

[19]中华人民共和国国家知识产权局

[51]Int. Cl<sup>7</sup>

# [12] 发明专利说明书

C07K 7/06

C07K 14/155

A61K 38/08 A61K 39/12

A61P 31/18

[21] ZL 专利号 94193851.4

[45]授权公告日 2000年8月23日

[11]授权公告号 CN 1055701C

[22]申请日 1994.10.19 [24]颁证日 2000.6.10

[21]申请号 94193851.4

[30]优先权

[32]1993.10.19 [33]JP [31]261302/1993

[86]国际申请 PCT/JP94/01756 1994.10.19

[87]国际公布 WO95/11255 日 1995.4.27

[85]进入国家阶段日期 1996.4.19

[73]专利权人 味之素株式会社

地址 日本东京都

[72]发明人 滝口雅文 三轮清志

[56]参考文献

WO9101996 1991.2.1 C07K7/08

WO9310816 1993.6.10 A61K39/21

审查员 周 莉

[74]专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事  
务所

代理人 段承恩

权利要求书 2 页 说明书 50 页 附图页数 4 页

[54]发明名称 能诱导对 HIV 免疫应答的肽及含有该肽  
的预防、治疗 AIDS 的药物

[57]摘要

本发明涉及一种作为 HIV 全蛋白的片断,该片断为含有 8—11 个氨基酸的连续序列的肽,相当于 HLA 结合基序,能与 HLA 实际结合且能诱导以 HIV 感染细胞为靶细胞的杀伤细胞,这种肽作为 AIDS 的预防、治疗药很有效。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

# 权 利 要 求 书

---

1.具有 8 - 11 个氨基酸的连续序列的肽,是一种与 HLA 结合的基序,能与 HLA 实际结合且能诱导以 HIV 感染细胞为靶细胞的杀伤细胞,其中该序列的第 2 位氨基酸残基是 Pro 且其 C 末端是选自 Tyr、Leu、Ile、Met、Phe 和 Ala 中的氨基酸残基。

2.权利要求 1 中记载的肽,该肽具有序列号 1 - 24 中任一种氨基酸序列。

3.权利要求 1 中记载的肽,该肽具有序列号 1 - 13 中任一种氨基酸序列。

4.具有 8 - 11 个氨基酸的连续序列的肽,是一种与 HLA 结合的基序,能与 HLA 实际结合且能诱导以 HIV 感染细胞为靶细胞的杀伤细胞,其中该序列的第 2 位是选自 Pro、Ala 及 Gly 的氨基酸残基,C 末端是选自 Ile、Leu、Val、Phe 及 Met 的氨基酸残基。

5.权利要求 4 中记载的肽,该肽具有序列号 25 - 44 和 46 中的任一种氨基酸序列。

6.具有 8 - 11 个氨基酸的连续序列的肽,是一种与 HLA 结合的基序,能与 HLA 实际结合且能诱导以 HIV 感染细胞为靶细胞的杀伤细胞,其中该序列的第 2 位是选自 Leu、Val、Tyr 及 Phe 中的氨基酸残基,C 末端是 Arg。

7.权利要求 6 中记载的肽,该肽具有序列号 47 - 63 中的任一种氨基酸序列。



8. 编码权利要求 1 中记载的肽的 DNA。

9. 含有权利要求 1 中记载的肽及医药上允许使用的载体和/或稀释剂的预防、治疗 AIDS 的药物。

10. 含有权利要求 3 中记载的肽及医药上允许使用的载体和/或稀释剂的预防、治疗 AIDS 的药物。

11. 含有权利要求 4 中记载的肽及医药上允许使用的载体和/或稀释剂的预防、治疗 AIDS 的药物。

12. 含有权利要求 6 中记载的肽及医药上允许使用的载体和/或稀释剂的预防、治疗 AIDS 的药物。

13. 选取能诱导以 HIV 感染细胞为靶细胞的杀伤细胞的肽的方法，其特征在于包括以下步骤：合成作为 HIV 全蛋白片断的含有 8 - 11 个氨基酸的连续序列的相当于 HLA 结合基序的肽；将得到的肽加入缺乏 TAP 抗原且能够表达 HLA I 类抗原的细胞中，选择能够在 37℃ 下在细胞表面保持 HLA 表达的肽；然后从选择的合成肽中选取与 HLA I 类抗原结合并能通过刺激 HIV 疾病患者末梢淋巴细胞从而诱导杀伤细胞的肽。

14. 编码权利要求 4 中记载的肽的 DNA。

15. 编码权利要求 6 中记载的肽的 DNA。

## 说 明 书

---

能诱导对 HIV 免疫应答的肽及含有该肽的预防、治疗 AIDS 的药物

本发明是关于一种含有人类免疫缺陷病毒(Human Immunodeficiency Virus, 以下略为 HIV)蛋白的部分区域的氨基酸序列且能诱导对 HIV 免疫应答的肽及含有该肽的预防、治疗 AIDS 的药物。

众所周知, 获得性免疫缺陷综合症(Acquired Immunodeficiency Disease Syndrome, 以下略为 AIDS)是因感染 HIV 而引起的疾病。人们正积极地研究开发治疗这种疾病的药物, 叠氮脱氧胸苷(以下略为 AZT)、双脱氧肌苷(以下略为 DDI)等药物已在实际中应用, 但存在疗效及副作用等问题, 还没有发现能彻底治疗由感染 HIV 引起的疾病的药物, 前景也难以预测。另一方面, 通过增加对 HIV 的免疫抵抗力预防 HIV 感染和抑制 AIDS 发病的疫苗, 作为可望防止这种疾病在世界范围内的迅速蔓延的最后手段, 正在被广泛地研究。至今已设计出多种类型的疫苗, 部分疫苗进入了临床试验, 但还没有发现实际应用中证实对人有效的预防感染或抑制发病的疫苗。

迄今为止, 已知的疫苗种类有:

i) 采用灭活或减毒病毒颗粒的疫苗已知有引起与 HIV 病原性相关的基因突变而致缺失的方法(Droc. Natl. Acad. Sci. USA, 84 1434(1987))、应用与 HIV 有共同的抗原性的猴子等的类似病毒的方法(Science, 232, 238, (1987)), 但因有潜在的危 险 而 不 容 易 实

用。

ii) 采用病毒部分抗原蛋白的亚单位疫苗: 用基因重组的方法等生产只含有病毒颗粒的部分抗原蛋白作为免疫原的方法 (Proc. Natl. Acad. Sci USA, 84, 6924, (1987)、Ann. Int. Med., 114 119, 1991)、(Nature, 355, 728 (1992))。这是最广泛尝试的方法, 临床试验的例子也多。但是存在诸如中和抗体滴度不升高、抗体滴度的持续时间等应该解决的问题。还有这种方法增强产生抗体等的体液免疫的效果, 很难与杀伤感染细胞的细胞免疫的激活相关联, 从 HIV 的感染方式看单纯应用这种方法未必对预防感染有效。

iii) 牛痘病毒及 BCG 菌等的重组活疫苗: 将取自 HIV 的部分基因序列整合到可在人体细胞内增殖的牛痘病毒及 BCG 菌等的基因中使其表达理论上可望有增强细胞免疫的效果。问题在于对于免疫力低下的患者即使是通常无害的牛痘病毒也有引起严重感染的可能以及至少迄今为止研制出来的牛痘重组活疫苗都没能引起充分的免疫应答等。

iv) 抗个体遗传型抗体: 有报告关于不采用病毒抗原而以抗个体遗传型抗体为免疫原的方法 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89 2546, (1992))。

v) 合成肽疫苗: 对化学合成中和抗体的决定区域的肽序列等进行了研究, 特别是包被糖蛋白 gp120 的  $V_3$  区域是主要的中和决定区域, 正在进行以合成的  $V_3$  区肽作为疫苗的尝试 (Proc Natl. Acad. Sci, USA, 86, 6768, (1989))。关于这些疫苗的研究开发情况记载于高桥秀实, 《实验医学》11 卷 655—8661 页 (1993); 奥田研尔山川正, 《临床上微生物》20 卷 55—62 页; A. T. Profy, BIOMedica 8 卷 133—

