

(19)日本国特許庁 (J P)

公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2003 - 38190

(P2003 - 38190A)

(43)公開日 平成15年2月12日(2003.2.12)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)
C 1 2 N 15/09	ZNA	C 1 2 P 21/02	C 2 G 0 4 5
C 1 2 P 21/02		C 1 2 Q 1/68	A 4 B 0 2 4
C 1 2 Q 1/68		G 0 1 N 33/53	M 4 B 0 6 3
G 0 1 N 33/53		33/566	4 B 0 6 4
33/566		33/569	H
		審査請求 有 O L (全 40数)	最終頁に続く

(21)出願番号 特願2002 - 137039(P2002 - 137039)
(62)分割の表示 特願平6 - 98231の分割
(22)出願日 昭和60年10月11日(1985.10.11)

(31)優先権主張番号 659339
(32)優先日 昭和59年10月10日(1984.10.10)
(33)優先権主張国 米国(US)
(31)優先権主張番号 693866
(32)優先日 昭和60年1月23日(1985.1.23)
(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 594078353
セントコー・インコーポレーテッド
CENTOCOR INC
アメリカ合衆国ペンシルバニア州19355, マ
ルバーン, グレート・バレー・パークウェイ
244
(72)発明者 ナンシー・ティー・チャン
アメリカ合衆国ペンシルバニア州19301, パ
オリ, シュガータウン・ロード 1504
(74)代理人 100089705
弁理士 社本 一夫 (外 1 名)

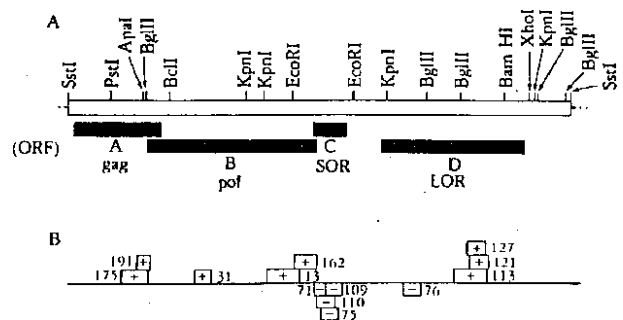
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 HTLV - III DNAのクローニングおよび発現

(57)【要約】

【目的】 HTLV - III DNAのクローニングに基づいて、エイズの診断、治療および予防に有用な方法を提供する。

【構成】 HTLV - III cDNAを含む組換えベクターを用いて形質転換した細胞により発現される免疫反応性HTLV - IIIポリペプチド、該ポリペプチドの製造方法、HTLV - III遺伝子をコードする単離されたcDNA、HTLV - IIIウイルスに特異的なHTLV - IIIゲノムの部分と本質的に相同であるDNA配列からなるDNAプローブ、およびHTLV - IIIポリペプチドが少なくとも1つの他のポリペプチドに結合してなるハイブリッドタンパク質。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 env、env-lor、sor、lor、gagおよびpol からなる群から選択される HTLV-III オープンリーディングフレームのヌクレオチド配列を含む単離された HTLV-III DNA。

【請求項 2】 オープンリーディングフレーム配列が図 3～図 14 で表される、請求項 1 に記載の DNA。

【請求項 3】 ヌクレオチド配列が HTLV-III env 遺伝子配列である、請求項 1 に記載の DNA。

【請求項 4】 ヌクレオチド配列が HTLV-III env-lor 遺伝子配列である、請求項 1 に記載の DNA。

【請求項 5】 ヌクレオチド配列が HTLV-III sor 遺伝子配列である、請求項 1 に記載の DNA。

【請求項 6】 ヌクレオチド配列が HTLV-III lor 遺伝子配列である、請求項 1 に記載の DNA。

【請求項 7】 ヌクレオチド配列が HTLV-III gag 遺伝子配列である、請求項 1 に記載の DNA。

【請求項 8】 ヌクレオチド配列が HTLV-III pol 遺伝子配列である、請求項 1 に記載の DNA。

【請求項 9】 ヌクレオチド配列が HTLV-III DNA の EcoRI-EcoRI 制限断片である、請求項 1 に記載の DNA。

【請求項 10】 OmpA または pMR100 組換えベクター中に含まれる、請求項 1 から 9 のいずれか 1 項に記載の単離された DNA。

【請求項 11】 (a) 単離された HTLV-III DNA を切断して DNA 断片をつくり；

(b) 該 DNA 断片を発現ベクターに挿入して組換えベクターを作製し；

(c) 該組換えベクターを用いて適当な宿主細胞を形質転換させ；そして

(d) 形質転換宿主細胞を、挿入した HTLV-III DNA によってコードされるポリペプチドを発現させるのに十分な条件下で培養する；ことから成る、組換え HTLV-III ポリペプチドの生産方法。

【請求項 12】 切断工程が HTLV-III DNA を制限エンドヌクレアーゼで消化して DNA の制限断片をつくることから成る、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 13】 切断工程が HTLV-III DNA を勇断して HTLV-III DNA 断片を得ることから成る、請求項 11 に記載の方法。

【請求項 14】 (i) 図 3～図 14 に示す配列を有する env/env-lor オープンリーディングフレームを含む HTLV-III DNA によりコードされる HTLV-III env/env-lor ポリペプチド；(ii) 図 3～図 14 に示す配列を有する gag オープンリーディングフレームを含む HTLV-III DNA によりコードされる HTLV-III gag ポリペプチド；(iii) 図 3～図 14 に示す配列を有する pol オープンリーディングフレームを含む HTLV-III DNA によりコードされる HTLV-III pol ポリペプチド；および (iv) 図 3～図 14 に示す配列を有する sor オープンリーディングフレームを含む HTLV-III

III DNA によりコードされる HTLV-III sor ポリペプチドからなる群から選択される組換え HTLV-III ポリペプチドを生産するための、工程：

(a) 単離された HTLV-III DNA を切断して DNA 断片をつくり；

(b) 該 DNA 断片を発現ベクターに挿入して組換えベクターを作製し；

(c) 該組換えベクターを用いて適当な宿主細胞を形質転換させ；そして

(d) 形質転換宿主細胞を、挿入した HTLV-III DNA によってコードされるポリペプチドを発現させるのに十分な条件下で培養すること；から成る方法。

【請求項 15】 切断工程が HTLV-III DNA を制限エンドヌクレアーゼで消化するか、あるいは HTLV-III DNA を勇断して HTLV-III DNA 断片を得ることから成る、請求項 14 に記載の方法。

【請求項 16】 以下の工程：

(a) HTLV-III DNA を切断して DNA 断片を生じさせ；

(b) 該 HTLV-III DNA 断片を lac z 遺伝子コーディング配列を含むオープンリーディングフレーム発現ベクターに挿入し、lac z コーディング配列に挿入した HTLV-III DNA 断片が、工程 (a) の HTLV-III DNA 断片によってコードされるタンパク質と β - ガラクトシダーゼからなる融合タンパク質をコードする DNA を含む組換えベクターを作製し；

(c) 該組換えベクターを用いて適当な宿主細胞を形質転換し；そして

(d) 工程 (b) の融合タンパク質の発現をさせるのに十分な条件下で形質転換宿主細胞を培養する；ことからなる、単離された HTLV-III gag、pol、sor、または env/env-lor DNA あるいはその断片によってコードされる単離された組換え HTLV-III gag、pol、sor、または env/env-lor ポリペプチドと、β - ガラクトシダーゼからなる、免疫反応性融合タンパク質の生産方法であって、前記コードする DNA が、(a) 約 200-500 塩基対の断片であるか、または (b) 図 1 および図 2 に示す部位のいずれかで切断されて生じる制限断片であるか、または (c) 図 3～図 14 に記載された配列をもち、且つ、前記ポリペプチドが後天性免疫不全症候群の患者の血清または HTLV-III に対する抗体を含む血清に免疫反応性である、前記ポリペプチドの生産方法。

【請求項 17】 HTLV-III gag と β - ガラクトシダーゼとの融合タンパク質が生産される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 18】 HTLV-III pol と β - ガラクトシダーゼとの融合タンパク質が生産される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 19】 HTLV-III env または env-lor と β - ガラクトシダーゼとの融合タンパク質が生産される、請求項 16 に記載の方法。

【請求項 20】 生産されるタンパク質が後天性免疫不全症候群患者の血清または HTLV-III と反応性の抗体を含む血清と免疫反応性である、請求項 17 ~ 19 のいずれか 1 項に記載の方法。

【請求項 21】 gag、pol、env、env-lor、sor および lor からなる群から選択される HTLV-III ゲノムのヌクレオチド配列の少なくとも一部と実質的に相同である単離された HTLV-III DNA 配列を含む DNA プローブ。

【請求項 22】 後天性免疫不全症候群の患者からの血清または HTLV-III に対する抗体を含む血清と免疫反応性であるポリペプチドをコードする HTLV-III ゲノムの部と実質的に相同である HTLV-III DNA 配列を含む、請求項 21 に記載の DNA プローブ。

【請求項 23】 gag、pol、env、env-lor、sor および lor からなる群から選択される HTLV-III 遺伝子の単離された HTLV-III RNA 転写物。

【請求項 24】 転写物が HTLV-III の env 遺伝子のものである、請求項 23 に記載の単離された RNA 転写物。

【請求項 25】 転写物が HTLV-III の env-lor 遺伝子のものである、請求項 23 に記載の単離された RNA 転写物。

【請求項 26】 転写物が HTLV-III の gag 遺伝子のものである、請求項 23 に記載の単離された RNA 転写物。

【請求項 27】 転写物が HTLV-III の sor 遺伝子のものである、請求項 23 に記載の単離された RNA 転写物。

【請求項 28】 転写物が HTLV-III の lor 遺伝子のものである、請求項 23 に記載の単離された RNA 転写物。

【請求項 29】 転写物が検出可能なシグナルを出す標識をもつ、請求項 23 から 28 のいずれか 1 項に記載の単離された RNA 転写物。

【請求項 30】 標識がラジオアイソトープである、請求項 29 に記載の単離された RNA 転写物。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は分子生物学およびウイルス学の分野、特にヒト T 細胞白血病ウイルス - III 型 (HTLV - III) に関する。

【0002】

【従来の技術】 ヒト T 細胞白血病 - リンパ腫ウイルス (HTLV) という用語は、T 細胞トロピックレトロウイルスの特定の属を意味する。これらのウイルスはある種の T 細胞新生物の発生において重要な役割を演ずる。現在、3 つの型の HTLV が知られている。この属の 1 つの亜属である HTLV - I 型 (HTLV - I) は、日本、カリブ海沿岸およびアフリカのある地域に発生する成人 T 細胞白血病 - リンパ腫 (ATLL) の原因と関係がある。HTLV - I 型 (HTLV - I) は毛状細胞白血病の T 細胞変異型をもつ患者から単離された。M. ポポビック (Popovic) らの「エイズおよびプレエイズ患者からの細胞変性レトロウイルス (HTLV 50

V - III) の検出、単離および連続生産」、サイエンス, 224: 497 - 500 (1984) を参照されたい。

【0003】 HTLV - III 型 (HTLV - III) は後天性免疫不全症候群 (AIDS, エイズ) にかかった多数の患者から単離された。HTLV - III はエイズ患者から単離されたプロトタイプのウイルスである。このエイズに対して最も危険な立場にあると報告された人々には、同性愛または両性愛の男性、静脈内薬物使用者および米国のハイチ人移民が含まれる。提供者から集めた血液製剤を受容する血友病患者および頻繁に輸血を受ける人々も危険な立場にある。エイズの臨床上の症状は、一般にヘルパー T リンパ球の減少をとまなう今だ解明されていない恐ろしい免疫不全を包含する。これらは悪性腫瘍および感染症をとまなうことがある。エイズ患者の死亡率は高い。あまり恐ろしくない型のエイズも存在し、これはリンパ腫および低下したヘルパー T 細胞数をとまなうことがあるが、成熟したエイズの破壊的症狀を示さない。これらの徴候を呈する初期エイズ (プレエイズ) 患者も多数存在する。これらの人々のなかで誰が一層恐ろしい症状へ進行するかを予言することは今のところ不可能である。

【0004】 伝染性エイズの病因として HTLV - III が含まれることは多くのことから証明されている。第一に、首尾一貫した疫学が存在し、すなわちエイズ患者の 95% 以上が HTLV - III に対して特異的な抗体を有する。第二に、この病気において再現できるウイルスの同定および単離がなされ、HTLV - III の 100 種以上の変異型がエイズ患者から単離された。第三に、エイズに感染した血液提供者から輸血を受けた正常な健康人がエイズに感染する。

【0005】 HTLV - III は HTLV - I および HTLV - II といくつかの特性を共有するが、形態学的、生物学的および抗原的に区別し得ることがわかった。R. C. ガロ (Gallo) らの「危険な状態にあるエイズ患者からの細胞変性レトロウイルスの検出および単離」、サイエンス, 224: 500 - 503 (1984) を参照されたい。例えば、HTLV - I および HTLV - II のコアタンパク質 p24 および p19、ならびにエンベロープ抗原に対する抗体との交差反応性を証明するか、あるいはクローニングした HTLV - I および HTLV - II の DNA との核酸交差ハイブリダイゼーション実験を行うことにより、HTLV - III が HTLV - I および HTLV - II と抗原的に関係のあることがわかった。しかしながら、HTLV - I および HTLV - II と異なって、HTLV - III は正常人の臍帯血液および骨髄からの T 細胞にインビトロで感染しかつそれを形質転換する能力を欠いており、感染細胞に対してのみ細胞変性作用を有していた。

【0006】 他のレトロウイルスの RNA ゲノムと同様

に、HTLV-IIIのRNAゲノムはウイルスタンパク質をコードする3つの遺伝子を含んでいる：すなわち1) 内部構造(ヌクレオカプシドまたはコア)タンパク質をコードするgag遺伝子；2) RNA依存性DNAポリメラーゼ(逆転写酵素)をコードするpol遺伝子；および3) ウイルス粒子のエンベロープ糖タンパク質をコードするenv遺伝子。さらに、HTLV-IIIゲノムはenv遺伝子と3'側LTRとの間に位置するPxと呼ばれる領域を含んでおり、これはウイルスの機能的死亡と関連があるように思われる。

【0007】現在のところ、エイズの症状が現われる以前にエイズを診断することはまだ困難である。この病気の予防に利用できる方法も目下のところ存在しない。一般にエイズ患者の治療は成功せず、そしてHTLV-IIIが身体に及ぼす破壊的作用に多数の犠牲者が出ている。

【0008】

【発明が解決しようとする問題点】本発明は、免疫反応性HTLV-IIIポリペプチドを発現できる組換え体ノベクター宿主系内でのHTLV-III DNAのクローニングに基づいている。免疫反応性ポリペプチドを発現する系内でのHTLV-III DNAのクローニングに基づいて、本出願人はエイズの診断、治療および予防に有用な方法を開発した。本出願人は体液(例えば血液、唾液、精液)中のHTLV-IIIおよびその抗体を検出する方法、ならびに免疫療法(例えばエイズの予防接種や受動免疫)において有用な方法を開発した。さらに、本出願人は体液中のHTLV-IIIの検出に有用なHTLV-III DNAプローブおよびRNAプローブの作製方法を開発した。

【0009】HTLV-IIIゲノムのセグメントによってコードされるポリペプチドは、これらの組換えDNA法を使って生産した。例えば、HTLV-IIIゲノムの3つの領域(env遺伝子配列、env-lor遺伝子配列、およびHTLV-III cDNAからの1.1KbのEcoRI制限断片)によってコードされるポリペプチドを生産した。発現されたポリペプチドは単離した。これらのポリペプチドはエイズ患者の血清およびHTLV-IIIに対する抗体と免疫反応性であり、従ってHTLV-IIIに対する抗体の有無について血液およびその他の体液をスクリーニングするのに有用である。それ故、本発明はエイズの診断方法ばかりでなく、HTLV-IIIを含む血液または血液成分を通じて他の人々へのこの病気が伝染するのを予防する方法をも提供するものである。特に後者は、血液成分(例えば血友病の治療のための第VIII因子；第IX因子)を得るために提供された血液を輸血または使用するに先立って、その血液をスクリーニングするのに価値がある。

【0010】組換えDNA法によって生産されたポリペ

プチドは、このウイルスに対する抗体(モノクローナル抗体を含む)の生産に利用できる。この種の抗体は血液、唾液、精液などの体液中のHTLV-IIIを直接検出するためのイムノアッセイおよび診断技術の基礎をなすものである。このウイルスに対する中和抗体は、この病気に対して受動免疫を与えるのに使用できる。

【0011】このような組換え体ノベクター宿主系内でのHTLV-III DNAのクローニングは、さらにHTLV-III DNAのヌクレオチド塩基配列を決定するための基礎を提供する。DNAプローブはHTLV-IIIゲノムに特異的なDNA領域と相同であり、これらのDNAプローブは血液、唾液または他の体液中のHTLV-IIIを検出する別の方法を提供する。HTLV-IIIゲノムに特異的な領域を含むRNAプローブも作製され、体液中のHTLV-IIIの検出に使用される。

【0012】

【問題点を解決するための手段】HTLV-IIIとHTLV-ウシ白血病ウイルス(BLV)属の他のウイルスとの間の類似性にもかかわらず、HTLV-IIIの生物学および病理学は実質的に異なっている。例えば、比較的乏しい相同がHTLV-Iまたは-IIゲノムのそれと比較したときHTLV-IIIゲノムに見られた。HTLV-IIIによる感染はしばしば強い免疫抑制(エイズ)をもたらし、その結果OKT4(+)細胞集団の減少をきたす。この作用はインビトロでのリンパ球培養において、OKT4(+)細胞へのHTLV-III感染の、形質転換作用というよりむしろ、著しい細胞変性作用によって反映される。これとは対照的に、HTLV-Iによる感染はT細胞白血病-リンパ腫(OKT4(+)細胞の悪性化)の低い発生率をもたらす。HTLV-I患者の場合もある程度の免疫不全を示す。HTLV-Iおよび-IIによる一次リンパ球培養物の感染は、主にOKT4(+)細胞のインビトロ形質転換を引き起こす。リンパ球へのHTLV-I感染の細胞変性作用は明らかに起こるが、HTLV-IIIの場合に観察されるものほど顕著な細胞変性作用ではない。

【0013】HTLV-IIIはさらにインビボおよびインビトロでの伝染性ウイルス粒子生産の程度においてもHTLV-Iおよび-IIと異なっている。細胞不含の高力価伝染性ウイルス粒子はエイズ患者の精液および唾液、ならびにHTLV-IIIを感染させた培養物の上清から得ることができる。成人T細胞白血病-リンパ腫(ATLL)患者またはHTLV-Iもしくは-IIを感染させた培養物からは、もし存在するとしても、きわめて少数の細胞不含伝染性ウイルス粒子を回収できるにすぎない。

【0014】エンベロープ糖タンパク質はエイズ患者の抗血清によって認識される主な抗原である。この点で、HTLVは他のレトロウイルスと類似しており、そのた

めにエンベロープ糖タンパク質は一般に最も抗原的なウイルスポリペプチドである。さらに、中和抗体は一般にレトロウイルスのエンベロープ糖タンパク質に対して向けられる。エイズ患者からの血清試料の 88 ~ 100 % は HTLV - III の抗原と反応する抗体を含むことが見出され、主な免疫反応は HTLV - III の推定上のエンベロープ抗原である p 41 に対して向けられた。コアタンパク質に対する抗体もエイズ患者の血清に見出されたが、エンベロープ抗原に対する抗体の存在ほど感染指示剤として有効であるとは思われない。

