

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61K 39/23 (2006.01)

A61P 31/14 (2006.01)



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 200480018243.2

[45] 授权公告日 2008 年 5 月 14 日

[11] 授权公告号 CN 100387301C

[22] 申请日 2004.5.12

[21] 申请号 200480018243.2

[30] 优先权

[32] 2003.5.12 [33] US [31] 60/470,066

[86] 国际申请 PCT/US2004/014928 2004.5.12

[87] 国际公布 WO2004/100985 英 2004.11.25

[85] 进入国家阶段日期 2005.12.27

[73] 专利权人 佛罗里达大学研究基金公司

地址 美国佛罗里达州

[72] 发明人 J·K·亚马莫托

[56] 参考文献

WO02067984A 2002.9.6

Antibody response in cats to the envelope proteins of felineimmunodeficiency virurs : identification of animmunodominant neutralization domain. DE RONDE A. et al. VIROLOGY, Vol. 198 . 1994

审查员 温庭江

[74] 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

代理人 黄草生 林柏楠

权利要求书 7 页 说明书 48 页

[54] 发明名称

针对 FIV 感染的免疫接种材料和方法

[57] 摘要

本发明涉及使用来源于灵长类动物免疫缺陷病毒(包括 HIV 和 SIV)的免疫原预防猫科动物感染 FIV 的方法和组合物。描述了用受试疫苗组合物接种猫科动物的方法。在用 FIV 攻击时,根据本发明的方法和组合物接种的猫科动物表现出针对 FIV 的保护性体液和细胞免疫应答。

1. 来源于灵长类动物免疫缺陷病毒且具有人免疫缺陷病毒(HIV)或猿猴免疫缺陷病毒(SIV)与猫免疫缺陷病毒(FIV)间进化保守表位的免疫原在制备抑制或预防猫科动物感染 FIV 的药物中的用途。

2. 根据权利要求 1 的用途, 其中所述灵长类动物免疫缺陷病毒为人免疫缺陷病毒(HIV)或猿猴免疫缺陷病毒(SIV)。

3. 根据权利要求 2 的用途, 其中所述 HIV 为 HIV-1 或 HIV-2。

4. 根据权利要求 3 的用途, 其中所述 HIV-1 选自 HIV-1_{IIIB}、HIV-1_{UCD1} 和 HIV-1_{BRU}。

5. 根据权利要求 1 的用途, 其中所述免疫原为病毒感染的细胞或无细胞全病毒。

6. 根据权利要求 5 的用途, 其中所述病毒以灭活或减毒病毒的方式处理或者该病毒为复制缺陷的。

7. 根据权利要求 6 的用途, 其中所述病毒通过多聚甲醛、福尔马林、苯酚、紫外线或高温处理灭活或减毒。

8. 根据权利要求 1 的用途, 其中所述免疫原为所述灵长类动物免疫缺陷病毒的多肽或其免疫原性片段。

9. 根据权利要求 8 的用途, 其中所述多肽由所述灵长类动物免疫缺陷病毒的 *env*、*gag*、*pol*、*tat*、*rev*、*vif*、*vpr*、*vpu* 或 *nef* 基因编码。

10. 根据权利要求 8 的用途, 其中所述多肽为选自 gp120 和 gp160 的包膜蛋白或其免疫原性片段。

11. 根据权利要求 8 的用途, 其中所述多肽为包含 SEQ ID NO: 1 或 SEQ ID NO: 5 所示氨基酸序列的 HIV 包膜蛋白或其免疫原性片段。

12. 根据权利要求 8 的用途, 其中所述多肽为 HIV 的 p24 蛋白质或其免疫原性片段或者 SIV 的 p27 蛋白质或其免疫原性片段。

13. 根据权利要求 12 的用途, 其中所述 p24 蛋白质为 HIV-1_{UCD1} 的 p24 蛋白质。

14. 根据权利要求 1 的用途, 其中所述免疫原为包含灵长类动物免疫缺陷病毒多核苷酸序列的重组病毒或重组表达构建体。

15. 根据权利要求 14 的用途, 其中所述多核苷酸序列为 HIV-1、HIV-2 或 SIV 序列。

16. 根据权利要求 14 的用途, 其中所述多核苷酸序列包含所述灵长类动物免疫缺陷病毒的一个或多个 *env*、*gag*、*pol*、*tat*、*rev*、*vif*、*vpr*、*vpu* 或 *nef* 基因或其免疫原性片段。

17. 根据权利要求 14 的用途, 其中所述多核苷酸序列编码 HIV gp160、gp120、gp41、p31、p24、p 17 或 p7 多肽或者其免疫原性片段。

18. 根据权利要求 1 的用途, 其中所述免疫原与可药用载体或稀释剂一起提供。

19. 根据权利要求 1 的用途, 其中所述免疫原与一种或多种增强所述动物对该免疫原免疫应答的佐剂一起提供。

20. 根据权利要求 1 的用途, 其中将所述免疫原配制成经皮下、腹膜内、肌肉、口腔施用或由鼻内施用的剂型。

21. 根据权利要求 19 的用途, 其中所述佐剂选自苏氨酸胞壁酰二肽 (MDP)、包含细胞壁骨架(CWS)的 Ribi 佐剂系统、弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂、铝、氢氧化铝和皂苷。

22. 根据权利要求 1 的用途, 其中在药物中所述免疫原与细胞因子或淋巴因子组合提供。

23. 根据权利要求 22 的用途, 其中所述细胞因子或淋巴因子为猫细胞因子或淋巴因子。

24. 根据权利要求 1 的用途, 其中在药物中所述免疫原与白细胞介素-12、白细胞介素-15 或白细胞介素-18 组合提供。

25. 根据权利要求 1 的用途, 其中所述免疫原包含灵长类动物免疫缺陷病毒蛋白质的免疫原性或抗原性肽。

26. 来源于灵长类动物免疫缺陷病毒且具有 HIV 或 SIV 与 FIV 间进化保守表位的免疫原在制备在猫科动物中诱导或产生针对 FIV 的免疫应答的

药物中的用途。

27. 根据权利要求 26 的用途, 其中所述灵长类动物免疫缺陷病毒为人免疫缺陷病毒(HIV)或猿猴免疫缺陷病毒(SIV)。

28. 根据权利要求 27 的用途, 其中所述 HIV 为 HIV-1 或 HIV-2。

29. 根据权利要求 28 的用途, 其中所述 HIV-1 选自 HIV-1_{IIIb}、HIV-1_{UCD1} 和 HIV-1_{BRU}。

30. 根据权利要求 26 的用途, 其中所述免疫原为病毒感染的细胞或无细胞全病毒。

31. 根据权利要求 30 的用途, 其中所述病毒以灭活或减毒病毒的方式处理或者该病毒为复制缺陷的。

32. 根据权利要求 31 的用途, 其中所述病毒通过用多聚甲醛、福尔马林、紫外线和高温处理灭活或减毒。

33. 根据权利要求 26 的用途, 其中所述免疫原为所述灵长类动物免疫缺陷病毒的多肽或者其免疫原性片段。

34. 根据权利要求 33 的用途, 其中所述多肽由所述灵长类动物免疫缺陷病毒的 *env*、*gag*、*pol*、*tat*、*rev*、*vif*、*vpr*、*vpu* 或 *nef* 基因编码。

35. 根据权利要求 33 的用途, 其中所述多肽为选自 gp120 和 gp160 的包膜蛋白或其免疫原性片段。

36. 根据权利要求 33 的用途, 其中所述多肽为 HIV 的 p24 蛋白质或者其免疫原性片段, 或者为 SIV 的 p27 蛋白质或其免疫原性片段。

37. 根据权利要求 36 的用途, 其中所述 p24 蛋白质为 HIV-1_{UCD1} 的 p24 蛋白质。

38. 根据权利要求 26 的用途, 其中所述免疫原为包含灵长类动物免疫缺陷病毒多核苷酸序列的重组病毒或重组表达构建体。

39. 根据权利要求 38 的用途, 其中所述多肽序列为 HIV-1、HIV-2 或 SIV 序列。

40. 根据权利要求 38 的用途, 其中所述多核苷酸序列包含该灵长类动物免疫缺陷病毒的一个或多个 *env*、*gag*、*pol*、*tat*、*rev*、*vif*、*vpr*、*vpu* 或

nef 基因或者其免疫原性片段。

41. 根据权利要求 38 的用途,其中所述多核苷酸序列编码 HIV gp160、gp120、gp41、p31、p24、p 17 或 p7 多肽或者其免疫原性片段。

42. 根据权利要求 26 的用途,其中所述免疫原与可药用载体或稀释剂一起提供。

43. 根据权利要求 26 的用途,其中所述免疫原与一种或多种增强所述动物对该免疫原免疫应答的佐剂一起提供。

44. 根据权利要求 26 的用途,其中将所述免疫原配制成经皮下、腹膜内、肌内、口腔施用或由鼻内施用的剂型。

45. 根据权利要求 43 的用途,其中所述佐剂选自苏氨酸胞壁酰二肽(MDP)、包括细胞壁骨架(CWS)的 Ribi 佐剂系统、弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂、铝、氢氧化铝和皂苷。

46. 根据权利要求 26 的用途,其中在药物中所述免疫原与细胞因子或淋巴因子组合提供。

47. 根据权利要求 46 的用途,其中所述细胞因子或淋巴因子为猫细胞因子或淋巴因子。

48. 根据权利要求 26 的方法,其中在药物中所述与白细胞介素-12、白细胞介素-15 或白细胞介素-18 组合提供。

49. 根据权利要求 26 的用途,其中所述免疫原包含灵长类动物免疫缺陷病毒蛋白质的免疫原性或抗原性肽。

50. 根据权利要求 26 的用途,其中所述免疫应答为细胞免疫应答。

51. 根据权利要求 26 的用途,其中所述免疫应答为体液免疫应答。

52. 根据权利要求 26 的用途,其中所述免疫原诱导 T-辅助细胞因子和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)细胞毒素的产生。

53. 组合物,其包含来源于灵长类动物免疫缺陷病毒且具有 HIV 或 SIV 与 FIV 间进化保守表位的和猫细胞因子或淋巴因子。

54. 根据权利要求 53 的组合物,其中所述猫淋巴因子为白细胞介素。

55. 根据权利要求 54 的组合物,其中所述白细胞介素选自 IL-1、IL-2、

IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21 和 IL-22。

56. 根据权利要求 54 的组合物,其中所述白细胞介素选自 IL-12、IL-15 和 IL-18。

57. 根据权利要求 53 的组合物,其中所述灵长类动物免疫缺陷病毒为 HIV 或 SIV。

58. 根据权利要求 57 的组合物,其中所述 HIV 为 HIV-1 或 HIV-2。

59. 根据权利要求 58 的组合物,其中所述 HIV-1 病毒选自 HIV-1_{IIIB}、HIV-1_{UCD1} 和 HIV-1_{BRU}。

60. 根据权利要求 53 的组合物,其中所述免疫原包含 HIV *env*、*pol*、*gag*、*tat*、*rev*、*vif*、*vpr*、*vpu*、*vpx* 或 *nef* 基因的多核苷酸序列。

61. 根据权利要求 53 的组合物,其中所述免疫原包含 HIV 的 gp160、gp120、gp41、p31、p24、p17 或 p7 多肽或其免疫原性片段。

62. 根据权利要求 54 的组合物,其中所述免疫原为 HIV p24 多肽或其免疫原性片段,并且所述白细胞介素选自猫 IL-12、IL-15 和 IL-18。

63. 试剂盒,其在一个或多个容器中包含:

a)来源于灵长类动物免疫缺陷病毒且具有 HIV 或 SIV 与 FIV 间进化保守表位的免疫原;和

b) 猫细胞因子或淋巴因子。

64. 根据权利要求 63 的试剂盒,其中所述猫淋巴因子为白细胞介素。

65. 根据权利要求 64 的试剂盒,其中所述白细胞介素选自 IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20、IL-21 和 IL-22。

66. 根据权利要求 64 的试剂盒,其中所述白细胞介素选自 IL-12、IL-15 和 IL-18。

67. 根据权利要求 63 的试剂盒,其中所述灵长类动物免疫缺陷病毒为 HIV 或 SIV。

68. 根据权利要求 67 的试剂盒,其中所述 HIV 为 HIV-1 或 HIV-2。

69. 根据权利要求 68 的试剂盒, 其中所述 HIV-1 病毒选自 HIV-1_{IIIB}、HIV-1_{UCD1} 和 HIV-1_{BRU}。

70. 根据权利要求 63 的试剂盒, 其中所述免疫原包含 HIV *env*、*pol*、*gag*、*tat*、*rev*、*vif*、*vpr*、*vpu*、*vpx* 或 *nef* 基因的多核苷酸序列。

71. 根据权利要求 63 的试剂盒, 其中所述免疫原包含 HIV 的 gp160、gp120、gp41、p31、p24、p17 或 p7 多肽或者其免疫原性片段。

72. 根据权利要求 63 的试剂盒, 其中所述免疫原为 HIV p24 多肽或其免疫原性片段, 并且所述白细胞介素选自猫 IL-12、IL-15 和 IL-18。

73. 根据权利要求 1 的用途, 其中所述免疫原诱导 T-辅助细胞因子和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)细胞毒素的产生。

74. 包含一个或多个在灵长类动物免疫缺陷病毒和猫免疫缺陷病毒(FIV)间进化保守的表位的免疫原或抗原或者编码所述免疫原或抗原的多核苷酸或重组表达构建体在制造预防人感染人免疫缺陷病毒(HIV)的药物中的用途。

75. 根据权利要求 74 的用途, 其中所述灵长类免疫缺陷病毒为 HIV 或 SIV。

76. 根据权利要求 75 的用途, 其中所述 HIV 为 HIV-1。

77. 根据权利要求 76 的用途, 其中所述 HIV-1 为 HIV-1_{IIIB}、HIV-1_{UCD1}、HIV-1_{LAV} 或 HIV-1_{BRU}。

78. 根据权利要求 74 的用途, 其中所述免疫原或抗原包含或来自免疫缺陷病毒衣壳蛋白。

79. 根据权利要求 78 的用途, 其中所述衣壳蛋白为 HIV p24 蛋白质、FIV p24 蛋白质或 SIV p27 蛋白质或者它们的免疫原性片段。

80. 根据权利要求 79 的用途, 其中所述 HIV p24 蛋白质为 HIV-1_{UCD1} p24 蛋白质或其免疫原性片段。

81. 根据权利要求 80 的用途, 其中所述 HIV-1_{UCD1} p24 蛋白质包含 SEQ ID NO: 2 所示氨基酸序列的 132-362 氨基酸。

