(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2017년12월22일
(11) 등록번호 10-1811736
(24) 등록일자 2017년12월18일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
*C12N 15/867* (2006.01) *C07K 14/16* (2006.01)
(21) 출원번호 10-2014-7009812
(22) 출원일자(국제) 2012년09월25일
심사청구일자 2014년10월20일
(85) 번역문제출일자 2014년04월14일
(65) 공개번호 10-2014-0116053
(43) 공개일자 2014년10월01일
(86) 국제출원번호 PCT/IB2012/002363
(87) 국제공개번호 WO 2013/046034
국제공개일자 2013년04월04일
(30) 우선권주장
11306222 2011년09월26일 유럽특허청(EPO)(EP)
(56) 선행기술조사문헌
US20030044981 A1*
*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자
**뎨라벡띠스**
프랑스 에프-75015 파리 세덱스 15 뤼 뒤 닥터 루 28 바티먼트 파스퇴르 비오톱
**앵스티띠 파스퇴르**
프랑스공화국 파리 세덱스 15 에프-75724 뤼 드닥터르 루 25-28
(72) 발명자
**트랜, 티-란**
프랑스 78350 주이 엔 조사스 뤼 아나토레 프랑스 8
**샤르노, 피에르**
프랑스 75005 파리 비스 뤼 데 에콜르 6
**보슈, 세실**
프랑스 75013 파리 애비뉴 드 쇼아시 104
(74) 대리인
**박영우**

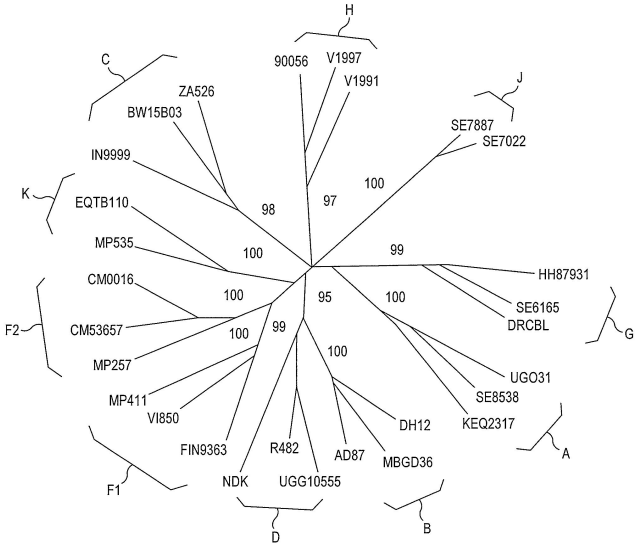
전체 청구항 수 : 총 15 항 심사관 : 이효진

(54) 발명의 명칭 **렌티바이러스 패키징을 위한 비-서브타입 B GAG 단백질의 용도**

## (57) 요 약

본 발명은 비-서브타입 B gag-pol 서열, 특히 서브타입 D gag-pol 서열을 포함하는 렌티바이러스 패키징 벡터를 포괄한다. 본 발명은 이러한 벡터들을 제조하고 사용하는 방법들을 포괄한다. 본 발명은 HIV-1 비-서브타입 B Gag 및/또는 Pol 단백질들을 포함하는 렌티바이러스 벡터 입자들을 포괄한다.

*대 표 도* - 도1



# 명 세 서

## 청구범위

### 청구항 1

Ψ사이트가 결여되며 HIV-1 NDK의 Gag-Pol 단백질을 인코딩하는 복제-결함 렌티바이러스 패키징 벡터.

### 청구항 2

삭제

### 청구항 3

제 1 항에 있어서, 상기 벡터는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 인코딩하는 것을 특징으로 하는 벡터.

### 청구항 4

제 1 항 또는 제 3 항에 있어서, 상기 벡터는 상기 HIV-1 NDK의 Gag-Pol 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 포함하는 플라스미드인 것을 특징으로 하는 벡터.

### 청구항 5

비-HIV 프로모터의 조절 하에서 HIV-1 NDK의 Gag-Pol 단백질을 인코딩하는 뉴클레오티드 서열을 플라스미드 내부로 삽입하여, Ψ사이트가 결여되며, 기능성 HIV-1 Env 단백질을 인코딩하지 않는 렌티바이러스 패키징 벡터를 생성하는 단계를 포함하는 패키징 벡터의 생성 방법.

### 청구항 6

삭제

### 청구항 7

제 5 항에 있어서, 상기 벡터는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 인코딩하는 것을 특징으로 하는 패키징 벡터의 생성 방법.

### 청구항 8

Ψ사이트가 결여되며, 기능성 HIV-1 Env 단백질을 인코딩하지 않고, HIV-1 NDK의 Gag-Pol 단백질을 인코딩하는 패키징 벡터를 렌티바이러스 벡터를 갖는 세포에 투여하는 단계를 포함하는 렌티바이러스 벡터 입자의 *인 비트로* 생성 방법.

### 청구항 9

제 8 항에 있어서, 상기 패키징 벡터 및 상기 렌티바이러스 벡터는 플라스미드인 것을 특징으로 하는 렌티바이러스 벡터 입자의 *인 비트로* 생성 방법.

### 청구항 10

제 8 항에 있어서, 상기 세포는 일시적으로 상기 HIV-1 NDK의 Gag 및 Pol 단백질들을 발현하는 것을 특징으로 하는 렌티바이러스 벡터 입자의 *인 비트로* 생성 방법.

### 청구항 11

제 8 항에 있어서, 상기 패키징 벡터는 상기 세포의 게놈 내부로 병합되는 것을 특징으로 하는 렌티바이러스 벡터 입자의 *인 비트로* 생성 방법.

### 청구항 12

삭제

**청구항 13**

제 8 항에 있어서, 상기 패키징 벡터는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 인코딩하는 것을 특징으로 하는 렌티바이러스 벡터 입자의 *인 비트로* 생성 방법.

**청구항 14**

제 8 항에 있어서, 서브타입 B HIV-1 Gag-Pol 단백질을 인코딩하는 동일한 패키징 벡터 보다 더 높은 역가의 상기 렌티바이러스 벡터를 패키징하는 패키징 벡터를 선택하는 단계를 더 포함하는 것을 특징으로 하는 렌티바이러스 벡터 입자의 *인 비트로* 생성 방법.

**청구항 15**

제 1 항 또는 제 3 항에 따른 벡터를 포함하는 분리된 세포.

**청구항 16**

제 15 항에 있어서, 상기 벡터는 상기 분리된 세포의 게놈 내부로 병합되는 것을 특징으로 하는 세포.

**청구항 17**

HIV-1 NDK의 Gag 및 Pol 단백질들 및 VSV Env 글리코단백질을 포함하는 렌티바이러스 벡터 입자.

**청구항 18**

삭제

**청구항 19**

제 17 항에 있어서, 상기 Gag 및 Pol 단백질들은 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 인코딩하는 핵산 서열을 발현함에 의해 생산되는 Gag 및 Pol 단백질들인 것을 특징으로 하는 렌티바이러스 벡터 입자.

**청구항 20**

삭제

## *발명의 설명*

### *기 술 분 야*

[0001] 본 발명은 렌티바이러스 패키징을 위한 비-서브타입 B GAG 단백질의 용도에 관한 것이다.

### *배 경 기 술*

[0002] 재조합 백신들은 재조합 DNA 기술의 진보에 따라 발전되어 왔으며, 이는 바이러스 게놈의 변형에 의해 변형 바이러스들의 생산을 가능케하였다. 이러한 방법에 의해, 유전 서열들을 비-병원성 바이러스 내부로 도입하여, 이들의 호스트 내에서 특정 면역 반응을 발생시키기 위해 이들이 면역 단백질을 인코딩하여 감염된 타겟(target) 세포들에서 발현하는 것이 가능해졌다.

[0003] 이러한 백신들은 백신 기술에 있어서 주요한 진보를 구성한다(Kutzler et al., *Nat Rev Genet*, 9(10) : 776-788, 2008). 특히, 이들은 생바이러스(약독화된)를 회피하고 불활성 백신들의 제조와 연관된 위험을 제거하는, 종래의 백신에 비해 이점을 갖는다.

[0004] 변형된(modified) 레트로바이러스(레트로바이러스 벡터)를 사용한 유전자 전달은 1980년대 초 Mann et al.(*Cell*, 33(1):153-9, 1983)에 의해 소개되었다. 가장 흔하게 사용되는 종양원성(oncogenic) 레트로바이러스 벡터들은 몰로니 설치류 백혈병 바이러스(Moloney murine leukemia virus: MLV)에 기반한다. 이들은 폴리단백질 Gag, Pol 및 Env가 형성되는 단순한 게놈을 가지며 바이러스 복제를 위해 트랜스 형태로 요구된다(Breckpot et al., 2007, *Gene Ther*, 14(11):847-62; He et al. 2007, *Expert Rev vaccines*, 6(6):913-24). 일반적으로 시스 형태로 요구되는 서열들은 긴 말단 반복순서(long terminal repeats: LTRs) 및 이들의 인접부이다: 병합을

위해 요구되는 역반복 순서(inverted repeats(IR) 또는 att 사이트들), 패키징 서열 Ψ, 수송 RNA-바인딩(transport RNA-binding) 사이트(프라이머 바인딩 사이트: PBS), 및 역전사와 연관된 일부 추가적 서열들(플러스 가닥 개시에 필요한 LTRs 내 반복순서 R, 및 폴리퓨린관(polypurine tracts, PPT)). 복제-결함 레트로바이러스 벡터들을 발생시키기 위해 *gag*, *pol*, 및 *env* 유전자들이 일반적으로 전체적으로 결실되며 발현 카세트로 치환된다.

[0005] 렌티바이러스(lentivirus) 게놈(즉, 렌티바이러스 벡터)으로부터 유래된 레트로바이러스 벡터들은 다른 바이러스 시스템들에 비해 일부 이점들을 보유하므로, 유전자 치료 및 면역치료 목적을 위한 각광받는 도구로 출현하였다. 특히, 렌티바이러스 벡터들은 다른 레트로바이러스들과 달리 그 자체로 비독성이며, 특히 수지상 세포들에 있어서 비-분할 세포들을 형질도입할 수 있으며(He et al. 2007, *Expert Rev vaccines*, 6(6):913-24), 내생경로를 통해 항원표출이 가능하다.

[0006] 렌티바이러스들은 레트로바이러스과 패밀리(Retroviridae family)의 느린 바이러스들의 속에 해당하며, 이는 인간 면역결핍 바이러스(human immunodeficiency viruses: HIV), 원숭이 면역결핍 버이러스(simian immunodeficiency virus: SIV), 말 전염 뇌염 바이러스(equine infectious encephalitis virus: EIAV), 염소 관절염 뇌염 바이러스(caprine arthritis encephalitis virus: CAEV), 소 면역결핍 바이러스(bovine immunodeficiency virus: BIV) 및 고양이 면역결핍 바이러스(feline immunodeficiency virus: FIV)를 포함한다. 렌티바이러스는 이들의 호스트에서 영구적으로 존속할 수 있으며, 일생의 감염과정 동안 다양한 속도로 지속적으로 복제할 수 있다. 호스트 내에서의 상기 바이러스의 지속적 복제는 호스트 방어를 회피하는 이들의 능력에 의존한다.

[0007] 재조합 렌티바이러스 벡터의 디자인은 렌티바이러스의 *시스*- 및 *트랜스*-작용 서열들의 분리에 기반한다. 비-분할 세포들의 효율적인 통합 및 복제는 렌티바이러스 게놈에서의 2개의 *시스*-작용 서열들, 중앙 폴리퓨린관(cPPT) 및 중앙 말단 서열(central terminal sequence: CTS)의 존재를 요구한다. 이들은 중앙 DNA "플랩(flap)"으로 불리는 3중-가닥 DNA 구조의 형성을 유도하며, 이는 수지상 세포들(dendritic cells: DCs)을 포함하는 비-분할 세포들의 핵 내부로 유전자 수송의 효율을 극대화시킨다(Zennou *et al.*, 2000, Cell, 101(2) 173-85; Arhel *et al.*, 2007, *EMBO J*, 26(12):3025-37).

[0008] HIV-1 렌티바이러스 벡터들은 패키징 구조체로부터 *인 트랜스(in trans)* 벡터들을 패키징하기 위한 서브타입 B Gag, Pol, Tat 및 Rev 단백질들의 제공에 기반하여 발생되어왔다(Naldini *et al*, PNAS 15: 11382-8 (1996); Zufferey *et al*, Nature Biotechnology 15:871-875, (1997); Dull *et al*, Journal of Virology (1997)). 이러한 연구들은 서브타입 B Gag 및 Pol 단백질들로 수행되었다. HIV-1 패키징 구조체 내의 비-서브타입 B *gag* 및 *pol* 서열들의 효과는 평가되지 않았다.

[0009] 서브타입 B외에 HIV-1의 다양한 서브타입들이 존재한다. C, E 및 A와 같은 일부 HIV-1의 서브타입들은 미국 및 유럽에서의 주된 서브타입인 HIV-1 서브타입 B보다 효율적으로 전달되는 것으로 보여진다(Essex et al., Adv Virus Res. 1999; 53:71-88). 선진 서방국에서 발견되는 우세한 HIV-1 서브타입인, 클레이드(clade) B는 대부분의 HIV-감염자들의 거주지인 아프리카 및 아시아에 존재하는 서브타입들 및 재조합들과 상당히 상이하다(Spira et al., J. Antimicrobial Chemotherapy (2003) 51, 229-240.). 따라서, 북아메리카 및 유럽에서 발견되는 서브타입 B 레트로바이러스, 및 전세계 스케일에서 인간을 감염시키는 바이러스 서브타입들 사이의 심각한 불일치가 존재할 수 있다. 마찬가지로, 서브타입의 다양성은 HIV 전염 모드에 영향을 미칠 수 있다. 동성애 및 비경구 약물 남용이 유럽 및 아메리카에서 클레이드 B 균주에 대해 관찰되는 전염의 주된 모드이다. 반면, 양성간 전염이 우세한 아프리카 및 아시아에서는 클레이드 A, C, D 및 E가 지배적이다. 추가적으로, 일부 연구들은 AIDS의 진행이 전염 서브타입의 기능에 따라 달라진다고 제안하고 있다. 따라서, HIV-1 서브타입 B는 다른 HIV-1 서브타입들과 매우 상이하다.