【0015】HTLV - III の p 41 抗原は、ウイルスエンベロープがウイルスの不活化および精製過程で部分的に破壊されるので、その性状決定が難しかった。本発明は HTLV - III ウイルスの抗原成分の性状を決定しかついくつかの方法で他のウイルス抗原成分の存在および特性を決定するという大なる要求に答えるものである。それは HTLV - III ポリペプチド、そのポリペプチドに対する抗体、RNA プローブおよび DNA プローブのような産物を提供し、またそれらの生産方法も提供する。これらはスクリーニング、診断および治

療を行う際に役立つ。

【0016】本発明は、HTLV - III タンパク質をコードする組換え DNA 塩基配列の翻訳によって生産される HTLV - III ポリペプチドに関する。この方法で生産され、エイズ患者からの血清または HTLV - III に対する抗体と免疫反応性のポリペプチドは、組換え DNA - 生産による免疫反応性 HTLV - III ポリペプチドと称される。これらには HTLV - III コアタンパク質およびエンベロープ糖タンパク質をそれぞれコードする gag および env DNA 配列に特異的な組換え DNA 配列の翻訳によって生産される抗原 HTLV - III コアポリペプチドおよびエンベロープポリペプチドが含まれるが、これらに限定されない。それらはまた HTLV - III cDNA の 1.1 Kb の EcoRI 制限断片に含まれる組換え DNA 配列の翻訳、および HTLV - III の sor 遺伝子および Px 遺伝子に特異的な組換え DNA 配列の翻訳によって生産されるポリペプチドをも包含する。sor DNA 配列は複製感応 HTLV - III ウイルスに共通している。Px 遺伝子は HTLV - III ゲノムの env 遺伝子と 3' 末端との間に位置し、1つの大きな読み取り枠を有するコーディング配列 (lor) を含む。env DNA 配列と lor DNA 配列とは共に HTLV - III ゲノムの同じ読み取り枠内に位置するため、この遺伝子領域は env - lor と称される。

【0017】HTLV - III のこれらの領域によりコードされるポリペプチドは、HTLV - III 感染および HTLV - III に対する抗体を検出する免疫化学検定法において使用することができる。これらの方法はエイズを診断する際に役立つ。さらに、これらは血液成分

(例えば血友病の治療のための第 VIII 因子) の輸血または生産のために血液を使用するのに先立って、その血液をスクリーニングする際にも利用できる。スクリーニング技術の利用可能性はエイズ伝染の危険を減ずるであろう。

【0018】ポリペプチドと反応する抗体の検出は多くの確立された方法によって実施できる。例えば、免疫反応性 HTLV - III ポリペプチドをポリスチレンビーズや他の固体支持体のような固相に付着させる。次にその固相を HTLV - III に対する抗体について試験しようとする血液試料とインキュベートする。適当なインキュベーション期間の経過後固相と血液試料とを分離する。固相に結合した抗体は、標識ポリペプチドまたはヒト免疫グロブリンに対する標識抗体を用いて検出できる。

【0019】HTLV - III ポリペプチドはエイズのワクチン予防にも使用される。このウイルスに対する予防接種のためには中和抗体を誘導する免疫原性ポリペプチドが利用されるであろう。その第一の候補はウイルスエンベロープポリペプチドである。

【0020】これらのポリペプチドは HTLV - III ポリペプチドに対する抗体 (モノクローナル抗体を含む) の生産にも使用できる。これらの抗体は体液 (血液、唾液、精液など) 中のウイルスを直接検出する免疫化学検定法において使用される。特異的 HTLV - III 抗原決定基に対するモノクローナル抗体を使用する検定法は、偽陽性の結果を減少させることによってウイルス検定の正確さを改善するであろう。また、ウイルスに対する抗体は免疫療法にも利用でき、例えばウイルスに対する受動免疫を与えることができる。

【0021】ポリペプチドの生産方法、ならびにこれらのポリペプチドに基づく診断方法も本発明の主題である。

【0022】さらに、本発明は免疫反応性ポリペプチドをコードする HTLV - III の遺伝子の単離方法; これらの遺伝子のヌクレオチド塩基配列の同定方法; ウイルス RNA を生産させるべく適当なベクター内へのウイルス DNA に特異的な DNA 配列の導入方法、および DNA プローブの作製方法を提供する。これらのプローブは HTLV - III DNA に特異的な塩基配列で構成され、例えば血液のような体液中の相補的 HTLV - III DNA 配列を検定するのに有用である。

HTLV - III ポリペプチド

免疫反応性 HTLV - III ポリペプチドをコードする HTLV - III DNA のセグメントを単離するために、遺伝子操作法が使用される。これらのポリペプチドはエイズ患者からの血清または HTLV - III に対する抗体と免疫反応性であり、これらにはコアタンパク質、HTLV - III DNA の 1.1 Kb EcoRI 制限断片によりコードされる 15 Kd のペプチド、お

よびエンベロープ糖タンパク質が含まれる。これらの方法はまたポリペプチドをコードする断片の塩基配列決定にも使用できる。宿主細胞DNA内に組み込まれたプロウイルス遺伝子は分子的にクローニングされ、そしてクローニングされたプロウイルスのヌクレオチド塩基配列を決定する。

【0023】HTLV-III DNAの大腸菌発現ライブラリーを作製する。HTLV-IIIゲノムをクローニングし、その後制限酵素を用いてクローニングしたHTLV-IIIゲノムを切断し、それによりDNA断片を得る。(図1および図2を参照されたい。)約200~500bpのHTLV-III DNA断片をアガロースゲルから単離し、 T_4 ポリメラーゼで末端修復し、そしてリンカーDNAに連結させる。リンカー連結DNAを次に制限酵素で処理し、アガロースゲルから精製して発現ベクター内でクローニングする。使用する発現ベクターの例はompA, pIN(A, BおよびC)、ラムダpL, T7, lac, Trp, ORFおよびラムダgt11である。さらに、pSV28pt, pSV2neo, pSVdhfrおよびVPVベクターの20のような哺乳動物細胞、ならびにGALIおよびGAL10のよう酵母ベクターも使用できる。

【0024】細菌ベクターはlacコーディング配列を含み、この中に β -ガラクトシダーゼ融合タンパク質を生成させるためにHTLV-III DNAを挿入する。次に、この組換えベクターを細菌(例えば大腸菌)内に導入する(HTLV-III DNAを含むベクターを取り込んだこれらの細胞は形質転換されたと言われる)。その後、融合タンパク質を発現する形質転換細胞を同定するために、これらの細胞をスクリーニングする。例えば、細菌をマッコンキー(MacConkey)寒天平板に置いてクローンの表現型を確かめる。もし β -ガラクトシダーゼが生産されているならば、コロニーが赤く見えるだろう。

【0025】また、細菌コロニーはHTLV-III DNAプローブを用いてスクリーニングすることにより、興味あるDNA領域(例えば、HTLV-III gag, polおよびenv DNA配列)を含むクローンを同定できる。DNAプローブを用いたスクリーニングにおいて陽性であり、かつマッコンキー寒天平板に40において陽性であるクローンを単離する。

【0026】HTLV-III DNA配列を含む細胞の同定は、HTLV-III特異的抗体と免疫反応性であるHTLV-IIIポリペプチドの生産を可能にする。選択されたコロニーからの細胞は、ハイブリッドタンパク質を発現させる条件下に培養して増殖させる。その後、当分野で知られた方法により細胞タンパク質を得る。例えば、培養物を遠心分離し、得られた細胞沈殿物を破壊する。宿主細胞によって分泌されたポリペプチドを細胞培養物の上清から(細胞を破壊することなく)得50

ることもできる。

【0027】全細胞タンパク質はSDSポリアクリルアミドゲル電気泳動を行うことにより分析する。他のタンパク質を全く含まないゲル上の一箇所での融合タンパク質を同定する。また、ウェスタンブロット分析が陽性のクローンに対して行われる。このような分析はエイズ患者からの血清を用いて行われ、その結果HTLV-III特異的抗体と交差反応するHTLV-III- β -ガラクトシダーゼ融合タンパク質(抗原)を発現するクローンを同定することが可能になる。

【0028】HTLV-III DNAを含むラムダ₁₀クローンはウイルスの複製型からクローニングされる。レトロウイルスが複製するとき、二重鎖DNAが生産される。クローニングされたHTLV-III DNAは制限酵素SstIで消化する。(図1.a参照)HTLV-III DNAのLTR内に2つのSstI認識部位が存在するので、ラムダ₁₀ベクターから取り出されたクローン化DNA配列には一方のLTR領域が存在しない。その結果、HTLV-III DNAの小さな(約200bp)断片が欠失する。

【0029】得られたDNAを線状化し、env遺伝子領域を含む線状ゲノムDNAを制限酵素で消化していくつかの断片を得る。例えば、図1.bに示すようにKpnIまたはEcoRIプラスHindIIIを使って断片をつくる。得られた2.3Kb KpnI-KpnI断片; 1.0Kb EcoRI-EcoRI断片; および2.4Kb EcoRI-HindIII断片はゲル電気泳動および電気溶出により単離する。これらの断片をランダムにせん断してさらに小さい断片をつくる。こうして得られた断片はアガロースゲルから分離し、そして約200~500bpのDNA断片を溶出する。

【0030】溶出された200~500bp DNA断片は大腸菌 T_4 ポリメラーゼの使用により末端修復し、そして平滑末端を読み取り枠発現(ORF)ベクター(例えばpMR100)に連結させる。この連結はpMR100ベクターのSmaI部位で起こり、pMR100ベクターは2つのプロモーター領域、ラムダCI遺伝子のハイブリッドコーディング配列およびlacI-lacZ遺伝子融合配列を含む。このベクターにおいて、これらは読み取り枠の塩基配列からはずれており、その結果このベクターは非生産性である。HTLV-III DNAをこのベクターに挿入することにより、正しいDNA断片が読み取り枠を修正し、その結果CI-HTLV-III- β -ガラクトシダーゼ融合タンパク質が生産されるだろう。このハイブリッドの発現はlacプロモーターの制御下にある。pMR100の塩基配列に基づく、SmaI部位にクローニングされたDNA断片挿入物がラムダCI遺伝子断片とlac-Z断片との間に適当な読み取り枠を生ずる場合、その挿入DNAはラムダCI遺伝子の枠により定められる読み取り枠に停

止コドンを含むべきでないと考えられる。

【0031】次いで、組換えpMR100ベクターを大腸菌の中に導入する。細菌はマッコンキー寒天平板上に置いてクローンの表現型を確かめる。β-ガラクトシダーゼが生産されている場合は、コロニーが赤く見えるだろう。また、DNA挿入物を含むクローンを同定するために、HTLV-II DNAプローブを用いてコロニーをスクリーニングする。DNAプローブを用いてスクリーニングしたとき陽性でありかつマッコンキー寒天平板上で陽性であるクローンを単離する。

【0032】選択されたコロニーからの細胞を培養して増殖させる。この培養物は遠心分離にかけ、そして細胞沈殿物を破壊する。全細胞タンパク質はSDSポリアクリルアミドゲルによる電気泳動を行って分析する。融合タンパク質は他のタンパク質を全く含まないゲルの上の一箇所で同定される。(図15参照)

ウエスタンブロット分析もスクリーニングしたとき陽性であったクローンに対して行われる。エイズ患者からの血清が使用され、こうしてHTLV-II 特異的抗体と交差反応するHTLV-II β-ガラクトシダーゼ融合タンパク質を発現するクローンを同定することが可能になる。この方法によって1000個のクローンがスクリーニングされ、そして6個のクローンが陽性であった。

【0033】pMR100クローニングベクターの性質ゆえに、生産性DNA挿入物は大きな融合ポリペプチドの一部として発現されるべきである。HTLV-II env遺伝子を含む組換えクローンは、コロニーハイブリダイゼーションによって同定した。β-ガラクトシダーゼ活性を有する大きな融合ポリペプチドの生産は、マッコンキー寒天平板上での表現型同定、β-ガラクトシダーゼ酵素検定および75%SDS-ポリアクリルアミドゲルの分析によって確かめた。この大きな融合タンパク質とHTLV-II に対する抗体との免疫反応は、エイズ患者からの血清を用いるウエスタンブロット分析によって評価した。また、大きな融合タンパク質は抗β-ガラクトシダーゼおよび抗CI抗血清とも反応した。この発見はそれらがCI-HTLV-II I-a c I Zのタンパク質であるという仮説と一致する。

【0034】HTLV-II の読み取り枠挿入物断片は、さらにDNA塩基配列決定によって分析する。pMR100のSma Iクローニング部位の両側にある2つのBamH I部位のうち一方はクローニング段階で破壊されるので、陽性クローンはHind IIIおよびCla I制限酵素で消化して挿入HTLV-II DNA断片を遊離させる。融合組換え体からHTLV-II ORF挿入物を単離し、そしてHind IIIおよびAcc Iで消化したM13クローニングベクターmp18およびmp19内でクローニングする。その後、陽性クローンのDNA塩基配列を決定する。

【0035】約200~500bpのHTLV-II DNA断片をアガロースゲルから単離し、T₄ポリメラーゼで末端修復し、そしてEcoRIリンカーへ連結させる。次にEcoRIリンカーへ連結させたDNAをEcoRIで処理し、1%アガロースゲルから精製して発現ベクターラムダgt11内でクローニングする。このベクターはlacZ遺伝子コーディング配列を含み、このベクター内にβ-ガラクトシダーゼ融合タンパク質を生成させるべく外来性DNAを挿入することができる。ハイブリッド遺伝子の発現はlacリプレッサーの制御下にある。lacリプレッサー遺伝子lacIは宿主細胞の大腸菌Y1090内の別のプラスミドpMC9によって運ばれる。1.5×10⁴の組換えファージを含むHTLV-II ゲノムDNAのラムダgt11ライブラリーを調べるためにエイズ患者の血液を使用した。5000の組換え体のスクリーニングにおいて、強力なシグナルを発する100の独立クローンを単離した。陽性の組換えDNAクローンはさらにそれらの特定の遺伝子発現について明らかにされた。gag遺伝子特異的クローンを同定するために、P24に対するウサギ高度免疫血清を使用した。特定のHTLV-II 遺伝子(詳細にはgag遺伝子、env遺伝子およびP_x遺伝子)のニックトランスレーションされたDNAプローブは、陽性の免疫反応性クローンを特定の遺伝子領域にグループ分けするのに使用した。

【0036】エイズ血清によって強力なシグナルを発しかつHTLV-II のgag, pol, sorおよびenv-lor遺伝子領域を有する挿入物DNAを含む組換えクローンは、制限酵素によるマッピングおよびDNA塩基配列決定によって詳細に調べた。

HTLV-II DNAのヌクレオチド配列決定

HTLV-II DNAのヌクレオチド配列決定には遺伝子操作法を使用した。この配列決定に使用することができる1つの技術は、ショットガン/ランダム配列決定法である。HTLV-II DNAを約300~500bpの大きさの断片にランダムにせん断する。これらの断片は例えばM13を使ってクローニングし、次いでコロニーはHTLV-II DNA断片挿入物を含むものを同定するためにスクリーニングする。その後塩基配列に重複部分が生ずるような多数の分析を行って、そのヌクレオチド配列を決定する。HTLV-II DNAの両鎖の塩基配列を決定してその向きを定める。制限酵素マッピングを用いて得られた塩基配列決定データを調べる。

【0037】1つのクローニングされたHTLV-II ゲノム(BH10)のヌクレオチド配列を図3~図14に示す。ここにはgagタンパク質p17およびgag p24のN末端およびgag p15のC末端(これはpolタンパク質のN末端と重なり合う)をコードする塩基配列位置が示されている。また、pol, sor

および env-lor の読み取り枠 (ORF) も示される。クローン BH10 (R の一部, U5, tRNA プライマー結合部位およびリーダー配列の一部を含む) に存在しない HTLV-II DNA の残りの 182 塩基対の配列はクローン HXB2 から誘導された。別の 2 つのクローン (BH8 および BH5) の塩基配列も示される。制限酵素部位はヌクレオチド配列の上に示し、クローン BH8 に存在するがクローン BH10 に存在しない部位はカッコ内に示す。ヌクレオチド 251, 254, 5671 および 6987-7001 に決失が見られる ()。ヌクレオチドの位置 (各線の右側) は転写開始部位からスタートしている。アミノ酸残基は 4 つの最も大きな読み取り枠に対して番号が付けられており (各線の右側)、各々の場合先行する終止コドンの後からスタートするが、gag の場合は最初のメチオニンコドンから数えている。提案されたペプチド切断部位 (V) および起こりうるアスパラギン-結合グリコシ化部位 (*) を env-lor 読み取り枠に対して示す。図 3 ~ 図 14 の最初に示したクローン BH8 および BH10 から誘導される LTR の塩基配列は各クローンの 3' 部分から誘導され、これらのウイルスゲノムの組み込まれたコピーの 5' - LTR に存在するものと同一であると推定される。

【0038】クローン HXB2 はラムダ J1 内でクローニングされた HTLV-II 感染 H9 細胞からの XbaI 消化 DNA の組換えファージライブラリーから誘導された。H9 細胞はエイズ患者の血液から得られた HTLV-II のプールによって感染させたヒト白血病細胞である (F. ワング-スタール (Wong-Staal) の ネイチャー, 312, 1984 年 11 月を参照されたい)。クローニングベクタークローン BH10, BH8 および BH5 はランダム gt10es ラムダ B 内でクローニングされた HTLV-II 感染 H9 細胞の Hirt 上清分画からの SstI 消化 DNA のライブラリーより誘導された。両方のライブラリーはプライマーとしてオリゴ dT を使ってウイルス粒子 RNA から合成された cDNA プローブを用いてスクリーニングした。クローン BH8, BH5 および HXB2 の一部はマクサム-ギルバード法 (A. M. Maxam および Gilbert, Methods in Enzymology, 65: 499-560 (1980) を参照) によって塩基配列を決定した。クローン BH10 はプライマーとして M13 挿入物の塩基配列に相補的なオリゴヌクレオチドを使用し、かつポリメラーゼとして DNA ポリメラーゼ I のクレノウ (Klenow) 断片または逆転写酵素を使用することにより変更したサンガー (Sanger) の方法によって塩基配列を決定した。

HTLV-II に特異的な RNA, RNA プローブおよび DNA プローブの作製

HTLV-II から全遺伝子または遺伝子セグメン

トである DNA 配列を T7 ベクターのようなベクターに挿入する。この具体例は、ベクターが T 細胞遺伝子 10 プロモーターからの Tceup プロモーターおよび T 細胞遺伝子 10 タンパク質からの 11 個のアミノ酸をコードする DNA 配列を含む。

【0039】次に、このベクターを用いて大腸菌のような細胞を形質転換する。T7 ベクターは T7 ポリメラーゼを利用する。T7 ポリメラーゼは RNA 形成を触媒し、RNA ポリメラーゼが転写開始のために結合する部位である T7 プロモーターのみを認識する。この T7 ポリメラーゼは大腸菌プロモーターを認識しない。その結果、HTLV-II DNA 配列を T7 ベクターのプロモーターおよびポリメラーゼ遺伝子の後に挿入し、かつターミネーターを HTLV-II DNA 配列の直後に配置する場合、T7 ベクターは HTLV-II DNA 挿入物に相補的な RNA を直接製造するであろう。