82. 根据权利要求 74 的用途, 其中所述免疫原或抗原与可药用载体或

稀释剂一起提供。

83. 根据权利要求 74 的用途, 其中所述免疫原或抗原与一种或多种增强人针对所述免疫原或抗原的免疫应答的佐剂一起提供。

84. 根据权利要求 74 的用途, 其中将所述免疫原或抗原配制成经皮下、腹膜内、肌内、口腔施用或由鼻内施用的剂型。

85. 根据权利要求 83 的用途, 其中所述佐剂选自苏氨酸胞壁酰二肽(MDP)、包括细胞壁骨架(CWS)的 Ribi 佐剂系统、弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂、铝、氢氧化铝和皂苷。

86. 根据权利要求 74 的用途, 其中在药物中所述免疫原与细胞因子或淋巴因子组合提供。

87. 根据权利要求 74 的用途, 其中在药物中所述免疫原与白细胞介素-12、白细胞介素-15 或白细胞介素-18 组合提供。

针对 FIV 感染的免疫接种材料和方法

本发明在国家卫生研究院(National Institutes of Health)基金 No. NIH AI30904 支持的研究计划下由政府资助完成。政府在本发明中拥有一定的权利。

相关申请的交叉参考

本申请要求 2003 年 5 月 12 日递交的美国临时申请 Serial No. 60/470,066 的权利, 该申请连同其所有的附图、核酸序列、氨基酸序列和表格在此被全文引入为参考。

背景技术

家猫易受若干逆转录病毒的感染, 这包括猫白血病病毒(FeLV)、猫肉瘤病毒(FeSV)、内源 C 型致癌 RNA 病毒(RD-114)和猫合胞体形成病毒(FeSFV)。在这些病毒中, FeLV 为最重要的病原体, 其引起多种症状, 包括淋巴网状内皮细胞和骨髓瘤、贫血、免疫介导的紊乱和与人获得性免疫缺陷综合症(AIDS)相似的免疫缺陷综合症。最近, 称为 FeLV-AIDS 的特殊复制缺陷型 FeLV 突变体更特别与免疫抑制性质相关。

Pedersen 等人(1987) 最初报道了猫 T-嗜淋巴细胞慢病毒(现在称为猫免疫缺陷病毒, FIV) 的发现。FIV 的特征已经在 Yamamoto 等人(1988a)、Yamamoto 等人(1988b)和 Ackley 等人(1990)中报道。血清流行病学数据表明 FIV 感染为全世界家猫和野生猫固有的。多种症状与 FIV 感染有关, 这包括流产、脱毛症、贫血症、结膜炎、慢性鼻炎、肠炎、齿龈炎、便血、神经异常、齿根骨膜炎和脂溢性皮炎。家猫感染 FIV 的免疫学标志为猫 CD4⁺ 外周血淋巴细胞的慢性和进行性缺失、CD4:CD8 细胞比例的降低和

一些情况下形成 CD8 的淋巴细胞增加。基于分子、生化和免疫病理学特征，现在认为猫的 FIV 感染为是比 FeLV-FAIDS 更好的猫 AIDS 模型。

Olmsted 等人(1989a)、Olmsted 等人(1989b)和 Talbott 等人(1989)报道了 FIV 的克隆和序列分析。Hosie 和 Jarrett (1990)描述了猫感染 FIV 的血清学反应。根据基于每一株系引起的交叉中和抗体水平的免疫类型可将 FIV 病毒亚型分类 (Murphy 和 Kingsbury, 1990)。最近根据基于核苷酸序列同源性的基因型对病毒亚型分类。虽然 HIV 和 FIV 亚型分类是基于基因型 (Sodora 等人, 1994; Rigby 等人, 1993 和 Louwagie 等人, 1993), 但是关于亚型的基因型和免疫类型之间的相互关系还了解的很少。FIV 病毒分离物分为四种 FIV 亚型: A、B、C 和 D (Kakinuma 等人, 1995)。已经描述了除 C 亚型外所有 FIV 亚型的传染性分离物和传染性分子克隆 (Sodora 等人, 1994)。C 亚型 FIV 仅从加拿大猫的细胞 DNA 中鉴定出来 (Sodora 等人, 1994; Rigby 等人, 1993; Kakinuma 等人, 1995)。本领域鉴定的 FIV 株系包括 (株系亚型示于括号内) Petaluma (A)、Dixon (A)、UK8 (A)、Dutch113 (A)、Dutch19K (A)、UK2 (A)、SwissZ2 (A)、Sendai-1 (A)、USCAzey01A (A)、USCAhnky11A (A)、USCAtt-10A (A)、USCAlemy01 (A)、USCAsam-01A (A)、PPR (A)、FranceWo、Netherlands、Bangston (A/B)、Aomori-1 (B)、Aomori-2 (B)、USILbrny03B (B)、TM2 (B)、Sendai-2 (B)、USCKlgri02B (B)、Yokohama (B)、USMAsboy03B (B)、USTXmtex03B (B)、USMCglwd03B (B)、CABCpbar03C (C)、CABCpbar07C (C)、CABCpady02C (C)、Shizuoka (D)和 Fukuoka (D)。

在疫苗中使用 FIV 衍生免疫原的一个顾虑是兽医也许不能辨别测试为 FIV 抗体或 FIV 蛋白质阳性的猫是否已经感染了 FIV 或者抗体是来自针对 FIV 使用 FIV 衍生免疫原接种的猫。因此，本领域还需要这样的疫苗，其预防 FIV 感染但允许兽医确定 FIV 抗体是猫感染还是免疫接种的结果。

发明概述

本发明涉及使用来自灵长类动物免疫缺陷病毒 (包括 HIV 和 SIV) 的

免疫原预防猫科动物感染 FIV 的方法和组合物。本文描述了用受试疫苗组合物接种猫科动物的方法和组合物。当用 FIV 攻击时,根据本发明的方法和组合物接种的猫科动物表现出对 FIV 的保护性免疫应答。

本发明也涉及选择免疫缺陷病毒中进化保守的表位的方法。使用本发明的方法鉴定的免疫缺陷病毒中进化保守的表位也构成本发明的一部分。本发明还涉及预防人和其他动物感染免疫缺陷病毒(如 HIV 和 FIV)的方法。

序列简述

SEQ ID. NO: 1 为 HIV-1_{UCD1} 包膜蛋白的氨基酸序列。

SEQ ID NO: 2 为 HIV-1_{UCD1} gag 蛋白质的氨基酸序列。

SEQ ID NO: 3 为编码包膜蛋白的 HIV-1_{UCD1} 多核苷酸的核苷酸序列。

SEQ ID NO: 4 为编码 gag 蛋白质的 HIV-1_{UCD1} 多核苷酸的核苷酸序列。

SEQ ID. NO: 5 为 HIV-1_{IIB} 包膜蛋白的氨基酸序列。

SEQ ID NO: 6 为 HIV-1_{IIB} gag 蛋白质的氨基酸序列。

SEQ ID NO: 7 为编码包膜蛋白的 HIV-1_{IIB} 多核苷酸的核苷酸序列。

SEQ ID NO: 8 为编码 gag 蛋白质的 HIV-1_{IIB} 多核苷酸的核苷酸序列。

发明详述

本发明涉及通过给动物施用来自灵长类动物免疫缺陷病毒(如人免疫缺陷病毒(HIV)和猿猴免疫缺陷病毒(SIV)的免疫原预防猫科动物感染 FIV 的材料和方法。在一个实施方案中,给猫科动物施用有效数量的包含来自灵长类动物免疫缺陷病毒免疫原的组合物。此外,本文所述的多种免疫原组合物可分开和彼此组合使用。

有利的是,本发明能够预防 FIV 感染,其中动物中针对 FIV 的免疫应答的产生允许兽医或本领域其他技术人员确定动物对 FIV 或者 FIV 免疫原或抗原的免疫应答究竟是免疫接种以预防 FIV 感染的结果,还是是否为动物感染 FIV 的结果。在一个实施方案中,使用本发明的疫苗组合物免疫接种

的动物不产生与 FIV gp95 交叉反应的抗体。感染 FIV 或接受含 FIV 衍生的免疫原或抗原的疫苗的动物产生与 FIV gp95 结合的抗体。包括在本发明范围内的猫科动物包括家猫、野生猫和包括美洲野猫、美洲豹、山狮、老虎、美洲虎、金钱豹、美洲狮、印度豹和狮子在内的其他野猫。

本发明也可用于使用来自灵长类动物免疫缺陷病毒（如 HIV 和 SIV）的免疫原在猫科动物中产生针对 FIV 的细胞和/或体液免疫应答。在一个实施方案中，给猫科动物施用数量足以诱导针对 FIV 的免疫应答的免疫原。可用健康的未感染 HIV 的人 PBMC 作为指示细胞测试免疫猫的血清抗体针对 HIV 的病毒中和抗体活性。可测试免疫的猫的 HIV 特异性 T 辅助细胞(Th)和细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)活性。可通过 Th 细胞因子和 CTL 细胞毒素的水平测量 Th 和 CTL 活性，其中所述的 Th 细胞因子和 CTL 细胞毒素由未免疫接种和免疫的猫的淋巴细胞应答于灭活的 HIV 全病毒体外刺激产生，灭活 HIV 全病毒可与免疫原株相同（同源）和不同（异源）。用于体外刺激的灭活异源株可来自与免疫原株相同或不同的亚型。优选的免疫原在具有来自免疫的猫的 CD4⁺ T 淋巴细胞的培养物中产生高水平的 Th 细胞因子并且是指示性的。类似地，优选的免疫原通过免疫的猫的 CD8⁺ T 淋巴细胞产生高水平的 CTL 细胞毒素。

包括在本发明范围内的灵长类动物免疫缺陷病毒包括 HIV 和 SIV。就 HIV 而言，该病毒可为 HIV-1 或 HIV-2。在一个实施方案中，HIV 为 HIV-1。本领域描述了若干不同 HIV-1 株，包括 HIV-1_{IIIB}、HIV-1_{UCD1}、HIV-1_{LAV} 和 HIV-1_{BRU}。在本文所述的代表性实施方案中，本发明的免疫原来自称为 HIV-1_{IIIB} 和/或 HIV-1_{UCD1} 的 HIV-1 株。包括在本发明范围内的 SIV 株为 SIV_{syk}、SIV_{smm}、SIV_{mac}、SIV_{mnd}、SIV_{l'hoest}、SIV_{agm} 和 SIV_{cpz} (Whetter 等人，1999)。科学文献中描述了很多 HIV 和 SIV 基因的核苷酸序列，存储于序列数据库（如 NCBI Genbank）中，并在出版的专利申请书和发行的专利中公开。例如 HIV-1 和 HIV-2 分离物的全基因组序列公开在 Genbank 登录号 NC 001802 和 NC 001722 中。类似地，HIV 和 SIV 基因编码的蛋白质的氨基酸序列已经公开并为本领域所熟知。HIV 的序列也公开于可在

网站 <http://www.hiv.lanl.gov/content/index> 获得的数据库中。编码蛋白质的灵长类动物免疫缺陷病毒基因包括 *env*、*gag*、*pol* 和 *nef*。

来自灵长类动物免疫缺陷病毒的免疫原可为孤立的形式或在任何适当的组合物中提供。优选地，灵长类动物免疫缺陷病毒免疫原在组合物中提供并以在猫科动物中诱导对免疫原强烈的细胞介导和体液免疫应答的方式施用。在一个实施方案中，可以病毒感染细胞或无细胞全病毒的形式提供免疫原。可以灭活或减毒病毒的方式处理病毒感染细胞中的病毒或无细胞病毒。灭活或减毒病毒的方法为本领域已知并包括例如用多聚甲醛、福尔马林、苯酚、紫外线、提高的温度等处理。美国专利 No. 6,503,753 描述了 HIV 逆转录酶的光灭活方法，其从而灭活 HIV 病毒。灵长类动物免疫缺陷病毒也可制备成复制缺陷的。美国专利 No. 6,500,623 描述了 HIV 复制缺陷病毒颗粒并设想生产这样的病毒颗粒。产生灭活、减毒和复制缺陷病毒的其他技术为本领域已知。

在另一个实施方案中，本发明的免疫原来源于灵长类动物免疫缺陷病毒的病毒蛋白质或免疫原性片段或其变体。本发明中可用作免疫原的蛋白质包括（但不限于）*env*、*gag*、*pol*、*tat*、*rev* 和/或 *nef* 基因编码的蛋白质。在一个实施方案中，可用于本发明的 *env* 基因编码的包膜蛋白包括包膜蛋白 gp120 和 gp160，这包括其片段、gp120 和 gp160 的融合物以及 gp120 和 gp160 变体，包括糖基化变体，其包括未糖基化的 gp120 和/或 gp160 蛋白质。胞内蛋白质将 gp160 切割成 gp41 和 gp120 部分。gp41 部分包含包膜蛋白的跨膜结构域，其中 gp120 位于感染的细胞或病毒体表面。gp120 分子由大约 60kd 的多肽核心组成，但是 N 连接的糖基化可使蛋白质的分子量增加到大约 120 kd。与本发明组合使用的病毒包膜蛋白可为未修剪的或修剪的（见例如美国专利 No. 5,849,533）。包膜蛋白变体描述于美国专利 No. 5,846,546。免疫学模拟的 HIV gp120 和/或 gp160 包膜蛋白合成肽也可用于本发明（见例如美国专利 No. 5,763,160）。在代表性的实施方案中，组合 HIV-1_{IIIB} 的 gp120 和 gp160 包膜蛋白作为免疫原。在一个实施方案中，HIV-1_{UCD-1} 的包膜多肽包含 SEQ ID NO: 1 中展示的氨基酸序列。在一个实

施方案中，HIV-1_{IIIB}的包膜多肽包含SEQ ID NO: 5中展示的氨基酸序列。

也可根据本发明使用灵长类动物免疫缺陷病毒 *gag* 基因编码的蛋白质，如 HIV 的 p17 基质蛋白、p24 衣壳蛋白、p7 核壳体蛋白和 SIV 的 p27 蛋白质以及它们的片段和变体。在代表性的实施方案中，用 HIV-1_{UCD-1} 的 p24 蛋白质作为免疫原。在一个实施方案中，HIV-1_{UCD-1} 的 p24 多肽包含 SEQ ID NO: 2 的 132-362 氨基酸。在一个实施方案中，HIV-1_{IIIB} 的 p24 多肽包含 SEQ ID NO: 6 的 132-363 氨基酸。美国专利 No. 5,700,469 中描述了 p24 蛋白质的免疫片段。灵长类动物免疫缺陷病毒 *pol* 基因编码的蛋白质（如 HIV 的逆转录酶(RT)蛋白酶(PR)和 Rnase H 以及它们的片段和变体）也可用于本发明。也可根据本发明使用 HIV 的内切核酸酶蛋白质 p31 以及其片段和变体，其为 HIV *pol* 基因 3'末端编码的蛋白质。美国专利 No. 5,401,628 中描述了 HIV 的 p31 蛋白质的免疫肽片段。灵长类动物免疫缺陷病毒的 *tat* 和 *rev* 基因编码的调节蛋白和灵长类动物免疫缺陷病毒的 *nef*、*vif*、*vpr*、*vpu* 和 *vpx* 基因编码的辅助蛋白以及这些蛋白质的片段和变体也可用于本发明。