139 页等处。

上述至今为止的对疫苗的研究开发以通过诱导产生中和抗体来增强体液免疫的类型为主。但是与 HIV 作为自由的病毒颗粒相比，它更容易靠感染的细胞与未感染的细胞的融合传播。因此，依靠杀伤感染细胞的细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T Cell, 以下略为 CTL)的细胞免疫比依靠中和抗体的体液免疫在防御感染上更重要。实际上，通过调查那些有感染 HIV 的机会但感染未成立的个体，常常在血液中检测不到抗体而存在 CTL，因此有人报告早期诱导 CTL 对于预防感染很重要(J. Infec. Dis. , 164, 178, (1992))。

所以本发明的发明者们研究了能诱导特异地杀伤 HIV 感染的细胞的 CTL 的肽，旨在于以此治疗或预防 AIDS。

为了有效地诱导针对 HIV 感染细胞的 CTL，鉴定 CTL 能识别的抗原决定部位并把它应用到疫苗中是极重要的。至今为止采用的方法是首先建立特异的针对 HIV 的 CTL 克隆，然后鉴定这种 CTL 克隆识别的抗原决定部位(Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 85, 3105, (1988))。采用这种方法通过众多的人白血球抗原(以下略为 HLA)I 类抗原来鉴定提呈给 CTL 的 HIV 抗原决定部位，这需要合成大量的肽，要花费大量的时间和费用，因此抗原决定部位的鉴定也没有进行。

CTL 通过靶细胞表面表达的主要组织相容性抗原复合体(以下略为 MHC) I 类抗原识别抗原提呈的抗原决定肽，攻击靶细胞，但最近已证实，在特异的 MHC I 类抗原上结合的被抗原提示的抗原决定肽是一种大致 9 链长的肽，其氨基酸序列有一定的规律性(motif)(Nature, 351, 290, (1991)、Eur. J. Immunol. , 22, 2453, (1992)、

Nature, 353, 326, (1991)、Nature, 360 434, (1992)、Immunogenetics, 38, 161, (1993))。

本发明的目的在于提供能诱导对 HIV 免疫应答的肽。

本发明的目的也在于提供编码上述肽的 DNA。

本发明的目的还在于提供含有上述肽的预防治疗 AIDS 的药物。

本发明的目的还在于提供能诱导对 HIV 免疫应答的肽的选取方法。

下述记载会使本发明的上述及其他目的更清楚。

本发明从可能与各种 HLAI 类抗原结合的自身抗原肽的基序 (motif) 推定可能与 HLAI 类抗原结合的 HIV 肽并合成推定的 HIV 肽。转化细胞表层存在大量未被肽结合的表达的 HLAI 类抗原。选择与大量表达在其表层的 HLAI 类抗原实际结合的肽。

然后从选出的肽中得到与 HLAI 类抗原结合并能刺激患者末梢血淋巴细胞从而诱导 CTL 的该合成肽, 将其用于预防、治疗 AIDS。本发明是基于上述发现完成的。

即本发明提供的肽是 HIV 全部蛋白的片断、该片断含有 8—11 个氨基酸的连续序列、相当于与 HLA 结合的基序、实际与 HLA 结合并能诱导以 HIV 感染细胞为靶细胞的杀伤细胞。

本发明也提供编码上述肽的 DNA。

本发明还提供含有上述肽及医药上允许的载体和/或稀释剂的预防、治疗 AIDS 的药物。

本发明还提供选取能诱导以感染 HIV 细胞为靶细胞的杀伤细胞的肽的方法。其特征是合成属于 HIV 全部蛋白的片断、含有 8—11

个连续序列的氨基酸、相当于与 HLA 结合的基序的肽。从合成的肽中选出与 HLA 实际结合的肽，然后从中选出与 HLA I 类抗原结合并能刺激 HIV 疾病患者的末梢淋巴细胞从而诱导杀伤细胞的肽。

附图说明：

图 1 所示为 RMA-S-B\*3501 细胞上 HLA-B\*3501 抗原表达水平的变化。图中△指与 HLA-B\*3501 抗原具有结合性的自身抗原肽 28H(LPGPKFLQY)、○指 37F(LPFDFTPGY)、□指加入无结合活性的肽 MP-1(KGILGKVFTLTV)的 HLA-B\*3501 表达水平的变化。

图 2 所示为使用 HIV(B35)-16 作为肽时的特异细胞杀伤活性。图中●指标记靶细胞为 T<sub>2</sub>-B\*3501 细胞、○指标记靶细胞为 T<sub>2</sub> 细胞，作为对照。用肽刺激培养的患者末梢淋巴细胞采用 3 种不同数量的细胞计数  $1 \times 10^5$ ， $2.5 \times 10^4$ ，或者  $6.25 \times 10^3$ 。图中所示特异的细胞杀伤活性值是细胞数  $1 \times 10^5$  个时的结果。

图 3 所示为使用 HIV(35)-18 作为肽时的特异细胞杀伤活性。图中●指标记靶细胞为 T<sub>2</sub>-B\*3501 细胞、○指标记靶细胞为 T<sub>2</sub> 细胞，作为对照。用肽刺激培养的患者末梢淋巴细胞采用 3 种不同数量的细胞计数  $1 \times 10^5$ ， $2.5 \times 10^4$ ，或者  $6.25 \times 10^3$ 。图中所示特异的细胞杀伤活性值是细胞数  $1 \times 10^5$  个时的结果。

图 4 所示为使用 HIV(B35)-POL-2 $\alpha$  作为肽时的特异细胞杀伤活性。图中●指标记靶细胞为 T<sub>2</sub>-B\*3501 细胞、○指标记细胞为 T<sub>2</sub> 细胞，作为对照。用肽刺激培养的患者末梢淋巴细胞采用 3 种不同数量的细胞计数  $1 \times 10^5$ ， $2.5 \times 10^4$ ，或者  $6.25 \times 10^3$ 。图中所示特异的细胞杀伤活性值是细胞数  $1 \times 10^5$  个时的结果。