[0010] HIV의 계통적 분류는 통상적으로 동일한 분리물의 다중 서브 게놈 영역들(gag, pol 및 env)로부터 유래한 뉴클레오티드 서열들 또는 전체길이(full-length)의 게놈 서열 분석에 기반한다. HIV-1 전체길이에 근접한 서열의 계통 분석에 따르면, HIV-1 서브타입 B는 HIV 서브타입 D와 유전적으로 가장 밀접하게 연관되었다(도 1 참조). HIV-1 Gag 및 Pol 단백질 서열들의 계통 분석 또한 HIV-1 서브타입 B가 HIV 서브타입 D와 유전적으로 가장 밀접하게 연관되었음을 보여주었다(도 2 참조).

[0011] 그러나, HIV-1-NDK, 서브타입 D 바이러스는 HIV-1-BRU 프로토타입, 서브타입 B 바이러스보다 CD4+ 림프구에 대해 상당히 세포변형성을 갖는다. 이는 서브타입 D 바이러스의 강화된 융합생성 및 전염성이 기인할 수 있다(De Mareuil et al., J. Virol. 66: 6797 (1992)). 재조합 바이러스의 표현형 분석은 HIV-1-NDK 외피 글리코단백질

(envelope glycoprotein)과 함께, HIV-1-NDK 매트릭스(MA) 단백질의 N-말단 부분으로부터의 75개의 아미노산들이 CD4+ 림프구에서의 HIV-1-NDK의 강화된 융합생성 뿐만 아니라 일부 CD4-세포주들에서의 HIV-1-NDK의 강화된 전염성을 유발함을 보여주었다.

## *발명의 내용*

### *해결하려는 과제*

[0012] 본 기술분야에서, 주사 부피를 줄이고, 투약량을 증가시키고, 백신 비용을 감소시키고, 일 배치(batch)로 치료될 수 있는 환자수를 증가시키기 위해 패키지된 렌티바이러스 벡터의 높은 역가(titer)를 제공하는 렌티바이러스 패키징 구조체(packaging construct)의 요구가 상존한다.

### *과제의 해결 수단*

[0013] 렌티바이러스 패키징 플라스미드(구조체 p8.74) 내의 HIV-1 서브타입 B의 *gag-pol* 유전자는 서브타입 D HIV-1의 *gag-pol* 유전자에 의해 치환되어 구조체 pThV-GP-N을 생성하였다. 상기 구조체는 렌티바이러스 벡터 생성을 위해 사용되었다. 구조체 p8.74에 비해 pThV-GP-N 플라스미드를 사용하여 대략 2배 높은 역가가 수득되었다. 따라서, 서브타입 D 바이러스의 *Gag-Pol*은 서브타입 B 바이러스의 *Gag-Pol* 보다 상대적으로 렌티바이러스 벡터 입자들의 역가를 증가시킨다.

[0014] 본 발명은 특히, HIV-1 NDK로부터의 서브타입 D *gag-pol* 서열을 포함하는 렌티바이러스 패키징 벡터를 포괄한다. 바람직한 실시예에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 벡터는 SEQ ID NO:1의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 바람직한 실시예에 있어서, 상기 렌티바이러스 페키징 벡터는 SEQ ID NO:2의 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0015] SEQ ID NO:1의 뉴클레오티드 서열은 다음과 같다.

atgggtgcgagagcgtcagtattaagcgggggaaaattagatacatgggaaagaattcggttacggccaggaggaaa

gaaaaaatatgcactaaaacatttgatatgggcaagcagggagctagaacgatttacacttaatcctggccttttag

agacatcagaaggctgtaaacaaataataggacagctacaaccatctattcaaacaggatcagaagaaattagatca

ttatataatacagtagcaaccctctattgtgtacatgaaaggatagaggtaaaagacaccaaagaagctgtagaaaa

gatggaggaagaacaaaacaaaagtaagaaaaagacacagcaagcagcagctgatagcagccaggtcagccaaaatt

accctatagtgcagaacctacaggggcaaatggtacatcaggccatatcacctagaactttgaacgcatgggtaaaa

gtaatagaagaaaaggccttcagcccggaagtaatacccatgttttcagcattatcagaaggagccaccccacaaga

tttaaacaccatgctaaacacagtgggggacatcaagcagctatgcaaatgctaaaagagaccatcaatgacgaag

ctgcagaatgggacagattacatccagtgcatgcagggcctgttgcaccaggccaaatgagagaaccaaggggaagt

gatatagcaggaactactagtacccttcaggaacaaatagcatggatgacaagcaacccacctatcccagtaggaga

aatctataaaagatggataatcctgggattaaataaaatagtaagaatgtatagccctgtcagcattttggacataa

gacagggaccaaaggaacctttagagactatgtagaccggttctataaaactctaagagccgagcaagcttcacag

gatgtaaaaaactggatgacagaaaccttgttggtccaaaatgcaaacccagattgtaaaactatcttaaaagcatt

gggaccacaggctacactagaagaaatgatgacagcatgccagggagtgggggggcccggccataaagcaagagttt

tggctgaggcaatgagccaagtaacaggttcagctactgcagtaatgatgcagagaggcaattttaagggcccaaga

aaaagtattaagtgtttcaactgtggcaaggaagggcacacagcaaaaaattgcagggcccctagaaaaaagggctg

ttggaaatgcggaagggaaggacaccaaatgaaagattgcactgaaagacaggctaatttttttagggaagatttggc

cttcccacaagggaaggccggggaattttcttcagagcagaccagagccaacagccccaccagcagagagcttcggg

tttggggaggagataacccccctctcagaaacaggagcagaaagacaaggaactgtatcctttagcttccctcaaatc

[0016] actctttggcaacgacccctcgtcacaataaagatagggggacagctaaaggaagctctattagatacaggagcaga

[0017]

tgatacagtattagaagaaataaatttgccaggaaaatggaagccaaaaatgatagggggaattggaggttttatca

aagtaagacagtatgatcaaatactcatagaaatctgtggatataaagctatgggtacagtattagtaggacctaca

cctgtcaacataattggaagaaatttgttgacccagattggctgcactttaaattttccaattagtcctattgaaac

tgtaccagtaaaattaaagccaggaatggatggcccaaaagttaaacaatggccattgacgaagaaaaaataaaagc

attaacagaaatttgtacagaaatggaaaaggaaggaaaaatttcaagaattgggcctgaaaatccatataatactc

caatatttgccataaagaaaaaagacagtaccaagtggagaaaattagtagatttcagagaacttaataagagaact

caagatttctgggaggttcaattaggaataccgcatcctgcagggctgaaaaagaaaaaatcagtaacagtactgga

tgtgggtgatgcatatttctcagttcccttagatgaagattttaggaaatataccgcatttaccatacctagtataa

acaatgagacaccagggattagatatcagtacaatgtgctcccacagggatggaaaggatcaccggcaatattccaa

agtagcatgacaaaaatcttagagccctttagaaaacaaaatccagaaatagttatctatcaatacatggatgattt

gtatgtaggatctgacttagaaatagggcagcatagaacaaaaatagaggaattaagagaacatctattgaggtggg

gatttaccacaccagataaaaaacatcagaaagaacctccatttctttggatgggttatgaactccatcctgataaa

tggacagtacagcctataaacctgccagaaaaagaaagctggactgtcaatgatatacagaagttagtggggaaatt

aaactgggcaagccagatttatgcaggaattaaagtaaagcaattatgtaaactccttaggggaaccaaagcactaa

cagaagtagtaccactaacagaagaagcagaattagaactggcagaaaacagggaaattctaaaagaaccagtacat

ggagtgtattatgacccatcaaaagacttaatagcagaactacagaaacaaggggacggccaatggacataccaaat

ttatcaagaaccatttaaaaatctaaaaacaggaaagtatgcaagaacgaggggtgcccacactaatgatgtaaaac

aattaacagaggcagtgcaaaaaatagccacagaaagcatagtgatatggggaaagactcctaaatttaaactaccc

atacaaaaggaaacatgggaaacatggtggatagagtattggcaagccacctggattcctgagtgggaatttgtcaa

taccctcctttagtaaaattatggtaccagttagagaaggaacccataataggagcagaaactttctatgtagatg

gggcagctaatagagagactaaattaggaaaagcaggatatgttactgacagaggaagacagaaagttgtccctttc

actgacacgacaaatcagaagactgagttacaagcaattaatctagctttacaggattcgggattagaagtaaacat

agtaacagattcacaatatgcactaggaatcattcaagcacaaccagataagagtgaatcagagttagtcagtcaaa

taatagagcagctaataaaaaaggaaaaggtttacctggcatgggtaccagcacacaaaggaattggaggaaatgaa

caagtagataaattagtcagtcagggaatcaggaaagtactatttttggatggaatagataaggctcaggaagaaca

tgagaaatatcacaacaattggagagcaatggctagtgattttaacctaccacctgtggtagcgaaagaaatagtag

ctagctgtgataaatgtcagctaaaaggagaagccatgcatggacaagtagactgtagtccaggaatatggcaatta

gattgtacacatctggaaggaaaagttatcctggtagcagttcatgtagccagtggctatatagaagcagaagttat

tccagcagaaacggggcaagaaacagcatactttctcttaaaattagcaggaagatggccagtaaaagtagtacata

cagataatggcagcaatttcaccagtgctacagttaaggccgcctgttggtgggcagggatcaaacaggaatttgga

attccctacaatccccaaagtcaaggagtagtagaatctatgaataaagaattaaagaaaattataggacaggtaag

agatcaagctgaacatcttaagacagcagtacaaatggcagtatttatccacaattttaaaagaaaaggggggattg

ggggatacagtgcaggggaaagaataatagacataatagcaacagacatacaaactagagaattacaaaaacaaatc

ataaaaattcaaaattttcgggtttattacagggacagcagagatccaatttggaaaggaccagcaaagcttctctg

gaaaggtgaaggggcagtagtaatacaagacaatagtgacataaaggtagtaccaagaagaaaagtaaagatcatta

gggattatggaaaacagatggcaggtgatgattgtgtggcaagtagacaggatgaggattaac (SEQ ID NO

1).

[0018]

[0019] SEQ ID NO 2의 아미노산 서열은 다음과 같다.

MGARASVLSGGKLDAWERIRLRPGGKKKYALKHLIWASRELERIALNPGLLETSEGCKQIIGQLQPSIQTGSEELRS

LYNTIATLYCVHERIEVKDTKEAVEKMEEEQNKSKKKTQQAAADSSQVSQNYPIVQNLQGQMVHQAISPRTLNAWVK

VIEEKAFSPEVIPMFSALSEGATPQDLNTMLNTVGGHQAAMQMLKETINDEAAEWDRLHPVHAGPVAPGQMREPRGS

DIAGTTSTLQEQIAWMTSNPPIPVGEIYKRWIILGLNKIVRMYSPVSILDIRQGPKEPFRDYVDRFYKTLRAEQASQ

DVKNWMTETLLVQNANPDCKTILKALGPQATLEEMMTACQGVGGPGHKARVLAEAMSQVTGSVTAVMMQRGNFKGPR

KSIKCFNCGKEGHTAKNCRAPRKKGCWKCGREGHQMKDCSERQANFLGKIWPSHKGRPGNFLQSRPEPTAPPAESFG

FGEEITPSQKQEQKDKELYPLASLKSLFGNDPSSQFFREDLAFPQGKAGEFSSEQTRANSPTSRELRVWGGDNPLSE

TGAEGQGTVSFSFPQITLWQRPLVTIKIGGQLKEALLDTGADDTVLEEMNLPGKWKPKMIGGIGGFIKVRQYDQILI

EICGYKAMGTVLVGPTPVNIIGRNLLTQIGCTLNFPISPIETVPVKLKPGMDGPKVKQWPLTEEKIKALTEICTEME

KEGKISRIGPENPYNTPIFAIKKKDSTKWRKLVDFRELNKRTQDFWEVQLGIPHPAGLKKKKSVTVLDVGDAYFSVP

LDEDFRKYTAFTIPSINNETPGIRYQYNVLPQGWKGSPAIFQSSMTKILEPFRKQNPEIVIYQYMDDLYVGSDLEIG

QHRTKIEELREHLLRWGFTTPDKKHQKEPPFLWMGYELHPDKWTVQPIKLPEKESWTVNDIQKLVGKLNWASQIYAG

IKVKQLCKLLRGTKALTEVVPLTEEAELELAENREILKEPVHGVYYDPSKDLIAELQKQGDGQWTYQIYQEPFKNLK

TGKYARTRGAHTNDVKQLTEAVQKIATESIVIWGKTPKFKLPIQKETWETWWIEYWQATWIPEWEFVNTPPLVKLWY

QLEKEPIIGAETFYVDGAANRETKLGKAGYVTDRGRQKVVPFTDTTNQKTELQAINLALQDSGLEVNIVTDSQYALG

IIQAQPDKSESELVSQIIEQLIKKEKVYLAWVPAHKGIGGNEQVDKLVSQGIRKVLFLDGIDKAQEEHEKYHNNWRA

MASDFNLPPVVAKEIVASCDKCQLKGEAMHGQVDCSPGIWQLDCTHLEGKVILVAVHVASGYIEAEVIPAETGQETA

YFLLKLAGRWPVKVVHTDNGSNFTSATVKAACWWAGIKQEFGIPYNPQSQGVVESMNKELKKIIGQVRDQAEHLKTA

VQMAVFIHNFKRKGGIGGYSAGERIIDIIATDIQTRELQKQIIKIQNFRVYYRDSRDPIWKGPAKLLWKGEGAVVIQ

DNSDIKVVPRRKVKIIRDYGKQMAGDDCVASRQDED (SEQ ID NO:2).

