2 2 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 2 2 - 3 7】図 2 2 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。

30

【図 2 2 - 3 8】図 2 2 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 2 2 - 3 9】図 2 2 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 2 2 - 4 0】図 2 2 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 2 2 - 4 1】図 2 2 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 2 2 - 4 2】図 2 2 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。

40

【図 2 2 - 4 3】図 2 2 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 2 2 - 4 4】図 2 2 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】

【0 0 1 4】

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

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

20

#### 【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：

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。

#### 【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っ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。

#### 【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アーおよび/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、アデノ随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、他のボ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 (*Venezuelean 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。スクアレニ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アー、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。

## 【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HIV-1変異体[HIV-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。HIV-1特異的T細胞は、HIV-1特異的ワクチン応答に重要であると思われる：CTL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))、ヒト以外の霊長類ワクチン接種モデルにおけるCTL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SIVまたはSHIV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))。CD8+ T細胞を一時的に枯渇させると、SIV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CTL回避変異が生じ、これはCTL応答がインビボ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は有用な可能性がある。変異性が高いエンベロップ(Env)はHIV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。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HIV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、コンセンサススペースのペプチド試薬は多くのオートロガスCD8+ 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HIV-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))。プロセッシングを阻害する手段(Milicic et al, J. Immunol. 175: 4618-26 (2005))またはHLA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】



## 【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

H I V - 1 配列データ。一人当たり 1 つの配列を含む 2 0 0 5 の H I V 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 G a g および N e f 配列 ( G e n B a n k a c c e s s i o n n u m b e r s A Y 8 5 6 9 5 6 - A Y 8 5 7 1 8 6 ) (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 5 5 1 の G a g および 1 , 1 3 1 の N e f 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。1 8 A、1 0 2 B、2 2 8 C および 6 G サブタイプ配列 ( G a g )、ならびに 6 2 A、4 5 4 B、2 8 4 C および 1 3 G サブタイプ配列 ( N e f ) を含むこれらのアラインメントのサブセットを、単一クレード内および単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。G A 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。G A には多くの種類がある；“定常状態 - 共進化的多集団 ( s t e a d y - s t a t e c o - e v o l u t i o n a r y m u l t i - p o p u l a t i o n ) ” G A を実行した。“定常状態” は、新たな全集団を一度にではなく、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。入力の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 ( c o n c a t e n a t i n g s e c t i o n ) 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 ( p o p u l a t i o n c o v e r a g e ) 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

30

## 【0028】

G A (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 ( m a t c h i n g s t r i n g ) 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キスプリシット・ソフトウェア ( e x p l i c i t s o f t w a r e ) 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 - m e r 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 “ウィナー ( w i n n e r ) ” 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ィ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

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“ウィナー”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ィナーとなり、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、2 GHz Pentiumプロセッサで各操作を続けた。 $n = 1, 3, 4$ 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

#### 【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。現在まで、潜在的T細胞エピー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で含まれていた(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 l a)とグルタミン酸(G l 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 l a - G l 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：欲張りアルゴリズム(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、ii)自然感染における高レベルの認識、iii)高密度の既知エピトープ、およびiv)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、単一天然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))；ii)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価をもち、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；iii)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

G a g および N e f 中央領域は前記の 4 つの基準に適合する。N e f は T 細胞により認識される頻度が最も高い H I V 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 G a g 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。G a g、P o l および E n v を含むワクチンに R e v、T a t および N e f を追加することによりアング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 (Hel 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、P o l、G a g (特に p 2 4) および N e f 中央領域 (H X B 2 の位置 6 5 - 1 4 9) は有望な潜在免疫原である (図 1, 3)。しかし、P o l 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 N e f の保存部分は H I V - 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、N e f の免疫阻害機能は行なえないであろう (たとえば、H L A クラス I のダウンレギュレーション (Blagoveshchenskaya, Cell 111:853-66 (2002)))。G a g および N e f は両方とも、十分に解明されたオーバーラップ C D 8 + および C D 4 + T 細胞エピトープと共に密に充填されており、多様な H L A 分子により提示され (<http://www.hiv.lanl.gov/content/immunology/maps/maps.html>)、G a g 特異的 C D 8 + (Masemola et al, J. Virol. 78:3233-43 (2004)) および C D 4 + (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))。

#### 【 0 0 3 7 】

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 G a g 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 - m e r 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 (7 7 ~ 7 9 % 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 (7 3 ~ 7 5 %)、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 (7 4 ~ 7 6 %) 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。

#### 【 0 0 3 8 】

G a g および N e 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 - m e r が完全に一致した天然配列内の全 9 - m e r 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、G a g および N e f 中央領域の 9 - m e r 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 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 が増加するのに伴って低下する(図1および4)。

#### 【0039】

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、最良単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単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-mer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。

#### 【0040】

適応範囲は、より希有な9-mer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-mer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-mer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-mer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-mer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-merをもっていた。HLA-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)。

#### 【0041】

の増加に伴っていっそう希有なエピトープ(ever-rarer epitope)が増加することと合わせて、ワクチン接種点希釈(vaccination-point dilution)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タンパク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；EnvおよびPol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CTL応答を検出するためにBサブタイプp24変異体をElispotペプチド混合物に含有させると、検出される応答の回

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る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ンメントのGagおよびNef集団適応範囲のついての最良天然株である。

10

【0043】

20

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

-----  
C.IN.\_.70177\_AF533131

20

## Gag, C-subtype, 3 natural sequences

-----  
C.ZA.97.97ZA012

C.ZA.x.04ZASK161B1

C.IN.\_.70177\_AF533131

## Gag, C-subtype, 4 natural sequences

-----  
C.ZA.97.97ZA012

C.ZA.x.04ZASK142B1

C.ZA.x.04ZASK161B1

C.IN.\_.70177\_AF533131

30

## 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\_AY206656  
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

## 【 0 0 4 7 】

subtype : サブタイプ  
 natural sequence : 天然配列  
 group : グループ  
 central region : 中央領域。

## 【 0 0 4 8 】

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： 個のモザイクタンパク質のセットは、 個の抗原について可能な最大適応範囲を提供する。

## 【 0 0 4 9 】

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 ( p r o o f - o f - c o n

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關与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 ( c o n c a t e n a t e d e p i t o p e ) 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ボプロセッシングは自然感染に際してのプロセッ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關して最良であろう；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 価モザイクエンベロープ ( 両方とも i n s i l i c o 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 価野生型エンベロープおよび 3 価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 L o s A l a m o s 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 価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關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かつ循環バ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 価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の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關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の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；

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か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“潜在のエピトープ” ( 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 】

10

20

【化 1 - 1】

&gt;ConS

MRVRGIQRNCQHLWRWGTLILGMLMICSAAENLWVTVYYGVPVWK  
EANTTLFCASDAKAYDTEVHNWVATHACVPTDPNPQEIVLENTENF  
NMWKNNMVEQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLNCTNVNVTNT  
TNNTTEEKGEIKNCSFNITTEIRDKKQKVYALFYRLDVVPIDNNNNSSN  
YRLINCNTSAITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCNDKKFNGTGPKC  
NVSTVQCTHGIKPVVSTQLLLNGSLAEEEEIIRSENITNNAKTIIVQLNES  
VEINCTRPNNNTRKSIRIGPGQAFYATGDIIGDIRQAHCNISGTKWNKT  
LQQVAKKLREHFNNKTIIFKPSSGGDLEITTHSFNCRGEFFYCNTSGLF  
NSTWIGNGTKNNNNTNDTITLPCRICKIINMWQGVGQAMYAPPIEGKI  
TCKSNITGLLLTRDGGNNNTNETEIFRPGGGDMRDNWRSELYKYKV  
KIEPLGVAPTKAKRRVVEREKRAVGIGAVFLGFLGAAGSTMGAASITL  
TVQARQLLSGIVQQQSNLLRAIEAQHLLQLTVWGIKQLQARVLAVE  
RYLKDQQLLGIWGC SGKLICTTTVPWNSSWSNKSQDEIWDNMTWME  
WEREINNYTDIISLIEESQNQQEKNEQELLALDKWASLWNWFDITNW  
LWYIKIFIMIVGGLIGLRIVFAVLSIVNRVRQGYSPLSFQTLIPNPRGPDR  
PEGIEEEGGEQDRDRSIRLVNGFLALAWDDLRSCLCLFSYHRLRDFILIA  
ARTVELLGRKGLRRGWEALKYLWNLLQYWGQELKNSAISLLDTTAIA  
VAEGTDRVIEVVQRACRAILNIPRRIRQGLERALL

10

20

【 0 0 5 7 】

30

【化 1 - 2】

## 3 モザイク

&gt;M\_mos\_3\_1

MRVKGIRKNYQHLWRWGTMLLGMLMICSAAEQLWVTVYYGVPVW  
RDAETTLFCASDAKAYEREVHNVWATHACVPTDPNPQEIVLENTÉE  
FNMWKNNMVDQMHEIISLWDESLKPCVKLTPLCVTLNCTDVNVTK  
TNSTSWGMMMEKGEIKNCSFNMTTEL RDKKQKVYALFYKLDIVPLEEN  
DTISNSTYRLINCNTSAITQACPKVTFEPIPIHYCTPAGFAILKCNDDKKFN  
GTGPCKNVSTVQCTHGIRPVVTTQLLNGSLAEEEEIIRSENLTNNAKTI  
IVQLNESVVINCTRPNNNTRKSIRIGPGQTFYATGDIIGNIRQAHCNISRE  
KWINTTRDVRKKLQEHFNKTIIFNSSSGDLEITTHSFNCRGEFFYCNTS  
KLFNSVWGNSSNVTKVNGTKVKETITLPCKIKQINMWQEVGRAMYA  
PPIAGNITCKSNITGLLLVRDGGNVNTNTEIFRPGGGNMKDNWRSELY  
KYKVVEIKPLGIAPTKAKRRVVEREKRAVGLGAVFLGFLGAAGSTMG  
AASMTLTVQARQLLSGIVQQQSNLLRAIEAQQHMLQLTVWGIKQLQA  
RILAVERYLRDQQLLGIWGC SGKLICTTNVPWNSSWSNKS LDEIWN  
MTWMQWEKEIDNYTSLIYTLIEESQNQQEKNEQDLLALDKWANLWN  
WFDISNWLWYIRIFIMIVGGLIGLRIVFAVLSIVNRVRKGYSPLSFQTLT  
PNPRGPDRLGRIEEEGGEQDKDRSIRLVNGFLALAWDDLRLNLC LFSYH  
RLRDL LLIVTRIVELLGRRGWEALKYLWNLLQYWIQELKNSAVSLLN  
ATAIAVAEGTDRVIEVVQRACRAILHIPRRIRQGLERALL

10

20

30

&gt;M\_mos\_3\_2

MRVKETQMNWPNLWKWGTLILGLVIICSASDNLWVTVYYGVPVWKE  
ATTTLFCASDAKAYDTEVHNVWATYACVPTDPNPQEVVLGNVTENF  
NMWKNNMVEQMHEDIISLWDQSLKPCVRLTPLCVTLNCSNANTTNT  
NSTEEIKNCSFNITTSIRDKVQKEYALFYKLDVVPIDNDNTSYRLISCNT  
SVITQACPKVSFEPIPIHYCAPAGFAILKCKDKKFNGTGPCTNVSTVQC  
THGIRPVVSTQLLNGSLAEEEVVIRSENFTNNAKTIIVHLNKSVEINCT  
RPNNNTRKSIHIGPGRAFYA TGEIIGDIRQAHCNISRAKWNNTLKQIVK

40

【 0 0 5 8 】

【化 1 - 3】

KLKEQFNKTIIFNQSSGGDPEITTHSFNCGGEFFYCNTSGLFNSTWNST  
ATQESNNTLNGNITLPCRICKQIVNMWQEVGKAMYAPPIRGQIRCSSNI  
TGLILTRDGGNNNSTNETFRPGGDMRDNRSELYKYKVVKIEPLGV  
APTKAKRRVVQREKRAVGTIGAMFLGFLGAAGSTMGAASLTTLTVQA  
RLLLSGIVQQQNNLLRAIEAQHLLQLTVWGIKQLQARVLAVERYLK  
DQQLLGIWGCSGKLICTTTVPWNTSWSNKSLEIWDNMTWMEWEREI  
DNYTGLIYTLLEESQNQQEKNEQELLELDKWASLWNWFDITKWLWYI  
KIFIMIVGGLVGLRIVFTVLSIVNRVRQGYSPFSQTHLPAPRGPDRPEG  
IEEEGGERDRDRSGRLVDGFLAIWVDLRSCLFSYHQLRDFILIAARTV  
ELLGHSSLKGLRRGWEALKYWWNLLQYWSQELKNSAISLLNTTAIVV  
AEGTDRIIEVLQRAGRAILHIPTRIRQGLERLLL

10

&gt;M\_mos\_3\_3

MRVRGIQRNWPQWWIWGILGFWMLMICNVVGNLWVTVYYGVPVW  
KEAKTTLFCASDAKAYEKEVHNWATHACVPTDPSPQEVVLENVTEN  
FNMWKNDMVDQMHEDEVISLWDQSLKPCVKLTHLCVTLNCTNATNT  
NYNNSTNVTSSMIGEMKNCSFNITTEIRDKSKEYALFYRLDIVPLNEQ  
NSSEYRLINCNTSTITQACPKVSFDPPIHYCAPAGYAILKCNNKTFNGT  
GPCNNVSTVQCTHGIKPVVSTQLLLNGSLAEGEIIIRSENLTDNAKTIIV  
HLNESVEIVCTRPNNNTRKSVRIGPGQAFYATGDIIGDIRQAHCNLSRT  
QWNNTLKQIVTKLREQFGNKTIIVFNQSSGGDPEIVMHSFNCGGEFFYC  
NTTQLFNSTWENSNITQPLTLNRTKGPNDTITLPCRICKQIINMWQGVGR  
AMYAPPIEGLIKCSSNITGLLLTRDGGNNSETKTTETFRPGGGNMRDN  
WRNELYKYKVQIEPLGVAPTRAKRRVVEREKRAVGIGAVFLGFLGT  
AGSTMGAASITLTVQARQVLSGIVQQQSNLLKAIEAQHLLKLTWGI  
KQLQTRVLAIERYLKDQQLLGLWGCSGKLICTTAVPWNSSWSNKSQT  
DIWDNMTWMQWDREISNYTDIYRLLLEDSONQQEKNEKDLLALDSW  
KNLWNWFDITNWLWYIKIFIIIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRCRQGYSPSL  
QTLIPNPRGPDRLGGIEEGGEQDRDRSIRLVSGFLALAWDDLRSCLF

20

30

40

【 0 0 5 9】

## 【化 1 - 4】

SYHRLRDFILIVARAVELLGRSSLRGLQRGWEALKYLGSLVQYWGLEL  
KKS AISLLDTIAIAVAEGTDRIIEVIQRICRAIRNIPRRIRQGFEEALL

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  
TTTLFCASDAKAYTAEAHNVWATHACVPTDPNPQEVVLENVTFN  
MWKNNMVEQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLNCTDLANNTNL  
ANNTNSSISSWEKMEKGEIKNCSFNITTVIKDKIQKNYALFNRLDIVPID  
DDDTNVTNNASYRLSCNTSVITQACPKISFEPIPIHYCAPAGFAILKCN  
DKKFNGTGPCTNVSTVQCTHGIKPVVSTQLLLNGSLAEEEVVIRSENF  
DNVKTIIIVQLNESVIINCTRPNNNTRKSITFGPGRAFYTGTGDIIGDIRKAY  
CNISSTQWNNTLRQIARRLREQFKDKTIVFNSSSGGDPEIVMHSFNCGG  
EFFYCNTTQLFNSTWNGNDTGEFNNTGKNITYITLPCRKQIINMWQEV  
GKAMYAPPIAGQIRCSSNITGILLTRDGGNSSSEDKEIFRPEGGNMRDNW  
RSELYKYKVVKIEPLGVAPTKAKRRVVQREKRAVGIGAVFLGFLGAA  
GSTMGAASMTLTVQARLLLSGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGI  
KQLQARVLAVERYLKDQQLLGIWGC SGKLICTTAVPWNASWSNRSLD  
NIWNNMTWMEWDREINNYTNLIYNLIEESQNQQEKNEQELLELDKW  
ASLWNWFDITKWLWYIKIFIMIVGGLVGLRIVFVILSIVNRVRQGYSP  
SFQTHLPTPRGLDRHEGTEEEGGERDRDRSGRLVDGFLTILWIDLRSLC  
LFSYHRLRDL LLIVTRIVELLGRRGWEILKYWWNLLQYWSQELKNSA  
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  
TTTLFCASDAKAYTAEAHNVWATHACVPTDPNPQEVVLENVTFN  
MWKNNMVEQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLNCTDLANNTNL  
ANNTNSSISSWEKMEKGEIKNCSFNITTVIKDKIQKNYALFNRLDIVPID

40

【 0 0 6 0 】

【化 1 - 5】

DDDTNVTNNASYRLISCNTSVITQACPKISFEPIPIHYCAPAGFAILKCN  
DKKFNGTGPCTNVSTVQCTHGIKPVVSTQLLNGSLAEEEVVIRSENFT  
DNVKTIIVQLNESVIINCTRPNNNTRKSITFGPGRAFYTGTGDIIGDIRKAY  
CNISSTQWNNTLRQIARRLREQFKDKTIVFNSSSGGDPEIVMHSFNCGG  
EFFYCNTTQLFNSTWNGNDTGEFNNTGKNITYITLPCRICKIINMWQEV  
GKAMYAPPIAGQIRCSSNITGILLTRDGGNSSSEDKEIFRPEGGNMRDNW  
RSELYKYKVVKIEPLGVAPTAKRRVVQREKRAVGIGAVFLGFLGAA  
GSTMGAASMTLTVQARLLL SGIVQQQNNLLRAIEAQQHLLQLTVWGI  
KQLQARVLAVERYLKDQQLLGIWGC SGKLICTTAVPWNASWSNRSLD  
NIWNNMTWMEWDREINNYTNLIYNLIEESQNQQEKNEQELLELDKW  
ASLWNWFDITKWLWYIKIFIMIVGGLVGLRIVFVILSIVNRVRQGYSP  
SFQTHLPTPRGLDRHEGTEEEGGERDRDRSGRLVDGFLTIIWIDLRSLC  
LFSYHRLRDLLLIVTRIVELLGRRGWEILKYWWNLLQYWSQELKNSA  
VSLLNATAIAVAEGTDRIIEIVQRIFRAILHIPTRIRQGLERALL

10

20

&gt;C.acute.Con.0393

MRVRGILRNYQQWWIWGILGFWMLMICSVGGNLWVTVYYGVPVWR  
EAKTTLFCASDAKAYEREVHNWATHACVPTDPNPQELFLENTENF  
NMWKNDMVDQMHEDIISLWDQSLKPCVKLTPLCVTLNCSNANITRNS  
TDGNTTRNSTATPSDTINGEIKNCSFNITTELKDKKKKEYALFYRLDIV  
PLNEENS NFNEYRLINCNTSAVTQACPKVSFDPIPIHYCAPAGYAILKC  
NNKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIKPVVSTQLLNGSLAEEEEEIRSENLT  
NNAKTIIVHLKEPVEIVCTRPNNNTRKSMRIGPGQTFYATDIIGDIRQAS  
CNIDEKTWNNTLNKVGEKLQEHFPNKTLNFAPSSGGDLEITTHSFNCR  
GEFFYCNTSKLFYKTEFNSTTNSTITLQCRICKIINMWQGVGRAMYAPP  
IEGNITCKSNITGLLLTRDGGTND SMTETFRPGGGDMRDNWRSELYKY  
KVVEIKPLGVAPTEAKRRVVEREKRALTLGALFLGFLGTAGSTMGAA  
SITLTVQARQLLSGIVQQQSNLLKAIEAQQHLLQLTVWGIKQLQTRVL  
AIERYLQDQQLLGLWGC SGKLICTTAVPWNSSWSNKSQGEIWGNMT  
WMQWDREISNYTNTIYRLLED SIIQQEKNEKDLLALDSWKNLWSWFS

30

40

【 0 0 6 1】



## 【化 1 - 6】

ITNWLWYIKIFIMIVGGLIGLRJIFAVLSIVNRVRQGYSPLPFQTLIPNPR  
 GPDRLGRIEEEGGEQDRDRSIRLVNGFLAIAWDDLRLSLCLFSYHRLRDF  
 ILIAARAAELLGRSSLRGLQRGWEALKYLGSLVQYWGLELKKS AISLL  
 DTVAITVAEGTDRIIEVVQRICRAICNIPRRIRQGFEEALQ

## 【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つの最良天然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。

## 【0064】

30

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（これの上方の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ため、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

#### 【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值である。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。

20

30

#### 【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。

40

#### 【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+CHAVI)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

50

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組換え配列を見出すので、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似そふ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。これを行なうと、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産生された抗体の交差反応力価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

#### 【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った；これは、本質的に他のいずれ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があったからである。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

Fi e b i g病期 = 4

感染国 = マラウイ

サンプルの日付 = 17 - J u l - 2003

ウイルス負荷 = 12, 048, 485

患者の性別 = F

40

50

C D 4 カウント = 6 1 8 ( サンプルの配列決定後、 1 3 日目に測定 )

患者の年齢 = 2 3

S T D = G U D、 P I D

図 1 7 および 1 8 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。

#### 【 0 0 7 4 】

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 1 9 に示す。

#### 【 0 0 7 5 】

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 1 0 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 2 0 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 2 1 に示す。

#### 【 0 0 7 6 】

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 価最適野生型伝播 / 創始 E n v ( W T T r i E n v )
- ・ D N A 3 価モザイク E n v

N Y V A C

N Y V A C ( v P 8 6 6 ) は組換えボ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 1 8 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。

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  $1 \times 10^7$  TCID<sub>50</sub> 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
		4	Env	Env	EnvA	EnvA
			Placebo	Placebo	Placebo	Placebo
2	20		DNA ConS	DNA ConS		
		4	Env	Env	NYVAC ConS	NYVAC ConS
			Placebo	Placebo	Placebo	Placebo
3	20		DNA	DNA	NYVAC	NYVAC
		4	Trivalent	Trivalent	Trivalent	Trivalent
			Native Env	Native Env	Native Env	Native Env
4	20		DNA	DNA	NYVAC	NYVAC
		4	Trivalent	Trivalent	Trivalent	Trivalent
			Mosaic Env	Mosaic Env	Mosaic Env	Mosaic Env
合計	96 (80/16)		Placebo	Placebo	Placebo	Placebo

20

30

【0078】

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：

約 12 か月

推定全試験期間：

約 18 か月。

40

【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

0

## 20

20

## 20

20

## 20

20

【 図 2 】

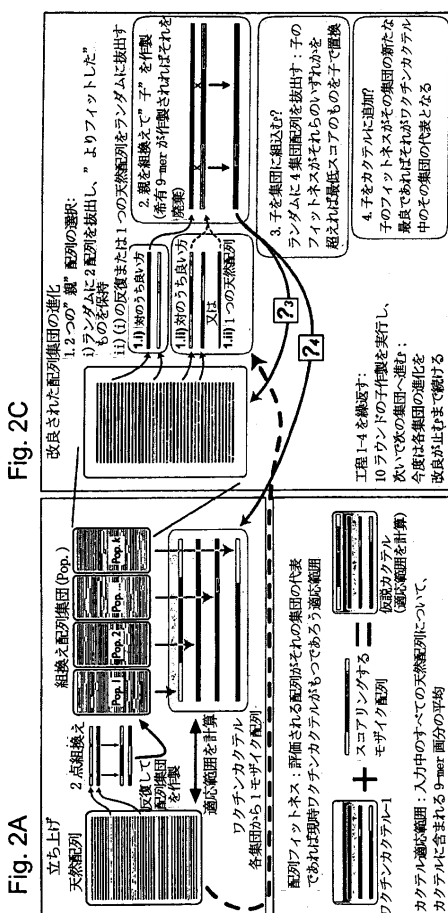
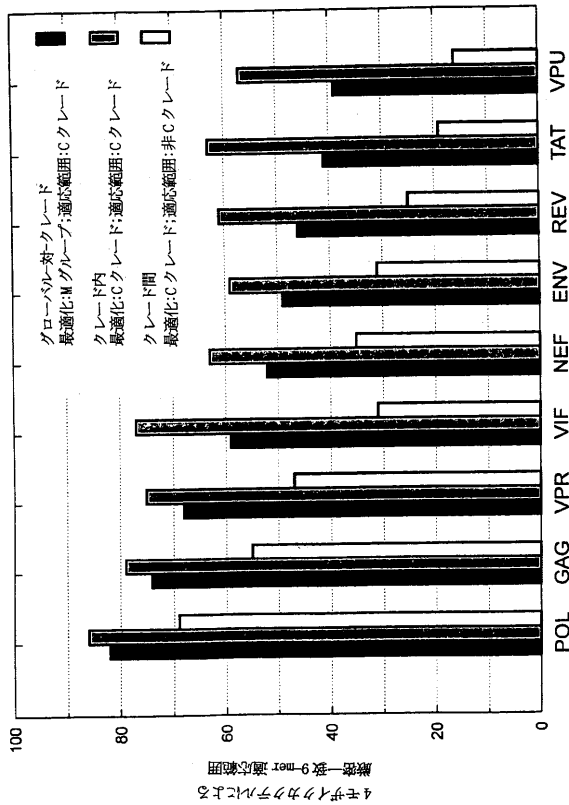
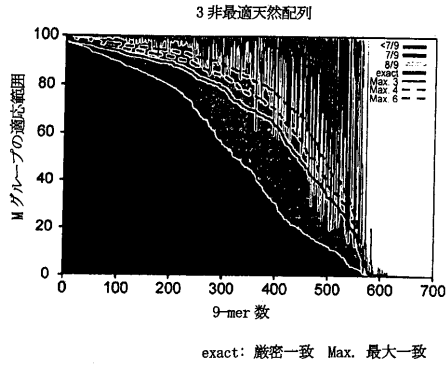