可通过重组方法合成或制备与灵长类动物免疫缺陷病毒免疫原或抗原区域对应的肽并用于本发明的方法中。在一个实施方案中，可制备与灵长类动物免疫缺陷病毒蛋白质重叠片段对应的肽并用于本发明的方法中。任何多肽片段的适当组合可用于根据本发明的方法免疫接种动物。例如，与病毒蛋白质羧基端区域对应的肽片段可以和与蛋白质的氨基端区域和跨膜区域对应的肽片段一同使用。

重组病毒或基于病毒载体的表达构建体也可考虑用于本发明，其中所述的病毒或表达构建体包含灵长类动物免疫缺陷病毒核苷酸序列，例如 HIV 或 SIV *env*、*gag*、*pol*、*tat*、*rev*、*nef*、*vif*、*vpu*、*vpr*、*gag/pol* 或 *env-gag/pol* 序列它们的片段或变体。考虑将任何可用于制备重组载体/HIV 或重组载体/SIVA 构建体的适当病毒载体用于本发明。例如来源于腺病毒、禽痘、猫疱疹病毒、痘苗、金丝雀痘、昆虫痘、猪痘和其他本领域已知的病毒载体可用于本发明的组合物和方法。可使用本领域已知的标准基因工程技术构

建编码并且可在适当宿主细胞中表达 HIV 或 SIV 元件的重组多核苷酸载体。

包含编码一种或多种灵长类动物免疫缺陷病毒蛋白质或者其片段或变体的核酸的 DNA 或 RNA 疫苗也可考虑用于本发明。核酸可以质粒或真核表达构建体形式提供。DNA 疫苗和制剂在例如出版的专利申请 20040076632、20040047878、20040009941、20020156037、20020032165 和 20010004531 中有所描述。

正如在此使用的，术语“表达构建体”指核酸序列的组合，以提供有效连接的核酸序列的转录。正如在此使用的，术语“有效连接”指所述元件的并列，其中元件之间的关系允许们以其预期方式发挥作用。总之，有效连接的元件为相邻关系。

本发明的表达构建体通常也包括在用于表达表达构建体的目的宿主细胞中发挥作用的调节元件。因此，本领域的技术人员可选择调节元件用于例如细菌宿主细胞、酵母宿主细胞、植物宿主细胞、昆虫宿主细胞、哺乳动物宿主细胞和人宿主细胞的调节元件。调节元件包括启动子、转录终止序列、翻译终止序列、增强子和多腺苷酸化元件。

本发明的表达构建体可包含与编码本发明肽的多核苷酸序列有效连接的启动子序列。启动子可使用本领域已知的标准技术整合到多核苷酸中。多拷贝启动子和复合启动子可用于本发明的表达构建体中。在优选的实施方式中，启动子与转录起始位点的距离可与天然遗传环境中相同。在基本不降低启动子活性的前提下允许此距离一定的改变。转录起始位点一般包含在表达构建体中。

就在动物细胞中表达而言，本发明的表达构建体可包含能驱动多核苷酸序列转录的适当启动子。如果细胞为哺乳动物细胞，那么表达载体中可使用这样的启动子，如肌动蛋白启动子、金属硫蛋白启动子、NF- κ B 启动子、EGR 启动子、SRE 启动子、IL-2 启动子、NFAT 启动子、骨钙蛋白启动子、SV40 早期启动子和 SV40 晚期启动子、Lck 启动子、BMP5 启动

子、TRP-1 启动子、鼠乳腺肿瘤病毒长末端重复启动子、STAT 启动子或免疫球蛋白启动子。

本发明的表达构建体可任选地含有转录终止序列、翻译终止序列、信号肽序列和/或增强子元件。转录终止区域一般可从真核或病毒基因序列的3'非翻译区获得。转录终止序列可位于编码序列的下游以提供有效的终止。信号肽为一组短的氨基端序列，其编码负责把有效连接的肽移到一系列翻译后细胞目的地的信号，这个范围从特定细胞器区室到蛋白质作用位点和胞外环境。通过使用有效连接的信号肽序列引导肽到预期细胞和/或胞外目的地被设想用于本发明的免疫原。化学增强子为增加基因转录的顺式作用元件，并可包括在表达构建体中。化学增强子为本领域已知并包括（但不限于）细胞巨化病毒(CMV)早期启动子增强子元件和 SV40 增强子元件。表达构建体中也可包括指导结构基因编码的 mRNA 多腺苷酸化的 DNA 序列。

表达构建体的 5'和 3'端可包括独特的限制性内切酶位点以允许插入多核苷酸载体。正如在此使用的，术语“载体”指任何遗传元件，其包括例如质粒、粘粒、染色体、噬菌体、病毒等等，当与适当控制元件联系时，其能复制并且可在细胞间转移多核苷酸序列。载体含有允许载体在所选宿主细胞中复制的核苷酸序列。可获得许多可进行表达和/或克隆的载体，包括（但不限于）pBR322、pUC 系列、M13 系列和 pBLUESCRIPT 载体 (Stratagene, La Jolla, CA)。

本发明的多核苷酸、载体和表达构建体也可通过脂质转染法体内引入（经由合成阳离子脂质制备的脂质体转染 DNA）（Felgner 等人，1987）。合成阳离子脂质(LIPOFECTIN, Invitrogen Corp., La Jolla, CA)可用于制备脂质体来包裹本发明的多核苷酸、载体和表达构建体。本发明的多核苷酸、载体和表达构建体也可以裸 DNA，使用本领域已知的方法（如转染、显微注射、电穿孔法、磷酸钙沉淀）和生物射弹法引入。

正如在此使用的，术语“核酸”和“多核苷酸序列”指单链或双链形式的脱氧核糖核苷酸和核糖核苷酸聚合体并且除非另有限制，包括已知的

可以天然存在核苷酸相似方式发挥作用的天然核苷酸类似物。多核苷酸序列包括转录成 RNA 的 DNA 链序列和翻译成蛋白质的 RNA 序列。多核苷酸序列包括全长序列以及来源于全长序列的较短序列。应该理解,特定的多核苷酸序列包括天然序列或可引入以在特定宿主细胞中提供密码子偏好性的序列的简并密码子。进入本发明范围之内内的多核苷酸序列还包括与代表性序列特异杂交的序列。多核苷酸包括如单链或双链体的正义和反义链。

本发明的方法考虑用本发明的疫苗组合物初次免疫。随后的或二次的免疫也考虑为本方法的范围之内。用于二次免疫的疫苗组合物可与用于初次免疫的组合物相同或不同。例如,动物的初次免疫可使用基于重组载体的 HIV 或 SIV 构建体,具有单一或多个株系的组分,然后用疫苗组合物二次加强,二次加强的疫苗组合物包含 HIV 或 SIV 感染的细胞系或者 HIV 或 SIV 多肽、或者无细胞 HIV 或 SIV 病毒,也具有单一或多个株系的组分。初次免疫也可使用 HIV 和/或 SIV DNA 疫苗。在一个实施方案中,重组载体构建体用于初次免疫,而蛋白质或蛋白质加上重组载体构建体、亚单位疫苗组合物用于二次加强。此外,本发明考虑这样的方法,其中用于初次免疫的免疫原为 HIV 或 SIV 来源的免疫原,例如 HIV p24 蛋白质,用于二次免疫的免疫原来源于 FIV,例如 FIV gp95 和/或 gp36 蛋白质或者全 FIV 病毒或 FIV 感染的细胞。用本发明的疫苗组合物免疫接种的其他方法是本领域的技术人员显而易见的,并考虑为在本发明的范围之内。

在一个实施方案中,将来源于多种灵长类动物免疫缺陷病毒蛋白质的免疫原组合施用给动物。在代表性的实施方案中,给猫科动物施用包含 HIV-1 p24 免疫原和 HIV-1 gp120 及 gp160 免疫原的组合物。在另一个代表性实施方案中,给猫科动物施用包含 HIV-1 p24 作为唯一免疫原的组合物。

本发明也涉及预防猫科动物感染 FIV 或通过给动物施用组合物以产生针对 FIV 的免疫应答的材料和方法,其中所述的组合物包含来源于灵长类动物免疫缺陷病毒的免疫原和来源于 FIV 的免疫原。FIV 衍生的免疫原在本领域已有所描述。见例如美国专利 No. 5,118,602、5,565,319、5,510,106、

5,275,813、5,037,753 和 4,861,720。可根据本发明使用的 FIV 免疫原可来自 FIV 的单一亚型或株系，或者免疫原可来源于 FIV 的多种亚型。多亚型 FIV 免疫原已在美国专利 No. 5,846,825、6,254,872 和 6,447,993 中描述。

在本发明方法的一个实施方案中，给猫科动物施用的免疫原包含在灵长类动物免疫缺陷病毒和 FIV 之间保守的表位。在另一个实施方案中，保守的表位存在于免疫缺陷病毒的包膜蛋白中。具有与本发明表位拓扑学等价的构象并且与结合保守表位的抗体结合相同的抗原结合区的分子（模拟表位）也考虑在本发明范围之内。一般地，模拟表位为肽分子，但是模拟表位也可从其他非肽分子制备。

本发明也涉及来自灵长类动物免疫缺陷病毒的免疫原，其中免疫原为蛋白质或肽并且包含在灵长类动物免疫缺陷病毒和 FIV 之间保守的表位。在代表性实施方案中，免疫原包含 HIV-1_{IIIB} 的 gp120 和 gp160 蛋白质，任选地包含 HIV_{UCD1} 的 p24 蛋白质。在另一个实施方案中，免疫原包含 HIV_{UCD1} 的 p24 蛋白质。本发明也涉及编码蛋白质或肽的多核苷酸，其中所述的蛋白质或肽包含来自免疫缺陷病毒的免疫原的保守表位。

本发明还涉及与来自灵长类动物免疫缺陷病毒和 FIV 的免疫原的表位交叉反应的抗体。抗体可为多克隆或单克隆形式。抗体可来源于能产生针对所述表位的抗体的任何动物，包括例如人、猿、猴子、小鼠、大鼠、山羊、绵羊、猪、奶牛和猫科动物。非人类抗体也考虑在本发明范围之内，其与来自灵长类动物免疫缺陷病毒和 FIV 的免疫原的表位交叉反应，但是已经使用本领域已知的标准技术“人源化”，如使用美国专利 No. 5,530,101、5,585,089、5,693,762、6,180,370 和 6,407,213 中所述的技术“人源化”。

本发明的肽和/或多肽免疫原也可以多抗原肽(MAP)构建体形式提供。Tam (1988)中描述了 MAP 构建体的制备。MAP 构建体利用多拷贝的免疫原合成其上的赖氨酸残基核心基质 (Posnett 等人, 1988)。多 MAP 构建体可根据本发明的方法以疫苗组合物的形式制备和施用，每一个构建体含有相同或不同的免疫原。在一个实施方案中，MAP 构建体连同一种或多种佐剂提供和/或施用。

灵长类动物免疫缺陷病毒蛋白质的天然、重组或合成多肽和其肽片段也可根据本发明方法用作疫苗组合物。在一个实施方案中，不同的多肽以组合制品施用给猫科动物。在代表性的实施方案中，给猫科动物施用 HIV-1 gp120/160 和 HIV-1 p24 多肽。在另一个实施方案中，来自不止一种 HIV 株的 HIV 多肽组合到疫苗组合物中并用于接种宿主动物。例如，基于至少两个 HIV-1 株系的 HIV 包膜糖蛋白的多肽可组合到疫苗中。多肽可包含“杂合”或“嵌合”多肽，其氨基酸序列来自至少两种不同 HIV 株的多肽的连接。制备 HIV 多肽的方法为本领域熟知。例如，可使用固相合成方法 (Merrifield, 1963) 合成 HIV 多肽。也可使用重组 DNA 技术产生 HIV 多肽，其中编码 HIV 蛋白质或肽的多核苷酸分子在宿主细胞（如细菌、酵母或哺乳动物细胞系）中表达，并使用本领域标准技术纯化。

根据本发明的方法，本文所述的免疫原组合物以诱导针对随后 FIV 对宿主感染或攻击的保护性免疫的有效数量和方式给易感宿主（一般为家猫）施用。免疫原一般通过注射肠胃外施用，例如皮下、腹膜内、肌内，或者通过口腔或鼻内施用，或者通过此类途径的任何组合施用。免疫原通常给宿主动物施用至少两次，两次施用间隔一周或几周。然而，也考虑起始或加强施用免疫原的其他用药法，并且可依赖于医生的判断和待治疗的具体宿主动物。

可根据本发明使用的免疫原可与可药用载体或稀释剂一起提供。用于本发明的化合物和组合物可根据制备可药用组合物的已知方法制备。制剂在大量本领域技术人员熟知并且易于获得的资料中详细描述。例如，E.W. Martin, Easton Pennsylvania 编写的《*Remington's Pharmaceutical Science*》（Mack Publishing Company, 第 19 版, 1995）描述了可结合本发明使用的制剂。总之，配制本发明的组合物以便有效数量的免疫原与适当的载体组合，以促进组合物的有效施用。用于本发明方法的组合物也可有多种形式。这些形式包括例如固体、半固体和液体剂型，如片剂、丸剂、粉末剂、液体溶液或悬浮液、栓剂、可注射和输注的溶液和喷雾剂。优选的形式依赖于目的施用方式和治疗应用。组合物也优选地包含本领域技术

人员已知的常规可药用载体和稀释剂。与目的肽模拟物一起使用的载体或稀释剂的实例包括（但不限于）水、盐水、油（包括矿物油）、乙醇、二甲基亚砜、明胶、环糊精、硬脂酸镁、葡萄糖、纤维素、糖、碳酸钙、甘油、铝、淀粉以及等价载体和稀释剂，或者任何这些物质的混合物。本发明免疫原的制剂也可包含悬浮剂、保护剂、润滑剂、缓冲液、防腐剂和稳定剂。为在所需治疗处理中施用此类药剂，本发明的药用组合物有利地包含以包括载体和稀释剂的总组合物的重量计 0.1-45%，尤其是 1-15%的免疫原。