[0020]

[0021] 본 발명은 특히, HIV-1 NDK로부터의 서브타입 D MA 서열을 포함하는 렌티바이러스 패키징 벡터를 포괄한다. 바람직한 실시예에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 벡터는 SEQ ID NO:3의 아미노산 서열을 포함하는 MA 단백질을 인코딩한다.

[0022] SEQ ID NO:3의 아미노산 서열은 다음과 같다.

MGARASVLSGGKLDTWERIRLRPGGKKKYALKHLIWASRELERFTLNPGLLETSEGCKQIIGQLQPSIQTGSEEIRS

LYNTVATLYCVHERIEVKDTKEAVEKMEEEQNKSKKKTQQAAADSSQVSQNY (SEQ ID NO 3).

[0023]

[0024] 바람직하게는, 예를 들면, p8.74와 같이 HIV-1 BRU의 HIV Gag MA 단백질을 인코딩하는 렌티바이러스 패키징 벡터와 비교할 때, HIV Gag MA 단백질을 인코딩하는 상기 렌티바이러스 패키징 벡터는 패키지된 렌티바이러스 벡터의 역가에 있어서, 적어도 1.5 배 혹은 적어도 2 배의 증가를 발생시킨다. 바람직하게는, 상기 렌티바이러스 패키징 벡터는 복제-결함 및 Ψ 사이트가 결여된다.

[0025] 바람직한 실시예에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 벡터는 글루탐산(glutamic acid)이 아닌 12 위치의 아미노산 및 아르기닌(arginine)이 아닌 15 위치의 아미노산을 갖는 HIV Gag MA 단백질을 인코딩한다. 바람직하게는, 상기 렌티바이러스 패키징 벡터는 46 위치에 발린(valine) 및 61 위치의 루신(leucine)을 모두 갖지 않는다.

[0026] 바람직한 실시예에 있어서, MA 단백질의 12 위치의 아미노산은 리신(lysine)이다. 바람직한 실시예에 있어서, 15 위치의 아미노산은 트레오닌(threonine)이다. 바람직한 실시예에 있어서, 15 위치의 아미노산은 알라닌(alanine)이다. 바람직한 실시예에 있어서, 46 위치의 아미노산은 루신이다. 바람직한 실시예에 있어서, 61 위치의 아미노산은 이소루신이다. 바람직한 실시예에 있어서, 61 위치의 아미노산은 메티오닌(methionine)이다.

[0027] 일 실시예에 있어서, 상기 벡터는 기능성 Env 단백질을 인코딩하지 않는다.

[0028] 본 발명은 또한 상술한 렌티바이러스 패키징 벡터들을 제조하는 방법 및 상기 렌티바이러스 패키징 벡터들을 사용하는 방법들을 포괄한다.

## 도면의 간단한 설명

[0029] 본 발명은 첨부한 도면들을 통해 보다 충분히 이해될 수 있을 것이다.

도 1은 HIV 바이러스의 계통도를 도시하고 있다.

도 2a 및 도 2b는 각각 HIV GAG 및 HIV POL 단백질의 계통도를 도시하고 있다.

GAG 및 POL 단백질의 서열들은 http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/NEWALIGN/align.html로부터 수득되었다. 공지된 각 HIV 클레이드에 대해, 1명의 환자(클레이드 B) 또는 2명의 환자들의 바이러스 서열들이 랜덤하게 선택되었고, GAG 및 POL 단백질 서열들이 참조 클레이드 B 단백질(B.FR.83.HXB2_LAI_IIIB_BRU.KO3455)과 비교되었다. Vector NTI advance 11(Invitrogen)을 사용하여 정렬을 수행하였다.

도 3은 벡터 생성을 위해 p8.74 및 the pThV-GP-N 플라스미드를 사용하여 수득된 역가(titre)들을 도시하고 있다. 렌티바이러스 입자들은 프로바이러스(proviral) 플라스미드(pFLAP-CMV-GFP), 위형(pseudotyping) 플라스미드(pTHV-VSV.G), 및 상용되는 패키징 플라스미드(BRU 균주로부터 유래된, p8.74) 혹은 NDK-유래 패키징 플라스미드(pTHV-GP-N) 중 어느 하나를 사용하여 생성되었다. 각 패키징 플라스미드를 사용하여, 18개의 독립적 트랜스펙션들(transfections)이 수행되었으며 입자 역가들이 FACS 분석을 통해 측정되었다. 또한, 유사한 결과들이 HIV 항원 발현을 유도하는 β2 마이크로글로불린 프로모터를 함유한 프로바이러스 플라스미드를 채용한 벡터를 사용하여 수득되었다.

도 4a 및 도 4b는 야생형 BRU 및 NDK 바이러스들의 생산 및 이들 각각의 초기 상(phase) 효율의 평가를 도시하고 있다. 293T 세포들이 야생형 BRU(pBRU) 또는 NDK(pNDK-N) 바이러스 인코딩을 위한 플라스미드를 사용하여 도입되었다. 바이러스 상청액(supernatant)이 48시간 후에 수집되었고, 희석되어 P4-CCR5 세포들(HIV LTR에 의해 발현이 유도되는 안정한 루시퍼라아제(luciferase) 리포팅 유전자를 포괄)을 감염시켜 TAT 단백질(바이러스에 의해 발생)의 존재 하에 루시퍼라아제가 생성되었다. BRU 또는 NDK 바이러스의 일련의 희석물들이 P4-CCR5 세포를 감염시키는데 사용되었으며, 루시퍼라아제 발현(도 4a) 또는 루시퍼라아제/P24 비율(도 4b)이 측정되었다.

도 5는 패키징 플라스미드로부터 유래된 BRU(p8,74) 및 NDK(pThV GP-N)의 상이한 비율을 사용한 벡터 생산을 도시하고 있다. 각 조건들(0㎍ NDK + 10㎍ BRU에서부터 10㎍ NDK + 0㎍ BRU 까지)에 대해, 역가(회색 막대) 및 P24 레벨(검은색 사각형)이 측정되었다.

도 6은 패키징 플라스미드로부터 유래된 BRU(8,74) 또는 NDK(pThVGP-N)을 사용하여 생산된 벡터 상청액의 웨스턴 블롯(Western blot)을 도시하고 있다. P24 단백질 및 전구체 검출이 NIH 항-P24 MAB(183-H12-5C)을 사용하여 수행되었다.

도 7은 클레이드 B 바이러스(BRU; SEQ ID NO:3)의 N-말단 MA 서열들의 클레이드 D 바이러스(NDK; SEQ ID NO:4)와의 서열 정렬을 도시하고 있다.

도 8은 클레이드 B 바이러스의 N-말단 MA 서열들의 서열 정렬을 도시하고 있다.

도 9는 클레이드 D 바이러스의 N-말단 MA 서열들의 서열 정렬을 도시하고 있다.

도 10은 클레이드 B 바이러스(BRU)의 N-말단 MA 서열들의 다른 클레이드 바이러스들과의 서열 정렬을 도시하고 있다.

## 발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0030] 서브타입 B HIV-1 바이러스들은 전달 효율성이 떨어지고, 상이한 전달 모드를 갖는다는 점에서 다른 HIV-1 서브타입들과 다르다. 그러나, 서브타입 B 바이러스는 HIV-1 렌티바이러스 벡터 및 렌티바이러스 패키징 벡터들의

생성에 광범위하게 사용되어왔다. 비-서브타입 B 바이러스의 Gag 및 Pol 단백질들이 렌티바이러스 패키징 벡터(구조체 p8.74) 생성에 사용될 수 있는지 결정하기 위해, 렌티바이러스 패키징 플라스미드(구조체 p8.74) 내의 HIV-1 서브타입 B의 *gag-pol* 유전자가 서브타입 D HIV-1의 *gag-pol* 유전자로 치환되어 구조체 pThV-GP-N을 생성하였다. 상기 구조체는 렌티바이러스 벡터 생산에 사용되었다. 약 2배 높은 역가들이 구조체 p8.74와 비교하여 pThV-GP-N 플라스미드를 사용하여 수득되었다(도 3 참조). 따라서, 패키징 벡터 내의 서브타입 D HIV-1 Gag-Pol은 서브타입 B HIV-1 Gag-Pol로 관찰되는 역가를 초과하여, 렌티바이러스 벡터 역가를 증가시켰다.

[0031] 렌티바이러스 벡터의 증가된 역가는 렌티바이러스 벡터의 주어진 도오즈(dose) 내의 오염물들의 감소를 가능케 하는 점에서 유리하다. 이는 주사 볼륨의 감소 및 가능한 도오즈량의 증가를 촉진할 수 있다. 또한, 특정 도오즈를 획득하기 위한 물질 및 노동의 양을 감소시킴으로써, 그리고 렌티바이러스 벡터의 싱글 배치로 치료될 수 있는 환자의 수를 증가시킴으로써 백신 비용 감소를 촉진할 수 있다.

[0032] HIV-1 BRU 및 HIV-1 NDK 바이러스의 연속적 희석은 HIV-1 NDK 바이러스가 바이러스 생명 주기의 초기 상에 있어서 보다 효율적임을 제시하였다(도 4 참조). 서브타입 B 및 서브타입 D 패키징 벡터들의 서로 다른 양을 혼합함으로써, 서브타입 D 패키징 벡터가 렌티바이러스 벡터 제조물 내의 p24의 역가 및 레벨을 상승시키는 것으로 밝혀졌다(도 5 참조). 서브타입 D 패키징 벡터를 사용한 렌티바이러스 벡터 제조물 내의 p24는 또한 보다 완전하지 않게 가공되며 p24 전구체의 보다 높은 레벨을 보이는 것으로 관찰되었다(도 6 참조). 따라서, 서브타입 D 패키징 벡터 내의 Gag 단백질은 서브타입 B 패키징 벡터와는 다른 다양한 특성을 보였다.

[0033] HIV-1 Env와 함께, HIV-1-NDK 매트릭스(MA) 단백질의 N-말단 부분으로부터의 75개의 아미노산들은 CD4+ 림프구들 내의 HIV-1-NDK의 강화된 융합생성 뿐만 아니라 일부 CD4- 세포주들에서의 HIV-1-NDK의 강화된 전염성에 관여된다(De Mareuil et al., J. Virol. 66: 6797 (1992)). 서브타입 B 및 서브타입 D 패키징 벡터들과 함께 렌티바이러스 벡터들의 생성에 사용되는 Env 단백질은 동일하므로(즉, VSV), HIV-1 MA에서의 유일한 차이점들은 서브타입 B 및 서브타입 D 패키징 벡터들에 존재한다.

[0034] HIV-1 바이러스들의 다양한 클레이드들로부터의 M의 N-말단 75 아미노산들 내의 아미노산의 보존 및 분화에 대해 시험하였다. HIV-1-NDK는 HIV-1 BRU와 아미노산에 있어서 10개의 차이점을 보였다(도 7 참조). 그러나, 이러한 차이점들 중 단지 8개는 HIV-1 NDK가 20개의 상이한 HIV-1 서브타입 B 바이러스들의 조합과 비교될 때 관찰되었다(도 8 참조). 다른 서브타입 D 바이러스들이 비교대상에 포함될 때, 이러한 차이점들 중 단지 4개가 남았다(도 9 참조). 이러한 차이점들은 서브타입 D 바이러스들에서 아미노산 12 위치에서의 글루탐산의 부존재, 아미노산 15 위치에서의 아르기닌의 부존재, 아미노산 46 위치에서의 발린의 부존재 및 아미노산 61 위치에서의 루신의 부존재이다.

[0035] 다른 서브타입 바이러스들이 비교에 포함되었을 때, 상기 다른 서브타입들은 이러한 거의 모든 차이점들을 보존하며, 서브타입 D와 정렬되는 것으로 관찰되었다(도 10 참조). 거의 모든 비-서브타입 B 바이러스들은 12 위치에서 리신을 보유하였다. 많은 비-서브타입 B 바이러스들은 15 위치에서 알라닌을 보유하였다. 거의 모든 비-서브타입 B 바이러스들은 46 위치에서 루신을 보유하였다. 거의 모든 비-서브타입 B 바이러스들은 61 위치에서 메티오닌 또는 이소루신을 보유하였다. 비-서브타입 B 바이러스들은 공통으로 12 위치에서 리신, 15 위치에서 아르기닌 외의 아미노산, 46 위치에서 루신, 및 61 위치에서 이소루신 혹은 메티오닌을 보유하였다.

[0036] 본 발명은 비-서브타입 B Gag 및/또는 Pol 단백질들을 인코딩하는 패키징 벡터들 및 이러한 벡터들을 포함하는 호스트 세포들을 포괄한다. 또한, 본 발명은 비-서브타입 B Gag 및/또는 Pol 단백질들을 인코딩하는 패키징 벡터를 제조하는 방법을 포괄한다. 또한, 본 발명은 이러한 패키징 벡터들을 활용하여 렌티바이러스 벡터들을 생성하는 방법 및 비-서브타입 B Gag 및/또는 Pol 단백질들을 포함하는 렌티바이러스 벡터들을 포괄한다.

[0037] **패키징 벡터(Packaging Vectors)**

[0038] 본 발명은 비-서브타입 B Gag 및/또는 Pol 단백질들을 인코딩하는 패키징 벡터들을 포괄한다. 본 출원에서, 렌티바이러스 "패키징 벡터"는 기능성 HIV-1 Env를 인코딩하지 않고 Ψ 사이트가 없지만, 패키징을 위한 적절한 렌티바이러스 시스-작용 신호를 함유하는 벡터와 동시주입(cotransfected) 되었을 때 바이러스 입자들과 병합될 수 있는 렌티바이러스 Gag 및/또는 Pol 단백질들을 발현할 수 있는 핵산 서열로 정의된다. 본 발명의 렌티바이러스 패키징 벡터는 자체 패키징에 의한 복제 및 자체 서열의 역전사가 불가능하다.