Fig. 2B

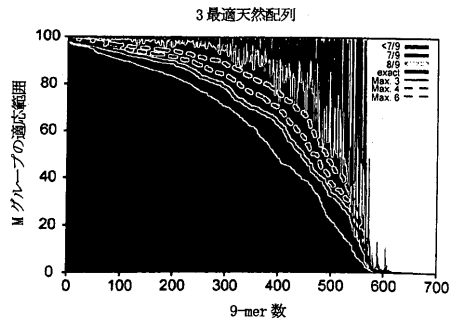
【図 3】



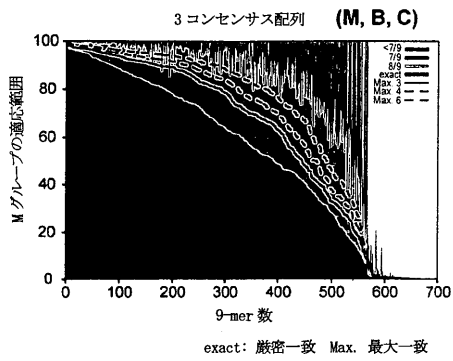
【図 4 A】



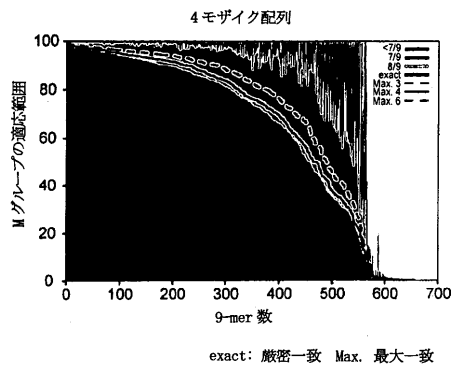
【図 4 B】



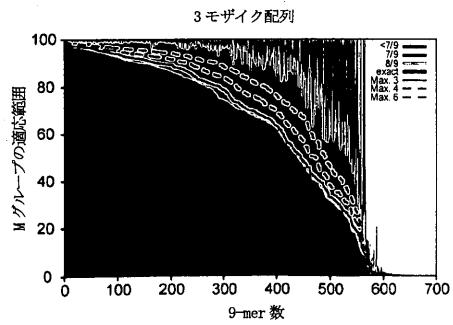
【図 4 C】



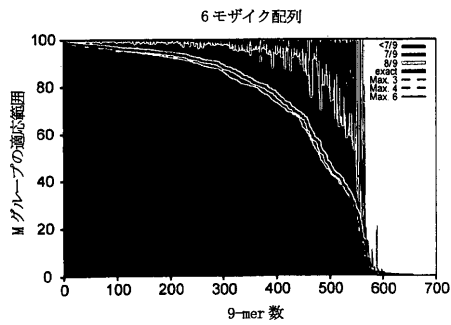
【図 4 E】



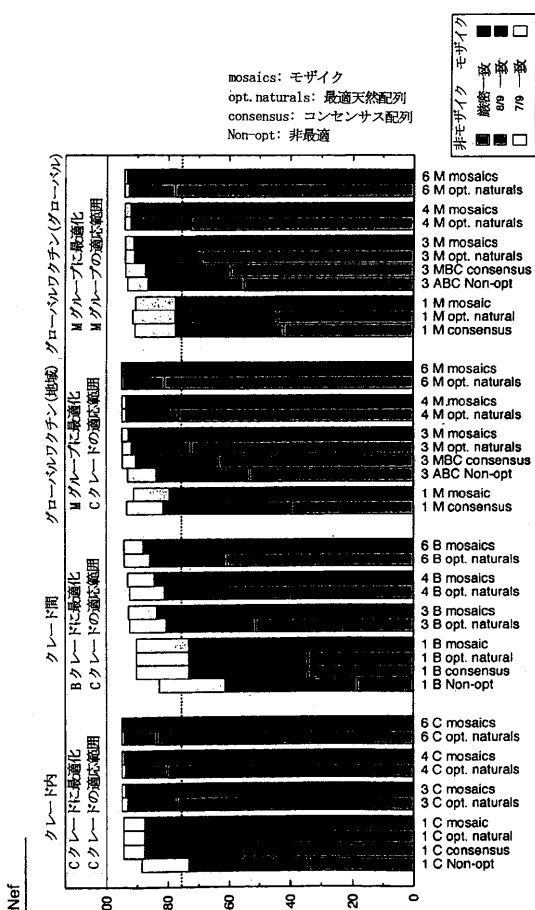
【図 4 D】



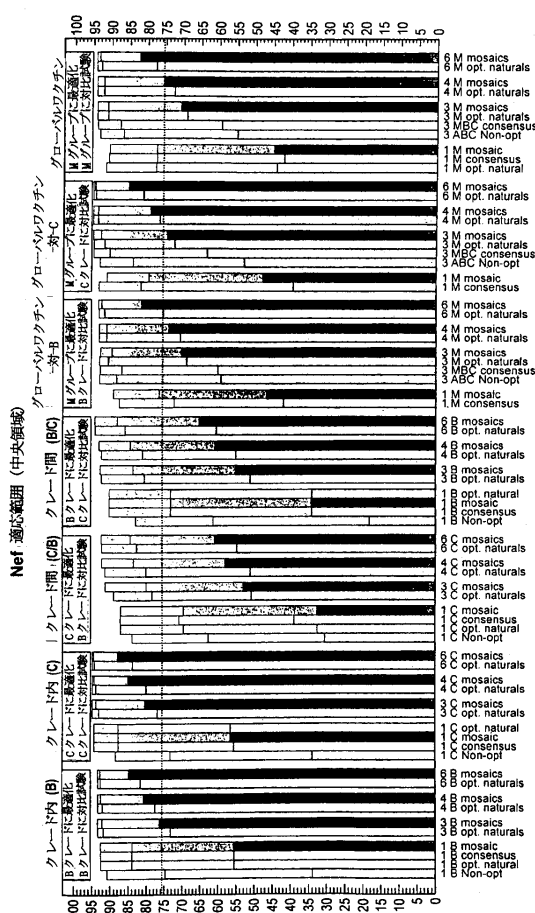
【図 4 F】



【 ㄨ 5 B 】

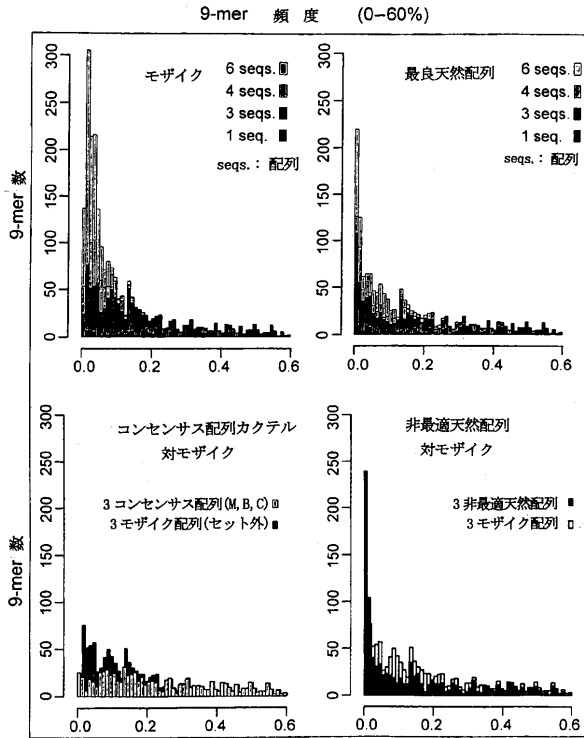


【 ㄨ 6 B 】

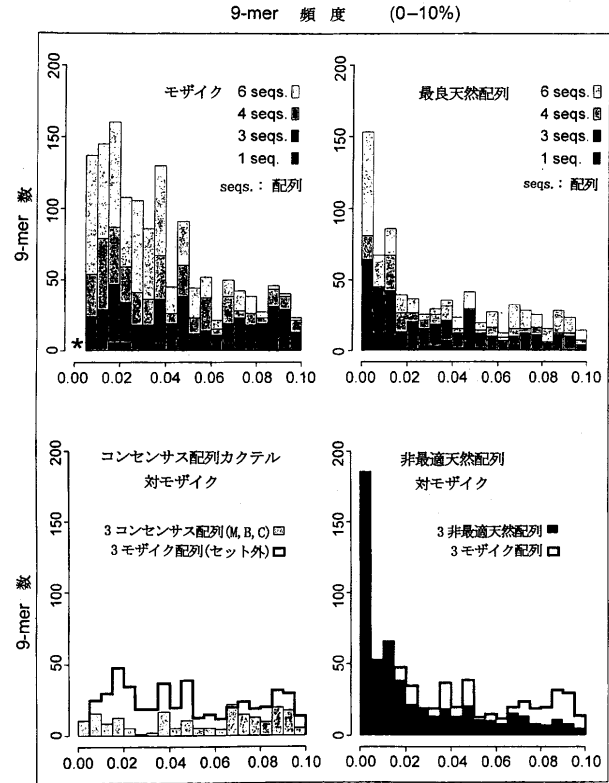




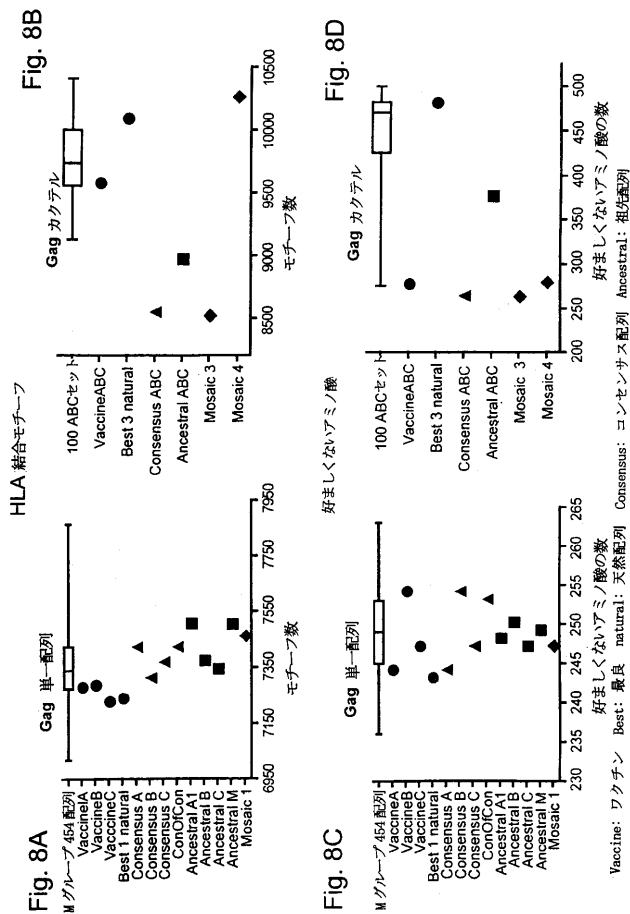
【図 7 A】



【図 7 B】



【図 8】



【図 9 - 1】

Fig. 9

```
>nef_coreB.syn1.1
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKGAALDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn3.1
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn3.2
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKGAALDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
HNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn3.3
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn4.1
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn4.2
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn4.3
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn4.4
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKGAALDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
HNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn6.1
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKGAALDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
HNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn6.2
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKGAALDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn6.3
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn6.4
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKAAVDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn6.5
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKGAALDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreB.syn6.6
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKGAALDLSHFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE

>nef_coreC.syn1.1
EVGFFVVRPQVPLRPMTYKAAFDLSFLKEKGGLEGLIYSQKRQDILDWVYHTQGYFFPDW
QNYTPGPGIRYPLTFGWCFLVPVE
```

【 図 9 - 3 】

Fig. 9 cont'd-2

```

>nef_coreM.syn3.1
DVGGFVPRQGVPLRPMYTKAAVDLSHFLKEKGGLGLVYSQKRQDIDLWVYHTQGYFFPDW
QNTYTPGGVGRVPLTFGWGCKYKLPVD
>nef_coreM.syn3.2
DVGGFVPRQGVPRVPMYTKGAFDLSFFLKEKGGLGLVYSKKRQEIDLWVYHTQGYFFPDW
HNTYTPGGTRFPLTFGWGCKFLPVPE
>nef_coreM.syn3.3
DVGGFVPRQGVPLRPMYTKGAFLDSHFLKEKGGLDGLVYSKKRQDIDLWVYHTQGYFFPDW
QNTYTPGGIRYPLTFGWGCKFLPVPE
>nef_coreM.syn4.1
DVGGFVPTQGVPLRPMYTKGAFDLGFFLKEKGGLGLVYSKKRQEIDLWVYHTQGYFFPDW
QNTYTPGGTRFPLTFGWGCKFLPVPE
>nef_coreM.syn4.2
DVGGFVPRQGVPLRPMYTKAAVDLSHFLKEKGGLGLVYSQKRQDIDLWVYHTQGYFFPDW
QNTYTPGGIRYPLTFGWGCKYKLPVD
>nef_coreM.syn4.3
DVGGFVPRQGVPLRPMYTKGALDSLFLKEEGGLGLVYSKKRQEIDLWVYHTQGYFFPDW
QNTYTPGGVRYPLTFGWGCKFLPVPE
>nef_coreM.syn4.4
DVGGFVPRQGVPRVPMYTKGAFDLSFFLKEKGGLGLVYSKKRQDIDLWVYHTQGYFFPDW
HNTYTPGGTRFPLTFGWGCKFLPVPE
>nef_coreM.syn6.1
DVGGFVPRQGVPTVRMPTKGAVDLSHFLKEKGGLGLVYSQKRQDIDLWVYHTQGYFFPDW
QNTYTPGGVGRVPLTFGWGCKFLPVPE
>nef_coreM.syn6.2
DVGGFVPRQGVPRVPMYTKAAFDLSFFLKEKGGLGLVYSKKRQDIDLWVYHTQGYFFPDW
QNTYTPGGVRFPLTFGWGCKFLPVPE
>nef_coreM.syn6.3
DVGGFVPRQGVPLRPMPTKGAFDLGFFLKEKGGLGLVYSKKRQEIDLWVYHTQGYFFPDW
HNTYTPGGTRFPLTFGWGCKFLPVPE
>nef_coreM.syn6.4
EVGGFVPTQGVPLRPMYTKGAFDLSFLKEKGGLGLVYSKKRQEIDLWVYHTQGYFFPDW
QNTYTPGGIRYPLTFGWGCKFLPMD
>nef_coreM.syn6.5
DVGGFVPRQGVPLRPMYTKAAVDLSHFLKEKGGLGLVYSKKRQDIDLWYHTQGYFFPDW
QCITFGGVRVPLTFGWGCKFLPVPE
>nef_coreM.syn6.6
VGGVFVPRQGVPLRPMYTKGALDSLFLKEEGGLGLVYSQKRQDIDLWVYHTQGYFFPDW
HNTYTPGGIRYPLTFGWGCKFLPVPE

```

【 図 9 - 5 】

Fig. 9 cont'd-4

```

VWLAEMASQNTSNATMMQMGNNFNQRKQVFCNMGCEGHAIANCRRKGCWCKGKG
HQMCKD--TERQANFLGKIPWSYK--RPGNLFQSR--          -E2PAP
PESFSFPEGGETATPQSQKEPDKDLYPLASLKGNDPFLSQ
>gagb.yfn4.2
MGARASVLSGLEDLWKEIRLRGGKKYQKLHIVWASRELERFALNPGLLTSEGCKQI
LQGLQPSLQTSGEERLSLNTVYALVYCHRIEVDKTAKEEENQSKKKAQQAAL
DTGNNSQVSNQYIPVQMLQGMQHPISPTNLAANVVEKAFAFPMFPALEAGAT
PDQNTLNTLVNGVGHQAQMLQKETTIEEAENDRLVHPVAGPAGQMRPGESDIAGTT
SNLQEGIQWMTNSNP1PVGEYIKRWIILGNLKVIRVMSYPSIILDRQGPKEPFDVDFR
YKTLRAEGATQEVKNWNTSLTVLQVANNPCDRTIKALGPALETLEMMTQAQGVGGSHHA
RVLAEMASQVNTNATIMQMGNNFNQRKQVFCNMGCEGHAIANCRRKGCWCKGKG
HQMCKD--TERQANFLGKIPWSYK--RPGNLFQSR--          -E2PAP
PESFSFPEGGETATPQSQKEPDKDLYPLASLKGNDPFSQSQ
>gagb.yfn4.3
MGARASVLSGLEDLWKEIRLRGGKKYQKLHIVWASRELERFALNPGLLTSEGCKQI
LEQLQPSLQTSGEERLSLNTVYALVYCHRIEVDKTAKEEENQSKKKAQQAAL
DTGNNSQVSNQYIPVQMLQGMQHPISPTNLAANVVEKAFAFPMFPALEAGAT
PDQNTLNTLVNGVGHQAQMLQKETTIEEAENDRLVHPVAGPAGQMRPGESDIAGTT
SNLQEGIQWMTNSNP1PVGEYIKRWIILGNLKVIRVMSYPSIILDRQGPKEPFDVDFR
YKTLRAEGATQEVKNWNTSLTVLQVANNPCDRTIKALGPALETLEMMTQAQGVGGSHHA
RVLAEMASQVNTNATIMQMGNNFNQRKQVFCNMGCEGHAIANCRRKGCWCKGKG
HQMCKD--TERQANFLGKIPWSYK--RPGNLFQSR--          -E2PAP
PESFSFPEGGETATPQSQKEPDKDLYPLASLKGNDPFSQSQ
>gagb.yfn4.4
MGARASVLSGLEDLWKEIRLRGGKKYQKLHIVWASRELERFALNPGLLTSEGCKQI
LQGLQPSLQTSGEERLSLNTVYALVYCHRIEVDKTAKEEENQSKKKAQQAAL
DTGNNSQVSNQYIPVQMLQGMQHPISPTNLAANVVEKAFAFPMFPALEAGAT
PDQNTLNTLVNGVGHQAQMLQKETTIEEAENDRLVHPVAGPAGQMRPGESDIAGTT
SNLQEGIQWMTNSNP1PVGEYIKRWIILGNLKVIRVMSYPSIILDRQGPKEPFDVDFR
YKTLRAEGATQEVKNWNTSLTVLQVANNPCDRTIKALGPALETLEMMTQAQGVGGSHHA
RVLAEMASQVNTNATIMQMGNNFNQRKQVFCNMGCEGHAIANCRRKGCWCKGKG
HQMCKD--TERQANFLGKIPWSYK--RPGNLFQSR--          -E2PAP
PESFSFPEGGETATPQSQKEPDKDLYPLASLKGNDPFLSQ
>gagb.yfn6.1
MGARASVLSGLEDLWKEIRLRGGKKYQKLHIVWASRELERFALNPGLLTSEGCKQI
LQGLQPSLQTSGEERLSLNTVYALVYCHRIEVDKTAKEEENQSKKKAQQAAL
DTGNNSQVSNQYIPVQMLQGMQHPISPTNLAANVVEKAFAFPMFPALEAGAT
PDQNTLNTLVNGVGHQAQMLQKETTIEEAENDRLVHPVAGPAGQMRPGESDIAGTT
SNLQEGIQWMTNSNP1PVGEYIKRWIILGNLKVIRVMSYPSIILDRQGPKEPFDVDFR
YKTLRAEGATQEVKNWNTSLTVLQVANNPCDRTIKALGPALETLEMMTQAQGVGGSHHA
RVLAEMASQVNTNATIMQMGNNFNQRKQVFCNMGCEGHAIANCRRKGCWCKGKG
HQMCKD--TERQANFLGKIPWSYK--RPGNLFQSR--          -E2PAP
PESFSFPEGGETATPQSQKEPDKDLYPLASLKGNDPFLSQ
>gagb.yfn6.2
MGARASVLSGLEDLWKEIRLRGGKKYQKLHIVWASRELERFALNPGLLTSEGCKQI
LQGLQPSLQTSGEERLSLNTVYALVYCHRIEVDKTAKEEENQSKKKAQQAAL
DTGNNSQVSNQYIPVQMLQGMQHPISPTNLAANVVEKAFAFPMFPALEAGAT
PDQNTLNTLVNGVGHQAQMLQKETTIEEAENDRLVHPVAGPAGQMRPGESDIAGTT
SNLQEGIQWMTNSNP1PVGEYIKRWIILGNLKVIRVMSYPSIILDRQGPKEPFDVDFR
YKTLRAEGATQEVKNWNTSLTVLQVANNPCDRTIKALGPALETLEMMTQAQGVGGSHHA
RVLAEMASQVNTNATIMQMGNNFNQRKQVFCNMGCEGHAIANCRRKGCWCKGKG
HQMCKD--TERQANFLGKIPWSYK--RPGNLFQSR--          -E2PAP
PESFSFPEGGETATPQSQKEPDKDLYPLASLKGNDPFSQSQ

```

【 図 9 - 7 】

Fig. 9 cont'd-6

SDPDLNTMLTVGGHGAOMQLMDTINEEAANDRWLHVHVGAGPVFVADIQGKPEMRPGSDIAGTT  
 NLSQQLAWMTGNPNFPVGDJYKRWLILGNLKVIRVYSPVSLDIOQKGFPRFYDVORF  
 FKTLEAQESTQVEKNWMTTLLVQANPDCKTLRALGPAALSEEMMTACQGVGGPHSHA  
 RVLEAMQSG--NSTN-ILMORGNFCKTRJ1KCNFQKGEGLHARNCAPRKGCWKCKGEG  
 HQMKDC--TEQANFLNGFVSHSKG--RPNGLQNRPE--PTATPVEFPAETPAEATP  
 PASFFRFFGE--TTAPKQEKDRE--PLISLKSFGSDPLSQ

>gag.sc.y3n.2  
 MGARSL1RGKGLDWTKRLRPGGKKHMYKHLVWASRELALPNGLLSTSEGGQKI  
 MOKLPAQLQGTTEKLSLNTVATYVCHGVKEIYVRDKEAVDIEEONKSOQKTQAKA  
 A--KVSQNY1PVIQNGQVMQVHP1SPRTNIAWVIEKAGNPEVIMFATLSAGT  
 PQDLNTMLTVGGHGAOMQLMDTINEEAANDRWLHVHVGAGPVFVADIQGKPEMRPGSDIAGT  
 STLOQJLWMTSNPNFPVGDJYKRWLILGNLKVIRVYSPVSLDIOQKGFPRFYDVORF  
 FKTLEAQESTQVEKNWMTTLLVQANPDCKTLRALGPAALSEEMMTACQGVGGPHSHA  
 RVLEAMQSG--NSTN-ILMORGNFCKTRJ1KCNFQKGEGLHARNCAPRKGCWKCKGEG  
 HQMKDC--TEQANFLNGFVSHSKG--RPNGLQNRPE--PTATPVEFPAETPAEATP  
 PASFFRFFGE--TTAPKQEKDRE--PLISLKSFGSDPLSQ

>gag.sc.y3n.3  
 MGARSL1RGKGLDWTKRLRPGGKKHMYKHLVWASRELALPNGLLSTSEGGQKI  
 IQKLPALQGTTEKLSLNTVATYVCHGVKEIYVRDKEAVDIEEONKSOQKTQAKA  
 A--KVSQNY1PVIQNGQVMQVHP1SPRTNIAWVIEKAGNPEVIMFATLSAGT  
 PQDLNTMLTVGGHGAOMQLMDTINEEAANDRWLHVHVGAGPVFVADIQGKPEMRPGSDIAGT  
 STLOQJLWMTSNPNFPVGDJYKRWLILGNLKVIRVYSPVSLDIOQKGFPRFYDVORF  
 FKTLEAQESTQVEKNWMTTLLVQANPDCKTLRALGPAALSEEMMTACQGVGGPHSHA  
 RVLEAMQSG--NSTN-ILMORGNFCKTRJ1KCNFQKGEGLHARNCAPRKGCWKCKGEG  
 HQMKDC--TEQANFLNGFVSHSKG--RPNGLQNRPE--PTATPVEFPAETPAEATP  
 PASFFRFFGE--TTAPKQEKDRE--PLISLKSFGSDPLSQ

>gag.sc.y4n.1  
 MGARSL1RGKGLDWTKRLRPGGKKHMYKHLVWASRELALPNGLLSTSEGGQKI  
 IQKLPALQGTTEKLSLNTVATYVCHGVKEIYVRDKEAVDIEEONKSOQKTQAKA  
 A--KVSQNY1PVIQNGQVMQVHP1SPRTNIAWVIEKAGNPEVIMFATLSAGT  
 PQDLNTMLTVGGHGAOMQLMDTINEEAANDRWLHVHVGAGPVFVADIQGKPEMRPGSDIAGT  
 STLOQJLWMTSNPNFPVGDJYKRWLILGNLKVIRVYSPVSLDIOQKGFPRFYDVORF  
 FKTLEAQESTQVEKNWMTTLLVQANPDCKTLRALGPAALSEEMMTACQGVGGPHSHA  
 RVLEAMQSG--NSTN-ILMORGNFCKTRJ1KCNFQKGEGLHARNCAPRKGCWKCKGEG  
 HQMKDC--TEQANFLNGFVSHSKG--RPNGLQNRPE--PTATPVEFPAETPAEATP  
 PASFFRFFGE--TTAPKQEKDRE--PLISLKSFGSDPLSQ

>gag.sc.y4n.2  
 MGARSL1RGKGLDWTKRLRPGGKKHMYKHLVWASRELALPNGLLSTSEGGQKI  
 IQKLPALQGTTEKLSLNTVATYVCHGVKEIYVRDKEAVDIEEONKSOQKTQAKA  
 A--KVSQNY1PVIQNGQVMQVHP1SPRTNIAWVIEKAGNPEVIMFATLSAGT  
 PQDLNTMLTVGGHGAOMQLMDTINEEAANDRWLHVHVGAGPVFVADIQGKPEMRPGSDIAGT  
 STLOQJLWMTSNPNFPVGDJYKRWLILGNLKVIRVYSPVSLDIOQKGFPRFYDVORF  
 FKTLEAQESTQVEKNWMTTLLVQANPDCKTLRALGPAALSEEMMTACQGVGGPHSHA  
 RVLEAMQSG--NSTN-ILMORGNFCKTRJ1KCNFQKGEGLHARNCAPRKGCWKCKGEG  
 HQMKDC--TEQANFLNGFVSHSKG--RPNGLQNRPE--PTATPVEFPAETPAEATP  
 PASFFRFFGE--TTAPKQEKDRE--PLISLKSFGSDPLSQ

>gag.sc.y4n.3  
 MGARSL1RGKGLDWTKRLRPGGKKHMYKHLVWASRELALPNGLLSTSEGGQKI  
 MOKLPAQLQGTTEKLSLNTVATYVCHGVKEIYVRDKEAVDIEEONKSOQKTQAKA  
 A--KVSQNY1PVIQNGQVMQVHP1SPRTNIAWVIEKAGNPEVIMFATLSAGT  
 PQDLNTMLTVGGHGAOMQLMDTINEEAANDRWLHVHVGAGPVFVADIQGKPEMRPGSDIAGT  
 STLOQJLWMTSNPNFPVGDJYKRWLILGNLKVIRVYSPVSLDIOQKGFPRFYDVORF  
 FKTLEAQESTQVEKNWMTTLLVQANPDCKTLRALGPAALSEEMMTACQGVGGPHSHA  
 RVLEAMQSG--NSTN-ILMORGNFCKTRJ1KCNFQKGEGLHARNCAPRKGCWKCKGEG  
 HQMKDC--TEQANFLNGFVSHSKG--RPNGLQNRPE--PTATPVEFPAETPAEATP  
 PASFFRFFGE--TTAPKQEKDRE--PLISLKSFGSDPLSQ