【0040】また、HTLV-II DNA のヌクレオチド配列の決定は、DNA プローブを作るための基礎を提供する。RNA プローブと DNA プローブは共に、体液中の HTLV-II の検出に利用できるように HTLV-II ゲノムの特定領域を含まねばならない。HTLV-II ゲノムと HTLV-I および -II ゲノムとの間の相同は比較的少なく、プローブは HTLV-II に独特の領域 (すなわち HTLV-I または -II と共有しない領域) を含む。例えば、HTLV-II の env 遺伝子領域のヌクレオチド配列が使用される。

【0041】ウイルス RNA または DNA は、非常に高い濃度のウイルスを含むことが知られている。例えば唾液中の HTLV-II を検出するのに用いられる。これは、例えば唾液試料を変性し、これを濾紙に移し、どちらかの型のプローブを用いてスクリーニングするドットプロット (dot blot) の手段によって行うことができる。試験体液として唾液を使用する場合、HTLV-II の検出は血液を試験する場合よりも迅速かつ容易であると考えられる。

HTLV-II ポリペプチドと反応するモノクローナル抗体の生産

HTLV-II ポリペプチドと反応するモノクローナル抗体は、抗体産生細胞株によって生産される。抗体産生細胞株は普通ハイブリドーマとして知られるハイブリッド細胞株でありうる。このハイブリッド細胞は、HTLV-II ポリペプチドに対する抗体を生産する細胞と、不滅性細胞 (すなわちハイブリッド細胞に組織培養の長期安定性を付与する細胞) との融合によって作られる。ハイブリッド細胞株を作る場合、その第一の融合パートナー (抗体産生細胞) は HTLV-II ポリペプチドに対して免疫化した動物の脾臓細胞でありうる。これとは別に、抗体産生細胞は HTLV-II 抗原に対する抗体を生産するところの単離された B リンパ球であ

りうる。このリンパ球は脾臓、末梢血液、リンパ節またはその組織から得ることができる。第二の融合パートナー（不滅細胞）はリンパ芽細胞または形質細胞腫細胞（例えば、それ自身抗体産生能を有する悪性の骨髄腫細胞）でありうる。

【0042】HTLV-IIIポリペプチドに対するモノクローナル抗体を産生するネズミハイブリドーマは、マウス骨髄腫細胞とポリペプチドに対して免疫化したマウスからの脾臓細胞との融合によって作られる。マウスを免疫化するために、種々の異なる免疫感作方法を行うことができる。例えば、マウスは精製ポリペプチドの一次および二次免疫感作を受ける。融合は標準方法において行われる。コーラー（Kohler）およびミルスタイン（Milstein）のネイチャー（ロンドン）256, 495-497（1975）；R. ケネット（Kennet）のモノクローナル抗体（ケネットら編集，365-367頁，プレナム・プレス，ニューヨーク，1980年）を参照されたい。

【0043】次いで、ハイブリドーマをポリペプチドと反応する抗体の産生についてスクリーニングする。これは当分野で知られたスクリーニング方法により行われる。

【0044】抗体産生細胞株を作る別の方法は、抗体産生細胞の形質転換による。例えば、HTLV-IIIポリペプチドに対して免疫化した動物から得られたBリンパ球を、ヒトBリンパ球の場合にはエプスタイン・バーウイルス（Epstein-Barr virus）のようなウイルスを感染させて形質転換し、それにより不滅性抗体産生細胞を得る。例えば、コズボー（Kozbor）およびロドー（Rodor）のImmunology Today 4(3), 72-79（1983）を参照されたい。これとは別に、形質転換遺伝子または形質転換遺伝子産物を用いてBリンパ球を形質転換してもよい。

【0045】HTLV-IIIポリペプチドに対するモノクローナル抗体は、抗体産生ハイブリドーマをマウスの腹腔内に注入し、適当な時間の経過後非常に高力価の均一抗体を含む腹水を採取し、そして腹水からモノクローナル抗体を単離することにより大量に生産することができる。異種ハイブリドーマは照射マウスまたは胸腺欠損ヌードマウスに注入すべきである。また、HTLV-IIIポリペプチドを生産する細胞をインピトロで培養し、その細胞培養基から分泌されたモノクローナル抗体を単離する方法によっても抗体を得ることができる。これらの方法により産生された抗体は診断検定法（例えば体液中のHTLV-IIIを検出する）および受動免疫療法において使用できる。HTLV-IIIポリペプチドと反応する抗体は、エイズまたは体液（例えば血液、精液、唾液）中のHTLV-IIIの存在を検出するための診断試験、ならびに受動免疫療法のための基礎を提

供する。例えば、抗p41を生産し、慣用技術によりこれを固相に付着させ、そして試験すべき体液を固定化抗体と接触させることが可能である。このようにして、体液中のHTLV-III（抗原）を検出することができ、この方法はHTLV-IIIに対する抗体を検出する試験よりもはるかに少ない偽陽性の試験結果をもたらすだろう。

【0046】本発明はさらに次の実施例により説明されるであろう。

実施例1

超音波処理されたDNA断片の作製

ゲルにより精製したHTLV-III制限酵素断片10μgを超音波処理して、平均500bpの大きさに断片化した。超音波処理後、容量を減らすためにDNAを0.1×TBE中のDEAE-セルロースカラムに通した。DEAE結合DNAは0.2M NaCl-TE（2M NaCl, 10mm トリス-HCl pH 7.5, 1mM EDTA）5mlで洗い、次に1M NaCl-TEで溶出してエタノール沈殿させた。超音波処理したDNAの大きさを1.2%アガロースゲルにより測定した。所望の長さ（200～500bp）のDNA断片をゲルから溶出した。T4 DNAポリメラーゼを使って、超音波処理法によって生じた一本鎖DNA末端を修復および/または切り取った。DNA断片をT4ポリメラーゼと共にヌクレオチドを添加することなく37℃で5分間インキュベートして3'末端からヌクレオチドを除き、次に4種のヌクレオチド前駆体を最終濃度が100μMとなるように加え、この反応混合物をさらに30分間インキュベートして5'末端の一本鎖のつき出た部分を修復した。68℃で10分間酵素を熱不活化することによりこの反応を停止させた。DNAは1度フェノール抽出し、エタノール沈殿させ、そしてTE中に再懸濁した。

実施例2

ランダムにせん断したDNA断片のクローニング

超音波処理しかつ平滑末端に修復したHTLV-III DNA断片を、ORF発現ベクターpMR100のSma I部位に連結し、そして標準形質転換法を使って宿主細胞LG90を形質転換した。形質転換細胞のβ-ガラクトシダーゼ陽性表現型は、その形質転換細胞をアンピシリン（25μg/ml）含有マッコンキー寒天平板上に採置して、表現型を37℃で20時間後に評価することによって同定した。

実施例3

ハイブリッドタンパク質分析

アンピシリン（25μg/ml）含有Lブイオン中で一晚増殖させた飽和培養物からの細胞10ml試料を遠心分離し、細胞沈殿物を1.2倍に濃縮したレムリ（Laemmli）サンプル緩衝液500μlに再懸濁した。細胞は渦巻混合し、100℃で3分間沸騰させることに

より再懸濁した。次に、この溶菌液を22ゲージ針を使って繰り返しせん断し、溶菌液の粘度を低下させた。タンパク質試料約10μlは7.5% SDS-PAGE (SDS-ポリアクリルアミド)ゲルによる電気泳動処理を行った。

【0047】タウビン(Towbin)らの方法に従って、SDS-PAGEゲルからニトロセルロース紙へタンパク質を移行させた。移行後、このフィルターを0.1%消泡剤Aおよび0.0001%メルチオレート(merthiolate)を含有するPBS中の5%(w/v)脱脂牛乳の溶液中で37において2時間インキュベートし、それにより全ての利用しうるタンパク質結合部位を飽和させた。エイズ抗血清との反応は、大腸菌溶菌液をあらかじめ吸収させた1%エイズ患者抗血清含有の上記牛乳緩衝液中で行った。この反応は回転攪拌機上の密閉プラスチック袋中で4において18~24時間実施した。このインキュベーション後、0.5%デオキシコール酸、0.1M NaCl、0.5%トリトンX-100、10mM燐酸塩緩衝液pH7.5および0.1mM PMSFを含有する溶液で室温において20分づつ3回フィルターを洗浄した。

【0048】抗原-抗体反応を視覚化するために、¹²⁵Iでヨウ素化した第二のヤギ抗ヒト抗体とニトロセルロースとをインキュベートした。ヨウ素化抗体との反応は、第一の抗体のときに使用したものと同一牛乳緩衝液中室温で30分間実施した。その後先に述べたようにしてニトロセルロースを洗浄し、コダックXAR5フィルムおよび増感スクリーンを使って-70で感光した。

実施例4

コロニーハイブリダイゼーションによるHTLV-II I ORFライブラリーのスクリーニング

大腸菌LG90形質転換体は意図するDNA領域(例えばHTLV-II I gag, envまたはPx遺伝子の特定配列)を含むHTLV-II I DNAプローブを用いてスクリーニングした。ニトロセルロースフィルター上でコロニーを増殖させ、ハイブリダイゼーションプローブとしてニックトランスレーションされたHTLV-II I DNAを使い、グルンスタイン(Grunstein)およびホグネス(Hogness)の方法に従ってスクリーニングした。

【0049】一般には、制限エンドヌクレアーゼ消化によってDNA断片を切り取り、これをゲル精製し、そしてニックトランスレーションにより 0.5×10^8 cpm/μgの比活性に³²Pで標識した。[P.W.J.リグビー(Rigby)らのJ.Mol.Biol., 113, 237(1977)を参照]DNAが固定されたニトロセルロースフィルターは $6 \times \text{SSC}$ (0.9M NaCl/0.09Mクエン酸ナトリウム、pH7.0)、5×デンハート溶液(Denhardt's solution: ポリビニルピロリドン、フィコルおよ

びウシ血清アルブミン各々0.02%)、10μg/mlの変性した超音波処理大腸菌DNAを用いて55で3~5時間プレハイブリダイゼーションを行った。次いで、変性ハイブリダイゼーションプローブを加えた同じ溶液の新しい試料中にこのフィルターを入れた。ハイブリダイゼーションは68で16時間行った。その後フィルターを55において $0.3 \times \text{SSC}$ で繰り返し洗浄し、X線フィルムを使用して感光した。

実施例5

エイズ患者からの血清と免疫反応するHTLV-II Iの組換えDNAによって生産されたペプチド

発現ベクターとしてpIN-II I-ompA(ompA)を使用した。ompAはリポタンパク質(大腸菌中で最も豊富なタンパク質)遺伝子プロモーター(lp)およびlacUV5プロモーター-オペレーターを有する(図16参照)。ompAベクターはさらにlacリプレッサーをコードするDNAセグメントを含み、これは挿入DNAの発現をIPTGのようなlacオペロン誘導物質により調節させる。ompAクローニングベクターは3つの読み取り枠の全てに3つの特異な制限酵素部位EcoRI、HindIIIおよびBamHIを含み、そしてこれらの制限酵素部位のいずれかにDNAが挿入される。

【0050】ベクターラムダgtWESラムダBのSstI部位に9Kbの長いHTLV-II I DNA挿入物を含む組換えクローンのラムダBH10から、種々の制限断片を切り取った。次に、これらの制限断片を3つの読み取り枠の全てでompAベクターに挿入し、そして大腸菌JA221細胞を形質転換するのに使用した。形質転換細胞は、ニックトランスレーションされたHTLV-II I DNAプローブを使用するin situコロニーハイブリダイゼーションにより、HTLV-II I DNAについてスクリーニングした。陽性クローンはHTLV-II Iに特異的な抗体を使用してHTLV-II I抗原ペプチドの発現についてスクリーニングした。このために、HTLV-II I DNA組換えプラスミドを含む大腸菌細胞の溶菌液を12.5%SDS-ポリアクリルアミドゲルによる電気泳動にかけ、そしてニトロセルロースフィルター上へ移行した。その後、このフィルターを最初にエイズ患者からの十分な性状決定された血清とインキュベートし、次に¹²⁵Iで標識したヤギ抗ヒトIgG抗体とインキュベートした。洗浄したフィルターをオートラジオグラフィーにかけ、抗HTLV-II I抗体と反応性のペプチドを同定した。

【0051】抗HTLV-II I抗体と免疫反応性であるペプチドをコードするいくつかの遺伝子セグメントが見出された。これらのうちの1つに1.1KbのEcoRI制限断片がある。この断片は3つの読み取り枠の全てでompAベクター内に挿入した(図16参照)。細胞は100mg/mlのアンプシリンを含むLブイヨン

中 37 で $OD_{600} = 0.2$ へと増殖させた。この時点で細胞培養物を 2 つのアリコートに分割した。一方のアリコートに最終濃度が 2 mM となるように IPTG を加えた (誘導)。他方のアリコートには IPTG を加えなかった (非誘導)。IPTG 誘導の際に、3 つのプラスミド構成物 [OmpA₁-R-6 (O1R6), OmpA₂-R-7 (O2R7) および OmpA₃-R-3 (O3R3) と命名される] の全ての形質転換細胞は、エイズ患者の血清中の抗 HTLV-III 抗体と強く反応する 15 Kd のペプチドを生産した (図 17 参照、レーン 1 は精製した HTLV-III ウイルス粒子; レーン 2 および 3 は非誘導および誘導の O1R6; レーン 4 および 5 は非誘導および誘導の O2R7; レーン 6 および 7 は非誘導および誘導の O3R3 である)。この反応性は正常人から採取した血清を用いた場合検出されない。

【0052】HTLV-III ゲノムの DNA 配列データは、EcoRI 断片の 5' 末端に位置する pol 遺伝子内に 1 つの読み取り枠が存在することを示す。3 つの組換え構成物 O1R6, O2R7 および O3R3 の DNA 塩基配列決定は、これらの組換え体の各々が各ベクターのコーディング配列に結合した HTLV-III プラス DNA 鎖の異なる読み取り枠を有するという事を証明した。O3R3 の場合のみ、挿入 DNA の読み取り枠が OmpA ベクター内のシグナルペプチドによって定められるそれと一致するが、O1R6 および O2R7 の場合 pol 遺伝子セグメント DNA の読み取り枠がベクターにより定められるそれと不一致である。(図 18 参照)

ヌクレオチド位置 24 - 29 には 6 bp のリボソーム結合部位 AAGGAG (シャイン-ダルガルノの配列、Shine-Dalgarno sequence) があり、これにより 11 bp 下流 (位置 41 - 43) には開始コドン ATG が存在する。3 つの組換え体の全てによって合成される 15 Kd のペプチドは、この内部開始コドンを使用して転写物から翻訳されると考えられる。このことが真実である場合には、ペプチドは位置 41 - 43 に存在する ATG から出発して、位置 446 - 448 に存在する停止コドンで終り、それにより HTLV-III の pol 遺伝子の 3' 末端セグメントによりコードされる 135 アミノ酸残基から成るペプチドが生産される。

【0053】HTLV-III DNA pol 遺伝子の読み取り枠がベクターにより定められるそれと一致する O3R3 構成物は、15 Kd ペプチドの他に、19 Kd と 16.5 Kd の大きさの 2 つの別のペプチドを生産した (図 17 参照)。19 Kd ペプチドはさらに 35 個のアミノ酸残基を含み、そのうちの 21 個は OmpA₃ ベクターによってコードされるシグナルペプチドからのものであり、残りの 14 個は挿入 HTLV-III DNA それ自体によってコードされると思われる。16.5

Kd ペプチドはプロセッシングを受けた 19 Kd ペプチド (シグナルペプチドが開裂している) でありうる。

【0054】O1R6 および O2R7 構成物もエイズ患者の血清と弱く反応する約 17.5 Kd の別のペプチドを生産する (図 17 参照)。このペプチドの開始点は明らかでない。1.1 Kb の EcoRI 断片は、ヌクレオチド位置 360 - 965 の間に延びる SOR (短い読み取り枠) と呼ばれる第二のコーディング領域を含む (図 16 参照)。この領域内の 5 つの AUG メチオニンコドンのうち 4 つがこの読み取り枠の 5' 末端の近くに存在する。この DNA セグメントは 192, 185, 177 または 164 個のアミノ酸残基から成るペプチドをコードできるだろう。しかしながら、この読み取り枠の 5' 末端にははっきりと認めうるリボソーム結合部位が存在しない。

【0055】さらに、15 Kd ペプチドは実際に pol 遺伝子から誘導されるという決定が多くの証拠により支持された。第一に、O1R6、O2R7 および O3R3 (図 16) からの 1.1 Kb EcoRI 挿入物からの 3' 末端 StuI / EcoRI 断片の欠失は 15 Kd ペプチドの合成に影響を与えない。第二に、5' 末端 EcoRI / NdeI 断片のみを含むクローンがまだ同じ 15 Kd ペプチドを生産する。最後に、読み取り枠クローニングベクター pMR100 内に適切に挿入された SOR コーディング配列をもつ種々の DNA 断片を含む組換えクローンは、エイズ患者の血清中に存在する抗 HTLV-III 抗体との免疫反応性が非常に乏しいラムダ C I-HTLV-III-β-ガラクトシダーゼ 3 分節融合タンパク質を生産した。

【0056】エイズ患者の血清中でウイルス pol 遺伝子から誘導された 15 Kd ペプチドに対する有意な免疫反応性を検出した。この免疫反応性ペプチドの特性は、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動における HTLV-III ウイルス粒子抗原の結合パターンに関して、拮抗阻害免疫検定法を用いて決定した。精製 HTLV-III ウイルス粒子を SDS で処理し、電気泳動にかけ、そしてニトロセルロースフィルターの上に移した。破壊した HTLV-III ウイルス粒子を含む同一のフィルター細片を、O1R6, O2R7 または対照細菌クローンの溶菌液の存在下または不存在下に、十分に性状決定がなされたエイズ患者の血清とインキュベートした。エイズ患者の血清に含まれる抗 HTLV-III 抗体とフィルターにしみ込ませたウイルス粒子のタンパク質との間の特異的免疫反応は、¹²⁵I で標識したヤギ抗ヒト抗体によって明らかにした。図 19 に示すように、O1R6 の溶菌液はウイルス p31 タンパク質とエイズ血清との免疫反応を阻害するが、対照細胞の溶菌液は阻害しない。この結果は、ウイルス pol 遺伝子の 3' 末端によってコードされる組換え 15 Kd タンパク質が他のウイルス粒子タンパク質 p31 の一部であると

いうことを示唆しており、p31がHTLV-IIIウイルス粒子と一緒に同時精製される細胞タンパク質であるというある人々によって共有された考え方と対照をなしている。

【0057】15Kdペプチドに対する抗体がエイズ患者の血清中に広く含まれるかについても評価した。抗原の源としてO1R6の溶菌液を使用するウエスタンブロット分析において、エイズ患者と正常人々からのコード化血清のパネルを試験した。20のエイズ血清の全てが15Kdペプチドと反応し、8の正常対照はどれも15Kdペプチドと反応しなかった。代表的な結果を図20に示す。これらのデータは、全部ではないにしても、大部分のエイズ患者がウイルスp31タンパク質に対する抗体を産生することを示している。