HIV 的全部蛋白记载于如 Nature Vol. 313, P277—283(1985)、Proc. Natl., Acad. Sci USA Vol. 83, P2209—2213(1986)等中。本发明的肽是上述 HIV 全部蛋白的片断。该片断是含有 8—11 个最好是 9—11 个氨基酸的连续序列的肽。本发明的肽还必须相当于 HLA 结合基序, 与 HLA 实际结合。这里, HLA 结合基序是 8—11 个氨基酸的序列, 包括: 第 2 位氨基酸是 Pro, C 末端是 Tyr、Leu、Ile、Met、Phe 及 Ala 中的任一种氨基酸的序列; 第 2 位氨基酸是 Pro、Ala、Gly 中的任一种氨基酸, C 末端是 Ile、Leu、Val、Phe 及 Met 中的任一种氨基酸的序列; 第 2 位氨基酸是 Leu、Val、Tyr 及 Phe 中的任一种氨基酸, C 末端是 Arg 的序列。本发明中相当于与 HLA 结合的基序的肽实际上与 HLA 结合与否, 可用含有 HLA I 类抗原的细胞确定。这样的细胞有 RMA—S—B\* 3501 细胞、RMA—S—B\* 5101 细胞及 RMA—S—A\* 3101 细胞等。这些细胞可以将 HLA—B\* 3501 基因、HLA—B\*—5101 基因及 HLA—A\* 3101 基因导入 RMA—S 细胞、很容易得到。有关 RMA—S 细胞记载于 Liunggren et al., J. Immunol., 142, 2911, (1989)。

本发明中与 HLA I 类抗原结合的合成 HIV 肽还必须在实际应用中刺激患者的末梢血淋巴细胞从而诱导 CTL, 即能诱导以感染 HIV 的细胞为靶细胞的杀伤细胞。

例举出序列号从 1 至 63 的具备这些条件的肽。

序列号 1—24 中的任一种氨基酸序列的肽都能与 HLA—B3501 抗原结合, 是利用 RMA—S—B\* 3501 细胞得到的。序列号 25—46 中的任一种氨基酸序列的肽都能与 HLA—B51 抗原结合, 是利用 RMA—S—B\* 5101 细胞得到的。还有, 序列号 47—63 中的任一种

氨基酸序列的肽都能与 HLA-A3101 抗原结合，是利用 RMA-S-A\*3101 细胞得到的。本发明得到肽的方法将在以后的实施例中详细说明。

序列号 1-63 中的任一种氨基酸序列的肽都可用本行业人员周知的方法合成或生产。近年来肽合成器的发展使由数十个氨基酸残基构成的肽能容易地生产出来。或者，将编码序列号 1-63 中任何一种氨基酸序列肽的 DNA 连接于适当的表达载体，也可以通过培养由此被转化了的大肠杆菌属细菌等的细胞来生产。这种用基因重组技术生产蛋白质、肽等的方法是本行业人员所熟知的。

编码序列号 1-63 中任何一种氨基酸序列的肽的 DNA 能从序列号 1-63 中任何一种氨基酸序列演译出来。各氨基酸所对应的密码是本行业人员周知的。将该 DNA 导入细胞使之表达时，各种细胞倾向选择的密码不同，因此应考虑这个因素。例如：使用大肠杆菌属细菌细胞内倾向选择的密码时，以编码序列号为 3 的氨基酸序列的肽的 DNA 为例，有编码序列号为 64 的 DNA 的碱基序列；以编码序列号为 4 的氨基酸序列的肽的 DNA 为例，有编码序列号为 65 的 DNA 的碱基序列；以编码序列号为 5 的氨基酸序列的肽的 DNA 为例，有编码序列号为 66 的 DNA 的碱基序列。

序列号 1-63 中任一种氨基酸序列的肽都是 T 细胞抗原决定部位，能诱导 HIV 特异的 CTL，因此作为疫苗很有用。实际作为疫苗使用时，单纯肽的溶液、或者加上适当的辅助剂注射给药或用喷雾等方法经粘膜透皮吸收等给药方式都有好的效果。给药量每次 0.1-100mg，单次或重复给药。如果同时应用多个用上述方法选出的抗原决定肽，大都会产生更好的效果。制剂上冷冻干燥，加入糖等

赋形剂制成颗粒也可，并不需要任何特殊的東西。注射給药时，用注射用蒸馏水溶解后使用。本药是肽类化合物，不存在用上述給药方法成为问题的严重的急性毒性。

为提高疫苗的免疫原性而添加的佐剂可使用：BCG 菌等的菌体成分、Morein 等人开发的从 Quilla 树皮提取的 ISCOM (Immunostimulating Complex) (Nature, 308, 457, (1984) Nature, 344, 873, (1999))、皂角苷系列的 QS-21 (J. Immunol., 148 1438, (1992))、脂质体 (J. Immunol., 148, 1585, (1992))、氢氧化铝 (alum, 明矾)、KLH (Keyhole Lympet Hemocymen) (J. Virol., 65, 489, (1991)) 等。上述早先的文献及 Sciencel, 255, 333, (1992) 等也论述了用这样的方法在生物体内能诱导 CTL 等的免疫应答。

本发明通过采用下面两种方法使用抗原决定肽可有效适用：于试管内将该抗原决定肽给予取自患者的细胞或具有单倍型 HLA I 类抗原的细胞，使经抗原提示后，将细胞注入患者血管使其在患者体内有效地诱导 CTL 的方法以及将同一肽加入患者末梢血淋巴细胞在试管内培养，使试管内的 CTL 被诱导增殖后再回注给患者的方法。在序列号 1-24 中任一种氨基酸序列的肽的存在下培养具有 HLA-B\*3501 抗原的末梢血淋巴细胞得到的细胞毒性 T 细胞可作为抗 AIDS 疫苗应用。实际操作是患者末梢血淋巴细胞每  $10^7-10^9$  中加入该肽 0.01-1mg，培养数小时到 1 天后注入患者静脉中。或者是还可以用加入重组白细胞介素 2 (recombinant IL-2) 50u/ml 和该肽 1 $\mu$ g/ml 的培养液不断更换培养基连续培养数周，在试管内诱导 CTL 后经静脉给患者注入。培养的方法用本行业人员熟知的常规方法即可。培养后用离心分离等方法洗涤培养成分后，用生理盐水等

制成混悬液给药。这种细胞注入治疗已经作为癌的治疗方法应用，是本行业人员熟知的方法(New Eng. J. Med. , 313, 4185, (1985)、Science, 233, 1318, (1986))。

另外，本发明发现的 CTL 抗原决定部位也可活用于基因重组的牛痘病毒、BCG 菌等的活疫苗即将编码序列号 1-63 中任一种氨基酸序列的肽的 DNA 整合入这些基因重组活疫苗表达的基因重组抗原蛋白基因中，该肽序列作为抗原蛋白的一部分表达后，在细胞内被加工并被 HLA I 类抗原提呈，能诱导识别它的 CTL。BCG 菌表达外来基因的方法详细记载于国际专利公开号为 WO88/06626 的专利中。关于 BCG 菌重组活疫苗详细记载于 J. Exp. Med. , 178, 197, (1993)。给药量、给药方法可依照通常的种痘、BCG 疫苗标准。急性毒性等也与通常的种痘、BCG 疫苗没什么不同。只是牛痘病毒在 AIDS 发病、免疫力低下的患者有引起严重感染的危险，使用治疗疫苗必须慎重。BCG 疫苗还没有这样的例子。用这样的方法能在生物体内诱导 CTL 等的免疫应答记载在 Nature, 332, 728, (1988)、Nature, 351, 479, (1991) 等处。