【 図 9 - 9 】

Fig. 9 cont'd-8

VLAEAMSQ-ANQ-NILIMQRMFGPKGRPTIKFCNCGKEGHLIACNCRPRKKGCKWGREG  
HOMKDC-TEROANFLGKIQWSPNKG-RPGNFLQSRP-----EPTAP  
PAESFRFGE--TTTAPPKQEKLDRE--PLTSLKLSFGNDPLSQ  
>gagc. syn4. 4  
MGARSLATLGGKLDKWEKIRLPPGRKKHMKHIVWASLERELFALNPLGLETSEGGQIT  
IQOLPALQITTEELRSLENTVATLYCHKEIVERTDKEALDVEEKNQSQKQTOQAAG  
PSDNTMLNTLGVQAGQMVQHQAIPTLNAMVWVKEKAFPEVIMPTALSGEAGT  
PDNTLMLNTLGVQAGQAMQMLKITINDEAAEDRWLRHVQAGVPAGQRPREGSDIAGTT  
STLQEGATIAWNTSNPPVPGVDIKYRWILINGLKIWRMVSVPVSLIDGQKPEEFDYVDRF  
FKTLRAEATQVQKWNMTTELVLANPDCDKTLALGLEGALTEEMTACQGVGGSHRA  
VLAEAMSQ-ANNANIMQRMNSFNKGPRTKVCNCGREGHIAKNCRAPRKKGCKWGREG  
HOMKDC-TEROANFLGKIQWSPNKG-RPGNFSQSRPEPTAPLETPAPPA-----EPTAP  
PAESFRFGE--TTTAPPKQEKPDRE--PLTSLKLSFGSDPLSQ  
>gagc. syn6. 1  
MGARSLVGLKEDLWIERLIKPPGKKHMKHIVWASLERELFALNPLGLETSEGGQIT  
IQOLPALQITTEELRSLENTVATLYCHKEIVERTDKEALDVEEKNQSQKQTOQAAG  
PSDNTMLNTLGVQAGQMVQHQAIPTLNAMVWVKEKAFPEVIMPTALSGEAGT  
PDNTLMLNTLGVQAGQAMQMLKITINDEAAEDRWLRHVHAGIAPQGMORPREGSDIAGTT  
STLQEGATIAWNTSNPPVPGVDIKYRWILINGLKIWRMVSVPVSLIDGQKPEEFDYVDRF  
FKTLRAEATQVQKWNMTTELVLANPDCDKTLALGLEGALTEEMTACQGVGGSHRA  
VLAEAMSQ-ANS-NILIMQRMNSFNKGPRTIKFCNCGKEGHLIACNCRPRKKGCKWGREG  
HOMKEC-TEROANFLGKIQWSPNKG-RPGNFLQSRP-----EPTAP  
PAESFRFGE--TTTAPPKQEKPDRE--PLTSLKLSFGSDPLSQ  
>gagc. syn6. 2  
MGASLISLGLKEDLWIERLIKPPGKKHMKHIVWASLERELFALNPLGLETSEGGQIT  
MQOLPALQITTEELRSLENTVATLYCHKEIVERTDKEALDVEEKNQSQKQTOQAAG  
AQD--KVSQNTYNTLGVQAGQMVQHQAIPTLNAMVWVKEKAFPEIIMPTALSGEAGT  
PDNTLMLNTLGVQAGQAMQMLKITINDEAAEDRWLRHVHAGIAPQGMORPREGSDIAGTT  
STLQEGATIAWNTSNPPVPGVDIKYRWILINGLKIWRMVSVPVSLIDGQKPEEFDYVDRF  
FKTLRAEATQVQKWNMTTELVLANPDCDKTLALGLEGALTEEMTACQGVGGSHRA  
VLAEAMSQ-ANSTNIMQRMNSFNKGPRTKVCNCGREGHIAKNCRAPRKKGCKWGREG  
HOMKDC-TEROANFLGKIQWSPNKG-RPGNFQNSRPE-----TTAPPA-----EPTAP  
PAESFRFGE--TTTAPPKQEKSDRE--PLTSLKLSFGNDPLSQ  
>gagc. syn6. 3  
MGARSLVGLKEDLWIERLIKPPGKKHMKHIVWASLERELFALNPLGLETSEGGQIT  
IQOLPALQITTEELRSLENTVATLYCHKEIVERTDKEALDVEEKNQSQKQTOQAAG  
PSDNTMLNTLGVQAGQMVQHQAIPTLNAMVWVKEKAFPEVIMPTALSGEAGT  
PDNTLMLNTLGVQAGQAMQMLKITINDEAAEDRWLRHVQAGVPAGQRPREGSDIAGTT  
STLQEGATIAWNTSNPPVPGVDIKYRWILINGLKIWRMVSVPVSLIDGQKPEEFDYVDRF  
FKTLRAEATQVQKWNMTTELVLANPDCDKTLALGLEGALTEEMTACQGVGGSHRA  
VLAEAMSQ-ANNANIMQRMNSFNKGPRTKVCNCGREGHIAKNCRAPRKKGCKWGREG  
HOMKDC-TEROANFLGKIQWSPNKG-RPGNFLQNSRPE-----TTAPPA-----EPTAP  
PAESFRFGE--TTTAPPKQEKSDRE--PLTSLKLSFGSDPLSQ  
>gagc. syn6. 4  
MGARSLATLGGKLDKWEKIRLPPGRKKHMKHIVWASLERELFALNPLGLETSEGGQIT  
IQOLPALQITTEELRSLENTVATLYCHKEIVERTDKEALDVEEKNQSQKQTOQAAG  
PSDNTMLNTLGVQAGQMVQHQAIPTLNAMVWVKEKAFPEVIMPTALSGEAGT  
PDNTLMLNTLGVQAGQAMQMLKITINDEAAEDRWLRHVQAGVPAGQRPREGSDIAGTT  
STLQEGATIAWNTSNPPVPGVDIKYRWILINGLKIWRMVSVPVSLIDGQKPEEFDYVDRF  
FKTLRAEATQVQKWNMTTELVLANPDCDKTLALGLEGALTEEMTACQGVGGSHRA  
VLAEAMSQ-ANNANIMQRMNSFNKGPRTKVCNCGREGHIAKNCRAPRKKGCKWGREG  
HOMKDC-TEROANFLGKIQWSPNKG-RPGNFLQNSRPE-----TTAPPA-----EPTAP  
PAESFRFGE--TTTTPPKQEKPDRE--PLTSLKLSFGSDPSQ

Fig. 9 cont'd - B

**\*gag.c, syn6.5**  
MGARSIIRLGGKLDWEKRLRPGGKKHYMLKHLIWA\$RELFALNPGLLTE\$EGCKQI  
IQKQPALKTQGE\$LSNTVNTVLYCH\$EIVRDKLEAEIK\$EENQ\$KQ\$QAAQ  
ADK---KVSQNYPIVQNIQGMQHQI\$P\$RTN\$N\$W\$VEKEA\$F\$EVI\$PM\$TAL\$SEAGT  
P\$DNTLNT\$ITG\$GQAAM\$Q\$KIDT\$INEA\$E\$AVR\$D\$H\$V\$H\$V\$AG\$P\$Q\$M\$R\$E\$P\$G\$S\$DIAGT  
STLQ\$EIQ\$G\$W\$NT\$N\$PI\$V\$E\$V\$E\$Y\$K\$R\$W\$I\$T\$IL\$G\$K\$N\$I\$R\$M\$V\$P\$S\$IDT\$KQ\$G\$K\$P\$F\$R\$Y\$D\$V\$R  
FKVLA\$R\$E\$Q\$T\$Q\$D\$K\$V\$N\$W\$T\$T\$LL\$N\$AN\$P\$D\$C\$K\$T\$IL\$AL\$G\$P\$S\$LE\$M\$M\$T\$A\$C\$Q\$G\$V\$G\$S\$H\$A  
R\$V\$LA\$E\$A\$M\$Q\$-N\$T\$S\$-I\$M\$O\$R\$N\$S\$P\$C\$K\$V\$F\$C\$N\$G\$K\$E\$G\$H\$I\$AN\$C\$R\$P\$K\$G\$C\$W\$K\$G\$K\$E  
H\$M\$Q\$K\$C-TE\$R\$Q\$AN\$F\$IL\$P\$S\$H\$K\$G\$R-P\$G\$N\$F\$Q\$S\$R\$E---PT\$A\$P---E\$T\$P\$A  
P\$S\$F\$R\$F\$E\$E---T\$P\$A\$P\$Q\$E\$K\$D\$R\$E---P\$I\$T\$S\$L\$S\$F\$G\$D\$S\$D\$Q\$S\$

**\*gag.c, syn6.6**  
MGARSIIRLGGKLDWEKRLRPGGKKHYMLKHLIWA\$RELFALNPGLLTE\$ADGCKQI  
IQKQPALQ\$T\$E\$E\$R\$S\$L\$N\$T\$V\$AT\$Y\$V\$H\$E\$IV\$R\$D\$K\$E\$A\$LE\$E\$E\$N\$Q\$S\$K\$Q\$A\$Q\$A  
ADK---KVSQNYPIVQNIQGMQHQI\$P\$RTN\$N\$W\$VEKEA\$F\$EVI\$PM\$TAL\$SEAGT  
P\$DNTLNT\$ITG\$GQAAM\$Q\$KIDT\$INEA\$E\$AVR\$D\$H\$V\$H\$V\$AG\$P\$Q\$M\$R\$E\$P\$G\$S\$DIAGT  
STLQ\$EIQ\$G\$W\$NT\$N\$PI\$V\$E\$V\$E\$Y\$K\$R\$W\$I\$T\$IL\$G\$K\$N\$I\$R\$M\$V\$P\$S\$IDT\$KQ\$G\$K\$P\$F\$R\$Y\$D\$V\$R  
FKVLA\$R\$E\$Q\$T\$Q\$D\$K\$V\$N\$W\$T\$T\$LL\$N\$AN\$P\$D\$C\$K\$T\$IL\$AL\$G\$P\$S\$LE\$M\$M\$T\$A\$C\$Q\$G\$V\$G\$S\$H\$A  
R\$V\$LA\$E\$A\$M\$Q\$-N\$T\$S\$-I\$M\$O\$R\$N\$S\$P\$C\$K\$V\$F\$C\$N\$G\$K\$E\$G\$H\$I\$AN\$C\$R\$P\$K\$G\$C\$W\$K\$G\$K\$E  
H\$M\$Q\$K\$C-TE\$R\$Q\$AN\$F\$IL\$P\$S\$H\$K\$G\$R-P\$G\$N\$F\$Q\$S\$R\$E---PT\$A\$P---E\$T\$P\$A  
P\$S\$F\$G\$C\$E---T\$P\$A\$P\$Q\$E\$K\$D\$R\$E---P\$I\$T\$S\$L\$S\$F\$G\$D\$S\$D\$Q\$S\$

**\*gag.s, synk.1**  
MGARSIIRLGGKLDWEKRLRPGGKKHYMLKHLIWA\$RELFALNPGLLTE\$EGCKQI  
IQKQPALQ\$T\$E\$E\$R\$S\$L\$N\$T\$V\$AT\$Y\$V\$H\$E\$IV\$R\$D\$K\$E\$A\$LE\$E\$E\$N\$Q\$S\$K\$Q\$A\$Q\$A  
ADK---KVSQNYPIVQNIQGMQHQI\$P\$RTN\$N\$W\$VEKEA\$F\$EVI\$PM\$TAL\$SEAGT  
P\$DNTLNT\$ITG\$GQAAM\$Q\$KIDT\$INEA\$E\$AVR\$D\$H\$V\$H\$V\$AG\$P\$Q\$M\$R\$E\$P\$G\$S\$DIAGT  
STLQ\$EIQ\$G\$W\$NT\$N\$PI\$V\$E\$V\$E\$Y\$K\$R\$W\$I\$T\$IL\$G\$K\$N\$I\$R\$M\$V\$P\$S\$IDT\$KQ\$G\$K\$P\$F\$R\$Y\$D\$V\$R  
FKVLA\$R\$E\$Q\$T\$Q\$D\$K\$V\$N\$W\$T\$T\$LL\$N\$AN\$P\$D\$C\$K\$T\$IL\$AL\$G\$P\$S\$LE\$M\$M\$T\$A\$C\$Q\$G\$V\$G\$S\$H\$A  
R\$V\$LA\$E\$A\$M\$Q\$-A\$N\$N\$I\$M\$O\$R\$N\$S\$P\$C\$K\$V\$F\$C\$N\$G\$K\$E\$G\$H\$I\$AN\$C\$R\$P\$K\$G\$C\$W\$K\$G\$K\$E  
H\$M\$Q\$K\$C-TE\$R\$Q\$AN\$F\$IL\$P\$S\$H\$K\$G\$R-P\$G\$N\$F\$Q\$S\$R\$E---PT\$A\$P---E\$T\$P\$A  
P\$S\$F\$R\$F\$E\$E---T\$P\$A\$P\$Q\$E\$K\$D\$R\$E---P\$I\$T\$S\$L\$S\$F\$G\$D\$S\$D\$Q\$S\$

**\*gag.g, syn3.1**  
---R\$V\$S\$L\$S\$G\$G\$K\$D\$A\$E\$K\$R\$L\$R\$P\$G\$G\$K\$H\$Y\$M\$K\$H\$L\$I\$W\$A\$S\$R\$E\$LF\$AL\$N\$P\$G\$LL\$T\$E\$A\$G\$C\$Q\$I  
L\$G\$Q\$P\$AL\$Q\$T\$E\$E\$R\$S\$L\$N\$T\$V\$AT\$Y\$V\$H\$O\$R\$E\$V\$D\$K\$E\$A\$LE\$E\$E\$N\$Q\$S\$K\$K\$A\$Q\$A\$Q\$A  
P\$D\$N\$T\$S\$Q\$V\$S\$Q\$N\$Y\$P\$I\$V\$Q\$N\$I\$Q\$G\$M\$Q\$H\$Q\$I\$P\$S\$R\$T\$N\$N\$W\$V\$E\$K\$A\$F\$E\$V\$E\$V\$I\$P\$M\$T\$A\$L\$SEAGT  
P\$D\$N\$T\$L\$N\$T\$IT\$G\$H\$Q\$A\$M\$Q\$K\$ID\$T\$INEA\$E\$AVR\$D\$H\$V\$H\$V\$AG\$P\$Q\$M\$R\$E\$P\$G\$S\$DIAGT  
STLQ\$EIQ\$G\$W\$NT\$N\$PI\$V\$E\$V\$E\$Y\$K\$R\$W\$I\$T\$IL\$G\$K\$N\$I\$R\$M\$V\$P\$S\$IDT\$KQ\$G\$K\$P\$F\$R\$Y\$D\$V\$R  
FKVLA\$R\$E\$Q\$T\$Q\$D\$K\$V\$N\$W\$T\$T\$LL\$N\$AN\$P\$D\$C\$K\$T\$IL\$AL\$G\$P\$S\$LE\$M\$M\$T\$A\$C\$Q\$G\$V\$G\$S\$H\$A  
R\$V\$LA\$E\$A\$M\$Q\$-N\$T\$S\$A\$N\$I\$M\$O\$R\$N\$F\$N\$Q\$R\$T\$V\$F\$C\$N\$G\$K\$E\$G\$H\$I\$AN\$C\$R\$P\$K\$G\$C\$W\$K\$G\$K\$E  
H\$M\$Q\$K\$C-NE\$R\$Q\$AN\$F\$IL\$P\$S\$H\$K\$G-R\$G\$N\$F\$Q\$S\$R\$E---PT\$A\$P---E\$T\$P\$A  
P\$S\$F\$R\$F\$E\$E\$T\$T\$F\$S\$Q\$K\$E\$P\$D\$K\$E\$Y\$L\$P\$S\$L\$S\$F\$G\$D\$S\$D\$Q\$S\$

**\*gag.s, syn3.2**  
MGARSIIRLGGKLDWEKRLRPGGKKHYMLKHLIWA\$RELFALNPGLLTE\$AEGCKQI  
IQKQPALKTQGE\$LSNTVNTVLYCH\$EIVRDKLEAEIK\$EENQ\$KQ\$QAAQ  
T\$G\$E\$S\$K\$N\$Q\$S\$K\$Q\$A\$Q\$A  
P\$DNTLNT\$ITG\$GQAAM\$Q\$KIDT\$INEA\$E\$AVR\$D\$H\$V\$H\$V\$AG\$P\$Q\$M\$R\$E\$P\$G\$S\$DIAGT  
STLQ\$EIQ\$G\$W\$NT\$N\$PI\$V\$E\$V\$E\$Y\$K\$R\$W\$I\$T\$IL\$G\$K\$N\$I\$R\$M\$V\$P\$S\$IDT\$KQ\$G\$K\$P\$F\$R\$Y\$D\$V\$R  
FKVLA\$R\$E\$Q\$T\$Q\$D\$K\$V\$N\$W\$T\$T\$LL\$N\$AN\$P\$D\$C\$K\$T\$IL\$AL\$G\$P\$S\$LE\$M\$M\$T\$A\$C\$Q\$G\$V\$G\$S\$H\$A  
R\$V\$LA\$E\$A\$M\$Q\$-A\$N\$N\$I\$M\$O\$R\$N\$F\$N\$Q\$R\$T\$V\$F\$C\$N\$G\$K\$E\$G\$H\$I\$AN\$C\$R\$P\$K\$G\$C\$W\$K\$G\$K\$E  
H\$M\$Q\$K\$C-TE\$R\$Q\$AN\$F\$IL\$P\$S\$H\$K\$G-R\$G\$N\$F\$Q\$S\$R\$E---E\$P\$A\$P  
P\$S\$F\$G\$C\$E---T\$P\$A\$P\$Q\$E\$K\$D\$R\$E---P\$I\$T\$S\$L\$S\$F\$G\$D\$S\$D\$Q\$S\$

**\*gag.g, syn3.3**  
MGARSIIRLGGKLDWEKRLRPGGKKHYMLKHLIWA\$RELFALNPGLLTE\$EGCKQI  
MQKQPALQ\$T\$E\$E\$R\$S\$L\$N\$T\$V\$AT\$Y\$V\$H\$O\$R\$D\$V\$D\$K\$E\$A\$LE\$E\$E\$N\$Q\$K\$Q\$A\$Q\$A  
ADK---KVSQNYPIVQNIQGMQHQI\$P\$RTN\$N\$W\$VEKEA\$F\$EVI\$PM\$TAL\$SEAGT

[illegible][illegible]

【 図 1 0 - 4 】

Fig. 10 cont'd-3

NTNNVTKITVQLNETVNEINTRPNNTNNRTPIGPGRVMTTDEIDIGIQRAHNLSRTQ  
 WNTTLQVTLKQRFQFQ-KNTIIPQSSGGDFPVMVHNSGCGEYFNCTQPLNSTWST-  
 -NNTTINR--TEGNSNTN--NITLPRCKRIQILNMQVEWKGMAYPIPGQTSSS  
 -NTGTLTLDRGGNN-NET-NRTTEPRGNNNDNWSLEYKVKVPIEVPAPTKAR  
 RVQRVREKRAV-IGALFGLFGAAGSGTAAVSTLVQARQLSGVQQNNNLRAIEA  
 QOQMLQTLTWGVIKQARFLAVERYLKQOQILGWGSCIKTLTTPVWNSWNSKSLN  
 IWNMTWMMQWEKEIDNVTYLVILEEQNSQNEKEELLEDDKWLKNWWSFNINWJY  
 IRIFIMIVGGILGLRIVNTSVITVRVNRQOQSPSLSTRLTPRQRPDTEEGEEDGR  
 RDSIRLVDGFLALIVDWSRLSICFSYHRLLDILLI--VELL--RGRWEGL  
 YWNWLQVQLWQELKSASVNLNATIAVAGSTDVIEVQVRAILFIHPTIRQOGERLA  
 LQ-  
 >ENV-B.syn6.3  
 MRVKGIRNRYQKLRWMLRGL--LGMICISATQELWTVYGVVPMKSTTTLF  
 CASAKAYATKEAHNVATACVDPNPQVPEVLENTNFMNKMNMQEHQEDILNDQ  
 QKQKPCVGLFYKLVCTLNCDKNT--NNATNSNTN--GMEKNEIKNCSFNITITMDK  
 YVQAGFYALFYLDVNPV-DNNITS--YILNCSTSVITQACPKSFPQPIFIH  
 KCPVAGFALIKCRDKKFNQCKSNVSTVQCHTRIPVSTQLLNGSLAEGBEIVRSEN  
 FTDNAKTIIVQLKDPVKINCTRNPNNTNRTPIGPGRVMTTDEIDIGIQRAHNLS'TK  
 WNTKLQVQVQKQRFQFQ-KNTIIPQSSGGDFPVMVHNSGCGEYFNCTQPLNSTWST-  
 -NNTTINR--STSLNSTN--GITTLQCKRIQILNRWQVKGAMAYPIPEQIQRKSL  
 -NTGTLTLDRGGNN-NET-TGTVPRGNNNDNWSLEYKVKVPIEVPAPTKAR  
 RVQRVREKRAV-IGALFGLFGAAGSGTAAVSTLVQARQLSGVQQNNNLRAIEA  
 QOQMLQTLTWGVIKQARFLAVERYLKQOQILGWGSCIKTLTTPVWNSWNSKSLN  
 IWNMTWMMQWEKEIDNVTYLVILEEQNSQNEKEELLEDDKWLKNWWSFNINWJY  
 IRIFIMIVGGILGLRIVNTSVILNVRVNRQOQSPSLSTRLTPRQRPDTEEGEEDGR  
 RDSIRLVDGFLALIVDWSRLSICFSYHRLLDILLI--VELL--RGRWEGL  
 YWNWLQVQLWQELKSASVNLNATIAVAGSTDVIEVQVRAILFIHPTIRQOGERLA  
 LQ-  
 >ENV-B.syn6.4  
 MRVKGIRNRYQKLRWML--LGMICISAAQQLWTVYGVVPMVRDANATLF  
 CASAKAYATKEAHNVATASVDPNPQVPEVLENTNFMNKMNMQEHQEDILNDQ  
 QKQKPCVGLFYKLVCTLNCDKNT--NNATNSNTN--GMEKNEIKNCSFNITITMDK  
 YVQAGFYALFYLDVNPV-DNNITS--YILNCSTSVITQACPKSFPQPIFIH  
 KCPVAGFALIKCRDKKFNQCKSNVSTVQCHTRIPVSTQLLNGSLAEGBEIVRSEN  
 FTDNAKTIIVHLESNEINTRNLNTRKIHMGPRAPRYATGEIGQIDQRAHNLSRAK  
 WNTKLQVTLKQRFQFNKNTIIPQSSGGDFPVMVHNSGCGEYFNCTQPLNSTWST-  
 -NNTTINR--NTGTLTLDRGG--D--SCTEIPRGGNNNDNWSLEYKVKVPIEVPAPTKAR  
 RVQRVREKRAV-IGALFGLFGAAGSGTAAVSTLVQARQLSGVQQNNNLKAIEA  
 QOQMLRQLTWGVIKQARFLAVERYLKQOQILGWGSCIKTLTTPVWNSWNSKSLN  
 IWNMTWMMQWEKEIDNVTYLVILNLEEQNSQNEKEELLEDDKWLKNWWSFNINWJY  
 IRIFIMIVGGILGLRIVNTSVILNVRVNRQOQSPSLSTRLTPRQRPDTEEGEEDGR  
 RDSIRLVDGFLALIVDWSRLSICFSYHRLLDILLI--VELL--RGRWEGL  
 YWNWLQVQLWQELKSASVNLNATIAVAGSTDVIEVQVRAILFIHPTIRQOGERLA  
 LQ-  
 >ENV-B.syn6.5  
 MRVKGIRNRYQKLRWML--LGMICISATQELWTVYGVVPMKSTTTLF  
 CASAKAYATKEAHNVATASVDPNPQVPEVLENTNFMNKMNMQEHQEDILNDQ  
 QKQKPCVGLFYKLVCTLNCDKNT--NNATNSNTN--GMEKNEIKNCSFNITITMDK  
 YVQAGFYALFYLDVNPV-DNNITS--YILNCSTSVITQACPKSFPQPIFIH  
 KCPVAGFALIKCRDKKFNQCKSNVSTVQCHTRIPVSTQLLNGSLAEGBEIVRSEN  
 FTDNAKTIIVHLESNEINTRNLNTRKIHMGPRAPRYATGEIGQIDQRAHNLSRAK  
 WNTKLQVTLKQRFQFQ-KNTIIPQSSGGDFPVMVHNSGCGEYFNCTQPLNSTWST-  
 -NNTTINR--VTGNSNTTGGDNTLIPCRKIQILNRWQVKGAMAYPIKQTKCSKS

【 図 1 0 - 6 】

Fig. 10 cont'd-5

NNNNMTTMMQDREINNTYTYRLLSEDSQQQKEENQDGLLNNPDLNKNWNPDTINWLY  
IRIFIMIVGGLLRQIFAVLISVNNRVQSGPLSQTLTIFNRDLRGLRIIEEGEGD  
RGSRILVSGFLAIWADDRSLSCFSFYSHRDLFIETARAALGLHSSRLGRLQGWLEAK  
YLGSILVQWGLEKLSAINLSDTAIAVAGTDRDIIETQIRCAIRNIPRIRQGLEAA  
LIQ  
>ENV-C.syn3.2  
MVRGILIRNQNNQWIGLIG-----FMMILINVCVGNLWTVYVGVVPMVEAKTTLF  
CASDARKEVEHNVNVAACVPTDPNPQBLVENTEFMNKNMDQMDQMDISLWD  
ESKSPCKVLPTCLVTKCNVTS-----NATVNSNATP--NNTMEGINKCSFNATTEIR  
KQKNVPLVIFGFDVPL--KENNDSN-----YLLNCNTSTITGACKPVEDDPIPH  
ITQCPAGAILKCNKNGTNGCPNNVSTVQCHGKIPVSTQLLNGSLAESIIIRSEN  
LTNNKNTIIVHLNKSIVLITFCRGNKSVIRGQSPFYATGDIIGDIORAYCNITCS  
NTNLLRRLIRIVLHNSISLITFCRFGNNTNTRIGCPQFYATGDIIGDIORAYCNITCS  
TYSVTSN--STSNVSNST-----ITLQCRQIQINMWQVGRVAPYFAGTNGS  
NRITGLLRDGGNNNDTGNNTNDEIRFPGGGKMDNNWRELYKVVYVQNLPIAGTAPK  
VNRREKREKRV--LGAVFILGAGASTGAASMTLTQAORQLSCTVQOQSNILRAIEA  
QHMNQVQWVGILQIQARVLALERYLKDOQLGLGWCSGGLKILCTNNVSNWSNKSLO  
IENNMTTMMQDREINNTYTYRLLSEDSQQQKEENQDGLLSDWNNWNNPSTINWLY  
IKIFIMIVGGLLRQIFAVLISVNNRVQSGPLSQTLTIFNRDLRGLRIIEEGEGD  
RGSRILVSGFLAIWADDRSLSCFSFYSHRDLFIETARAALGLHSSRLGRLQGWLEAK  
YLGSILVQWGLEKLSAINLSDTAIAVAGTDRDIIETQIRCAIRNIPRIRQGLEAA  
LIQ  
>ENV-C.syn3.3  
MVRGILIRNQNNQWIGLIG-----FMMILIRCVGNLWTVYVGVVPMVEAKTTLF  
CASDARKEVEHNVNVAACVPTDPNPQBLVENTEFMNKNMDQMDQMDISLWD  
ESKSPCKVLPTCLVTKCNVTS-----NAVNTVNSDGS--IKEEIKNSNTTEIR  
KQKNVPLVIFGFDVPL--KENSSE-----YLLNCNTSTITGACKPVEDDPIPH  
NTNNTAKTIIVHLNKSISLITFCRFGNNTNTRIGCPQFYATGDIIGDIORAYCNITCS  
WNKTLQWVGKELARHEFF-NKTIINFSNDSGDLITTHSFNCGCFGYFNCNTPLNDS--  
-----ALSANFTS--NPTTLPCRKIQINMWQVGRVAPYFAGTNGS  
SITGLLLRDGGT-----NTEIRFEGGKMDNNWRELYKVVYVQNLPIAGTAPK  
QHMNQVQWVGILQIQARVLGAGASTGAASMTLTQAORQLSCTVQOQSNILRAIEA  
RNRREKREKRV--LGAVFILGAGASTGAASMTLTQAORQLSCTVQOQSNILRAIEA  
QHMNQVQWVGILQIQARVLGAGASTGAASMTLTQAORQLSCTVQOQSNILRAIEA  
IKIFIMIVGGLLRQIFAVLISVNNRVQSGPLSQTLTIFNRDPGRDLRIIEEGEGD  
RGSRILVSGFLAIWADDRSLSCFSFYSHRDLFIETARAALGLHSSRLGRLQGWLEAK  
YLGSILVQWGLEKLSAINLSDTAIAVAGTDRDIIETQIRCAIRNIPRIRQGLEAA  
LIQ  
>ENV-C.syn4.1  
MVRGILIRNQNNQWWSGLS-----FMMILINVCVGNLWTVYVGVVPMVEAKTTLF  
CASDARKEVEHNVNVAACVPTDPDPQBLVENTEFMNKNMDQMDQMDISLWD  
ESKSPCKVLPTCLVTKCNVTS-----GNTRQGNSTN--REEMKNSFNTEIR  
KQKNVPLVIFGFDVPL--KENNSE-----YLLNCNTSTITGACKPVEDDPIPH  
ITQCPAGAILKCNKNGTNGCPNNVSTVQCHGKIPVSTQLLNGSLAESIIIRSEN  
LTNNKNTIIVHLNKSIVLITFCRFGNNTNTRIGCPQFYATGDIIGDIORAYCNITCS  
NTNLLRRLIRIVLHNSISLITFCRFGNNTNTRIGCPQFYATGDIIGDIORAYCNITCS  
VNRREKREKRV--LGAVFILGAGASTGAASMTLTQAORQLSCTVQOQSNILRAIEA  
QHMNQVQWVGILQIQARVLALERYLKDOQLGLGWCSGGLKILCTNNVSNWSNKSLO  
IENNMTTMMQDREINNTYTYRLLSEDSQQQKEENQDGLLSDWNNWNNPDTINWLY  
IKIFIMIVGGLLRQIFAVLISVNNRVQSGPLSQTLTIFNRDPGRDLRIIEEGEGD  
RGSRILVSGFLAIWADDRSLSCFSFYSHRDLFIETARAALGLHSSRLGRLQGWLEAK  
YLGSILVQWGLEKLSAINLSDTAIAVAGTDRDIIETQIRCAIRNIPRIRQGLEAA  
LIQ