実施例6

HTLV-IIIの読み取り枠遺伝子セグメントの大腸菌内での発現

HTLV-III DNAをラムダBH10から切り取った。このラムダBH10はベクターラムダgtWESラムダB内に挿入したHTLV-III DNAの9Kbセグメントを含む先に作製した組換えラムダファージである。このHTLV-III DNAを超音波処理し、約0.5KbのDNA断片をゲル電気泳動により精製し、末端修復し、そしてORFベクターpMR100のSmaI部位に挿入した(図21参照)。このベクターはハイブリッドコーディング配列〔バクテリオファージラムダのラムダCI遺伝子のN末端(5'セグメント)がN末端欠失lacIZ遺伝子(3'セグメント)に融合される〕を含む第二DNA断片に結合した細菌lacプロモーターDNAセグメントを含む。SmaIクローニング部位を含む短いリンカーDNA断片を、lacIZコーディングDNAの上流でフレームシフト変異が起こるような方法で、これらの2つの断片の間に挿入した。その結果、pMR100はlac⁺宿主大腸菌LG90の細胞内に導入したとき検出可能なβ-ガラクトシダーゼ活性を示さない。SmaIクローニング部位に読み取り枠を含む外来性DNA(この場合はHTLV-III DNA)を挿入すると、その挿入コーディング配列がラムダCIリーダーおよびlacIZ遺伝子の双方に関して正しい読み取り枠内にある場合、フレームシフト変異を逆転させることができる。形質転換細胞はマッコンキー平板上でスクリーニングして、β-ガラクトシダーゼ酵素活性をその場で発現する個々のクローンを検出した。

【0058】スクリーニングされた6000のアンピシリン耐性形質転換細胞のうち、約300がβ-ガラクトシダーゼ活性を発現するとわかった。³²Pで標識し、ニックトランスレーションされたHTLV-III DNAをプローブとして使用するコロニーハイブリダイゼーションは、これらlac⁺クローンの全てがHTLV-

III DNAを含むことを明らかにした。lac⁺クローンにおいて、pMR100のSmaI部位に挿入されたHTLV-III断片はラムダCIリーダーセグメントによって定められる読み取り枠に停止コドンを含んではならず、またlacIZ遺伝子も正しい翻訳読み取り枠で存在しなければならない。3要素融合遺伝子は、N末端にラムダCIタンパク質の一部をもち、中間にHTLV-IIIセグメントをもち、そしてC末端にlacIZポリペプチドをもつ3分節融合タンパク質として発現された。

【0059】lac⁺クローンによって生産されたタンパク質は、ラムダCI-β-ガラクトシダーゼ融合タンパク質を生産する対照lac⁺クローンpMR200の溶菌液と共に7.5%SDS-ポリアクリルアミドゲル上でその溶菌液を分割することにより分析した。pMR200のlacIZ遺伝子は、pMR100のlacIZ遺伝子が活性β-ガラクトシダーゼを生産するためにラムダCI遺伝子と同じ読み取り枠になるべく1個の塩基対を欠失している点を除いてpMR100のそれと同じである。β-ガラクトシダーゼおよびその融合タンパク質の非常に大きな寸法に基づいて、それらはSDS-ポリアクリルアミドゲル上で溶菌液中の大部分のタンパク質から分離され、そして図22.Aに示すようにクーマシーブリリアントブルー染色によって簡単に同定することができる。HTLV-III DNAを含むlac⁺クローンのいくつかは、ラムダCI-lacIZ融合タンパク質よりも大きな(15000~27000ダルトン)ポリペプチドを生産する。これらの発見はDNA挿入物の長さが700bp以下であるというデータと一致する。β-ガラクトシダーゼ融合タンパク質は全細胞タンパク質の約1~2%を占めた。

【0060】Lac⁺クローンにより生産されたペプチドは、エイズ患者の血清との免疫反応についてウエスタンブロット分析により試験した。lac⁺クローンの溶菌液をSDS-ポリアクリルアミドゲルで電気泳動処理した後、それらをニトロセルロースフィルターへ移行させた。これらのタンパク質ブロットを最初にエイズ患者の血清と反応させ、次に¹²⁵Iで標識したヤギ抗ヒトIgGと反応させた。図22.Bのオートラジオグラフは代表的な融合タンパク質とエイズ患者血清との免疫反応性を示す。組換えペプチドはこの他に抗β-ガラクトシダーゼ抗血清とも反応し、それらが一般構造式ラムダCI-HTLV-IIIペプチド-lacIZを有するという提案と一致した。HTLV-III DNA挿入物を含まない陰性対照のpMR100およびpMR200の免疫反応パターンから、この特別のエイズ血清は宿主大腸菌のいくつかの細菌タンパク質と反応する抗体を含むことが明白である。このことはエイズ患者が通常多数の細菌に感染していることからして驚くにあたらない。大腸菌抽出物を結合させたセファロース4Bを用い

てエイズ患者の血清を吸着させると、バックグランド免疫反応がある程度減少するが、それは完全には消失しなかった。

【0061】約300の独立したHTLV-II DNA含有Lac⁺コロニーは、クーマシーブリリアントブルー染色およびウエスタンブロッティングを使用してSDS-ポリアクリルアミドゲルにより分析した。それらのうち約半数は長さが300~600bpのDNA挿入物に対応して、約100~200個のアミノ酸からなる付加的ペプチドを含む融合タンパク質を発現することがわかった。これらの融合タンパク質のうち20はエイズ患者からの血清と特異的に反応することが見出された。非反応性クローンは恐らく、抗体と反応しないような状態に折り重なったペプチドを含むか、あるいはエイズ患者の体内で免疫原性がないHTLV-IIタンパク質分子の領域に相当するペプチドを含むであろう。Lac⁺クローンの残りの半数は、大きさがラムダCI-β-ガラクトシダーゼタンパク質と明らかに異なる融合タンパク質を発現した。このグループの融合タンパク質からはエイズ患者の血清と反応するものが全く見出せなかった。

【0062】Lac⁺ORFクローンからのHTLV-II DNA挿入物は、サザンブロッティング法を使ってHTLV-IIゲノムの特定セグメントへマッピングされた。これらの実験において、各プラスミドクローンはニクトランレーションにより³²Pで標識し、そして一群のHTLV-II DNA制限断片とハイブリダイゼーションを行った。このハイブリダイゼーション分析は、DNA塩基配列決定データと一致するORF-A, ORF-B, ORF-CおよびORF-D(図2.A参照)と名づけた4つの読み取り枠セグメントへと全てのLac⁺ORFクローンをマッピングした。gagおよびpol遺伝子のコーディング領域に相当する読み取り枠ORF-Aおよび-Bは、それぞれ1.5Kbおよび3.0Kbの長さである。ORF-Cは約0.6Kbの長さであり、ORF-B領域とわずかに重なっており、そして21Kdのポリペプチドをコードすることができる。ORF-Cの位置およびpol遺伝子とそれとの重複部分は、HTLV-Iおよび-IIのenv遺伝子構造を暗示する。しかしながら、sor(short open reading frame, 短い読み取り枠)と命名したORF-Cは完全なエンベロープタンパク質をコードするにはあまりに短かすぎる。第四の読み取り枠のORF-Dはその長さが2.5Kbであり、主要エンベロープ糖タンパク質の大型前駆体と3'末端から誘導される別のタンパク質(HTLV-Iおよび-IIのlor産物に類似している)との両方をコードできるだろう。env-lorと命名したHTLV-IIのこの遺伝子領域は、HTLV-IおよびHTLV-IIのlorの少なくとも2倍の長さであり、この*

*領域に1つまたは2つ以上のタンパク質がコードされているかどうか現在のところはっきりしない。

【0063】多数のクローンを分析するために、サザンブロッティングおよびDNA塩基配列決定の両方法を使用した。図2.Bに示すように、エイズ患者の血清と免疫反応する融合タンパク質を発現するLac⁺ORFクローンは、ORF-A(例えば#175および#191)、ORF-B(例えば#13, 31および162)またはORF-D(例えば#113, 121および127)の領域に位置し、sor領域には存在しなかった。これらの領域の全てのタンパク質が免疫反応性であるとは限らない(例えばORF-Dに位置するORFクローン#76)。

【0064】HTLV-IIの読み取り枠構造の分析は、どの読み取り枠がenv遺伝子に相当するかについての疑問を提起した。HTLV-IIのenv-lor領域が推定されるlor遺伝子の他にenv遺伝子の全部または一部を含むと考えられる。最近になって、HTLV-Iのlor遺伝子はウイルス活性化および形質転換の過程に関連した42Kdタンパク質をコードすることが示唆された。ORFクローンの1つ(図2.Bの#127)の溶菌液を、ウエスタンブロット法に基づくストリッブラジオイムノアッセイで、20人のエイズ患者と12人の正常人からの血清に対して試験した場合、ラムダCI-HTLV-II-β-ガラクトシダーゼ融合タンパク質に対する免疫反応は19人のエイズ患者血清において検出され、正常対照からは全く検出されなかった。この結果は、ORFクローン#127に含まれるenv-lor領域の部分によりコードされるタンパク質がHTLV-II感染細胞内で生産され、そしてエイズ患者の、全部ではないにしても、大部分に抗体を産生させるということを示している。

産業上の適用可能性

本発明は、体液中のHTLV-II DNAの存在に関するスクリーニングおよびエイズの診断に利用される。

均等物

本明細書で述べた特定の物質および方法に均等の多数の物質および方法が、単に日常的な実験法を使用することにより当業者によって認識され、また確認されるであろう。このような均等物は本発明の範囲内であると考えられ、先の特許請求の範囲に包含される。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1はHTLV-II DNAを表わす。図1.aはゲノムが制限酵素SstIによって切断される部位を示し、図1.bは制限酵素Kpn, EcoRIおよびHindIIIの作用により作られたHTLV-IIゲノムの断片を示す。

【図2】図2はHTLV-II DNAを示す。図2.Aはゲノム内の制限酵素部位を示し、図2.Bは読

み取り枠クローン内のDNA挿入物のHTLV-IIIゲノム中での位置を示す。(+)および(-)は、それぞれORFベクターを用いて形質転換した細胞により発現された融合タンパク質とエイズ患者の血清との反応性および非反応性を示す。

【図3】図3はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その1)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図4】図4はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その2)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図5】図5はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その3)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図6】図6はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その4)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図7】図7はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その5)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図8】図8はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その6)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図9】図9はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その7)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図10】図10はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その8)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図11】図11はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その9)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図12】図12はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その10)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図13】図13はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上*

*のアミノ酸配列(その11)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図14】図14はHTLV-III DNAのヌクレオチド配列、および4つの最も長い読み取り枠の推定上のアミノ酸配列(その12)を示す。ヌクレオチド配列の上に制限酵素部位を示す。

【図15】図15はHTLV-III env-β-ガラクトシダーゼ融合タンパク質のSDS-ポリアクリルアミドゲル上での位置を示すイムノプロットの写真である。

【図16】図16はゲノムが制限酵素EcoRIによって切断される部位、およびHTLV-III DNAを保有する組換えプラスミドの作製を示す。

【図17】図17は組換え構成物ompA1-R-6, ompA2-R-7およびompA3-R-3(この中に1.1KbのEcoRI HTLV-III cDNA制限断片が挿入された)を用いて形質転換した細菌細胞により生産されたペプチドのニトロセルロースフィルター上での位置を示すイムノプロットの写真である。

【図18】図18はompAシグナルペプチドのヌクレオチド配列、および組換えプラスミドompA1-R-6, ompA2-R-7, ompA3-R-3の関連領域を示す。

【図19】図19はHTLV-III DNA組換えプラスミドompA1-R-6を含む大腸菌の溶菌液によるHTLV-III抗原とエイズ血清との間の反応の阻害(レーン1-5)、および大腸菌対照細胞の溶菌液による上記反応の非阻害(レーン6-10)を示すイムノプロットの写真である。

【図20】図20は正常人(レーン1-3)およびエイズ患者(レーン4-11)からの血清中での、HTLV-III cDNAの1.1Kb EcoRI HTLV-III制限断片によりコードされるペプチドに対する抗体の有無を示すイムノプロットの写真である。精製したHTLV-IIIウイルス(パネルA)、または細菌クローンompA1-R-6(O1R6)の全細胞溶菌液(パネルB)を血清試料と反応させた。

【図21】図21はHTLV-III DNAを有する読み取り枠発現ベクターpMR100を示す。

【図22】図22はラムダCI-HTLV-III-β-ガラクトシダーゼ融合タンパク質を示す。図22.AはラムダCI-HTLV-III-β-ガラクトシダーゼ融合タンパク質のSDS-ポリアクリルアミドゲル上での位置を示すイムノプロットの写真であり、図22.Bは上記タンパク質とエイズ患者血清との免疫反応を示す写真である。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

(1) GENERAL INFORMATION:

(iii) NUMBER OF SEQUENCES: 11

- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:1:
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 - (A) LENGTH: 492 base pairs
 - (B) TYPE: nucleic acid
 - (C) STRANDEDNESS: single
 - (D) TOPOLOGY: linear
 - (ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)
 - (iii) HYPOTHETICAL: NO
 - (vi) ORIGINAL SOURCE:
 - (A) ORGANISM: HTLVIII
 - (ix) FEATURE:
 - (A) NAME/KEY: misc.sub. feature
 - (B) LOCATION: 1..492
 - (D) OTHER INFORMATION: standard.s

ub.name = "Clone BH10"

note = "Corresponds to nucleotide positions 453 to 39 in figure 3 of US 06/693,866 (parent)"

- (xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO:1:

```

tggaagggt aattcactcc caacgaagac aaga
taccct tgatctgtgg atctaccaca 60
cacaaggcta ctccctgat tagcagaact acac
accagg gccagggatc agatatccac 120
tgaccttgg atggtgctac aagctagtac cagt
tgagcc agagaagtta gaagaagcca 180
acaaaggaga gaacaccagc ttgttacacc ctgt
gagcct gcatggaatg gatgaccgg 240
agagagaagt gttagagtgg aggtttgaca gccg
cctagc attcatcac atggcccagag 300
agctgcatcc ggagtacttc aagaactgct gaca
tcgagc ttgctacaag ggactttccg 360
ctggggactt tccaggagg cgtggcctgg gcgg
gactgg ggagtggcga gccctcagat 420
cctgcatata agcagctgct tttgcctgt actg
ggtctc tctggttaga ccagatctga 480
gcctgggagc tc

```

492

- (2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:2:
- (i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:
 - (A) LENGTH: 492 base pairs
 - (B) TYPE: nucleic acid
 - (C) STRANDEDNESS: single
 - (D) TOPOLOGY: linear
 - (ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)
 - (iii) HYPOTHETICAL: NO
 - (vi) ORIGINAL SOURCE:
 - (A) ORGANISM: HTLVIII
 - (ix) FEATURE:
 - (A) NAME/KEY: misc.sub. feature

agctgcatcc ggagtacttc aagaactgct gata
 tcgagc ttgctacaag ggactttccg 360
 ctggggactt tccagggagg cgtggcctgg gcgg
 gactgg ggagtggcga gccctcagat 420
 cctgcatata agcagctgct tttgcctgt actg
 ggtctc tctggttaga ccagatctga 480
 gcctgggagc tc
 492

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:3:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 182 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: single
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(vi) ORIGINAL SOURCE:

- (A) ORGANISM: HTLVIII

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: misc.sub. feature
- (B) LOCATION: 1..182
- (D) OTHER INFORMATION: standard.s

ub. name= "Clone HXB2"

note = "Corresponds t

o nucleotide

positions 40 to 221 in

figure 3 of

US 06/693,866 (parent

)"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO

:3:

tctggctaac tagggaaccc actgcttaag cctc
 aataaa gcttgccctg agtgcttcaa 60
 gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggta
 actaga gatccctcag acccttttag 120
 tcagtgtgga aaatctctag cagtggcgcc cgaa
 caggga cctgaaagcg aaagggaac 180
 ca
 82

1

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:4:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

- (A) LENGTH: 8933 base pairs
- (B) TYPE: nucleic acid
- (C) STRANDEDNESS: single
- (D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(vi) ORIGINAL SOURCE:

- (A) ORGANISM: HTLVIII

(ix) FEATURE:

- (A) NAME/KEY: misc.sub. feature
- (B) LOCATION: 1..8933
- (D) OTHER INFORMATION: standard.s

(D) OTHER INFORMATION: product = "
pol"

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: mat.sub. peptide

(B) LOCATION: 4367..4975

(D) OTHER INFORMATION: product = "
sor"

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: mat.sub. peptide

(B) LOCATION: 5560..8148

(D) OTHER INFORMATION: /product =
"env"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO

:4:

gagctctctc gacgcaggac tcggcttgct gaag
cgcgca cggcaagagg cgaggggagg 60
cgactggtga gtacgcaaa aattttgact agcg
gaggct agaaggagag agatgggtgc 120
gagagcgtca gtattaagcg ggggagaatt agat
cgatgg gaaaaaattc ggttaaggcc 180
agggggaaaag aaaaaatata aattaaaaca tata
gtatgg gcaagcaggg agctagaacg 240
attcgagtt aatcctggcc ttttagaac atca
gaaggc ttagacaaa tactgggaca 300
gctacaacca tcccttcaga caggatcaga agaa
cttaga tcattatata atacagtagc 360
aaccctctat tgtgtgcatc aaaggataga gata
aaagac accaaggaag ctttagacaa 420
gatagaggaa gagcaaaaca aaagtaagaa aaaa
gcacag caagcagcag ctgacacagg 480
acacagcagt caggtcagcc aaaattacc tata
gtgcag aacatccagg ggcaaatggt 540
acatcaggcc atatcaccta gaactttaaa tgca
tgggta aaagtagtag aagagaaggc 600
tttcagccca gaagtaatac ccatgttttc agca
ttatca gaaggagcca cccacaaga 660
tttaaacacc atgctaaaca cagtgggggg acat
caagca gccatgcaaa tgttaaaga 720
gaccatcaat gaggaagctg cagaatggga taga
gtacat ccagtgcag cagggcctat 780
tgcaccaggc cagatgagag aaccaagggg aagt
gacata gcaggaacta ctagtaccct 840
tcaggaacaa ataggatgga tgacaaataa tcca
cctatc ccagtaggag aaatttataa 900
aagatggata atcctgggat taaataaaat agta
agaatg tatagcccta ccagcattct 960
ggacataaga caaggaccaa aagaaccttt taga
gactat gtagaccggt tctataaaac 1020
tctaagagcc gagcaagctt cacaggagggt aaaa
aattgg atgacagaaa ccttggttgg 1080
ccaaaatgcg aaccagatt gtaagactat tttta
aaagca ttgggaccag cggctacact 1140
agaagaaatg atgacagcat gtcaggaggat agga

acaaaaatct tagagccttt taaaaaaca aatc
cagaca tagttatcta tcaatacatg 2460
gatgatttgt atgtaggatc tgacttagaa atag
ggcagc atagaacaaa aatagaggag 2520
ctgagacaac atctgttgag gtggggactt acca
caccag acaaaaaaca tcagaaagaa 2580
cctccattcc tttggatggg ttatgaactc catc
ctgata aatggacagt acagcctata 2640
gtgctgccag aaaaagacag ctggactgtc aatg
acatac agaagttagt ggggaaattg 2700
aattgggcaa gtcagattta cccagggatt aaag
taaggc aattatgtaa actccttaga 2760
ggaaccaaag cactaacaga agtaatacca ctaa
cagaag aagcagagct agaactggca 2820
gaaaacagag agattctaaa agaaccagta catg
gagtgt attatgaccc atcaaaagac 2880
ttaatagcag aaatacagaa gcaggggcaa ggcc
aatgga catatcaaat ttatcaagag 2940
ccatttaaaa atctgaaaac aggaaaatat gcaa
gaatga ggggtgccca cactaatgat 3000
gtaaaacaat taacagaggc agtgcaaaaa ataa
ccacag aaagcatagt aatatgggga 3060
aagactccta aatttaaaact acccatacaa aagg
aaacat gggaaacatg gtggacagag 3120
tattggcaag ccacctggat tcctgagtgg gagt
ttgtta ataccctcc tttagtgaag 3180
ttatggtacc agttagagaa agaaccata gtag
gagcag aaaccttcta ttagatggg 3240
gcagctaaca gggagactaa attaggaaaa gcag
gatatg ttactaaca aggaagacaa 3300
aaggttgtcc ccctaactaa cacaacaaat caga
aaactg agttacaagc aatttatcta 3360
gctttgcagg attcaggatt agaagtaaag atag
taacag actcacaata tgcattagga 3420
atcattcaag cacaaccaga taaaagtga tcag
agttag tcaatcaaat aatagagcag 3480
ttaataaaaa aggaaaaggt ctatctggca tggg
taccag cacacaaagg aattggagga 3540
aatgaacaag tagataaatt agtcagtgtc ggaa
tcagga aaatactatt ttagatgga 3600
atagataagg ccaagatga acatgagaaa tatc
acagta attggagagc aatggctagt 3660
gattttaacc tgccacctgt agtagcaaaa gaaa
tagtag ccagctgtga taaatgtcag 3720
ctaaaaggag aagccatgca tggacaagta gact
gtagtc caggaatatg gcaactagat 3780
tgtacacatt tagaaggaaa agttatcctg gtag
cagttc atgtagccag tggatatata 3840
gaagcagaag ttattccagc agaaacaggg cagg
aaacag catatcttct tttaaaatta 3900
gcaggaagat ggccagtaaa aacaatacat acag
acaatg gcagcaattt caccagtgtc 3960
acggttaagg ccgcctgttg gtgggcggga atca