可通过本领域已知的方法制备本发明的免疫原组合物。例如，免疫原一般制备成可注射剂，例如液体溶液或悬浮液。免疫原以与剂量形式相容的方式并在接受者中治疗有效和致免疫的数量施用。本领域技术人员可容易地确定特定免疫原制剂的最佳剂量和施用方式。

如上面提到的，免疫原制剂中的病毒和细胞可使用本领域已知的方法灭活或减毒。疫苗制剂中无细胞完整或部分病毒的数量通常为约 0.1-5 mg，更通常为约 0.2-2 mg。包含病毒感染的细胞系的制剂的剂量通常每剂量含有约 10^6 - 10^8 个细胞，更通常地每剂量含有约 5×10^6 - 7.5×10^7 个细胞。依赖于接受药剂的动物的大小、年龄等，用于猫科动物的一剂中蛋白质或肽免疫原的数量为约 0.1-10000 μg ，或者约 1-5000 μg ，或者约 10-1000 μg ，或者约 25-750 μg ，或者约 50-500 μg ，或者约 100-250 μg 。

在一个实施方案中，本发明的免疫原与一种或多种增加动物对免疫原免疫应答的佐剂一起提供。本发明的免疫原可与任何适当的佐剂或本领域已知的佐剂一起提供和/或施用。可用于本发明免疫原制剂的佐剂包括苏氨酸胞壁酰二肽(MDP) (Byars 等人, 1987)、Ribi 佐剂系统组分(Corixa Corp., Seattle, WA)（包括细胞壁骨架(CWS)成分、弗氏完全佐剂和弗氏不完全佐剂或其组合）。多种适合用于本发明方法和疫苗的其他佐剂（如铝、氢氧化铝和皂苷）为本领域所熟知并考虑用于本发明。细胞因子（ γ -IFN、GM-CSF、CSF 等等）和淋巴因子（IL-1、IL-2 等）也用作疫苗组合物的佐剂和/或添加物并考虑为在本发明的范围之内。包含本发明免疫原的组合

物中可包含一种或多种不同的细胞因子和淋巴因子。在一个实施方案中，本发明的免疫原与淋巴因子白细胞介素-12 (IL-12)组合施用给动物，其中所述的白细胞介素-12与另一种佐剂组合。同样特别考虑为本发明范围之内的是为淋巴因子白细胞介素-18 (IL-18)用作佐剂组合物的部分。在一个实施方案中，用于本发明的佐剂组合物包含 IL-12 和 IL-15，或 IL-15 和 IL-18，或 IL-12 和 IL-18，或 IL-12、IL-15 和 IL-18 的组合。优选地，细胞因子为在猫科动物中具有生物活性的种类。更优选地，细胞因子为猫科动物细胞因子，例如猫 IL-12、猫 IL-15、猫 IL-18 等等。在代表性的实施方案中，灵长类动物来源的免疫原与包括 CWS 和 IL-12 和/或 IL-18 在内的 Ribi 佐剂系统组分组合施用。

下面列出了本文所用的 FIV 株缩写：

株(亚型)	缩写
Petaluma (A)	FIV _{Pet}
Dixon (A)	FIV _{Dix}
UK8 (A)	FIV _{UK8}
Bangston (B)	FIV _{Bang}
Aomori-1 (B)	FIV _{Aom1}
株(亚型)	缩写
Aomori-2 (B)	FIV _{Aom2}
Fc1 (B)	FIV _{FC1}
Shizuoka (D)	FIV _{Shi}
Dutch113 (A)	FIV _{Dut113}
Dutch19K (A)	FIV _{Dut19}
UK2 (A)	FIV _{UK2}
SwissZ2 (A)	FIV _{SwiZ2}
Sendai-1 (A)	FIV _{Sen1}
Sendai-2 (B)	FIV _{Sen2}
USCAzepy01A (A)	FIV

USCAhnky11A (A)	FIV_{USC11}
USCAtt-10A (A)	FIV_{USC10}
USCAlemy01 (A)	FIV
USCAsam-01A (A)	FIV
PPR (A)	FIV_{PPR}
FranceWo	FIV_{Fra}
Netherlands	FIV_{Net}
USILbrny03B (B)	FIV_{USI03}
TM2 (B)	FIV_{TM2}
USCKlgri02B (B)	FIV_{USC02}
Yokohama (B)	FIV_{Yok}
USMAasboy03B (B)	FIV_{USMA03}
USTXmtex03B (B)	FIV_{UST03}
USMCglwd03B (B)	FIV_{USMC03}
CABCpbar03C (C)	FIV_{CAB03}
CABCpbar07C (C)	FIV_{CAB07}
CABCpady02C (C)	FIV_{CAB02}
Fukuoka (D)	FIV_{Fuku}

本发明也涉及使用动物模型筛选免疫缺陷病毒（如 HIV 和 FIV）间保守表位的方法，其中所述的表位可用于免疫接种免疫缺陷病毒感染的人或动物。在本方法的一个实施方案中，HIV 从 HIV 感染的病情长期稳定患者分离。如本文所用的，术语“病情长期稳定”指表现稳定的 CD4 计数达至少 10 年，表现低病毒载量（即血浆病毒水平低到 RT-PCR 检测不到的水平）并且一般表现很少或没有病症的 HIV 感染患者。制备经分离的 HIV 免疫原并用于免疫接种猫科动物（如家猫）。在本方法的一个实施方案中，用 HIV 蛋白质的肽片段作为免疫原。优选地，制备代表全长 HIV 蛋白质的重叠片段用作免疫原。在一个实施方案中，给不同的猫施用肽片段的不

同组合以鉴定这样的片段,其含有针对 FIV 感染提供最强预防保护的表位。随后用 FIV 攻击免疫接种的猫。预防猫在 FIV 攻击时被感染的免疫原包含进化保守的表位并可用作免疫原免疫接种免疫缺陷病毒感染的人、猫科动物和其他哺乳动物。免疫原优选地预防猫感染一种以上亚型的 FIV。可制备包含进化保守表位的免疫原片段并使用本发明方法检测以进一步分离表位。也可对片段测序以确定表位的一级氨基酸序列。在优选的实施方案中,包含用本发明方法筛选的进化保守表位的免疫原可用于免疫接种感染 HIV 的人。在本方法的一个实施方案中,用于免疫接种猫的免疫原为 HIV p24 蛋白质或其免疫原性片段。本发明也涉及用本发明方法鉴定的免疫缺陷病毒进化保守表位。

本发明也涉及这样的方法,其在人和其他动物中诱导针对包含免疫缺陷病毒(如 HIV 和 FIV)中进化保守表位的免疫原、抗原或病毒的免疫应答。在一个实施方案中,以足够诱导针对免疫原或抗原和任何呈现免疫原的病毒或细胞的免疫应答的数量和持续时间向人或动物施用包含用本文所述方法鉴定的一种或多种免疫缺陷病毒进化保守表位的免疫原或抗原。所诱导的免疫应答可为体液介导或细胞介导或两者均有。在一个诱导针对 HIV 免疫应答的实施方案中,给人施用包含从 HIV 鉴定的进化保守表位的免疫原。考虑在本发明范围内的免疫原包括(但不限于)HIV p24 蛋白质或其免疫原性片段。在一个实施方案中,本方法所用的免疫原包括 HIV-1_{UCD1} p24 蛋白质或其免疫原性片段。

本发明也涉及预防人和其他动物(如猫)感染免疫缺陷病毒(如 HIV 和 FIV)的方法。在本方法的一个实施方案中,以足以免疫接种人或动物并为人或动物感染免疫缺陷病毒提供某种水平的预防的持续时间向人或动物施用包含一种或多种用本文所述方法鉴定的免疫缺陷病毒进化保守表位的有效数量的免疫原或抗原,,。在一个预防 HIV 感染的实施方案中,用包含从 HIV 鉴定的进化保守表位的免疫原免疫人。考虑在本发明范围内的免疫原包括(但不限于)HIV p24 蛋白质或其免疫原性片段。在一个实施方案中,本发明方法中使用的免疫原包括 HIV-1_{UCD1} p24 蛋白质或其免

疫原性片段。

免疫原一般通过注射（例如皮下、腹膜内或肌内注射）肠胃外施用。其他适当的施用方式包括口腔或鼻内施用。通常给人或其他动物至少施用两次免疫原，每一次施用之间间隔一周或数周。然而，也考虑起始和加强施用免疫原的其他方案，并可依赖于医生的判断和接受治疗的患者。

可通过本领域熟知的方法制备本发明的免疫原组合物。例如免疫原一般制备成可注射剂，例如液体溶液或悬浮液。免疫原以与给药制剂相容并在接受者中治疗有效和致免疫的数量施用。本领域的技术人员容易地确定特定免疫原制剂的最佳剂量和施用方式。

可根据本发明使用的免疫原可与可药用载体或稀释剂一起提供。在一个实施方案中，本发明的免疫原与一种或多种增强人或动物针对免疫原的免疫应答的佐剂一起提供。本发明的免疫原可与本领域已知的任何适当佐剂一起提供和/或施用。

本发明也涉及这样的组合物，其包含来源于灵长类动物免疫缺陷病毒的免疫原和猫细胞因子或淋巴因子。免疫原可来源于 HIV，这包括 HIV-1（例如 HIV-1_{IIB}、HIV-1_{UCD1} 和 HIV-1_{BRU}）和 HIV-2。组合物的 HIV 免疫原包括（但不限于）HIV gp160、gp120、gp41、p24、p31、p17、p7 或 HIV gag、pol、env、tat、rev、nef、vif、vpr、vpu 或 vpx 基因编码的蛋白质、或者它们的片段或变体。在一个实施方案中，淋巴因子为猫 IL-12、IL-15 和或 IL-18。在代表性实施方案中，免疫原为 HIV-1 p24，淋巴因子为猫 IL-18。组合物也可包含佐剂，如本文所述的佐剂之一。

本发明涉及这样的试剂盒和给药制剂，其在一种或多种容器中包含来源于灵长类动物免疫缺陷病毒本发明的免疫原和猫细胞因子或淋巴因子。免疫原可来源于 HIV（例如 HIV-1_{IIB}、HIV-1_{UCD1} 和 HIV-1_{BRU}）和 HIV-2。组合物的 HIV 免疫原包括（但不限于）HIV gp160、gp120、gp41、p24、p31 或 HIV gag、pol、env、tat、rev、nef、vif、vpr、vpu 或 vpx 基因编码的蛋白质、或者它们的片段或变体。在一个实施方案中，淋巴因子为猫 IL-12、IL-15 和或 IL-18。在代表性实施方案中，免疫原为 HIV-1 p24，

淋巴因子为猫 IL-18。试剂盒和给药制剂也可包括佐剂，如本文所述的佐剂之一。

本文所涉及或引用的所有专利、专利申请、临时申请和出版物全部整体引入作为参考，但是引用的程度不应使它们与本说明书的明确教导不一致。

下列为描述实施本发明的方法的实施例。这些实施例不应解释为限制性的。除非另外注明，所有百分比以重量计，所有溶剂混合比例以体积计。

实施例 1

四只 SPF 猫的每一只(n=4)用 HIV-1 疫苗制剂 A 或 HIV-1 疫苗制剂 B 以 3 周间隔免疫四次并在最后一次加强之后三周用 15 倍猫感染剂量(CID₅₀)体内来源的 FIV_{Bangston} 接种物攻击。另外四只 SPF 猫(对照组)不接受免疫接种但是类似地用 FIV 攻击。HIV-1 疫苗制剂 A 由混合于 0.5 ml Ribi 佐剂系统中的 200 µg HIV-1_{UCD1} p24、25 µg HIV-1_{IIIB} gp120 (ImmunoDiagnostics Inc., Woburn, MA) 和 25 µg HIV-1_{IIIB} gp160 (ImmunoDiagnostics Inc.)组成，其中所述的 Ribi 佐剂系统包含含有 5 µg 重组人白细胞介素-12 (rHuIL-12)的细胞壁骨架(CWS)组分(每剂 25 µg 细胞壁骨架)(Corixa Corp., Seattle, WA)。HIV-1 疫苗制剂 B 由混合于含 5 µg rHuIL-12 的 0.5 ml Ribi 佐剂系统 CWS 组分的 200 µg HIV-1_{UCD1} p24 组成。重组 HIV-1_{UCD1} p24 用 QIAexpress pQE 载体(Qiagen Inc., Valencia, CA)在大肠杆菌(*E. coli*)表达系统中产生，所表达的 6 个组氨酸标记的 p24 产物通过 Ni-NTA 亲和层析(Qiagen Inc.)纯化。体内来源的 FIV 接种物由两只感染 FIV_{Bangston} 的猫的混合血浆组成，使用每对数稀释物 3-4 只 SPF 猫在体内滴定(Pu 等人, 2001)。

此研究结果显示于表 1。作为额外的测定 FIV 感染状态的方法，使用

逆转录酶 RT 测定法和原病毒 PCR 作为病毒检测系统进行病毒分离。用 HIV-1 疫苗制剂 A 免疫并随后用 FIV 攻击的四只猫中的一只(1/4)和用 HIV-1 疫苗制剂 B 免疫并随后用 FIV 攻击的四只猫中的两只(2/4)通过病毒分离为 FIV 阴性,并且在攻击后 16 周丧失抗 FIV p24 的抗体和不产生抗 FIV gp95 的抗体,而剩余的猫产生抗 FIV gp95 的抗体并产生较强的持续的抗 FIV p24 抗体反应。所有四只对照猫在攻击后 16 周产生抗 FIV p24 的抗体和抗 gp95 的抗体并且在攻击后 13 周为病毒分离物阳性。因此,表明 HIV-1 疫苗制剂 B 在预防猫受 FIV 攻击方面比 HIV-1 疫苗制剂 A (仅有 HIV-1 p24)具有更好或相等的效力,这表明 HIV-1_{UCD1} p24 为可诱导针对 FIV 攻击的保护性免疫的疫苗组分。所有用 HIV-1 疫苗制剂 A 免疫的四只猫和用 HIV-1 疫苗制剂 B 免疫的四只猫中三只第四次接种之后产生抗 FIV p24 的交叉反应抗体。

既然在 HIV-1 接种的表现对 FIV 保护性免疫应答的猫中没有抗 FIV gp95 的交叉反应抗体,那么 FIV gp95 的抗体的有无分别为动物是否为接种 HIV 或感染 FIV 的标志。此外,本研究结束时接种猫中 FIV p24 交叉反应抗体的丧失也表示接种的猫是受保护免于 FIV 攻击的。