【 図 10 - 7 】

Fig. 10 cont'd-6

```

>ENV-C. syn4.2
MRVHGIRNQWQWNIWIGLG-----FWLMICNVGNLWVTVYVGVVWKEAKATLTF
CASDAKAYEKVHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRLDIVPL--NEGSGNANQNSNSDYRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCTPAGYALIKCNDKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRPVVSTQLLNGSLAEGEIIRSEN
LTNNAKTIIVHLNESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--DGT-----ESNSTSNAT-----ITI PCRIKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGNKT--NNTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-C. syn4.3
MRVHGIRNQWQWNIWIGLG-----FWMIICRVGNLWVTVYVGVVWKEAKATLTF
CASNAKAYEKVHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRPDIPLPGKDNKSDNSSEYB--YILINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCAPASAYALIKCNETFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEKEIIRSEN
LTNNVKTIIIVHLESVEINCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTFV-
--NRTDMND--D--TGNST--ITLPCRIKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
STIGLLLTRDGGNNT--ENTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-C. syn4.4
MRVHGIRNQWQWNIWIGLG-----FWLMICNVGNLWVTVYVGVVWKEAKATLTF
CASDAKAYEKVHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRLDIVPL--NMSSE--YRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCAPAGYALIKCNDKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEGEIIRSEN
LTDNVKTIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--NSTQMHN--DTGS--NST--ITLPCRIKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--NNTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-C. syn6.1
MRVHGIRNQWQWNIWIGLG-----FWLMICNVGNLWVTVYVGVVWKEAKATLTF
CASDAKAYEKVHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRPDIPL--NMSSE--YRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCAPASAYALIKCNETFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEEDIIRSEN

```

【 図 10 - 9 】

Fig. 10 cont'd-8

```

QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKTQGE
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQOQENKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-C. syn6.5
MRVHGIRNQWQWNIWIGLG-----FWMIICRVGNLWVTVYVGVVWKEAKATLTF
CASDAKAYEKVHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRLDIVPL--NEGSGNANQNSNSDYRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCAPASAYALIKCNETFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEEDIIRSEN
LTNNAKTIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--NSTQMSN--DTGS--NST--ITLPCRIKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--NNTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-C. syn6.6
MRVHGIRNQWQWNIWIGLG-----FWMIICRVGNLWVTVYVGVVWKEAKATLTF
CASDAKAYEKVHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRLDIVPL--NMSSE--YRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCAPAGYALIKCNDKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEEDIIRSEN
LTNNVKTIIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--DSERINTTT--TTIILPCRIKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--NNTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-M. syn1.1
MRVGTGIRNXYQHLRWGTMLLRWGTMLLGLMIMCSAAGNLWTVYVGVVWKEATLTF
CASDAKAYETEHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRLDIVPL--DNDSNNT--YRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCAPAGYALIKCNDKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEEDIIRSEN
LTNNVKTIIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--N-GTWTNRN--DTERSNSTE--EHTILPCRIKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--SGTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--

```

【 図 10 - 8 】

Fig. 10 cont'd-7

```

LTNNAKTIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--VSAYNNOTDVSADNRDQ--NSTITLPCRIKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--NNTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-C. syn6.2
MRVHGIRNQWQWNIWIGLG-----FWMIICRVGNLWVTVYVGVVWKEAKATLTF
CASDAKAYEKVHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
ESLKPCKVLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-ND--GEMKNCSFNITTEIRD
KKRREYALFYRLDIVPL--DENNSSEKSSBNSSEYVILINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCAPAGYALIKCNDKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEEDIIRSEN
LTNNVKTIIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--MPTYMN--GTESNSNT--ITIPCRKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--NNTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRA--A--LGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-C. syn6.3
MRVHGIRNQWQWNIWIGLG-----FWMIICRVGNLWVTVYVGVVWKEAKATLTF
CASNAKAYEKVHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRLDIVPL--DNDSNNT--YRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCTPAGYALIKCNDKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEEDIIRSEN
LTDNVKTIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--NSTQMSN--DTGS--NST--ITIPCRKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--NNTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRA--A--LGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-C. syn6.4
MRVHGIRNQWQWNIWIGLG-----FWMIICRVGNLWVTVYVGVVWKEAKATLTF
CASDAKAYETEHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRLDIVPL--DNDSNNT--YRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCTPAGYALIKCNDKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEEDIIRSEN
LTDNVKTIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--HGTQSTN--ST--NST--ITIPCRKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--NNTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA

```

【 図 10 - 10 】

Fig. 10 cont'd-9

```

YWNLLQYWSQELKNSAVSLNATAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGLERA
LG--
>ENV-M. syn3.1
MRVHGIRNQWQWNIWIGLG-----FWMIICRVGNLWVTVYVGVVWKEAKATLTF
CASDAKAYEKVHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRLDIVPL--DNDSNNT--YRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCTPAGYALIKCNDKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEEDIIRSEN
LTNNAKTIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--N--STIGLQKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--E--NNTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-M. syn3.2
MRVGTGIRNXYQHLRWGTMLLRWGTMLLGLMIMCSAAGNLWTVYVGVVWKEATLTF
CASDAKAYETEHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
ESLKPCKVLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRLDIVPL--NMSSE--YRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCAPAGYALIKCNDKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEEDIIRSEN
LTNNAKTIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--N-GTWTNRN--DTERSNSTE--EHTILPCRIKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--SGTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--
>ENV-M. syn3.3
MRVGTGIRNXYQHLRWGTMLLRWGTMLLGLMIMCSAAGNLWTVYVGVVWKEATLTF
CASDAKAYETEHNWATHACVPTDPNPQEVILGNVTENFNMKNMVMQMHEDIISLWD
QSLKPCVKLPLCPLVTINCTDVKVNTSGTTTYNSI-DS--MGEIKNCSFNITTEIRD
KKQKAYALFYRLDIVPL--DNDSNNT--YRLINCNTSAITQACPKVTFDPIPIH
YCAPAGYALIKCNDKTFNGTGPCNNVSTVQCTHGIRKPVVSTQLLNGSLAEEDIIRSEN
LTNNAKTIIVHLESVEIVCTRPNNNTKRSIRIGPGQTFYATGDIIGDIRQAHNCISAEK
WNNTLQVGVGKLAHEHFP--NKTIFKPSGGDLVETTHSFNCRGEEFFYCNSTGLFNGTF--
--NNTTNRN--GTESNNT--NITLPCRIKQI INNMQVGRAMYAPPIAGNITCRS
NITGLLLTRDGGT--NNTETFRPGGGDMNRNRSLEYKYVVEIKPLGVAPTAK
RRVVEREKRAVG--IGAVFLGFLGAGSTMGAASTLTVQARQLLSGVQQQNLRAIEA
QOHLQLTVWGIKQLQARVLALERYLKDQQLLGGWCSGKLICTTAVPNWSWSNKSQED
IWGNMTWMQWDEIRNNYNTIYRLLEDSQNQOERNEKDLALDSWKNLWNSFDTINWLMY
IKIFIMIVGGLIGLRIIFAVLSIVNRVQGYSPLSFQTLTPNPRGDRLGRIEEGEGEQD
RDRSIRLVNGFLALAWDDLRLCLFSYHRLRDTLITVARAVELLGRNSLRGLQGWLELK
YLGSLQYWGLELKKSAISLLDTAIAVAGETDRIIEIQRICRAIRNIPRIRIQGFEEA
LG--

```

Fig. 10. contd.-12

RRVREKREKRVAGV-IGAMTFFGLGAAGSTMGASMAALTVQARQLSGVQOQNSLMIATE  
 QOHLKTLITVQIKQLRVARLAVERYLKDQOGLLIGCGSGKHITLTPWNSWSWNSKLS  
 INWNTWMEWREINPQVITLNYLLEKSNQOQNEKQDLADLKWANSLWNTVILNWLWY  
 KIPITIIIVGGLGLRAIVFVSLVSNVRQVYSPSLGTQITVFWPGRPORPEEGEGGG  
 GGG  
 YLGNLLTVQOQKEKISALDITTAIVANWTVRIEVIQRLCAIRNIPRIRQGERA  
 LO

>ENV-M. syn6.4

MRVETQMWNPNLKWGSLT- - - - -LGLVITCSASDNLWTVYVGVVWVRKADTTLF  
 CASDAKAEHTVEHNVAWYACYPDNPZIEVLNVTENFMNKNMNNWQGHEDILNAD  
 QCGKCPVKLTICVTLTCDKLNATFRPNTSSN- - - - -EGKGTGKNTNITISIR  
 VKOYEALVYKLDIVPL-NSNSSE- - - - -YRLINCNVTSYQACPKFISDPDPIH  
 YCAPAGFALKKQNEKFNCTGPNVSTQCTHRIKPVVSTQGLLINGSAEKILIRSEN  
 ITNNAKILVOLNESVINTCTPRNNRNTSRPIGGRVAYTETDITGIRACHNLSRAN  
 WNTMLTKQIVLKLRQEG-NKTTIVNNGSGGDELIVNNGCGEFTVQVQVQVQVQVQV  
 NITGILLTRDGGNTG- - - - -NETTETFRGKMNKNRSLRYKVKVIEPIGLIAPTKA  
 RRVREKREKRVAGV-LGAMFLPFGTAGSTMGAASLITVQARQLSGVQOQNSLMIATE  
 QOHLKTLITVGIKQLRVARLAVERYLKDQOGLLGMWCGSKCLITLTPWNSWSWNSKT  
 INWNTWMDWQDEISNTVITRYLLEDSNQOQNEKRLDLDKSWNKNWNTVILNWLWY  
 KIPITIIIVGGLGLRAIVFVSLVSNVRQVYSPSLGTQITVFWPGRPORPEEGEGGG  
 GGG  
 RDRSIRVNGFALVILWDRSLIFSYHRIILRLITVARIVELL- - - - -RGRWGLW  
 WYNLLWYQOQKESALINDITTAIVANWTVRIEVIQRLCAIRNIPRIRQGERA  
 LO

>ENV-M. syn6.5

MRVETQMWNPNLKWGSLT- - - - -LGLMISCAETKLWTVYVGVVWVRKAEATTLF  
 CASDAKAEHTVEHNVAWYACYPDNPZIEVLNVTENFMNKNMNNWQGHEDILNAD  
 QCGKCPVKLTICVTLTCDKYNKIL-NNATNSVSN-GKMEKEIGKSNFNMTLEDR  
 KKKVYVYKFLKDVQV-DEEDTNS- - - - -YRLINCNVTSYQACPKFISDPDPIH  
 YCAPAGFALKKQNEKFNCTGPNVSTQCTHRIKPVVSTQGLLINGSAEKILIRSEN  
 ITNNAKILVOLNESVINTCTPRNNRNTSRPIGGRVAYTETDITGIRACHNLSRAN  
 WNTMLTKQIVLKLRQEG-NKTTIVNNGSGGDELIVNNGCGEFTVQVQVQVQVQV  
 NITGILLTRDGGNTG- - - - -STNETSTRPGGSDMRNWSRLRYKVKVIEPIGLVAPTEA  
 RRVREKREKRVAGV-LGAMFLPFGTAGSTMGAASLITVQARQLSGVQOQNSLMIATE  
 QOHLKTLITVGIKQLRVARLAVERYLKDQOGLLGMWCGSKCLITLTPWNSWSWNSKT  
 INWNTWMDWQDEISNTVITRYLLEDSNQOQNEKRLDLDKSWNKNWNTVILNWLWY  
 KIPITIIIVGGLGLRAIVFVSLVSNVRQVYSPSLGTQITVFWPGRPORPEEGEGGG  
 GGG  
 RDRSIRVNGFALVILWDRSLIFSYHRIILRLITVARIVELL- - - - -RGRWGLW  
 WYNLLWYQOQKESALINDITTAIVANWTVRIEVIQRLCAIRNIPRIRQGERA  
 LO

>ENV-M. syn6.6

MRVETKRNKYQHLRWGSLT- - - - -LGLMISCAAEQLWTVYVGVVWVRKAEATTLF  
 CASNAKAEHTDEHNVAWYATHACIPDNPZIEVLNVTENFMNKNMNNWQGHEDILNAD  
 QCGKCPVKQLTCLVTLTNN- - - - -VNTVNLKNTNITSSSGGEGMEGKKNNSVITLRO  
 QCGKCPVKQLTCLVTLTNN- - - - -VNTVNLKNTNITSSSGGEGMEGKKNNSVITLRO  
 INWNTWMEWREINPQVITLNYLLEKSNQOQNEKQDLADLKWANSLWNTVILNWLWY  
 KIPITIIIVGGLGLRAIVFVSLVSNVRQVYSPSLGTQITVFWPGRPORPEEGEGGG  
 GGG  
 RDRSIRVNGFALVILWDRSLIFSYHRIILRLITVARIVELL- - - - -RGRWGLW  
 WYNLLWYQOQKESALINDITTAIVANWTVRIEVIQRLCAIRNIPRIRQGERA  
 LO

[illegible]

-POL-B, syn3.1  
 FRENELAFPGKAEFFSSEQTRANSPTRG-----ELQWGVGDNNLSLEAGD  
 DR-----QGVTS-FSFOPTLWORPLVTKIGGOLKEALLTDGADDTVEENMLGRWPKK  
 MGGIGGFKVVKRYQDQFPIELCGHKAJGTVLVGPTPVNIIGRNLITGCTGNLNFPSV  
 TVPVKLPQMGDGKPKWQKPLVEIKAEIKALVEITCEMEKGKSIKGIPEMNPVFAIKKK  
 DSTWKRLVDRELNRLKQDFWEVQGLGHPAGLKKGKSVTVLDGVDAYSFVPLQKDFR  
 YTAFTPI SINNETPGIRGYRYNYVLPQWKGKSPFIQSSMTKILFEFKQNDFIYVQYMD  
 LVGSDSLDEIQRHTKILIELRHLQLLRWGTFDPDKKHQKSEFPFLWGVHEHLPDKWTVQVPL  
 PEKSDVNLDEIQRHTKILVGLNWSAQIYAGIKVQKCLRLLGKALTVEITLQKTEALQIALH  
 QDSGLNVITDSQYAIQIQDQPEKSELSVQIQLKKEKVLAVWPAKKGIGNE  
 QVKVLSAGIKRVLFDLQIDKAQDEHEKHSNNWRAMSDNPVPVKEIYVACCKQKGL  
 GEAMHGQDCSPGQWLDQDTHLEKGIILVAHVHVSQIEAEVIPATGQETAYPTILKLAG  
 RWPVPTITDNGNSNTPTAAVCAAKWQKEFGPIYNNOSQGSNENKLKKIIGVRF  
 DOAEHLTKAQMVAVIHNFRKKGIGQSGYAGERIVDIATDITQTELOKQITQLNFRVY  
 FSDSRDLWPKGPAKMLKKGEGAVIQQNSDIKVPRFRKKIIRDYGQMAGDQCVASRQD  
 ED-

-POL-B, syn3.1  
 FRENELAFPGKAEFFSSEQTRANSPTR-----ELQWGVGDNNLSLEAGD  
 DR-----QGVTS-FSFOPTLWORPLVTKIGGOLKEALLTDGADDTVEENMLGRWPKK  
 MGGIGGFKVVKRYQDQFPIELCGHKAJGTVLVGPTPVNIIGRNLITGCTGNLNFPSV  
 TVPVKLPQMGDGKPKWQKPLVEIKAEIKALVEITCEMEKGKSIKGIPEMNPVFAIKKK  
 DSTWKRLVDRELNRLKQDFWEVQGLGHPAGLKKGKSVTVLDGVDAYSFVPLQKDFR  
 YTAFTPI SINNETPGIRGYRYNYVLPQWKGKSPFIQSSMTKILFEFKQNDFIYVQYMD  
 LVGSDSLDEIQRHTKILIELRHLQLLRWGTFDPDKKHQKSEFPFLWGVHEHLPDKWTVQVPL  
 PEKSDVNLDEIQRHTKILVGLNWSAQIYAGIKVQKCLRLLGKALTVEITLQKTEALQIALH  
 QDSGLNVITDSQYAIQIQDQPEKSELSVQIQLKKEKVLAVWPAKKGIGNE  
 QVKVLSAGIKRVLFDLQIDKAQDEHEKHSNNWRAMSDNPVPVKEIYVACCKQKGL  
 GEAMHGQDCSPGQWLDQDTHLEKGIILVAHVHVSQIEAEVIPATGQETAYPTILKLAG  
 RWPVPTITDNGNSNTPTAAVCAAKWQKEFGPIYNNOSQGSNENKLKKIIGVRF  
 DOAEHLTKAQMVAVIHNFRKKGIGQSGYAGERIVDIATDITQTELOKQITQLNFRVY  
 FSDSRDLWPKGPAKMLKKGEGAVIQQNSDIKVPRFRKKIIRDYGQMAGDQCVASRQD  
 ED-

-POL-B, syn3.2  
 FRENELAFPGKAEFFSSEQTRANSPTRG-----ELQWGVGDNNLSLEAGD  
 DR-----QGVTS-FSFOPTLWORPLVTKIGGOLKEALLTDGADDTVEENMLGRWPKK  
 MGGIGGFKVVKRYQDQFPIELCGHKAJGTVLVGPTPVNIIGRNLITGCTGNLNFPSV  
 TVPVKLPQMGDGKPKWQKPLVEIKAEIKALVEITCEMEKGKSIKGIPEMNPVFAIKKK  
 DSTWKRLVDRELNRLKQDFWEVQGLGHPAGLKKGKSVTVLDGVDAYSFVPLQKDFR  
 YTAFTPI SINNETPGIRGYRYNYVLPQWKGKSPFIQSSMTKILFEFKQNDFIYVQYMD  
 LVGSDSLDEIQRHTKILIELRHLQLLRWGTFDPDKKHQKSEFPFLWGVHEHLPDKWTVQVPL  
 PEKSDVNLDEIQRHTKILVGLNWSAQIYAGIKVQKCLRLLGKALTVEITLQKTEALQIALH  
 QDSGLNVITDSQYAIQIQDQPEKSELSVQIQLKKEKVLAVWPAKKGIGNE  
 QVKVLSAGIKRVLFDLQIDKAQDEHEKHSNNWRAMSDNPVPVKEIYVACCKQKGL  
 GEAMHGQDCSPGQWLDQDTHLEKGIILVAHVHVSQIEAEVIPATGQETAYPTILKLAG  
 RWPVPTITDNGNSNTPTAAVCAAKWQKEFGPIYNNOSQGSNENKLKKIIGVRF  
 DOAEHLTKAQMVAVIHNFRKKGIGQSGYAGERIVDIATDITQTELOKQITQLNFRVY  
 FSDSRDLWPKGPAKMLKKGEGAVIQQNSDIKVPRFRKKIIRDYGQMAGDQCVASRQD  
 ED-



【 図 1 0 - 1 6 】

Fig. 10 cont'd-15

[illegible][illegible]

F-POL-B.syn6.1  
 FREDIADFGQAGAREFCSEQTRANSATP-----ELQWGRDNTLSSEAG  
 N-----PTGV--FSFPGITWQRPITVLEIGQGLKALDITGDAOTLEENMLPGKWP  
 MG-----GQV-----GQV-----GQV-----GQV-----GQV-----  
 QIRGKGLKPMDCMPGQVPMQLTEIKALVETLKEEKGISIKGFENYVTPFAIKK  
 D2KKRWVDFRELNRKQDFQEWVLGIPHSGLKSKSTPLVDVGAYFSVPLDENR  
 YTATPISINNETGRIQYQVNLPGWGSGMPTQSQMSTKVFPRKQNPNDI1YOYMD  
 LVDSGLDEIQRHAKLEIKGLKQWGETPPDKHKEGQVPLFMWSIGYKQWQVPIEL  
 LKQV  
 RELKEPVHGVQVPSKDILAEQKQGLQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV  
 QLAQVQIKATEGIVGMLPKPKLQIKETWEANETVQYQATPEWEFVETPLVLK  
 YQLEPELIGATEVIGDVSANRNRKLGKAGVTDGRGKRVQSLTDTNQETQALQAL  
 QDGLGVNTVDSYALGATIGVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQVQV  
 QV  
 GEALHGQVDSGPIQGLDTHLGGVILVAHVHSAVGEAEV1PPTQVETAKVIFLKLK

【 図 1 0 - 1 8 】

Fig. 10 cont'd-17

[illegible][illegible]

PPL-C.syn1.1  
 PFHRLAFLPGGEAREFPSEOTRANSPSTRANSPSTR-----ELQV--RGDNPRSEAGA  
 -----GQT---LKNPQITLWVSLVKVGQIGKEALLDGLVDLEINLGGKPKWKPK  
 MIGGIGGGFLFYQFDYDILIEICGKALIVGLVPTFFINIRNMILTOGLTNPISPIE  
 TVPVLKPGMDGPKQWQKPIETEKALITACEEKEKKKTSITIGPENPYTPVFAIKK  
 DSKWKRLVDFRNKRLQDQDFEVLGVLPHAGLKGKGVSLVDVGQDFSVPLDEGFR  
 YTAFTFISINNETGRYQVNLVPGQWKGKPAFQSSMTKILPEPRAQNLVPIYQYMD  
 LVGSLDIEIGQHRAKILEREHLKLKQDTPKKDKHKGEPPLWMLGSLHDPKWVTQIQL  
 PKDSWTDSTYQDVLGKLNWASQYPIGKVLQKCLIKLGAALKDIVPLTEACELELAN  
 RELKEPVHVGIVYDPSKLDELIAQKQGHQDWYQIQYEPFNKLKQGYAKNRATNDVK



【 図 1 0 - 2 0 】

Fig. 10 cont'd-19

PEKSDSEANVTDSOYQALRI IQAOPQKSESELVNQI IEQLINKERVYLAVHPAHKGIGENE  
QVDSLVSSEKRGVRLDGTGDKAEEHRYHNSWRAMSEFNLPPIVAKEIVASCDCKQLK  
GEATHGQSGSEPGMWGLDCTHEGKI LIVAVHVSAGMEYPAETGQZATYFLIKLAG  
RWPKVTIHTDNGSNFSAVKAACWAGWIGQFPIPNQSGQGVSEMMNELKTI IQGVR  
DQAEHLKTAVLMVFLHNFRKKGIGDSAGERI IDIATDITQELKQKI IQKNFRY  
YRDNRPINKGPAKLWKGEAGVVLQDSDIKVPRRKAKIIRDYGRQMAGADCVAGRQD  
ENQ

>POL- syn4.1  
FFRNLIAFFGAEARFPFEGTQTRANSPTS-----ELQV-----RRDNPRSEAGR  
-----QGT-----LNFQITLWQPLVSIKVGQIEKALDGTADGLTVEILNPGKWKPK  
MIGGIQGFIVKRVQDYIPIEIOCKGKAIGTVLGPPTNIIGRMILTOGLCTLNFPISPIE  
TIPVKLPGMDGPRKQWPLSEIKALITECEMEKEGKIKIGENPNTYTPVFAIKKK  
DSTWKRLVDFELNRKNTQDFWEVLQIIPHAGLKKKSVTVLDGVDAYSVPVLEDFR  
YATTFIPSNINTEGPRVQYVNLPGWQKSGFPISQSMKTI LEPRAKNPEIYIQQMD  
LYSGSDELIGQRAKLEHLKRLWGLTPDKKHQKPEPFLMWGLVDPKWTVOYQIOL  
PKDSMTWNTDQIKVLGNWASQIYAGIKVQCLRLGAKALDITVPLTEAELELAIN  
RELKEPVHGIVYDPSKDLIAEQKQGDQNTYQIIEQLINKERVYLAKYAKRMTAHDNVK  
QLEAVQKIMTESIVTQGRKFKFLPIKEQWETWNTDYGQATYIPEWEFVNTPPVLKLV  
YQLEKEPIAEATYFVGGANRETKMGAGVTVDRGQRVYSITETTNKQTELAHQIAL  
QDSGEVINTVDSOYALRI IQAOPQKSESELVNQI IEQLINKERVYLAVHPAHKGIGENE  
QVDSLVSSEKRGVRLDGTGDKAEEHRYHNSWRAMSEFNLPPIVAKEIVASCDCKQLK  
GEATHGQSGSEPGMWGLDCTHEGKI LIVAVHVSAGMEYPAETGQZATYFLIKLAG  
RWPKVTIHTDNGSNFSAVKAACWAGWIGQFPIPNQSGQGVSEMMNELKTI IQGVR  
DQAEHLKTAVLMVFLHNFRKKGIGDSAGERI IDIATDITQELKQKI IQKNFRY  
YRDNRPINKGPAKLWKGEAGVVLQDSDIKVPRRKAKIIRDYGRQMAGADCVAGRQD  
ENQ