HIV 疫苗存在的严重问题是 HIV 很容易发生突变从而逃脱宿主免疫。所以作为免疫原只含有一种抗原决定肽的疫苗很可能不久就失效。因此以本发明发现的众多的抗原决定肽作为免疫原的疫苗有很高的实用性。

下面通过实施例详细说明本发明。

#### 实施例 1

(1) 通过与 HLA-B\*3501 结合的自身抗原肽基序推测与 HLA-B\*3501 结合的 HIV 肽。

与 HLA-B\* 3501 结合的自身抗原肽的基序在此之前已清楚 (Nature, 360, 434, (1992)、Immunogenetics, 38, 161(1993), 由此推定来自 HIV 蛋白的肽中与自身抗原肽同样由 8—12 个氨基酸构成、第 2 位是 Pro, C 末端是 Tyr、Leu、Ile、Met、Phe 中的任一种氨基酸的肽容易与 HLA-B\* 3501 结合。构成 HIV 全部蛋白质的氨基酸序列已经被报告过, 从中选出与 HLA-B\* 3501 结合的自身抗原肽的基序相一致的肽。HIV 的 ARV-2 株 HIV 的蛋白质序列中与此相合的肽如表 1 所示有 58 种。这些肽用岛津制作所生产的肽合成机合成, 供测定与 HLA-B\* 3501 抗原结合实验用。

表 1

HIV(B35)-1	RPGGKKKY	HIV(B35) 11	PPFLWMGY
HIV(B35)-2	VPLRPMTY	HIV(B35)-13	PPLVKLWY
HIV(B35)-3	TPGPGIRY	HIV(B35)-14	NPDIVIYQY
HIV(B35)-4	PPIPVGEIY	HIV(B35)-15	EPPFLWMGY
HIV(B35)-5	GPKEPFRDY	HIV(B35) 16	TPPLVKLWY
HIV(B35)-6	QPKTACTTCY	HIV(B35)-18	EPIVGAETFY
HIV(B35)-7	NPPIPVGEIY	HIV(B35)-19	EPFKNLKTGKY
HIV(B35)-8	EPFRDYVDRFY	HIV(B35)-20	IPAETGQETAY
HIV(B35)-10	TPGIRYQY		
HIV(B35)GAG-8	TPQDLNTML	HIV(B35)GAG-21	GPGHKARVL
HIV(B35)GAG-13	NPPIPVGEI	HIV(B35)GAG-26	APPEESFRF
HIV(B35)GAG-20	GPAATLEEM		

HIV(B35)POL-1	LPGRWKPKM	HIV(B35)POL-20	SPAIFQSSM
HIV(B35)POL-7	VPVKLKPGM	HIV(B35)POL-27	YPCIKVRQL
HIV(B35)POL-9	GPKVKQWPL		
HIV(B35)ARV2-1	EPIDKELY	HIV(B35)ARV2-25	EPIVGAETF
HIV(B35)ARV2-2	EPVHEVYY	HIV(B35)ARV2-26	QPKSESEL
HIV(B35)ARV2-3	QPRACNNCY	HIV(B35)ARV2-27	LPPVVAKEI
HIV(B35)ARV2-4	VPLDKDFRKY	HIV(B35)ARV2-28	VPRRKAKII
HIV(B35)ARV2-5	RPWLHSLGQY	HIV(B35)ARV2-29	DPGLADQLI
HIV(B35)ARV2-6	RPQVPLRPMTY	HIV(B35)ARV2-30	TPKKTKPPL
HIV(B35)ARV2-7	RPNNNTRKSIY	HIV(B35)ARV2-31	PPLPSVKKI
HIV(B35)ARV2-8	FPVRPQVPL	HIV(B35)ARV2-32	FPRPWLHSL
HIV(B35)ARV2-9	RPQVPLRPM	HIV(B35)ARV2-33	DPNPQEVVL
HIV(B35)ARV2-10	RRPMTYKAAL	HIV(B35)ARV2-34	KPCVKLTPL
HIV(B35)ARV2-11	YPLTFGWCF	HIV(B35)ARV2-35	CPKVSFEP I
HIV(B35)ARV2-12	LPPLERLTL	HIV(B35)ARV2-36	RPIVSTQLL
HIV(B35)ARV2-18	TPSQKQEPI	HIV(B35)ARV2-37	DPEIVMHSF
HIV(B35)ARV2-19	YPLTSLRSL	HIV(B35)ARV2-38	LPCR I KQII
HIV(B35)ARV2-20	LPGKWKPKM	HIV(B35)ARV2-39	SPLSFQTRL
HIV(B35)ARV2-24	IPLTEEAEL		

## (2)合成 HIV 肽与 HLA-B\*3501 抗原结合的测定

用表达 HLA-B\*3501 的小鼠细胞株 RMA-S 株测定合成的 HIV 肽是否结合。

### 2-1, RMA-S-B\*3501 细胞的制备

HLA-B\*3501 基因可用原来报告过的方法从含有这个抗原的人末梢血淋巴细胞染色体 DNA 克隆化取得(Ooba et al., Immuno-

genetics, 30, 76 (1989))。即用常规方法从含有 HLA-B\*3501 抗原的人末梢血淋巴细胞制备染色体 DNA, 用限制性酶 EcoRI 消化后经蔗糖密度梯度离心得到 6.0—8.5Kb 的片断。将这些 DNA 片断插入噬菌体载体  $\lambda$ ZAP(购自东洋纺社)制成基因组文库。以 HLA-B7CDNA (Coppin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82 8614, (1985)为探针筛选这个文库, 得到含有 HLA-B\*3501 基因的克隆。得到的基因用 electro poration 法移入 RMA-S 细胞(Liunggren et al., J. Immunol., 142, 2911(1989)), 通过应用 HLA-Bw6 单克隆抗体、SFR8、B6(ATCC HB152)的 flowcytomltry 来选择表达基因的细胞。RMA-S-B\*3501 细胞已委托通产省工业技术院生命工学工业技术研究所保藏, 保藏编号为 FERM BP-4727。

2-2 用 RMA-S-B\*3501 细胞测定合成的 HIV 肽与 HLA-B\*3501 细胞抗原的结合。

RMA-S 细胞是缺乏 TAP(Transporter Associated Protein)抗原的小鼠细胞株。因此, 在 37℃培养时, 细胞表面只表达低水平的 MHC I 类抗原。但已经发现在低温(26℃)培养时, 未结合肽的 I 类抗原在细胞表面高水平表达(Liunggren et al., Nature, 346, 476, (1990))。

RMA-S-B\*3501 细胞也同样在 26℃培养时 HLA-B\*3501 抗原在细胞表面高水平表达, 但在 37℃培养时表达水平低下。而且 26℃培养的 RMA-S-B\*3501 细胞置于 37℃3 小时, 其 HLA-B\*3501 抗原的表达则与 37℃培养的情形相同, 表达量减低。但是未结合肽的 HLA-B\*3501 抗原结合了从外面加入的肽时, 肽结合的 HLA-B\*3501 抗原即使置于 37℃也不消失, 保持高表达量。图 1