[0039] 상기 패키징 벡터는 RNA 또는 DNA 벡터일 수 있다. 비-서브타입 B Gag 및 Pol 단백질들은 서브타입 A, 서브타입 C, 서브타입 D, 서브타입 E, 서브타입 F1, 서브타입 F2, 서브타입 G, 서브타입 H 및 서브타입 J 단백질들 및 이

들의 재조합물로부터 선택될 수 있다. 바람직한 패키징 벡터는 SEQ ID NO:1을 포함하거나 SEQ ID NO:2를 인코딩한다.

[0040] 본 발명은 비-서브타입 B Gag 단백질들을 인코딩하는 패키징 벡터들 및 상기 벡터들을 포함하는 호스트 세포들을 포괄한다. 상기 비-서브타입 B Gag 단백질들은 서브타입 A, 서브타입 C, 서브타입 D, 서브타입 E, 서브타입 F1, 서브타입 F2, 서브타입 G, 서브타입 H 및 서브타입 J 단백질들 및 이들의 재조합물로부터 선택될 수 있다. 바람직한 패키징 벡터는 SEQ ID NO:2의 Gag 단백질 부분을 인코딩한다.

[0041] 본 발명은 비-서브타입 B MA 단백질들을 인코딩하는 패키징 벡터들 및 이들 벡터를 포함하는 호스트 세포들을 포괄한다. 상기 비-서브타입 B MA 단백질들은 서브타입 A, 서브타입 C, 서브타입 D, 서브타입 E, 서브타입 F1, 서브타입 F2, 서브타입 G, 서브타입 H 및 서브타입 J 단백질들 및 이들의 재조합물로부터 선택될 수 있다. 바람직한 패키징 벡터는 SEQ ID NO:3 또는 SEQ ID NO:2의 MA 단백질 부분을 인코딩한다.

[0042] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 패키징 벡터는 SEQ ID NO:1 또는 SEQ ID NO:1 과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%의 동일성을 갖는 핵산 서열을 포함한다. 다양한 실시예들에 있어서, 상기 패키징 벡터는 SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, 또는 SEQ ID NO:2 혹은 SEQ ID NO:3과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99%의 동일성을 갖는 아미노산 서열을 인코딩한다.

[0043] 본 출원에 사용되는, 두 핵산 서열들의 퍼센트 동일성은 Devereux et al. (Nucl. Acids Res. 12:387, 1984)에서 기술되고 위스콘신 대학 Genetics Computer Group(UWGCG)으로부터 획득가능한 GAP 컴퓨터 프로그램 버전 6.0과 상기 GAP 프로그램에 대한 하기의 디폴트 변수들을 사용하여 결정될 수 있다:

[0044] (1) 뉴클레오티드에 대한 단항 비교 매트릭스(동일성에 대한 값 1 및 비-동일성에 대한 값 0 포함), 및 Gribskov 및 Burgess의 가중 비교 매트릭스(Nucl. Acids Res. 14:6745, 1986, as described by Schwartz and Dayhoff, eds., Atlas of Protein Sequence and Structure, National Biomedical Research Foundation, pp. 353-358, 1979); (2) 각 갭(gap)에 3.0의 페널티 및 각 갭의 심볼에 대해 추가적인 0.10의 페널티; 및 (3) 말단 그룹들에는 페널티 없음

[0045] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 벡터는 일 이상의 하기의 특징들을 보유한 HIV-1 MA 단백질을 인코딩하는 서열을 포함한다.

[0046] 12 위치 아미노산에 글루탐산의 부재;

[0047] 15 위치 아미노산에 아르기닌의 부재;

[0048] 46 위치 아미노산에 발린의 부재; 및

[0049] 61 위치 아미노산에 루신의 부재.

[0050] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 벡터는 일 이상의 하기의 특징들을 보유한 HIV-1 MA 단백질을 인코딩하는 서열을 포함한다.

[0051] 12 위치의 아미노산이 리신;

[0052] 15 위치의 아미노산이 트레오닌;

[0053] 15 위치의 아미노산이 알라닌;

[0054] 46 위치의 아미노산이 루신;

[0055] 61 위치의 아미노산이 이소루신; 및/또는

[0056] 61 위치의 아미노산이 메티오닌.

[0057] 상기 패키징 벡터는 바람직하게는 HIV-1 Gag 및 Pol을 인코딩한다. 가장 바람직하게는, 상기 패키징 벡터는 HIV-1 Gag MA 단백질을 인코딩한다.

[0058] 상기 패키징 벡터는 Gag 및 Pol의 발현을 위한 바이러스 혹은 비-바이러스 서열들을 함유할 수 있다. 상기 패키징 벡터는 HIV-1 LTR 혹은 HIV-1 LTR의 U3 영역을 함유할 수 있다. 다른 실시예들에 있어서, 상기 패키징 벡터는 HIV-1 LTR들을 함유하지 않는다. Gag 및 Pol의 발현을 유도하기 위해 임의의 프로모터(promoter)가 사용될 수 있다. 바람직하게는, 상기 프로모터는 인간 세포들 내의 강한 프로모터일 수 있다. 가장 바람직하게는, 상기 패키징 벡터는 예를 들면, *gag* 및 *pol*과 같은 인코딩된 유전자들의 발현을 유도하는 거대세포바이러스

(Cytomegalovirus: CMV) 프로모터, CMV 초기 인핸서(enhancer)/닭 β 액틴(CAG) 프프로모터, 라우스 육종 바이러스(Rous Sarcoma Virus: RSV) 프로모터, 인간 포스포글리세린산 키나아제(phosphoglycerate KINASE: hPGK) 프로모터 또는 LTR 프로모터로부터의 U3(예를 들면, 척수증식성 유종 바이러스(myeloproliferative sarcoma virus: MPSV) U3) 프로모터를 함유할 수 있다.

[0059] 바람직하게는, 상기 패키징 벡터는 임의의 폴리아데닐레이션(polyadenylation) 신호를 함유할 수 있다. 바람직하게는, 폴리아데닐레이션 신호는 인간 세포들에 있어서 강한 신호이다. 가장 바람직하게는, 폴리아데닐레션 신호는 인간 α2 글로빈 혹은 소 성장 호르몬(Bovine Growth hormone: BGH) 폴리아데닐레이션 신호이다.

[0060] 바람직하게는, 상기 패키징 벡터는 Rev-응답 요소(Rev-responsive element: RRE)를 함유한다. 바람직한 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 HIV-1 Rev 단백질을 발현한다. 바람직한 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 적어도 하나의 스플라이스 도너(splice donor) 사이트 및 적어도 하나의 스플라이스 억셉터(splice acceptor) 사이트를 함유한다. 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 HIV-1 Tat 단백질을 발현한다.

[0061] 바람직한 실시예들에 있어서, 상기 패키징 벡터는 HIV-1 Vif, Vpr, Vpu, 및/또는 Nef를 인코딩하는 서열들이 결여되어 있다. 상기 패키징 벡터는 본 출원에 설명된 특징들을 일 이상 갖는 HIV-1 MA 단백질을 인코딩하는 서열을 포함할 수 있다.

[0062] 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 오직 하나의 HIV-1 단백질, Gag를 인코딩한다. 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 오직 2개의 HIV-1 단백질들, Gag 및 Pol을 인코딩한다. 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 Gag, Pol, Rev 및 Tat으로부터 선택된 오직 3개의 HIV-1 단백질들을 인코딩한다. 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 오직 4개의 HIV-1 단백질들, Gag, Pol, Rev 및 Tat를 인코딩한다.

[0063] 일 실시예에 있어서, 상기 벡터는 (5'에서 3'으로)CMV 프로모터, HIV-1 Gag-Pol을 인코딩하는 핵산 서열, Tat 및 Rev의 엑손 인코딩 부분, 스플라이스 도너 사이트, RRE를 함유한 인트론, 스플라이스 억셉터 사이트, Tat 및 Rev의 엑손 인코딩 부분, 및 폴리아데닐레이션 신호를 포함한다. 바람직하게는, HIV-1 Gag-Pol은 서브타입 D HIV-1 Gag-Pol이다.

[0064] 상기 패키징 벡터는 박테리아 또는 진핵 세포에서의 복제 원점(origin)을 더 함유할 수 있다. 상기 패키징 벡터는 박테리아 또는 진핵 세포에서의 선택을 위한 선택가능한 마커(marker) 유전자를 함유할 수 있다.

[0065] 본 발명은 본 발명의 패키징 벡터들을 포함하는 호스트 세포들을 포괄한다. 상기 호스트 세포들은 본 발명의 상기 패키징 벡터들로 일시적으로 감염될 수 있다. 상기 호스트 세포들은 상기 호스트 세포의 게놈 내부로 병합된 본 발명의 패키징 벡터들을 갖는 세포주(cell line)일 수 있다. 많은 다양한 세포들이 적절한 호스트 세포들로 사용된다. 바람직하게는, 상기 세포들은 인간 세포들이며, 가장 바람직하게는 불멸화된 인간 세포주이다. 일 실시예에 있어서, 상기 세포들은 HEK 293T 세포들이다. 일 실시예에 있어서, 상기 세포들은 HeLA, HT1080 또는 PER C6 세포들이다(Delendaet al, Cells for Gene Therapy and vector Production, Methods in Biotechnology, Vol 24 : Animal Cell Biotechnology : Methods and Protocols, 2nd Ed. Edited by R.P㉤rtner, Humana Press Inc., Totowa, NJ).

[0066] **패키징 시스템**

[0067] 본 발명은 비-서브타입 B Gag 및/또는 Pol 단백질들을 발현하는 세포들을 포함하는 렌티바이러스 패키징 시스템을 포괄한다. 본 출원에서 렌티바이러스 "패키징 시스템"은 Ψ 사이트의 부존재 하에서 적어도 렌티바이러스 Gag 및 Pol 단백질들을 발현하며, Ψ 사이트를 함유하는 외생 핵산의 패키징 및 역전사가 가능한 세포들을 포함하는 세포-기반 시스템으로 정의된다. 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 또한 다른 바이러스 단백질들을 발현할 수 있다. 바람직하게는, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템은 외피(envelope) 단백질을 발현한다. 상기 외피 단백질은 렌티바이러스(예를 들면, HIV-1 Env) 또는 비-렌티바이러스(예를 들면, VSV, 신드비스(Sindbis) 바이러스, 광견병(Rabies) 바이러스) 외피 단백질일 수 있다. 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템은 HIV-1 Tat 및/또는 Rev 단백질을 발현한다.

[0068] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 이들의 게놈 내부로 안정적으로 병합된 HIV-1 Gag 및/또는 Pol을 인코딩하는 서열들을 함유한다. 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 이들의 게놈 내부로 안정적으로 병합된 외피 단백질을 인코딩하는 서열들을 함유한다. 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 이들의 게놈 내부로 안정적으로 병합

된 HIV-1 Tat 및/또는 Rev를 인코딩하는 서열들을 함유한다.

[0069] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템은 HIV-1 Gag 및/또는 Pol 단백질들을 일시적으로 발현한다. 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 외피 단백질을 일시적으로 발현한다. 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 HIV-1 Tat 및/또는 Rev 단백질들을 일시적으로 발현한다.

[0070] 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 서브타입 A, 서브타입 C, 서브타입 D, 서브타입 E, 서브타입 F1, 서브타입 F2, 서브타입 G, 서브타입 H 및 서브타입 J 단백질들 및 이들의 재조합물로부터 선택된 비-서브타입 B Gag 및 Pol 단백질들을 발현할 수 있다. 일 실시예에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 SEQ ID NO:1을 포함하거나 SEQ ID NO:2를 발현한다.

[0071] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 비-서브타입 B Gag 단백질들을 발현한다. 상기 비-서브타입 B Gag 단백질들은 서브타입 A, 서브타입 C, 서브타입 D, 서브타입 E, 서브타입 F1, 서브타입 F2, 서브타입 G, 서브타입 H 및 서브타입 J 단백질들 및 이들의 재조합물로부터 선택될 수 있다.

[0072] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 비-서브타입 B MA 단백질들을 발현한다. 상기 비-서브타입 B MA 단백질들은 서브타입 A, 서브타입 C, 서브타입 D, 서브타입 E, 서브타입 F1, 서브타입 F2, 서브타입 G, 서브타입 H 및 서브타입 J 단백질들 및 이들의 재조합물로부터 선택될 수 있다. 바람직한 패키징 벡터는 SEQ ID NO:3 또는 SEQ ID NO:2의 MA 단백질 부분을 인코딩한다.

[0073] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 본 발명의 렌티바이러스 벡터들 중 임의의 벡터를 함유할 수 있다.

[0074] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 SEQ ID NO:1 또는 SEQ ID NO:1과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일한 핵산 서열을 함유한다. 다양한 실시예들에 있어서, 상기 렌티바이러스 패키징 시스템의 세포들은 SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3의 아미노산 서열 또는 SEQ ID NO:2 또는 SEQ ID NO:3과 적어도 95%, 96%, 97%, 98%, 99% 동일한 아미노산 서열을 갖는 단백질을 발현한다.

[0075] **패키징 벡터들의 생성 방법**

[0076] 본 발명은 비-서브타입 B Gag 및/또는 Pol 단백질들을 인코딩하는 패키징 벡터들의 제조 방법들을 포괄한다. 상기 패키징 벡터는 본 출원에서 논의된 임의의 특징들을 보유할 수 있다.

