

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200880014359.7

[51] Int. Cl.

C07K 14/16 (2006.01)

C07K 14/445 (2006.01)

C12N 15/861 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

[43] 公开日 2010年3月17日

[11] 公开号 CN 101675068A

[22] 申请日 2008.2.28

[21] 申请号 200880014359.7

[30] 优先权

[32] 2007.3.2 [33] US [31] 60/892,714

[86] 国际申请 PCT/EP2008/052448 2008.2.28

[87] 国际公布 WO2008/107370 英 2008.9.12

[85] 进入国家阶段日期 2009.11.2

[71] 申请人 葛兰素史密丝克莱恩生物有限公司

地址 比利时里克森萨特

[72] 发明人 G·H·沃斯

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司
代理人 张萍 李连涛

权利要求书4页 说明书86页 序列表30页
附图27页

[54] 发明名称

新的方法和组合物

[57] 摘要

本发明尤其涉及引起抗病原体的免疫反应的方法，包括：给予(i)源自所述病原体的一种或多种第一免疫原性多肽；(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体，所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽；和(iii)佐剂；其中所述一种或多种第一免疫原性多肽、所述一种或多种腺病毒载体和所述佐剂并行给予。本发明还涉及采用所述多肽、腺病毒载体和佐剂的病毒、药物组合物、试剂盒和用途。

1、一种引起抗病原体的免疫反应的方法，包括：给予 (i) 源自所述病原体的一种或多种第一免疫原性多肽；(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体，所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽；和 (iii)佐剂；其中所述一种或多种第一免疫原性多肽、所述一种或多种腺病毒载体和所述佐剂并行给予。

2、一种引起抗病原体的免疫反应的方法，包括：给予 (i) 与佐剂共同配制的源自所述病原体的一种或多种第一免疫原性多肽；和(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体，所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽；其中所述一种或多种免疫原性多肽和佐剂、以及一种或多种腺病毒载体并行给予。

3、一种刺激哺乳动物中病原体特异性 CD4+和/或 CD8+ T 细胞和/或抗体产生的方法，包括给予所述哺乳动物 (i) 源自病原体的一种或多种第一免疫原性多肽；(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体，所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽；和 (iii)佐剂；其中所述一种或多种第一免疫原性多肽、所述一种或多种腺病毒载体和所述佐剂并行给予，例如通过给药免疫有效量的上述组合物给予。

4、一种引起抗病原体的免疫反应的方法，由下列组成：(a) 给予 (i) 源自所述病原体的一种或多种第一免疫原性多肽；(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体，所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽；和 (iii)佐剂；其中所述一种或多种免疫原性多肽、所述一种或多种腺病毒载体和所述佐剂并行给予；和(b) 任选地重复步骤 (a)。

5、一种引起抗病原体的免疫反应的方法，包括：给予 (i) 源自所述病原体的一种或多种第一免疫原性多肽；(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体，所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽；和 (iii)佐剂；其中所述一种或多种第一免疫原性多肽、所述一种或多种腺病毒载体和所述佐剂并行给予；其中所述方

法不包括给予任何初免剂量的免疫原性多肽或编码免疫原性多肽的多核苷酸。

6、根据权利要求 1 至 5 中任一项所述的方法，其中一种或多种免疫原性多肽、一种或多种腺病毒载体和佐剂是共同配制的。

7、根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的方法，其中刺激了病原体特异性的 CD4+ T 细胞和 CD8+ T 细胞以及抗体的产生。

8、一种疫苗组合物，包含：(i) 源自病原体的一种或多种第一免疫原性多肽；(ii) 包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体，所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽；和 (iii) 佐剂。

9、根据权利要求 1 至 8 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中所述一种或多种第一免疫原性多肽的一种或多种与所述一种或多种第二免疫原性多肽的一种或多种基本上相同。

10、根据权利要求 1 至 8 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中所述一种或多种第一免疫原性多肽的一种或多种含有至少一种与所述一种或多种第二免疫原性多肽的一种或多种中所含有的抗原基本上相同的抗原。

11、根据权利要求 1 至 10 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中所述一种或多种第一免疫原性多肽包含至少一个 T 细胞表位。

12、根据权利要求 1 至 11 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中所述一种或多种第一免疫原性多肽包含至少一个 B 细胞表位。

13、根据权利要求 1 至 12 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中所述一种或多种第一免疫原性多肽的一种或多种和所述一种或多种第二免疫原性多肽的一种或多种共有一个或多个相同的 B 细胞和/或 T 细胞表位。

14、根据权利要求 1 至 8 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中所述一种或多种第一免疫原性多肽的一种或多种中没有一种与所述一种或多种第二免疫原性多肽的一种或多种基本上相同或与其含有任何共同抗原。

15、根据权利要求 1 至 14 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中一种或多种所述腺病毒载体源自人腺病毒。

16、根据权利要求 15 所述的方法或疫苗组合物，其中所述人腺病毒血清型选自：Ad1、Ad2、Ad4、Ad5、Ad6、Ad11、Ad24、Ad34 和 Ad35。

17、根据权利要求 1 至 14 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中一种或多种所述腺病毒载体源自非人灵长类腺病毒。

18、根据权利要求 17 所述的方法或疫苗组合物，其中所述非人灵长类腺病毒血清型选自黑猩猩腺病毒血清型 Pan5、Pan6、Pan7 和 Pan9。

19、根据权利要求 1 至 18 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中所述病原体为 HIV。

20、根据权利要求 19 所述的方法或疫苗组合物，其中所述免疫原性多肽含有 HIV 源抗原及其免疫原性衍生物和免疫原性片段，所述 HIV 源抗原选自：Env、Nef、Gag 和 Pol。

21、根据权利要求 20 所述的方法或疫苗组合物，其中第一免疫原性多肽为 p24-RT-Nef-p17。

22、根据权利要求 20 或权利要求 21 所述的方法或疫苗组合物，其中第二免疫原性多肽为 Gag-RT-Nef。

23、根据权利要求 1 至 18 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中所述病原体为恶性疟原虫和/或间日疟原虫。

24、根据权利要求 23 所述的方法或疫苗组合物，其中所述免疫原性多肽含有源自恶性疟原虫和/或间日疟原虫的抗原及其免疫原性衍生物或其免疫原性片段，所述抗原选自环孢子(CS)蛋白、MSP-1、MSP-3、AMA-1、LSA-1、LSA-3。

25、根据权利要求 24 所述的方法或疫苗组合物，其中免疫原性多肽/所述免疫原性多肽为杂合蛋白 RTS。

26、根据权利要求 25 所述的方法或疫苗组合物，其中 RTS 以称为 RTS,S 的混合粒子的形式存在。

27、根据权利要求 24 至 26 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中由多核苷酸编码的免疫原性多肽/所述免疫原性多肽为来自恶性疟原虫的 CS 蛋白或其免疫原性片段。

28、根据权利要求 1 至 18 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中所述病原体为分支结核杆菌。

29、根据权利要求 1 至 28 中任一项所述的方法或疫苗组合物，其中所述佐剂包括 Th1 反应的优选刺激因子。

30、根据权利要求 29 所述的方法或疫苗组合物,其中所述佐剂包含 QS21 和/或 3D-MPL 和/或 CpG。

31、根据权利要求 30 所述的方法或疫苗组合物,其中所述佐剂包含 QS21 和 3D-MPL。

32、根据权利要求 1 至 31 中任一项所述的方法或疫苗组合物,其中所述佐剂包含水包油乳液。

33、根据权利要求 1 至 31 中任一项所述的方法或疫苗组合物,其中所述佐剂包含脂质体。

34、一种刺激哺乳动物中免疫反应的方法,包括给予受试者免疫有效量的根据权利要求 8 至 33 中任一项所述的疫苗组合物。

35、根据权利要求 8 至 33 中任一项所述的疫苗组合物在制备用于刺激哺乳动物免疫反应的药物中的用途。

36、根据权利要求 8 至 33 中任一项的疫苗组合物用于刺激哺乳动物免疫反应的用途。

37、一种试剂盒,包含 (i) 源自病原体的一种或多种第一免疫原性多肽; (ii) 包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体,所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽; 和 (iii) 佐剂。

38、一种试剂盒,包含 (i) 源自病原体的一种或多种第一免疫原性多肽和佐剂; 和(ii) 包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种第二腺病毒载体,所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种免疫原性多肽。

39、根据任何上述权利要求所述的方法、或疫苗、或试剂盒、或用途,其中所述第一免疫原性多肽包括 p24-RT-Nef-p17; 所述佐剂包括脂质体中的 QS21 和 3D-MPL, 如本文的佐剂 B; 所述腺病毒载体包括黑猩猩腺病毒血清型 Pan7 载体, 所述载体包含编码免疫原性多肽 Gag-RT-Nef 的多核苷酸, 任选经密码子优化。

40、根据任何上述权利要求所述的方法、或疫苗、或试剂盒、或用途,其中所述多肽、腺病毒载体和佐剂组分中的一种、或两种或所有与药学上可接受的赋形剂组合。

新的方法和组合物

技术领域

本发明涉及新的疫苗组合物及其用于刺激哺乳动物尤其人中的免疫反应的用途，特别是用于预防和治疗病原体所致的感染。具体地，本发明涉及能够在受试者中诱导 CD4⁺和 CD8⁺ T 细胞反应以及抗体反应而不依赖于复杂的初免-加强（prime-boost）方案的组合物。

背景技术

十九世纪晚期开始，灭活的整个有机体就已成功地用于疫苗接种。近来，采用了涉及给予提取物、亚基、类毒素和荚膜多糖的疫苗。自从可以使用基因工程技术以来，重组蛋白的使用成为了受欢迎的策略，它消除了与使用来自天然来源的纯化蛋白相关的一些风险。

早期的疫苗方法基于在体内刺激免疫反应的某些方面的蛋白的给药。随后理解到还可以通过给予可以被宿主转录和翻译成免疫原性蛋白的 DNA 来增加免疫反应。

哺乳动物免疫反应具有两个重要的组分：体液反应和细胞介导的反应。体液反应包括循环抗体的产生，该循环抗体结合其所特异性的抗原，从而中和抗原并有助于其随后的清除，这种清除是通过涉及其他细胞毒性或吞噬性细胞的过程达成的。B 细胞负责产生抗体（浆 B 细胞），并保持免疫性体液记忆（记忆 B 细胞），即，在第一次接触抗原（例如，通过疫苗接种）后若干年识别该抗原的能力。细胞介导的反应涉及许多不同类型的细胞的相互影响，尤其是 T 细胞。T 细胞分为一些不同的亚型，主要是 CD4⁺和 CD8⁺细胞。

诸如巨噬细胞和树突细胞等抗原呈递细胞（APC）充当免疫系统的守卫，屏蔽机体与外来抗原。当 APC 检测到胞外的外来抗原时，将这些抗原吞噬（吞入）到 APC 内，这些抗原在此被加工成较小的肽。随后，这些肽被呈递到 APC 表面的 II 类主要组织相容性复合体（MHC II）上，它们在此可以

被表达 CD4 表面分子的抗原特异性 T 淋巴细胞 (CD4+T 细胞) 识别。当 CD4+T 细胞在存在其他足够的共刺激信号的情况下, 识别它们在 MHC II 分子上的特异性抗原时, 它们被激活, 并分泌一批细胞因子, 这些细胞因子随后激活其他组的免疫系统。一般地, CD4+T 细胞根据抗原识别后它们所产生的反应类型被分为 1 类辅助性 T 细胞 (Th1) 或 2 类辅助性 T 细胞 (Th2) 亚型。在识别肽-MHC II 复合体后, Th1 CD4+ T 细胞分泌白细胞介素和细胞因子 (如干扰素 γ), 从而激活巨噬细胞释放有毒化学物质, 如一氧化氮和活性氧/氮。IL-2 和 TNF- α 也一般被分为 Th1 细胞因子。相比之下, Th2 CD4+ 细胞一般分泌如 IL-4、IL-5 或 IL-13 等白细胞介素。

辅助性 CD4+ T 细胞的其他功能包括为激活 B 细胞产生和释放抗体提供帮助。它们还可以参与抗原特异性 CD8+ T 细胞的激活, CD8+ T 细胞是除 CD4+ T 细胞之外的另一主要的 T 细胞亚型。

当在存在适当的共刺激信号的情况下, CD8+ T 细胞特异性的肽由 I 类主要组织相容性 (MHC I) 分子呈递到宿主细胞表面时, CD8+T 细胞识别它们。为了呈递到 MHC I 分子上, 外来抗原需要直接进入细胞内 (胞质溶胶或核), 如在病毒或胞内细菌直接穿过宿主细胞或在 DNA 疫苗接种后的情况下。在细胞内, 抗原被加工成小肽, 这些小肽将被加载到 MHC I 分子上, 重新定位到细胞表面。在激活后, CD8+ T 细胞分泌一批细胞因子, 如干扰素 γ , 它们激活巨噬细胞和其他细胞。具体地, CD8+ T 细胞的一个亚组在激活后分泌溶解性和细胞毒性分子 (如, 粒酶 (granzyme)、穿孔素)。这种 CD8+ T 细胞被称为细胞毒性 T 细胞。

最近, 描述了抗原呈递的另一途径, 该途径涉及将胞外抗原或其片段加载到 MHC I 复合体上, 它被称为“交叉呈递”。

T 细胞反应的性质还受疫苗中所使用的佐剂的组成的影响。例如, 已经显示含有 MPL & QS21 的佐剂能激活 Th1 CD4+ T 细胞分泌 IFN- γ (Stewart 等人 Vaccine.2006, 24 (42-43):6483-92)。

尽管已熟知佐剂在增强对蛋白抗原的免疫反应中有作用, 但它们一般不与 DNA 或 DNA 基载体疫苗接种结合使用。有一些关于佐剂为何不与 DNA 载体基疫苗结合使用的假说。确实, 佐剂和载体之间的干涉可能对它们的稳