实施例 2

在随后的研究中,四只无特异病原体(SPF)猫的每一只用 HIV-1/UCD1 (HIV-1_{UCD1}) p24 或 HIV-1/LAV (HIV-1_{LAV}) p24 疫苗以每剂 250 µg 免疫,其中疫苗溶于添加有每剂 5 µg 重组人 IL-12 (rHuIL-12)的 1 ml Ribi 佐剂(每剂 25 µg CWS (细胞壁骨架))中。另一组三只 SPF 猫接受无 Ribi 佐剂或 rHuIL-12 的 HIV-1_{UCD1} p24 以评价佐剂的重要性。对照组猫接受 Ribi 佐剂或 PBS。所有的猫以三(3)周间隔免疫接种三(3)次并于最后一次免疫后三周用 15 CID₅₀ 的体内来源的 FIV-Bangston (FIV_{Bang})攻击。如表 2 所示,四只用含佐剂的 HIV-1_{UCD1} p24 免疫接种的猫中的四只(4/4)在所有四只对照猫攻击之后感染 FIV 的剂量下处不受 FIV 感染。用含佐剂的 HIV-1_{UCD1} p24 免疫接种的受保护猫在攻击后 54 周为 FIV 感染阴性,因

此它们为完全受保护的。表 2 显示的结果表明 HIV-1_{UCD1} p24 疫苗(4 只猫中的 4 只或者 100%受保护)比 HIV-1_{LAV} p24 疫苗(4 只猫中的 2 只或者 50%受保护)更有效。接受不含佐剂的 HIV-1_{UCD1} p24 的组在用 FIV 攻击时具有最小的感染保护(3 只猫中的 1 只或者 33%受保护)。

实施例 3

进行另一项研究以确定 HIV-1_{LAV} p24 疫苗诱导的保护是否为可重复的。在本研究中,三只 SPF 猫用每剂 200 µg 的 HIV-1_{LAV} p24 疫苗免疫,其中所述的疫苗在添加每剂 5 µg rHuIL-12 的 1 ml Ribi 佐剂(每剂 25 µg CWS(细胞壁骨架))中配制。此外,三只 SPF 猫的每一只用每剂 200 µg 的 FIV_{Bang} p24 或 FIV-Petaluma+Shizuoka (FIV_{Pet/Shi}) p24 疫苗免疫,其中所述的疫苗在添加每剂 5 µg rHuIL-12 的 1 ml Ribi 佐剂(每剂 25 µg CWS(细胞壁骨架))中配制。FIV_{Pet/Shi} p24 疫苗由溶于添加 rHuIL-12 的 Ribi 佐剂中的 130 µg FIV_{Pet} p24 和 70 µg FIV_{Shi} p24 组成。三只对照猫接受佐剂。免疫和攻击方案(包括攻击接种物的和剂量)与实施例 2 所述相同。如表 3 所示,用 HIV-1_{LAV} p24 疫苗免疫接种的三只猫中的三只(3/3)受保护所有三只对照猫感染的剂量。用 FIV_{Bang} p24 免疫接种的 3 只猫中只有 1 只,用 FIV_{Pet/Shi} p24 免疫接种的 3 只猫中有 2 只受保护。这些结果验证了 HIV-1_{LAV} p24 疫苗也与 FIV 疫苗一样有效。而且, HIV-1 p24 疫苗与 FIV_{Pet/Shi} p24 疫苗同样有效并且可能比 FIV_{Bang} p24 疫苗抗 FIV_{Bang} 攻击更有效。

实施例 4

进行另一项研究以评价降低 p24 剂量和改变佐剂的细胞因子添加的影响。三只 SPF 猫用每剂 200 µg 的 HIV-1_{UCD1} p24 抗原免疫,其中所述的 HIV-1_{UCD1} p24 抗原在添加重组猫 IL-18 (rFeIL-18; 5 µg/剂量)而非 rHuIL-12 的 1 ml Ribi 佐剂中配制(每剂 25 µg CWS(细胞壁骨架))。为确定佐剂中细胞因子添加的影响,另外三只 SPF 猫用每剂 200 µg 的

HIV-1_{UCD1} p24 抗原免疫,其中所述的 HIV-1_{UCD1} p24 抗原在无细胞因子添加的 Ribi 佐剂(每剂 25 µg CWS(细胞壁骨架))中配制。作为对照,两只 SPF 猫的每一只用添加 rFeIL-18 的 Ribi 佐剂、单独的 Ribi 佐剂或 PBS 免疫。除了稍微提高的 25 CID₅₀ 攻击剂量外,免疫和攻击方案与实施例 2 和 3 相同。如表 4 所示,用在添加 rFeIL-18 的 Ribi 佐剂中配制的 HIV-1_{UCD1} p24 疫苗免疫的三只猫中的两只(2/3)受保护,而用只有 Ribi 佐剂配制的 HIV-1 p24 疫苗免疫接种的三只猫中只有一只(1/3)受保护。所有对照猫在攻击后 5-9 周感染。因此,在 Ribi/FeIL-18 中配制的 HIV-1_{UCD1} p24 疫苗展示了保护作用(3 只猫中的两只)。此外,表明在 Ribi/FeIL-18 中配制的 HIV-1_{UCD1} p24 疫苗比在只有 Ribi 佐剂(无 FeIL-18)中配制的疫苗更有效(2/3 受保护的猫对 1/3 受保护的猫)。

实施例 5

在另一项研究中,攻击株从 FIV_{Bang}(其为 A/B 亚型)变为 FIV_{FC1}(其为 B 亚型)以检测 HIV-1 p24 疫苗是否会预防猫感染其他 FIV 攻击株。FIV_{Bang} 具有基因特异性抗原(*gag*)、聚合酶(*pol*)和属于 A 亚型的被膜(*env*)基因序列的小部分(V1-V3 区域),而 *env* 基因的大部分(V4-V9 区域)属于 B 亚型。因此, FIV_{Bang} 为 A 和 B 亚型的重组体。另一方面, FIV_{FC1} 在 *gag*、*pol* 和 *env* 处具有 B 亚型基因序列并且完全为 B 亚型株。*gag* 由基质-核心-核壳体组成并且核心基因为 p24 基因。因此, HIV-1_{UCD1} 和 HIV-1_{LAV} p24 疫苗预防猫感染具有 A 亚型 p24 的 FIV_{Bang}。此研究检测 HIV-1 p24 疫苗是否预防猫感染具有 B 亚型 p24 的 FIV_{FC1}。

四只 SPF 猫用每剂 200 µg 的 HIV-1_{UCD1} p24 免疫,其中所述的 HIV-1_{UCD1} p24 溶于添加每剂 5 µg rHuIL-12 的 1 ml Ribi 佐剂(每剂 25 µg CWS(细胞壁骨架))中。为进行比较,另外四(4)只 SPF 猫用商业购买的溶于与疫苗一起提供的佐剂中的二元亚型(dual-subtype) FIV_{Pet/Shi} 疫苗(FEL-O-VAX FIV; Forth Dodge Animal Health, Overland Park, Kansas)免疫。三只对照猫接受 PBS 免疫。除了 FIV_{FC1} 的攻击接种物为 15 CID₅₀

外，免疫和攻击方案与实施例 2 和 3 所述相同。如表 5 所示的结果，用 HIV-1_{UCD1} p24 疫苗免疫的四只猫中的三只(3/4)和所有四只 FEL-O-VAX FIV 免疫猫受保护于所有三只对照猫感染的剂量。因此，HIV-1 p24 疫苗预防猫具有 B 亚型 p24 并与 FIV_{Bang} 攻击株显著不同的攻击株(FIV_{FC1})。

实施例 6

实施例 1 到实施例 5 所述研究的结果总结于表 6 中。总体上，用 Ribi/rHuIL-12 或 Ribi/rFeIL-18 佐剂中配制的 HIV-1_{UCD1} p24 疫苗免疫的 15 只猫中有 11 只(73.3%)受保护。类似地，用 Ribi/rHuIL-12 中配制的 HIV-1_{LAV} p24 免疫的 7 只猫中有 5 只(71.4%)受保护。仅用 Ribi/rHuIL-12 配制的 HIV-1 p24 的最初免疫分析表明 HIV-1_{UCD1} p24 疫苗(7/8 受保护的猫或者 87%受保护)可能比 HIV-1_{LAV} p24 疫苗(5/7 受保护的猫或者 71%受保护)更有效。但是，在用溶于 Ribi/rHuIL-12 或 Ribi/rFeIL-18 的 HIV-1 p24 疫苗免疫的 22 只猫中的 16 只(72.7%)的综合总数(combined total)中观察到了完全消除性保护(sterilizing protection)，其在保护方面基本高于用 FIV p24 疫苗免疫后的 6 只猫中的 3 只(50%)。

应理解为本文所述的实施例和实施方案仅为描述目的，建议本领域的技术人员在此基础上进行多种修饰或改变并且，并且这些修饰或改变包括在此申请的精神和范围，以及附属权利要求的范围之内。

表 1. HIV-1 蛋白质对 FIV_{Bang} 攻击感染的免疫原性和效力 (研究 I)

Cat #	疫苗: HIV-1 免疫原 (佐剂)	FIV 免疫印迹(p24/gp95)								HIV-1 免疫印迹 (p24/gp120/160)		FIV 状态 (病毒分离)				FIV 状 态 概括
		Pre	V3	V4	4wpc	7wpc	10wpc	13wpc	16wpc	Pre	V4	10wpc	13wpc	16wpc	18wpc	
L99	制剂 A: HIV-1 _{UCD1} p24 +	-/-	-/H	+/H	±/H	+/-	+/-	+/-	+/+	-/-	+/+	+	+	+	+	+
808	HIV-1 _{mb} gp120/160	-/-	++/ H	++/H	+/H	+/-	+/-	+/-	+/+	-/-	+/+	+	+	+	+	+
9QM		-/-	+/H	+/H	±/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-	-	-	-	-
902	(Ribi + IL-12)	-/-	+/H	++/H	+/H	+/-	+/-	+/-	+/+	-/-	+/+	+	+	+	+	+
K99	制剂 B:															
806	HIV-1 _{UCD1} p24	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-	-	-	-	-
9QL		-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+	+	+	+	+
901	(Ribi + IL-12)	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+	+	+	+	+
M99		-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	ND	+	+	+	+	+
811	无	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	ND	+	+	+	+	+
9QN		-/-	-/-	-/-	±/-	±/-	±/-	±/-	±/-	-/-	ND	-	+	+	+	+
6DJ		-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	ND	+	+	+	+	+

Pre=接种前; V3= 第三次接种后; V4=第四次接种后。

4、7、10、13、16 和 18 wpc = FIV 攻击后的 4、7、10、13、16 和 18 周。

核心 p24 和被膜抗体阴性(-/-) (FIV gp95; HIV gp120/160)。

p24 抗体阳性但是被膜抗体阴性(+/-)。

核心 p24 和被膜抗体阳性(+/+)。

H=抗有高分子量(p70)蛋白质抗体但没有抗 FIV 被膜(gp95)抗体。

ND= 未测定

表 2. HIV-1 蛋白质免疫原性(3X 免疫接种)和抗 A/B 亚型 FIV_{Bang} 攻击感染(15 CID₅₀)的效力 (研究 2)

Cat #	疫苗: HIV-1 免疫原 (佐剂)	FIV 免疫印迹 (p24/gp95)								FIV 状态 (病毒分离)					FIV 状态概括
		Pre	V3	4wpc	6wp c	9wp c	12w pc	16w pc	20w pc	4wpc	6wpc	9wpc 20/54wpc	12wpc	16wpc	
G9F p99 93M 400	HIV-1 _{UCD1} p24 每剂 250 µg (Ribit + IL-12)	-/-	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-/-	-	
		-/-	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-/-	-	
		-/-	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-/-	-	
		-/-	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-/-	-	
R99 93P DE1 099	HIV-1 _{LAV} p24 每剂 250 µg (Ribit + IL-12)	-/-	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	-/-	-	-	-	-/-	-	
		-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+/-	+	
		-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+	+/-	+	
		-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-/-	-	
S99 206 MN1	HIV-1 _{UCD1} p24 每剂 250 µg (无佐剂)	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-/-	-	+	+	+/-	+	
		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	-	-	-	+/-	+	
		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-/-	-	
G9H N99 G9E NN1	(Ribit 或 PBS)	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	+	+	+/-	+	
		-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+	+/-	+	
		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	+/-	+	
		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	+/-	+	

Pre=接种前; V3=第三次接种后; 4、6、9、16、20、48 和 54 wpc 是用 FIV-Bang (A/B 亚型) 体内接种物 (合并的感染血浆) 攻击后 4、6、9、16、20、48 和 54 周。 Ribit+IL-12 由含每剂 25 µg 细胞壁骨架的 Ribit 佐剂和每剂 5 µg 人 IL-12 组成。

FIV 免疫印迹中核心 p24 和被膜(FIV gp95)抗体阴性(-/-)表明仍为 FIV 感染阴性。FIV 免疫印迹中 p24 抗体阳性但是被膜抗体阴性(+/-)。除非抗 p24 抗体效价强于以前的效价, 接种的猫可能仍为病毒感染阴性。然而, 对 PBS 对照来说, 这样的免疫印迹反应性表明了 FIV 感染。FIV 免疫印迹中核心 p24 和被膜抗体阳性(+/-)表明在接种组和 PBS 对照组中 FIV 感染阳性。

FIV 病毒分离阴性(-)和阳性(+)基于 RT 和 PCR。20/54 wpc 时 FIV 病毒分离阴性(-)代表了 20 wpc 和 54 wpc 时进行的分离。这些动物仍然存活并用于 1 年的加强攻击研究。20 wpc 时 FIV 病毒分离阳性并由于在 20 wpc 时收获组织后对动物进行了安乐死而在 48 wpc 未检测(+/-)。

表 3. HIV-1 和 FIV p24 蛋白质免疫原性(3x 免疫接种)和抗 A/B 亚型 FIV_{Bang} 攻击感染(15 CID₅₀)的效力(研究 3)

Cat #	疫苗: HIV-1 免疫原 (佐剂)	FIV 免疫印迹 (p24/gp95)								FIV 状态 (病毒分离)				FIV 状态概 括
		Pre	V3	5wpc	8wpc	10wpc	12wpc	15wpc	18wpc	5wpc	8wpc 15wpc	10wpc 18wpc	12wpc	
626 637 ID4	HIV-1 _{LAV} p24 每剂 200 µg (Rib _i + IL-12)	-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-/-	-
628 633 ID2	无	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	ND	-
631 635 ID3	FIV _{Bang} p24 每剂 200 µg (Rib _i + IL-12)	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	+	+
630 ID1 G9B	FIV _{Fe/S_{hi}} p24 每剂 200 µg (Rib _i + IL-12)	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	+	+

Pre=接种前; V3 = 第三次接种后; 5、8、10、12、15 和 18 wpc = 用 FIV-Bang 体内接种物(合并的感染血浆)攻击后 5、8、10、12、15 和 18 周. Rib_i+IL-12 由含每剂 25 µg 细胞壁骨架的 Rib_i 佐剂和每剂 5 µg 的人 IL-12 组成.