>POL- syn4.2  
FFRNLIAFFGAEARFPFEGTQTRANSPTS-----ELQV-----RGNPNRSEAGV  
-----QGT-----LNFQITLWQPLVSIKVGQIEKALDGTADGLTVEILNPGKWKPK  
MIGGIQGFIVKRVQDYIPIEIOCKGKAIGTVLGPPTNIIGRMILTOGLCTLNFPISPIE  
TIPVKLPGMDGPRKQWPLSEIKALITECEMEKEGKIKIGENPNTYTPVFAIKKK  
DSTWKRLVDFELNRKNTQDFWEVLQIIPHAGLKKKSVTVLDGVDAYSVPVLEDFR  
YATTFIPSNINTEGPRVQYVNLPGWQKSGFPISQSMKTI LEPRAKNPEIYIQQMD  
LYSGSDELIGQRAKLEHLKRLWGLTPDKKHQKPEPFLMWGLVDPKWTVOYQIOL  
PKDSMTWNTDQIKVLGNWASQIYAGIKVQCLRLGAKALDITVPLTEAELELAIN  
RELKEPVHGIVYDPSKDLIAEQKQGDQNTYQIIEQLINKERVYLAKYAKRMTAHDNVK  
QLEAVQKIMTESIVTQGRKFKFLPIKEQWETWNTDYGQATYIPEWEFVNTPPVLKLV  
YQLEKEPIAEATYFVGGANRETKMGAGVTVDRGQRVYSITETTNKQTELAHQIAL  
QDSGEVINTVDSOYALRI IQAOPQKSESELVNQI IEQLINKERVYLAVHPAHKGIGENE  
QVDSLVSSEKRGVRLDGTGDKAEEHRYHNSWRAMSEFNLPPIVAKEIVASCDCKQLK  
GEATHGQSGSEPGMWGLDCTHEGKI LIVAVHVSAGMEYPAETGQZATYFLIKLAG  
RWPKVTIHTDNGSNFSAVKAACWAGWIGQFPIPNQSGQGVSEMMNELKTI IQGVR  
DQAEHLKTAVLMVFLHNFRKKGIGDSAGERI IDIATDITQELKQKI IQKNFRY  
YRDNRPINKGPAKLWKGEAGVVLQDSDIKVPRRKAKIIRDYGRQMAGADCVAGRQD  
ENQ

>POL- syn4.3  
FFRNLIAFFGAEARFPFEGTQTRANSPTS-----ELQV-----RGNPNRSEAGV  
-----QGT-----LNFQITLWQPLVSIKVGQIEKALDGTADGLTVEILNPGKWKPK  
MIGGIQGFIVKRVQDYIPIEIOCKGKAIGTVLGPPTNIIGRMILTOGLCTLNFPISPIE  
TIPVKLPGMDGPRVQWPLSEIKALITECEMEKEGKIKIGENPNTYTPVFAIKKK  
DSTWKRLVDFELNRKNTQDFWEVLQIIPHAGLKKKSVTVLDGVDAYSVPVLEDFR  
YATTFIPSNINTEGPRVQYVNLPGWQKSGFPISQSMKTI LEPRAKNPEIYIQQMD  
LYSGSDELIGQRAKLEHLKRLWGLTPDKKHQKPEPFLMWGLVDPKWTVOYQIOL  
PKDSMTWNTDQIKVLGNWASQIYAGIKVQCLRLGAKALDITVPLTEAELELAIN  
RELKEPVHGIVYDPSKDLIAEQKQGDQNTYQIIEQLINKERVYLAKYAKRMTAHDNVK  
QLEAVQKIMTESIVTQGRKFKFLPIKEQWETWNTDYGQATYIPEWEFVNTPPVLKLV  
YQLEKEPIAEATYFVGGANRETKMGAGVTVDRGQRVYSITETTNKQTELAHQIAL  
QDSGEVINTVDSOYALRI IQAOPQKSESELVNQI IEQLINKERVYLAVHPAHKGIGENE  
QVDSLVSSEKRGVRLDGTGDKAEEHRYHNSWRAMSEFNLPPIVAKEIVASCDCKQLK  
GEATHGQSGSEPGMWGLDCTHEGKI LIVAVHVSAGMEYPAETGQZATYFLIKLAG  
RWPKVTIHTDNGSNFSAVKAACWAGWIGQFPIPNQSGQGVSEMMNELKTI IQGVR  
DQAEHLKTAVLMVFLHNFRKKGIGDSAGERI IDIATDITQELKQKI IQKNFRY  
YRDNRPINKGPAKLWKGEAGVVLQDSDIKVPRRKAKIIRDYGRQMAGADCVAGRQD  
ENQ

>POL- syn4.3  
FFRNLIAFFGAEARFPFEGTQTRANSPTS-----ELQV-----RGNPNRSEAGV  
-----QGT-----LNFQITLWQPLVSIKVGQIEKALDGTADGLTVEILNPGKWKPK  
MIGGIQGFIVKRVQDYIPIEIOCKGKAIGTVLGPPTNIIGRMILTOGLCTLNFPISPIE  
TIPVKLPGMDGPRVQWPLSEIKALITECEMEKEGKIKIGENPNTYTPVFAIKKK  
DSTWKRLVDFELNRKNTQDFWEVLQIIPHAGLKKKSVTVLDGVDAYSVPVLEDFR  
YATTFIPSNINTEGPRVQYVNLPGWQKSGFPISQSMKTI LEPRAKNPEIYIQQMD  
LYSGSDELIGQRAKLEHLKRLWGLTPDKKHQKPEPFLMWGLVDPKWTVOYQIOL  
PKDSMTWNTDQIKVLGNWASQIYAGIKVQCLRLGAKALDITVPLTEAELELAIN  
RELKEPVHGIVYDPSKDLIAEQKQGDQNTYQIIEQLINKERVYLAKYAKRMTAHDNVK  
QLEAVQKIMTESIVTQGRKFKFLPIKEQWETWNTDYGQATYIPEWEFVNTPPVLKLV  
YQLEKEPIAEATYFVGGANRETKMGAGVTVDRGQRVYSITETTNKQTELAHQIAL  
QDSGEVINTVDSOYALRI IQAOPQKSESELVNQI IEQLINKERVYLAVHPAHKGIGENE  
QVDSLVSSEKRGVRLDGTGDKAEEHRYHNSWRAMSEFNLPPIVAKEIVASCDCKQLK  
GEATHGQSGSEPGMWGLDCTHEGKI LIVAVHVSAGMEYPAETGQZATYFLIKLAG  
RWPKVTIHTDNGSNFSAVKAACWAGWIGQFPIPNQSGQGVSEMMNELKTI IQGVR  
DQAEHLKTAVLMVFLHNFRKKGIGDSAGERI IDIATDITQELKQKI IQKNFRY  
YRDNRPINKGPAKLWKGEAGVVLQDSDIKVPRRKAKIIRDYGRQMAGADCVAGRQD  
ENQ

>POL- syn4.3  
FFRNLIAFFGAEARFPFEGTQTRANSPTS-----ELQV-----RGNPNRSEAGV  
-----QGT-----LNFQITLWQPLVSIKVGQIEKALDGTADGLTVEILNPGKWKPK  
MIGGIQGFIVKRVQDYIPIEIOCKGKAIGTVLGPPTNIIGRMILTOGLCTLNFPISPIE  
TIPVKLPGMDGPRVQWPLSEIKALITECEMEKEGKIKIGENPNTYTPVFAIKKK  
DSTWKRLVDFELNRKNTQDFWEVLQIIPHAGLKKKSVTVLDGVDAYSVPVLEDFR  
YATTFIPSNINTEGPRVQYVNLPGWQKSGFPISQSMKTI LEPRAKNPEIYIQQMD  
LYSGSDELIGQRAKLEHLKRLWGLTPDKKHQKPEPFLMWGLVDPKWTVOYQIOL  
PKDSMTWNTDQIKVLGNWASQIYAGIKVQCLRLGAKALDITVPLTEAELELAIN  
RELKEPVHGIVYDPSKDLIAEQKQGDQNTYQIIEQLINKERVYLAKYAKRMTAHDNVK  
QLEAVQKIMTESIVTQGRKFKFLPIKEQWETWNTDYGQATYIPEWEFVNTPPVLKLV  
YQLEKEPIAEATYFVGGANRETKMGAGVTVDRGQRVYSITETTNKQTELAHQIAL  
QDSGEVINTVDSOYALRI IQAOPQKSESELVNQI IEQLINKERVYLAVHPAHKGIGENE  
QVDSLVSSEKRGVRLDGTGDKAEEHRYHNSWRAMSEFNLPPIVAKEIVASCDCKQLK  
GEATHGQSGSEPGMWGLDCTHEGKI LIVAVHVSAGMEYPAETGQZATYFLIKLAG  
RWPKVTIHTDNGSNFSAVKAACWAGWIGQFPIPNQSGQGVSEMMNELKTI IQGVR  
DQAEHLKTAVLMVFLHNFRKKGIGDSAGERI IDIATDITQELKQKI IQKNFRY  
YRDNRPINKGPAKLWKGEAGVVLQDSDIKVPRRKAKIIRDYGRQMAGADCVAGRQD  
ENQ

>POL- syn4.3  
FFRNLIAFFGAEARFPFEGTQTRANSPTS-----ELQV-----RGNPNRSEAGV  
-----QGT-----LNFQITLWQPLVSIKVGQIEKALDGTADGLTVEILNPGKWKPK  
MIGGIQGFIVKRVQDYIPIEIOCKGKAIGTVLGPPTNIIGRMILTOGLCTLNFPISPIE  
TIPVKLPGMDGPRVQWPLSEIKALITECEMEKEGKIKIGENPNTYTPVFAIKKK  
DSTWKRLVDFELNRKNTQDFWEVLQIIPHAGLKKKSVTVLDGVDAYSVPVLEDFR  
YATTFIPSNINTEGPRVQYVNLPGWQKSGFPISQSMKTI LEPRAKNPEIYIQQMD  
LYSGSDELIGQRAKLEHLKRLWGLTPDKKHQKPEPFLMWGLVDPKWTVOYQIOL  
PKDSMTWNTDQIKVLGNWASQIYAGIKVQCLRLGAKALDITVPLTEAELELAIN  
RELKEPVHGIVYDPSKDLIAEQKQGDQNTYQIIEQLINKERVYLAKYAKRMTAHDNVK  
QLEAVQKIMTESIVTQGRKFKFLPIKEQWETWNTDYGQATYIPEWEFVNTPPVLKLV  
YQLEKEPIAEATYFVGGANRETKMGAGVTVDRGQRVYSITETTNKQTELAHQIAL  
QDSGEVINTVDSOYALRI IQAOPQKSESELVNQI IEQLINKERVYLAVHPAHKGIGENE  
QVDSLVSSEKRGVRLDGTGDKAEEHRYHNSWRAMSEFNLPPIVAKEIVASCDCKQLK  
GEATHGQSGSEPGMWGLDCTHEGKI LIVAVHVSAGMEYPAETGQZATYFLIKLAG  
RWPKVTIHTDNGSNFSAVKAACWAGWIGQFPIPNQSGQGVSEMMNELKTI IQGVR  
DQAEHLKTAVLMVFLHNFRKKGIGDSAGERI IDIATDITQELKQKI IQKNFRY  
YRDNRPINKGPAKLWKGEAGVVLQDSDIKVPRRKAKIIRDYGRQMAGADCVAGRQD  
ENQ

>POL- syn4.3  
FFRNLIAFFGAEARFPFEGTQTRANSPTS-----ELQV-----RGNPNRSEAGV  
-----QGT-----LNFQITLWQPLVSIKVGQIEKALDGTADGLTVEILNPGKWKPK  
MIGGIQGFIVKRVQDYIPIEIOCKGKAIGTVLGPPTNIIGRMILTOGLCTLNFPISPIE  
TIPVKLPGMDGPRVQWPLSEIKALITECEMEKEGKIKIGENPNTYTPVFAIKKK  
DSTWKRLVDFELNRKNTQDFWEVLQIIPHAGLKKKSVTVLDGVDAYSVPVLEDFR  
YATTFIPSNINTEGPRVQYVNLPGWQKSGFPISQSMKTI LEPRAKNPEIYIQQMD  
LYSGSDELIGQRAKLEHL

【 図 1 0 - 2 4 】

Fig. 10 cont'd-23

ERDSRDPWKGPAKLLWKGEAGVVDQNSDIRVPRRKAIIRDYQKMGAGDCCVAGQSD

>POL-M.syn3.1  
FREDLAFPGKAREFFSEQTRANSPTSR-----ELQV--RGDNPLSEAGA  
ER--QGT--LNFQIITWQRLPVTVIRGGOLEALLDGTADTVLEINLPGKWRPK  
MIGGIGFQIKVRYQDPIETIECGKAIATVIGLTPFVNIIGRMLTGICTGNLPIISPIK  
TVPVKLPKMGDGPQKVPQWFLTEIKALTEIEMEKEGKISIRIGDENPVYTFAIKKK  
QDQKRWKVLDFELRNKQDQFWEIQLGHPAGLKKKSVDLVGDGAFVSPVLDEGFRK  
YTATFPISSINETPGIRYCNVLPGQKGSAPFQCSMTKILFFRANPEIIVYQMD  
LYSGDLEIGHQRAKILREHLRLHGWTFPPDKHQKEPFLMWGCELDHPKQVTVQIQL  
PEKOSWTVTDSQYALQIKVGLNWSAYIPGIVKQCLRLGRKATLDIVPLEABELEADR  
REILRSPHVGYVDPSKDLIAEZQKQGGQWTVQIYQEPFNKLTKYAKRRMATHNDVR  
QLTEAQVKITESIVIGWTKPFLPIQKETWEEAWMEYQWATPEWEFINPVLVPLVK  
YOLEKSPIGAETFPVGDGANRETKRKGAVTDGRQKVTISLTDNQKTELQAIHAL  
QVGLSVNIITDQSVQALQIQAQDPKRSSESVNQIQLIKKKVLYSWPAHKGIAGNE  
QDQKSSGTVNMQGLQVFLDRAQEEHEKHYNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ  
QVDKLYSAGIRKFLDGIKRAQEDHEKYHNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ  
GALHGVQDQSPGMQLDGIKLEGRVILVAHVASGYAEVPAETGQVATFYLLKAG  
RWPKVITHDNGSNTFSAVKAACWAGIQGEFPIYNPQSGVSNMKNELKIIQGV  
QAEHLKTAQVMAVILNFRKKGIGYSAGERIIDIADITQELQKLIQKQVNFYR  
YRDSRDPWKGPAKLLWKGEAGVVDQNSDIRVPRRKVIIRDYQKMGAGDCCVAGQSD

>POL-M.syn3.2  
FREDLAFPGKAREFFSEQTRANSPTSR-----ELRV--RGDNPLSEAGA  
ER--RGTVPISFPQITWQRLPVTVIRGGOLEALLDGTADTVLEINLPGKWRPK  
MIGGIGFQIKVRYQDPIETIECGKAIATVIGLTPFVNIIGRMLTGICTGNLPIISPIK  
TVTVKLPKMGDGPQKVPWFLTEIKALTEIEMEKEGKISIRIGDENPVYTFAIKKK  
DQDQKRWKVLDFELRNKQDQFWEIQLGHPAGLKKKSVDLVGDGAFVSPVLDEGFRK  
LYSGDLEIGHQRAKILREHLRLHGWTFPPDKHQKEPFLMWGCELDHPKQVTVQIQL  
PEKOSWTVTDSQYALQIKVGLNWSAYIPGIVKQCLRLGRKATLDIVPLEABELEADR  
REILKDPVHGAYTDSKDLIAEZQKQGGHWTQIYQEQVKNLTKYAKRRMATHNDVR  
QLTEAQVKITESIVIGWTKPFLPIQKETWEEAWMEYQWATPEWEFINPVLVPLVK  
YOLEKSPIGAETFPVGDGANRETKRKGAVTDGRQKRVITSLTNNQKTELQAIHAL  
QVGLSVNIITDQSVQALQIQAQDPKRSSESVNQIQLIKKKVLYSWPAHKGIAGNE  
QDQKSSGTVNMQGLQVFLDRAQEEHEKHYNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ  
QVDKLYSAGIRKFLDGIKRAQEDHEKYHNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ  
GALHGVQDQSPGMQLDGIKLEGRVILVAHVASGYAEVPAETGQVATFYLLKAG  
RWPKVITHDNGSNTFSAVKAACWAGIYNQGEFPIYNPQSGVSNMKNELKIIQGV  
QAEHLKTAQVMAVILNFRKKGIGYSAGERIIDIADITQELQKLIQKQVNFYR  
YRDSRDPWKGPAKLLWKGEAGVVDQNSDIRVPRRKVIIRDYQKMGAGDCCVAGQSD

>POL-M.syn3.3  
FREDLAFPGKAREFFSEQTRANSPTSR-----ELQVQGRDNLSSEAGA  
ER--QGTVS--FSFPQITWQRLPVTVIRGGOLEALLDGTADTVLEINLPGKWRPK  
MIGGIGFQIKVRYQDPIETIECGKAIATVIGLTPFVNIIGRMLTGICTGNLPIISPIK  
TVPVKLPKMGDGPQKVPWFLTEIKALTEIEMEKEGKISIRIGDENPVYTFAIKKK  
DQDQKRWKVLDFELRNKQDQFWEIQLGHPAGLKKKSVDLVGDGAFVSPVLDEGFRK  
YTATFPISSINETPGVIRYCNVLPGQKGSAPFQCSMTKILFFRANPEIIVYQMD  
LYSGDLEIGHQRAKILREHLRLHGWTFPPDKHQKEPFLMWGCELDHPKQVTVQIQL  
PEKOSWTVTDSQYALQIKVGLNWSAYIPGIVKQCLRLGRKATLDIVPLEABELEADR  
REILKEPVGHYVDPSKDLIAEZQKQGGQWTVQIYQEPFNKLTKYAKRRMATHNDVR  
QLTEAQVKITESIVIGWTKPFLPIQKETWEEAWMEYQWATPEWEFINPVLVPLVK  
YOLEKSPIGAETFPVGDGANRETKRKGAVTDGRQKRVITSLTDNQKTELQAIHAL  
QVGLSVNIITDQSVQALQIQAQDPKRSSESVNQIQLIKKKVLYSWPAHKGIAGNE  
QDQKSSGTVNMQGLQVFLDRAQEEHEKHYNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ  
QVDKLYSAGIRKFLDGIKRAQEDHEKYHNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ

>POL-M.syn3.4  
FREDLAFPGKAREFFSEQTRANSPTSR-----ELQVQGRDNLSSEAGA  
ER--QGTVS--FSFPQITWQRLPVTVIRGGOLEALLDGTADTVLEINLPGKWRPK  
MIGGIGFQIKVRYQDPIETIECGKAIATVIGLTPFVNIIGRMLTGICTGNLPIISPIK  
TIPVKLPGMGDGPQKVPWFLTEIKALTEIEMEKEGKISIRIGDENPVYTFAIKKK  
DQDQKRWKVLDFELRNKQDQFWEIQLGHPAGLKKKSVDLVGDGAFVSPVLDEGFRK  
YTATFPISSINETPGIRYCNVLPGQKGSAPFQCSMTKILFFRANPEIIVYQMD  
LYSGDLEIGHQRAKILREHLRLHGWTFPPDKHQKEPFLMWGCELDHPKQVTVQIQL  
PEKOSWTVTDSQYALQIKVGLNWSAYIPGIVKQCLRLGRKATLDIVPLEABELEADR  
REILKEPVGHYVDPSKDLIAEZQKQGGQWTVQIYQEPFNKLTKYAKRRMATHNDVR  
QLTEAQVKITESIVIGWTKPFLPIQKETWEEAWMEYQWATPEWEFINPVLVPLVK  
YOLEKSPIGAETFPVGDGANRETKRKGAVTDGRQKRVITSLTDNQKTELQAIHAL  
QVGLSVNIITDQSVQALQIQAQDPKRSSESVNQIQLIKKKVLYSWPAHKGIAGNE  
QDQKSSGTVNMQGLQVFLDRAQEEHEKHYNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ  
QVDKLYSAGIRKFLDGIKRAQEDHEKYHNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ

>POL-M.syn4.1  
FREDLAFPGKAREFFSEQTRANSPTSR-----ELQVQGRDNLSSEAGD  
ER--QGTVS--FSFPQITWQRLPVTVIRGGOLEALLDGTADTVLEINLPGKWRPK  
MIGGIGFQIKVRYQDPIETIECGKAIATVIGLTPFVNIIGRMLTGICTGNLPIISPIK  
TIPVKLPGMGDGPQKVPWFLTEIKALTEIEMEKEGKISIRIGDENPVYTFAIKKK  
DQDQKRWKVLDFELRNKQDQFWEIQLGHPAGLKKKSVDLVGDGAFVSPVLDEGFRK  
YTATFPISSINETPGIRYCNVLPGQKGSAPFQCSMTKILFFRANPEIIVYQMD  
LYSGDLEIGHQRAKILREHLRLHGWTFPPDKHQKEPFLMWGCELDHPKQVTVQIQL  
PEKOSWTVTDSQYALQIKVGLNWSAYIPGIVKQCLRLGRKATLDIVPLEABELEADR  
REILRSPHVGYVDPSKDLIAEZQKQGGQWTVQIYQEPFNKLTKYAKRRMATHNDVR  
QLTEAQVKITESIVIGWTKPFLPIQKETWEEAWMEYQWATPEWEFINPVLVPLVK  
YOLEKSPIGAETFPVGDGANRETKRKGAVTDGRQKRVITSLTDNQKTELQAIHAL  
QVGLSVNIITDQSVQALQIQAQDPKRSSESVNQIQLIKKKVLYSWPAHKGIAGNE  
QDQKSSGTVNMQGLQVFLDRAQEEHEKHYNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ  
GALHGVQDQSPGMQLDGIKLEGRVILVAHVASGYAEVPAETGQVATFYLLKAG  
RWPKVITHDNGSNTFSAVKAACWAGIYNQGEFPIYNPQSGVSNMKNELKIIQGV  
QAEHLKTAQVMAVILNFRKKGIGYSAGERIIDIADITQELQKLIQKQVNFYR  
YRDSRDPWKGPAKLLWKGEAGVVDQNSDIRVPRRKVIIRDYQKMGAGDCCVAGQSD

>POL-M.syn4.2  
FREDLAFPGKAREFFSEQTRANSPTSR-----ELQVQGRDNLSSEAGD  
ER--QGTVS--FSFPQITWQRLPVTVIRGGOLEALLDGTADTVLEINLPGKWRPK  
MIGGIGFQIKVRYQDPIETIECGKAIATVIGLTPFVNIIGRMLTGICTGNLPIISPIK  
TIPVKLPGMGDGPQKVPWFLTEIKALTEIEMEKEGKISIRIGDENPVYTFAIKKK  
DQDQKRWKVLDFELRNKQDQFWEIQLGHPAGLKKKSVDLVGDGAFVSPVLDEGFRK  
YTATFPISSINETPGIRYCNVLPGQKGSAPFQCSMTKILFFRANPEIIVYQMD  
LYSGDLEIGHQRAKILREHLRLHGWTFPPDKHQKEPFLMWGCELDHPKQVTVQIQL  
PEKOSWTVTDSQYALQIKVGLNWSAYIPGIVKQCLRLGRKATLDIVPLEABELEADR  
REILKEPVGHYVDPSKDLIAEZQKQGGQWTVQIYQEPFNKLTKYAKRRMATHNDVR  
QLTEAQVKITESIVIGWTKPFLPIQKETWEEAWMEYQWATPEWEFINPVLVPLVK  
YOLEKSPIGAETFPVGDGANRETKRKGAVTDGRQKRVITSLTDNQKTELQAIHAL  
QVGLSVNIITDQSVQALQIQAQDPKRSSESVNQIQLIKKKVLYSWPAHKGIAGNE  
QDQKSSGTVNMQGLQVFLDRAQEEHEKHYNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ  
GALHGVQDQSPGMQLDGIKLEGRVILVAHVASGYAEVPAETGQVATFYLLKAG  
RWPKVITHDNGSNTFSAVKAACWAGIYNQGEFPIYNPQSGVSNMKNELKIIQGV  
QAEHLKTAQVMAVILNFRKKGIGYSAGERIIDIADITQELQKLIQKQVNFYR  
YRDSRDPWKGPAKLLWKGEAGVVDQNSDIRVPRRKVIIRDYQKMGAGDCCVAGQSD

>POL-M.syn4.3  
FREDLAFPGKAREFFSEQTRANSPTSR-----ELQVQGRDNLSSEAGD  
ER--QGTVS--FSFPQITWQRLPVTVIRGGOLEALLDGTADTVLEINLPGKWRPK  
MIGGIGFQIKVRYQDPIETIECGKAIATVIGLTPFVNIIGRMLTGICTGNLPIISPIK  
TIPVKLPGMGDGPQKVPWFLTEIKALTEIEMEKEGKISIRIGDENPVYTFAIKKK  
DQDQKRWKVLDFELRNKQDQFWEIQLGHPAGLKKKSVDLVGDGAFVSPVLDEGFRK  
YTATFPISSINETPGVIRYCNVLPGQKGSAPFQCSMTKILFFRANPEIIVYQMD  
LYSGDLEIGHQRAKILREHLRLHGWTFPPDKHQKEPFLMWGCELDHPKQVTVQIQL  
PEKOSWTVTDSQYALQIKVGLNWSAYIPGIVKQCLRLGRKATLDIVPLEABELEADR  
REILKEPVGHYVDPSKDLIAEZQKQGGQWTVQIYQEPFNKLTKYAKRRMATHNDVR  
QLTEAQVKITESIVIGWTKPFLPIQKETWEEAWMEYQWATPEWEFINPVLVPLVK  
YOLEKSPIGAETFPVGDGANRETKRKGAVTDGRQKRVITSLTDNQKTELQAIHAL  
QVGLSVNIITDQSVQALQIQAQDPKRSSESVNQIQLIKKKVLYSWPAHKGIAGNE  
QDQKSSGTVNMQGLQVFLDRAQEEHEKHYNNWRMASFNLPPVAKEIVASCCQKQ  
GALHGVQDQSPGMQLDGIKLEGRVILVAHVASGYAEVPAETGQVATFYLLKAG  
RWPKVITHDNGSNTFSAVKAACWAGIYNQGEFPIYNPQSGVSNMKNELKIIQGV  
QAEHLKTAQVMAVILNFRKKGIGYSAGERIIDIADITQELQKLIQKQVNFYR  
YRDSRDPWKGPAKLLWKGEAGVVDQNSDIRVPRRKVIIRDYQKMGAGDCCVAGQSD

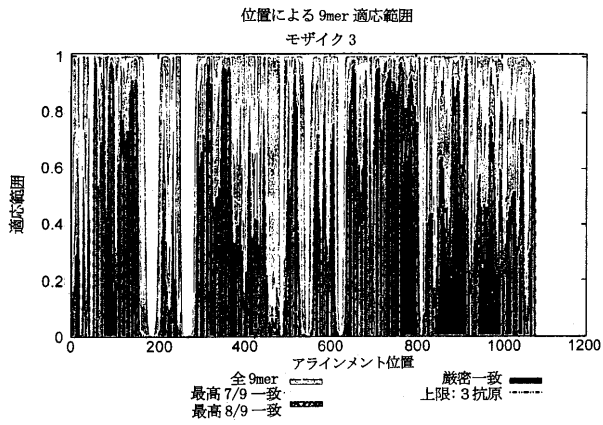
>POL-M.syn4.4  
FREDLAFPGKAREFFSEQTRANSPTSR-----ELQVQGRDNLSSEAGD  
ER--QGTVS--FSFPQITWQRLPVTVIRGGO

Fig. 10 cont'd-24

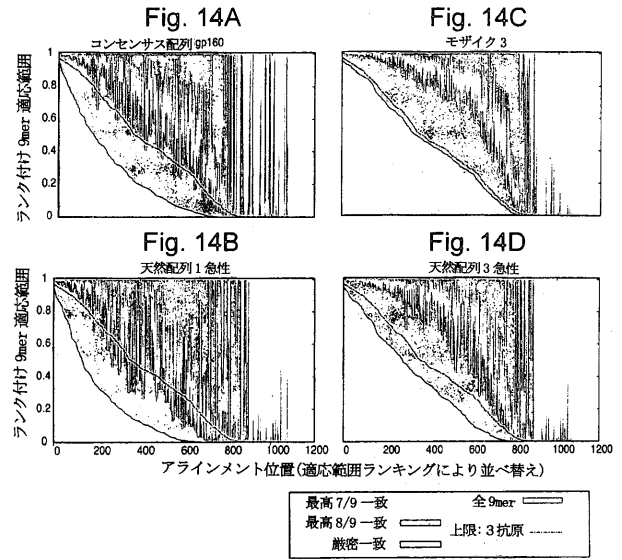
[illegible]