[0077] 일 실시예에 있어서, 상기 방법은 비-서브타입 B HIV-1 바이러스로부터 Gag 및/또는 Pol 서열을 비-HIV 프로모터(예를 들면, CMV 프로모터)의 조절 하에 플라스미드로 삽입하여 패키징 벡터를 생성하는 것을 포함한다. 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 오직 1종의 HIV-1 단백질을 인코딩한다. 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 오직 2종의 HIV-1 단백질들을 인코딩한다. 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 Gag, Pol, Rev 및 Tat으로부터 선택된 오직 3종의 HIV-1 단백질들을 인코딩한다. 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터는 오직 4종의 HIV-1 단백질들, Gag, Pol, Rev, 및 Tat을 인코딩한다.

[0078] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 플라스미드는 일 이상의 CMV 프로모터, Tat 및 Rev의 엑손 인코딩 부분, 스플라이스 도너 사이트, RRE를 함유한 인트론, 스플라이스 억셉터 사이트, Tat 및 Rev의 엑손 인코딩 부분, 및 폴리아데닐레이션 신호를 포함한다.

[0079] 다양한 실시예들에 있어서, 상기 패키징 벡터는 CMV 프로모터, Tat 및 Rev의 엑손 인코딩 부분, 스플라이스 도너 사이트, RRE를 함유한 인트론, 스플라이스 억셉터 사이트, Tat 및 Rev의 엑손 인코딩 부분, 및 폴리아데닐레이션 신호를 포함한다.

[0080] 비-서브타입 B HIV-1 바이러스는 서브타입 A, 서브타입 C, 서브타입 D, 서브타입 E, 서브타입 F1, 서브타입 F2, 서브타입 G, 서브타입 H 및 서브타입 J 바이러스들 및 이들의 재조합물로부터 선택될 수 있다.

[0081] 일 실시예에 있어서, 상기 방법은 HIV-1 서브타입 B 바이러스의 Gag 서열을 포함하는 패키징 벡터를 제공하는 단계 및 상기 벡터 내의 Gag 서열들을 HIV-1 비-서브타입 B 바이러스로부터의 서열들로 치환하는 단계를 포함한다.

[0082] 상기 비-서브타입 B HIV-1 바이러스는 서브타입 A, 서브타입 C, 서브타입 D, 서브타입 E, 서브타입 F1, 서브타

입 F2, 서브타입 G, 서브타입 H 및 서브타입 J 바이러스들 및 이들의 재조합물로부터 선택될 수 있다. 바람직한 일 실시예에 있어서, 비-서브타입 B HIV-1 바이러스는 HIV-1 NDK이다.

[0083] **렌티바이러스 벡터들의 생성 방법**

[0084] 본 발명은 또한 HIV-1 비-서브타입 B Gag 및/또는 Pol 단백질들을 인코딩하는 패키징 벡터들을 사용하여 렌티바이러스 벡터들을 생성하는 방법들을 포괄한다. 일 실시예에 있어서, 본 발명은 HIV-1 비-서브타입 B Gag 또는 Pol 단백질을 인코딩하는 패키징 벡터를 렌티바이러스 벡터를 갖는 세포에 투여하는 것을 포괄한다. 상기 패키징 벡터는 본 출원에서 논의된 임의의 특징들을 포함할 수 있다.

[0085] 상기 렌티바이러스 벡터는 Ψ 사이트 및 프라이머 결합 사이트를 포함하는, 패키징 및 역전사 시스-작용 서열들을 포함한다. 바람직하게는, 상기 렌티바이러스 벡터는 두 HIV-1 LTR 서열들을 포함한다. 일 실시예에 있어서, LTR들 중 하나는 U3 및 R 서열들을 위해 제거된다. 바람직하게는, 상기 렌티바이러스 벡터는 중앙 폴리퓨린관(cPPT) 및 중앙 말단 서열(central terminal sequence: CTS)을 포함한다. 상기 렌티바이러스 벡터는 바람직하게는 선택가능 마커 또는 종양 항원과 같은 렌티바이러스 또는 비-렌티바이러스 단백질을 인코딩한다.

[0086] 일 실시예에 있어서, 상기 렌티바이러스 벡터는 일 이상의 HIV 항원, 바람직하게는 HIV-1 항원을 포함한다. 가장 바람직하게는, 상기 항원은 Gag, Pol, Env, Vif, Vpr, Vpu, Nef, Tat 또는 Rev 항원이다. 상기 항원은 단일 항원, 항원들의 혼합체, 항원성 폴리펩티드, 또는 이러한 단백질들로부터의 항원성 폴리펩티드들의 혼합체일 수 있다. 바람직한 일 실시예에 있어서, 상기 렌티바이러스 벡터는 HIV-1 p24 Gag 항원을 포함한다.

[0087] 일 실시예에 있어서, 본 발명은 NIS-함유 프로모터를 포함하는 렌티바이러스 벡터를 포괄한다. "NIS-함유 프로모터"는 NF-Kb 결합 사이트, 인터페론 자극 반응 요소(interferon stimulated response element: ISRE), 및 SXY 모듈(SXY)를 포함한다. 자연 발생 NIS-함유 프로모터들의 예들은 β2m 프로모터 및 MHC 클래스 I 유전자 프로모터이다. 이러한 자연 발생 NIS-함유 프로모터들은 일반적으로 단백질 β2m 또는 MHC 클래스 I 단백질을 인코딩하는, 또는 게놈 데이터베이스(예: NCBI 폴리뉴클레오티드 데이터베이스, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/dna-rna) 내에서 이러한 단백질들을 인코딩하는 것으로 여겨지는 유전자의 프로모터 영역으로부터 복제 또는 재생된다. β2m 및 클래스 I MHC 단백질들 모두 주 조직적합성 콤플렉스(Major Histocompatibility Complex: MHC)에 들어간다. β2m 및 클래스 I MHC 프로모터 서열들은 또한 통상적으로 게놈 데이터베이스들과 같이 언급된다-즉, β2m 및 클래스 I MHC 프로모터 서열인 것으로 주석처리된다.

[0088] MHC 클래스 I 및 β2-마이크로글로불린 프로모터들은 NIS-함유 프로모터들의 공유된 구조적 상동성을 보유한다. 이러한 프로모터들은 또한 수지상 세포들에서 강하게 활성화되는 능력뿐만 아니라 보다 낮은 강도로 다른 인간 신체 조직의 대부분에서 활성화되는 능력을 공유한다.

[0089] 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터 및 상기 렌티바이러스 벡터는 세포 내로 함께 도입되어 상기 패키징 벡터에 의해 생성된 Gag 단백질 및 상기 렌티 바이러스 벡터에 의해 생성된 핵산을 함유하는 렌티바이러스 벡터 입자들의 형성을 가능케한다. 바람직하게는, 이는 상기 패키징 벡터 및 렌티바이러스 벡터로 세포들의 동시주입에 의해 달성된다. 상기 세포들은 또한 Env 단백질, 바람직하게는 VSV 글리코단백질 G를 인코딩하는 핵산으로 감염될 수 있다. 바람직하게는, 상기 렌티바이러스 벡터 입자들은 진입(entry), 역전사, 및 적절한 호스트 세포 내에서 발현이 가능하다.

[0090] 일 실시예에 있어서, 상기 패키징 벡터 또는 상기 렌티바이러스 벡터는 안정적으로 세포들 내부로 병합되고, 비-병합된 벡터는 상기 세포들 내부로 주입되어 렌티바이러스 벡터 입자들의 형성을 가능케한다.

[0091] 일 실시예에 있어서, 상기 방법은 상기 세포들에 의해 생성된 상기 렌티바이러스 벡터를 수집하는 단계를 더 포함한다.

[0092] 일 실시예에 있어서, 상기 방법은 서브타입 B Gag 또는 Pol 단백질을 인코딩하는 동일한 패키징 벡터보다 더 높은 역가의 렌티바이러스 벡터를 패키징하는 패키징 벡터의 선택을 더 포함한다. 바람직하게는, 상기 역가는 서브타입 B Gag 또는 Pol 단백질을 인코딩하는 패키징 벡터에 상대적으로 적어도 1.5 또는 2배 증가된다.

[0093] **렌티바이러스 벡터 입자들**

[0094] 본 발명은 또한 HIV-1 비-서브타입 B Gag 및/또는 Pol 단백질들을 포함하는 렌티바이러스 벡터 입자들을 포괄한

다. 상기 비-서브타입 B Gag 및 Pol 단백질들은 본 출원에서 논의된 임의의 특징들을 포함할 수 있다.

[0095] 상기 렌티바이러스 벡터 입자는 Gag, Pol 및 Env 단백질들과 연관된 Ψ 사이트 및 프라이머 결합 사이트를 포함하는 패키징 및 역전사를 위한 시스-작용 서열들을 포함하는 핵산을 포함한다. 바람직하게는, 상기 핵산은 두 HIV-1 LTR 서열들을 포함한다. 일 실시예에 있어서, 상기 LTR들 중 하나는 U3 및 R 서열들을 위해 제거된다. 바람직하게는, 상기 렌티바이러스 벡터 입자의 핵산은 중앙 폴리퓨린관(cPPT) 및 중앙 말단 서열(CTS)을 포함한다. 상기 핵산은 바람직하게는 선택가능 마커 또는 종양 항원과 같은 렌티바이러스 또는 비-렌티바이러스 단백질을 인코딩한다. 바람직하게는, 상기 렌티바이러스 벡터 입자는 VSV 글리코단백질을 포함한다.

[0096] 바람직하게는, 상기 렌티바이러스 벡터는 NIS-함유 프로모터를 포함한다. 일 실시예에 있어서, 상기 프로모터는 β2m 프로모터이다.

[0097] 일 실시예에 있어서, 상기 렌티바이러스 벡터는 일 이상의 HIV 항원, 바람직하게는 HIV-1 항원을 포함한다. 가장 바람직하게는, 상기 항원은 Gag, Pol, Env, Vif, Vpr, Vpu, Nef, Tat 또는 Rev 항원이다.

[0098] 본 발명의 렌티바이러스 벡터들은 인간 호스트를 포함하는 호스트 세포에 투여될 수 있다.

[0099] 상기 렌티바이러스 벡터 입자는 특정 세포 타입들에 대한 타겟팅(targeting) 메커니즘을 보유할 수 있다(예를 들면, 본 출원에 참조로 병합되는 Yang et al., Targeting lentiviral vectors to specific cell types in vivo, PNAS 113(31): 11479-11484 (2006) 참조). 타겟팅은 세포 상의 세포 표면 단백질에 결합하는 항체를 통해 달성될 수 있다. 타겟팅된 세포 타입은 바람직하게는 수지상 세포, T 세포, B 세포이다. 수지상 세포 타입에의 타겟팅이 바람직하며, DC 표면 단백질에 특이적으로 결합하는 외피 단백질을 통해 달성될 수 있다(예를 들면, 본 출원에 참조로 병합되는 Yang et al., Engineered Lentivector Targeting of Dendritic Cells for In Vivo, Nat Biotechnol. 2008 March ; 26(3): 326??334 참조).

[0100] 본 발명은 에피토프(epitope)에 대항하는 면역 반응의 발생 또는 향상을 유유도하거나 이에 기여할 수 있는 치료적 조성물 혹은 백신 제조를 위한, 특히 렌티바이러스 벡터 입자들의 형태로 본 발명에 따른 렌티바이러스 벡터들의 사용과 연관되며, 보다 상세하게는 상기 벡터들 내에 존재하는 전이유전자(transgene)에 의해 인코딩되는 것들과 연관된다.

[0101] **실시예**

[0102] 실시예 1: 플라스미드 설계

[0103] *gag-pol* 유전자가 두 프라이머들 및 pNDK-N, HIV-1 NDK의 클론을 주형으로 사용하여 PCR을 통해 증폭되었다. pThV-GP-N 플라스미드를 수득하기 위해, PCR 생성물이 EagI/SalI로 소화되었고, 패키징 구조체 p8.74 내에 삽입되고, 또한 EagI /SalI에 의해 소화되었다.

[0104] 실시예 2: 감염(transfection)에 의한 렌티바이러스 벡터의 생성

[0105] pFLAP CMV GFP bis 및 pTHV-VSV.G (INDI-CO)bis과 p8.74 또는 pThV-GP-N를 조합하여 사용함으로써 렌티바이러스 벡터 스톡(stock)이 생성되었다. 36개의 트랜스펙션들이 수행되었으며, 18개는 p8.74로, 18개는 pThV-GP-N으로 수행되었다. 모든 상청액들은 -80°C에서 저장되었다.

[0106] 플라스미드 plasmid pFLAP-CMV GFP bis는 녹색 형광 단백질(Green Fluorescence protein: GFP)을 위해 인코딩되었고, 이의 발현은 유세포 분석기(flow cytometry)에 의해 검출가능하다.

[0107] 실시예 3: 렌티바이러스 벡터 생산의 역가

[0108] 293T 세포들 내의 GFP 발현의 빈도에 의해 벡터 역가가 결정되었다. 세포들은 웰(well) 당 $1\times10^5$ 세포들의 밀도에 도달할 때까지 10% FBS를 함유하는 DMEM 내에서 24-웰 플레이트에서 배양되었다. 이후, 세포들은 최종 부피 300μL에서 서로 다른 벡터 상청액 부피가 도입되었다. 2시간 후, 10% FBS를 함유하는 700μl의 신선한 배지가 각 웰에 첨가되었다. 도입 후 72시간에서, 상기 배지는 제거되었으며 세포들은 Dulbecco 인산-버퍼 염수(Dulbecco's phosphate-buffered saline: DPBS; Gibco)에서 세척되었다. 세포들은 0.05% 트립신(Trypsin)-EDTA(Gibco)로 제거되었다. 트립신화(trypsinization)는 300μl의 종결 DMEM의 첨가에 의해 중단되었으며, 세포들은 FACS 튜브로 이송되었고, 이후 GFP-발현 세포들의 수를 509nm 여기 파장을 사용하는 FACSCalibur(BD

Biosciences)로 측정하였다. 30% 아래의 GFP 양성 세포들의 비율만이 고려되었다.