定性有影响。此外，人们可能预测到在减毒载体中添加佐剂能增加此产品诱导的反应原性。最后，增加 DNA 载体基疫苗的免疫原性可以导致抗载体本身的中和免疫反应增强，从而排除了相同载体基疫苗随后注射的任何加强效应。事实上，在涉及防止恶性疟原虫 (*p. falciparum*) 感染中，Jones 等人 (2001, *J infect Diseases* 183, 303-312) 已报道了在 DNA 的初次免疫后组合 DNA、重组蛋白和佐剂作为加强组合物的不利后果。确实，在加强组合物只含有蛋白和佐剂的群组中寄生虫血症的水平显著较低。推断在此方法中使用 DNA、重组蛋白和佐剂的组合不利地影响了寄生虫血症和抗体反应的后果。

另一方面，有加佐剂的 DNA 基载体疫苗效力增强的报道 (Ganne 等人 *Vaccine*(1994) 12(130 1190-1196)。具体地，通过添加油佐剂的复制缺陷型腺病毒载体疫苗效力的增强与较高的抗体水平相关，但是未报道对 CD4 和 CD8 T 细胞反应的影响。

WO2007/016715 公开了非致病性病毒作为佐剂的用途。它未提出所述病毒可以含有任何异源多核苷酸。

通常认为 CD4+ 和 CD8+ 细胞两者的刺激都是最佳保护性免疫所需的，尤其是在某些疾病中，如 HIV 感染/AIDS。为预防性或治疗性地诱导最佳的免疫反应，需要刺激 CD4+ 和 CD8+ 细胞两者。这是“初免-加强”疫苗接种策略的主要目的之一，其中蛋白基疫苗 (主要诱导 CD4+ T 细胞) 与 DNA 载体基疫苗 (即，裸 DNA、病毒载体或胞内细菌载体，如李斯特菌 (*listeria*)) (主要诱导 CD8+ T 细胞) 的交替给药或相反情况很可能激活 CD4+ 和 CD8+ T 细胞反应。

然而，尽管“初免-加强”疫苗策略一般可能产生更强或更平衡的反应，不止一次，且当然是超过两次接种的需要可能是繁琐的或甚至不可能的，尤其是在发展中国家的大量免疫程序中。

此外，如上面已经提到的，通常不可能加强病毒载体组分，因为可能产生抗载体本身的免疫。

因此，本发明的目的包括下列的一个或多个：(a) 提供完整的疫苗接种方法和疫苗组合物，该疫苗组合物刺激 CD4+ 和/或 CD8+ 细胞和/或抗体产生，尤其是能消除或减轻重复免疫接种的需要；(b) 提供疫苗接种方法和疫苗组合

物,该疫苗组合物与仅含有免疫原性多肽或仅含有多核苷酸的疫苗组合物相比,或与包括单独给予免疫原性多肽和多核苷酸的传统初免-加强方法相比,更好地刺激 CD4+细胞和/或 CD8+细胞和/或抗体产生;(c)提供刺激或更好地刺激 Th1 反应的疫苗组合物;(d)提供疫苗组合物和疫苗接种方法,其中组分的所需剂量,尤其是病毒载体的所需剂量是最小的;和(e)更一般地提供可用于治疗或防止病原体引起的疾病的疫苗组合物和疫苗接种方法。所谓“更好地刺激”是指反应的强度和/或持久性增强。

发明内容

因此,根据本发明,提供一种引起抗病原体的免疫反应的方法,包括给予(i)源自所述病原体的一种或多种第一免疫原性多肽;(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体,所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽;和(iii)佐剂;其中所述一种或多种第一免疫原性多肽、所述一种或多种腺病毒载体和所述佐剂并行给予。

根据本发明的具体方面,提供一种疫苗组合物,包含(i)源自病原体的一种或多种第一免疫原性多肽;(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体,所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽;和(iii)佐剂。

还提供一种免疫原性组合物,包含(i)源自病原体的一种或多种第一免疫原性多肽;(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体,所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽;和(iii)佐剂。

所述疫苗和免疫原性组合物适当地刺激病原体特异性 CD4+ T 细胞和/或 CD8+ T 细胞和/或抗体的产生。

所谓“病原体特异性 CD4+ T 细胞和/或 CD8+ T 细胞和/或抗体”是指特异性识别整个病原体或其部分(如,免疫原性亚基)的 CD4+ T 细胞和/或 CD8+ T 细胞和/或抗体。所谓“特异性识别”是指 CD4+ T 细胞和/或 CD8+ T 细胞和/或抗体以免疫特异性方式而不是非特异性方式识别所述病原体(或

其部分)。

还提供一种刺激哺乳动物中免疫反应的方法,该方法包括给予受试者免疫有效量的此种组合物。

还提供此种组合物在制造用于刺激哺乳动物中免疫反应的药物中的用途。

还提供此种组合物用于刺激哺乳动物中的免疫反应。

还提供刺激哺乳动物中病原体特异性 CD4+ T 细胞和/或 CD8+ T 细胞和/或抗体产生的方法,包括给予所述哺乳动物 (i)源自病原体的一种或多种第一免疫原性多肽;(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体,所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽;和(iii)佐剂;其中所述一种或多种第一免疫原性多肽、所述一种或多种腺病毒载体和所述佐剂并行给予,例如通过给予免疫有效量的上述组合物。

还提供了上述组合物在制备药物中的用途,所述药物用于刺激哺乳动物中病原体特异性的 CD4+和/或 CD8+细胞和/或抗体的产生。

例如,刺激 CD4+ T 细胞或 CD8+ T 细胞或抗体产生。

合适的是刺激 CD4+ T 细胞和/或 CD8+ T 细胞和/或抗体中的 2 种、尤其是 3 种的产生。

合适的是刺激 CD8+ T 细胞的产生。合适的是刺激 CD4+和 CD8+ T 细胞的产生。合适的是刺激 CD4+和 CD8+ T 细胞和抗体的产生。

另外合适的是刺激 CD4+ T 细胞的产生。合适的是刺激 CD4+和抗体的产生。

另外合适的是刺激抗体的产生。

本发明的方法旨在适合地提供用于引起免疫反应的完整方法的足够步骤(尽管需要时可以重复该方法)。因此合适的是该方法不包括使用初免剂量的任何免疫原性多肽或编码任何免疫原性多肽的多核苷酸(例如,载体形式,如腺病毒载体)。

例如,提供了引起抗病原体的免疫反应的方法,该方法由下列组成:(a)给予(i)源自所述病原体的一种或多种第一免疫原性多肽;(ii)包含一种或多

种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体,所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽;和(iii)佐剂;其中所述一种或多种免疫原性多肽、所述一种或多种腺病毒载体和所述佐剂并行给予;和(b)任选地重复步骤(a)。

如果重复能产生改善的免疫反应则可以重复该方法的步骤。可以不需要任何重复而获得足够的反应,至少是就T细胞反应来说。

还提供了引起抗病原体的免疫反应的方法,该方法包括(a)给予(i)源自所述病原体的一种或多种第一免疫原性多肽;(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体,所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽;和(iii)佐剂;其中所述一种或多种第一免疫原性多肽、所述一种或多种腺病毒载体和所述佐剂并行给予;所述方法不包括给予任何初免剂量的免疫原性多肽或编码免疫原性多肽的多核苷酸。

还提供了一种试剂盒,所述试剂盒包含(i)源自病原体的一种或多种第一免疫原性多肽;(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体,所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种第二免疫原性多肽;和(iii)佐剂;具体地,包含(i)源自病原体的一种或多种第一免疫原性多肽和佐剂;和(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种第二腺病毒载体,所述一种或多种异源多核苷酸编码源自所述病原体的一种或多种免疫原性多肽;所述试剂盒用于根据本发明的方法。

本发明的组合物和方法可用于预防未感染过病原体的(naive)受试者中由病原体所致的感染,或预防之前病原体感染过的受试者再次感染,或治疗被病原体感染的受试者。

附图简述

图1显示质粒p73i-Tgrn的构建的代表图;

图2-8显示实施例1中所讨论的实验的结果,具体地:

图2a、2b、3a、3b:在各种免疫方法之后在不同的时间点,响应于源自p24、RT、Nef和p17的肽库的再次刺激的CD4⁺和CD8⁺T细胞反应;

- 图 4: 抗 F4 的抗体反应;
- 图 5-8: 分别抗 F4 组分 p24、RT、p17 和 Nef 的抗体反应;
- 图 9 显示实施例 2 中所讨论的实验结果, 具体地: 在各种免疫方法后, 响应于源自 p24 和 RT 的肽库的再次刺激的 CD4+ T 细胞反应。
- 图 10-12 显示实施例 3 所讨论的实验的结果, 具体地:
- 图 10 显示兔 PBMC 抗含有 F4 序列的肽库的淋巴增殖性反应;
- 图 11 显示抗 F4 的抗体反应的时程;
- 图 12a 和 12b 分别显示抗 F4 组分 p24 和 RT 的抗体反应 (第 77 天);
- 图 13 显示 HIV-1 特异性 CD4 T 细胞的定量;
- 图 14 显示在两次免疫后 7 天 F4 特异性 CD4 T 细胞的频率分布;
- 图 15 显示两次免疫后 7 天 F4 特异性 CD4 T 细胞的细胞因子产生;
- 图 16 显示 HIV-1 特异性 CD8 T 细胞的定量;
- 图 17 显示在两次免疫后 7 天 F4 特异性 CD8 T 细胞的细胞因子产生;
- 图 18 显示 CSP 特异性 CD4 T 细胞的定量;
- 图 19 显示 CSP 特异性 CD8 T 细胞的定量;
- 图 20 显示 CSP (N 末端) 特异性 CD4 T 细胞的定量;
- 图 21 显示 CSP (C 末端) 特异性 CD4 T 细胞的定量;
- 图 22 显示 CSP (N 末端) 特异性 CD8 T 细胞的定量;
- 图 23 显示 CSP (C 末端) 特异性 CD8 T 细胞的定量;
- 图 24 显示 CSP 特异性抗体效价的定量。

序列表总结

氨基酸或多核苷酸描述	序列标识 (SEQ ID No)
HIV Gag-RT-Nef (“GRN”) (进化枝 B) (cDNA)	1
HIV Gag-RT-Nef (“GRN”) (进化枝 B) (氨基酸)	2
HIV Gag-RT-整合酶-Nef (“GRIN”) (进化枝 A) (cDNA)	3
HIV Gag-RT-整合酶-Nef (“GRIN”) (进化枝 A) (氨基酸)	4

HIV gp140 (进化枝 A) (cDNA)	5
HIV gp140 (进化枝 A) (氨基酸)	6
HIV gp120 (进化枝 B) (cDNA)	7
HIV gp120 (进化枝 B) (氨基酸)	8
TB 抗原融合蛋白 M72 (cDNA)	9
TB 抗原融合蛋白 M72 (氨基酸)	10
恶性疟原虫 CS 蛋白源抗原(cDNA)	11
恶性疟原虫 CS 蛋白源抗原(氨基酸)	12
恶性疟原虫 CS 蛋白源融合蛋白“RTS” (cDNA)	13
恶性疟原虫 CS 蛋白源融合蛋白“RTS” (氨基酸)	14
HIV p24-RT-Nef-p17 (cDNA)	15
HIV p24-RT-Nef-p17 (氨基酸)	16

上面所列的序列可以作为本发明示例性方面中所用的多肽或编码多肽的多核苷酸使用。所述多肽可以由上述序列组成或包含上述序列。任选初始 Met 残基。任选 N 末端 His 残基（包括紧随初始 Met 之后的 His 残基，如 SEQ ID No 9）或者可以采用不同长度的 N 末端 His 标签（如，通常可以采用最多 6 个 His 残基以有助于蛋白分离）。可以采用与参考序列的全长具有显著序列同一性的类似蛋白，如大于 80%，如大于 90%，如大于 95%，如大于 99% 的序列同一性，尤其是在类似蛋白具有类似的功能时，具体是在类似蛋白具有类似的免疫原性时。例如可以接受最多 20 个，如最多 10 个，如 1-5 个取代（如，保守取代）。可以采用与上述那些不同但是编码相同蛋白或上述类似蛋白的核酸。可以通过常规方法测定序列同一性，如使用 BLAST。在可能提到的一个 SEQ ID No 16 的特定变体中，残基 398 是 Ser 而不是 Cys。

发明详述

如本文所用，术语“并行 (concomitantly)”意指所述一种或多种免疫原性多肽、一种或多种腺病毒载体和佐剂在不超过 12 小时的期间内给予，如在不超过 1 小时的期间内，通常是在一次的情况下，例如，在对健康专家的

同一次探访过程中，例如所述一种或多种免疫原性多肽、一种或多种腺病毒载体和佐剂顺序给予或同时给予。

如本文所用，术语“表位”是指免疫原性氨基酸序列。表位通常是指通常6-8个氨基酸的最小氨基酸序列，该最小序列在从其天然环境移出时是免疫原性的，如移植到异源多肽中时。表位还可指蛋白的免疫原性部分，其中含有表位的多肽被称为抗原（或者有时称为“多肽抗原”）。多肽或抗原可以含有一个或多个（如2个或3个或更多个）不同的表位。术语“表位”包括B细胞和T细胞表位。术语“T细胞表位”包括CD4+ T细胞表位和CD8+ T细胞表位（有时也称为CTL表位）。

术语“免疫原性多肽”是指免疫原性的多肽，也就是说能够在哺乳动物中引起免疫反应，因此含有一个或多个表位（如，T细胞和/或B细胞表位）。免疫原性多肽可以含有一个或多个多肽抗原（如非天然排列的，如在融合蛋白中）。

免疫原性多肽通常为重组蛋白，通过（例如）在诸如细菌宿主、酵母或培养的哺乳动物细胞等异源宿主中表达来制备。

术语“源自病原体的多肽”是指部分或完整地含有在病原体中天然出现的序列（即，抗原）或与其具有高度序列同一性（如，在一段至少10个，例如至少20个氨基酸的长度上大于95%的同一性）的多肽。