FIV 免疫印迹中核心 p24 和被膜(FIV gp95)抗体阴性(-/-)表明仍然未 FIV 感染阴性. FIV 免疫印迹中 p24 抗体阳性而被膜抗体阴性(+/-). 除非抗 p24 抗体效价强于以前的效价, 接种的猫可能仍为病毒感染阴性. 然而, 对 PBS 对照来说, 这样的免疫印迹反应性表明了 FIV 感染. FIV 免疫印迹中核心 p24 和被膜抗体阳性(+/+)表明在接种组和 PBS 对照组中 FIV 感染阳性.

FIV 病毒分离阴性(-)和阳性(+)基于 RT 和 PCR. 由于对麻醉的反应而在收获样品后意外死亡, cat #637 缺少 FIV 免疫印迹和病毒分离(ND=未进行).

表 4. HIV-1 p24 蛋白质免疫原性(3x 免疫接种)和抗 A/B 亚型 FIV_{Bang} 攻击感染(25 CID₅₀)的效力 (研究 4)

Cat #	VACCINE: HIV-1 免疫原 (佐剂)	FIV 免疫印迹 (p24/gp95)							FIV 状态 (病毒分离)				FIV 状态概括
		Pre	V3	5wpc	7wpc	9wpc	12-19wpc	5wpc 9wpc	12-19wpc 7wpc				
IZ1 JB6 IW1	HIV-1 _{UCD1} p24 每剂 200 µg (Rib _i + FeIL-18)	-/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/+	+	+	+	+	+	+
		-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-	-	-
		-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-	-	-
IZ3 JB5 JA1	HIV-1 _{UCD1} p24 每剂 200 µg (Rib _i)	-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-	-	-
		-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/+	+	+	+	+	+	+
		-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/+	+	+	+	+	+	+
IZ6 JB2 IW2 JJ4	无 (Rib _i +FeIL-18 or Rib _i)	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	-	-	+	+	+	+
		-/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+	+	+	+	+	+	+
		-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/+	-	+	+	+	+	+
		-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	-	+	+	+	+	+
JB1 MK2	无 (PBS)	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	-	-	+	+	+	+
		-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	-	-	+	+	+	+

Pre =接种前; V3 =第三次接种后; 5、7、9 和 12wpc =用 FIV-Bang (亚型 A/B) 体内接种物(混合感染血)攻击后 5、7、9、12、16 和 19 周。Rib_i+FeIL-18 由含每剂 25 µg 细胞壁骨架的 Rib_i 佐剂和每剂 5 µg 猫 IL-18 组成。

FIV 免疫印迹中核心 p24 和被膜(FIV gp95)抗体阴性(-/-)表明仍为 FIV 感染阴性。FIV 免疫印迹中 p24 抗体阳性但是被膜抗体阴性(+/-)。除非抗 p24 抗体效价强于以前的效价, 接种的猫可能仍为病毒感染阴性。然而, 对 PBS 对照来说, 这样的免疫印迹反应性表明了 FIV 感染。FIV 免疫印迹中核心 p24 和被膜抗体阳性(++)表明在接种组和 PBS 对照组中 FIV 感染阳性。

FIV 病毒分离阴性(-)和阳性(+)基于 RT 和 PCR。

表 5. HIV-1 p24 蛋白质的免疫原性(3x 免疫接种)和抗 B 亚型 FIV_{FC1} 攻击感染(15 CID₅₀)的和效力(研究 5)

Cat #	疫苗: HIV-1 免疫原 (佐剂)	FIV 免疫印迹 (p24/gp95)							FIV 状态 (病毒分离)				FIV 状态概括
		Pre	V3	5wpc	7wpc	9wpc	12-16wpc	5wpc 9wpc	7wpc 12-16wpc	7wpc 12-16wpc	7wpc 12-16wpc		
AA1 MD1 MG1 MF3	HIV-1 _{UCD1} p24 每剂 200 µg (Ribi + IL-12)	-/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/+	-	+	+	+	+	+
		-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-	-	-
		-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-	-	-
		-/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-	-	-	-	-	-
AA2 MD2 MG2 MF4	Fel-O-Vax FIV _{Pet/Shi} Fort Dodge 佐剂	-/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-
		-/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-
		-/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-
		-/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-	-	-	-	-	-	-
MD3 MG5 MK4	无 (PBS)	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	-	-	+	+	+	+
		-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	-	+	+	+	+	+
		-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	-	-	+	+	+	+

Pre=接种前; V3 = 第三次接种后; 5, 7, 9 和 12wpc =用 FIV-FC1 (B 亚型) 体内接种物(合并感染血浆)攻击后 5、7、9、12 和 16 周。 Ribi+IL-12 由含每剂 25 µg 细胞壁骨架的 Ribi 佐剂和每剂 5 µg 人 IL-18 组成。

FIV 免疫印迹中核心 p24 和被膜(FIV gp95)抗体阴性(-/-)表明仍为 FIV 感染阴性。 FIV 免疫印迹中 p24 抗体阳性但是被膜抗体阴性(+/-)。 除非抗 p24 抗体效价强于以前的效价, 接种的猫可能仍为病毒感染阴性。 然而, 对 PBS 对照来说, 这样的免疫印迹反应性表明了 FIV 感染。

FIV 免疫印迹中核心 p24 和被膜抗体阳性(+/-)表明 Fel-O-Vax FIV 组中抗体来自疫苗, 并且这些猫未感染。

FIV 免疫印迹中核心 p24 和被膜抗体阳性(+/+)表明在接种组和 PBS 对照组中 FIV 感染阳性。

FIV 病毒分离阴性(-)和阳性(+)基于 RT 和 PCR。

表 6. 总结表

p24 疫苗	佐剂	接种频率	保护率 (参考表)	单一保护率	组合保护率
HIV-1/UCD1 p24	Ribi + IL-12	3X	4/4 (表 2) 3/4 (表 5)	7/8 (87%)	11/15 (73%)
HIV-1/UCD1 p24	Ribi + IL-12	4X	2/4 (表 1)	2/4 (50%)	
HIV-1/UCD1 p24	Ribi + FeIL-18	3X	2/3 (表 4)	2/3 (67%)	
HIV-1/LAV p24	Ribi + IL12	3X	2/4 (表 2) 3/3 (表 3)	5/7 (71%)	5/7 (71%)
FIV-Bang p24	Ribi + IL-12	3X	1/3 (表 3)	1/3 (33%)	3/6 (50%)
FIV-Pet/Shi p24	Ribi + IL-12	3X	2/3 (表 3)	2/3 (67%)	

参考文献

美国专利 No. 6,503,753

美国专利 No. 6,500,623

美国专利 No. 5,846,825

美国专利 No. 6,254,872

美国专利 No. 6,447,993

美国专利 No. 5,530,101

美国专利 No. 5,763,160

美国专利 No. 5,585,089

美国专利 No. 5,693,762

美国专利 No. 6,180,370

美国专利 No. 6,407,213

美国专利 No. 5,700,469

美国专利 No. 5,401,628

美国专利 No. 5,849,533

美国专利 No. 5,846,546

美国专利 No. 5,118,602

美国专利 No. 5,565,319

美国专利 No. 5,510,106

美国专利 No. 5,275,813

美国专利 No. 5,037,753

美国专利 No. 4,861,720

美国公开的专利申请 No. 20040076632

美国公开的专利申请 No. 20040047878

美国公开的专利申请 No. 20040009941

美国公开的专利申请 No. 20020156037

美国公开的专利申请 No. 20020032165

美国公开的专利申请 No. 20010004531

Posnett, D. N. 等人 (1988) "A Novel Method for Producing Anti-peptide Antibodies" *J. Biol. Chem.* 263(4):1719-1725.

Tam, J. P. (1988) "Synthetic Peptide Vaccine Design: Synthesis and Properties of a High-Density Multiple Antigenic Peptide System" *PNAS USA* 85(15):5409-5413.

Byars, N.E., A.C. Allison (1987) "Adjuvant formulation for use in vaccines to elicit both cell-mediated and humoral immunity," *Vaccine* 5:223-228.

Pedersen, N.C., E.W. Ho, M.L. Brown, J.K. Yamamoto (1987) "Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome," *Science* 235:790-793.

Yamamoto, J.K., N.C. Pedersen, E.W. Ho, T. Okuda, G.H. Theilen (1988a) "Feline immunodeficiency syndrome - a comparison between feline T-lymphotropic lentivirus and feline leukemia virus," *Leukemia*, December Supplement 2:204S-215S.

Yamamoto, J.K., E. Sparger, E.W. Ho, P.H. Andersen, T.P. O'Connor, C.P. Mandell, L. Lowenstine, N.C. Pedersen (1988b) "Pathogenesis of experimentally induced feline immunodeficiency virus infection in cats," *Am. J. Vet. Res.* 49:1246-1258.

Ackley, C.D., J.K. Yamamoto, N.B. Levy, N.C. Pedersen, M.D. Cooper (1990) "Immunologic abnormalities in pathogen-free cats experimentally infected with feline immunodeficiency virus," *J. Virol.* 64:5652-5655.

Olmsted, R.A., A.K. Barnes, J.K. Yamamoto, V.M. Hirsch, R.H. Purcell, P.R. Johnson (1989a) "Molecular cloning of feline immunodeficiency virus," *Proc. Nat. Acad. Sci.* 86:2448-2452.

Olmsted, R.A., V.M. Hirsch, R.H. Purcell, P.R. Johnson (1989b) "Nucleotide sequence analysis of feline immunodeficiency virus: Genome organization and relationship to other lentivirus," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:8088-8092.

Talbott, R.L., E.E. Sparger, K.M. Lovelace, W.M. Fitch, N.C. Pedersen, P.A. Luciw, J.H. Elder (1989) "Nucleotide sequence and genomic organization of feline immunodeficiency virus," *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:5743-5747.

Hosie, M.J., O. Jarrett (1990) "Serological responses of cats to feline immunodeficiency virus," *AIDS* 4:215-220.

Sodora, D.L., E.G. Shpaer, B.E. Kitchell, S.W. Dow, E.A. Hoover, J.I. Mullins (1994) "Identification of three feline immunodeficiency virus (FIV) env gene subtype and comparison of the FIV and human immunodeficiency virus type 1 evolutionary patterns," *J. Virol.* 68:2230-2238.

Rigby, M.A., E.C. Holmes, M. Pistello, A. Mackay, A.J. Leigh-Brown, J.C. Neil (1993) "Evolution of structural proteins of feline immunodeficiency virus: molecular epidemiology and evidence of selection for change," *J. Gen. Virol.* 74:425-436.

Kakinuma, S., K. Motokawa, T. Hohdatsu, J.K. Yamamoto, H. Koyama, H. Hashimoto (1995) "Nucleotide Sequence of Feline Immunodeficiency Virus: Classification of Japanese Isolates into Two Subtypes Which Are Distinct from Non-Japanese Subtypes," *Journal of Virology* 69(6):3639-3646.

Murphy, F., D.W. Kingsbury (1990) "Virus Taxonomy," In *Fields Virology*, 2nd Ed., B.N. Fields, D.M. Knipe 等人, eds, Raven Press, New York, Chapter 2, pp. 9-36.

Louwagie, J., F.E. McCutchan, M. Peeters, T.P. Brennan, E. Sanders-Buell, G.A. Eddy, G. van den Groenou, K. Fransen, G.M. Gershy-Damet, R. Deleys, D.S. Burke (1993) "Phylogenetic analysis of gag genes from 70 international HIV-1 isolates provides evidence for multiple genotypes," *AIDS* 7:769-780.

Merrifield, R.B. (1963) "Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide" *J. Amer. Chem. Soc.* 85:2149-2156.

Pu, R., J. Coleman, M. Omori, M. Mison, C. Huang, M. Arai, T. Tanabe, J. K. Yamamoto (2001) "Dual-subtype FIV vaccine protects cats against in vivo swarms of both homologous and heterologous subtype FIV isolates" *AIDS* 15:1-13.

Martin, E.W. (1995) *Remington's Pharmaceutical Science*, Easton Pennsylvania, Mack Publishing Company, 19th ed., 1995.

Whetter, L. E.等人 (1999) "Pathogenesis of simian immunodeficiency

virus infection” *Journal of General Virology* 80:1557-1568.

Felgner, P.L., T.R. Gadek, M. Holm, R. Roman, H.W. Chan, M. Wenz, J.P. Northrop, G.M. Ringold, M. Danielsen (1987) “Lipofection: a highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure” *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 84(21):7413-7417.