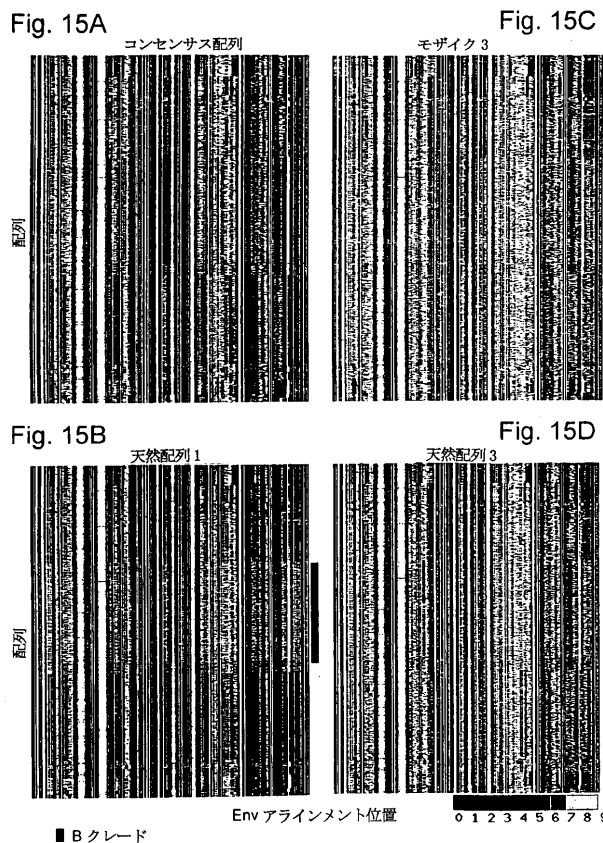
【図 13】



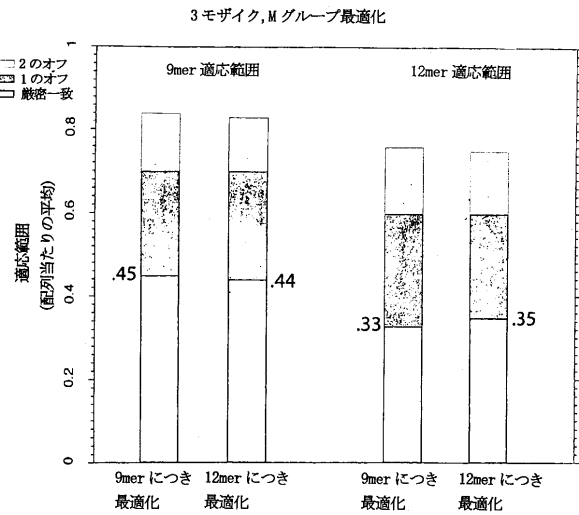
【図 14】



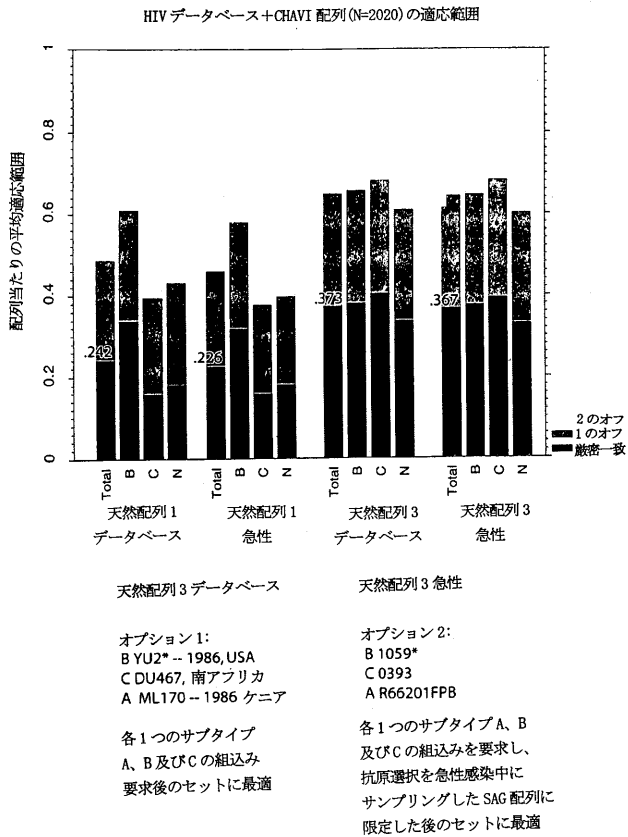
【図 15】



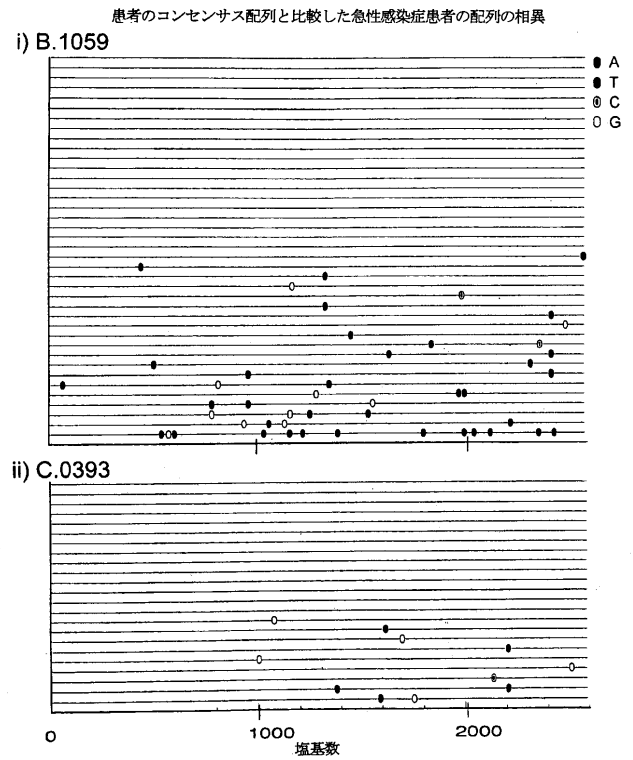
【図 16】



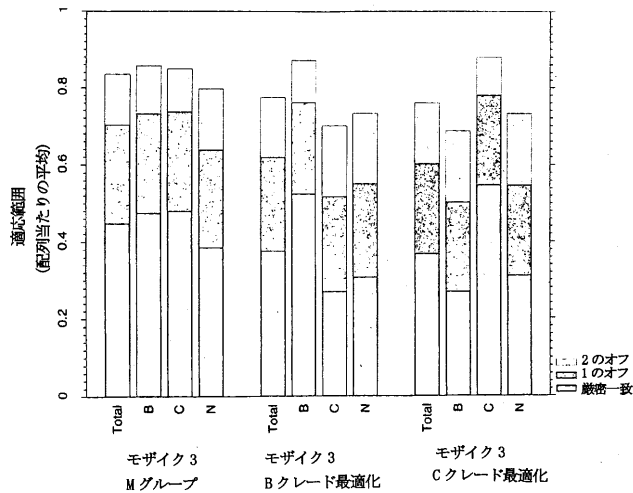
【図 17】



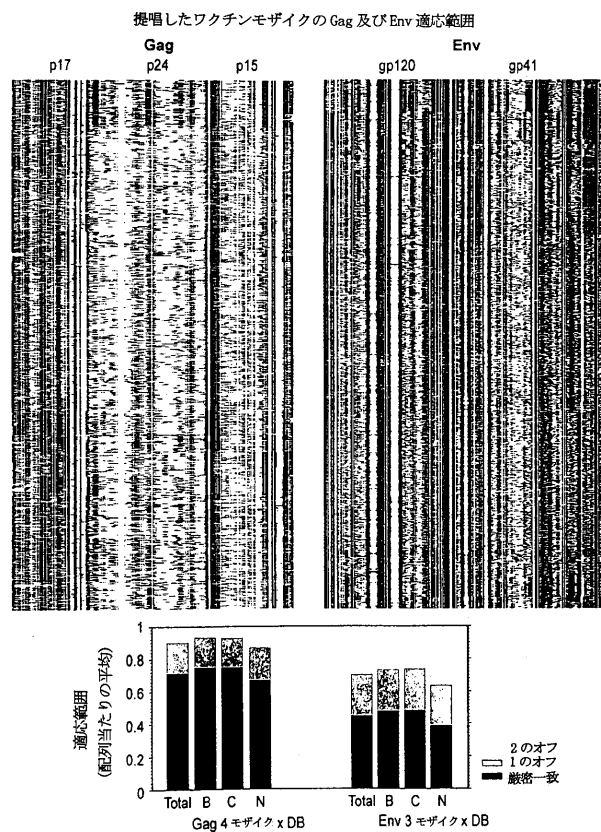
【図 18】



【図 19】



【図 20】



[illegible][illegible][illegible][illegible][illegible][illegible]

HVI 番号	遺伝子名	Nef	変異した ミリスチル化シグナル
HV13236	M.con_Nef01_Dmyr.WLV	グループ M (2001)	
HV13319	nefM_4.1Dmyr.wlv	コンセンサス	Yes
HV13231	nefM_4.2Dmyr.wlv	Mosaic No. 1	Yes
HV13230	nefM_4.3Dmyr.wlv	Mosaic No. 2	Yes
HV13232	nefM_4.4Dmyr.wlv	Mosaic No. 3	Yes
HV10001	挿入なし	Mosaic No. 4	Yes

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

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

XhoI

CTGATGAGAAATATGTCGGCCGCAAGTGGTCGAGAAGATCTCATCTGTCGGGTGGCCGGCGCGTCCGGGAG  
CGCATCGCGCGGACGACACCCGCGCGGCGAGGGGTCTGCGCGCGCTCTCGCAAGAGCTTCGCAAGAC  
AGGGGCGCATCACTCTGAGCAACACCGCCCGCAACAAACCCGACTTCGCGCTGGTGTGGAGGCCA  
CGAGGAAGAAGAGAGGTCCGGTCTCCGGTCCGCGCCGAAGTGGCGTCTGAGGGCGCTCATCTACT  
AAGCGCGCCCTCGACTCTTCGCACTTCTTGAAGAGAAGGGTGGCTCGAGGGGCTCATCTACT  
CGAAGAAGAGGCGAGGATGCTCGAGCTCTGGGTCTTACCAACCCAGGCGTACTTCCGGGACTG  
CGAAGATACAGCGACATCCCGGGGAATCGCTACCCGCTGACTCTGGGTGGTGTCTCAAGCTG  
TCCCGGCTCGACCGCGAGAGGTTCGAGGAAGACCAACAGAGGGCGAAGAACACAGCTCTCTGCAC  
CGATGTCGACAGCCGATGGTAGAGCAGAGGCGAGGGTCTGATGTGGAAGTTCGACTCGG  
CTGTGCCCTGCGCACATCGCCCGGGAGCTCCACCGGGAGTACACAAAGGACTCGTATAGCTA  
CGGATCTCTATCA

MAAKWSKSSIVGPAVRERIRRTHPAEEGVGAVSQDLKHAITSSNTAANNPDCAWLEAQEEE  
EEVGFPVRPQVPLRPMTYKAALDLSHFLKEKGLEGLIYSKKRQEI LDLVYVHTQGYFPDQWQNY  
TPGPGIRYPLTFGCWCKLVPVDPEEVEEANEENSNLLHPMCQHGMDEERVLWVKFDSRLAL  
RHIAEGLHPEYKDC

>HV13236 in hv100.01, 3953nt.

[illegible]

Mosaic and Group M ref\_Dmyr-Patent.doc

【 図 2 2 - 3 】

[illegible]

1476	1655	1799	HpaII	CCGG	NruI	TCGCCA
recovr	GATC		16 Sites	1 Site		
1 Site			848	1172	1529	
2294			1519	1545	1692	
PvuII			1019			ATGCAT
20 Sites	CGCGC		1129	1137	1149	
224	769	1283	1297	1456	1483	
1489	1492	1557	1540			Nep7524I
			1677	1690		RCATGY
1855	1973	1976	Ma	CTAG		
1994	2210	2250	7 Sites			3292
2279			1404	2385	801	1034
2282	3094	3166	17 Sites	3785	3718	
355	3315	3340	3751			1314
PvuII	CGCG		Ma	ACGT		1559
48			12 Sites			3165
194	1273	1854	1469	1160	1196	3500
2369	2257	2281	2306	2507	2519	
2445			2560			11 Sites
2819	3045	3047	2643	2724	2829	559
3062	3165	3183	3219	3433	3204	2093
3237			Ma	CTTAC		2263
3255	3625	3653	8 Sites			2130
Re	GGCGCT		270	1114	1161	2604
3 Sites			1477	1540	2446	2717
32	1657	2027	2533			2925
Ma	GGCC		1892			2953
10 Sites			MvaI	CCGGG		3114
						3685
						3 Sites

Mosaic and Group M\_nef\_Dmyr-Patent.doc

【 図 2 2 - 5 】

```

nefM_4.1.Dmry (hvl1225 in.) (563nt.) GC=67%
TCGAGAGAAAGAAATTCGCGCGCACAATGGTCGAGAAAGCTCCATCTCGTCGGSTGGCCGGCGCGTCCGGAGAGGA
TGCAGAGAGCGCGATCGTCGCGCTACGCGGCTCGCGCGCTCTCGCGGACCTCGGAAAGACAGCGGGCGAT
CAGCTCGAGCAACATCGCGCGCAGCAAGCGGATCTCGCTGGCTCGAGGCGCCAGAGGAGCGATCGAG
TGCGGCTCTCCGCTCGCGCGCGCTCGCTCCGCTCGCGCGATGACGTACAAGGCGCGCTCGACTCTCC
ACTCTTCAAGAGAGCAGGGGGCTGGAGGGGCTCATCTTACTAGCTACAGAGGAGCAGGACACTCTCGACT
TGGGTCTACCAACACCGAGCTACTTCCGGATCGTCTAGCAAGTCAACAGCGAGCGCGGGAATCGCTAC
CGCTCGACTCTTCGGTGGTGGTCTCAAGCTCGCTCCGCTCGGAGGAGGCTCAGGAAGACCAAGAG
GGGAGCAACAATCTCTCTGCACCGATGTGCGCAGATCGGACATCGGACCCGGAAGAGAGGTTGTGAT
GTGGAAGTTCGACTCGCGGCTGGGCTCCACCATCTGCGGACGAGGACACCCTGGAGTTCTACAAGSAC
TGCTGATAATCGATGATCAGAGTACACGCGT

```

Mosaic and CON nef\_Dmyr\_final.doc



【 図 2 2 - 7 】

[illegible]

112	1657	2027	2352	1882	2330	2694	2681
HaefII	GGCC		MaeI	CGGCG	2717		
20 Sites			23 Sites		2768	2905	3104
15	771	1175	1512	1172	1520	HaefII	CGGCGCG
1423	1857	1875	1738	1753	1872	2 Sites	
1086			2475			2 Sites	1270
2268	2469	2662	2668	2977	3241	HaefII	GAGCTC
3047	3039	3139	3107	3165	3261	3 Sites	
3338			3268			2 Sites	3085
3276	3294	3333	3352	3415	3427	HaefII	CCGGCG
3452	3452	3646	3440	3454	3455	3 Sites	
HpaII			3589			2 Sites	3282
4 Sites			3661	3766		HaII	GTCCAC
1587	2085	2953	HaefI	CGCCCG	1 Site		
3015			2 Sites		3216	HaIIIa	GATC
HhaI	GGCC		3101	3134		11 Sites	
14 Sites			HaefI	CCGGCG	13 Sites		
11	496	1273	10 Sites			1237	1245
1382	1556	1656	1272	1520	3020	1381	1256
1723			3109	3268	3427	1391	
1990	2026	2169	3454			3597	3026
2249	3045	3047	3455	3589	3661	1997	3185
HincII	GTTCAC		HaefI	CCATCG		3 Sites	
4 Sites			1 Site			3aaf6A	GGGCC
413	886	2369	1 Site	2745		123	587
3118			HhaI	CAATCG	2 Sites	1049	1174
HinfI	GATTC		2 Sites			2468	
16 Sites			2076	2619		2661	3022
43	59	357	3779	3729		3165	3237
383	401	59	725	779		3348	3270
807	1527	1923	1688			3451	3507
1998	2222	2795	15 Sites			3aaf6	CCGGCG
3258			538	762	864	23 Sites	
3458	3619	3618	892	1011	1109	1382	1520
HinfPI	GGCC		1901	2219	2349	2475	
14 Sites			2367	2689	2749	2668	2977
			3645			3109	3159
			3907			3268	3261

Mosaic and CON nef\_bmyr\_final.doc

【 図 2 2 - 9 】

ATTATTCGAATATTCGTGCTTAATTTTCATGAAGACATCTTCATTCCTTCTTCGTAGTCATATATTGTC  
TCGGTTCGTACACACCCCTGTATTATCTGTTTATGTTAAGCAGACAGTTTATTCCTTCATGATGATATTTAT  
TTATCTTCTGTCAACGTAAACATCAGAGATTTTGAGACACACAGTGGCTTCCTCCGGGCCATGACCAAAATC  
CTTATACGTTAGTCTTTTCGTCCATCAGCGTCAGACCGCTAGAAAGAGATCAAAAGATCTCTCGAGATCG  
CTTTTTCCTGCGGTATATCTCGCTTGCAAAACAAAAACACCGCATCCAGCGGTGGTTTGTTCGCG  
GGATCAGAGCTACCACTTTTTCGGAAGTATCTTGCCTTCAGACAGCGCATCAACAAATCATCTGTT  
CTTCAGTGTGTCAGTGTATAGGCACCATCAAGAATCTCAGACACGCGCTACATACCTCTGCTCTG  
TAATCTCTGTACCACTGGTCGCTGCTGACATGGCAGATCGTGCTTACCGGGTGGCATCAAGAAGATCT  
TACGCGGATAGGGCGCTGGCTGGCTGGCGTGAACGGGGGGTCTGTGCACACAGCCACTGGTCGGGAAC  
ACCTCACCGAACTGAGATACCTGACCTGAGGACTATGAAAGAAAGCCCTCTCCGAAGGGGAAGAGC  
CGGACGGATATTCGTAAGCGCGACGGCTCGGAACAGGAGAGCCGACGAGGAGCTCTCCAGGGGGAAACG  
CTGATATCTTTATAGTCTGTCGGGTTTCGCCAATCTGCATCTGAGCGTCAATTTGTGATGTCGCTCT  
GGGCGCGGAGCGCATGAGAAACATGAGACAGCGCGCTCTTATACGCTTCTGCGCTTTTGTCTGGCT  
TGGTCCACAGCTTCTTCTCCGCTATTCCCGATTCTGTGATATACCGTATTACCGCTTTTGAATGGT  
TGATACAGCTGCGCGACAGCCAGACGACGAGCGAGCTCAGTGAACGAGAGCGAGAGAGCGCT  
ATGGGGTATTCTTCTTACGAGATCTGTGCGGTTTTCACACCGCATATGTCGTACTCTCAGTACATCT  
CTGATGTGCGCATCATGTAGCCGATATCTGCTCCGCTGTTGTGTGTGGCGTGGCTCAGTAGTGTG  
GAGCAAAATTTAAGTCATACAGCAAGGCTGCTGACAAATTCGATAGAAATCTGCTTAAAGGTTCG

TTGACCTAGTTATTAATGATTAATCAATTACGGGGTCAATTAGTTCATAGCCATCATGACCTATAGAGGTTCCGGGTTT  
CATTAATCATCGGTAAATGGGCGCGCGCTGGTGCACGCCGCAAGCCCGCCGCCCAATGAGCTCAATAATGAA  
GTATGTTTCCCATGATTAAGCCCAATAGGGAGCTTCCATTTAGCTCATAGGTTGGAGATTTATTCGTAAGTAA  
GCCCATCTGGGACGTACATCAAGTGTATCATATGCAACGCGCCCTTATTCGATCGTAAGTCGGGTAAG  
GCCGCGCTCGGGATTTAGCCGACATGATCGGCTTACATCCAGGACCTTTCTCATTTGGCAGTACATCTAGATCT  
AGTCACTGCTATACATGGTGATGATCGGCTTTTGGACATACATCAATGGGCTGGAGTAGCGGCTTTGACTC  
CGGGGATTTCCAGTCTCCACCCTCATGACCTAATGGAGTTTGTGTTGGCACCATAATCGACGGGAC  
TTCCAAATTTGCTGAACACTCGCCCATTTAGCCAAATGGAGCGGTAGGCTGTACGGTGGAGGTTGT  
TATAGAAGAGCTGTTTATGTAACCGTCAGATCGCTGGGAAGGCCATCCACGGTCTTTGACCTCCAT  
AGAAGACACCGGACGGAGCGTCAAGCTCAGCTCGGGCGCGCGCTCAGCGGAGCGACGAATCTGGGCGCACT  
GAGAAGAAATGGCGCGCAAGTTGGTCGAAGCGGCTCATCGCTCGGGTGGCGCGGCACTCGGGAGAGGAT  
GGAGGAGACGAGCGCGCGCGAGGGGTTGGGCGCGGCTCGAGCAAGCTCGCAAAATACGGGCGCTCT  
GTCCGACCAACCGCCGACAGACAGGACAGGATCGGCGCTGAGTGGCTGAGAGGCGCAGGAGAGGAGAGGCTG  
TTCCGGTTCGGCGCGCACTCCCTAGCGGCGATGAGTCAAGAGGCTCGCTGACCTCTCCCACT  
TGAAGAGGAAGGGGGGCTGGACGGGCTCATCTACCTCGGGAAGGAGGACGAGATCTGCTGCTGCTG  
CTACAAACACAGGCTGATCTCCCGGATCGGACAACTATCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG  
ACCTCTCGGGTGGTGTACAGCTCGTCTCGCGGACGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG  
ACAACCTCCCTTCTGACCTGCTGCTCGACGGATAGGAGGACCCGACGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG  
GTTCCAGTCCGGGTCCTGCTCAAGCACCGGCGCCGGGAGCTCCACGGAGGTTCTTCAAGCAATCGCTG  
TAGAGTAGAGGAGCTCGGATCAGGCTCTGCTGCTCTTATGTTGCGAGCATCTGTGTGTTTCCGCTCGCT  
CGGTCGCTCTCTGCTCGGCGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAGGAG  
GCATTTCTGAGTAGGTCGATCTTATTTCTGGGGTCTGGGCTGGGCGAGGACGACGAGGAGGAGGAGGAGGAG

GTGACCAACCAACCGCCAGACAGAACCCGAGATCGCGTGCTGCTGAGGCGCCAGGAGGAGGAAGAGTCGCTG  
TTCGGGTGGTGGCGCAAGTCCCAATGAGGCCGATGATGATGACAGGGCCGCTGCAGCATCTCCCACTCT  
TGAAAGGAGGAGGGGGCTGGACGGGTCATCTACTTCGCGAAGGAGGACAGGAGATCTCCGACCTCTGGGCTG  
CTACAACCAACGAGGCTACTTCCCGAGTCGGAGAACTCTCCGACGAGCCCGCGGAGTGTGGCTAGCCGCT  
ACCACTCGGTTGGTGCTCAAGCTCGTCCCGGTGACCGGACGGAGAGGTGCGAGAAAGGCTCAACGAGGSSGAG  
ACCATCGCTCCCTGCACGATGCTGCCTGCTCAACGAGATGGAGAGCCCGGAGGAGGAGTCTGAACTGGTCT  
TGTGCATCTCGGGCTGCTGCTCAACGACCGGCTCCCGGAGAGCTCCACCGAGATCTTCAAGACAGCTGCTGCT  
TAAGTGTAGGAGATCTGCATCAGCGCTGCATCTGTCCTTTATGTGTCCGAGCAATCTTGTGTTCGCTCGCT  
CGCTGCTCTCTTGTAGCTGGAGAGTGTCACCTCAACTGCTCTTTATGATATATATATATATATATATATAT  
GCATTTCTGAGTAGAGATGCTCTTATCTTATGTTGGGGTGTGGGTGGCGGACAGCAGCAGGCGGAGGATTT

ACCTCTCGGTCGCTCTCAAGCTCGTCCTCCGCGTACCCGAGGAGTCTCGAGAGGACCCCAACGAGGGGAG					
ACAACCTCTCTCTGACCCGAGTGTTCGCTCTACGAGGATGGAGGACCCGAGGAGGAGTCTCTGAATGGAG					
GTTTCSACTCGGGGCTGGCGCTCAAGCACCGCCCGGGGAGGCTCACCCGAGGATCTTCTACAGGACTCGTCT					
TAAGCTTAGCGGACTCTGATCAGCGCTCGAGTGTGCCCTTCTAGTTGTCAGCACTCTGTGTGTTTGTCCCTCG					
CGGTGCTCTCTTCTGAGCTCTGGAAGGTGCTGATCCCACTGTCTCTTTCTCTAATAAAATAGGAAATTCGAT					
GCATTCTCTGATAGAGGTGTCATTCTATTCTCTGGGGGTGGGGTGGGCGAGGACAGCAGAGGGGGAGGATTG					
GAAGACAATAGCAGGCTCTGGGGGAATTT					
Thursday, August 2, 2007					
		AS1121	ACKYOT	2 Sites	
		1 Site		1488	2129
Sequence 0	Length : 1950	1897		AseI	GRGCTC
		AluI	AGCT	7 Sites	
NotII	GACGCT	12 Sites		2507	2560 2643
4 Sites		109	633 1340	287	2983 1186
	2561 2644	1597	1643 1733	1337	
2832		1959		ApaI	GGGCCC
AccI	GTGACG	2184	2451 3521	2 Sites	
2 Sites		1680	3714	2075	2674
	1430	AluIII	GAGGGCTG	ApaLI	GTGACG