免疫原性多肽可以含有一个或多个（例如，1、2、3或4个）多肽抗原。除非另外指明，否则“免疫反应”可以是细胞反应和/或体液反应。

在本发明的一个实施方式中，所述一种或多种第一免疫原性多肽的一种或多种基本上与所述一种或多种第二免疫原性多肽的一种或多种相同。例如，至少一种第一免疫原性多肽之一和至少一种第二免疫原性多肽之一的整体序列同一性沿一个或另一个免疫原性多肽的长度可以为90%或更高，如95%或更高，如98%或99%或更高。

在本发明的另一个实施方式中，所述一种或多种第一免疫原性多肽的一种或多种含有至少一个与所述第二免疫原性多肽的一种或多种中所含的抗原基本上相同的抗原。例如，至少一种第一免疫原性多肽之一和至少一种第二免疫原性多肽之一的整体序列同一性在一段20个氨基酸或更多，如40个

氨基酸或更多，如 60 个氨基酸或更多的长度上可以为 90%或更高，如 95%或更高，如 98%或 99%或更高。

合适地，一种或多种第一免疫原性多肽含有至少一个 T 细胞表位。

合适地，一种或多种第二免疫原性多肽含有至少一个 T 细胞表位。

合适地，一种或多种第一免疫原性多肽含有至少一个 B 细胞表位。

合适地，一种或多种第二免疫原性多肽含有至少一个 B 细胞表位。

在本发明的另一个实施方式中，所述一种或多种第一免疫原性多肽的一种或多种和所述第二免疫原性多肽的一种或多种共有一个或多个相同的 B 细胞和/或 T 细胞表位。合适地，它们共有一个或多个相同的氨基酸序列，所述氨基酸序列长度为 10 个氨基酸或更多，如 15 个氨基酸或更多，如 25 个氨基酸或更多。

在本发明的另一个实施方式中，所述一种或多种第一免疫原性多肽的一种或多种没有一种与所述一种或多种第二免疫原性多肽的一种或多种相同或与其含有任何共同抗原，例如它们在一段 20 个氨基酸或更多，如 40 个氨基酸或更多，如 60 个氨基酸或更多的长度上的整体序列同一性小于 90%。

因此，它们可能不共有任何 B 细胞或 T 细胞表位。例如它们可以不共有任何长度为 10 个氨基酸或更多，如 15 个氨基酸或更多，如 25 个氨基酸或更多的相同氨基酸序列。

在本发明的一个具体实施方式中，第一免疫原性多肽和第二免疫原性多肽含有相同排列或不同排列（如，不同排列）的相同抗原。所谓“不同排列”意指它们可以不同的顺序排列和/或它们可以分开。在本发明的另一具体实施方式中，第一免疫原性多肽和第二免疫原性多肽是相同的。

根据本发明的组合物可以含有一种第一免疫原性多肽作为组合物中仅有的免疫原性多肽。或者，根据本发明的组合物可以含有不止一种第一免疫原性多肽，如 2 或 3 或 4 或更多种免疫原性多肽。

根据本发明的组合物可以含有一种腺病毒载体。或者它们可以含有不止一种腺病毒载体，如 2 种腺病毒载体。

在根据本发明的组合物中，腺病毒载体可以含有异源多核苷酸，该异源多核苷酸编码一种第二免疫原性多肽，或者它可以含有不止一种异源多核苷

酸,所述异源多核苷酸在多于1个的启动子的控制下编码多于1种的第二免疫原性多肽。

至于预防性疫苗接种,本发明的组合物还可以用于已经被病原体感染的个体中,结果是改善对已形成的感染的免疫控制。这在病原体为 HIV 时尤其受关注。在 HIV 的情况下,这种控制被认为是通过特异性识别 HIV 感染的细胞的 CD8 阳性 T 细胞达成的。这种 CD8 阳性 T 细胞反应通过 HIV 特异性 CD4 阳性的辅助性 T 细胞的存在来维持,因此,两种类型的免疫反应的诱导都特别有用,可以通过组合不同的疫苗组合物来达成。特别关注的是加佐剂的蛋白与重组腺病毒的组合。在接种时为 HIV 感染的初级(primary)感染、潜伏期或末期的 HIV 感染患者都将从上述疫苗接种中获益。患者在疫苗接种时可以经受或不经受其他抗病原体的治疗干涉(在 HIV 的情况下-例如,高活性的抗逆转录病毒治疗)。

抗原

根据本发明使用的抗原源自病原体。病原体包括病毒、细菌、原生动物和其他对哺乳动物(包括人)有害的寄生有机体。

作为多肽或编码根据本发明的多肽的多核苷酸给予的合适多肽抗原包括源自下列的抗原: HIV(如 HIV-1)、人疱疹病毒(如 gH、gL、gM、gB、gC、gK、gE 或 gD 或其衍生物、或立即早期蛋白(Immediate Early protein),如来自 HSV1 或 HSV2 的 ICP27、ICP47、ICP4、ICP36)、巨细胞病毒(尤其人的,如 gB 或其衍生物)、EB(Epstein Barr)病毒(如 gp350 或其衍生物)、水痘带状疱疹病毒(如 gpI、II、III 和 IE63);或来自肝炎病毒,如乙肝病毒(例如,乙肝表面抗原、PreS1、PreS2 和表面 env 蛋白、乙肝核心抗原或 pol)、丙肝病毒(如核心、E1、E2、P7、NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A 和 B)和戊型肝炎病毒抗原;或来自其他病毒病原体,如副粘病毒(paramyxovirus): 呼吸道合胞病毒(如 F 和 G 蛋白或其衍生物);或来自下列的抗原: 副流感病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、人乳头瘤病毒(例如,HPV6、11、16、18,如 L1、L2、E1、E2、E3、E4、E5、E6、E7)、黄病毒(如,黄热病病毒、登革热(Dengue)病毒、蜱传脑炎病毒(Tick-borne

encephalitis virus)、日本脑炎病毒)或流感病毒(如,血凝素(haemagglutinin)、核蛋白、NA或M蛋白、或它们的组合);或源自细菌病原体的抗原,如奈瑟菌属(*Neisseria spp*),包括:淋病奈瑟菌(*N. gonorrhoea*)和脑膜炎奈瑟菌(*N. meningitidis*),如转铁蛋白结合蛋白、乳铁蛋白结合蛋白、PiIC、粘附素);化脓性链球菌(*S. pyogenes*)(例如,M蛋白或其片段、C5A蛋白酶、无乳链球菌(*S. agalactiae*)、变形链球菌(*S. mutans*);杜克雷嗜血杆菌(*H. ducreyi*);莫拉克氏菌属(*Moraxella spp*),包括粘膜炎莫拉菌(*M. Catarrhalis*),也称为粘膜炎布兰汉氏菌(*Branhamella Catarrhalis*)(例如,高分子量和低分子量粘附素和侵袭素);博德特氏菌(*Bordetella spp*),包括百日咳杆菌(*B. pertussis*)(例如,百日咳菌粘附素(pertactin)、百日咳毒素或其衍生物、丝状血凝素、腺苷酸环化酶、菌毛(fimbriae)、副百日咳杆菌(*B. parapertussis*)和支气管败血性博德特氏菌(*B. bronchiseptica*);分支杆菌属(*Mycobacterium spp*),包括结核分支杆菌(*M. tuberculosis*)、牛分支杆菌(*M. bovis*)、麻风分支杆菌(*M. leprae*)、鸟分支杆菌(*M. avium*)、副结核分支杆菌(*M. paratuberculosis*)、耻垢分支杆菌(*M. smegmatis*);军团杆菌属(*Legionella spp*),包括嗜肺性军团杆菌(*L. pneumophila*);埃希氏菌属(*Escherichia spp*),包括肠毒性大肠杆菌(*E. coli*)(例如,移生因子(colonization factor)、不耐热肠毒素或其衍生物、热稳定性毒素或其衍生物)、肠出血性大肠杆菌、肠致病性大肠杆菌(例如,志贺毒素(shiga toxin)样毒素或其衍生物);弧菌属(*Vibrio spp*),包括霍乱弧菌(*V. cholera*)(例如,霍乱毒素或其衍生物);志贺菌属(*Shigella spp*),包括宋内志贺菌(*S. sonnei*)、痢疾志贺菌(*S. dysenteriae*)、福氏志贺菌(*S. flexnerii*);耶尔森菌属(*Yersinia spp*),包括小肠结肠炎耶尔森菌(*Y. enterocolitica*)(例如,Yop蛋白)、鼠疫耶尔森菌(*Y. pestis*)、假结核耶尔森菌(*Y. Pseudotuberculosis*);弯曲杆菌属(*Campylobacter spp.*),包括空肠弯曲杆菌(*C. jejuni*)(例如,毒素,粘附素和侵袭素)和结肠弯曲杆菌(*C. coli*);沙门氏菌属(*Salmonella spp*),包括伤寒沙门氏菌(*S. typhi*)、副伤寒沙门氏菌(*S. paratyphi*)、猪霍乱沙门氏菌(*S. choleraesuis*)、肠炎沙门氏菌(*S. enteritidis*);李斯特菌属(*Listeria spp*),包括单核细胞增多性李斯特

菌 (*L. monocytogenes*)；螺旋杆菌属 (*Helicobacter spp*)，包括幽门螺旋杆菌 (*H. pylori*) (例如脲酶、过氧化氢酶、空泡毒素)；假单胞菌属 (*Pseudomonas spp*)，包括绿脓假单胞菌 (*P. aeruginosa*)；葡萄球菌属 (*Staphylococcus spp*)，包括金黄色葡萄球菌 (*P. aureus*)、表皮葡萄球菌 (*P. epidermidis*)；肠球菌属 (*Enterococcus spp*)，包括粪肠球菌 (*E. faecalis*)、屎肠球菌 (*E. faecium*)；梭菌属 (*Clostridium spp*)，包括破伤风梭状芽孢杆菌 (*C. tetani*) (例如，破伤风毒素及其衍生物)、肉毒梭状芽孢杆菌 (*C. botulinum*) (例如，肉毒杆菌毒素及其衍生物)、艰难梭状芽孢杆菌 (*C. difficile*) (例如梭菌毒素 A 或 B 及其衍生物)；杆菌属 (*Bacillus spp*)，包括炭疽杆菌 (*B. anthracis*) (例如，肉毒杆菌毒素及其衍生物)；棒状杆菌属 (*Corynebacterium spp*)，包括白喉杆菌 (*C. diphtheriae*) (例如，白喉毒素及其衍生物)；疏螺旋体属 (*Borrelia spp*)，包括博氏疏螺旋体 (*B. burgdorferi*) (例如，OspA、OspC、DbpA、DbpB)、*B. garinii* (例如，OspA、OspC、DbpA、DbpB)、*B. afzelii* (例如，OspA、OspC、DbpA、DbpB)、*B. andersonii* (例如，OspA、OspC、DbpA、DbpB)、赫氏疏螺旋体 (*B. hermsii*)；埃利希氏体属 (*Ehrlichia spp*)，包括马埃里希体 (*E. equi*) 和人粒细胞性埃利希体 (Human granulocytic ehrlichiosis) 的制剂；立克次氏体属 (*Rickettsia spp*)，包括立克氏立克次氏体 (*R. rickettsii*)；衣原体属 (*Chlamydia spp*)，包括沙眼衣原体 (*C. trachomatis*)、肺炎衣原体 (*C. pneumoniae*)、鸚鵡热衣原体 (*C. psittaci*)；钩端螺旋体属 (*Leptospira spp*)，包括问号钩端螺旋体 (*L. interrogans*)；密螺旋体属 (*Treponema spp*)，包括梅毒密螺旋体 (*T. pallidum*) (例如，微量外膜蛋白)、齿垢密螺旋体 (*T. denticola*)、舌骨痢疾密螺旋体 (*T. hyodysenteriae*)；或源自寄生虫，如疟原虫属 (*Plasmodium spp*)，包括恶性疟原虫和间日疟原虫 (*P. vivax*)；弓形体属 (*Toxoplasma spp*)，包括鼠弓形体 (*T. gondii*) (例如，SAG2、SAG3、Tg34)；内阿米巴属 (*Entamoeba spp*)，包括溶组织内阿米巴 (*E. histolytica*)；巴贝西虫属 (*Babesia spp*)，包括果氏巴贝虫 (*B. microti*)；锥虫属 (*Trypanosoma spp*)，包括克氏锥虫 (*T. cruzi*)；贾第虫属 (*Giardia spp*)，包括兰伯贾第虫 (*G. lamblia*)；利什曼原虫属 (*Leishmania spp*)，包括硕大利什曼原虫 (*L. major*)；肺囊

虫属 (*Pneumocystis spp*)，包括卡氏肺囊虫 (*P. carinii*)；毛滴虫属 (*Trichomonas spp*)，包括阴道毛滴虫 (*T. vaginalis*)；血吸虫属 (*Schistosoma spp*)，包括曼氏血吸虫 (*S. mansoni*)；或源自酵母，如念珠菌属 (*Candida spp*)，包括白色念珠菌 (*C. albicans*)；隐球菌属 (*Cryptococcus spp*)，包括新型隐球菌 (*C. neoformans*)。

其他的细菌抗原包括源自下列的抗原：链球菌属 (*Streptococcus spp*)，包括肺炎链球菌 (*S. pneumoniae*) (PsaA、PspA、链球菌溶血素、胆碱结合蛋白)和蛋白抗原肺炎球菌溶血素 (Biochem Biophys Acta, 1989, 67, 1007; Rubins 等人, Microbial Pathogenesis, 25, 337-342)、及其突变蛋白去毒衍生物 (WO 90/06951; WO 99/03884)。其他细菌抗原包括源自下列的抗原：嗜血杆菌属 (*Haemophilus spp*)，包括 B 型流感嗜血杆菌 (*H. influenzae type B*) (例如 PRP 及其结合物)、非典型性流感嗜血杆菌，例如 OMP26、高分子量粘附素、P5、P6、蛋白 D 和脂蛋白 D、和丝束蛋白和丝束蛋白来源的肽 (US 5,843,464) 或其多拷贝变体或融合蛋白。