表示加入与 HLA-B\*3501 抗原有结合活性的自身抗原肽 28H (LPGPKFLQY: 图中用△表示)、37F (LPFDFTPGY: 图中用○表示) 和无结合活性的肽 MP-1 (KGILGKVFTLTV: 图中用□表示) 时, HLA-B\*3501 表达水平的变化。得出了 HLA-B\*3501 抗原的表达量依赖于有结合活性的肽的加入量的结论。关于有与 HLA-B\*3501 抗原结合活性的自身抗原肽 28H、37F 和无结合活性的肽 MP-1, 记载在 Nature, 360, 434 (1992)、Immunogenetics, 38, 161 (1993)。因此, 这个实验体系以 HLA-B\*3501 抗原的细胞表层表达量为指标首次能容易地测定外加肽与 HLA-B\*3501 结合的活性。实际测定被测肽的结合操作是于 26°C 培养的 RMA-S-B\*3501 细胞中加入该肽, 在 26°C 下放置 1 小时, 然后 37°C 放置 3 小时后使用抗 HLA-Bw6 单克隆抗体、SFR8·B6 和 flowcytometry 测定 HLA-B\*3501 抗原的表达水平。▲: 未添加肽的对照、●: 未添加肽且只在 26°C 培养的对照, ■: 未加肽且只在 37°C 培养的对照。

测定了 58 种 HIV 肽与 HLA-B\*3501 抗原的结合, 如表 2 所示 26 种肽发生了结合。

表 2

结合的亲和性	肽	序列	位置
高亲和性	HIV(B35)-3	TPGPGIRY	nef 133-139
	HIV(B35)-14	NPDIVIYQY	pol 330-338
	HIV(B35)ARV2-8	FPVVRPQVPL	nef 72-80
中亲和性	HIV(B35)-16	TPPLVKLWY	pol 574-582
	HIV(B35)-18	EPIVGAETFY	pol 587-596



	HIV(B35)-20	IPAETGQETAY	pol 804-814
	HIV(B35)POL-20	SPAIFQSSM	pol 311-319
	HIV(B35)ARV2-11	YPLTFGWCF	nef 139-147
	HIV(B35)ARV2-19	YPLTSLRSL	gag 486-494
	HIV(B35)ARV2-25	EPIVGAETF	pol 587-595
低亲和性	HIV(B35)-7	NPPIPVGEIY	gag 255-264
	HIV(B35)-8	EPFRDYVDRFY	gag 293-303
	HIV(B35)-15	EPPFLWMCY	pol 379-387
	HIV(B35)-19	EPFKNLKTGKY	pol 587-596
	HIV(B35)GAG-20	GPAATLEEM	gag 340-348
	HIV(B35)GAG-26	APPEESFRF	gag 459-467
	HIV(B35)ARV2-1	EPIDKELY	gag 479-486
	HIV(B35)ARV2-2	EPVHEVYY	pol 467-474
	HIV(B35)ARV2-4	VPLDKDFRKY	pol 273-282
	HIV(B35)ARV2-6	RPQVPLRPMTY	nef 75-85
	HIV(B35)ARV2-9	RPQVPLRPM	nef 75-83
	HIV(B35)ARV2-12	LPPLERLTL	rev 75-83
	HIV(B35)ARV2-24	IPLTEEAEL	pol 448-456
	HIV(B35)ARV2-33	DPNPQEVVL	env 77-85
	HIV(B35)ARV2-36	RPIVSTQLL	env 255-263
	HIV(B35)ARV2-38	LPCR1KQ11	env 413-421

(3)与 HLA-B\*3501 结合的肽诱导感染 HIV 患者的 CTL 的作用。

具有 HLA-B\*3501 的感染 HIV 患者 3 人:患者 A(HLA-A24/31, B35/61, Cw3/-)、患者 B(HLA-A24/26, B35/61, Cw3/-)及患者 C(HLA-A24/26, B35/51, Cw3/-)。分离他们的淋巴细胞。淋巴细胞的分离采用常用的 Ficoll-Cnray 比重离心法(矢田纯一、藤原道夫编著,《新淋巴球机能检索法》,中外医学社(1987)、《新生化学实验讲座 12·分子免疫学 I》,东京化学同人(1989)。即用加肝素的注射器采血后用生理盐水稀释加到 Ficoll-Paquel 分离液(Pharmacia 公司)上分层后室温下以 400xg 离心 30 分钟。用移液管回收、洗涤中间层的淋巴细胞组分。于 24 孔培养板的各孔内加入  $2 \times 10^6$  个淋巴细胞,再用加入了终浓度分别为  $50 \mu\text{g/ml}$  及  $1 \mu\text{M}$  的人重组白细胞介素 2(recombinant IL2)及合成肽的 RPMI1640(含 10%FCS)培养液培养。隔 2-3 天,用加入了浓度为  $50 \mu\text{g/ml}$  的  $\text{IL}_2$  的 RPMI1640 培养液进行半量换液。1 周后,用 PHA 刺激后分别加入经放射线照射的自身淋巴细胞( $1 \times 10^6$ )和  $1 \mu\text{M}$  的合成肽再次刺激特异 CTL 细胞使增殖后,再培养 1 周,测定 CTL 的活性。

(4)使用 HLA-B\*3501 结合肽而诱导产生的 CTL 的细胞杀伤活性的测定。

#### 4-1, T2-B\*3501 细胞的制备

将 HLA-B\*3501 基因用 electroporation 法移至 TAP 抗原基因缺失的人淋巴细胞株 T2 细胞内(salter et al., EMBO J., 5, 943, (1986)),用 SFR·B6 单克隆抗体经 flowcytometry 选择表达的细

胞,命名这种细胞为 T2-B\*3501。T2-B\*3501 细胞已委托通产省工业技术院生命工学工业技术研究所保藏,保藏编号为 FERM BP-4726。

HLA-B35 的患者感染 HIV 发病时,感染 HIV 的淋巴细胞表面表达 HLA-B\*3501 抗原和提呈 HIV 肽。T2-B\*3501 细胞与(2)中 RMA-S-B\*3501 细胞同样在 26℃ 表达时,大量表达未结合肽的 HLA-B\*3501 抗原。所以在这样的条件下使肽与之结合,所谓人为制造感染了 HIV 的淋巴细胞作为测定 CTL 的细胞性活性的靶细胞使用。

#### 4-2, 测定 CTL 的细胞毒性活性

将  $1 \times 10^6$  个 T2-B\*3501 细胞或 T2 细胞与  $100 \mu\text{Ci}$  的  $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$  于 26℃ 的条件下混合 90 分钟,然后用含 10% FCS 的 RPMI-1640 培养液洗涤 3 次后作为标记靶细胞。于 96 孔培养板的各孔内加入悬浮于  $50 \mu\text{l}$  培养液的  $5 \times 10^3$  个标记靶细胞(T2 或 T2-B\*3501 细胞),再加入稀释至  $4 \mu\text{M} \sim 4 \times 10^{-4} \mu\text{M}$  的合成肽溶液  $5 \mu\text{l}$ ,放入  $\text{CO}_2$  温箱中 30 分钟后,加入前项肽刺激下培养的患者末梢淋巴细胞  $1 \times 10^5$ 、 $2.5 \times 10^4$  或  $6.25 \times 10^3$  (悬浮于  $100 \mu\text{l}$  的培养液中),放入 37℃ 的  $\text{CO}_2$  温箱中 4 小时。然后取各孔半量的培养液 ( $100 \mu\text{l}$ ),用  $\gamma$  计数器测定因培养的患者末梢淋巴细胞的细胞毒性活性而从靶细胞游离的  $^{51}\text{Cr}$ 。特异的细胞毒性活性可按下面公式计算。

$$\text{特异的细胞毒性活性} = \frac{\text{各孔的测定值} - \text{最小释放值}}{\text{最大释放值} - \text{最小释放值}} \times 100$$