序 列 表

- <110> 佛罗里达大学研究基金公司
J·K·亚马莫托
- <120> 针对 FIV 感染的免疫接种材料和方法
- <130> UF-366XC1
- <150> US 60/470,066
<151> 2003-05-12
- <160> 8
- <170> PatentIn 版本 3.1
- <210> 1
<211> 848
<212> PRT
<213> 人免疫缺陷病毒 1 型
- <400> 1

```

Met Arg Val Lys Gly Ile Arg Lys Ser Phe Gln Tyr Leu Trp Arg Trp
1          5          10          15

Gly Ile Met Leu Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Thr Glu Lys
          20          25          30

Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Thr
          35          40          45

Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Asp Thr Glu Val
          50          55          60

His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Ser Pro
65          70          75          80

Gln Glu Val Glu Leu Gln Asn Val Thr Glu Asp Phe Asn Met Trp Lys
          85          90          95

Asn Asn Met Val Glu Gln Met His Glu Asp Val Ile Ser Leu Trp Asp
          100          105          110

Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu
          115          120          125

Asn Cys Thr Asp Leu Lys Asn Ala Thr Asn Thr Thr Ser Ser Ser Gly
          130          135          140

Gly Gly Thr Met Glu Arg Gly Glu Ile Lys Asn Cys Ser Phe Lys Ile
145          150          155          160

Thr Thr Asn Ile Arg Asn Lys Met Gln Lys Glu Tyr Ala Leu Phe Asp
          165          170          175

Lys His Asp Val Val Pro Ile Asp Lys Lys Asn Thr Arg Tyr Arg Leu
          180          185          190

```

Ile	Ser	Cys	Asn	Thr	Ser	Val	Ile	Thr	Gln	Ala	Cys	Pro	Lys	Val	Ser
		195					200					205			
Phe	Glu	Pro	Ile	Pro	Ile	His	Phe	Cys	Ala	Pro	Ala	Gly	Phe	Ala	Ile
	210					215					220				
Leu	Lys	Cys	Lys	Asp	Lys	Lys	Phe	Asn	Gly	Lys	Gly	Ser	Cys	Thr	Lys
225					230					235					240
Val	Ser	Thr	Val	Gln	Cys	Thr	His	Gly	Ile	Arg	Pro	Val	Val	Ser	Thr
				245					250					255	
Gln	Leu	Leu	Leu	Asn	Gly	Ser	Leu	Ala	Glu	Glu	Glu	Val	Val	Ile	Arg
			260					265					270		
Ser	Asp	Asn	Phe	Thr	Asp	Asn	Ala	Lys	Thr	Ile	Ile	Val	Gln	Leu	Asn
		275					280					285			
Glu	Thr	Val	Glu	Ile	Asn	Cys	Thr	Arg	Pro	Asn	Asn	Asn	Thr	Arg	Lys
	290					295					300				
Arg	Ile	Thr	Met	Gly	Pro	Gly	Arg	Val	Phe	Tyr	Thr	Thr	Gly	Glu	Ile
305					310					315					320
Ile	Gly	Asp	Ile	Arg	Arg	Ala	His	Cys	Asn	Ile	Ser	Gly	Thr	Lys	Trp
				325					330					335	
Asn	Asn	Thr	Leu	Lys	Gln	Ile	Val	Thr	Lys	Leu	Arg	Glu	Lys	Phe	Gly
			340					345					350		
Asn	Lys	Thr	Ile	Val	Phe	Lys	Gln	Ser	Ser	Gly	Gly	Asp	Pro	Glu	Ile
		355					360					365			
Val	Met	His	Thr	Phe	Asn	Cys	Gly	Gly	Glu	Phe	Phe	Tyr	Cys	Asn	Thr
	370					375					380				
Lys	Gln	Leu	Phe	Asn	Ser	Thr	Trp	Asn	Asp	Thr	Asp	Thr	Leu	Asn	Asn
385					390				395						400
Thr	Glu	Arg	Ser	Ser	Lys	Thr	Ile	Thr	Leu	Pro	Cys	Arg	Ile	Lys	Gln
				405				410						415	
Ile	Ile	Asn	Met	Trp	Gln	Glu	Val	Gly	Lys	Ala	Met	Tyr	Ala	Pro	Pro
		420						425					430		
Ile	Ser	Gly	Gln	Ile	Arg	Cys	Ser	Ser	Asn	Ile	Thr	Gly	Leu	Leu	Leu
		435					440					445			
Val	Arg	Asp	Gly	Gly	Asn	Asn	Ala	Glu	Asn	Glu	Thr	Glu	Ile	Leu	Arg
	450					455					460				
Pro	Gly	Gly	Gly	Asn	Met	Arg	Asp	Asn	Trp	Arg	Ser	Glu	Leu	Tyr	Lys
465					470				475						480
Tyr	Lys	Val	Val	Lys	Ile	Glu	Pro	Leu	Gly	Val	Ala	Pro	Thr	Lys	Ala
				485					490					495	
Lys	Arg	Arg	Val	Val	Gln	Arg	Glu	Lys	Arg	Ala	Val	Gly	Thr	Leu	Gly
			500					505					510		

Ala Leu Phe Leu Gly Phe Leu Gly Thr Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala
 515 520 525
 Ala Ser Met Ala Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile
 530 535 540
 Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln His
 545 550 555 560
 Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val
 565 570 575
 Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp
 580 585 590
 Gly Cys Ser Gly Lys Phe Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn Ala
 595 600 605
 Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu Asp Lys Ile Trp Asn Asn Met Thr Trp
 610 615 620
 Met Gln Trp Glu Arg Glu Ile Asp Asn Tyr Thr Asp Leu Ile Tyr Thr
 625 630 635 640
 Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu Leu
 645 650 655
 Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Thr
 660 665 670
 Lys Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile Val Gly Gly Leu
 675 680 685
 Val Gly Leu Arg Ile Val Phe Ala Val Val Ser Ile Val Asn Arg Val
 690 695 700
 Arg Gln Gly Tyr Ser Pro Leu Ser Phe Gln Thr His Phe Pro Ala Pro
 705 710 715 720
 Arg Gly Pro Asp Arg Pro Glu Gly Ile Glu Glu Glu Gly Gly Asp Arg
 725 730 735
 Asp Arg Asp Arg Ser Ile Arg Leu Val Asp Gly Phe Leu Ala Leu Phe
 740 745 750
 Trp Asp Asp Leu Arg Ser Leu Cys Leu Ser Ser Tyr His Arg Leu Arg
 755 760 765
 Asp Leu Leu Leu Ile Val Thr Arg Ile Val Glu Leu Leu Gly Arg Arg
 770 775 780
 Gly Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Trp Asn Leu Leu Gln Tyr Trp Ser
 785 790 795 800
 Gln Glu Leu Lys Asn Ser Ala Ile Ser Leu Leu Asn Thr Thr Ala Ile
 805 810 815

Ala Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu Ile Val Gln Arg Ala
820 825 830

Tyr Arg Ala Val Ile His Ile Pro Arg Arg Ile Arg Gln Gly Phe Glu
835 840 845

<210> 2

<211> 499

<212> PRT

<213> 人免疫缺陷病毒1型

<400> 2

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Lys 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 Asp 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 Val Lys Asp
85 90 95

Thr Lys Glu Ala Leu Glu Asn Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
100 105 110

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

Gln Asn Tyr Pro Val Val Gln Asn Leu Gln Gly Gln Met Val His Gln
130 135 140

Pro Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu Glu
145 150 155 160

Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Thr Ala Leu Ser Glu
165 170 175

Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly Gly
180 185 190

His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu Ala
195 200 205

Ala Glu Trp Asp Arg Leu His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala Pro
210 215 220

Asp Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Ile Thr Ser
225 230 235 240

Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile Pro
 245 250 255
 Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile
 260 265 270
 Val Arg Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly Pro
 275 280 285
 Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu Arg
 290 295 300
 Ala Glu Gln Ala Ser Gln Asp Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr Leu
 305 310 315 320
 Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala Leu
 325 330 335
 Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val
 340 345 350
 Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser Gln
 355 360 365
 Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg Asn
 370 375 380
 Gln Arg Lys Ile Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Ile
 385 390 395 400
 Thr Lys Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly
 405 410 415
 Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn Phe
 420 425 430
 Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser Lys Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Leu
 435 440 445
 Gln Ser Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Ser Phe Arg Phe
 450 455 460
 Gly Glu Glu Thr Thr Thr Pro Ser Gln Lys Gln Glu Pro Thr Asp Lys
 465 470 475 480
 Glu Leu Tyr Pro Leu Ala Ser Leu Arg Ser Leu Phe Gly Asn Asp Pro
 485 490 495
 Ser Ser Gln

<210> 3

<211> 2545

<212> DNA

<213> 人免疫缺陷病毒1型

<400> 3

atgagagtga aggggatcag gaagagcttt cagtacttgt ggagatgggg catcatgctc

60

cttgggatgt	tgatgatctg	tagtgctaca	gaaaaattgt	gggtcacagt	ctattatggg	120
gtacctgtgt	ggaaagaagc	aaccaccact	ctattttgtg	catcagatgc	taaagcatat	180
gatacagagg	tacataatgt	ttgggccaca	catgcctgtg	taccacaga	cccagccca	240
caagaagtag	aattgcaaaa	tgtgacagaa	gattttaaca	tgtggaaaaa	taacatggta	300
gaacagatgc	atgaggatgt	aatcagtcta	tgggatcaaa	gcctaaagcc	atgtgtaaaa	360
ttaaccccac	tctgtgtcac	tttaaattgc	actgatttaa	agaatgctac	taataccact	420
agtagtagtg	ggggaggaac	gatggagaga	ggagaaataa	aaaactgctc	tttcaaaatc	480
accacaaaca	taagaaataa	gatgcagaaa	gaatatgcac	tttttgataa	acatgatgta	540
gtaccaatag	ataaaaagaa	tactagatat	aggttgataa	gttgtaacac	ctcagtcatt	600
acacaggcct	gtccaaaggt	atcctttgag	ccaattccca	tacatttttg	tgccccggcc	660
ggttttgcga	ttctaaagtg	taaggataag	aagttcaatg	gaaagggatc	atgtacaaaa	720
gtcagcacag	tacaatgtac	gcatggaatt	aggccagtag	tatcaactca	actgctgtta	780
aatggcagtc	tagcagaaga	agaggtagta	attagatctg	acaatttcac	agacaatgct	840
aaaaccataa	tagtacagct	gaatgaaact	gtagaaatta	attgtacaag	acccaacaac	900
aatacaagga	aacgtataac	tatgggacca	gggagagtat	tttatacaac	aggagaaata	960
ataggagata	taagacgagc	acattgtaac	attagtggaa	caaaatggaa	taacacttta	1020
aaacagatag	ttacaaaatt	aagagaaaaa	tttggaata	aaacaatagt	ctttaagcaa	1080
tcctcaggag	gggaccocaga	aattgtaatg	cacactttta	attgtggagg	ggaatttttc	1140
tactgtaaca	caaaacaact	gtttaatagt	acttggaatg	atactgatac	tctgaataat	1200
actgaaaggt	caagtaaaac	catcacgctc	cctatgcagaa	taaaacaaat	tataaacatg	1260
tggcaggaag	taggaaaagc	aatgtatgcc	cctcccatca	gcggacaaat	tagatgttca	1320
tcaaatatta	cagggtctct	attagtaaga	gatggtggta	ataatgctga	gaacgagacc	1380
gagatcctca	gacctggagg	aggaaacatg	agggacaatt	ggagaagtga	attatataaa	1440
tataaagtag	taaaaattga	accattagga	gtagcaccca	ccaaggcaaa	gagaagagtg	1500
gtgcagagag	aaaaaagagc	agtgggaacg	ctaggagcct	tgttccttgg	gttcttggga	1560
acagcaggaa	gcactatggg	cgcagcgctca	atggcgctga	cggtacaggc	cagacaatta	1620
ttgtctggta	tagtgcaaca	gcagaacaat	ttgctgaggg	ctattgaggc	gcaacagcat	1680
ttgttgcaac	tcacagtctg	gggcatcaag	cagctccagg	caagagtcct	ggctgtggaa	1740
agatacctaa	aggatcaaca	gctcctaggg	atttgggggt	gctcgggaaa	attcatttgc	1800
accactgctg	tgccttggaa	tgctagttag	agtaataaat	ctctggataa	gatttggaat	1860

```

aacatgacct ggatgcagtg ggaaagagaa attgacaatt acacagacct aatatacacc 1920
ttaattgaag aatcgcaaaa ccaacaagaa aagaatgaac aagaattatt ggaattagat 1980
aagtgggcaa gtttgtggaa ttggtttgac ataacaaaat ggctgtggta tataaaaata 2040
ttcataatga tagtaggagg cttggtaggt ttaagaatag tttttgctgt agtttctata 2100
gtgaatagag ttaggcaggg atactcacca ttatcatttc agaccactt cccagccccg 2160
aggggacccg acaggcccgga aggaatcgaa gaagaagggtg gagacagaga cagagacaga 2220
tccattcgct tagtggatgg attcttagca ctcttctggg acgacctacg gagcctgtgc 2280
ctctccagct accaccgctt gagagactta ctcttgattg taacgaggat tgtggaactt 2340
ctgggacgca gggggtggga agccctcaaa tattggtgga atctctgca gtattggagt 2400
caggaactaa agaatagtgc tattagcttg ctcaatacca cagctatagc agtagctgag 2460
gggacagata gggttataga aatagtacaa agagcttata gagctgttat ccacatacct 2520
agaagaataa gacagggctt tgaaa 2545

```

<210> 4
 <211> 1605
 <212> DNA
 <213> 人免疫缺陷病毒1型

```

<400> 4
atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg ggagaattag ataaatggga aaaaattcgg 60
ttaaggccag ggggaaagaa aaaatataaa taaaacata tagtatgggc aagcagggag 120
ctagaacgat tcgcagttaa tcctggcctg ttagaaacat cagacggctg tagacaaata 180
ctgggacagc tacaaccatc ccttcagaca ggatcagaag aacttagatc attatataat 240
acagtagcaa cctctattg tgtgcatcaa aggatagagg taaaagacac caaggaagct 300
ttagagaata tagaggagga gcaaaacaaa agcaagaaaa aagcacagcc agcagatgac 360
acaggaaaca gcagccaagt cagccaaaat taccctgtag tgcagaacct ccaggggcaa 420
atggtacatc agcccatatc acctagaact ttaaattgcat gggtaaagggt agtagaagag 480
aaggctttca gcccagaagt aatacccatg ttacagcat tatcagaagg agccacccca 540
caagatttaa acaccatgct aaacacagtg ggggacatc aagcagccat gcaaatgtta 600
aaagagacca tcaatgagga agctgcagaa tgggatagat tgcattcagt gcatgcaggg 660
cctattgcac cagaccagat gagagaacca aggggaagtg acatagcagg aattactagt 720
acccttcagg aacaaatagg atggatgaca aataatccac ctatcccagt aggagaaatc 780
tataaaagat ggataatcct gggattaaat aaaatagtaa gaatgtatag ccctaccagc 840

```

```

attctggaca taagacaagg accaaaggaa ccctttagag actatgtaga ccggttctat      900
aaaactctaa gagccgagca agcttcacag gatgtaaaaa attggatgac agaaaccttg      960
ttggtccaaa atgcaaacc agattgtaag actattttaa aagcattggg accagcagct     1020
acactagaag aaatgatgac agcatgtcag ggagtggggg gacccggaca taaagcaaga     1080
gttttggtcg aagcaatgag ccaagtaaca aattccgcca ccataatgat gcaaagaggc     1140
aatttttagga accaaagaaa gattgttaag tgtttcaatt gtggcaaaga agggcacata     1200
acaaaaaatt gcagggcccc taggaaaaag ggctgttga aatgtggaaa ggaaggacac     1260
caaatgaaag attgtactga gagacaggct aatttttttag ggaagatctg gccttccaag     1320
aaggggaggg caggggaattt tcttcagagc agaccagagc caacagcccc accagcagag     1380
agcttcaggt ttggggagga gacaacaact ccctctcaga agcaggagcc gacagacaag     1440
gaactgtatc ccttagcttc cctcagatca ctctttggca acgacccctc gtcacaataa     1500
aggtaggggg gcaactaaag gaagctctat tagatacagg agcagatgat aagggcgaat     1560
tccagcacac tggcggccgt tactagtga tccagagctcg gtacc                      1605