具体地，本发明的方法或组合物可以用于预防或治疗病毒性疾病，如由乙肝病毒、丙肝病毒、人乳头瘤病毒、人免疫缺陷性病毒 (HIV)、或单纯疱疹病毒引起的疾病；细菌性疾病，如由结核分支杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, TB) 或衣原体属引起的那些疾病；和寄生虫感染，如疟疾。

应认识到这些具体的疾病状况、病原体和抗原仅为示例性参考，而不旨在限制本发明的范围。

TB 抗原

病原体可以为 (例如) 结核分支杆菌。

源自结核分枝杆菌的示例性抗原为：例如， α -晶体蛋白 (HspX)、HBHA、Rv1753、Rv2386、Rv2707、Rv2557、Rv2558、RPFs: Rv0837c、Rv1884c、Rv2389c、Rv2450、Rv1009、aceA (Rv0467)、ESAT6、Tb38-1、Ag85A、Ag85B 或 Ag85C、MPT 44、MPT59、MPT45、HSP10、HSP65、HSP70、HSP75、HSP90、PPD 19 kDa [Rv3763]、PPD 38 kDa [Rv0934]、PstS1 (Rv0932)、SodA (Rv3846)、Rv2031c, 16 kDa、Ra12、TbH9、Ra35、

Tb38-1、Erd 14、DPV、MTI、MSL、DPPD、mTCC1、mTCC2、hTCC1 (WO 99/51748) 和 hTCC2, 尤其是 Mtb32a、Ra35、Ra12、DPV、MSL、MTI、Tb38-1、mTCC1、TbH9 (Mtb39a)、hTCC1、mTCC2 和 DPPD。源自结核分枝杆菌的抗原还包括融合蛋白及其变体, 其中至少两个或 (例如, 3 个) 结核分枝杆菌的多肽融合成较大的蛋白。这种融合体可以包括 Ra12-TbH9-Ra35、Erd14-DPV-MTI、DPV-MTI-MSL、Erd14-DPV-MTI-MSL-mTCC2、Erd14-DPV-MTI-MSL、DPV-MTI-MSL-mTCC2、TbH9-DPV-MTI (WO 99/51748)、Ra12-Tbh9-Ra35-Ag85B 和 Ra12-Tbh9-Ra35-mTCC2。可以提到的具体的 Ra12-Tbh9-Ra35 序列定义为 WO 2006/117240 SEQ ID No 6 与其中该序列的 Ser 70 突变为非丝氨酸 (例如 Ala) 的变体以及它们整合了适当长度的 N 末端 His 标签的衍生物 (如, WO 2006/117240 的 SEQ ID No2 或 4)。还参见 SEQ ID No 10, 它是含有任选的初始 M 和任选的 N 末端 His-His 标签 (位置 2 和 3) 并且其中在位置 706 的 Ala 突变为野生型 Ser 的序列。

衣原体抗原

病原体可以为 (例如) 衣原体属, 如沙眼衣原体。

源自如沙眼衣原体等衣原体属的示例性抗原选自: CT858、CT 089、CT875、MOMP、CT622、PmpD、PmpG 及其片段、SWIB 和它们任何一种的免疫原性片段 (如 PmpDpd 和 PmpGpd) 和它们的组合。优选的抗原组合包括 CT858、CT089 和 CT875。可以采用的具体序列和组合描述于 WO2006/104890。

疟原虫抗原

病原体可以为 (例如) 引起疟疾的寄生虫, 如疟原虫属, 如恶性疟原虫 (*P falciparum*) 或间日疟原虫 (*P vivax*)。

例如, 源自恶性疟原虫的抗原包括环孢子 (circumsporozoite) 蛋白 (CS 蛋白)、PfEMP-1、Pfs 16 抗原、MSP-1、MSP-3、LSA-1、LSA-3、AMA-1 和 TRAP。可以提及的具体的杂合抗原为 RTS。RTS 是包含恶性疟原虫的环

子孢子 (CS) 蛋白的基本上所有的 C 末端部分的杂合蛋白, 该 C 末端部分通过乙肝表面抗原的 PreS2 部分的 4 个氨基酸连接到乙肝病毒表面 (S) 抗原。当在酵母中表达时, 产生的 RTS 为脂蛋白粒子, 当其与来自 HBV 的 S 抗原共表达时, 产生称为 RTS,S 的混合粒子。RTS 和 RTS,S 的结构公开于 WO 93/10152。TRAP 抗原描述于 WO 90/01496 中。其他的疟原虫抗原包括恶性疟原虫 EBA、GLURP、RAP1、RAP2、钳合蛋白、Pf332、STARP、SALSA、PfEXP1、Pfs25、Pfs28、PFS27/25、Pfs48/45、Pfs230 以及它们在其他疟原虫中的类似物。本发明的一个实施方式是包含下列的组合物: RTS, S 或 CS 蛋白或其片段, 如 RTS,S 的 CS 部分与一种或多种另外的疟疾抗原的组合, 该另外的疟疾抗原可以选自: 例如 MSP-1、MSP-3、AMA-1、Pfs 16、LSA-1 或 LSA-3。来自间日疟原虫的可能抗原包括环子孢子蛋白 (CS 蛋白) 和 Duffy 抗原结合蛋白及其免疫原性片段, 如 RvRII (参见, 例如 WO02/12292)。

因此, 在本发明的一个合适的实施方式中, 第一和第二免疫原性多肽选自源自恶性疟原虫和/或间日疟原虫的抗原。

例如, 第一和/或第二免疫原性多肽选自源自恶性疟原虫和/或间日疟原虫的抗原, 该抗原选自 RTS (如, RTS,S)、环子孢子 (CS) 蛋白、MSP-1、MSP-3、AMA-1、LSA-1 或 LSA-3 以及它们的免疫原性衍生物或它们的免疫原性片段。

可以提及的一个具体的衍生物为称为 RTS 的杂合蛋白, 尤其在其以称为 RTS,S 的混合粒子形式存在时。

示例性恶性疟原虫 CS 蛋白源抗原示于 SEQ ID No 12 中。该具体序列对应于恶性疟原虫 (3D7 株系) 的 CSP 序列, 该序列还含有来自 7G8 株系的 19 aa 的插入序列 (81-100)。

在本发明的一个具体实施方式中, 第一免疫原性多肽为 RTS,S, 第二免疫原性多肽为来自恶性疟原虫的 CS 蛋白或其免疫原性片段。

HPV 抗原

病原体可以为 (例如) 人乳头瘤病毒。

因此本发明中所用的抗原可以源自: 例如认为能产生生殖器疣的人乳头

瘤病毒 (HPV) (HPV6 或 HPV11 和其他)、和/或产生子宫颈癌的 HPV 病毒 (HPV16、HPV18、HPV33、HPV51、HPV56、HPV31、HPV45、HPV58、HPV52 和其他)。在一个实施方式中,生殖器疣预防或治疗组合物的形式包括 L1 粒子或壳粒、和融合蛋白,该融合蛋白包含一种或多种选自 HPV 蛋白 E1、E2、E5、E6、E7、L1 和 L2 的抗原。在一个实施方式中,融合蛋白的形式为: L2E7,如 WO96/26277 中所公开;和 PCT/EP98/05285 中所公开的蛋白 D (1/3) -E7。

优选的 HPV 子宫颈感染或癌症预防或治疗组合物可以包含 HPV16 或 18 抗原。例如, L1 或 L2 抗原单体、或一起作为病毒样粒子 (VLP) 存在的 L1 或 L2 抗原或在 VLP 或壳粒结构中单独存在的 L1 蛋白。这类抗原、病毒样粒子和壳粒本身是已知的。参见,例如 WO94/00152、WO94/20137、WO94/05792、和 WO93/02184。可以单独或以融合蛋白形式包括其他的早期蛋白,如 E7、E2 或优选 E5;它的具体的优选实施方式包括含有 L1E7 融合蛋白的 VLP (WO 96/11272)。在一个实施方式中,HPV16 抗原包括早期蛋白 E6 或 E7 与蛋白 D 载体融合形成来自 HPV 的蛋白 D-E6 或 E7 融合体、或它们的组合;或 E6 或 E7 与 L2 的组合 (WO 96/26277)。或者 HPV 16 或 18 早期蛋白 E6 和 E7 可以单个分子存在,优选为蛋白 D-E6/E7 融合体。这种组合物可以任选提供来自 HPV18 的 E6 和 E7 蛋白的任一种或两种,优选为蛋白 D-E6 或蛋白 D-E7 融合蛋白或蛋白 D-E6/E7 融合蛋白的形式。可以采用来自其他 HPV 菌株的其他抗原,优选来自 HPV31 或 33 菌株。

HIV 抗原

病原体可以 (例如) 为 HIV, 如 HIV-1。

因此,抗原可以选自 HIV 源抗原,具体为 HIV-1 源抗原。

HIV Tat 和 Nef 蛋白为早期蛋白,即,它们在感染早期表达,不存在结构蛋白。

Nef 基因编码早期 HIV 辅助蛋白,该蛋白已显示具有一些活性。例如,已知 Nef 蛋白引起 CD4 (HIV 受体) 从细胞表面移除,尽管此功能的生物学重要性还有争议。此外, Nef 与 T 细胞信号通路相互作用,诱导活性状态,

继而可以促进更有效的基因表达。一些 HIV 分离物在此区域具有突变或缺失，这使它们不编码功能蛋白并严重降低它们在体内的复制和致病性。

Gag 基因由全长 RNA 翻译产生前体多聚蛋白，该前体多聚蛋白随后被裂解为 3-5 个外壳蛋白；基质蛋白 p17、外壳蛋白 p24 和核酸结合蛋白（Fundamental Virology, Fields BN, Knipe DM and Howley M 1996 2. Fields Virology 第 2 卷 1996）。

Gag 基因产生 55 千道尔顿 (kd) 的 Gag 前体蛋白，也称为 p55，其由未剪接的病毒 mRNA 表达。在翻译期间，p55 的 N 末端被十四烷基化，从而触发其与细胞膜胞质方面的结合。膜结合的 Gag 多聚蛋白募集两个拷贝的病毒基因组 RNA 与触发病毒粒子从感染的细胞表面出芽的其他病毒和细胞蛋白。在出芽后，在病毒成熟过程中，p55 被病毒编码的蛋白酶（Pol 基因的产物）裂解成 4 个较小的蛋白，称为 MA（基质[p17]）、CA（外壳[p24]）、NC（核壳[p9]）、和 p6。（4）。

除了 3 个主要的 Gag 蛋白（p17、p24 和 p9）外，所有的 Gag 前体都含有几个其他的区域，它们被裂解并以各种大小的肽保留在病毒粒子中。这些蛋白具有不同的作用，例如，p2 蛋白在调控蛋白酶的活性中有作用并且有助于校正蛋白水解进程的时限。

MA 多肽源自 p55 的十四烷基化 N 末端。大部分 MA 分子仍然连接在病毒粒子脂质双层的内表面，稳定粒子。MA 的一个亚群在病毒粒子更深层内募集，它们在此处成为复合体的一部分保护病毒 DNA 到核。这些 MA 分子促进病毒基因组的核转运，因为 MA 上的亲核信号能够被细胞核输入机制识别。这种现象使得 HIV 能够感染未分裂的细胞，这是反转录病毒不常见的特性。

p24 (CA) 蛋白形成病毒粒子的锥形核。已证明亲环蛋白 (Cyclophilin) A 与 p55 的 p24 区域相互作用导致其整合到 HIV 粒子中。Gag 与亲环蛋白 A 之间的相互作用很重要，因为环孢霉素对这种相互作用干扰能抑制病毒复制。

Gag 的 NC 区域负责特异性识别 HIV 的所谓包装信号。包装信号由位于病毒 RNA 5'端附近的 4 个茎环结构构成，其足以介导异源 RNA 整合到 HIV-1

病毒中。NC 通过由两个锌指基序介导的相互作用结合至包装信号。NC 还能促进反转录。

p6 多肽区域介导 p55 Gag 与辅助蛋白 Vpr 的相互作用，导致 Vpr 整合到组装的病毒粒子中。p6 区域还含有晚期结构域，该晚期结构域是从感染的细胞有效释放出芽病毒粒子所需要的。

Pol 基因编码三种蛋白，这三种蛋白具有病毒在早期感染中所需要的活性：反转录酶 RT、蛋白酶和将病毒 DNA 整合到细胞 DNA 中所需的整合酶蛋白。Pol 的初级产物被病毒粒子蛋白酶裂解产生含有 DNA 合成所需活性（RNA 和 DNA 指导的 DNA 聚合酶、核糖核酸酶 H）的氨基末端 RT 肽和羧基末端整合酶蛋白。HIV RT 是的全长 RT (p66) 和缺乏羧基末端 RNase H 结构域的裂解产物 (p51) 的异二聚体。

RT 是反转录病毒基因组编码的保守性最高的蛋白之一。RT 的两种主要活性是 DNA Pol 和核糖核酸酶 H。RT 的 DNA Pol 活性可互换地使用 RNA 和 DNA 为模板，像所有已知的 NDA 聚合物一样能够从头开始 DNA 合成，但是需要预先存在的分子作为引物 (RNA)。

所有 RT 蛋白中所固有的 RNase H 活性在复制早期起重要作用，它随 DNA 合成的进行移除 RNA 基因组。它从所有的 RNA-DNA 杂合分子中选择性地降解 RNA。聚合酶和和 ribo H 在结构上在 Pol 内占有独立的、不重叠的结构域，覆盖了 Pol 三分之二的氨基。

p66 催化亚基折叠成 5 个不同的亚结构域。它们的氨基末端具有有 RT 活性的部分。它们的羧基末端为 RNase H 结构域。

在感染宿主细胞后，反转录病毒 RNA 基因组通过在感染粒子中存在的反转录酶复制成线性双链 DNA。整合酶（在 Skalka AM' 99 Adv in Virus Res 52 271-173 中的综述）识别病毒 DNA 末端，修整它们，将病毒 DNA 附接到宿主染色体位点以催化整合。宿主 DNA 的许多位点可以是整合的靶标。尽管整合酶足以催化体外的整合，但它并不是与体内病毒 DNA 有关的唯一蛋白-从感染的细胞分离的大的蛋白-病毒 DNA 复合体代表了前整合复合体。这有助于子代病毒基因组获得宿主细胞基因。