Mosaic and CON nef\_Dmyr\_final.doc



GCCCATCTGGCAGTACATCAAGTGATCATATGCAAGCGCCGCCCCCTATTGACGTCAATGACGSGTAAAT									
CGCCCTCGCTGGCATATGCCCAATGACCAATGACGCGGACCTTCTACTTGGACGATCATCTAGCTATT									
AGTCATCGCTATTACCATGCTGATGCGGTTTGGGACGATCAATCAATGGGCTGGATAGCGGTTTGACTCA									
CGGGGATTTTCCAGGCTCTCACCCATCTAGCATTGACGATGGGATTTGTTTGTGGCAGCAAAATCAACCGGACT									
TTCCAAATGTCGTAAACATCTGCCGCCCTCGGACCAAAAGGSGCGCATAGGCGCTACGGCTGCGGGAGGCTCTA									
TAGAAGCGAGAGCTGTTTCTAGCAACCGTCAGATCGCTCGGAGACGCCATCCAGCTGCTTTTGATACCTCAT									
ATAAGACCGACCGGACCGATCCAGCTTCGCGGGCGCGCGCTCGACGCGGCGACCGCAAACTTTGGCGCCACTC									
GAGAGAAAAATGGCGGCCCACTGGTTCGAAGAGCTCCATCTGTGGGTGGCGGGAGATCGGGAGCGCGCATCC									
GGAGAGACCGCGCGCGCGCGCGGGGGCTCGGGGCGGCTCTCGGGAGACTCGGAGCGCCACGGGGGACTCAC									
GTGCGACCGACCGCCACCGACACCGCGGCTCGGCTGCGTGTGAGGGGCGCAGGAGAGCGGGAAGTCCGGT									
TTCGGGTCTGCGGCGGCGGCTCCGATCCGCTCAGGCGCGATGAGCTTCAAGGGGGCTCTTCAGCTCTCGGCTCTTCC									
TGAAAGAGCGGGGGGCTCGAGGGGGCTCATCTCATCGAAGAGAGGCGAGGACATCTCGACCTCTGGGCTCG									
CTACACACCCAGGGGTTCTTCGCGGACGTGGCAGAACTACAGCGCAGGCGCGGAACTCGGGTTCGCGTCT									
ACCTCTCGGCTGGTCTCTCGAGCTCTGTCGCCCGTGAGCGACGAAGGAGTTCGAGGAAGGCGCACCGAGGGGAG									
ACAACCTCGCTCTCGCACCGCATCTCGCCACGACGGGATGAGACGACGAGGAGCGCGAGGTCTGCTGATTGTGAA									
GTTCGACTCTGCTCCGCTCGGCGCGGCGCATGCTGCGCGGGAGAGCACCAGGAGTCTACAAGGAGCTCTGTA									
TAGCTAGGCGATCTGATCAGGCTCGACTGTGCTCTTCTAGTGTGACCGGACTCTGTTGTTTTCGCCCTCTC									
CGGCTGCTCTCTTGACCTCGGAGGTCGCCATCCCATCTGCTCTTCTCCGATAAATAAGAGAAATGTCATCT									
CGATTGTGTGATAGTGTTCATTCTAATTCTGGGGGCTGGGTGGGGCGGACGAGCGGAGGAGATTTGG									
GAAGACATATGACGAGCATGCTGGGGAATTT									
Thursday, August 2, 2007									
Sequence 0	Length: 1950	Bank1	538	2850	3661		52	1738	1751
Ant12	GACGTC	3804				3198	3270	3378	
4 Sites		Bank12		GRGCGT		3441		3475	3654
2832		5 Sites	2963	3075	3114	3798			
Acc1	GTGAC	3388	3523			1 Site			
3050		Bank1				1045			
3050	3430	1 Site				Bank12		COWGG	
Acc12	TCCCGA	Bank1		TGATCA		14 Sites	52	1738	1751
1 Site		1 Site				1872	2475	2668	
3148		3725				2977			
AF1212	ACRYGT	Bank1		CCGCG		3198	3270	3378	
1 Site		14 Sites	3443			3475			
1897		1173	1521	3021		3798			
ALU2	AGCT	3139	3163	3295		CTer10		KCCUGY	
12 Sites		3454				1 Site			
1597	633	3340	3482	3482	3489	847			
1959	1643	1733	3660	3675	3676	CTr1		YGGCCR	
2184	2951	3112	3688			5 Sites	769	3094	3126
2521	3714		Bp12		CCCHNNHNGC	3 Sites			
ALNH2	CAGNNHCTG	3 Sites	2475	2597	2666	3100			
2 Sites		Bp12		AGATCT		1 Site			
21488		1 Site				2287			
Acc12	GRGCG	458				CTr4		ATCAT	
2 Sites		Bp1286		CDGCG		Dde1		CTGAG	
2507	2560	2643	8 Sites			12	204	397	
2829	2863	3662	552	1587	2085	711	787	2114	1623
AP12	GGGCCC	2953	3075	3114		2088	2158	2229	
1 Site		3388				3315	3858		
AP12		3523				Dpn1		GATC	
2 Sites	GTGCAC	BpH12		TGATGA		14 Sites			
1583	2081	2 Sites	1007	1105		190	195	460	
AP12	CTCGGG	BpH12		TCCCGA		1239	1247	1258	
3 Sites		1 Site				2933			
3078	3479	3673	3148			3972	3028	3131	
Bank12	GGATCC	BpH12		COWGG		3216	3591	3722	
1 Site		14 Sites				3728			

【 図 2 2 - 1 5 】

2970	1026	3133		3523		3343	3396	3618		
3214	3589	3720		381d	GNWCC		3517	3547	3643	
3726				9 Sites			1735			
Baurea	GNWCC			123	587	920	XhoI		CTCGAG	
20 Sites				1049	1022	3158	1 Site			
123	587	920		3194			3078			
1049	1174	2266		1296	3533		XhoII	RGATCY		
2468				38a1	CCCCGG		5 Sites	458	1245	1256
2661	1022	3071		2 Sites						
3072	3158	3194		3481	3675		3133	3720		
3266				38aB2	TACOTTA		XmaI	CCCCGG		
3296	3337	3374		1 Site			2 Sites			
3477	3533	3656		2725			3479	3673		
38a1	AGTACT			38e1	ACTAGT		XmaII	CCCCGG		
1 Site				1 Site			2 Sites			
3493				3384			3166	3300		
38cP1	CCNCG			38h1	GACATC		XmaI	CCCGC		
28 Sites				1 Site			1 Site	3066		
52	1172	1520		3939			811			
1738	1751	1972		38p1	AATATT					
2475				2 Sites						
2668	2977	3020		603	991					
3138	3162	3198		38u1	AGGCT					
3270				1 Site						
3294	3378	3441		65						
3453	3475	3480		38y1	CCNCG					
3481				1 Site						
3488	3654	3659		2745						
3674	3675	3687		TaqI	TCCA					
3798				14 Sites						
38d1	GTGGCC			216	1799	2287				
5 Sites				3050	3079	3165				
652	1587	2085		3222						
2953	3075	3114								
3388										

Following enzymes have no sites

AluI	Bsp718	AsuII
AvcII	BclI	BstEII
BanI	DraI	
BclII	EcoRI	EspI
FspI		
HindIII	HpaI	KpnI
MluI	MscI	NaeI
NcoI	OxaNI	PfIMI
PstI	PvuII	PvuII
SfiI	SplI	TthIII
XbaI	XbaI	

nefM\_4.4Dmyr (557nt.) hvl3232, GC=66%

CTCGAGAAGAAATATGCTCCCAATGGTTCAGAGGCTTCATCTGTCGGGTGGCCGCAAGTCCGGGAGCGCA

TCGGCAGCAGCGCTCCCGCGCGCGAGGGGGTCCGGCGCGGTCTCGCAGGACCTCGACAAGCAGCGGGCGGT

CAGCTCGCAGCAACACCGCCCGCAGCAAGCGCGAATCGCGCTGGCTCGAGCGCCAGGAGGAGGAAGAG

TCGGCTTCGCGCGTCAACGGCGCAAGTCGCGCTCAGCGCGGAGTACGTCACAAGGGGCGCTTCGACCTTCGT

TTCTTCGACCAAGAGAGGGTGGCTCGACGGGCTCATCTCATCGAAGAGGAGGACGAGGAGTCTCCGACAT

CTGGGTCTTAAACAGAGGGGGTCTTCGCGGAGTGGCAACATACCGCGAGCGCCGGAGCTCCCGCTC

CCGCTGTGCTTCGGGTGGTCTCAAGCTCTGCTCCCATGGACCGCGGAGGTTCGGAAGAGCCACCGAGG

CGGAGAACACCGTCTCTCGTCCCGGATCTGCACGACGATGGAGGACGAGGACGCGAGGTGGTCTGCT

CTGGGCGTTCGACTGCTCTCTGGCGCGCACATCGCCGGGAGCTCCACCGGAGTACTACAGGAC

TGCTGTAATGATACGGAGCTCATCA

MASKSKSSISVGWQVRRIRITPPAAGVGVAQSDLDKHAQVTSNSTAANNADCAWLQAQEEEEVGF

VKQVFLRLPMPTKYGAPDLSFFLKEKGLDGLHLYSKRQELDLWLHVHTGQFFPDWHNTYPPGTRYPFLCF

GGFKVLVMPDPAEVEATBEGNLSL2212GQWMDDEDEVLVRFDSLLRRRIARELHPFYVKD\_

>HVL3232 in hvl10001 (nefM\_4.4Dmyr.wlv), 3953nt.

AAATGGGGGGCGTGAAGTCTGCCTCGTGAAGAAGGTGTGCTGACTCATACACAGGCTGAATCGCGCCCAT

CATCCAGCAGAAAGATGAGGAGGACACGCGTTGATGACGAGTTGTGTAGGTGAGCAGTGGTGTGATTT

GAAGTTTCTTTTTCGACCGGAACGCTCTGCGTTGTTCGGGAGATGCGTGAATCGTATCTTCAACTACGAA

CAAGTTTCGATTTTATCAACAGACCGCGCTCCGTCAGTACGCGATAGTCTCTGCGAGTGTACGACCA

ATTAAACAAATTCTCGGCTCAAAATGGTATGCGTTTGAACACATCCCATATAATTCCGTGTCTGTTCTGCG

ACTCTCAATGCCCATCCAGAAATTTCTTACGAGTCTCCAGAAAGTTCTCAGAGTCGGAAAGTGTACGACCA

CATTACGACATCGGACAGAGTGCATTAACCTCAGAGGAAGATCTGATGTGCTTAACGTGCTTCAGTTAAGACC

Mosaic and COW nef Dmyr final.doc

【 図 2 2 - 1 7 】

			1685	1973	1976	
AAHII	GACGTC	BSPHI	TCATGA	1994	2110	2250
4 SITES		2 SITES		2279		
2510	2563	1007	1105		1282	3129
2321		BSPHI	CONGG	3235	3261	3306
ACCI	GTACAC	13 SITES		3315		
2 SITES		52	1738	1751		
3050	ACCT	1872	2475	2668		
APALII	ACCTGT	2977	454	1273	1854	
1 SITE		3270	3381	3644		
1897		3478	3657	3801	2169	2257
ALUI	AGCT	BSHII	GGGCGC	2445		
13 SITES		1 SITE		3039	3045	3047
109	633	3045		3062	3165	3183
1597	1643	BSHII	CONGG	3237		
1559		13 SITES		3246	3255	3625
2184	2951	52	1738	1751		
2324	3683	1872	2475	2668	4481	
ALMHI	CAGNNHCTG	2977			12	1657
2 SITES		3270	3381	3644		
1448	2129	3478	3657	3801		
ASGII	GGCGYC	CFR101	RCGGYC			
7 SITES		1 SITE		55	771	1175
2507	3560	847		1423	1857	1875
3643		CFR101	YGGCGC	1886		
1645		4 SITES		2248	2469	2662
APALI	GGGCCC	4	769	3126	3146	
1 SITE		354	2257	3213	3342	
3075		CLAJ	ATCGAT	3379	3481	3543
APALII	GTGCAC	1 SITE		3640		
2 SITES		2287		MGHAI	GGGCGC	
1593		DDET	CTNAG	5 SITES		
AVAI	CYCGRG	12 SITES		1587	2085	2953
3 SITES		12	204	397		
3078	3482	711	787	1216	1623	
BAMHI	GATGTC	2088	2168	2229		
1 SITE		3318	3861			
3723		DFHII	GATC			
BAHI	GGYRCC	13 SITES		21	496	1273
4 SITES		190	195	460		
538	2850	1219	1247	1258	1342	1556
3807		1333			2723	
BAHII	GGGCTC	2972	3028	3417	1993	2026
5 SITES		594	3725	3731	2249	3045
2953	3075	DUAILI	CACNNHGTG	3183		
3391	3645	1 SITE		3145	3255	3667
BHBI	GGGCCC	2	1162			
1 SITE		EC0471	GGWCC	413	886	2369
3668		8 SITES		1051		
BGLII	TGATCA	122	586	919	14 SITES	
1 SITE		1048	1021	3193	383	401
3729		3535			807	1527
BCHI	CCSGG	3619			1998	2222
13 SITES		EC00109	RGCMGVC		2795	
1173	1521	2 SITES				
3139	3294	3194	3340			
3185	3541	EC0R11	CONGG			
3674	3679	13 SITES				
BGLI	CCCHNNHNGC	5076	1749			
4 SITES		2975				
4	2475	3076	3655	3799		
BGLII	AGATCT	KARV	GATATC			
1 SITE		1 SITE				
458		2294				
BSPL186	GGGCGC	FM04R1	GGWGC			
8 SITES		21 SITES				
2953	1587	1489	1492	1517	1456	3483
3391	3075	1700			3540	
Mosaic and CON nef_Dmvr_final.doc						

【 図 2 2 - 1 9 】

Gag 遺伝子構築体 :			
HVI 番号	遺伝子名	Gag	変異した ミリスチル化シグナル

グループM			
		(2001)	
HV13234	M.con_Gag01_Dmyr.wlv		Yes
HV13309	Gag_M4_1_Dmyr.wlv	Mosaic No. 1	Yes
HV13316	Gag_M4_2_Dmyr.wlv	Mosaic No. 2	Yes
HV13317	Gag_M4_3_Dmyr.wlv	Mosaic No. 3	Yes
HV13318	Gag_M4_4_Dmyr.wlv	Mosaic No. 4	Yes

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

[illegible]

HV13234 (M.eon\_Gag01\_Dmyr.wlv) (1527nt)

XhoI

CTCAGACAGAAATGCGCGCTCGGGCTCGGTCCTCAGCGGGGCAAGTGGATCGCTGGGAGAA  
GCTCGCTTGAGGCGAGGAGAGAGAAAGATACCGGCTCAGACACTGCTGCTGGGCGAGAGCG  
GAGCTCGAGCGCTTCGCGCTGAACACGGGCGCTGCTGGAGAACATCCGAGGCTCTCAGCAGATCA  
TCGGGCGAGCTTCAGCCAGCGCTCAGACGGGCTCAGACGAGAGCTCGGCTCGCTATCAACACGGT  
AGCGACCTCTTACGCTGCAACAGCGGATCGAGGTCAGAGACACGAGAGAGGCTCTTGAGAGAT  
ACTGAGAGAGGACGACAGCAAGTCGGAGCAGAGAGACCCAGCAGGCGCGCGGACACAGGCGCACT  
CTTCAAAAGATCTTCAAGACTACCGATCTGCTGAGCAACTCGAGGAGCAGATGTTCCAGAGGCA  
CATCAGGACACGGAGCTTCAACGCTTGGGTAAAGTGTCTGAGGAGAGAGGCTCTTCGGCGAGCG  
GTACATCCCAATGCTCTCGCATCTCTCGAGGAGAGCAACCCGACAGGCTTGAAACATGATGTGA  
ACAGGCTCGCGGGGACACAGCGGGCTCATCAGATGTCTCAAGGATACATCAACAGAGGAGTGCT  
GGAGTGGGACCGCTGCACCAAGTCAGCGGGGGCCATCCCGCGGGCAGATGAGAGAGCGCC  
CGGGAGTCGGAATCTCGGGGACAGCAGACCTTTCAGGAGAGCAATCTCGCTGGATCAGCTAGCA  
ACCCCCGATCCCGTGGGGAGAGATCTACAGGCGGTGGATCATCTCGGTTGATACAGAGTGTG  
CGGGATGTACAGCCCTGTCTCATCTCGGACATCCGGCAGGGGGCACAGGAGGCTCTTCGCGAG  
TAGCTCGACCGGTTCTTCAAGATCTCTCGGCGAGAGAGGCGACGAGCGCTCAAGATCTGGA  
TSGCGGACACCTTTGTTGTCAGAAACGCTAACCCGCTCGCGAGAGCGATCTCTGAGGCTCTCGG  
CCGGGAGAGGCTCTGGAGGAGATGATGACCGCGTGCAGGGGGTCGGGGAGCACCGCCACAGCA  
GCGCGCGATCTTGGCGCGAGGATGTGTCAGGTACAGAACCGCGCATATGATGACGAGCGGAG  
ACTTCAACGGGCGACAGCGCGGATACATCAAGTGCTCAATCTCGGCGACAGAGGGGCGACATCGCC  
GAACTGCGGGCCCGCGCGAGAGAGGCTGCTGGAATGCGGAAAGAGAGGGGACACAGATGAGGAG  
GACTCTCAGGAGCGACAGGCGATATTTCTCGGGAAGATCTCGGCGTCCACACAGGCGGGCGGCA  
GGAACTCTGTCGAATCGGCGGACAGCGAGCGGCCCTTCGCGGGAGAGCTCTGGGTTGCGCGC

Mosaic and Group M Gag\_dmyr-patent.doc

【 図 2 2 - 2 1 】

GGATCAGAGTCAAGGACA CAGAAGAGAGCTTTCAGGAAGATCCAGGAGGAGGACAGACAAAGTCCAGCAGGAGG  
GACCCAGGACGAGGCGGCGACACAGAGGCAAGCTTCCAAAGATATCTCAGAACTACCCGATCTGTGCAGAC  
TCTCAGGAGACAGATGGTCTCACAGGCATACACCCAGCAGCGCTTAACCGCTTGGGTACAGGTTATCGAGG  
AGAGGGGCTTCTCCGCGAGGTATCCCATGTTCTTCGCGATCTCTCCAGGAGGACCCACCAGCAGGATGAGC  
GAACACAGTGTGAACACAGGTCCGGCGGAGGAGGAGCGGCGATCGAGATCTCTCAAGATACCACTCAAGAGG  
GAGGTCTCGAGTGTGAGACCGCTTCACCCAGTCCAGCGGGGGCTATCCCTCCCGGGCCGATGAGAGAGG  
CCCGGGGATCGACATCCGCGGACACGACAGCATCTTCAGAGGACAATTCGCTGATGATCATGACACACG  
CCGATCCCGGTCCGGAGATCTCAACAGAGGCTGATACATCTTCGGGTTGACAGAAATCTGTGCGAGTATG  
AGCCCTGTCTCAATCTCAGGATCTCGGAGAGGGGCCAAGAGACCCCTTCGCGACATCATCTGCGACCGGTTCT  
TCAAGACTCTCCCGGGAGACGAGCACAGGAGATGTCAGAAAGTCTTCGCGATACGACACACTCTTGTGCTGT  
TAAGCGCTTAACCGGCTCTCCAGACAGTCTCGAGGTTCTCCCGGGAGCGACATCTCGAGGAGATGATG  
ACCGCTGCTCAGGAGGTCGGGGGGACCGACACAGGCGCGGGGTCTTCGCGACGAGCATCTCCAGGTGT  
CGAACCGCGGATCATGATGTCGGGGGGGAATCTCAAGGGCGAGCGCGGATCATCAAGTGTCTCAACTC  
CCGCAAGAGAGGCGCATCTCCCGGAACTCGCGGGCCGCGAGAGAGGGGTCTGGAAGTGTGGAGAG  
GGGGGGACAGGATGAGAGGATCGACGAGGCGCGAGCGCAATTCTGCTCGGAAGATCTGCGGCTTCACAG  
AGGGCGCGCAGGGAAATCTTCGAACTCGGGCGAGGCGAGCGTCCCGCTTCCGCGAGAGATCTTCGGGT  
CCGCGAGGATACATCCGCCCGCCACAGATGAGCGGAAGGACAGGAGCGCCCTCTGCTGCTTCAAGGAT  
TGCTCTTCTCGGACAGCCCGCTTCTCCGATGAGGCTAGCGGATCTCTGATGAGCTCATGCTGCTCT  
CTAGTTCGCAATCATTTGTTTGCCCTCCCGGCTGCTGCTTCTGACCTGACCTGAGGATGGCATCTCCAC  
TGCTCTTCCGATAGTAAGGAATAATGCATGCATCTGCTTCGATGAGGTGTCATCTGATCTCGGGGG

[illegible]

Mosaic and Group M Gag\_dmyr-patent.doc

Morris and Brown M. See drug patent law.

Mosaic and Group M Gag dmyr-patent.doc

COWWGQ				Tbhl11		GACHNNTC		1 Site	
1 Site				1 Site				1 Site	
2745				3937				XmaIII	
TCGA				KbaII		KATATC		1 Site	
12 Sites				10 Sites				405	
216	1739	2287		458	1245	1256		XmaI	GAAHNNTC
3050	3182	3335		3113	3389	3647		3 Sites	
3527				3830				811	3538 4225
3941	4045	4372		4133	4358	4570			
4487	4601			XmaI	CCGGCG				

Need re-create XhoI site at the 5' end  
Primer:  
Gag-M2-4-fg/C:  
GGCGCGCTCGAGAGAAAATGCGCGCTCG

Gag M4.3 Dmyr

MAARASILRGGKLQWKEKIRLPRGGKKRYMLKHLIWAARELERFALNPGLLTEABGCQOIEE  
QSTLTKSEELKSLFNATVATLYCVHRIEVDKTKALDKVEEONKSKKKAQAAADTNSGS  
SONYPIVQNLQQQWQHQLSPTLNAWVKVIEEKAFSP EII PMFTALSAGETPSD LNTMLNTL  
GHQAAMQMLKDTINEEAABRDVHPVHAGPIPPGQMRPRGSDIAGTTSLSLQEQIAWMTSNPI  
PVGETYKRWVLGLNKLIVRMSVPSVILDIRGQKPEFFRDYVDRFFKTLRAEQASQDVKNWMT  
LLVQNAOPDCCTLIRLPGALSGAEEMMTACGGVGGSHKARVLAEAMSTQSLAIIORMOSNFK  
KRVEKCFMCKEGEHLIARNCARFRCKGWMKCOQEGHQMKNDEQRNAPLKGKIVP SHKRGPGNF  
NR1PTAPPEPTAPAESFRTEETTPAPKQLDRPLETSLKSLFGSDPLSQAS

HV13317 (Gag\_M4.3 Dmyr.wlv)

GTCGAGAAGAAAATGGCGGCTCGCGCTCGATCTCTTCGAGGGGGCAA GTTGGATAATGGGA  
AGATCCGCTCGTGGCGGACGAGGGGAGGAAGATACATGCTCAAGCACCTGATCTGGCGGAGC  
AGAGCTCGAGTCAGGTTCCGCTCGCTACCTCCGGCGCTGCTTGAGACACGAGGGGCTTCAGCAAA  
ATCGAGCACGCTTCAAAGACCGCTGAAGACGGGCAGCGAGGAGCTGAACTCGCTATTCACAAC  
TAGCGACCCCTCTACTGCTGACGACCGAGTCGAGGTCAAGGACACGAAGGAGGCTCTTGAC  
GTTGAGGAAGAGGACGACAGCAAGTGCAGAGAAAGAAAGGCGCAGCACGGCGCGGCTCGGCA  
TCTTCACAGATGATCTTCAGAACTACCGAGGCTGCAAGAGCTGAGGACGATGGTCCACAC  
CCCTCTCCCCACGGAGCGCTTAACGCTCTCGAGTCAAAGATCTCAGAGAGAAGCGCTCTACGCGC  
AATCATCCCCATGTTCAAGCATCTTCGGAGGAGGCCAATCCAGGCGCATCTGAACAGCATGT  
AACACCGCTCGCGCGCACCGAGCGCGCCATGCAGATGCTTAAGGACACCCATCAACGAGGAGG  
CGAGATGGGACCGGGTGACCGGCTGACCGGCGCGCGCGGCTCATCCACCGGGGCAGATGAGAGAG  
CGCGGATCGAGCATCGCGAGGACCAACGACGATCTGACAGGACAACTCGCTTGATGACTT  
AACCCCGCGTCCGCTCGGGAGATCTACAAGATGTGATCTCTCGGTTGAACAAGAT  
TGAGGATGTGACAGCGCTGTGTCAATCTCGGATCTCGACAGGACCGAGGACCGCTTCAG  
CTAGCTCGACCGGTTCTCAAGACTCTCGCGGCGAGCAGCGCTCGCAGGACGCTCAAGAAT  
ATGACGGAGACCTTTGTGGTCTCAAGACGCTAAACCGGATCGAAGACCATCTCTCGCGCTCT  
GCCCGGGAGCGCTCTTGTGAAGAGATGATGACGCGCTCCAGSGAGTCTGGGGGACCTCTCAC  
GGCGCGGCTCTTGGCGCGGATGAGGACGACGAATCTCCGCTCTCATCTCATGTCAGCGGCTCT  
TCAAAGGAGACGACGAGTCGTCAAGTGTTTCAACTGTGCGAAGGAGGACACATCGCCAC  
ACTCGCGCGGCGCGCGGACGAGCGAGCTGTGGAAGTGCAGACAGAGGAGGCGCAAAATGAG  
CTGCAACGACGAGCGCGGAGCAATTTCTCGGAGATGATGTGGCCTTCCCAACAGGCGCGCCAC  
AATCTTCTTCAAAACCGCGCAGAGCGAGCGCCCTCCCGAGCGCACCGCCCGCGCGCTCT  
CCTTTGCGATCTCGAGGAGACGACCGCCGCGCCCAAGACGATCTCAAGGACCGCGAGCTCTT

## 【 図 2 2 - 3 4 】

CTCCCTCAAGTCGCTCTTCGGCTCCGACCCCGCTTTCCGCAAGCGTCGATAGCTAGCGGATCC  
GGCGCGCG  
AscI  
NheI  
Need re-create XhoI site at the 5' end