```

<210> 5
 <211> 856
 <212> PRT
 <213> 人免疫缺陷病毒1型

<400> 5

```

Met Arg Val Lys Glu Lys Tyr Gln His Leu Arg Arg Trp Gly Trp Arg
1          5          10          15

Trp Gly Thr Met Leu Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Thr Glu
          20          25          30

Lys Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Lys Glu Ala
          35          40          45

Thr Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Asp Thr Glu
          50          55          60

Val His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn
65          70          75          80

Pro Gln Glu Val Val Leu Val Asn Val Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp
          85          90          95

Lys Asn Asp Met Val Glu Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp
          100          105          110

Asp Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys Val Ser
          115          120          125

```

Leu Lys Cys Thr Asp Leu Lys Asn Asp Thr Asn Thr Asn Ser Ser Ser
 130 135 140
 Gly Gly Met Ile Met Glu Lys Gly Glu Ile Lys Asn Cys Ser Phe Asn
 145 150 155 160
 Ile Ser Thr Ser Ile Arg Gly Lys Val Gln Lys Glu Tyr Ala Phe Phe
 165 170 175
 Tyr Lys His Asp Ile Ile Pro Ile Asp Asn Asp Thr Thr Ser Tyr Thr
 180 185 190
 Leu Thr Ser Cys Asn Thr Ser Val Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val
 195 200 205
 Ser Phe Glu Pro Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Phe Ala
 210 215 220
 Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys Thr Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Thr
 225 230 235 240
 Asn Val Ser Thr Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser
 245 250 255
 Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Glu Glu Val Val Ile
 260 265 270
 Arg Ser Ala Asn Leu Thr Asp Asn Val Lys Thr Ile Ile Val Gln Leu
 275 280 285
 Asn Gln Ser Val Glu Ile Asn Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg
 290 295 300
 Lys Arg Ile Arg Ile Gln Arg Gly Pro Gly Arg Thr Phe Val Thr Ile
 305 310 315 320
 Gly Lys Ile Gly Asn Met Arg Gln Ala His Cys Asn Ile Ser Arg Ala
 325 330 335
 Lys Trp Asn Asn Thr Leu Lys Gln Ile Ala Ser Lys Leu Arg Glu Gln
 340 345 350
 Tyr Gly Asn Asn Lys Thr Ile Ile Phe Lys Gln Ser Ser Gly Gly Asp
 355 360 365
 Leu Glu Ile Val Thr His Ser Phe Asn Cys Gly Gly Glu Phe Phe Tyr
 370 375 380
 Cys Asn Ser Thr Gln Leu Phe Asn Ser Thr Trp Phe Asn Ser Thr Trp
 385 390 395 400
 Ser Thr Glu Gly Ser Asn Asn Thr Glu Gly Ser Asp Thr Ile Thr Leu
 405 410 415
 Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val Gly Lys
 420 425 430
 Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Ser Gly Gln Ile Arg Cys Ser Ser Asn
 435 440 445

Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Asn Asn Asn Asn Gly
 450 455 460
 Ser Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp Met Arg Asp Asn Trp Arg
 465 470 475 480
 Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys Ile Glu Pro Leu Gly Val
 485 490 495
 Ala Pro Thr Lys Ala Lys Arg Arg Val Val Gln Arg Glu Lys Arg Ala
 500 505 510
 Val Gly Ile Gly Ala Leu Phe Leu Gly Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser
 515 520 525
 Thr Met Gly Ala Ala Ser Met Thr Leu Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu
 530 535 540
 Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Asn Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu
 545 550 555 560
 Ala Gln Gln His Leu Leu Gln Leu Thr Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu
 565 570 575
 Gln Ala Arg Ile Leu Ala Val Glu Arg Tyr Leu Lys Asp Gln Gln Leu
 580 585 590
 Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val
 595 600 605
 Pro Trp Asn Ala Ser Trp Ser Asn Lys Ser Leu Glu Gln Ile Trp Asn
 610 615 620
 His Thr Thr Trp Met Glu Trp Asp Arg Glu Ile Asn Asn Tyr Thr Ser
 625 630 635 640
 Leu Ile His Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn
 645 650 655
 Glu Gln Glu Leu Leu Glu Leu Asp Lys Trp Ala Ser Leu Trp Asn Trp
 660 665 670
 Phe Asn Ile Thr Asn Trp Leu Trp Tyr Ile Lys Ile Phe Ile Met Ile
 675 680 685
 Val Gly Gly Leu Val Gly Leu Arg Ile Val Phe Ala Val Leu Ser Ile
 690 695 700
 Val Asn Arg Val Arg Gln Gly His Ser Pro Leu Ser Phe Gln Thr His
 705 710 715 720
 Leu Pro Thr Pro Gly Gly Pro Asp Arg Pro Glu Gly Ile Glu Glu Glu
 725 730 735
 Gly Gly Glu Arg Asp Arg Asp Arg Ser Ile Arg Leu Val Asn Gly Ser
 740 745 750
 Leu Ala Leu Ile Trp Asp Asp Leu Arg Ser Leu Cys Leu Phe Ser Tyr
 755 760 765

His Arg Leu Arg Asp Leu Leu Leu Ile Val Thr Arg Ile Val Glu Leu
770 775 780

Leu Gly Arg Arg Gly Trp Glu Ala Leu Lys Tyr Trp Trp Asn Leu Leu
785 790 795 800

Gln Tyr Trp Ser Gln Glu Leu Lys Asn Ser Ala Val Ser Leu Leu Asn
805 810 815

Ala Thr Ala Ile Ala Val Ala Glu Gly Thr Asp Arg Val Ile Glu Val
820 825 830

Val Gln Gly Ala Cys Arg Ala Ile Arg His Ile Pro Arg Arg Ile Arg
835 840 845

Gln Gly Leu Glu Arg Ile Leu Leu
850 855

<210> 6

<211> 500

<212> PRT

<213> 人免疫缺陷病毒1型

<400> 6

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Lys 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 Cys 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 Lys Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
100 105 110

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

Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Val Gln Asn Ile Gln Gly Gln Met Val His
130 135 140

Gln Ala Ile Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Val Glu
145 150 155 160

Glu Lys Ala Phe Ser Pro Glu Val Ile Pro Met Phe Ser Ala Leu Ser
165 170 175

Glu Gly Ala Thr Pro Gln Asp Leu Asn Thr Met Leu Asn Thr Val Gly
 180 185 190

Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu
 195 200 205

Ala Ala Glu Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala
 210 215 220

Pro Gly Gln Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr
 225 230 235 240

Ser Thr Leu Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile
 245 250 255

Pro Val Gly Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys
 260 265 270

Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly
 275 280 285

Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu
 290 295 300

Arg Ala Glu Gln Ala Ser Gln Glu Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr
 305 310 315 320

Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala
 325 330 335

Leu Gly Pro Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly
 340 345 350

Val Gly Gly Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu Ala Glu Ala Met Ser
 355 360 365

Gln Val Thr Asn Ser Ala Thr Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg
 370 375 380

Asn Gln Arg Lys Ile Val Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His
 385 390 395 400

Ile Ala Arg Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys
 405 410 415

Gly Lys Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn
 420 425 430

Phe Leu Gly Lys Ile Trp Pro Ser Tyr Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe
 435 440 445

Leu Gln Ser Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Glu Glu Ser Phe Arg
 450 455 460

Ser Gly Val Glu Thr Thr Thr Pro Pro Gln Lys Gln Glu Pro Ile Asp
 465 470 475 480

Lys Glu Leu Tyr Pro Leu Thr Ser Leu Arg Ser Leu Phe Gly Asn Asp
 485 490 495

Pro Ser Ser Gln
500

<210> 7
<211> 2571
<212> DNA
<213> 人免疫缺陷病毒 1 型

<400> 7
atgagagtga aggagaaata tcagcacttg cggagatggg ggtggagatg gggcaccatg 60
ctccttgga tgttgatgat ttgtagtgct acagaaaaat tgtgggtcac agtctattat 120
ggggtacctg tgtggaagga agcaaccacc actctatddd gtgcatcaga tgctaaagca 180
tatgatacag aggtacataa tgtttggggc acacatgcct gtgtaccac agaccccaac 240
ccacaagaag tagtattggt aaatgtgaca gaaaatddd acatgtggaa aaatgatatg 300
gtagaacaga tgcattgagga tataatcagt ttatgggatc aaagcctaaa gccatgtgta 360
aaattaacc cactctgtgt tagtttaaa tgcactgatt tgaagaatga tactaatacc 420
aatagtagta gcgggggaat gataatggag aaaggagaga taaaaaactg ctctttcaat 480
atcagcacia gcataagagg taagggtgcag aaagaatatg ctttttttta taaacatgat 540
ataataccaa tagataatga tactaccagc tatacgttga caagttgtaa cacctcagtc 600
attacacagg cctgtccaaa ggtatccttt gagccaattc ccatacatta ttgtgccccg 660
gctggttttg cgattctaaa atgtaataat aagacgttca atggaacagg accatgtaca 720
aatgtcagca cagtacaatg tacacatgga attaagccag tagtatcaac tcaactgctg 780
ttaaatggca gtctagcaga agaagaggta gtaattagat ctgccaatct cacagacaat 840
gttaaaacca taatagtaca gctgaaccaa tctgtagaaa ttaattgtac aagacccaac 900
aacaatacaa gaaaaagaat ccgtatccag agaggaccag ggagaacatt tgttacaata 960
ggaaaaatag gaaatatgag acaagcacat tgtaacatta gtagagcaaa atggaataac 1020
actttaaaac agatagctag caaattaaga gaacaatatg gaaataataa aacaataatc 1080
ttaagcagt cctcaggagg ggacctagaa attgtaacgc acagttttaa ttgtggaggg 1140
gaatttttct actgtaattc aacacaactg ttaatatgta cttggtttaa tagtacttgg 1200
agtactgaag ggtcaaataa cactgaagga agtgacacia tcacactccc atgcagaata 1260
aaacaaatta taaacatgtg gcaggaagta ggaaaagcaa tgtatgcccc tcccatcagc 1320
ggacaaatta gatgttcac aaatattaca gggctgctat taacaagaga tgggtggaat 1380
aacaacaatg ggtccgagat cttcagacct ggaggaggag atatgaggga caattggaga 1440

```

agtgaattat ataaatataa agtagtaaaa attgaaccat taggagtagc acccaccaag 1500
gcaaagagaa gagtgggtgca gagagaaaaa agagcagtgga gaataggagc tttgttcctt 1560
gggttcttgg gagcagcagg aagcactatg ggcgacagct caatgacgct gacggtagac 1620
gccagacaat tattgtctgg tatagtgcag cagcagaaca atttgctgag ggctattgag 1680
gcgcaacagc atctgttgca actcacagta tggggcatca agcagctcca ggcaagaatc 1740
ctggctgtgg aaagatacct aaaggatcaa cagctcctgg ggatttgggg ttgctctgga 1800
aaactcattt gcaccactgc tgtgccttgg aatgctagtt ggagtaataa atctctggaa 1860
cagatttggg atcacacgac ctggatggag tgggacagag aaattaacaa ttacacaagc 1920
ttaatacact ccttaattga agaatcgcaa aaccaacaag aaaagaatga acaagaatta 1980
ttggaattag ataaatgggc aagtttgtgg aattgggtta acataacaaa ttggctgtgg 2040
tatataaaaa tattcataat gatagtagga ggcttggtag gtttaagaat agtttttgc 2100
gtactttcta tagtgaatag agttaggcag ggacattcac cattatcggt tcagacccac 2160
ctcccaaccc cggggggacc cgacaggccc gaaggaatag aagaagaagg tggagagaga 2220
gacagagaca gatccattcg attagtgaac ggatccttag cacttatctg ggacgatctg 2280
cgaagcctgt gcctcttcag ctaccaccgc ttgagagact tactcttgat tgtaacgagg 2340
attgtggaac ttctgggacg caggggggtg gaagccctca aatattggtg gaatctccta 2400
cagtattgga gtcaggaact aaagaatagt gctgttagct tgcctaatgc cacagccata 2460
gcagtagctg aggggacaga taggggtata gaagtagtac aaggagcttg tagagctatt 2520
cgccacatac ctagaagaat aagacagggc ttggaaagga ttttgcata a 2571

```

<210> 8
 <211> 1503
 <212> DNA
 <213> 人免疫缺陷病毒 1 型

```

<400> 8
atgggtgcga gagcgtcagt attaagcggg ggaaaattag atcgatggga aaaaattcgg 60
ttaaggccag ggggaaagaa aaaatataaa ttaaacata tagtatgggc aagcaggag 120
ctagaacgat tcgcagttaa tctggcctg ttagaaacat cagaaggctg tagacaaata 180
ctgggacagc tacaaccatc ccttcagaca ggatcagaag aatgtagatc attatataat 240
acagtagcaa cctctattg tgtgcatcaa aggatagaga taaaagacac caaggaagct 300
ttagacaaga taaaggaaga gcaaaacaaa agtaagaaaa aagcacagca agcagcagct 360
gacacaggac acagcagtcg ggtcagccaa aattacccta tagtgcagaa catccagggg 420

```

caaatggtac atcaggccat atcacctaga actttaaatg catgggtaaa agtagtagaa	480
gagaaggctt tcagcccaga agtaataccc atgttttcag cattatcaga aggagccacc	540
ccacaagatt taaacaccat gctaaacaca gtggggggac atcaagcagc catgcaaatg	600
ttaaaagaga ccatcaatga ggaagctgca gaatgggata gagtgcaccc agtgcacgca	660
gggcctatcg caccaggcca gatgagagaa ccaaggggaa gtgacatagc aggaactact	720
agtacccttc aggaacaaat aggatggatg acaaataatc cacctatccc agtaggagaa	780
atttataaaa gatggataat cctgggatta aataagatag taagaatgta tagccctacc	840
agcattctgg acataagaca aggaccaaaa gaacctttta gagactatgt agaccggttc	900
tataaaactc taagagccga gcaagcttca caggaggtaa aaaattggat gacagaaacc	960
ttgttggtcc aaaatgcgaa ccagattgt aagactattt taaaagcatt gggaccagca	1020
gctacactag aagaaatgat gacagcatgt caggagtggt gaggaccgg ccataaggca	1080
agagttttgg ctgaagcaat gagccaagta acaaattcag ctaccataat gatgcagaga	1140
ggcaatttta ggaaccaag aaagattggt aagtgtttca attgtggcaa agaagggcac	1200
atagccagaa attgcagggc ccctaggaaa aagggtgtt ggaaatgtgg aaaggaagga	1260
caccaaataa aagattgtac tgagagacag gctaattttt tagggaagat ctggccttcc	1320
tacaagggaa ggccagggaa ttttcttcag agcagaccag agccaacagc ccaccagaa	1380
gagagcttca ggtctggggt agagacaaca actccccctc agaagcagga gccgatagac	1440
aaggaactgt atcctttaac ttccctcaga tcaacttttg gcaacgacct ctggtcacia	1500
taa	1503