整合酶由 3 个不同的结构域组成，N 末端结构域、催化核心和 C 末端结

构域。催化核心结构域含有所有多核苷酸转移的化学需要。

因此，用于本发明的 HIV-1 源抗原可以（例如）选自 Gag（例如，全长 Gag）、p17（Gag 的一部分）、p24（Gag 的另一部分）、p41、p40、Pol（例如，全长 pol）、RT（Pol 的一部分）、p51（RT 的一部分）、整合酶（Pol 的一部分）、蛋白酶（Pol 的一部分）、Env、gp120、gp140 或 gp160、gp41、Nef、Vif、Vpr、Vpu、Rev、Tat 和它们的免疫原性衍生物和它们的免疫原性片段，尤其是 Env、Gag、Nef 和 Pol 以及它们的免疫原性衍生物和它们的免疫原性片段，包括 p17、p24、RT 和整合酶。HIV 疫苗可以包含对应于多种不同的 HIV 抗原的多肽和/或编码多肽的核苷酸，例如，2 或 3 或 4 或更多种可选自上述列表的 HIV 抗原。在单个融合蛋白中可以包含（例如）几个不同的抗原。可以采用各自为 HIV 抗原或不止一个抗原的融合体的不止一种第一免疫原性多肽和/或不止一种第二免疫原性多肽。

例如，抗原可以包含 Gag 或其免疫原性衍生物或免疫原性片段，其融合至 RT 或其免疫原性衍生物或免疫原性片段，融合至 Nef 或其免疫原性衍生物或免疫原性片段，其中融合蛋白的 Gag 部分存在于多肽 5' 末端。

根据本发明所用的 Gag 序列可以不包括 Gag p6 多肽编码序列。用于本发明的 Gag 序列的一个具体实例包含 p17 和/或 p24 编码序列。

RT 序列可以含有基本上灭活任何反转录酶活性的突变（参见 WO03/025003）。

RT 基因是 HIV 基因组中较大的 Pol 基因的组分。应了解根据本发明所采用的 RT 序列可以存在于 Pol 的上下文中，或者至少对应于 RT 的 Pol 片段。这种 Pol 的片段保留着 Pol 的主要 CTL 表位。在一个具体的实施例中，所包括的 RT 仅为 RT 的 p51 或 p66 片段。

根据本发明的融合蛋白或组合物的 RT 组分任选包含如下的突变：该突变移除作为原核表达系统内的起始位点的位点。

任选地，用于本发明的 Nef 序列被平截以移除编码 N 末端区域的序列，即，移除 30 至 85 个氨基酸，例如 65 至 85 个氨基酸，尤其是 N 末端的 65 个氨基酸（后一种平截在本文中称为 trNef）。或者或另外地，可以修饰 Nef 以移除十四烷基化位点。例如，Gly2 十四烷基化位点可以通过剔除或取代

来移除。或者或另外地，可以修饰 Nef 以改变 Leu 174 和 Leu175 的双亮氨酸基序，这通过剔除或取代一个或两个亮氨酸来达成。在 CD4 下调中亮氨酸基序的重要性描述于：例如 Bresnahan P.A.等人(1998) Current Biology, 8(22): 1235-8。

Env 抗原可以全长（如 gp169）或平截的（如 gp140）或更短的形式存在（任选具有适当的突变，该突变破坏 gp120 与 gp41 之间的裂解位点基序）。Env 抗原还可以其天然出现的加工形式（如 gp120 和 gp41）存在。这两种 gp160 的衍生物可以单独或一起组合使用。上述 Env 抗原还可以表现有缺失（尤其是可变环的缺失）和平截。也可以使用 Env 的片段。

示例性 gp120 序列示于 SEQ ID No 8 中。示例性 gp140 序列示于 SEQ ID No 6 中。

根据本发明的免疫原性多肽可以包含 Gag、Pol、Env 和 Nef，其中存在至少 75%、或至少 90%、或至少 95%，例如 96%的这些天然抗原的 CTL 表位。

在根据本发明的包含 p17/p24 Gag、p66 RT 和上文所定义平截 Nef 的免疫原性多肽中，适合存在天然 Gag、Pol 和 Nef 抗原的 96%的 CTL 表位。

本发明的一个实施方式提供含有 p17、p24 Gag、p66 RT、平截 Nef（缺乏编码末端氨基酸 1-85 的核苷酸-“trNef”）的免疫原性多肽，顺序为 Gag、RT、Nef。在编码本发明的免疫原性多肽的多核苷酸中，合适的是将 p24 Gag 和 P66 RT 进行密码子优化。

根据本发明的具体多核苷酸构建体和对应的多肽抗原包括：

- 1、p17、p24（密码子优化的）Gag-p66 RT（密码子优化的）-平截 Nef；
- 2、平截 Nef-p66 RT（密码子优化的）-p17、p24（密码子优化的）Gag；
- 3、平截 Nef-p17、p24（密码子优化的）Gag-p66 RT（密码子优化的）；
- 4、p66 RT（密码子优化的）-p17、p24（密码子优化的）Gag-平截 Nef；
- 5、p66 RT（密码子优化的）-平截 Nef-p17、p24（密码子优化的）Gag；
- 6、p17、p24（密码子优化的）Gag-平截 Nef-p66 RT（密码子优化的）；

示例性的融合体为 Gag、RT 和 Nef 的融合体，尤其是以 Gag-RT-Nef 的顺序（参见，例如 SEQ ID No 2）。另一示例性融合体是 p27、p24、RT

和 Nef 的融合体, 尤其是以 p24-RT-Nef-p17 的顺序 (参见, 例如 SEQ ID No 16, 在本文其他地方称为“F4”)。

在另一实施例中, 免疫原性多肽含有 Gag、RT、整合酶和 Nef, 尤其是以 Gag-RT-整合酶-Nef 的顺序 (参见, 例如 SEQ ID No4)。

在另一实施例中, HIV 抗原可以为融合多肽, 该融合多肽包含 Nef 或其免疫原性衍生物或其免疫原性片段、和 p17 Gag 和/或 p24 Gag 或其免疫原性衍生物或其免疫原性片段, 其中当 p17 和 p24 Gag 都存在时, 在它们之间至少有一个 HIV 抗原或其免疫原性片段。

例如, Nef 适宜为全长 Nef。

例如, p17 Gag 和 p24 Gag 分别适宜为全长 p17 和 p24。

在一个实施方式中, 免疫原性多肽包含 p17 和 p24 Gag 或它们的免疫原性多肽。在此构建体中, p24 Gag 组分和 p 17 Gag 组分被至少一个另外的 HIV 抗原或免疫原性片段隔开, 如 Nef 和/或 RT 或其免疫原性衍生物或其免疫原性片段。其他细节参见 WO2006/013106。

在包含 p24 和 RT 的融合蛋白中, 可能优选的是在构建体中 p24 在 RT 之前, 因为当抗原单独在大肠杆菌中表达时, 观察到 p24 比 RT 表达更好。

根据本发明的一些构建体包括下列:

- 1、p24-RT-Nef-p17
- 2、p24-RT*-Nef-p17
- 3、p24-p51RT-Nef-p17
- 4、p24-p51RT*-Nef-p17
- 5、p24-p51RT-Nef
- 6、p24-p51RT*-Nef
- 7、Nef-p17
- 8、具有连接子的 Nef-p17
- 9、p17-Nef
- 10、具有连接子的 p17-Nef

*表示 RT 甲硫氨酸₅₉₂突变为赖氨酸。

在另一方面, 本发明提供 HIV 抗原的融合蛋白, 该融合蛋白包含至少 4

个 HIV 抗原或免疫原性片段，其中四个抗原或片段是或衍生自 Nef、Pol 和 Gag。优选地，Gag 以被至少一个其他抗原隔开的两个单独组分存在于融合体中。优选地，Nef 为全长 Nef。优选地，Pol 为 p66 或 p51RT。优选地，Gag 为 p17 和 p24 Gag。本发明这个方面中融合体的抗原组分的其他优选特征和性质如本文所描述。

本发明此方面的优选实施方案为如上面已列出的四组分融合体：

- 1、p24-RT-Nef-p17
- 2、p24-RT*-Nef-P17
- 3、p24-p51RT-Nef-p17
- 4、p24-p51RT*-Nef-p17

本发明的免疫原性多肽在对应于如 Gag、RT 和 Nef 等特定抗原的序列之间可以存在连接子序列。此类连接子序列可以为（例如）长度上最多 20 个氨基酸。在一个具体实例中，它们可以为 1 至 10 个氨基酸、或 1 至 6 个氨基酸，例如 4 至 6 个氨基酸。

此类适合的 HIV 抗原的进一步说明可以参见 WO03/025003。

本发明的 HIV 抗原可以衍生自任何 HIV 进化枝，例如进化枝 A、进化枝 B 或进化枝 C。例如 HIV 抗原可以衍生自进化枝 A 或 B，尤其是 B。

在本发明的一个具体实施方式中，第一免疫原性多肽为包含 Gag 和/或 Pol 和/或 Nef 或它们中任何一种的片段或衍生物的多肽（如，p24-RT-Nef-p17）。在本发明的一个具体实施方式中，第二免疫原性多肽为包含 Gag 和/或 Pol 和/或 Nef 或它们中任何一种的片段或衍生物的多肽（如，Gag-RT-Nef 或 Gag-RT-整合酶-Nef）。

因此在一个具体实施方式中，包含 Gag 和/或 Pol 和/或 Nef 或它们中任何一种的片段或衍生物的多肽（如，p24-RT-Nef-p17）为第一免疫原性多肽，包含 Gag 和/或 Pol 和/或 Nef 或它们中任何一种的片段或衍生物的多肽（如，Gag-RT-Nef 或 Gag-RT-整合酶-Nef）为第二免疫原性多肽。

在本发明的另一具体实施方式中，第一免疫原性多肽为 Env 或其片段或衍生物，如 gp120、gp140 或 gp160（尤其是 gp120）。在本发明的一个具体实施方式中，第二免疫原性多肽为包含 Gag 和/或 Pol 和/或 Nef 或它们中任

何一种的片段或衍生物的多肽（如，p24-RT-Nef-p17）。

因此，在一个具体实施方式中，Env 或其片段或衍生物（如 gp120、gp140 或 gp160（尤其 gp120））为第一免疫原性多肽，包含 Gag 和/或 Pol 和/或 Nef 或它们中任何一种的片段或衍生物的多肽（如，p24-RT-Nef-p17）为第二免疫原性多肽。

在本发明的另一具体实施方式中，第一免疫原性多肽为包含 Gag 和/或 Pol 和/或 Nef 或它们中任何一种的片段或衍生物的多肽（如，p24-RT-Nef-p17）。在本发明的一个具体实施方式中，第二免疫原性多肽为 Env 或其片段或衍生物，如 gp120、gp140 或 gp160（尤其 gp120）。

因此，在一个具体实施方式中，包含 Gag 和/或 Pol 和/或 Nef 或它们中任何一种的片段或衍生物的多肽（如，p24-RT-Nef-p17）为第一免疫原性多肽，Env 或其片段或衍生物（如 gp120、gp140 或 gp160（尤其 gp120））为第二免疫原性多肽。

抗原的免疫原性衍生物和免疫原性片段

上述抗原可以其免疫原性衍生物或免疫原性片段而非整个抗原的形式采用。

如本文所用，术语“免疫原性衍生物”在涉及天然来源的抗原时是指抗原相对于其天然对应物进行了有限修饰。例如，它可以包括点突变，该点突变可以（例如）通过改善在原核系统中的表达或通过移除不希望的活性（如酶活性）改变蛋白的性质。然而，免疫原性衍生物应与天然抗原足够类似，以便保持它们的抗原性质并仍然能够引起抗天然抗原的免疫反应。给定的衍生物是否能引起这种免疫反应可以通过适宜的免疫分析测量，如 ELISA（用于抗体反应）或使用适宜的细胞标记物染色的流式细胞术（用于细胞反应）。

免疫原性片段是编码至少一个表位（例如，CTL 表位）的片段，通常为至少 8 个氨基酸的肽。认为长度为至少 8 个，例如 8-10 个氨基酸或最多 20、50、60、70、100、150 或 200 个氨基酸的片段在本发明的范围内，只要多肽表现出抗原性即可，也就是说多肽保留着主要的表位（如，CTL 表位）。

腺病毒

本发明的腺病毒载体包含一种或多种编码一种或多种免疫原性多肽的异源多核苷酸 (DNA)。

用于本发明的腺病毒载体可以源自许多哺乳动物宿主。

腺病毒 (本文称为“Ad”或“Adv”) 具有二十面体衣壳的特征性形态, 该二十面体衣壳由三种主要蛋白: 六位体 (II)、五位体基质 (III) 和多节纤维 (knobbed fibre, IV) 以及一些其他的次要蛋白 VI、VIII、IX、IIIa 和 IVa2 构成 (Russell W.C. 2000, Gen Virol, 81:2573-2604)。病毒基因组为线性双链 DNA, 其中末端蛋白共价连接到具有反向末端重复 (ITR) 的 5' 末端。病毒 DNA 与高碱性蛋白 VII 和称为 mu 的小肽紧密结合。另一蛋白 V 与 DNA-蛋白复合体一起包装, 经由蛋白 VI 提供与衣壳的结构连接。病毒还含有病毒编码的蛋白酶, 该蛋白酶是加工一些结构蛋白产生成熟的感染性病毒所需要的。