但,最小释放值是只放入靶细胞的孔的测定值,是  $^{51}\text{Cr}$  从靶细胞的自然游离值。最大释放值是靶细胞中加入表面活性剂 Triton100 破坏细胞时的标记游离值。

结果见图 2、3、4。图 2 为 HIV(B35)-16(序列号 3)、图 3 为 HIV(B35)-18(序列号 4)、图 4 为 HIV(B35)POL-20(序列号 6)的结果。证实了这些合成肽能有效地诱导杀伤结合了肽的 T2-B\*3501 细胞的 CTL 细胞。

用同样的方法测定了表 2 中记载的肽能否诱导对 HIV 的免疫应答，其中能诱导对 HIV 免疫应答的肽总结在表 3 中。

表 3

结合的亲和性	肽	序列	位置
高亲和性	HIV(B35)-14	NPDIVIYQY	pol 330-338
	HIV(B35)ARV2-8	FPVRPQVPL	nef 72-80
中亲和性	HIV(B35)-16	TPPLVKLWY	pol 574-582
	HIV(B35)-18	EPIVGAETFY	pol 587-596
	HIV(B35)POL-20	SPAIFQSSM	pol 311-319
	HIV(B35)ARV2-11	YPLTFGWCF	nef 139-147
	HIV(B35)ARV2-25	EPIVGAETF	pol 587-595
低亲和性	HIV(B35)ARV2-4	VPLDKDFRKY	pol 273-282
	HIV(B35)ARV2-6	RPQVPLRPMTY	nef 75-85
	HIV(B35)ARV2-24	IPLTEEAEL	pol 448-456
	HIV(B35)ARV2-33	DPNPQEVVL	env 77-85
	HIV(B35)ARV2-36	RPIVSTQLL	env 255-263
	HIV(B35)ARV2-38	LPCRIKQII	env 413-421

同样对 MN 株、NDK 株、HXB2 株 HIV 序列进行测试，选出了表 4 中所列的肽。

表 4

结合的亲和性	肽	序列	位置
高亲和性	HIV(B35)GAG-24	FPQSRTEPT	gag 450-458(MN)
	HIV(B35)POL-5	FPISPIETV	pol 155-163
中亲和性	HIV(B35)-17	VPLDEDFRKY	pol 182-191(HXB2)
	HIV(B35)-29	EPIIGAETFY	pol 586-595(NDK)
	HIV(B35)GAG-9	HPVHIAGPIT	gag 219-227(MN)
	HIV(B35)GAG-29	YPLASLKSL	gag 490-498(MN)
低亲和性	HIV(B35)-9	KPQVPLRPMTY	nef 73-83(MN)
	HIV(B35)-12	EPVHIGVYY	pol 466-473(NDK)
	HIV(B35)-25	NPEIVVYQY	pol 329-327(NDK)
	HIV(B35)GAG-4	VPIVQNI EG	gag 135-143(MN)
	HIV(B35)POL-26	LPEKDSWTV	pol 401-409

### 实施例 2

作为与 HLA 结合基序, 采用 HLA-B51 结合抗原肽的基序, 是由 8~11 个氨基酸组成、第 2 位是 Pro、Ala、及 Gly 中的任一种氨基酸、C 末端是 Ile、Leu、Val、Phe 及 Met 中任一种氨基酸的氨基酸序列, 且采用 SF-2 株 HIV 的蛋白质序列及 RMA-S-B\*5101 细胞, 余皆同实施例 1, 得到能诱导对 HIV 免疫应答的肽。这些肽总结于表 5。RMA-S-B\*5101 细胞已委托通产省工业技术院生命工学工业技术研究所保藏, 保藏编号为 FERM BP-4834。

表 5

肽	序列	位置
HIV-B35-GAG-13(A55)	NPPIPVEI	GAG255-264
HIV-B35-GAG-29(A69)	YPLASLKSL	GAG490-498
HIV-B35-POL-5(A74)	FPISPIETV	POL155-163
HIV-B35-POL-7(A76)	VPVKLKPGM	POL163-171
HIV-B35-POL-26(A95)	LPEKDSWTV	POL401-409
HIV-B35-SF2-8(C-1)	FPVVRPQVPL	NEF71-80
HIV-B35-SF2-21(C-7)	YPLTSLRSL	GAG486-494
HIV-B35-SF2-27(C-12)	LPPVVAKEI	POL743-751
HIV-B35-SF2-32(C-17)	FPRPWLHSL	VPR34-42
HIV-B35-SF2-35(C-20)	CPKVSFEPI	ENV208-216



HIV-B35-SF2-38(C-23)	LPCRIRKQII	ENV413-421
HIV-B35-33(C-31)	YPCTVNFTI	ENV618-626
HIV-B35-34(C-32)	LPALSTGLI	ENV682-690
HIV-B35-36(C-34)	CPSGHAVGI	ENV1171-1179
HIV-B35-39(C-37)	IPTSQDVVI	ENV1426-1434
HIV-B35-50(C-48)	LPPTIGPPI	ENV2316-2324
HIV-B35-55(C-53)	APTLWARMI	ENV2835-2843
HIV-B35-56(C-54)	EPLDLPQII	ENV2874-2882
HIV-B51-3(H-3)	NANPDCKTI	GAG327-335
HIV-B51-7(H-7)	TAVQMAVFI	POL989-997
HIV-B51-9(H-9)	RAFIITGR I	ENV316-324
HIV-B51-10(H-10)	YAPPICGQI	ENV432-440
HIV-B51-11(H-11)	QARQLLSGI	ENV539-547
HIV-B51-12(H-12)	VAQRAYRAI	ENV831-839
HIV-B51-13(H-13)	RAYRAILHI	ENV834-842
HIV-B51-29(H-18)	VGPTPVNII	POL133-141
HIV-B51-32(H-21)	QGWKGSPAI	POL306-314
HIV-B51-43(H-32)	VGGLVGLRI	ENV688-696
HIV-B51-53(H-42)	DARAYDTEV	ENV56-64

HIV-B51-54(H-43)	NALFRNLDV	ENV171-179
HIV-B51-70(H-50)	IPLGDAKLV	VIF57-65
HIV-B51-71(H-51)	GPCTNVSTV	ENV240-248
HIV-B51-83(H-63)	CCHKAIGTV	POL123-131

### 实施例 3

作为与 HLA 结合基序, 采用 HLA-A\*3101 结合抗原肽的基序, 是由 8~11 个氨基酸组成、第 2 位氨基酸是 Leu、Val、Tyr 及 Phe 中的任一种氨基酸、C 末端是 Arg 的氨基酸序列, 且采用 MN 株 HIV 的蛋白质序列或 SF-2 株 HIV 的蛋白质序列及 RMA-S-A\*3101 细胞, 余皆同实施例 1, 得到能诱导对 HIV 免疫应答的肽。这些肽总结于表 6。RMA-S-A\*3101 细胞已委托通产省工业技术院生命工学工业技术研究所保藏, 保藏编号为 FERM BP-4823。