agcagtaagt agtacatgta atgcaaccta taca
aatagc aatagtagca ttagtagtag 5460
caataataat agcaatagtt gtgtggtcca tagt
aatcat agaataatagg aaaatatata 5520
gacaaagaaa aatagacagg ttaattgata gact
aataga aagagcagaa gacagtggca 5580
atgagagtga aggagaaata tcagcacttg tgga
gatggg ggtggagatg gggcaccatg 5640
ctccttggga tgttgatgat ctgtagtgt acag
aaaaat tgtgggtcac agtctattat 5700
ggggtacctg tgtggaagga agcaaccacc actc
tatitt gtgcatcaga tgctaaagca 5760
tatgatacag aggtacataa tgtttgggcc acac
atgcct gtgtaccac agacccaac 5820
ccacaagaag tagtattggt aaatgtgaca gaaa
atttta acatgtggaa aaatgacatg 5880
gtagaacaga tgcagtagga tataatcagt ttat
gggatc aaagcctaaa gccatgtga 5940
aaattaaccc cactctgtgt tagtttaaag tgca
ctgatt tgaagaatga tactaatacc 6000
aatagtagta gcgggagaat gataatggag aaag
gagaga taaaaaactg ctctttcaat 6060
atcagcacia gcataagagg taagggtcag aaag
aatatg cattttttta taaacttgat 6120
ataataccaa tagataatga tactaccagc tata
cgttga caagtgttaa cacctcagtc 6180
attacacagg cctgtccaaa ggtatccttt gagg
caattc ccatacatta ttgtgccccg 6240
gctggttttg cgattctaaa atgtaataat aaga
cgttca atggaacagg accatgtaca 6300
aatgtcagca cagtacaatg tacacatgga atta
ggccag tagtatcaac tcaactgctg 6360
ttaaattggca gtctggcaga agaagaggta gtaa
ttagat ctgccaattt cacagacaat 6420
gctaaaacca taatagtaca gctgaacca tctg
tagaaa ttaattgtac aagaccaac 6480
aacaatacaa gaaaaagtat ccgtatccag agag
gaccag ggagagcatt tgttacaata 6540
ggaaaaatag gaaatatgag acaagcacat tgta
acatta gtagagcaaa atggaataac 6600
actttaaaac agatagatag caaattaaga gaac
aatttg gaaataataa aacaataatc 6660
tttaagcagt cctcaggagg ggaccagaa attg
taacgc acagtittta ttgtggaggg 6720
gaatttttct actgtaattc aacacaactg tttta
atagta cttggtttta tagtacttgg 6780
agtactaaag ggtcaaataa cactgaagga agtg
acacaa tcacctccc atgcagaata 6840
aaacaaatta taaacatgtg gcaggaagta ggaa
aagcaa tgtatgcccc tcccatcagt 6900
ggacaaatta gatgttcac aaatattaca gggc
tgctat taacaagaga tgggtgtaat 6960
agcaacaatg agtccgagat cttcagacct ggag

agctgtagat cttagccact ttttaaaga aaag
 ggggga ctggaagggc taattcactc 8460
 ccaacgaaga caagatatcc ttgatctgtg gatc
 taccac acacaaggct acttcctga 8520
 ttagcagaac tacacaccag ggccagggat caga
 tatcca ctgacctttg gatggtgcta 8580
 caagctagta ccagttgagc cagagaagtt agaa
 gaagcc aacaaaggag agaaccaccag 8640
 ctgtttacac cctgtgagcc tgcattggaat ggat
 gacccg gagagagaag tgtagagt 8700
 gaggtttgac agccgcctag catttcatca catg
 gccga gagctgcatc cggagtactt 8760
 caagaactgc tgacatcgag ctgtctaca ggga
 ctttcc gctggggact ttccaggag 8820
 gcgtggcctg ggcgggactg gggagtggcg agcc
 ctcaga tcctgcatat aagcagctgc 8880
 tttttgcctg tactgggtct ctctggttag acca
 gatctg agcctgggag ctc 8933

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:5:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 5362 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: single

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: HTLVIII

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: misc.sub. feature

(B) LOCATION: 1..5362

(D) OTHER INFORMATION: standard.s

ub. name = "Clone BH5"

note = "Corresponds t

o nucleotide

positions 222 to 5585

in figure 3 of

US 06/693,866 (parent

)"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO

:5:

gagctctctc gacgcaggac tcggcttgcg agcg
 cgcacg gcaagaggcg aggggcggcg 60
 actggtgagt acgcaaaaaa tttgactag cgga
 ggctag aaggagagag atgggtgcga 120
 gagcgtcagt attaagcggg ggagaattag atcg
 atggga aaaaattcgg ttaaggccag 180
 ggggaaagaa aaaatataaa ttaaacata tagt
 atgggc aagcaggagg ctagaacgat 240
 tcgcagttaa tcctggcctg ttagaaacat caga
 aggctg tagacaaata ctgggacagc 300
 tacaaccatc ccttcagaca ggatcagaag aact
 tagatc attatataat acagtagcaa 360

aagattgtac tgagagacag gctaattttt tagg
gaagat ctggccttcc tacaaggga 1440
ggccagggaa ttttcttcag agcagaccag agcc
aacagc cccaccattt cttcagagca 1500
gaccagagcc aacagcccca ccagaagaga gctt
caggtc tggggtagag acaacaactc 1560
cccctcagaa gcaggagccg atagacaagg aact
gtatcc ttttaacttcc ctcagatcac 1620
tctttggcaa cgaccctcg tcacaataaa gata
gggggg caactaaagg aagctctatt 1680
agatacagga gcagatgata cagtattaga agaa
atgagt ttgccaggaa gatgaaacc 1740
aaaaatgata gggggaattg gaggttttat caaa
gtaaga cagtatgatc agatactcat 1800
agaaatctgt ggacataaag ctataggtac agta
ttagta ggacctacac ctgtcaacat 1860
aattggaaga aatctgttga ctcagattgg ttgc
acttta aattttccca ttagtcctat 1920
tgaaactgta ccagtaaaat taaagccagg aatg
gatggc ccaaagtta aacaatggcc 1980
attgacagaa gaaaaataa aagcattagt agaa
atttgt acagaaatgg aaaaggaagg 2040
gaaaatttca aaaattgggc ctgaaaatcc atac
aatact ccagtatttg ccataaagaa 2100
aaaagacagt actaaatgga gaaaattagt agat
ttcaga gaacttaata ggagaactca 2160
agacttctgg gaagticaat tgggaatacc acat
cccgca ggggttaaaa agaaaaaatc 2220
agtaacagta ctggatgtgg gtgatgcata tttt
tcagtt cccttagatg aagacttcag 2280
gaagtatact gcatttacca tacctagtat aaat
aatgag acaccagga gtggatatca 2340
gtacaatgtg cttccacagg gatggaagg atca
ccagca atattccaaa gtagcatgac 2400
aaaaatctta gagcctttta gaaaacaaa tcca
gacata gttatttatc aatacatgga 2460
tgatttgtat gtaggatctg acttagaaat aggg
cagcat agaacaaaa tagaggagct 2520
gagacaacat ctgttgaggt ggggatttac caca
ccagac aaaaaacatc agaaagaacc 2580
tccattcctt tggatgggtt atgaactcca tcct
gataaa tggacgatac agcctatagt 2640
gctgccagaa aaagacagct ggactgtcaa tgac
atacag aagttagtgg gaaaattgaa 2700
ttgggcaagt cagatttatc cagggattaa agta
aggcaa ttatgtaaac tccttagagg 2760
aaccaaagca ctaacagaag taataccact aaca
gaagaa gcagagctag aactggcaga 2820
aaacagagag attctaaaag aaccagtaca tgga
gtgtat tatgacccat caaaagactt 2880
aatagcagaa atacagaagc aggggcaagg ccaa
tggaca tatcaaattt atcaagagcc 2940
atttaaaaat ctgaaaacag gaaaatatgc aaga

aaagatcatt agggattatg gaaaacagat ggca
 ggtgat gattgtgtgg caagtagaca 4440
 ggatgaggat tagaacatgg aaaagttag taaa
 acaccg tatgtatgtt tcagggaag 4500
 ctaggggatg gttttataga catcactatg aaag
 ccctca tccaagaata agttcagaag 4560
 tacacatccc actaggggat gctagattgg taat
 aacaac atattggggg ctgcatacag 4620
 gagaaagaga ctggcatttg ggtcaggagg tctc
 cataga atggaggaaa aggagatata 4680
 gcacacaagt agaccctgaa ctacagagacc aact
 aattca tctgcattac ttgattgtt 4740
 tttagactc tgctataaga aaggccttat tagg
 acacat agttagccct aggtgtgaat 4800
 atcaagcagg acataacaag gtaggatctc taca
 atactt ggcactagca gcattaataa 4860
 caccacaaaaa ggtaaagcca cctttgccta gtgt
 tacgaa actgacagag gatagatgga 4920
 acaagcccca gaagaccaag ggccacagag gaag
 ccacac aatgaatgga cactagagct 4980
 tttagaggag ctttaagaatg aagctgttag acat
 tticct aggatitggc tccatggctt 5040
 agggcaacat atctatgaaa cttatgggga tact
 tgggca ggagtgggaag ccataataag 5100
 aattctgcaa caactgctgt ttatccattt tcag
 aattgg gtgtcgacat agcagaatag 5160
 gcgttactca acagaggaga gcaagaaatg gagg
 cagtag atcctagact agagccctgg 5220
 aagcatccag gaagtcagcc taaaactgct tgta
 ccactt gctattgtaa aaagtgttgc 5280
 tticattgcc aagtttgttt cataacaaa gcct
 taggca tctcctatgg caggaagaag 5340
 cggagacagc gacgaagagc tc

5362

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:6:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 3563 base pairs

(B) TYPE: nucleic acid

(C) STRANDEDNESS: single

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: HTLVIII

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: misc.sub. feature

(B) LOCATION: 1..3563

(D) OTHER INFORMATION: standard.s

ub. name = "Clone BH8"

note = "Corresponds t

o nucleotide

positions 5580 to 915

ctaaaatgta ataataagac gttcaatgga acag
gaccat gtacaaatgt cagcacagta 960
caatgtacac atggaattag gccagtagta tcaa
ctcaac tgctgtttaa tggcagctcg 1020
gcagaagaag aggtagtaat tagatctgtc aatt
tcacgg acaatgctaa aaccataata 1080
gtacagctgg acacatctgt agaaattaat tgta
caagac ccaacaacaa tacaagaaaa 1140
aaaatccgta tccagagggg accagggaga gcat
ttgtta caataggaaa aataggaaat 1200
atgagacaag cacattgtaa cattagtaga gcaa
aatgga atgccacttt aaaacagata 1260
gatagcaaat taagagaaca atttggaat aata
aaacaa taatctttaa gcagtcctca 1320
ggaggggacc cagaaattgt aacgcacagt ttta
attgtg gaggggaatt tttctactgt 1380
aattcaacac aactgtttaa tagtacttgg agta
ctaaag ggtcaaataa cactgaagga 1440
agtgcacaaa tcaccctccc atgcagaata aaac
aaatta taaacatgtg gcaggaagta 1500
ggaaaagcaa tgtatgcccc tcccatcagt ggac
aaatta gatgttcac aaatattaca 1560
gggctgctat taacaagaga tggtggtaat agca
acaatg agtccgagat cticagacct 1620
ggaggaggag atatgaggga caattggaga agtg
aattat ataaatataa agtagtaaaa 1680
attgaacat taggagtagc accaccaag gcaa
agagaa gagtgggtgca gagagaaaaa 1740
agagcagtgg gaataggagc ttgttcctt ggg
tcttgg gagcagcagg aagcactatg 1800
ggcgagcgt caatgacgt gacggtacag gcc
gacaat tattgtctgg tatagtgcag 1860
cagcagaaca atttgctgag ggctattgag ggcc
aacagc atctgttgca actcacagtc 1920
tggggcatca agcagctcca ggcaagaatc ctgg
ctgtgg aaagatacct aaaggatcaa 1980
cagctcctgg ggatttgggg ttgctctgga aaac
tcattt gcaccactgc tgtgccttgg 2040
aatgctagtt ggagtaataa atctctggaa caga
tttga ataacatgac ctggatggag 2100
tgggacagag aaattaacaa ttacacaagc ttaa
tacact ccttaattga agaatacga 2160
aaccagcaag aaaagaatga acaagaatta ttgg
aattag ataaatgggc aagtttgg 2220
aattggttta acataacaaa ttggctgtgg tata
taaaat tattcataat gatagtagga 2280
ggcttggtag gtttaagaat agtttttgc gtac
tttcta tagtgaatag agttaggcag 2340
ggatattcac cattatcgtt tcagaccac ctcc
caaacc cgaggggacc cgacaggccc 2400
gaaggaatag aagaagaagg tggagagaga gaca
gagaca gatccattcg attagtgaac 2460
ggatccttag cacttatctg ggacgatctg cgga

(D) TOPOLOGY: linear
(ii) MOLECULE TYPE: DNA (genomic)
(iii) HYPOTHETICAL: NO
(vi) ORIGINAL SOURCE:
(A) ORGANISM: HTLV-III
(ix) FEATURE:
(A) NAME/KEY: misc.sub. feature
(B) LOCATION: 1..142
(D) OTHER INFORMATION: standard.
sub. name = "Clone HXB2"
note = "Corresponds to
nucleotide
positions 9155 to 929
6 in figure 3 of
US 06/693,866"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO
:7:
tctggctagc tagggaaccc actgcttaag cctc
aataaa gcttgccctg agtgcttcaa 60
gtagtgtgtg cccgtctgtt gtgtgactct ggta
actaga gatccctcag acccttttag 120
tcagtgtgga aaatctctag ca
142

(2) INFORMATION FOR SEQ ID NO:8:

(i) SEQUENCE CHARACTERISTICS:

(A) LENGTH: 512 amino acids
(B) TYPE: amino acid
(C) STRANDEDNESS: single
(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: protein

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: HTLV-III

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: Protein
(B) LOCATION: 1..512
(D) OTHER INFORMATION: note = "ga

g protein of HTLV-III"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO

:8:

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	

145	150	155	1
60			
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	2
40			
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	3
20			
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 Thr Ala Thr Ile Met Met			
Gln Arg Gly Asn Phe Arg			
370	375	380	
Asn Gln Arg Lys Met Val Lys Cys Phe Asn			
Cys Gly Lys Glu Gly His			
385	390	395	4
00			
Thr Ala Arg Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys			
Lys Gly Cys Trp Lys Cys			
405	410	415	

(D) TOPOLOGY: linear

(ii) MOLECULE TYPE: protein

(iii) HYPOTHETICAL: NO

(vi) ORIGINAL SOURCE:

(A) ORGANISM: HTLV-III

(ix) FEATURE:

(A) NAME/KEY: Protein

(B) LOCATION: 1..1015

(D) OTHER INFORMATION: note = "protein of HTLV-III"

(xi) SEQUENCE DESCRIPTION: SEQ ID NO 1:

```

Phe Phe Arg Glu Asp Leu Ala Phe Leu Gln
Gly Lys Ala Arg Glu Phe
1          5          10          15
Ser Ser Glu Gln Thr Arg Ala Asn Ser Pro
Thr Ile Ser Ser Glu Gln
20          25          30
Thr Arg Ala Asn Ser Pro Thr Arg Arg Glu
Leu Gln Val Trp Gly Arg
35          40          45
Asp Asn Asn Ser Pro Ser Glu Ala Gly Ala
Asp Arg Gln Gly Thr Val
50          55          60
Ser Phe Asn Phe Pro Gln Ile Thr Leu Trp
Gln Arg Pro Leu Val Thr
65          70          75          80
Ile Lys Ile Gly Gly Gln Leu Lys Glu Ala
Leu Leu Asp Thr Gly Ala
85          90          95
Asp Asp Thr Val Leu Glu Glu Met Ser Leu
Pro Gly Arg Trp Lys Pro
100          105          110
Lys Met Ile Gly Gly Ile Gly Gly Phe Ile
Lys Val Arg Gln Tyr Asp
115          120          125
Gln Ile Leu Ile Glu Ile Cys Gly His Lys
Ala Ile Gly Thr Val Leu
130          135          140
Val Gly Pro Thr Pro Val Asn Ile Ile Gly
Arg Asn Leu Leu Thr Gln
145          150          155          160
Ile Gly Cys Thr Leu Asn Phe Pro Ile Ser
Pro Ile Glu Thr Val Pro
165          170          175
Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro
Lys Val Lys Gln Trp Pro
180          185          190
Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val
Glu Ile Cys Thr Glu Met
195          200          205

```

Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser
 Met Thr Lys Ile Leu Glu
 325 330 335
 Pro Phe Lys Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val
 Ile Tyr Gln Tyr Met Asp
 340 345 350
 Asp Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile
 Gly Gln His Arg Thr Lys
 355 360 365
 Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg
 Trp Gly Leu Thr Thr Pro
 370 375 380
 Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe
 Leu Trp Met Gly Tyr Glu
 385 390 395 4
 00
 Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro
 Ile Val Leu Pro Glu Lys
 405 410 415
 Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys
 Leu Val Gly Lys Leu Asn
 420 425 430
 Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys
 Val Arg Gln Leu Cys Lys
 435 440 445
 Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu
 Val Ile Pro Leu Thr Glu
 450 455 460
 Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg
 Glu Ile Leu Lys Glu Pro
 465 470 475 4
 80
 Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys
 Asp Leu Ile Ala Glu Ile
 485 490 495
 Gln Lys Gln Gly Gln Gly Gln Trp Thr Tyr
 Gln Ile Tyr Gln Glu Pro
 500 505 510
 Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala
 Arg Met Arg Gly Ala His
 515 520 525
 Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala
 Val Gln Lys Ile Thr Thr
 530 535 540
 Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro
 Lys Phe Lys Leu Pro Ile
 545 550 555 5
 60
 Gln Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr
 Glu Tyr Trp Gln Ala Thr
 565 570 575
 Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr
 Pro Pro Leu Val Lys Leu