分离出了感染多种哺乳动物的 100 余种不同血清型的腺病毒, 其中的 51 种是人源的。因此一种或多种腺病毒载体可以源自人腺病毒。这种人源腺病毒的实例为 Ad1、Ad2、Ad4、Ad5、Ad6、Ad11、Ad 24、Ad34、Ad35, 尤其为 Ad5、Ad11 和 Ad35。人血清型根据一些生物、化学、免疫和结构上的标准分为 6 个亚属 (A-F)。

尽管 Ad5 基载体已广泛用于许多基因治疗试验中, 但是 Ad5 和其他 C 类腺病毒载体的使用可能有限制, 因为在一般人群中由于天然感染会预先存在免疫性。Ad5 和其他 C 类成员是血清普遍性最高的血清型。在治疗期间向载体的暴露可能会产生对已有载体的免疫。这些预先存在的或产生的对血清普遍性载体的免疫可能限制基因治疗或疫苗接种的效力。因此其他的腺病毒血清型在能够侵袭宿主免疫反应的基因递送系统的开发中构成了极为重要的靶标。

一种这种方面的其他血清型是源自非人的灵长类的那些, 尤其是黑猩猩腺病毒。参见美国专利 6,083,716, 其描述了两种黑猩猩腺病毒的基因组。

已经显示黑猩猩 (“Pan”或“C”) 腺病毒载体与人腺病毒载体一样有效地针对转基因产品诱导强免疫反应 (Fitzgerald 等人 J. Immunol. 170:1416)。

非人灵长类腺病毒可以从黑猩猩的肠系膜淋巴结分离。黑猩猩腺病毒与

C亚型人腺病毒类似足以使E1缺失的病毒在HEK 293细胞中复制。然而，黑猩猩腺病毒在种系发生上与更常见的人血清型（Ad2和Ad5）不同。Pan 6与Pan5、7和9相关性略低并且在血清学上与它们不同。

因此一种或多种腺病毒载体可源自非人的灵长类腺病毒，如黑猩猩腺病毒，如选自血清型Pan5、Pan6、Pan7和Pan9中的一种。

腺病毒载体可以源自不止一种腺病毒血清型，并且每种血清型可以来自相同或不同的来源。例如，它们可以源自不止一种人血清型和/或不止一种非人灵长类血清型。构建嵌合腺病毒载体的方法公开于WO2005/001103。

将异源DNA插入腺病毒可能伴有某些大小上的限制。人腺病毒具有包装最多野生型基因组长度的105%的能力（Bett等人1993, *J Virol* 67 (10), 5911-21）。已显示人腺病毒的包装下限为野生型基因组长度的75%（Parks等人1995, *J Virol* 71(4), 3293-8）。

用于本发明的腺病毒的一个实例是与人群中天然产生的普遍的血清型（如Ad2和Ad5）不同的腺病毒。这避免了诱导抗载体的强效免疫反应，抗载体的强效免疫反应能通过经由中和抗体并影响毒性而阻断载体吸收，从而限制随后给予相同血清型的效力。

因此腺病毒可以不是天然产生的普遍的人病毒血清型的腺病毒。自动物分离的腺病毒具有免疫原性不同的衣壳、六位体、五位体和纤维组分，但是在种系发生上很相近。具体地，病毒可为非人腺病毒，如猿腺病毒，尤其是黑猩猩腺病毒，如Pan5、6、7或9。这些菌株的实例描述于WO03/000283，可以得自美国标准培养物保藏中心（10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209）和其他来源。希望的黑猩猩腺病毒菌株为Pan 5 [ATCC VR-591]、Pan 6 [ATCC VR-592]、和Pan 7 [ATCC VR-593]。

据认为使用黑猩猩腺病毒比使用人腺病毒血清型有利，因为缺乏预先存在的对靶群体中腺病毒的免疫性，尤其是缺乏抗靶群体中腺病毒的交叉中和抗体。黑猩猩腺病毒与预先存在的中和抗体反应的交叉反应仅存在于2%的靶群体中，相比之下在某些候选的人腺病毒载体的情况下为35%。黑猩猩腺病毒与更常见的人亚型Ad2和Ad5不同，但是更接近人E亚组的Ad4，该亚型不是普遍的亚型。Pan 6与Pan5、7和9相关性稍差。

本发明的腺病毒可以是复制缺陷型的。这是指与野生型病毒相比其具有较低的在非补足 (non-complementing) 细胞中复制的能力。这可以通过突变病毒而产生, 例如通过剔除参与复制的基因, 例如剔除 E1a、E1b、E3 或 E4 基因。

根据本发明的腺病毒载体可以源自包含功能性 E1 缺失的复制缺陷型腺病毒。因此, 根据本发明的腺病毒载体可以是复制缺陷型的, 因为不存在表达腺病毒 E1a 和 E1b 的能力, 即, 在 E1a 和 E1b 中功能性缺失。重组腺病毒还可以具有其他基因的功能缺失[参见 WO03/000283], 例如, E3 或 E4 基因中的缺失。可以从形成重组病毒的一部分的腺病毒序列中移除腺病毒延迟早期基因 E3。E3 的功能不是产生重组腺病毒粒子所必须的。因此, 不需要为了包装可用于本发明的重组腺病毒而补偿 (replace) 该基因产物的功能。在一个具体实施方式中, 重组腺病毒具有功能上缺失的 E1 和 E3 基因。此类载体的构建描述于 Roy 等人, *Human Gene Therapy* 15:519-530, 2004。

重组腺病毒还可以被构建成具有功能缺失的 E4 基因, 尽管可能需要保留 E4 ORF6 功能。根据本发明的腺病毒载体还可以含有延迟早期基因 E2a 中的缺失。缺失还可以在腺病毒基因组的晚期基因 L1 至 L5 中的任何一个中进行。类似地, 也可以使用中间基因 IX 和 IVa 的缺失。

可以在其他的结构性或非结构性腺病毒基因中进行其他缺失。上述缺失可以单独使用, 即, 用于本发明的腺病毒序列可以仅含有 E1 缺失。或者, 可以任何组合使用能有效破坏其生物活性的整个基因或其部分的缺失。例如, 在一个示例性载体中, 腺病毒序列可以具有 E1 基因和 E4 基因缺失; 或 E1、E2a 和 E3 基因缺失; 或 E1 和 E3 基因缺失 (如 E1a 和 E1b 的功能缺失、和至少部分 E3 的缺失); 或具有或不具有 E3 缺失的 E1、E2a 和 E4 基因缺失等。这些缺失可以是这些基因的部分或全部缺失, 并且可以与其他突变 (如温度敏感性突变) 组合以达成所需的结果。

腺病毒载体可以在病毒能够在其中复制的任何适宜的细胞系中制备。具体地, 可以使用补足 (complementing) 细胞系, 该补足细胞系能提供病毒载体所丢失的削弱其复制特征的因子 (如 E1 和/或 E4)。不受限制, 此细胞系可以为 HeLa [ATCC 登录号 CCL 2]、A549 [ATCC 登录号 CCL 185]、

HEK 293、KB [CCL 17]、Detroit [例如, Detroit 510、CCL72]和 WI-38 [CCL 75]细胞等。这些细胞系均得自美国标准培养物保藏中心(10801 University Boulevard, Manassas, Virginia 20110-2209)。其他合适的亲本细胞系可以从其他来源获得,例如 PER.C6^o细胞,如在微生物应用与研究(Centre for Applied Microbiology and Research, CAMR, UK)的欧洲动物细胞培养物保藏中心(European Collection of Animal Cell Cultures, ECACC)以 ECACC no. 96022940 保藏的细胞;或 Her 96 细胞(Crucell)。

编码免疫原性多肽的多核苷酸序列可以针对哺乳动物进行密码子优化。这种密码子优化详细描述于 WO05/025614 中。某些 HIV 序列的密码子优化进一步描述于 WO03/025003 中。

在本发明的一个实施方式中,多核苷酸构建体包含 N 末端前导序列。信号序列、跨膜结构域和胞质结构域各自都任选地存在或缺失。在本发明的一个实施方式中,存在所有这些区域,但是它们被修饰。

用于根据本发明的腺病毒载体的启动子可以为来自 HCMV IE 基因的启动子,例如其中包括含外显子 1 的 HCMV IE 基因的 5'非翻译区域,并且完全或部分地排除了内含子 A,如 WO 02/36792 所述。

当几个抗原融合成融合蛋白时,该蛋白将在单个启动子控制下由多核苷酸编码。

在本发明的另一实施方式中。几个抗原可以通过单独的启动子独立表达,每个所述启动子可以相同或不同。在本发明的又一实施方式中,一些抗原可以形成连接到第一启动子的融合体,其他抗原可以连接到第二启动子,第二启动子可以与第一启动子相同或不同。

因此,腺病毒载体可以包含一个或多个表达框,每个表达框在一个启动子的控制下编码一种抗原。或者或另外,它可以含有一个或多个表达框,每个表达框在一个启动子的控制下编码不止一种抗原,这些抗原因因而表达成融合体。各表达框可以存在于腺病毒载体中的不止一个位置上。

编码待表达的免疫原性多肽的一种或多种多核苷酸可以插入任何腺病毒缺失区域,例如插入 E1 缺失区域。

尽管编码免疫原性多肽的两个或多个多核苷酸可以连接成融合体,但所

得蛋白可以表达成融合蛋白，或它可以表达成单独的蛋白产物，或它可以表达为融合蛋白然后降解成较小的亚基。

佐剂

佐剂大致描述于 Vaccine Design – the Subunit and Adjuvant Approach (例如, Powell 和 Newman, Plenum Press, New York, 1995)。

合适的佐剂包括铝盐，如氢氧化铝或磷酸铝，但也可以为钙、铁或锌盐，或者可以是酰化酪氨酸、或酰化糖、阳离子或阴离子衍生的多糖或聚磷腈的不溶性悬浮液。

在本发明的制剂中，优选的是佐剂组合物优先诱导 Th1 反应。然而，应当理解不排除其他反应，包括其他体液反应。

已知某些病毒佐剂特别适于刺激 Th1 或 Th2 型细胞因子反应。传统上在疫苗接种或感染后免疫反应的 Th1:Th2 平衡的最佳指示包括：在体外用抗原再刺激后直接测量 T 淋巴细胞产生的 Th1 或 Th2 细胞因子；和/或测量抗原特异性抗体反应的 IgG1:IgG2a 比率。

因此，Th1 型佐剂能够刺激分离的 T 细胞群体在体内（如在血清中测量）或离体（在体外用抗原再刺激细胞时测量的细胞因子）条件下产生高含量的 Th1 型细胞因子，并诱导与 Th1 型血清型相关的抗原特异性免疫球蛋白反应。

可以配制以产生适用于本发明的佐剂的优选 Th1 型免疫刺激剂包括但不限于限制为下列：

Toll 样受体 (TLR) 4 配体，尤其是激动剂，如脂质 A 衍生物，具体是单磷酸 (monophosphoryl) 脂质 A 或更具体为 3 脱酰单磷酸脂质 A (3D-MPL)。

3D-MPL 由 GlaxoSmithKline 以商标 MPLS[®] 出售，它主要促进 CD4⁺ T 细胞反应，CD4⁺ T 细胞的特征在于产生 IFN-g (Th1 细胞，即，具有 1 型表型的辅助性 CD4 T 细胞)。它可以根据 GB 2 220 211 A 中所公开的方法制备。从化学上讲，它是 3 脱酰单磷酸脂质 A 与 3、4、5 或 6 个酰化链的混合物。优选地，在本发明的组合物中使用小颗粒 3 D-MPL。小颗粒 3 D-MPL 具有使其可以通过 0.22 μ m 滤器无菌过滤的粒径。这类制剂描述于国际专利申请 No. WO94/21292 中。已知的认为是 TLR4 拮抗剂的脂质 A 的合成衍生

物包括,但不限于:

OM174 (2-脱氧-6-o-[2-脱氧-2-[(R)-3-十二烷酰氧基四-癸酰基氨基]-4-o-磷酰基-β-D-吡喃葡萄糖基]-2-[(R)-3-羟基四癸酰基氨基]-α-D-吡喃葡萄糖基二氢磷酸酯), (W0 95/14026)

OM 294 DP (3S, 9 R) -3--[(R)-十二烷酰氧基四癸酰基氨基]-4-氧代-5-氮杂-9(R)- [(R)-3-羟基四癸酰基氨基]癸-1,10-二醇,1,10-双(二氢磷酸酯) (W099/64301 和 W0 00/0462)

OM 197 MP-Ac DP (3S-, 9R) -3-[(R) -十二烷酰氧基四癸酰基氨基]-4-氧代-5-氮杂-9-[(R)-3-羟基四癸酰基氨基]癸-1,10-二醇,1 -二氢磷酸酯 10-(6-氨基己酸酯) (W001/46127)

可以使用的其他 TLR4 配体为烷基氨基葡萄糖苷磷酸酯 (AGP), 如 WO9850399 或 US6303347 中所公开的(还公开了制备 AGP 的方法)或 AGP 药学上可接受的盐(如 US6764840 中所公开)。一些 AGP 为 TLR4 激动剂, 一些为 TLR4 拮抗剂。认为两种都可用作佐剂。

皂苷也是根据本发明的优选 Th1 免疫刺激剂。皂苷是熟知的佐剂, 在 Lacaille-Dubois, M 和 Wagner H. (1996. A review of the biological and pharmacological activities of saponins. *Phytomedicine* 第 2 卷第 363-386 页)中提出。例如, Quil A (源自一种南美洲的树智利皂荚树 (*Quillaja saponaria molina*) 的树皮)及其级分, 描述于 US 5,057,540 和“Saponins as vaccine adjuvants”, Kensil, C.R., *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 1996, 12 (1-2):1-55; 和 EP 0 362 279 B1。已经描述了溶血性皂苷 QS21 和 QS17 (Quil A 的 HPLC 纯化级分) 为有效的全身性佐剂, 它们的制备方法公开于美国专利 No. 5057,540 和 EP 0 362 279 B1。这些参考文献中还描述了 QS7 (Quil-A 的非溶血性级分) 的用途, QS7 用作全身性疫苗的有效佐剂。QS21 的用途另外描述于 Kensil 等人 (1991. *J. Immunology* 第 146 卷, 431-437)。还已知了 QS21 和聚山梨醇酯或环糊精的组合 (WO 99/10008)。包含 Quil A 的级分 (如 QS21 和 QS7) 的微粒佐剂系统描述于 WO 96/33739 和 WO 96/11711。一种此类系统称为 Iscom, 可能含有一种或多种皂苷。