[0109] 도 3에 그 결과들이 도시되었다. pThV-GP-N 및 p8.74 벡터 생산 사이에서 상당한 차이가 관찰되었으며, pThV-GP-N 플라스미드를 사용하여 더 높은 역가가 수득되었다. 실제로, 패키징 플라스미드 pThV-GP-N으로 수득된 벡터 역가는 기존 사용되는 플라스미드 p8.74로 수득된 벡터 역가보다 2배 더 높았다(Student 테스트에 따르면, $p<0.001$)

[0110] 실시예 4: pThV-GP-N으로 증가된 렌티바이러스 벡터의 역가

[0111] HIV-1 BRU 및 HIV-1 NDK 바이러스들이 293T 세포들 상에 형성되었으며, P4 CCR5 세포들에 도입되기 위해 사용되었다. 이러한 세포들은 HIV LTR의 조절 하에서 안정한 루시퍼라아제 유전자를 포괄한다: 이들이 TAT 단백질로 도입되는 경우(이들이 WT HIV로 감염되는 케이스), LacZ 유전자가 발현되며, 루시퍼라아제 발현이 측정될 수 있다. HIV-1 Gag p24 및 루시퍼라아제 발현이 측정되었다. 그 결과가 도 4에 도시되었으며, 아생형 NDK 바이러스가 야생형 BRU 보다 높은 도입 속도를 가짐이 확인된다.

[0112] 실시예 5: pThV-GP-N로 증가된 p24 및 역가

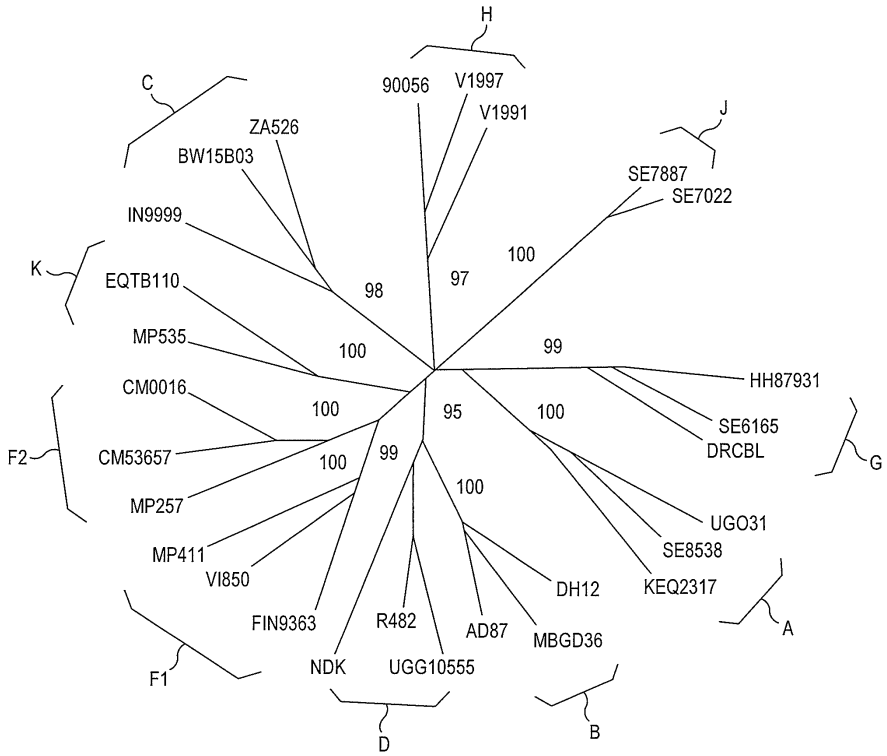
[0113] 상이한 비율의 p8.74 및 pSD GP NDK 패키징 벡터들이 사용되어 렌티바이러스 벡터 입자들을 생산하였다. 각 비율에 있어서, 역가 및 P24 레벨이 측정되었다. 도 5에 결과가 도시되며, 역가 및 P24 레벨 생산 향상은 NDK 패키징 플라스미드의 존재에 기인함을 알 수 있다.

[0114] 실시예 6: pThV-GP-N로 감소된 p24 가공

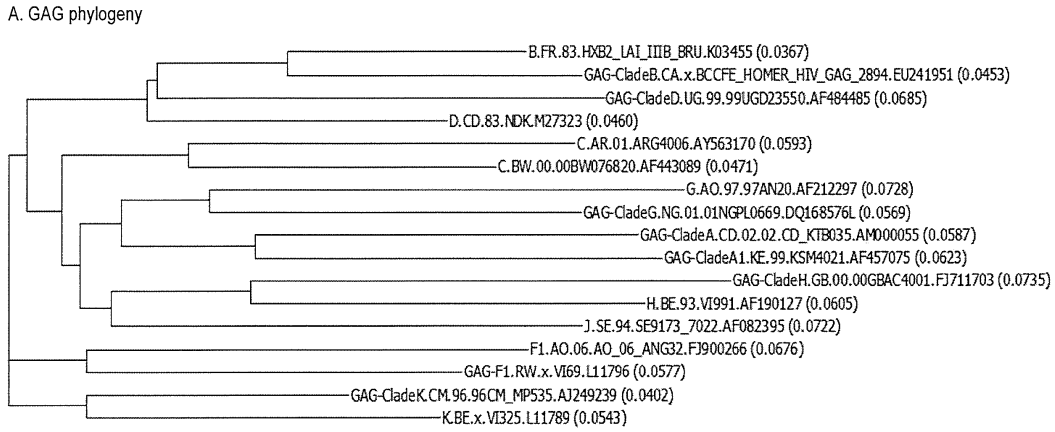
[0115] 패키징 벡터 p8.74 and pTHV-GP-N들이 렌티바이러스 벡터 입자들을 함유하는 상청액 생산에 사용되었다. 웨스턴 블롯이 NIH 안티-P24 MAB(183-H12-5C)을 사용하여 상기 상청액 상에서 수행되었다. 도 6에 결과가 도시되며, NDK 및 BRU 패키징 플라스미드들 사이의 차이는 P24 단백질 및 전구체의 생산에 의존함이 확인되며, BRU가 단지 바이러스 상청액 내에서 P24만을 보일 때, NDK는 더 높은 P24 합성(바이러스 상청액 내에서 P24 전구체의 존재)을 생성하는 것으로 추정된다.

## 도면

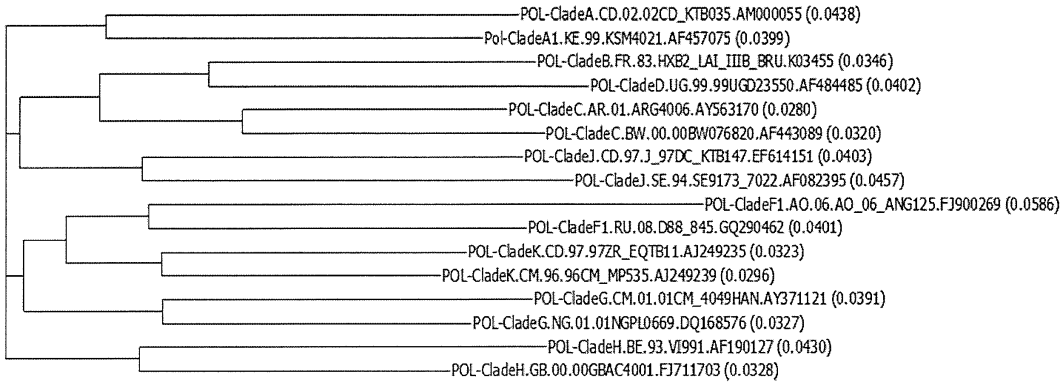
### 도면1



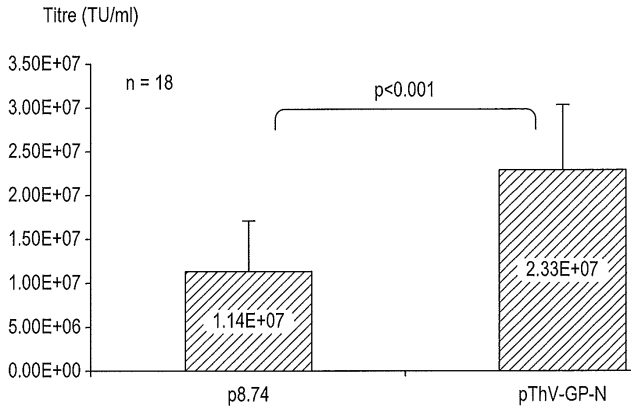
도면2a



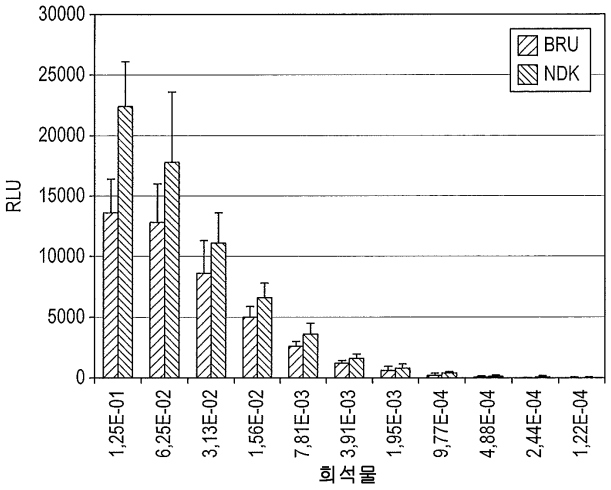

도면2b



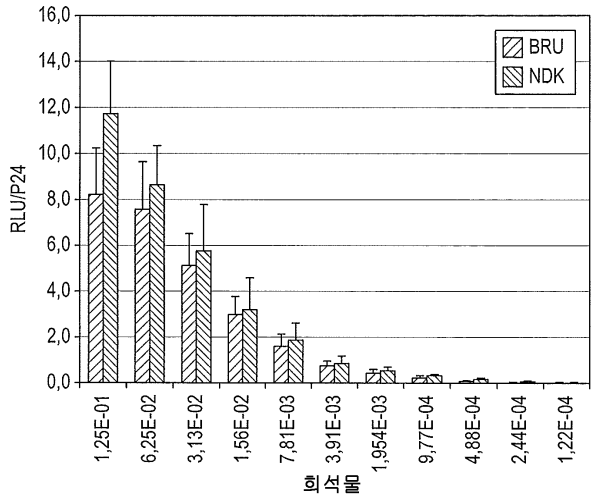

도면3



도면4a

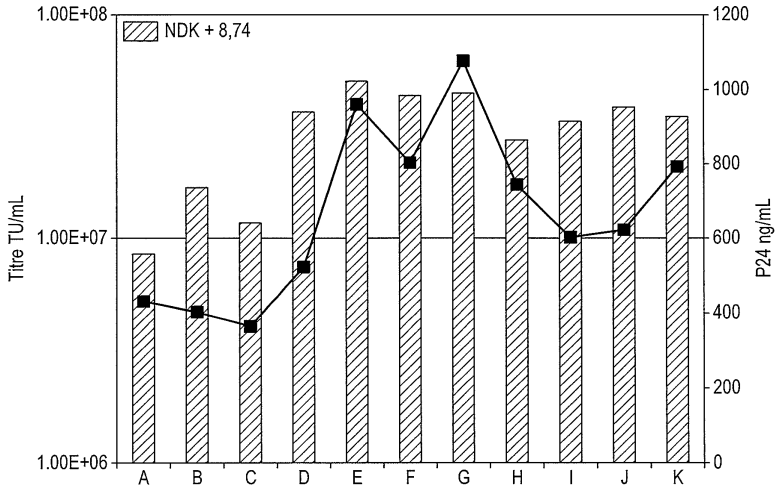

30000
25000
20000
15000
10000
5000
0
RLU
BRU
NDK
1,25E-01
6,25E-02
3,13E-02
1,56E-02
7,81E-03
3,91E-03
1,95E-03
9,77E-04
4,88E-04
2,44E-04
1,22E-04
희석물

도면4b


16,0
14,0
12,0
10,0
8,0
6,0
4,0
2,0
0,0
RLU/P24
BRU
NDK
1,25E-01
6,25E-02
3,13E-02
1,56E-02
7,81E-03
3,91E-03
1,954E-03
9,77E-04
4,88E-04
2,44E-04
1,22E-04
희석물

## 도면5

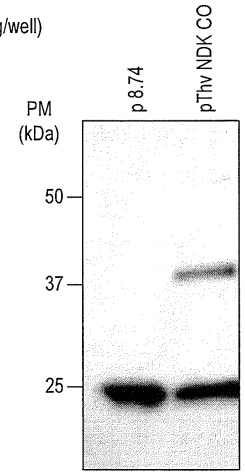
| | A3 | B3 | C3 | D3 | E3 | F3 | G3 | H3 | I3 | J3 | K3 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| pThV GP-N | 0µl | 1µl | 2µl | 3µl | 4µl | 5µl | 6µl | 7µl | 8µl | 9µl | 10µl |
| P8,74 | 10µl | 9µl | 8µl | 7µl | 6µl | 5µl | 4µl | 3µl | 2µl | 1µl | 0µl |
| Titre | 6,39E+06 | 8,68E+06 | 1,16E+07 | 3,67E+07 | 5,00E+07 | 4,31E+07 | 4,40E+07 | 2,75E+07 | 3,32E+07 | 3,80E+07 | 3,50E+07 |
| P24 | 430 | 400 | 361 | 521 | 958 | 800 | 1075 | 742 | 600 | 620 | 790 |




## 도면6

Mab p24 (NIH, 183-H12-5C)