Ala Gly Ile Arg Lys Ile Leu Phe Leu Asp
 Gly Ile Asp Lys Ala Gln
 725 730 735
 Asp Glu His Glu Lys Tyr His Ser Asn Trp
 Arg Ala Met Ala Ser Asp
 740 745 750
 Phe Asn Leu Pro Pro Val Val Ala Lys Glu
 Ile Val Ala Ser Cys Asp
 755 760 765
 Lys Cys Gln Leu Lys Gly Glu Ala Met His
 Gly Gln Val Asp Cys Ser
 770 775 780
 Pro Gly Ile Trp Gln Leu Asp Cys Thr His
 Leu Glu Gly Lys Val Ile
 785 790 795 8
 00
 Leu Val Ala Val His Val Ala Ser Gly Tyr
 Ile Glu Ala Glu Val Ile
 805 810 815
 Pro Ala Glu Thr Gly Gln Glu Thr Ala Tyr
 Phe Leu Leu Lys Leu Ala
 820 825 830
 Gly Arg Trp Pro Val Lys Thr Ile His Thr
 Asp Asn Gly Ser Asn Phe
 835 840 845
 Thr Ser Ala Thr Val Lys Ala Ala Cys Trp
 Trp Ala Gly Ile Lys Gln
 850 855 860
 Glu Phe Gly Ile Pro Tyr Asn Pro Gln Ser
 Gln Gly Val Val Glu Ser
 865 870 875 8
 80
 Met Asn Lys Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly
 Gln Val Arg Asp Gln Ala
 885 890 895
 Glu His Leu Lys Thr Ala Val Gln Met Ala
 Val Phe Ile His Asn Phe
 900 905 910
 Lys Arg Lys Gly Gly Ile Gly Gly Tyr Ser
 Ala Gly Glu Arg Ile Val
 915 920 925
 Asp Ile Ile Ala Thr Asp Ile Gln Thr Lys
 Glu Leu Gln Lys Gln Ile
 930 935 940
 Thr Lys Ile Gln Asn Phe Arg Val Tyr Tyr
 Arg Asp Ser Arg Asn Pro
 945 950 955 9
 60
 Leu Trp Lys Gly Pro Ala Lys Leu Leu Trp
 Lys Gly Glu Gly Ala Val
 965 970 975
 Val Ile Gln Asp Asn Ser Asp Ile Lys Val
 Val Pro Arg Arg Lys Ala

Val Pro Val Trp Lys Glu Ala Thr Thr Thr
 Leu Phe Cys Ala Ser Asp
 50 55 60
 Ala Lys Ala Tyr Asp Thr Glu Val His Asn
 Val Trp Ala Thr His Ala
 65 70 75 80

 Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro Gln Glu
 Val Val Leu Val Asn Val
 85 90 95
 Thr Glu Asn Phe Asn Met Trp Lys Asn Asp
 Met Val Glu Gln Met His
 100 105 110
 Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp Gln Ser
 Leu Lys Pro Cys Val Lys
 115 120 125
 Leu Thr Pro Leu Cys Val Ser Leu Lys Cys
 Thr Asp Leu Lys Asn Asp
 130 135 140
 Thr Asn Thr Asn Ser Ser Ser Gly Arg Met
 Ile Met Glu Lys Gly Glu
 145 150 155 1
 60
 Ile Lys Asn Cys Ser Phe Asn Ile Ser Thr
 Ser Ile Arg Gly Lys Val
 165 170 175
 Gln Lys Glu Tyr Ala Phe Phe Tyr Lys Leu
 Asp Ile Ile Pro Ile Asp
 180 185 190
 Asn Asp Thr Thr Ser Tyr Thr Leu Thr Ser
 Cys Asn Thr Ser Val Ile
 195 200 205
 Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu
 Pro Ile Pro Ile His Tyr
 210 215 220
 Cys Ala Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys
 Cys Asn Asn Lys Thr Phe
 225 230 235 2
 40
 Asn Gly Thr Gly Pro Cys Thr Asn Val Ser
 Thr Val Gln Cys Thr His
 245 250 255
 Gly Ile Arg Pro Val Val Ser Thr Gln Leu
 Leu Leu Asn Gly Ser Leu
 260 265 270
 Ala Glu Glu Glu Val Val Ile Arg Ser Ala
 Asn Phe Thr Asp Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Ile Ile Val Gln Leu Asn Gln Ser
 Val Glu Ile Asn Cys Thr
 290 295 300
 Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Ile
 Arg Ile Gln Arg Gly Pro

Gln Ile Arg Cys Ser Ser Asn Ile Thr Gly
 Leu Leu Leu Thr Arg Asp
 450 455 460
 Gly Gly Asn Ser Asn Asn Glu Ser Glu Ile
 Phe Arg Pro Gly Gly Gly
 465 470 475 4
 80
 Asp Met Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu
 Tyr Lys Tyr Lys Val Val
 485 490 495
 Lys Ile Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr
 Lys Ala Lys Arg Arg Val
 500 505 510
 Val Gln Arg Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile
 Gly Ala Leu Phe Leu Gly
 515 520 525
 Phe Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly
 Ala Ala Ser Met Thr Leu
 530 535 540
 Thr Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly
 Ile Val Gln Gln Gln Asn
 545 550 555 5
 60
 Asn Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln
 His Leu Leu Gln Leu Thr
 565 570 575
 Val Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg
 Ile Leu Ala Val Glu Arg
 580 585 590
 Tyr Leu Lys Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile
 Trp Gly Cys Ser Gly Lys
 595 600 605
 Leu Ile Cys Thr Thr Ala Val Pro Trp Asn
 Ala Ser Trp Ser Asn Lys
 610 615 620
 Ser Leu Glu Gln Ile Trp Asn Asn Met Thr
 Trp Met Glu Trp Asp Arg
 625 630 635 6
 40
 Glu Ile Asn Asn Tyr Thr Ser Leu Ile His
 Ser Leu Ile Glu Glu Ser
 645 650 655
 Gln Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Glu
 Leu Leu Glu Leu Asp Lys
 660 665 670
 Trp Ala Ser Leu Trp Asn Trp Phe Asn Ile
 Thr Asn Trp Leu Trp Tyr
 675 680 685
 Ile Lys Leu Phe Ile Met Ile Val Gly Gly
 Leu Val Gly Leu Arg Ile
 690 695 700
 Val Phe Ala Val Leu Ser Val Val Asn Arg
 Val Arg Gln Gly Tyr Ser

His Ile Pro Arg Arg Ile Arg Gln Gly Leu
Glu Arg Ile Leu Leu

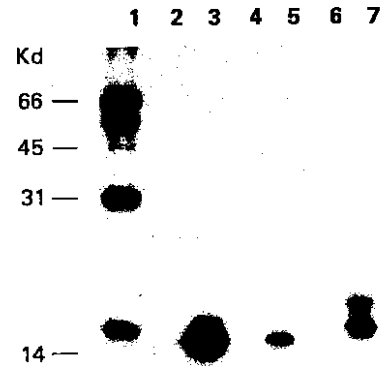
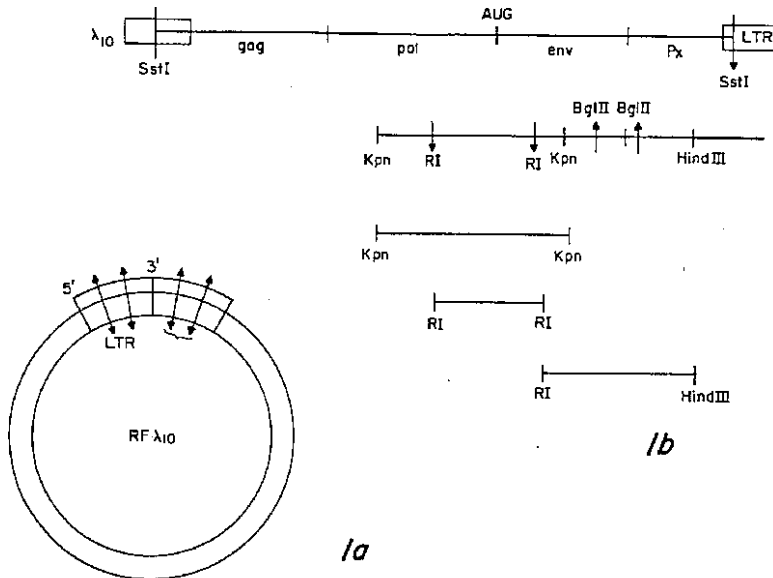
850

855

860

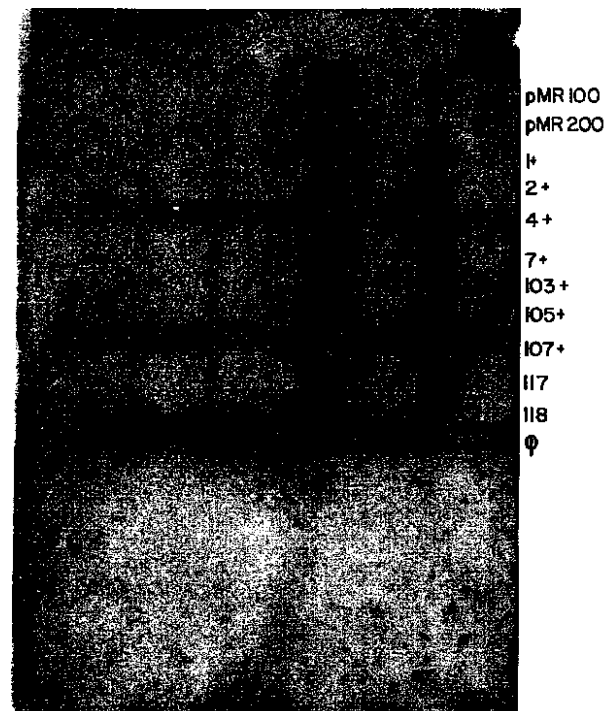
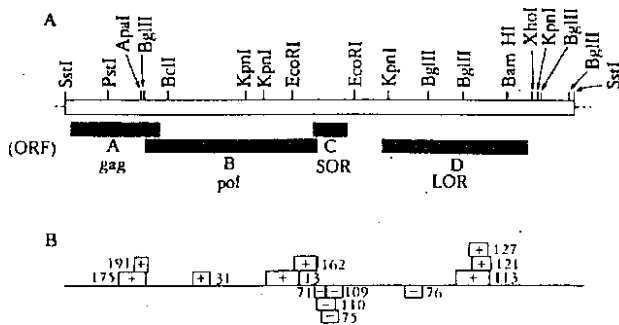
【図1】

【図17】

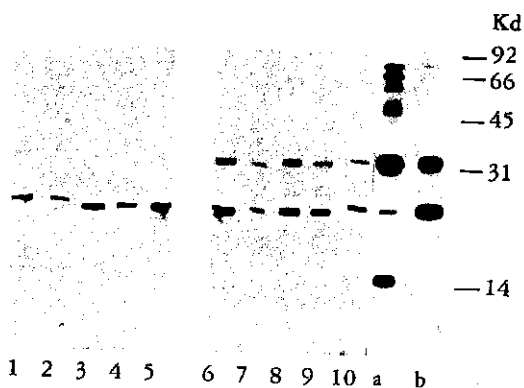


【図2】

【図14】



【図19】



【 図 3 】

CLONE	NUCLEOTIDE POSITION	AMINO ACID RESIDUE
BH10 BH8	1R TGAAGGCTAATTCAC^{U3}CCCAACGAAGACAAGA	-420
BH10 BH8	(Bam HI) TATCCTTGATCTGTGGATCTACACACACAAGGCTACTTCCCTGATTAGCAGAACTACACACCAAGGCCAGGGAT	-345
BH10 BH8	CAGATATCCACTGACCTTTGGATGGTGTCTACAAGCTAGTACAGTTGAGCCAGAGAAAGTTAGAAGAAGCCAACAA	-270
BH10 BH8	AGGAGAGAACCACGCTTGTACACCTGTGAGCCTGCATGGAATGATGACCCGAGAGAGAAGTGTAGAGTG	-195
BH10 BH8	GAGGTTTGACAGCCGCTAGCATTTTCATCATGCCCCGAGAGCTGCATCCGAGTACTTCAAGAACTGCTGACA	-120
BH10 BH8	TCSAGCTTGCTACAAGGACTTTCCGCTGGGACTTTCCAGGAGAGCTGGCTGGGCGGGACTGGGGAGTGGCG	-45
BH10 BH8	TATA BOX AGCCCTCAGATCCTGCATATAAGCAGCTGCTTTTGGCTGTACT	-1
BH10 BH8	1R GGGTCTCTCTGGTTAGACAGATCTGAGCCTGGGAGCTC	39
HXB2	Hind III TCTGGCTAACTAGGGAACCGACTGCTTAAGCCTCAA	75
HXB2	TAAA CTGGCTTGAGTCTTCAAGTAGTGTGTGCCCTGTGTGTGACTCTGTAAGTACAGATCCCTCAGA U3 1R Leader sequence	150
HXB2	CCCTTTTAGTCAGTGGAAATCTCTAGCAGTGGCGCCGCAACAGGACCTGAAAGCGAAAGGAAACCA	221
BH10 BH5	GAGCTCTCTCGAGCGAGACTCGGCTTGTGAAGCAGCAGAGAGGCGAGGGCGGCCACTGGTGAGTACG	296
BH10 BH5	Leader sequence CCAAAAATTTGACTAGCGAGGCTAGAAGGAGAGAGATGGGTGCGAGAGCGTCAGTATTAAAGCGGGGAGAATT MetGlyAlaArgAlaSerValLeuSerGlyGlyGlyLeu	371
BH10 BH5	AGATCGATGGGAAAAATTCGGTTAAGGCCAGGGGGAAGAAAAATATAAATAAAACATATAGTATGGCAAG AspArgTrpGluLysIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrLysLeuLysHisIleValTrpAlaSer	446

【 図 4 】

BH10 BH5	CAGGGAGCTAGAACGATTCCGAGTTAATCCTGGCTGTTAGAAACATCAGAAAGCTGTAGACAAATCTGGGACA ArgGlyLeuGluArgPheAlaValAsnProGlyLeuLeuGluThrSerGluGlyCysArgGlnIleLeuGlyGln	521	63
BH10 BH5	GCTACAAACATCCCTTCAGACAGGATCAGAAAGCTTAGATCATTATATATACAGTAGCAACCTCTATTGTGT LeuGlnProSerLeuGlnThrGlySerGluGluLeuArgSerLeuTyrAsnThrValAlaThrLeuTyrCysVal	596	88
BH10 BH5	GCATCAAGGATAGAGATAAAGACCAAGGAAGCTTTAGACAAGATAGAGGAAGAGCAAAACAAAGTAAGAA HisGlnArgIleGluIleLysAspThrLysGluAlaLeuAspLysIleGluGluGluGlnAsnLysSerLysLys	671	113
BH10 BH5	Pvu II AAAAGCAGCAAGGAGCAGCTGACACAGGACACAGCAGTCAGGTCAGCCAAAATACCTATAGTCAGAAACAT LysAlaGlnGlnAlaAlaAlaAspThrGlyHisSerSerGlnValSerGlnAsnTyrProIleValGlnAsnIle	746	138
BH10 BH5	Aha III CCAGGGGCAATGGTACATCAGGCCATATCACCTAGAAGCTTTAAATGCTGGGTAAAAGTAGTAGAAGAGAAGGC GlnGlyGlnMetValHisGlnAlaIleSerProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysValValGluGluLysAla	821	163
BH10 BH5	Aha III TTTGAGCCAGAAAGTAATACCATGTTTTCAGCATTATCAGAAGGAGCCACCCACAAGATTAAACACCATGCT PheSerProGluValIleProMetPheSerAlaLeuSerGluGlyAlaThrProGlnAspLeuAsnThrMetLeu	896	188
BH10 BH5	Pst I AAACACAGTGGGGACATCAAGCAGCCATGCAAAATGTTAAAGAGACCATCAATGAGGAAGCTGCAGAAATGGGA AsnThrValGlyGlyHisGlnAlaAlaMetGlnMetLeuLysGluThrIleAsnGluGluAlaAlaGluTrpAsp	971	213
BH10 BH5	TAGATACATCCAGTCATGCAAGGCTATTGACACAGGCCAGATGAGAGAACCAAGGGGAAGTGACATAGCAGG ArgValHisProValHisAlaGlyProIleAlaProGlyGlnMetArgGluProArgGlySerAspIleAlaGly	1046	238
BH10 BH5	AACTACTAGTACCCTTCAGGAACAAATAGGATGGATGACAAATAATCCACCTATCCCAAGTAGGAGAAATTATAA ThrThrSerThrLeuGlnGluGlnIleGlyTrpMetThrAsnAsnProIleProValGlyGluIleTyrLys	1121	263
BH10 BH5	AAGATGGATAATCCTGGGATTAATAAATAGTAAGAAATGTATAGCCCTACCAGCATCTGGACATAAGACAAGG ArgTrpIleIleLeuGlyLeuAsnLysIleValArgMetTyrSerProThrSerIleLeuAspIleArgGlnGly	1196	288

【図 5】

BH10	ACCAAAAGAACCTTTAGAGACTATGTAGACCGGTTCTATAAACTCTAAGAGCCGAGCAAGCTTCACAGGAGGT	1271	
BH5	ProLysGluProPheArgAspTyrValAspArgPheTyrLysThrLeuArgAlaGluGlnAlaSerGlnGluVal		313
BH10	AAAAAATTGGATGACAGAAACCTTGTGGTCCAAATGCGAACCAGATTGTAAGACTATTTTAAAGCAATTGGG	1346	
BH5	LysAsnTrpMetThrGluThrLeuValGlnAsnAlaAsnProAspCysLysThrIleLeuLysAlaLeuGly		338
BH10	ACCAGCGCTACACTAGAGAAATGATGACAGCATGTGAGGAGTAGGAGGACCCGCCATAAGGCAAGAGTTT	1421	
BH5	ProAlaAlaThrLeuGluGluMetMetThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyHisLysAlaArgValLeu		363
BH10	GGCTGAAGCAATGAGCCAACTAACAAATACAGCTACCATAATGATGACAGAGGCAATTTAGGAACCAAGAAA	1496	
BH5	AlaGluAlaMetSerGlnValThrAsnThrAlaThrIleMetMetGlnArgGlyAsnPheArgAsnGlnArgLys		388
BH10	GATGGTTAAGTGTTCATTTGTGGCAAGAGGGCACACAGCCAGAAATTCAGGGCCCTAGGAAAAAGGGCTG	1571	
BH5	MetValLysCysPheAsnCysGlyLysGluGlyHisThrAlaArgAsnCysArgAlaProArgLysGlyCys		413
BH10	TTGGAAATGTGGAAGGAGGACCAATGAAAGATTGTACTGAGAGACAGGCTAATTTTAGGGAAGATCTG	1646	
BH5	TrpLysCysGlyLysGluGlyHisGlnMetLysAspCysThrGluArgGlnAlaAsnPheLeuGlyLysIleTrp		438
BH10	GCCTTCCTACAAGGGAAGGCCAGGGAATTTCTTCAGAGCAGACAGAGCCACAGCCCACTTTCTTCAGAG	1721	
BH5	ProSerTyrLysGlyArgProGlyAsnPheLeuGlnSerArgProGluProThrAlaProProPheLeuGlnSer		463
BH5	AlaPheLeuGlnGlyLysAlaArgGluPheSerSerGluGlnThrArgAlaAsnSerProThrIleSerSerGlu		31
BH10	CAGACCAAGGCAACAGCCCAAGAGAGCTTCAGGCTCTGGGTAGAGACAACCACTCCCTCAGAGCA	1796	
BH5	GlnThrArgAlaAsnSerProThrArgArgGluLeuGlnValTrpGlyArgAspAsnSerProSerGluAla		488
BH5			56
BH10	GGAGCCATAGACAGGAACCTGATCCTTAACTTCCCTCAGATCACTCTTTGGCAACGAGCCCTGTCACAATA	1871	
BH5	GluProIleAspLysGluLeuTyrProLeuThrSerLeuArgSerLeuPheGlyAsnAspProSerSerGln		512
BH5	GlyAlaAspArgGlnGlyThrValSerPheAsnPheProGlnIleThrLeuTrpGlnArgProLeuValThrIle		81
BH10	AAGATAGGGGGCACTAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAGAAATGAGTTTG	1946	
BH5	LysIleGlyGlyGlnLeuLysGluAlaLeuLeuAspThrGlyAlaAspAspThrValLeuGluGluMetSerLeu		106