本发明的佐剂尤其可以包含 Toll 样受体 (TLR)4 配体 (尤其是 3D-MPL)

与皂苷的组合。

其他合适的佐剂包括 TLR9 配体（激动剂）。因此，另一优选的免疫刺激剂为含有未甲基化的 CpG 二核苷酸（“CpG”）的免疫刺激性寡核苷酸。CpG 是 DNA 中存在的胞嘧啶-鸟嘌呤二核苷酸基序的缩写。业内已知 CpG 在通过全身性和粘膜途径给予时作为佐剂（WO 96/02555；EP 468520；Davis 等人，*J. Immunol.*, 1998, 160(2):870-876；McCluskie 和 Davis, *J. Immunol.*, 1998, 161(9):4463-6）。从历史上看，据观察 BCG 的 DNA 级分可以施加抗肿瘤作用。在进一步的研究中，据显示源自 BCG 基因序列的合成寡核苷酸能够诱导免疫刺激性效应（体外和体内）。这些研究的作者推断某些回文序列（包括中心的 CG 基序）具有此活性。之后 CG 基序在免疫刺激中的主要作用在 Kreg 发表的文章（*Nature* 374, 第 546 页, 1995）中阐明。详细的分析显示 CG 基序需要在某些序列环境内，并且这些序列在细菌 DNA 中常见但在脊椎动物 DNA 中很罕见。免疫刺激性序列通常为：嘌呤、嘌呤、C、G、嘧啶、嘧啶；其中 CG 基序未被甲基化，但是其他已知为免疫刺激性的未甲基化 CpG 序列可用于本发明。

在六个核苷酸的某些组合中，存在回文序列。这些基序中的几个可以作为一个基序的重复或不同基序的组合存在于相同的寡核苷酸中。一种或多种含有这些免疫刺激性序列的寡核苷酸的存在可以激活多种免疫亚群，包括自然杀伤细胞（其产生干扰素 γ ，具有细胞毒活性）和巨噬细胞（Wooldrige 等人，第 89 卷（第 8 期），1977）。其他含有未甲基化 CpG 而不具有这种共有序列的序列也显示为免疫调节性的。

当 CpG 配制成疫苗时，它通常以游离溶液与游离的抗原一起给予（WO 96/02555；McCluskie 和 Davis，如上）或者共价结合至抗原（WO 98/16247）；或者与载体（如氢氧化铝）一起配制（肝炎表面抗原）Davis 等人，如上；Brazolot-Millan 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 1998, 95(26), 15553-8）。

可能关注到的其他 TLR9 激动剂包括含有免疫刺激性 CpG 基序的寡核苷酸和含 YpG 基序的寡核苷酸（Idera）。

上面所述的这些免疫刺激剂可以与载体一起配制，如脂质体、水包油乳液、和/或金属盐，包括铝盐（如氢氧化铝）。例如，3D-MPL 可以与氢氧化

铝 (EP 0 689 454) 或水包油乳液 (WO 95/17210) 一起配制; Q21 可以有利地与含胆固醇的脂质体 (WO 96/33739)、水包油乳液 (WO 95/17210) 或明矾 (WO 98/15287) 一起配制; CpG 可以与明矾 (Davis 等人, 如上; Brazolot-Millan, 如上) 或与其他阳离子载体一起配制。

免疫刺激剂的组合也是优选的, 具体是单磷酸脂质 A 和皂苷衍生物的组合 (WO 94/00 153; WO 95/17210; WO 96/33739; WO 98/56414; WO 99、12565; WO 99/11241), 更具体为 QS21 与 3D-MPL 的组合, 如 WO 94/00153 中所公开。或者, CpG 加上皂苷 (如 QS21) 的组合也形成用于本发明的有效佐剂。或者, 皂苷可以在脂质体中或在 Iscorn 中与免疫刺激性寡核苷酸一起配制。

因此, 适宜的佐剂系统包括 (例如) 单磷酸脂质 A (优选 3D-MPL) 与铝盐一起的组合 (如 WO00/23105 中所述)。

增强系统包括单磷酸脂质 A 与皂苷衍生物的组合, 具体为 QS21 与 3D-MPL 的组合, 如 WO 94/00153 中所公开; 或为反应原性较弱的组合物, 其中 QS21 在含有胆固醇的脂质体 (DQ) 中弱化, 如 WO 96/33739 中所公开。这种组合还可以包含免疫刺激性寡核苷酸。

因此, 一种实例性的佐剂包含 QS21 和/或 MPL 和/或 CpG。

一种具体的有效佐剂制剂包含在水包油乳液中的 QS21、3D-MPL 和生育酚, 它描述于 WO 95/17210 中, 是用于本发明的另一优选制剂。

另一优选的制剂仅包含 CpG 寡核苷酸或其与铝盐一起。

在本发明的另一方面, 提供一种制备本文所述疫苗制剂的方法, 其中该方法包括将根据本发明的一种或多种第一免疫原性多肽与合适的佐剂混合。

用于根据本发明的制剂的具体的优选佐剂如下:

- i) 3D-MPL + 在脂质体中的 QS21 (参见, 例如下面的佐剂 B)
- ii) 明矾+3D-MPL
- iii) 明矾+在脂质体中的 QS21+3D-MPL
- iv) 明矾+CpG
- v) 3D-MPL+QS21+水包油乳液
- vi) CpG

vii) 3D-MPL+QS21 (例如, 在脂质体中) +CpG

viii) QS21+CpG

优选地, 佐剂以脂质体、ISCOM 或水包油乳液形式存在。在本发明的一个实例性实施方式中, 佐剂包含水包油乳液。在本发明的另一个实例性实施方式中, 佐剂包含脂质体。

适宜的佐剂组分不含有任何病毒。因此, 合适的是, 根据本发明使用的组合物除了包含编码源自病原体的一种或多种第二免疫原性多肽的一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒之外不含有任何病毒。

组合物、剂量和给药

在本发明的方法中, 免疫原性多肽、腺病毒载体和佐剂并行给予。

通常佐剂与免疫原性多肽共同配制。合适地, 佐剂还与要给予的任何其他免疫原性多肽共同配制。

因此, 在本发明的一个实施方式中, 提供一种引起免疫反应的方法, 包括: 给予(i)一种或多种与佐剂共同配制的第一免疫原性多肽; 和(ii)包含一种或多种异源多核苷酸的一种或多种腺病毒载体, 所述一种或多种异源多核苷酸编码一种或多种第二免疫原性多肽; 其中一种或多种第一免疫原性多肽和佐剂、以及一种或多种腺病毒载体并行给予。

所谓“共同配制的”意指第一免疫原性多肽和佐剂包含在相同的组合物例如药物组合物中。

通常, 腺病毒载体包含在组合物例如药物组合物中。

或者, 一种或多种第一免疫原性多肽、一种或多种腺病毒载体和佐剂共同配制。

因此, 根据本发明提供了组合物, 其包含一种或多种免疫原性多肽、一种或多种腺病毒载体、和佐剂

根据本发明的组合物和方法可以包括使用不止一种免疫原性多肽和/或不止一种腺病毒载体。多种抗原的使用在引起对某些病原体(如HIV、结核分支杆菌、疟原虫属)的保护性免疫反应中是尤其有利的。根据本发明的组合物可以包含不止一种佐剂。

根据本发明所采用的组合物和方法通常可以包含载体，例如水性缓冲的载体。可以包含保护性组分，如糖。

组合物给予的量应足以转导靶细胞；并且提供足够水平的基因转移和表达；并且允许产生病原体特异性的免疫反应，从而提供预防或治疗有益效果，而没有不适当的不利效果或具有医学上可接受的生理效果，该量可以由医学领域内的那些技术人员确定。常规的和药学上可接受的给药途径包括但不限于：直接递送给视网膜和其他眼内递送方法、直接递送给肝、吸入、鼻内、静脉内、肌内、气管内、皮下、皮内、表皮、直肠、经口和其他胃肠外给药途径。如果需要，给药途径可以组合，或者根据基因产物或病况进行调整。给药途径主要取决于所治疗的病况的性质。最适宜的途径是肌内、皮内或表皮。

优选的靶向组织为肌肉、皮肤和粘膜。皮肤和粘膜是通常遇到大部分感染性抗原的生理部位。

当第一免疫原性多肽、佐剂和腺病毒载体不是共同配制时，不同的制剂（例如多肽/佐剂和腺病毒载体制剂）可以通过相同给药途径或不同给药途径给药。

本方法中组合物的剂量主要取决于诸如所治疗的病况、受试者的年龄、体重和健康状况等因素，因此在受试者之间可以不同。例如，治疗有效的成人或脊椎动物剂量通常在下列范围内：约 100 μ L 至约 100 mL 载体含有浓度约 1×10^6 至约 1×10^{15} 的病毒粒子、约 1×10^{11} 至 1×10^{13} 的病毒粒子、或约 1×10^9 至 1×10^{12} 的病毒粒子与约 1-1000 μ g、或约 2-100 μ g（例如约 4-40 μ g）的免疫原性多肽。剂量可以依据动物的大小和给药途径而变化。例如，对于肌肉注射的适宜的人或脊椎动物剂量（对于约 80 kg 动物）对于单个部位介于每 ml 约 1×10^9 至约 5×10^{12} 病毒粒子和 4-40 μ g 蛋白的范围内。本领域的技术人员可以根据给药途径、和采用该组合物的治疗或疫苗应用来调整这些剂量。

佐剂的量取决于佐剂和免疫原性多肽的性质、所治疗的病况和受试者的年龄、体重和健康状况。通常对于人类给药，每剂 1-100 μ g，例如 10-50 μ g 的佐剂量可能是合适的。

合适的是，通过以本发明的方法单次并行给予本发明的（一种或多种）

组合物来达成足够的免疫反应。然而，如果通过在第二次或后续情况（例如在一个月或两个月之后）给予另外剂量的第一免疫原性多肽、佐剂和腺病毒载体来进一步增强免疫反应，则这种提议也包含在本发明中。

我们发现在以本发明的方法单次并行给予本发明的（一种或多种）组合物之后通常可以引起有利的病原体特异性 CD4⁺和/或 CD8⁺ T 细胞反应。然而我们发现有利的病原体特异性抗体反应可能需要本发明的（一种或多种）组合物的第二次或另外的并行给药。

本发明的组分可以与诸如水、缓冲剂等任何适宜的药物赋形剂组合或一起配制。

实施例

佐剂制备

1) 根据 WO 95/17210 中所列的方法制备水包油乳液

乳液含有：42.72 mg/ml 鲨烯、47.44 mg/ml 生育酚、19.4 mg/ml 吐温 80。所得油滴大小约 180 nm。

将吐温 80 溶解于磷酸盐缓冲盐水（PBS）中得到在 PBS 中的 2% 溶液。

为提供 100 ml 的两倍浓缩液，将 5g DL α 生育酚和 5 ml 角鲨烯的乳液漩涡直至彻底混合。添加 90 ml PBS/吐温溶液并充分混合。然后将所得乳液通过注射器，最终通过使用 M110S 微流机进行微流化。所得油滴的大小为约 180 nm。

2) 用 QS21 和 MPL 制备水包油乳液

将无菌本体乳液添加至 PBS 中达到终浓度为 500 μ l 乳液/ml(v/v)。然后添加 3 D-MPL。然后在各组分添加之间添加 QS21，将中间产物搅拌 5 分钟。15 分钟后，检查 pH，如果需要用 NaOH 或 HCl 将其调整到 6.8 \pm 0.1。3D-MPL 和 QS21 的终浓度各自为 100 μ g/ml。

3) 制备脂质体 MPL

将脂质（如来自卵黄的或合成的磷脂酰胆碱）和胆固醇和 3D-MPL 在有

机溶剂中的混合物在真空下（或者在惰性气体流下）干燥。然后添加水溶液（如磷酸缓冲盐水），搅动容器直到所用脂质悬浮。然后将此悬浮液微流化直至脂质体大小降低至约 100 nm，然后通过 0.2 μm 的滤器无菌过滤。挤出或超声波可以代替此步骤。

通常，胆固醇：磷脂酰胆碱的比率为 1:4 (w/w)，添加水溶液使得胆固醇终浓度为 10 mg/ml。

MPL 的终浓度为 2 mg/ml。

脂质体的大小为约 100 nm，被称为 SUV（小单层囊泡small unilamellar vesicles）。脂质体本身随时间是稳定的，并且不具有促融合（fusogenic）能力。

4)制备佐剂 B (“adj B”)

将无菌的 SUV 本体添加到 PBS 中。PBS 组成为： Na_2HPO_4 : 9 mM; KH_2PO_4 : 48 mM; NaCl : 100 nM, pH 6.1。将 QS21 水溶液添加到 SUV 中。3D-MPL 和 QS21 的终浓度各自为 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。该混合物称为佐剂 B。在各个组分添加之间，将中间产物搅拌 5 分钟。检查 pH，如果需要，用 NaOH 或 HCl 将其调整到 6.1 \pm 0.1。

制备 p24-RT-Nef-P17 蛋白 (“F4”)

按照 WO2006/013106 实施例 1，密码子优化方法制备 F4。

制备含有 Gag-RT-Nef 转基因的黑猩猩腺病毒 Pan7 (“Pan7GRN”)