벡터 상청액 (4,5 µg/well)




| KDa | POL |
|---|---|
| 10 | Protéase |
| 66/51 | RT |
| 32 | Intégrase |

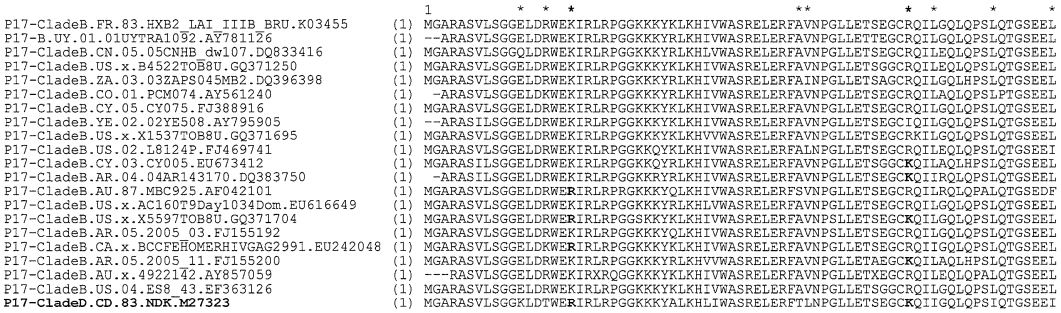
## 도면7

```
                                          1          *  *  *          *              **  50
P17-CladeB.FR.83.HXB2_LAI_IIIB_BRU.K03455    (1) MGARASVLSGGELDRWEKIRLRPGGKKKYKLKHIVWASRELERFAVNPGL
             P17-CladeD.CD.83.NDK.M27323     (1) MGARASVLSGGKLDTWERIRLRPGGKKKYALKHLIWASRELERFTLNPGL

                                         51     *  *      *      *                     100
P17-CladeB.FR.83.HXB2_LAI_IIIB_BRU.K03455   (51) LETSEGCRQILGQLQPSLQTGSEELRSLYNTVATLYCVHQRIEIKDTKEA
             P17-CladeD.CD.83.NDK.M27323    (51) LETSEGCKQIIGQLQPSIQTGSEEIRSLYNTVATLYCVHERIEVKDTKEA

                                         101                          132
P17-CladeB.FR.83.HXB2_LAI_IIIB_BRU.K03455  (101) LDKIEEEQNKSKKKAQQAAADTGHSNQVSQNY
             P17-CladeD.CD.83.NDK.M27323   (101) VEKMEEEQNKSKKKTQQAAADS--S-QVSQNY
```

## 도면8



## 도면9



## 도면10



## 서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> Theravectys

Institut Pasteur

<120> USE OF NON-SUBTYPE B GAG PROTEINS FOR LENTIVIRAL PACKAGING

<130> THERA.11.3

<140> PCT/US2012/

<141> 2012-09-25

<150> 11306222.8

<151> 2011-09-26

<160> 67

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 4298

<212> DNA

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 1

atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg ggaaaattag atacatggga aagaattcgg 60

ttacggccag gaggaaagaa aaaatatgca ctaaaacatt tgatatgggc aagcagggag 120

ctagaacgat ttacacttaa tcctggcctt ttagagacat cagaaggctg taaacaaata 180

ataggacagc tacaaccatc tattcaaaca ggatcagaag aaattagatc attatataat 240

acagtagcaa ccctctattg tgtacatgaa aggatagagg taaaagacac caaagaagct 300

gtagaaaaga tggaggaaga acaaaacaaa agtaagaaaa agacacagca agcagcagct 360

gatagcagcc aggtcagcca aaattaccct atagtgcaga acctacaggg gcaaatggta 420

catcaggcca tatcacctag aactttgaac gcatgggtaa aagtaataga agaaaaggcc 480

ttcagcccgg aagtaatacc catgttttca gcattatcag aaggagccac cccacaagat 540

ttaaacacca tgctaaacac agtgggggga catcaagcag ctatgcaaat gctaaaagag 600

accatcaatg acgaagctgc agaatgggac agattacatc cagtgcatgc agggcctgtt 660

gcaccaggcc aaatgagaga accaagggga agtgatatag caggaactac tagtaccctt 720

caggaacaaa tagcatggat gacaagcaac ccacctatcc cagtaggaga aatctataaa 780

agatggataa tcctgggatt aaataaaata gtaagaatgt atagccctgt cagcattttg 840

gacataagac agggaccaaa ggaacctttt agagactatg tagaccggtt ctataaaact 900

ctaagagccg agcaagcttc acaggatgta aaaaactgga tgacagaaac cttgttggtc 960

caaaatgcaa acccagattg taaaactatc ttaaaagcat tgggaccaca ggctacacta 1020

gaagaaatga tgacagcatg ccagggagtg gggggcccg gccataaagc aagagttttg 1080

gctgaggcaa tgagccaagt aacaggttca gctactgcag taatgatgca gagaggcaat 1140

tttaagggcc caagaaaaag tattaagtgt ttcaactgtg gcaaggaagg gcacacagca 1200

aaaaattgca gggcccctag aaaaaagggc tgttggaaat gcggaaggga aggacaccaa 1260

atgaaagatt gcactgaaag acaggctaat tttttaggga agatttggcc ttcccacaag 1320

ggaaggccgg ggaattttct tcagagcaga ccagagccaa cagccccacc agcagagagc 1380

ttcgggtttg gggaggagat aacccccctct cagaaacagg agcagaaaga caaggaactg 1440

tatcctttag cttccctcaa atcactcttt ggcaacgacc cctcgtcaca ataaagatag 1500

ggggacagct aaaggaagct ctattagata caggagcaga tgatacagta ttagaagaaa 1560

taaatttgcc aggaaaatgg aagccaaaaa tgataggggg aattggaggt tttatcaaag 1620

taagacagta tgatcaaata ctcatagaaa tctgtggata taaagctatg ggtacagtat 1680

tagtaggacc tacacctgtc aacataattg gaagaaattt gttgacccag attggctgca 1740

ctttaaattt tccaattagt cctattgaaa ctgtaccagt aaaattaaag ccaggaatgg 1800

atggcccaaa agttaaacaa tggccattga cgaagaaaaa ataaaagcat taacagaaat 1860

ttgtacagaa atggaaaagg aaggaaaaat ttcaagaatt gggcctgaaa atccatataa 1920

tactccaata tttgccataa agaaaaaaga cagtaccaag tggagaaaat tagtagattt 1980

cagagaactt aataagagaa ctcaagattt ctgggaggtt caattaggaa taccgcatcc 2040

tgcagggctg aaaaagaaaa aatcagtaac agtactggat gtgggtgatg catatttctc 2100

agttccctta gatgaagatt ttaggaaata taccgcattt accataccta gtataaacaa 2160

tgagacacca gggattagat atcagtacaa tgtgctccca cagggatgga aaggatcacc 2220

ggcaatattc caaagtagca tgacaaaaat cttagagccc tttagaaaac aaaatccaga 2280

aatagttatc tatcaataca tggatgattt gtatgtagga tctgacttag aaatagggca 2340

gcatagaaca aaaatagagg aattaagaga acatctattg aggtggggat ttaccacacc 2400

agataaaaaa catcagaaag aacctccatt tctttggatg ggttatgaac tccatcctga 2460

taaatggaca gtacagccta taaacctgcc agaaaaagaa agctggactg tcaatgatat 2520

acagaagtta gtggggaaat taaactgggc aagccagatt tatgcaggaa ttaaagtaaa 2580

gcaattatgt aaactcctta ggggaaccaa agcactaaca gaagtagtac cactaacaga 2640

agaagcagaa ttagaactgg cagaaaacag ggaaattcta aaagaaccag tacatggagt 2700

gtattatgac ccatcaaaag acttaatagc agaactacag aaacaagggg acggccaatg 2760

gacataccaa atttatcaag aaccatttaa aaatctaaaa acaggaaagt atgcaagaac 2820

gaggggtgcc cacactaatg atgtaaaaca attaacagag gcagtgcaaa aaatagccac 2880

agaaagcata gtgatatggg gaaagactcc taaatttaaa ctacccatac aaaaggaaac 2940

atgggaaaca tggtggatag agtattggca agccacctgg attcctgagt gggaatttgt 3000

caataccct cctttagtaa aattatggta ccagttagag aaggaaccca taataggagc 3060

agaaactttc tatgtagatg gggcagctaa tagagagact aaattaggaa aagcaggata 3120

tgttactgac agaggaagac agaaagttgt ccctttcact gacacgacaa atcagaagac 3180

tgagttacaa gcaattaatc tagctttaca ggattcggga ttagaagtaa acatagtaac 3240

agattcacaa tatgcactag gaatcattca agcacaacca gataagagtg aatcagagtt 3300

agtcagtcaa ataatagagc agctaataaa aaaggaaaag gtttacctgg catgggtacc 3360

agcacacaaa ggaattggag gaaatgaaca agtagataaa ttagtcagtc agggaatcag 3420

gaaagtacta tttttggatg gaatagataa ggctcaggaa gaacatgaga aatatcacaa 3480

caattggaga gcaatggcta gtgattttaa cctaccacct gtggtagcga aagaaatagt 3540

agctagctgt gataaatgtc agctaaaagg agaagccatg catggacaag tagactgtag 3600

tccaggaata tggcaattag attgtacaca tctggaagga aaagttatcc tggtagcagt 3660

tcatgtagcc agtggctata tagaagcaga agttattcca gcagaaacgg ggcaagaaac 3720

agcatacttt ctcttaaaat tagcaggaag atggccagta aaagtagtac atacagataa 3780

tggcagcaat ttcaccagtg ctacagttaa ggccgcctgt tggtgggcag ggatcaaaca 3840

ggaatttgga attccctaca atccccaaag tcaaggagta gtagaatcta tgaataaaga 3900

attaaagaaa attataggac aggtaagaga tcaagctgaa catcttaaga cagcagtaca 3960

aatggcagta tttatccaca attttaaaag aaaaggggga attgggggat acagtgcagg 4020

ggaaagaata atagacataa tagcaacaga catacaaact agagaattac aaaaacaaat 4080

cataaaaatt caaaattttc gggtttatta cagggacagc agagatccaa tttggaaagg 4140

accagcaaag cttctctgga aaggtgaagg ggcagtagta atacaagaca atagtgacat 4200

aaaggtagta ccaagaagaa aagtaaagat cattagggat tatggaaaac agatggcagg 4260

tgatgattgt gtggcaagta gacaggatga ggattaac 4298

<210> 2

<211> 1499

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 2

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Ala Leu Lys

20 25 30

His Leu Ile Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Ile Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Ile Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn

65 70 75 80

Thr Ile Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Glu Arg Ile Glu Val Lys Asp

85 90 95

Thr Lys Glu Ala Val Glu Lys Met Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys

100 105 110

Lys Lys Thr Gln Gln Ala Ala Ala Asp Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn

115 120 125

Tyr Pro Ile Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His Gln Ala Ile

130 135 140

Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Ile Glu Glu Lys Ala

145 150 155 160

Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser Glu Gly Ala

165 170 175

Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly Gly His Gln

180 185 190

Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Asp Glu Ala Ala Glu

195 200 205

Trp Asp Arg Leu His Pro Val His Ala Gly Pro Val Ala Pro Gly Gln

210 215 220

Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Thr Leu

225 230 235 240

Gln Glu Gln Ile Ala Trp Met Thr Ser Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly

245 250 255

Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg

260 265 270

Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly Pro Lys Glu

275 280 285

Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu Arg Ala Glu

290 295 300

Gln Ala Ser Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr Leu Leu Val

305 310 315 320

Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala Leu Gly Pro

325 330 335

Gln Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly

340 345 350

Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser Gln Val Thr

355 360 365

Gly Ser Val Thr Ala Val Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Lys Gly Pro

370 375 380

Arg Lys Ser Ile Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Thr Ala

385 390 395 400

Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Arg

405 410 415

Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Ser Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu

420 425 430

Gly Lys Ile Trp Pro Ser His Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu Gln

435 440 445

Ser Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ser Phe Gly Phe Gly

450 455 460

Glu Glu Ile Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Gln Lys Asp Lys Glu Leu

465 470 475 480

Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp Pro Ser Ser

485 490 495

Gln Phe Phe Arg Glu Asp Leu Ala Phe Pro Gln Gly Lys Ala Gly Glu

500 505 510

Phe Ser Ser Glu Gln Thr Arg Ala Asn Ser Pro Thr Ser Arg Glu Leu

515 520 525

Arg Val Trp Gly Gly Asp Asn Pro Leu Ser Glu Thr Gly Ala Glu Gly

530 535 540

Gln Gly Thr Val Ser Phe Ser Phe Pro Gln Ile Thr Leu Trp Gln Arg

545 550 555 560

Pro Leu Val Thr Ile Lys Ile Gly Gly Gln Leu Lys Glu Ala Leu Leu

565 570 575

Asp Thr Gly Ala Asp Asp Thr Val Leu Glu Glu Met Asn Leu Pro Gly

580 585 590

Lys Trp Lys Pro Lys Met Ile Gly Gly Ile Gly Gly Phe Ile Lys Val

595 600 605

Arg Gln Tyr Asp Gln Ile Leu Ile Glu Ile Cys Gly Tyr Lys Ala Met

610 615 620

Gly Thr Val Leu Val Gly Pro Thr Pro Val Asn Ile Ile Gly Arg Asn

625 630 635 640

Leu Leu Thr Gln Ile Gly Cys Thr Leu Asn Phe Pro Ile Ser Pro Ile

645 650 655

Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Lys Val

660 665 670

Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Thr Glu Ile

675 680 685

Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser Arg Ile Gly Pro Glu

690 695 700

Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr

705 710 715 720

Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln

725 730 735

Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys

740 745 750

Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser

755 760 765

Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro

770 775 780

Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu

785 790 795 800

Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr

805 810 815

Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr

820 825 830

Gln Tyr Met Asp Asp Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln

835 840 845

His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Glu His Leu Leu Arg Trp Gly

850 855 860

Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp

865 870 875 880

Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Lys

885 890 895

Leu Pro Glu Lys Glu Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val

900 905 910

Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Ala Gly Ile Lys Val Lys

915 920 925

Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu Val Val

930 935 940

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

945 950 955 960

Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu

965 970 975

Ile Ala Glu Leu Gln Lys Gln Gly Asp Gly Gln Trp Thr Tyr Gln Ile

980 985 990

Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Arg Thr

995 1000 1005

Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val

1010 1015 1020

Gln Lys Ile Ala Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro

1025 1030 1035

Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp

1040 1045 1050

Ile Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val

1055 1060 1065

Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu

1070 1075 1080

Pro Ile Ile Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly Ala Ala Asn

1085 1090 1095

Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp Arg Gly

1100 1105 1110

Arg Gln Lys Val Val Pro Phe Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr

1115 1120 1125

Glu Leu Gln Ala Ile Asn Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu

1130 1135 1140

Val Asn Ile Val Thr Asp Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln

1145 1150 1155

Ala Gln Pro Asp Lys Ser Glu Ser Glu Leu Val Ser Gln Ile Ile

1160 1165 1170

Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Lys Val Tyr Leu Ala Trp Val Pro

1175 1180 1185

Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val

1190 1195 1200

Ser Gln Gly Ile Arg Lys Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys

1205 1210 1215

Ala Gln Glu Glu His Glu Lys Tyr His Asn Asn Trp Arg Ala Met

1220 1225 1230

Ala Ser Asp Phe Asn Leu Pro Pro Val Val Ala Lys Glu Ile Val

1235 1240 1245

Ala Ser Cys Asp Lys Cys Gln Leu Lys Gly Glu Ala Met His Gly

1250 1255 1260

Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile Trp Gln Leu Asp Cys Thr His

1265 1270 1275

Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu Val Ala Val His Val Ala Ser Gly

1280 1285 1290

Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu Thr Gly Gln Glu Thr
1295 1300 1305
Ala Tyr Phe Leu Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp Pro Val Lys Val

1310 1315 1320
Val His Thr Asp Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala Thr Val Lys
1325 1330 1335
Ala Ala Cys Trp Trp Ala Gly Ile Lys Gln Glu Phe Gly Ile Pro
1340 1345 1350
Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Glu Ser Met Asn Lys Glu
1355 1360 1365
Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu

1370 1375 1380
Lys Thr Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg
1385 1390 1395
Lys Gly Gly Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Ile Asp
1400 1405 1410
Ile Ile Ala Thr Asp Ile Gln Thr Arg Glu Leu Gln Lys Gln Ile
1415 1420 1425
Ile Lys Ile Gln Asn Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp

1430 1435 1440
Pro Ile Trp Lys Gly Pro Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly
1445 1450 1455
Ala Val Val Ile Gln Asp Asn Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg
1460 1465 1470
Arg Lys Val Lys Ile Ile Arg Asp Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly
1475 1480 1485
Asp Asp Cys Val Ala Ser Arg Gln Asp Glu Asp
1490 1495

<210> 3
<211> 129
<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 3

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Thr Trp
1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Ala Leu Lys
20 25 30

His Leu Ile Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Thr Leu Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Ile Gln Thr Gly Ser Glu Glu Ile Arg Ser Leu Tyr Asn
65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Glu Arg Ile Glu Val Lys Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Val Glu Lys Met Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
100 105 110

Lys Lys Thr Gln Gln Ala Ala Ala Asp Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn

115 120 125

Tyr

<210> 4

<211> 129

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 4

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Thr Trp
1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Ala Leu Lys
20 25 30

His Leu Ile Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Thr Leu Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Ile Gln Thr Gly Ser Glu Glu Ile Arg Ser Leu Tyr Asn
65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Glu Arg Ile Glu Val Lys Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Val Glu Lys Met Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
100 105 110

Lys Lys Thr Gln Gln Ala Ala Ala Asp Ser Ser Gln Val Ser Gln Asn
115 120 125

Tyr

<210> 5

<211> 132

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 5

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys
20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
65 70 75 80

Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys

100 105 110

Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly His Ser Asn Gln Val
115 120 125

Ser Gln Asn Tyr

130

<210> 6

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 6

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70 75

<210> 7

<211> 73

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 7

Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp Glu Lys

1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys His Ile

20 25 30

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro Gly Leu

35 40 45

Leu Glu Thr Thr Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu Gln Pro

50 55 60

Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70

<210> 8

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 8

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Gln Leu Asp Arg Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Glu Gln Leu
50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu
65 70 75

<210> 9

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 9

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys
20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Gly Gly Cys Arg Gln Ile Leu Glu Gln Leu
50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu
65 70 75

<210> 10

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400>

10

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Ile Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Ala Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
50 55 60

His Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu
65 70 75

<210> 11

<211> 73

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 11

Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Lys Trp Glu Lys
1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys His Ile
20 25 30

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro Gly Leu

35 40 45

Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Ala Gln Leu Gln Pro
50 55 60

Ser Leu Pro Thr Gly Ser Glu Glu Leu
65 70

<210> 12

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 12

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70 75

<210> 13

<211> 73

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400>

13

Ala Arg Ala Ser Ile Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp Glu Lys

1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile

20 25 30

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro Gly Leu

35 40 45

Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Ile Gln Ile Leu Gly Gln Leu Gln Pro

50 55 60

Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70

<210> 14

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 14

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Val Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Lys Ile Leu Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70 75

<210> 15

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 15

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Gln Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Glu Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Ile

65 70 75

<210> 16

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400>

16

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Gln Tyr Arg Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Gly Gly Cys Lys Gln Ile Leu Ala Gln Leu

50 55 60

His Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70 75

<210> 17

<211> 73

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 17

Ala Arg Ala Ser Ile Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp Glu Lys

1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Arg Tyr Arg Leu Lys His Ile

20 25 30

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro Gly Leu

35 40 45

Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Arg Gln Leu Gln Pro

50 55 60

Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70

<210> 18

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 18

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp

1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Arg Gly Lys Lys Lys Tyr Gln Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ser Val Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Arg Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ala Leu Gln Thr Gly Ser Glu Asp Phe

65 70 75

<210> 19

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400>

19

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70 75

<210> 20

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 20

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp

1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Ser Lys Lys Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro

35 40 45

Ser Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Leu Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70 75

<210> 21

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 21

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Gln Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro

35 40 45

Ser Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70 75

<210> 22

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 22

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Lys Trp

1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Ile Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70 75

<210> 23

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 23

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
20 25 30

His Val Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Lys Gln Ile Leu Ala Gln Leu
50 55 60

His Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu
65 70 75

<210> 24

<211> 72

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<220><221> misc_feature

<222> (18)..(18)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (51)..(51)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 24

Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp Glu Lys Ile
1 5 10 15

Arg Xaa Arg Gln Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val
20 25 30

Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro Gly Leu Leu
35 40 45

Glu Thr Xaa Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Glu Gln Leu Gln Pro Ala
50 55 60
Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu
65 70

<210> 25
<211> 75
<212> PRT
<213> Human immunodeficiency virus type 1
<400> 25

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

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
35 40 45
Gly Leu Leu Glu Thr Ser Gly Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
50 55 60
Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu
65 70 75

<210> 26
<211> 75
<212> PRT
<213> Human immunodeficiency virus type 1
<400> 26

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

65 70 75

<210> 27

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 27

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70 75

<210> 28

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 28

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Thr Trp

1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Ala Leu Lys

20 25 30

His Leu Ile Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Thr Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Gly Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Ile Gln Thr Gly Ser Glu Glu Ile

65 70 75

<210> 29

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 29

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Ile Ser Gln Leu

50 55 60

Gln Pro Ser Leu Lys Thr Gly Ser Glu Glu Leu

65 70 75

<210> 30

<211> 75

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 30

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Glu Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Arg Lys Thr Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Ala Gln Leu

50 55 60

Gln Ser Ser Ile Gln Thr Gly Ser Glu Glu Ile

65 70 75

<210> 31

<211> 73

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 31

Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Glu Trp Glu Lys
1 5 10 15

Ile Gln Leu Arg Pro Gly Gly His Lys Arg Tyr Lys Leu Lys His Ile
20 25 30

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Ile Asn Pro Gly Leu
35 40 45

Leu Glu Thr Ser Gly Gly Cys Arg Gln Ile Met Gly Gln Leu Gln Pro
50 55 60

Ala Ile Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu
65 70

<210> 32

<211> 73

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 32

Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp Glu Lys
1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Arg Lys Arg Tyr Arg Leu Lys His Ile
20 25 30

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro Gly Leu
35 40 45

Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile Ser Gln Leu Gln Pro
50 55 60

Ser Leu Lys Thr Gly Ser Glu Glu Leu
65 70

<210> 33

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 33

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

<210> 34
<211> 61
<212> PRT
<213> Human immunodeficiency virus type 1
<400> 34
Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Thr Trp
1 5 10 15
Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Ala Leu Lys
20 25 30
His Leu Ile Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Thr Leu Asn Pro
35 40 45
Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile

50 55 60
<210> 35
<211> 61
<212> PRT
<213> Human immunodeficiency virus type 1
<400> 35
Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp
1 5 10 15
Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys
20 25 30
His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 36

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 36

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Glu Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Arg Lys Thr Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 37

<211> 59

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 37

Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Glu Trp Glu Lys

1 5 10 15

Ile Gln Leu Arg Pro Gly Gly His Lys Arg Tyr Lys Leu Lys His Ile

20 25 30

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Ile Asn Pro Gly Leu

35 40 45

Leu Glu Thr Ser Gly Gly Cys Arg Gln Ile Met

50 55

<210> 38

<211> 59

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 38

Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp Glu Lys

1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Arg Lys Arg Tyr Arg Leu Lys His Ile

20 25 30

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro Gly Leu

35 40 45

Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Lys Gln Ile Ile

50 55

<210> 39

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 39

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Arg Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Met Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Lys Gln Leu Met

50 55 60

<210> 40

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<220><221> misc_feature

<222> (54)..(54)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 40

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ser Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Met Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Met Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Asp Leu Leu Glu Thr Xaa Glu Gly Cys Gln Gln Ile Xaa

50 55 60

<210> 41

<211> 59

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 41

Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp Glu Lys

1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Ile Lys His Leu

20 25 30

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro Gly Leu

35 40 45

Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Gln Ile Met

50 55

<210> 42

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 42

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Arg Tyr Arg Met Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Asp Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Lys Ile Met

50 55 60

<210> 43

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 43

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Thr Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Arg Lys Ser Tyr Lys Ile Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Asp Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Gln Ile Met

50 55 60

<210> 44

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 44

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Asp Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Ser Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Gln Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 45

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 45

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Arg Lys Lys Tyr Arg Met Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Asp Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Gln Ile Leu

50 55 60

<210> 46

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<220><221> misc_feature

<222> (42)..(42)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<220><221> misc_feature

<222> (49)..(49)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 46

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Ser Gly Gly Arg Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Xaa Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Xaa Leu Leu Glu Ser Ala Glu Gly Cys Gln Gln Ile Met

50 55 60

<210> 47

<211> 59

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 47

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

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro Asp Leu
35 40 45
Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Gln Gln Ile Ile
50 55

<210> 48
<211> 59
<212> PRT
<213> Human immunodeficiency virus type 1
<400> 48
Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ser Trp Glu Lys
1 5 10 15
Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys His Leu

20 25 30
Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro Ser Leu
35 40 45
Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Gln Ile Met
50 55

<210> 49
<211> 61
<212> PRT
<213> Human immunodeficiency virus type 1
<400> 49
Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Arg Gly Glu Lys Leu Asp Thr Trp
1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Met Met Lys
20 25 30
His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Ala Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Arg Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 50

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 50

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Gln Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Arg Tyr Met Leu Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Arg Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 51

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 51

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Arg Gly Glu Lys Leu Asp Thr Trp

1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Met Met Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Ala Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Arg Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 52

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 52

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Gln Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Arg Tyr Met Leu Lys
20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro
35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Arg Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 53

<211> 59

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 53

Ala Arg Ala Ser Ile Leu Arg Gly Gly Gln Leu Asp Arg Trp Glu Lys
1 5 10 15

Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys His Tyr Met Leu Lys His Leu
20 25 30

Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Val Leu Asn Pro Gly Leu
35 40 45

Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Lys Gln Ile Met

50 55

<210> 54

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 54

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Thr Gly Glu Lys Leu Asp Ala Trp
1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Met Ile Lys
20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 55

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 55

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Arg Lys Lys Tyr Arg Met Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Gln Leu Ile

50 55 60

<210> 56

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 56

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Gln Leu Lys

20 25 30

His Val Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 57

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 57

Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Thr Gly Glu Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Met Ile Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ala Glu Gly Cys Gln Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 58

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 58

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Asp Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Gln Tyr Lys Leu Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Lys Ile Ile

50 55 60

<210> 59

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 59

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Arg Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Met Lys

20 25 30

His Leu Ile Trp Ala Gly Arg Glu Leu Asp Arg Phe Ala Leu Asp Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Lys Ile Ile

50 55 60

<210> 60

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 60

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Met Lys

20 25 30

His Leu Ile Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asp Ser

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Thr Glu Gly Cys Arg Lys Ile Ile

50 55 60

<210> 61

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 61

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Arg Lys Lys Tyr Lys Met Lys

20 25 30

His Leu Ile Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asp Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Lys Ile Ile

50 55 60

<210> 62

<211> 38

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 62

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

<210> 63

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 63

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

50 55 60

<210> 64

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 64

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

Asp Leu Leu Asp Thr Ala Glu Gly Cys Leu Gln Leu Ile

50 55 60

<210> 65

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 65

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Gly Leu Leu Glu Thr Pro Glu Gly Cys Leu Gln Ile Ile

50 55 60

<210> 66

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<220><221> misc_feature

<222> (61)..(61)

<223> Xaa can be any naturally occurring amino acid

<400> 66

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp

1 5 10 15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys

20 25 30

His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Asp Arg Phe Ala Leu Asn Pro

35 40 45

Asp Leu Leu Glu Thr Ala Asp Gly Cys Leu Lys Ile Xaa

50 55 60

<210> 67

<211> 61

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus type 1

<400> 67

```
Met Gly Ala Arg Ala Ser Ile Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Asp Trp
1               5                  10                  15

Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Gln Tyr Arg Ile Lys
            20                  25                  30
His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Asp Arg Phe Ala Leu Asn Pro
        35                  40                  45
Gly Leu Leu Glu Ser Ala Lys Gly Cys Gln Gln Ile Leu
    50                  55                  60
```