【図 6】

BH10	CCAGGAAGATGAAACCAAAATGATAGGGGAATTGGAGGTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATCTC	2021	
BH5	ProGlyArgTrpLysProLysMetIleGlyGlyIleGlyGlyPheIleLysValArgGlnTyrAspGlnIleLeu		131
BH10	ATAGAAATCTGTGACATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAAAT	2096	
BH5	IleGluIleCysGlyHisLysAlaIleGlyThrValLeuValGlyProThrProValAsnIleIleGlyArgAsn		156
BH10	CTGTGACTCAGATTGGTTCACCTTTAAATTTCCCATTAGCCCTATTGAGACTGTACAGTAAATTAAGCCA	2171	
BH5	LeuLeuThrGlnIleGlyCysThrLeuAsnPheProIleSerProIleGluThrValProValLysLeuLysPro		181
BH10	GGATGGATGGCCAAAGTTAAACAATGGCCATTGACAGAGAAAAATAAAGCATTAGTAGAAATTTGTACA	2246	
BH5	GlyMetAspGlyProLysValLysGlnTrpProLeuThrGluGluLysIleLysAlaLeuValGluIleCysThr		206
BH10	GAAATGGAAGGAAGGAAATTTCAAAATTTGGGCCTGAGATCCATACAACTCCAGTATTTCGCAATAAG	2321	
BH5	GluMetGluLysGluGlyLysIleSerLysIleGlyProGluAsnProTyrAsnThrProValPheAlaIleLys		231
BH10	AAAAAAGCAGTACTAAATGGAGAAAATTAGTAGATTGAGAGACTTAATAAGAGAACTCAAGACTCTGGGAA	2396	
BH5	LysLysAspSerThrLysTrpArgLysLeuValAspPheArgGluLeuAsnLysArgThrGlnAspPheTrpGlu		256
BH10	GTTCAATTAGGAATACCACATCCGCGAGGGTTAAAAAAGAAAAATCAGTAACAGTACTGGATGGGTGATGCA	2471	
BH5	ValGlnLeuGlyIleProHisProAlaGlyLeuLysLysLysSerValThrValLeuAspValGlyAspAla		281
BH10	TATTTTCAGTTCCTTAGATGAAGACTTCAGGAAGTACTGATTTACCATACCTAGTATAAACAATGAGACA	2546	
BH5	TyrPheSerValProLeuAspGluAspPheArgLysTyrThrAlaPheThrIleProSerIleAsnAsnGluThr		306
BH10	CCAGGGATTAGATATCAGTACAATGTGCTCCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTCCAAAGTATCATG	2621	
BH5	ProGlyIleArgTyrGlnTyrAsnValLeuProGlnGlyTrpLysGlySerProAlaIlePheGlnSerSerMet		331
BH10	ACAAAATCTTAGAGCCTTTTAAAAAACAAAATCCAGACATAGTTATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTA	2696	
BH5	ThrLysIleLeuGluProPheLysLysGlnAsnProAspIleValIleTyrGlnTyrMetAspAspLeuTyrVal		356

【 図 7 】

BH10	GGATCTGACTTAGAAATAGGGCAGCATAGAACAAAATAGAGAGCTGAGACACATCTGTTGAGGTGGGACTT	2771	
BH5	GlySerAspLeuGluIleGlyGlnHisArgThrLysIleGluGluLeuArgGlnHisLeuLeuArgTrpGlyLeu		381
	Phe		
BH10	ACCACACACAGCAAAAACATCAGAAAGACCTCCATTCTTTGGATGGGTTATGAACCTCATCCTGATAAATGG	2846	
BH5	ThrThrProAspLysLysHisGlnLysGluProProPheLeuTrpMetGlyTyrGluLeuHisProAspLysTrp		406
BH10	ACAGTACAGCCTATAGTGTCTGACAGAAAAGACAGCTGGACTGTCAATGACATACAGAAAGTGTGGGAAAATTG	2921	
BH5	ThrValGlnProIleValIleProGluLysAspSerTrpThrValAsnAspIleGlnLysLeuValGlyLysLeu		431
	Ile		
BH10	AATTGGGCAAGTCAGATTTACCCAGGGATTAAAGTAAGGCAATTATGTAACCTCCTTAGAGGAACCAAGCACTA	2996	
BH5	AsnTrpAlaSerGlnIleTyrProGlyIleLysValArgGlnLeuCysLysLeuLeuArgGlyThrLysAlaLeu		456
BH10	ACAGAAGTAATACCACTAACAGAAAGCAGAGCTAGAACTGGCAGAAACAGAGAGATTCTAAAAGAACCACTA	3071	
BH5	ThrGluValIleProLeuThrGluGluAlaGluLeuGluLeuAlaGluAsnArgGluIleLeuLysGluProVal		481
BH10	CATGGAGTGATTATGACCCATCAAAAGACTTAATAGCAGAAATACAGAGCAGGGCAAGGCCAATGGACATAT	3146	
BH5	HisGlyValTyrTyrAspProSerLysAspLeuIleAlaGluIleGlnLysGlnGlyGlnGlyGlnTrpThrTyr		506
BH10	CAAAATTTCAAGAGCCATTTAAAAATCTGAAACAGGAAAATATGCAAGAATGAGGGGTGCCACACTAATGAT	3221	
BH5	GlnIleTyrGlnGluProPheLysAsnLeuLysThrGlyLysTyrAlaArgMetArgGlyAlaHisThrAsnAsp		531
BH10	GTAACCAATTAACAGAGGCAATGCAAAAATTAACACAGAAAGCATAGTAATATGGGGAAGACTCCTAAATTT	3296	
BH5	ValLysGlnLeuThrGluAlaValGlnLysIleThrThrGluSerIleValIleTrpGlyLysThrProLysPhe		556
BH10	AAACTACCATCAAAAAGAACATGGGAACATGGTGGACAGATATTGGCAAGCCACCTGGATTCTGAGTGG	3371	
BH5	LysLeuProIleGlnLysGluThrTrpGluThrTrpTrpThrTrpGlnAlaThrTrpIleProGluTrp		581
BH10	GAGTTTGTAAATACCCCTCTTTAGTGAATTTAGTCACTTACAGAAAGAACCATAGTAGAGCAGAAACC	3446	
BH5	GluPheValAsnThrProProLeuValLysLeuTrpTyrGlnLeuGluLysGluProIleValGlyAlaGluThr		606
BH10	TTCTATGTAGATGGGCACTAACAGGAGACTAAATTAAGAAAGCAGGATATGTTACTAACAAAGGAAGCAAA	3521	
BH5	PheTyrValAspGlyAlaAlaAsnArgGluThrLysLeuGlyLysAlaGlyTyrValThrAsnLysGlyArgGln		631
	Ser	Arg	

【 図 8 】

BH10	AAGTTGTGCGGCTAACTAACACAAACAAATCAGAAAAGTGAAGTACAGCAATTTATCTAGCTTTGAGGATTCA	3596	
BH5	LysValValProLeuThrAsnThrThrAsnGlnLysThrGluLeuGluAlaIleTyrLeuAlaLeuGlnAspSer		656
	Thr	Asn	
BH10	GGATTGAAGTAACATAGTACAGACTCAGAATATGCATTAGGAATCATTCAGCACAACAGATAAAAGTGAA	3671	
BH5	GlyLeuGluValAsnIleValThrAspSerGlnTyrAlaLeuGlyIleIleGlnAlaGlnProAspLysSerGlu		681
BH10	TCAGAGTTAGTCAATCAATAATAGAGCAGTTAATAAAAGGAAAGGCTCTCTGGCATGGGTACAGCACAC	3746	
BH5	SerGluLeuValAsnGlnIleIleGluGlnLeuIleLysLysGluLysValTyrLeuAlaTrpValProAlaHis		706
BH10	AAAGGAATGGAGGAATGAACAAGTAGATAAATTAGTCAGTGGAAATCAGGAAATACTATTTTAGATGGA	3821	
BH5	LysGlyIleGlyGlyAsnGluGlnValAspLysLeuValSerGCTGGAAATCAGGAAATACTATTTTAGATGGA		731
BH10	ATAGATAAGGCCCAAGATGAACATAGAAATATCACAGTAATTGAGAGCAATGGCTAGTGATTTAACTGCCA	3896	
BH5	IleAspLysAlaGlnAspGlnHisGluLysTyrHisSerAsnTrpArgAlaMetAlaSerAspPheAsnLeuPro		756
BH10	CCTGTAAGTACAAAGAAATAGTAGCCAGCTGTGATAAATGTGAGCTAAAGGAGAGGCCATGCATGGACAAGTA	3971	
BH5	ProValValAlaLysGluIleValAlaSerCysAspLysCysGlnLeuLysGlyGluAlaMetHisGlyGlnVal		781
BH10	GACTGTAGTCCAGGAATATGGCAACTAGATTGTACACATTTAGAAGGAAAGTTATCCTGGTAGCAGTTTCATGTA	4046	
BH5	AspCysSerProGlyIleTrpGlnLeuAspCysThrHisLeuGluGlyLysValIleLeuValAlaValHisVal		806
BH10	GCCAGTGGATATATAGACAGAAAGTTATTCAGCAGAAACAGGGCAGGAAACAGCATATTTCTTTTAAATTA	4121	
BH5	AlaSerGlyTyrIleGluAlaGluValIleProAlaGluThrGlyGlnGluThrAlaTyrPheLeuLeuLysLeu		831
BH10	GCAGGAAGATGGCCAGTAAACAAATACATACAGACAATGGCAGCAATTCACGAGTCTACGGTTAAGGCCGCC	4196	
BH5	AlaGlyArgTrpProValLysThrIleHisThrAspAsnGlySerAsnPheThrSerAlaThrValLysAlaAla		856
BH10	TGTTGGTGGGGGGAATCAAGCAGGAATTTGGAAATCCCTACATCCCAAAGTCAAGGAGTAGTAGAATCTATG	4271	
BH5	CysTrpTrpAlaGlyIleLysGluGluPheGlyIleProTyrAsnProGlnSerGlnGlyValValGluSerMet		881
BH10	AATAAAGAAATTAAGAAAATTAAGACAGGTAAGAGATCAGGCTGAACATCTTAAGACAGCAGTACAAATGGCA	4346	
BH5	AsnLysGluLeuLysLysIleIleGlyGlnValArgAspGlnAlaGluHisLeuLysThrAlaValGlnMetAla		906

【図 9】

BH10	BTATTCATCCACAATTTAAAGAAAAAGGGGATTGGGGGTACAGTGCAGGGGAAAGAATAGTAGACATAATA	4421	
BH5	ValPheIleHisAsnPheLysArgLysGlyGlyIleGlyGlyTyrSerAlaGlyGluArgIleValAspIleIle	931	
BH10	GCAACAGACATACAACTAAAGAATTACAAAAACAATTACAAAAATTCAAAATTTTCGGGTTTATTACAGGGAC	4495	
BH5	AlaThrAspIleGlnThrLysGluLeuGlnLysGlnIleThrLysIleGlnAsnPheArgValTyrTyrArgAsp	956	
BH10	AGCAGAAATCCACTTTGGAAGGACCAAGCAAGCTCCTCTGAAAGGTGAAGGGGCAATAGTAATCAAGATAAT	4571	
BH5	SerArgAsnProLeuTrpLysGlyProAlaLysLeuLeuTrpLysGlyGluGlyAlaValValIleGlnAspAsn	981	
BH10	AGTGACATAAAAGTAGTCCCAAGAAAGAAAGCAAGATCATTAGGGATTATGGAACAGATGGCAGGTGATGAT	4645	
BH5	SerAspIleLysValValProArgArgLysAlaLysIleIleArgAspTyrGlyLysGlnMetAlaGlyAspAsp	1006	
	CysGlnGluGluLysGlnArgSerLeuGlyIleMetGluAsnArgTrpGlnValMetIle	20	
BH10	TGTGTGGCAAGTAGACAGGATGAGGATTAGAACATGGAAGTTTATGTAACACCATATGTATGTTTCAGGGAA	4721	
BH5	CysValAlaSerArgGlnAspGluAsp	1015	
	ValTrpGlnValAspArgMetArgIleArgThrTrpLysSerLeuValLysHisMetTyrValSerGlyLys	45	
BH10	AGCTAGGGGATGGTTTTATAGACATCACTATGAAAGCCCTCATCCAAGAATAAGTTCAGAAGTACACATCCCACT	4796	
BH5	AlaArgGlyTyrPheTyrArgHisHisTyrGluSerProHisProArgIleSerSerGluValHisIleProLeu	70	
BH10	AGGGGATGCTAGATTGGTAATAACAACATATTGGGCTGTCATACAGGAGAAAGAGACTGGCATTGGGTGAGGG	4871	
BH5	GlyAspAlaArgLeuValIleThrThrTyrTrpGlyLeuHisThrGlyGluArgAspTrpHisLeuGlyGlnGly	95	
BH10	AGTCTCCATGAAGTGGAGAAAGAGATATAGCACACAAGTAGACCTGAAGTACAGACCACTAATTCATCT	4946	
BH5	ValSerIleGluTrpArgLysLysArgTyrSerThrGlnValAspProGluLeuAlaAspGlnLeuIleHisLeu	120	
BH10	GTATTACTTTBACTGTTTTTTCAGACTCTGCTATAAGAAAGGECCTATTAGGACACATAGTTCAGCCCTAGGTGA	5021	
BH5	TyrTyrPheAspCysPheSerAspSerAlaIleArgLysAlaLeuLeuGlyHisIleValSerProArgCysGlu	145	
BH10	ATATCAAGCAGGACATAACAAGTAGGATCTCTACAATCTTGGCACTAGCAGCATTATAACACCAAAAAAGAT	5096	
BH5	TyrGlnAlaGlyHisAsnLysValGlySerLeuGlnTyrLeuAlaLeuAlaLeuIleThrProLysLysIle	170	

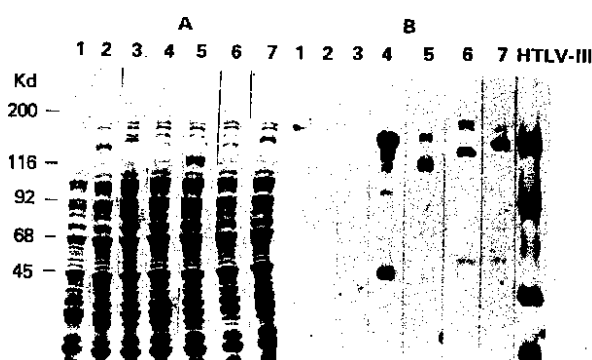
【図 10】

BH10	AAAGCCACCTTTGGCTAGTGTACBAAACTGACAGAGGATAGATGGACAAGCCCAAGACCAAGGCCACAG	5171	
BH5	LysProProLeuProSerValThrLysLeuThrGluAspArgTrpAsnLysProGlnLysThrLysGlyHisArg	195	
BH10	AGGGAGCCACACAATGAATGGACACTAGAGCTTTAGAGGAGCTTAAGAATGAAGCTGTAGACATTTTCCTAGG	5246	
BH5	GlySerHisThrMetAsnGlyHis	203	
BH10	ATTGGCTCCATGGCTTAGGGCAACATATCTATBAACTTATGGGATACTTGGGCAGGAGTGGAGCCATATA	5321	
BH5			
BH10	AGAATTCTGCAACCACTGCTGTTTATCCATTTCAGAATTGGGTGTCGACATAGCAGAATAGGCGTTACTCGACA	5396	
BH5			
BH10	GAGGAGAGCAAGAAATGGAGCCAGTAGATCCTAGACTAGAGCCCTGGAAGCATCCAGGAAGTCAGCCTAAACTG	5471	
BH5			
BH10	CTGTGACCAATTGCTATTGTAAAAAGTGTGCTTTCATTGCCAAGTTTGTTCATAACAAAAGCCTTAGGCATCT	5546	
BH5			
BH10	CCTATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGACGACGACCTCTCAAGCAGTCAGACTCATCAAGTTCTCTATCAA	5621	
BH5			
BH10	AGCAGTAAGTATGATGTAATGCAACCTATACAAATAGCAATAGTAGCAI TTAGTAGTAGCAATAATAAGCAA	5696	
BH5			
BH10	TAGTTGTGTGGTCCATAGTAATCATAGAAATATAGGAAATATTAAGACAAAGAAAAATAGACAGGTTAATTGATA	5771	
BH5			
BH10	GACTAATAGAAAGCAGAGCAGTGGCAATGAGAGTGAAGGAGAAATATCAGCACTTGTGGAGATGGGGTGG	5846	
BH5	LysGluGlnLysThrValAlaMetArgValLysGluLysTyrGlnHisLeuTrpArgTrpGlyTrp	22	
BH10	AGATGGGGCACCATGCTCTTGGGATGTTGATGATCTGTAGTCTACAGAAAAATTTGGGTCACAGTCTATTAT	5921	
BH5	ArgTrpGlyThrMetLeuLeuGlyMetLeuMetIleCysSerAlaThrGluLysLeuTrpValThrValTyrTyr	47	
BH10	GGGTACCTGTGTGGAGGAAGCAACCACCCTCTATTTTGTGCATCAGATGCTAAAGCATATGATACAGAGGTA	5996	
BH5	GlyValProValTrpLysGluAlaThrThrLeuPheCysAlaSerAspAlaLysAlaTyrAspThrGluVal	72	