表 6

肽	序列	位置	K <sup>d</sup> 值
C-119	IVMISFNCR	ENV373-381	$3.0 \times 10^{-5}$
C-121	VLAVERYLR	ENV579-587	$9.0 \times 10^{-5}$
C-117	NYRLIHCNR	ENV193-201	$1.1 \times 10^{-4}$
C-104	MVIIQAISPR	GAG144-152	$1.4 \times 10^{-4}$
C-114	SVKKLTEDR	VIF165-173	$1.4 \times 10^{-4}$
C-124	SLCLFSYRR	ENV761-769	$2.2 \times 10^{-4}$
C-125	CLFSYRRLR	ENV763-771	$2.2 \times 10^{-4}$
C-111	AVFIHNFKR	POL893-901	$2.9 \times 10^{-4}$
C-100	KLAFIHIMAR	NEF192-200	$3.7 \times 10^{-4}$
C-118	TVQCTHGIR	ENV247-255	$7.4 \times 10^{-4}$
C-113	ILGYRVSPR	VIF124-132	$8.9 \times 10^{-4}$
C-112	IVWQVDRMR	VIF9-17	$>10^{-4}$
C-98	PVRPQVPLR	NEF73-81	$>10^{-4}$
C-126	ILHIIHRRIR	ENV838-846	$>10^{-4}$
C-106	ELYPLTSLR	GAG424-432	$>10^{-4}$
C-123	VLSIVNRVR	ENV700-708	$>10^{-4}$
C-122	IVGGLVGLR	ENV687-695	$>10^{-4}$

本发明的肽，因能诱导对 HIV 的免疫应答，可以有效地应用在 AIDS 的预防、治疗上。具体地，可制成含有上述肽的 AIDS 疫苗，也可将具有含有编码上述肽的 DNA 的重组 DNA 的牛痘疫苗及 BCG 疫苗制成 AIDS 疫苗。而且在上述肽存在的条件下培养末梢血淋巴细胞得到的细胞毒性 T 细胞可作为治疗 AIDS 的药物应用。

## 序列表

序列号:1

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr Gin Tyr

序列号:2

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Phe Pro Val Arg Pro Gin Val Pro Leu

序列号:3

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr

序列号:4

序列长:10

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Glu Pro Ile Val Gly Ala Glu Thr Phe Tyr

序列号:5

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met

序列号:6

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Phe

序列号:7

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Glu Pro Ile Val Gly Ala Glu Thr Phe

序列号:8

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Val Pro Leu Asp Lys Asp Phe Arg Lys Tyr

序列号:9

序列长:11

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Arg Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr

序列号:10

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ile Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu

序列号:11

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链



序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Asp Pro Asn Pro Gln Glu Val Val Leu

序列号:12

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Arg Pro Ile Val Ser Thr Gln Leu Leu

序列号:13

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile

序列号:14

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Phe Pro Gln Ser Arg Thr Glu Pro Thr

序列号:15

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Phe Pro Ile Ser Pro Ile Gln Thr Val

序列号:16

序列长:10

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr

序列号:17

序列长:10

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Glu Pro Ile Ile Gly Ala Glu Thr Phe Tyr

序列号:18

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Thr

序列号:19

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu

序列号:20

序列长:11

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Lys Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr

序列号:21

序列长:8

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr

序列号:22

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Asn Pro Glu Ile Val Ile Tyr Gln Tyr

序列号:23

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Val Pro Ile Val Gln Asn Ile Glu Gly

序列号:24

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val

序列号:25

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly Glu Ile

序列号:26

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Lys Ser Leu

序列号:27

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met

序列号:28

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Tyr Pro Leu Thr Ser Leu Arg Ser Leu

序列号:29

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Leu Pro Pro Val Val Ala Lys Glu Ile

序列号:30

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Phe Pro Arg Pro Trp Leu His Ser Leu

序列号:31

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro Ile

序列号:32

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒



序列

Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile

序列号:33

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Thr Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile

序列号:34

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Arg Ala Phe His Thr Thr Gly Arg Ile

序列号:35

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Tyr Ala Pro Pro Ile Gly Gly Gln Ile

序列号:36

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile

序列号:37

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Val Ala Gln Arg Ala Tyr Arg Ala Ile

序列号:38

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Arg Ala Tyr Arg Ala Ile Leu His Ile

序列号:39

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Val Gly Pro Thr Pro Val Asn Ile Ile

序列号:40

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile

序列号:41

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Val Gly Gly Leu Val Gly Leu Arg Ile

序列号:42

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Asp Ala Arg Ala Tyr Asp Thr Glu Val

序列号:43

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Asn Ala Leu Phe Arg asn Leu Asp Val

序列号:44

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ile Pro Leu Gly Asp Ala Lys Leu Val

序列号:45

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Gly Pro Cys Thr Asn Val Ser Thr Val

序列号:46

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Cys Gly His Lys Ala Ile Gly Thr Val

序列号:47

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ile Val Met His Ser Phe Asn Cys Arg

序列号:48

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Arg

序列号:49

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Asn Tyr Arg Leu Ile His Cys Asn Arg

序列号:50

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Met Val His Gln ALa Ile Ser Pro Arg

序列号:51

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ser Val Lys Lys Leu Thr Glu Asp Arg

序列号:52

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr Arg Arg

序列号:53

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Cys Leu Phe Ser Tyr Arg Arg Leu Arg

序列号:54



序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg

序列号:55

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Lys Leu Ala Phe His His Met Ala Arg

序列号:56

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Arg

序列号:57

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ile Leu Gly Tyr Arg Val Ser Pro Arg

序列号:58

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ile Val Trp Gln Val Asp Arg Met Arg

序列号:59

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Pro Val Arg Pro Gln Val Pro Leu Arg

序列号:60

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ile Leu His Ile His Arg Arg Ile Arg

序列号:61

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Glu Leu Tyr Pro Leu Thr Ser Leu Arg

序列号:62

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Val Leu Ser Ile Val Asn Arg Val Arg