HV13317 in HV10001 4824bp

AAATGGGGCGCTGAGGCTCGCTCGTGAAGAAGGTTTGTGACTCATACCAGGCTGAATCG  
CCCCATCATCCAGCCGAAAGTGAAGGAGCCACGGTTGATGAGAGCTTTGTTGTTAGTGGACCA  
GTTGGTGATTTTGAACCTTTTGTCTTCCACGGAAACGGTCTCGGTTTGTCCGGGAAGATCGTGATC  
TGATCTCTCAACTCAGCAAAAGTTTCGATTATTCAACAAGCCGCGCTCCGCTCAAGTCAGCGT  
AATGCTCTGCCAGTGTACAAACCAATTAAACCAATTCCTGCTTCAAAATGGTATGCTTTTGACA  
CATCCACATATATCCGTGTCTTCTGTCCACTCTCTGAATCCCAATCCAGAAATTCCTCTAGCGA  
TTCCAGAAAGTTTCTCAGAGTCGGAAGTTGACCAGACATTACGAACTGGCACAGATGGTCATAA  
CCTGAAGAAGATCTGATTGCTTAACTGCTTCAGTTAAGACCGACCGCTCGTCGTATACAGCA  
TGGCATGTACAGACCAATCAACATGGCAACCTGCCATTGCTACTGTACAGTCAAGGATGGTAG  
AAATGTTGTCGCTCTTGCACAGCAATATTACGCCATTTGCTGTGATATTCAACAGCTCTTCT  
ACGATTAAGGGCAAAATCGCATCGTGGAACTTTGGGCTTCTACCGATTTAGCATTTGATACA  
CTTTTCTTAAGTATCAACTGAATCATAAATCGGCAAAATAGAGAAATTTGACCATGTGTAAAG  
CGGCCAATCTGATTCCCACTGAGATCGATAATCTAGTAAATCTCTTCGCTATCAAAATCTACT  
TCCCACTTCCACTCACCAGTGTGCTTCTATGCTGAACTCTGCTTCTCTCTGTTGACATGACAC  
ACATCACTCTCAATATCTCGAATACGGACCATCAGTCTGACGACCAAGAGGCCATAAACCCCAAT  
AGCCTTAACATCATCCCAATTTTATCCAAATTTCTGTTCTTAAITTCATGAACAACTCTTCAAT  
CTTTCTCTCTAGTCATTATTTATGTTGCTGCTTCAACACCCCTTGTATTACTGTTTATGTAAAG  
CAGACAGTTTATTTATGTTTCTGATGATATATTTTATCTTGTGCAATGTAACTCAGAGATTTTG  
AGACACAACCTGGCTTTCCCGGGCCCATGACCAAAATCCCTTAAGCTGAGTTTCTGTTCCACTG  
AGCGTCAGACCCCGTAGAAGAAATCAAAAGGATCTTCTTGAGATCGTTTCTTCCGCGGTAACT  
TGCTGCTTGCACAAACAAAAACCCCGCTACACCGGTGGTCTTCTGCGGATCAAGAGCTAC  
CAACTCTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAAATCTGTTCTTCTGAT  
GTAGCGCTAGTATAGCCACCATCTCAAGAACTCTGTAGCACCGCTCATACACTCGCTGTGCTA  
ATCCTGTACCAAGTGGCTGCTGCCAGTGGCGATAACTGCTGCTTACCGGCTTGACTCAAGAC  
GACGATGATACGATCAACGCGAGCGGTGGGCTGAACGGGGGTTCTGTGACACACGCGCAGCT  
GGAGCGAACGACCTACACCGAATCTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTT  
CCCGAAGGGAGAAAGCGGACAGGTATCCGCTGAAGCGGAGGTCGGAACAGGAGAGCGACGAA  
GGGAGCTTCCAGGGGAAACCGCTGGTATCTTTATAGTCTGTCGGGTTTCCGCCACTCTGACT  
TGAGCGTCGATTTTGTGATGCTCTGTCAGGGGGCGGAGCTATGGAAGAAACGCCAGCAACGCG  
GCTTTTATCGGTTCTGGGCTTTTGTGCGCTTTTGTCTCACATGTTCTTCTGCGTATATCCC  
CTGATTCTGTGGATAAACCGTATTACCGCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCCGCGCAGCGCAAC  
GACCGAGCGCAGCGAGTCAAGTGAAGAGCGGCTGAACGGGGGTTCTGTGACACACGCGCAGCT  
ACGATGTTGTCGGGATTTTCAACCGCATATGTTGCTCTCTGATGATGCTGCTGATGCGC  
CATGTAAAGCGAGTATCTGCTCTCTGCTTGTGTGTTGGAGTCTGCTGAGTATGTCGCGGACAA  
AATTTAAGCTACAAAGGCAAGGCTGACCGCAAAATGCAATGAAGATCTGCTTAGGTTTGG  
CGTTTGTGCTGCTCTGCGATGTACCGGCCAGATATAGCGCGCATCGATGATATCCATTCGCA  
TAGCTGTATCTATCATCAATATGTACATTTATTTGCTCATGTCCAAATATGACCGCCATGT  
TGACATTTGATTTTGTAGTATTTTAAATAGTAACTAACGCGGTCAATAGTTTCTAGTCCCAT  
ATATTGAGTTCCCGGTTACATAAATTCAGTAAATGCGTCCGCTGCTGACGCGCCACGACCC  
CGCGCATGACGCTCAATATGACGATATGTTCCCATAGTAAGCCCATAGGGAATTTCCATTTGA  
CTCAATAGGTTGGAGTATTTACGGTAACTGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCATCTGAG  
CAAGTCCGCGCTATTGAGCTCAATGACGGTAAATGGCCGCTGSCATTTATGCCAGTACAT  
GACCTTACCGGACTTTCTCACTTGGCAGTACATCTAGTATTAGTTCATGCTATTACATGGTG

Mosaic and Group M Gag\_dmyr-patent.doc

## 【 図 2 2 - 3 5 】

ATGCGGTTTGGCAGTACATCAATGGGCGTGGATAGCGGTTTGGACTACGCGGGATTTCCAAATC  
TCCACCCCTTGGAGTCAATGGGAGTTTGGTTTGGCACCAAAATCAACGGGACTTTCCAAATC  
TGSTAACTCCGCCCATTTGACGCAAAATGGGCGTAGCGGTGACGGTGGGAGTCTATATA  
AGCAGAGCTCGTTTGTGAACCGTCAGATCGCTGGAGACGCCATCCACGCTGTTTGGACTCC  
ATAGAAGACACCGGACCGATCCAGCCTCCGCGGGCGCGCTCGAGAGAAATGGCGGCTCGC  
GCTCGATCTTCGAGGGGCAAGTTGGATAGCTGGGAAAGATCCCTCTGAGGCGCAGAGGGA  
AGAGAGATACATGCTCAAGCACCTGATCTGGCGAGCAGAGAGCTGGAGCGGTTTCGCGCTGAA  
CCCGGCTCTGAGACAGCGGAGGCTGTCAGCAAAATCATCGAGAGCTTCAAGACAGCTG  
AAGACGGGCGAGGAGGCTGAAGTCTGCTATTAACACGGTAGCGACCCCTCTACTCGGTCGAC  
AGCGATCGAGGTCAAGGACACGAAAGGAGGCTTTCGCAAGGTGGAGGAGAGCAGAACAGCT  
GAGAGAAAGGGCGAGCGGCGCGGCGACCCGCACTCTCACAAGTATCTCAGAACTAC  
CCGATCGTGGAGAACCTCGAGGACAGATGGTCCACAGGCGCTCTCCACCGGAGCTTAAGC  
CTCGGTTCAAAGTATCGAGGAGAGGCGCTTCAGCCCGGAAATCATCCCATCTTTCACAGCACT  
TTCGAGGAGCCACCCCGAGCAGCTGAACACGATGTTGAACACCGTCCGCGGGCACACGAGG  
GCCATGACAGATGCTTAAGGACACCATCAACGAGGAGGCTGCGGAGTGGGACCGGGTGCACCCG  
TGACCGCGGGGCCATCCACCGGGCCAGATGAGAGAGCGCGGGGATCGGACATCGCGGGAAC  
CACGAGAGCTTGCAGGAGCAAACTCGCTGGATGACTTCGACCCCGGCTCCCGGTCGGGAG  
ATCTCAAGAGATGGATCTCTCGGTTGAACAAAGTCTGAGGAGTGACACCGCTGTCTCAA  
TCTCGGACCTCCGACAGGACCGAAGAGGCTTCAGAGACTACGTCGACCGGTTCTTCAAGC  
TCTCCGGCGGAGCAGGCGTGCAGGAGCTGGAAGAGGAGCTTGTGTTGGTCCAG  
AACGCTTAACCGGATCTGCAAGACCATCTCTGCGGCTCTCGCGCGGAGCGCTCTTGGAGAGAG  
TGATGACCGGCTGCCAGGAGTTCGGGGGACCTCACACAAGGCGCGGCTTTCGCGGAGGCGAT  
GAGCAGAGCACTCCGCTCTCTCATGTCAGCGCTCCAATCAAGGAGAGCAAGCGGATCGCT  
GAGTGTTCCTCACTGAGGAGGACACATCGCCAGGAACTCGCGGCGCCCGGAGGAGCGGAG  
CGTCTGGAAGTGGGACAGGAGGAGGACCAAAATGAAGAGTGCACACGAGCGGAGCGAAATG  
CTCGGAGAGTCTGGCGCTCCCAAGAGGCGCGCAGGAGACTCTCTTCAAAACCCCGCACAG  
CCGACCGGCGCTCCGAGCGACCGCGCGCGCGCGGAGTCTTCTGCTTCCAGGAGACCGC  
CGCGCCCCAAGCAAGGCTCAAGGACCGGAGGCTTACCTCCCTCAAGTCTGCTTCTGCGCT  
CGACCGGCTTTCGCAAGCGCTGCTGATAGTCAAGTCTCCGCGGCGCTCGCTGATCAGC  
TCGACTGTGCTCTGATGTCGAGCATCTGTTGTTTCCGCTTCCCGCTGCTTCTGCTGACCC  
TGGAAGTGGCTTCCCATGTCCTTCTTCAATAAATGAAGAAATTCGATCGCATTTGTCTGAG  
TAGTGTGATCTTATTTCTGGGGGTGGGTGGGCGAGGACGCAAGGGGAGGATGGGAGAGC  
AATGTCAGGCACTGCTGGGGAATTT

Thursday, August 2, 2007		2184	2951	3180	6 Sites	3201	3600	3862
Sequence 2	Length : 4824	3249	3282	3785	4074	4354	4429	
4497	4573	4594	4601	4602	4603	4604	4605	4606
4607	4608	4609	4610	4611	4612	4613	4614	4615
4616	4617	4618	4619	4620	4621	4622	4623	4624
4625	4626	4627	4628	4629	4630	4631	4632	4633
4634	4635	4636	4637	4638	4639	4640	4641	4642
4643	4644	4645	4646	4647	4648	4649	4650	4651
4652	4653	4654	4655	4656	4657	4658	4659	4660
4661	4662	4663	4664	4665	4666	4667	4668	4669
4670	4671	4672	4673	4674	4675	4676	4677	4678
4679	4680	4681	4682	4683	4684	4685	4686	4687
4688	4689	4690	4691	4692	4693	4694	4695	4696
4697	4698	4699	4700	4701	4702	4703	4704	4705
4706	4707	4708	4709	4710	4711	4712	4713	4714
4715	4716	4717	4718	4719	4720	4721	4722	4723
4724	4725	4726	4727	4728	4729	4730	4731	4732
4733	4734	4735	4736	4737	4738	4739	4740	4741
4742	4743	4744	4745	4746	4747	4748	4749	4750
4751	4752	4753	4754	4755	4756	4757	4758	4759
4760	4761	4762	4763	4764	4765	4766	4767	4768
4769	4770	4771	4772	4773	4774	4775	4776	4777
4778	4779	4780	4781	4782	4783	4784	4785	4786
4787	4788	4789	4790	4791	4792	4793	4794	4795
4796	4797	4798	4799	4800	4801	4802	4803	4804
4805	4806	4807	4808	4809	4810	4811	4812	4813
4814	4815	4816	4817	4818	4819	4820	4821	4822
4823	4824	4825	4826	4827	4828	4829	4830	4831
4832	4833	4834	4835	4836	4837	4838	4839	4840
4841	4842	4843	4844	4845	4846	4847	4848	4849
4850	4851	4852	4853	4854	4855	4856	4857	4858
4859	4860	4861	4862	4863	4864	4865	4866	4867
4868	4869	4870	4871	4872	4873	4874	4875	4876
4877	4878	4879	4880	4881	4882	4883	4884	4885
4886	4887	4888	4889	4890	4891	4892	4893	4894
4895	4896	4897	4898	4899	4900	4901	4902	4903
4904	4905	4906	4907	4908	4909	4910	4911	4912
4913	4914	4915	4916	4917	4918	4919	4920	4921
4922	4923	4924	4925	4926	4927	4928	4929	4930
4931	4932	4933	4934	4935	4936	4937	4938	4939
4940	4941	4942	4943	4944	4945	4946	4947	4948
4949	4950	4951	4952	4953	4954	4955	4956	4957
4958	4959	4960	4961	4962	4963	4964	4965	4966
4967	4968	4969	4970	4971	4972	4973	4974	4975
4976	4977	4978	4979	4980	4981	4982	4983	4984
4985	4986	4987	4988	4989	4990	4991	4992	4993
4994	4995	4996	4997	4998	4999	5000	5001	5002

Mosaic and Group M Gag\_dmyr-patent.doc

## 【 図 2 2 - 3 6 】

3710 3735 3824  
3830 3974 4043  
4076  
4077 4271  
BgII GCCNNNNNGTC  
4 Sites  
2475 2597 2668  
4447  
BgIII AGATCT  
3 Sites  
458 3839 4361  
BspI286 GDCGAC  
14 Sites  
452 3587 2085  
2953 3326 3641  
3707  
3716 3725 3935  
4275 4316 4439  
4596  
BspNI TCATCA  
2 Sites  
1507 3105  
BspNI CCNNG  
18 Sites  
1872 52 1738 1751  
2977 2475 2668  
3128 3493 3522  
3443 3804 3907  
4111  
4260 4342 4388  
4472  
BspHII GCGGCG  
3 Sites  
3045 4064 4598  
BspHII CCNNG  
14 Sites  
52 1738 1751  
1872 2475 2668  
2977 3128 3493 3522  
3443 3804 3907  
4111  
4260 4342 4388  
4472  
CfrI101 KCGGTY  
5 Sites  
867 3424 3953  
4405 4446  
CfrI YGGGCR  
7 Sites  
769 3416 3647  
4248 4356 4394  
4408  
ClaI ATCATAT  
1 Site  
1287  
DdeI CTNAG  
12 Sites  
12 204 397  
711 787 1214 1623  
2088 2158 2229  
3446 4732  
DpnI GATC  
22 Sites  
190 195 460  
1239 1247 1258  
1233  
2972 3028 3079  
3115 3163 3234  
3460  
3759 3841 3856  
3877 4219 4363  
4581  
Mosaic and Group M Gag\_dmyr-patent.doc

## 【 図 2 2 - 3 7 】

52 1172 1520  
1738 1751 1872  
2475  
2668 2977 3020  
3128 3202 3263  
3493  
3522 3556 3643  
3700 3709 3734  
3804  
3823 3829 3907  
3973 4042 4075  
4076  
4111 4260 4270  
4342 4388 4672  
HaeI GCGGCG  
1 Site  
4448  
HaeI CCNNG  
1 Site  
1172 1520 3020  
3202 3203 3556  
3709 3734 3823  
3829 3973 4042  
4075  
4076 4270  
HaeI CCATCG  
1 Site  
HaeI CATATG  
2 Sites  
2076 2619  
GCTAGC  
1 Site  
4573  
HaeIII CATG  
18 Sites  
538 762 864  
892 1011 1109 1181  
1901 2219 2349  
2367 2689 2749  
3150  
3573 3654 4188  
4813  
HaeIII GGNHCC  
24 Sites  
92 540 1830  
1869 2852 3023  
3594  
3640 3697 3722  
3723 3774 3827  
3923  
3932 4124 4125  
4273 4274 4315  
4424  
4542 4581 4680  
HaeI TCAGCA  
1 Site  
2257  
HaeI ATGCAT  
1 Site  
796  
Nap75241 RCATGY  
3 Sites  
1901 3150 4813  
Nap8111 CHUCKG  
9 Sites

Mosaic and Group M Gag\_dmyr-patent.doc







## 【 2 2 - 4 2 】

3573	3618	3694	1 Site	4210	4509
4188	4826		3949	SnaI	CCCGGG
WLVIV	GGNNCC		Sau9A	1 Site	
31 Sites			20 Sites	3203	
92	540	1830	188	193	458
1869	2852	3023	1237	1245	1256
3115			1331		
3273	3423	3594	2370	3026	3113
3640	3697	3722	3368	3458	3757
3723			3772		
3774	3817	3827	4364	4585	4607
3923	3924	3932	Sau96A	GGNNCC	
4124			29 Sites	123	587
4125	4211	4276	1049	1174	2246
4279	4318	4427	2468		
4439			3204	3422	3486
4548	4587	4687	3606		
NruI	TCGCGA		3686	3721	3722
1 Site			3735	3825	3921
2257			3922		
NsiI	ATGCAT		4026	4123	4195
1 Site			4210	4274	4275
794			4425		
Nsp724I	KCATGY		4509		
3 Sites			32 Sites		
3901	3150	4820	12	52	1172
NspIII	CMGCKG		1738	3751	1872
8 Sites			2475		
3124	1559	2281	2668	2977	3020
3039	3753	4194	3128	3160	3202
4283			3203		
4435			3420	3522	3556
PpuMI	RGNNCCY		3643	3709	3734
2 Sites			3804		
3606	4123		3823	3829	3907
PaeI	RGNNCCY		3973	4042	4111
6 Sites			4145		
3609	3724	3924	4679		4391
3925	4126	4278	884I	GGGCHC	
PstI	CTCCAG		14 Sites	652	1587
1 Site			2953	3274	3326
1476			3641		
PvuI	CGATCG		3716	3725	3925
1 Site			3935	4278	4319
1461			4603		
RsaI	GTAC		848I	GGWCC	
10 Sites			16 Sites	123	587
559	2093	2263	1019	1022	3078
2330	2604	2684	3422		
2717			3486	3606	3696
2768	2925	3889	3825	4026	4123
SacI	GAGCTC		4296		
2 Sites					
2953	4603				
SacII	CCCGCG				
5 Sites					
2282	3040	3754			
4282	4436				
Sall	GTCCAC				

Primer below can be used for Gag-M4.1 through 4.4 to generate XhoI site:

Gag-M2-4-fG/C: GGGCGCCTCGAGAGAAAATGGCGGCTCG

WLV001AM (vector sequence), hv10001

AAATGGGGCGCTGAGGTCTGCCTCGTGAAGAAGGTGTGCTGACTCATACCAGGCTGAATCG  
CCCCATCATCCAGCCAGAAAAGTGAGGGAGCCACGGTTGATGAGAGCTTTGTTGAGGTGGACCA

Mosaic and Group M Gag\_dmyr-patent.doc

## 【 2 2 - 4 3 】



GTGGTGATTTTGAACCTTTTGCTTTGCCACGGAACGGTCTGCGTGTGCGGAAGATGCGTGATC  
TGATCCCTCAACTCAGCAAAAGTTTCGATTTTATCAACAAAGCGCGCTCCCGTCAAGTCAGCGT  
AATGCTCTGCGCAGTGTACAAACCAATTAACCAATTTCTGCGTTCAAAATGGTATGCGTTTGACA  
CATCCACTATATATCCGTGTGCTTTCTGCTCACTCCTGAAATCCCAATCCAGAAATTTCTTAGCGA  
TTCCAGAAAGTTTCTCAGAGTCGGAAAGTTGACCAGACATACGAACTGGCAGAGATGGTCATAA  
CTGGAAGGAAGATCTGATTTGCTTAACTGCTTCAGTTAAGACCCGACGCGCTGCTGCTAATACAGA  
TGCATGATGACGACCAATCAACATGGCACCTGCCATTTGCTAGCTGACAGTCAAGGATGGTAG  
AATGTTGTGCGTCTTGCAACACGAATATTACGCCATTGCGCTGCATATTCAACACAGCTCTTCT  
ACGATAAGGGCAACAAATCGCATCTGGAACTTTGGGCTTCTACCGAATTAGCAGTTTGATACA  
CTTTCTCTAAGTATCCACCTGAATCATAAATCGGCAAAATAGAGAAAAATTTGACATGTTGAAG  
CGGCCAATCTGATTTCCACCTGAGATGCATATCTAGTAGAATCTCTTCGCTATCAAAATTCACT  
TCCACCTTCCACTCAGCGTGTGCTCATTCATGGCTGAACCTGCTCTCTGTGACATGACAC  
ACATCATCTCAATATCCGAATACGGAACCATCAGTCTGACGACCAAGAGAGCCATAAACACCAAT  
AGCCTTAACATCATCCCATATTTATCCCATATTCGTTCTCTAATTTCAATGAACAAATCTTCAAT  
CTTTCTTCTCTAGTCATATTTATTTGGTCCGTTTCAACACCCCTTGTATTTACTGTTTATGTAAG  
CAGACAGTTTTATTTGTTTCATGATATATTTTTATCTTGTGCAATGTAACATCAGAGATTTTG  
AGACACAACCTGGCTTTCCCGGGCCATGACCAAAATCCCTTAACGTGAGTTTCTGTTCCACTG  
AGCGTCAGACCCCGTAGAAAAGATCAAGAGATCTTTCTGAGATCCCTTTTTTCTGCGGTAAATC  
TGCTGCTTGCACAAACAAAAAACCCAGCTACCCAGCGGTGGTTGTTTCCCGGATCAAGAGCTAC  
CAACTCTTTTCCGAAGGTAACTGGCTTCAGCAGAGCGCAGATACCAAAATACTGTTCTTCTAGT  
GTAGCCGTAGTTAGGCCACCACTTCAAGAACTCTGTAGCAGCGCTACATACCTCGCTCTGCTA  
ATCTCTTTACCACTGGCTGCTGCGCAGTGGCGATAGTCTGTCTTACCGGTTTGACTCAAGAC  
GATAGTTACCGGATAAGGCGCAGCGGTGCGGCTGAACGGGGGGTCTGTCACACAGCCCAAGCTT  
GGAGCGAACGACCTACACCGAACTGAGATACCTACAGCGTGAGCTATGAGAAAGCGCCACGCTT  
CCCGAAGGGAGAAAGCGGACAGGTATCCGGTAAGCGGCGAGGTCCGAACAGGAGAGCGCAGCA  
GGGAGCTTCCAGGGGGAACCGCTGGTATCTTTATAGTCTGCTGCGGTTTCCGCACTCTGACT  
TGAGCGTCGATTTTGTGATGCTCGTCAGGGGGCGGAGCCTATGGAAAAACCGCAGCAACCGC  
GCCTTTTACGGTTCTGGCCTTTTGTGCGCTTTTGTCTCACTGTTCTTTCTGCTTATCCC  
CTGATTTCTGTTGATAACCGTATTACCGCTTTGAGTGAGCTGATACCGCTCGCCGACGGCCAAAC  
GACCGAGCGCAGCGAGTCAGTGAGCGAGGAAGCGGAAGAGCCGCTGATGCGGTATTTCTCTCTT  
ACGCATCTGTGCGGTATTTCAACCGCATATGGTGCACTCTCAGTACAATCTGCTCTGATGCCG  
CATAGTTAAGCCAGTATCTGCTCCCTGCTGTGTGTTGGAGGTGCTGAGTAGTGCGGAGCA  
AATTTAAGCTACAACAGGCAAGGCTTGACCGACAATTCATGAAGAATCTGCTTAGGGTTAGG  
CGTTTTTGCGCTGCTTCGCGATGTACGGGCCAGATATAGCGCGGCATCGATGATATCCATGCA  
TACGTTGATATCTATATCAATATGATCATTTATATTTGGCTCATGTCCAATATGACCGCATGT  
TGACATTGATTATGACTAGTTATTAATAGTAATCAATTACGGGGTCAATTAGTTTATAGCCCAT  
ATATGGAGTTCCGCGTTACATAACTTACGGTAATGGCGCCGCTGGCTGACCGCCCAACGACCC  
CGCCCATTTGACGTCAATATGACGTATGTTCCCATAGTAACGCCAATAGGGACTTTCCATGGA  
CGTCAATGGSTGGAGTATTACGATAAATGCCACTTGGCAGTACATCAAGTGTATCTATGTC  
CAAGTCCGCCCCCTATTGAGCTCAATGACGTAATGGCCGCGCTGGCATTATGCCGAGTACAT  
GACCTTACGGGACTTTTCTACTTGGCAGTACATCTACGTATTAGTATCGCTATTACCATGGTG  
ATGCGGTTTTGGCAGTACATCAATGGCGGTGATAGCGGTTTGAATCAGCGGGATTTCCAGTCT  
TCCACCCCAATTGACGTCAATGGGAGTTTGTGTTGGCAACAAATCAACGGGACTTTCCAAATG  
TGCAGAGCTCGTTTGTAGTGAACCGTCAGATCGCTGGAGACCCATCCACGCTGTTTGTGACTCC  
ATAGAGACACCGGGACCGATCCAGCTCTCGCGGGCGCGGCTGACGCGGCGGCAAACTTGG  
GCCCATCTGAGAGCGCGCGAGCTCGCTGATCAGCCTCGACTGTGCTCTTCTGCTTGGCAAGCA  
TCTGTTGTTTGGCCCCCTCCCGGCTCTCTTACCTGACCTGGAAGGTGCCACTCCCACTGCTCTT

Mosaic and Group M Gag\_dmyr-patent.doc

## 【 2 2 - 4 4 】

CCTAATAAAATGAGGAAATTCATCGCATTTGTCTGAGTAGGTGTCTATTCTATTTCTGGGGGTTGG  
GGTGGGCGAGGACAGCAAGGGGAGGATTGGGAAGACAATAGCAGGATGCTGGGGGAATTT

## 【 国際調査報告 】

<b>INTERNATIONAL SEARCH REPORT</b>		International application No. <b>PCT/US2009/004664</b>
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
<i>C07K 14/155(2006.01); C12N 15/49(2006.01); A61K 39/21(2006.01);</i>		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
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.		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
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.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "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) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "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 "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 "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 "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 05 APRIL 2010 (05.04.2010)		Date of mailing of the international search report <b>06 APRIL 2010 (06.04.2010)</b>
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	31.12.2009
		US 2009-0198042 A1	06.08.2009
		EP 1917040 A2	07.05.2008
		CA 2620874 AA	01.03.2007
		AU 2006-283101 AA	01.03.2007
WO 2007-047916 A2	26.04.2007	ZA 2008-04099 A	29.04.2009
		JP 2009-511640 T2	19.03.2009
		EP 1954309 A2	13.08.2008
		CN 11351223 A	21.01.2009
		CA 2626257 AA	26.04.2007
		AU 2006-304725 AA	26.04.2007
US 2006-0216305 A1	28.09.2006	WO 2004-085466 A2	07.10.2004
		EP 1608675 A2	28.12.2005
		CA 2519025 AA	07.10.2004
		AU 2004-223855 AA	07.10.2004
US 2006-0275897 A1	07.12.2006	ZA 2006-02858 A	28.05.2008
		WO 2006-020071 A2	23.02.2006
		WO 2005-034992 A2	21.04.2005
		JP 2008-508866 T2	27.03.2008
		EP 1675613 A2	05.07.2006
		CN 1913919 A	14.02.2007
		CA 2539068 AA	21.04.2005
		AU 2004-279362 AA	21.04.2005
US 2003-0194411 A1	16.10.2003	WO 92-17590 A1	15.10.1992
		JP 05-508165 T2	18.11.1993
		EP 0536352 A1	14.04.1993
		DE 69233271 C0	29.01.2004
		CA 2083949 AA	03.10.1992
		AT 0256745 E	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	19.08.1999
		WO 99-41383 A1	19.08.1999
		WO 99-41369 A2	19.08.1999
		WO 99-41368 A2	19.08.1999
		MX 0007893 A	23.10.2002
		JP 2002-503461 T2	05.02.2002
		EP 1053312 A2	22.11.2000
		CA 2320431 AA	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,I  
 S,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

(特許庁注：以下のものは登録商標)

1 . P E N T I U M

- (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 2 7 7 0 8 - 0 0 8 3 ダラム , ピー . オー . ボックス 9  
 0 0 8 3
- (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 3 5 2 9 4 - 0 1 0 7 , パーミンガム , サード・アベニュー・サウス  
 1 5 3 0
- (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 8 7 5 4 5 , ロスアラモス , ロスアラモス・ナショナル・ラボラ  
 トリー , エルシー / アイビー , 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 フィッシャー , ウィリアム  
 アメリカ合衆国ニューメキシコ州 8 7 5 4 5 , ロスアラモス , ロスアラモス・ナショナル・ラボラ  
 トリー , エルシー / アイビー , 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 0 2 2 1 5 , ボストン , ブルックリン・アベニュー 3 3 0 ,  
 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 リャオ , フア・シン  
 アメリカ合衆国ノース・カロライナ州 2 7 7 0 8 - 0 0 8 3 , ダーラム , ボックス 9 0 0 8 3 ,  
 デューク ユニバーシティ
- (72)発明者 ヘインズ , バートン・エフ  
 アメリカ合衆国ノース・カロライナ州 2 7 7 0 8 - 0 0 8 3 , ダーラム , ボックス 9 0 0 8 3 ,  
 デューク ユニバーシティ
- (72)発明者 ハーン , ペアトリス・エイチ  
 アメリカ合衆国アラバマ州 3 5 2 9 4 - 0 1 1 1 , パーミンガム , サード・アベニュー・サウス

1 5 3 0 , エイビー 1 1 2 0 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