【図 20】



【図 22】



【図11】

BH10	CATAATGTTGGGCCACACATGCTGTGTACCCACAGACCCCAACCCACAAGAGTAGTATTGGTAAATGTGACA	6071	
BH8	HisAsnValTrpAlaThrHisAlaCysValProThrAspProAsnProGlnGluValValLeuValAsnValThr		97
BH10	GAAAAATTTAACATGTGGAAAAATGACATGTGTAGACAGATGCATGAGGATATAATCAGTTTATGGGATCAAAAGC	6146	
BH8	GluAsnPheAsnMetTrpLysAsnAspMetValGluGlnMetHisGluAspIleIleSerLeuTrpAspGlnSer		122
BH10	CTAAAGCCATGTGTAAATTAACCCCACTCTGTGTAGTTTAAAGTGCCTGATTTGAAGAATGATACTAATACC	6221	
BH8	LeuLysProCysValLysLeuThrProLeuCysValSerLeuLysCysThrAspLeuLysAsnAspThrAsnThr		147
BH10	AATAGTAGTAGCGGAGAAATGATAATGGAGAAAGGAGATAAAAACTGCTCTTTCAATATCAGCAACAGCATA	6296	
BH8	AsnSerSerSerGlyArgMetIleMetGluLysGlyGluIleLysAsnCysSerPheAsnIleSerThrSerIle		172
BH10	AGAGGTAAGGTGCAGAAAGAATATGCATTTTTATAAACTTGATATAATACCAATAGATAATGATACTACCGC	6371	
BH8	ArgGlyLysValGlnLysGluTyrAlaPhePheThrLysLeuAspIleIleProIleAspAsnAspThrThrSer		197
BH10	TATACGTTGACAAGTTGTAAACACCTCACTCATACACAGCCCTGTCCAAAGGTATCCTTTGAGCCAATTCGCATA	6446	
BH8	TyrThrLeuThrSerCysAsnThrSerValIleThrGlnAlaCysProLysValSerPheGluProIleProIle		222
BH10	CATTATGTGCCCGCTGGTTTTCGATCTAAAATGTAATAAGACGTTCAATGGAACAGGACCATGTACA	6521	
BH8	HisTyrCysAlaProAlaGlyPheAlaIleLeuLysCysAsnAsnLysThrPheAsnGlyThrGlyProCysThr		247
BH10	AATGTGACACAGTACAATGTACACATGGAATAGGCCAGTAGTATCACTCACTGCTTTAAATGGCAGTCTG	6596	
BH8	AsnValSerThrValGlnCysThrHisGlyIleArgProValValSerThrGlnLeuLeuLeuAsnGlySerLeu		272
BH10	GCAGAAAGAGGTAGTAATAGATCTGCCAATTCACAGACAATGCTAAAACCAATAGTACAGCTGAACCAA	6671	
BH8	AlaGluGluGluValValIleArgSerAlaAsnPheThrAspAsnAlaLysThrIleIleValGlnLeuAsnGln		297
BH10	TCGTAGAAATTAATTGTACAGACCCCAACAATACAAAGAAAGTATCCGTATCCAGAGAGGACCAAGGAGA	6746	
BH8	SerValGluIleAsnCysThrArgProAsnAsnThrArgLysSerIleArgIleGlnArgGlyProGlyArg		322
BH10	GCATTTGTTACAATAGGAAATAGGAATATGAGACAAGCACATTTGTAACATTAGTAGAGCAAAATGGAATAAC	6821	
BH8	AlaPheValThrIleGlyLysIleGlyAsnMetArgGlnAlaHisCysAsnIleSerArgAlaLysTrpAsnAsn		347

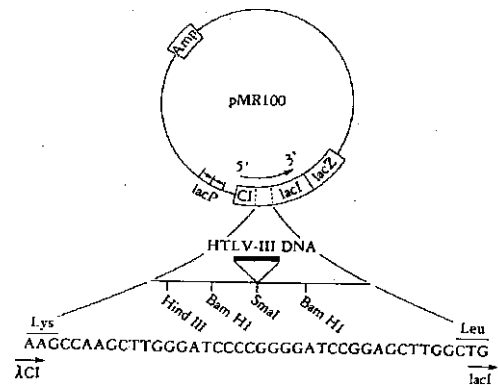
【図12】

BH10	ACTTTAAACAGATAGTAGCAATTAAGAGAACATTTGGAATTAATAAACCAATATCTTTAAGCAGTCCTCA	6896	
BH8	ThrLeuLysGlnIleAspSerLysLeuArgGluGlnPheGlyAsnAsnLysThrIleIlePheLysGlnSerSer		372
BH10	GGAGGGGACCCAGAAATGTAACGCACATGTTTAAATGTGGAGGGGAATTTTCTACTGTAATCAACACAATB	6971	
BH8	GlyGlyAspProGluIleValThrHisSerPheAsnCysGlyGlyGluPhePheThrCysAsnSerThrGlnLeu		397
BH10	TTTAATAGTACTTGGTTTAATAGTACTTGGAGTACTAAAGGGTCAAATAACACTGAAGGAAGTGACACAATCACC	7046	
BH8	PheAsnSerThrTrpPheAsnSerThrTrpSerThrLysGlySerAsnAsnThrGluGlySerAspThrIleThr		422
BH10	CTCCCATGCAGATAAAACAAATTAACATGTGGCAGGAAATAGGAAAGCAATGTATGCCCTCCCATCAGT	7121	
BH8	LeuProCysArgIleLysGlnIleIleAsnMetTrpGlnGluValGlyLysAlaMetTyrAlaProProIleSer		447
BH10	GGACAATATAGATGTTCAATCAATATACAGGCTCTATTAAACAAGAGATGGTGAATAGCAACAATGAGTCC	7196	
BH8	GlyGlnIleArgCysSerSerAsnIleThrGlyLeuLeuLeuThrArgAspGlyGlyAsnSerAsnAsnGluSer		472
BH10	GAGATCTTCAGACCTGGAGGAGGAGATAGGGGACAATGGAGAAGTGAATTATATAAATAGTAGTAAAA	7271	
BH8	GluIlePheArgProGlyGlyGlyAspMetArgAspAsnTrpArgSerGluLeuTyrLysTyrLysValValLys		497
BH10	ATTGAACCATYAGGAGTACCCCAAGGCAAGAGAGAGTGGTGCAGAGAGAAAGAGCAAGTGGGAATA	7346	
BH8	IleGluProLeuGlyValAlaProThrLysAlaLysArgArgValValGlnArgGluLysArgAlaValGlyIle		522
BH10	GGAGCTTGTCTTGGGTTCTTGGGAGCAGGAGCACTATGGGCGCAGCGTCAATBACGCTGACGCTACAG	7421	
BH8	GlyAlaLeuPheLeuGlyPheLeuGlyAlaAlaGlySerThrMetGlyAlaAlaSerMetThrLeuThrValGln		547
BH10	GCCAGACAATTATGCTGTATAGTCAGCAGCAGAACATTTGCTGAGGCTATTGAGGCGAACAGCATCTG	7496	
BH8	AlaArgGlnLeuLeuSerGlyIleValGlnGlnGlnAsnAsnLeuLeuArgAlaIleGluAlaGlnGlnHisLeu		572
BH10	TTGCAACTCACAGTCTGGGCGATCAAGCAGCTCCAGGCAAGAATCCTGGCTGTGGAAAGATACCTAAAGGATCAA	7571	
BH8	LeuGlnLeuThrValTrpGlyIleLysGlnLeuGlnAlaArgGlnLeuAlaValGluArgTyrLeuLysAspGln		597
BH10	CAGCTCTGGGATTTGGGTTGCTCTGAAAACTCATTGGCACCAGTCTGCTTGGAAATGCTAGTTGGAGT	7646	
BH8	GlnLeuLeuGlyIleTrpGlyCysSerGlyLysLeuIleCysThrThrAlaValProTrpAsnAlaSerTrpSer		622

【図 13】

BH10 TAGTGTGGTTGGATGGCTGCTGTAAGGGAAAGAATGAGACGAGCTGAGCCAGCAGATGGGGTGGGAGCAGC 8471
 BH8 Xho I
 BH10 ATCTCGAGACCTAGAAAAACATGGAGCAATCACAAGTAGCAACACAGCAGCTAACAACTGCTGATTGTGCTGGCT 8546
 BH8 Kpn I
 BH10 AGAAGCACAAAGAGGAGGAGGAGGTGGGTTTCCAGTCACACCTCAGGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGC 8621
 BH8 PvuII Bgl II Aho III Polyurine Tract IR U3
 BH10 AGCTGTAGATCTTAGCCACTTTTAAAGAAAGGGGAGCTGGAAGGCTAATTCACCTCCCAACGAAGACAAGA 8698
 BH8 (Bam HI)
 BH10 TATCCTTGATCTGTGGATCTACACACACACAAGGCTACTTCCCTGATTAGCAGAACTACACACAGGCGCAGGAT 8771
 BH8 C
 BH10 CAGATATCCACTGACCTTGGATGGTGTACAAGCTAGTACCACTTGAGCCAGAGAAGTTAGAAGAAGCCAACAA 8846
 BH8 A
 BH10 AGGAGAGAACACCAAGCTTGT TACACCTGTGAGCCTGCATGGAATGGATGACCCGAGAGAGAAGTTAGAGTG 8921
 BH8 T
 BH10 GAGGTTTGACAGCCGCTAGCATTTCATCAGATGGCCGAGAGCTGCATCCGGAGTACTTCAAGAAGCTGCTGACA 8996
 BH8 T
 BH10 TCGAGCTTGTACAAGGACTT TCCGCTGGGACTTTCCAGGAGGCTGGCCTGGCGGGACTGGGGAGTGCG 9071
 BH8 Pvu II U3 R Bgl II
 BH10 AGCCCTCAGATCTGCATATAAGCAGCTGCTTTTGCCTGTACTGGGTCTCTCTGTTAGACCAGATCTGAGCCT 9148
 BH8 Sst I R
 BH10 GGGAGCTC 9154
 BH8
 HXB2 TCTGGCTAGCTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCA 9213
 HXB2 U3
 HXB2 AGTAGTGTGTGCCCTGCTGTGTGTGACTCTGGTAAGTAGAGATCCCTCAGA
 HXB2 U3 IR
 HXB2 CCCTTTTAGTCAGTGTGAAATCTCTAGCA

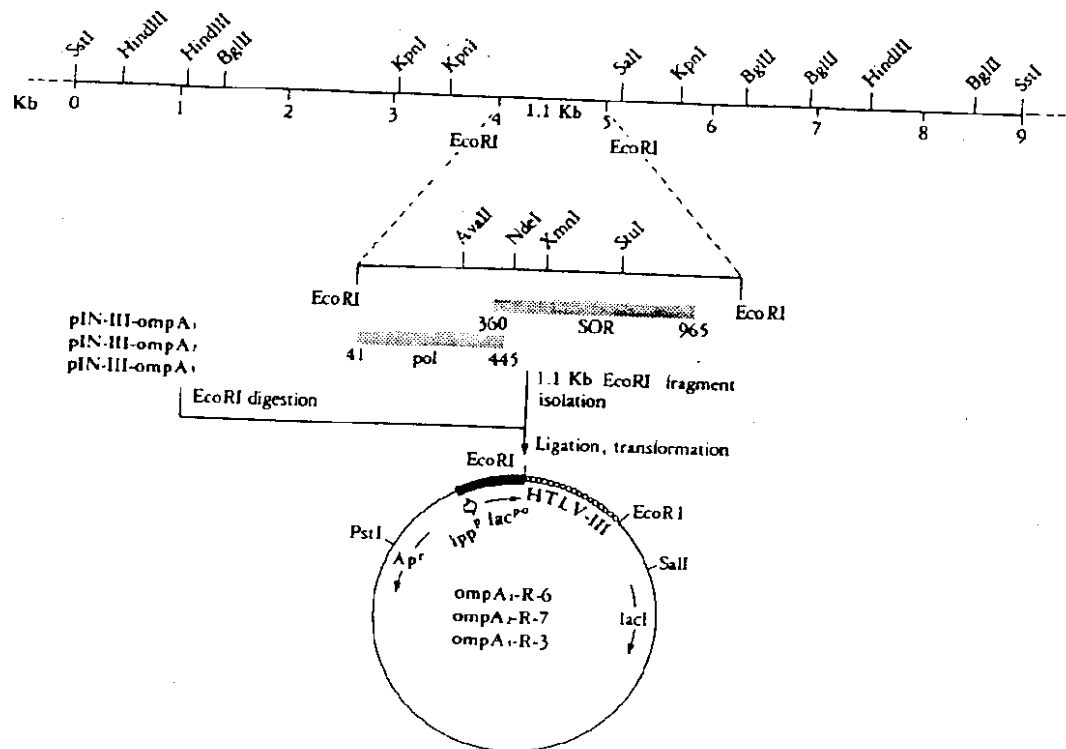
【図 21】



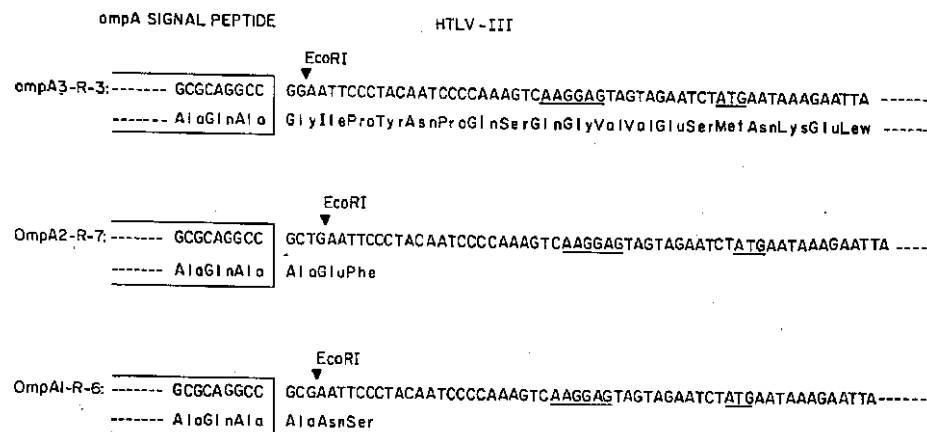
【図 15】

BH10 TAGTGTGGTTGGATGGCTGCTGTAAGGGAAAGAATGAGACGAGCTGAGCCAGCAGATGGGGTGGGAGCAGC 8471
 BH8 Xho I
 BH10 ATCTCGAGACCTAGAAAAACATGGAGCAATCACAAGTAGCAACACAGCAGCTAACAACTGCTGATTGTGCTGGCT 8546
 BH8 Kpn I
 BH10 AGAAGCACAAAGAGGAGGAGGAGGTGGGTTTCCAGTCACACCTCAGGTACCTTTAAGACCAATGACTTACAAGGC 8621
 BH8 PvuII Bgl II Aho III Polyurine Tract IR U3
 BH10 AGCTGTAGATCTTAGCCACTTTTAAAGAAAGGGGAGCTGGAAGGCTAATTCACCTCCCAACGAAGACAAGA 8698
 BH8 (Bam HI)
 BH10 TATCCTTGATCTGTGGATCTACACACACACAAGGCTACTTCCCTGATTAGCAGAACTACACACAGGCGCAGGAT 8771
 BH8 C
 BH10 CAGATATCCACTGACCTTGGATGGTGTACAAGCTAGTACCACTTGAGCCAGAGAAGTTAGAAGAAGCCAACAA 8846
 BH8 A
 BH10 AGGAGAGAACACCAAGCTTGT TACACCTGTGAGCCTGCATGGAATGGATGACCCGAGAGAGAAGTTAGAGTG 8921
 BH8 T
 BH10 GAGGTTTGACAGCCGCTAGCATTTCATCAGATGGCCGAGAGCTGCATCCGGAGTACTTCAAGAAGCTGCTGACA 8996
 BH8 T
 BH10 TCGAGCTTGTACAAGGACTT TCCGCTGGGACTTTCCAGGAGGCTGGCCTGGCGGGACTGGGGAGTGCG 9071
 BH8 Pvu II U3 R Bgl II
 BH10 AGCCCTCAGATCTGCATATAAGCAGCTGCTTTTGCCTGTACTGGGTCTCTCTGTTAGACCAGATCTGAGCCT 9146
 BH8 Sst I R
 BH10 GGGAGCTC 9154
 BH8
 HXB2 TCTGGCTAGCTAGGGAACCCACTGCTTAAGCCTCAATAAAGCTTGCCTTGAGTGCTTCA 9213
 HXB2 U3
 HXB2 AGTAGTGTGTGCCCTGCTGTGTGTGACTCTGGTAAGTAGAGATCCCTCAGA
 HXB2 U3 IR
 HXB2 CCCTTTTAGTCAGTGTGAAATCTCTAGCA

【図16】



【図18】



フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テ-マコード (参考)
G 0 1 N 33/569		G 0 1 N 33/60	Z
33/60		C 1 2 R 1:19	
//(C 1 2 P 21/02		C 1 2 N 15/00	Z N A A
C 1 2 R 1:19)			

(72)発明者 ロバート・シー・ガロ
アメリカ合衆国メリーランド州20817, ベ
セスダ, ソーnden・テラス 8513

(72)発明者 フロジー・ウォング・スタール
アメリカ合衆国カリフォルニア州92130,
サンディエゴ, モントレー・サイプレス・
ウェイ 12737

F ターム(参考) 2G045 AA28 BA13 BB03 BB10 BB16
BB20 CA25 CA26 CB01 CB07
CB14 DA12 DA13 DA14 DA36
FB02 FB03 FB04 FB08
4B024 AA01 AA14 BA14 CA03 CA04
CA07 CA09 CA12 DA06 EA04
FA04 FA10 GA11 HA08 HA12
4B063 QA01 QQ03 QQ10 QQ53 QR32
QR55 QS33 QS34
4B064 AG32 CA02 CA19 CC24 DA01

专利名称(译)	htlv-iii DNA的克隆与表达		
公开(公告)号	JP2003038190A	公开(公告)日	2003-02-12
申请号	JP2002137039	申请日	2002-05-13
[标]申请(专利权)人(译)	圣码公司 森托科尔公司		
申请(专利权)人(译)	Sentoko公司		
[标]发明人	ナンシーティーチャン ロバートシーガロ フロギーウォングスター		
发明人	ナンシー・ティー・チャン ロバート・シー・ガロ フロギー・ウォング・スター		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 C07K14/15 C07K14/155 C07K14/16 C07K14/705 C07K16/10 C07K19/00 C12N1/21 C12N9/38 C12N15/02 C12N15/09 C12N15/48 C12N15/49 C12P21/02 C12P21/08 C12Q1 /68 C12Q1/70 C12R1/19 G01N33/543 G01N33/566 G01N33/569 G01N33/577 G01N33/58 G01N33/60		
CPC分类号	C12Q1/703 A61K38/00 C07K14/005 C07K16/1054 C07K16/1063 C07K2319/40 C07K2319/61 C07K2319/80 C12N2740/14022 C12N2740/16122 C12N2740/16222 C12Q1/6813		
FI分类号	C12P21/02.C C12Q1/68.A G01N33/53.M G01N33/566 G01N33/569.H G01N33/60.Z C12R1/19 C12N15 /00.ZNA.A C07K14/16 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12Q1/6813.C C12Q1/6813.Z		
F-TERM分类号	2G045/AA28 2G045/BA13 2G045/BB03 2G045/BB10 2G045/BB16 2G045/BB20 2G045/CA25 2G045 /CA26 2G045/CB01 2G045/CB07 2G045/CB14 2G045/DA12 2G045/DA13 2G045/DA14 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB04 2G045/FB08 4B024/AA01 4B024/AA14 4B024/BA14 4B024 /CA03 4B024/CA04 4B024/CA07 4B024/CA09 4B024/CA12 4B024/DA06 4B024/EA04 4B024/FA04 4B024/FA10 4B024/GA11 4B024/HA08 4B024/HA12 4B063/QA01 4B063/QQ03 4B063/QQ10 4B063 /QQ53 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QS33 4B063/QS34 4B064/AG32 4B064/CA02 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4H045/AA10 4H045/AA20 4H045/BA10 4H045/BA41 4H045/CA04 4H045 /DA75 4H045/EA29 4H045/EA52 4H045/FA74		
优先权	06/659339 1984-10-10 US 06/693866 1985-01-23 US		
其他公开文献	JP3569766B2		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

[目的] 通过克隆HTLV-III DNA，为艾滋病的诊断，治疗和预防提供一种有用的方法。[结构]含有HTLV-III cDNA的重组载体转化的细胞表达的免疫反应性HTLV-III多肽，该多肽的生产方法以及分离的HTLV-III基因编码 cDNA，由基本上与HTLV-III病毒特异性 HTLV-III基因组的一部分同源的DNA序列组成的DNA探针，以及与至少一个其他多肽连接的HTLV-III多肽的杂合物。 蛋白质。