序列号:63

序列长:9

序列类型:氨基酸

拓扑结构:直链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

Ile Val Gly Gly Leu Val Gly Leu Arg

序列号:64

序列长:27

序列类型:核酸

拓扑结构:直链

链数:双链

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

ACTCCGCCGC TGGTTAAACT GTGGTAC

序列号:65

序列长:30

序列类型:核酸

拓扑结构:直链 链数:双链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

GAACCGATCG TTGGTGCTGA AACTTTCTAC

序列号:66

序列长:27

序列类型:核酸

拓扑结构:直链 链数:双链

序列种类:肽

来源

生物名:人类免疫缺陷病毒

序列

TCTCCGGCTA TCTTCCAGTC TTCTATG

图 1

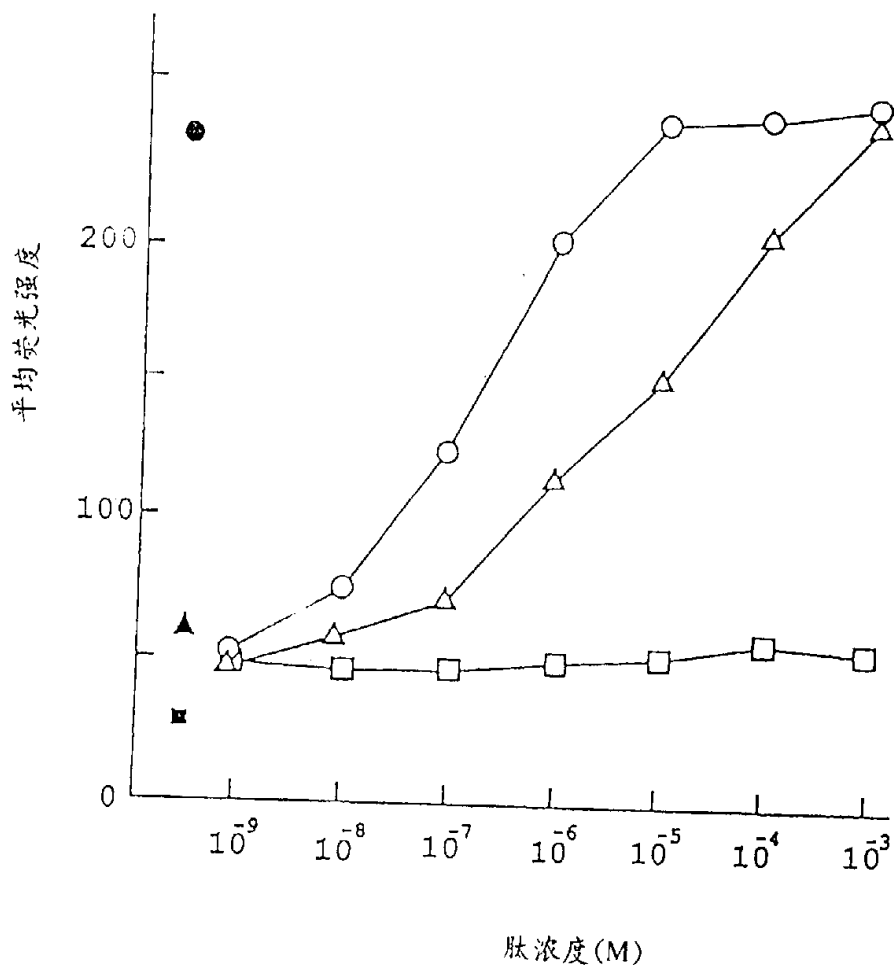


图 2

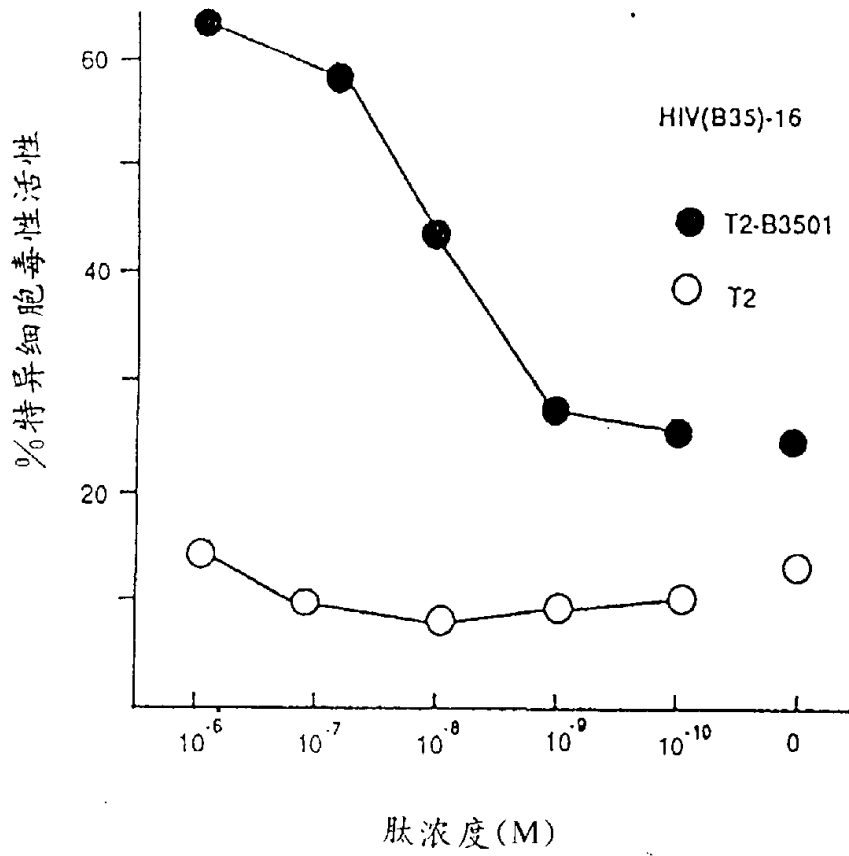


图 3

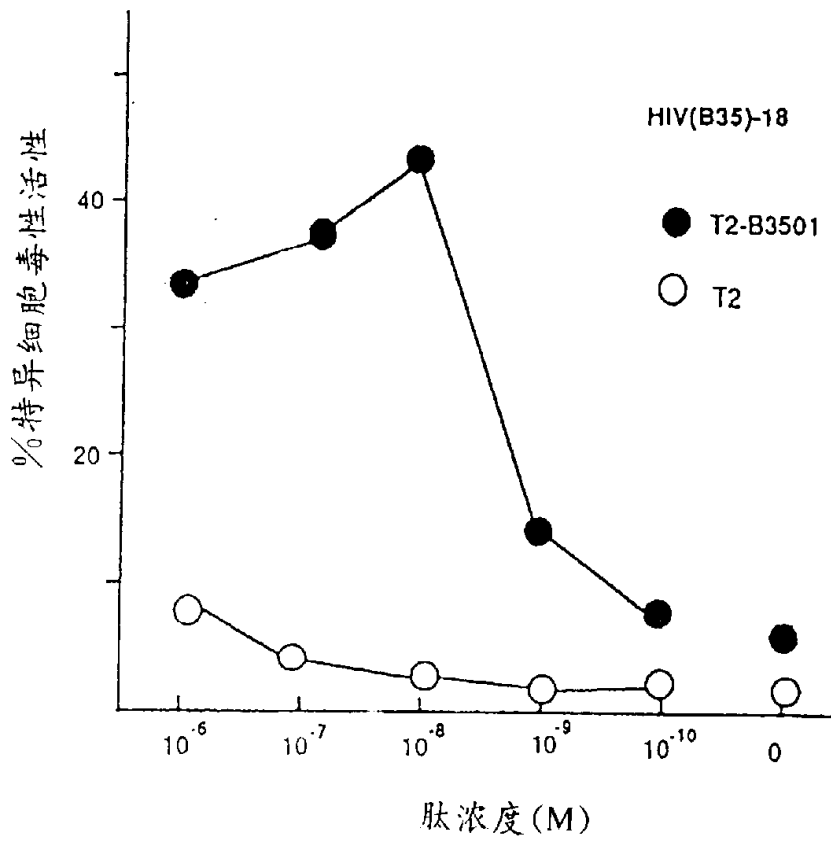




图 4