构建 Gag、RT、Nef 质粒

质粒 p73i-Tgrn

Tgrn 质粒插入片段的全长序列在 SEQ ID No 1 中给出，质粒构建在图 1 中示意性示出。它含有 p17、p24（密码子优化）Gag、p66RT（密码子优化和灭活的）和平截的 Nef。

按照 WO03/025003 实施例 1-13 中所述制备质粒 P73i-Tgrn。

构建 E1/E3 缺失的 Pan 7 腺病毒

按照 WO2006/120034 实施例 1 中所述制备 E1/E3 缺失的 Pan 7 腺病毒。

载体的其他血清型可以类似的方法构建。在这个或其他的 Pan 腺病毒血清型中的 E1、E3 和 E4 缺失的构建的完整说明在 WO03/0046124 中给出。其他信息也可见于 Human Gene Therapy 15:519-530。

Gag、RT、Nef 序列插入到腺病毒中。

按照 WO2006/120034 实施例 3 中所述使用质粒 P73i-Tgrn 将 GRN 表达框插入 E1/E3 缺失的 Pan 7 腺病毒中制备 C7-GRNc。C7-GRNc 是本文所列的实施例中所用的 Pan7GRN 腺病毒组分。

实施例 1

用腺病毒组分 (Pan7GRN) 和蛋白组分 (F4/佐剂 B) 单独免疫或用腺病毒和蛋白组分一起共同配制的制剂免疫的小鼠中的免疫原性研究

所用的小鼠株系为 CB6F1，每个时间点用 3 只小鼠。对于用 F4/佐剂 B (P) 进行的免疫，注射 1/10 的人剂量，即，9 μ g F4 蛋白/50 μ l 佐剂 B。对于用 Pan7GRN (A) 进行的免疫使用的是 10×10^8 病毒粒子/50 μ l 盐水 (对于注射液为 0.9% NaCl 水)。Pan7GRN 黑猩猩腺病毒携带编码 Gag(G)、RT (R) 和 Nef (N) 的基因。

疫苗接种方案如下：

组别	第 0 天	第 21 天	第 42 天	第 63 天
1	-	-	F4/adj B	F4/adj B
2	-	-	Pan7GRN	Pan7GRN
3	F4/ adj B	F4/adj B	Pan7GRN	Pan7GRN
4	Pan7GRN	Pan7GRN	F4/adj B	F4/adj B
5	-	-	-	F4/adj B/ Pan7GRN
6	-	-	F4/adj B/	F4/adj B/

			Pan7GRN	Pan7GRN
7	-	-	adj B	adj B
8	-	-	-	-

因此，可以看出在组 1 和组 2 中，小鼠分别用蛋白(pp)或腺病毒(AA)注射 2 次免疫。来自组 3 和 4 的小鼠接受传统的初免-加强方案：蛋白然后腺病毒(PPAA)或者另一种反向方式 (AAPP)，而组 5 和 6 中，小鼠接受一次或两次根据本发明的蛋白和腺病毒组合在一起 (combo) 的注射。来自组 7 的小鼠仅接受佐剂对照，而来自组 6 的小鼠未接受注射 (naive)。

进行下列读出：

抗体反应（对来自各组的各个动物的血清进行 ELISA）：

- 抗 F4 的抗体反应（图 4）
- 抗 F4 组分 p24、RT、Nef 和 p17 的抗体反应（图 5-8）

细胞反应（图 2-3）

- 通过如下方法测量：用 p24、RT、Nef 或 p17 的库 (pool) 再次刺激脾细胞过夜，然后进行表面和细胞内细胞因子染色，之后进行流式细胞术分析。每个时间点每组收集 3 只小鼠的脾细胞用于分析。

对于组 1 和 2，在相应的最后免疫之后 21 天取样测量。对于剩余的组，在相应的最后免疫之后 21 天、56 天和 112 天进行测量。

结果：

结果示于图 2-8 中。

X 轴标记如下对应：

- PP – 在第二次免疫后的组 1 动物
- AA – 在第二次免疫后的组 2 动物
- PPAA – 在第四次免疫后的组 3 动物
- AAPP – 在第四次免疫后的组 4 动物
- Combo – 免疫后的组 5 动物
- Combo × 2 – 第二次免疫后的组 6 动物

测量时间点（最后免疫之后 21、56 或 112 天）示于括号中。

细胞反应 (图 2-3):

在所分析的时间点, 数据显示主要观察到抗 p24、RT 和 Nef 的 CD4+ T 细胞反应。

如图 2a 和 2b (左侧栏) 所示, 最后免疫之后 21 天, 观察到两次腺病毒免疫之后进行两次蛋白/佐剂免疫(组 4 动物)具有最高的 CD4+ T 细胞反应。用 p24、RT 或 Nef 肽再次刺激之后, (发现) 注射一次腺病毒/蛋白/佐剂的组合比注射两次蛋白/佐剂诱导更高的 CD4+ T 细胞水平。对于 RT 和 Nef 再次刺激, 用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫两次诱导的 CD4+ T 细胞反应比用该组合免疫一次诱导的略高, 而对于 p24, 用一次或两次免疫的反应相同。

在所分析的时间点, 主要观察到抗 p24 和 RT 肽的 CD8+ T 细胞反应, 没有检测到显著数量的对 Nef 或 p17 特异性的 CD8+ T 细胞。如图 2a 和 2b (右侧栏) 中所示, 在最后免疫后 21 天, 用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫一次或两次后 CD8+ T 细胞反应类似。在 (i) 用腺病毒免疫两次或 (ii) 用腺病毒免疫两次然后用蛋白免疫两次或 (iii) 用腺病毒/蛋白/佐剂免疫的组合免疫一次或两次的组中, 观察到抗 p24 的 CD8 反应各自相当并且比来自用蛋白免疫两次然后用腺病毒免疫两次的组中的反应略低。观察到在用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫一次或两次的组中, 抗 RT 的 CD8 反应相当并且比以下组的反应略低 (i) 用腺病毒免疫两次或 (ii) 用腺病毒免疫两次然后用蛋白免疫两次或 (iii) 用蛋白免疫两次然后用腺病毒免疫两次。

还在较晚的时间点 (最后免疫之后 56 和 112 天) 分析了 CD4 和 CD8 T 细胞反应, 这些时间点可以测定反应的持久性 (图 3a 和 3b)。主要观察到抗 p24、RT 和 Nef 的 CD4 反应 (图 3a 和 3b, 左侧栏)。在这些时间点, 在用腺病毒免疫两次然后用蛋白免疫两次的动物中观察到了最高的 CD4 反应。观察到在用腺病毒/蛋白/佐剂免疫一次或两次的小鼠中, CD4 反应彼此相当, 并且一般高于用蛋白免疫两次然后用腺病毒免疫两次的组中所观察到的反应。

在较晚的时间点, 抗 p24 的 CD8 反应在用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫一次的组中最高 (图 3b, 右侧栏)。其与用蛋白免疫两次然后用腺病毒免

疫两次的动物中的反应相当，并且略高于 (i) 用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫两次或 (ii) 用腺病毒免疫两次然后用蛋白免疫两次的动物的反应。后两者彼此相当。下组中抗 RT 的 CD8 反应最高并且类似 (i) 用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫两次或 (ii) 用腺病毒免疫两次然后用蛋白免疫两次。(i) 用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫两次或 (ii) 用蛋白免疫两次然后用腺病毒免疫两次的组中的抗 RT 的 CD8 反应略低，但是它们彼此相当 (图 3)。如图 3a (右侧栏) 中所示，没有检测到显著数量的 Nef 或 p17 特异性的 CD8+ T 细胞。

抗体反应:

如图 4 至 8 所示，检测到的抗体反应主要是抗 p24 (图 5)、RT (图 6) 和 Nef (图 8) 的。抗 F4 (图 4) 反应大致类似于所观察到的抗 p24、RT 或 Nef 组分各自的反应，特点如下:

- 在 (i) 用腺病毒免疫两次或 (ii) 用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫一次的组中检测到低乃至无抗体反应;

- 免疫后 21 天在用蛋白免疫两次的组中通常检测到最高的抗体反应。然而，在该组中还检测到个体间最高的变异性。此外，对于抗 Nef 血清学，用腺病毒免疫两次然后用蛋白免疫两次的组与其他组相比似乎显示最高的反应;

- 在 (i) 用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫两次或 (ii) 用蛋白免疫两次然后用腺病毒免疫两次或 (iii) 用腺病毒免疫两次然后用蛋白免疫两次的组中所观察到的反应相当，峰值在免疫后 21 天，然后随时间稍微降低。

在所有组中抗 p17 的抗体反应 (图 7) 都极低乃至不可检测。

结论:

总体上，在四次免疫后的 AAPP 处理组观察到最高的抗原特异性的细胞介导的免疫反应。然而，当比较两次免疫后的组 (即，AA、PP 和 2 × combo 组) 时，仅在用蛋白/腺病毒/佐剂的组合免疫两次的组中观察到了抗原特异性 CD4 和 CD8 T 细胞反应两者的诱导。此外，在单次注射蛋白/腺病毒/佐剂

组合之后可以达成相似水平的 CD4 和 CD8 T 细胞反应。此外，在持久性方面，在用蛋白/腺病毒/佐剂组合第 2 次免疫之后 112 天所观察到的抗原特异性 T 细胞反应与在 AAPP 处理组中 4 次免疫之后 112 天所观察到的抗原特异性 T 细胞反应相当。最后，似乎需要用蛋白/腺病毒/佐剂组合免疫 2 次以获得与用加佐剂的蛋白免疫两次的组（一般提供最高的抗体反应的组）所获得的抗体反应相当的抗体反应。

实施例 2

在用 Pan7GRN 腺病毒和 F4 蛋白/佐剂 B 一起共同配制的制剂免疫的小鼠中的免疫原性研究

所用的小鼠株系为 CB6F1，每组 9 只小鼠。用 F4 蛋白（注射 1/10 人剂量，即，9 μg ）与在 50 μL 佐剂 B 或其稀释液（1/2、1/4 或 1/10）中的 10×10^8 个 Pan7GRN 病毒粒子一起的共制剂免疫小鼠一次。在免疫后 21 天测定抗 Nef、p17、p24 或 RT 肽库的 CD4 和 CD8 细胞反应（每组 3 个脾的 3 个库）。

进行下列读出：

细胞反应（图 9）：

-通过如下方法测量：用 p24、RT、Nef 或 p17 肽库再次刺激脾细胞过夜，然后进行表面和细胞内细胞因子染色，之后进行流式细胞术分析。收集脾细胞用于分析（每组 3 个脾的 3 个库）。

结果：

图 9 中所示的结果表示用 p24 或 RT 肽库再次刺激后所观察到的细胞反应。

X 轴标记对应如下：

Adj B – 用 9 μg F4/10⁸vpPan7GRN/未稀释的佐剂 B 免疫的小鼠

1/2 Adj B – 用 9 μg F4/10⁸vpPan7GRN/1/2 稀释的佐剂 B 免疫的小鼠

1/4 Adj B – 用 9 μg F4/10⁸vpPan7GRN/1/4 稀释的佐剂 B 免疫的小鼠

1/10 Adj B – 用 9 μg F4/10⁸vpPan7GRN/1/10 稀释的佐剂 B 免疫的小鼠

空白 - 空白小鼠（未免疫）

结果表明主要观察到抗 p24 和 RT 的 CD4（图 9，左侧栏）和 CD8（图 9，右侧栏）反应，RT 特异性的 CD8 T 细胞反应低于 p24 特异性的 CD8 T 细胞反应。此外，结果表明在用未稀释的佐剂 B 或其 1/2 稀释液免疫的组在免疫后 21 天抗 p24 和 RT 的 CD4 反应类似。当佐剂 1/4 稀释时，这些 CD4 反应趋于降低。当佐剂 B 以 1/10 稀释时，所观察到的 CD4 反应与用佐剂 B 的 1/4 稀释液免疫的组中的 CD4 反应类似。佐剂 1/2 稀释或不稀释时，抗 p24 的抗 CD8 反应相当。然而，当佐剂 B 1/4 稀释时，反应降低，如果 1/10 稀释，甚至降低更多。相比之下，这些趋势没有在抗 RT CD8 反应中看到，其中没有所用佐剂剂量的真正剂量范围效应。

结论：

通过单次给予含有免疫原性多肽、含有编码免疫原性多肽的异源多核苷酸的腺病毒载体和佐剂的组合物，诱导了抗 F4 组分的 CD4+细胞和 CD8+细胞，即使在佐剂被稀释时也如此。佐剂稀释的影响依据所关注的抗原特异性 CD4 或 CD8 反应而不同。具体地，观察到的最高的反应是抗 p24 的，抗 p24 CD4 和 CD8 T 细胞反应显示出与组合疫苗中所用的佐剂剂量相关的剂量范围效应。尽管对于抗 RT CD4 T 细胞反应可以观察到相同的效应，但 combo 中所用的佐剂剂量的剂量范围效应不如抗 RT CD8 T 细胞反应明确。最后，如果我们考虑总体的抗原特异性 CD4 和 CD8 T 细胞反应并将抗 4 种抗原的反应加起来，则可以观察到剂量范围。

实施例 3

在用 Pan7GRN 免疫或用 F4/佐剂 B 顺序免疫或用腺病毒和蛋白组分一起共同配制的制剂免疫的新西兰白兔中的免疫原性研究

对于用 F4/佐剂 B 进行的免疫，注射人剂量，即，90 µg F4 蛋白/500 µL 佐剂 B。对于用 Pan7GRN 进行的免疫，使用 10×10^{10} 或 10×10^{12} 病毒粒子/500 µL 盐水。对于用腺病毒和蛋白组分一起共同配制的制剂进行的免疫，

使用每 500 μL 佐剂 B 90 μg F4 蛋白、 10×10^{11} Pan7 GRN 病毒粒子。

疫苗接种方案如下：

组别	第 0 天	第 14 天	第 126 天
1	F4/adj B	F4/adj B	F4/adj B
2	Pan7GRN 10^{10}		Pan7GRN 10^{10}
3	Pan7GRN 10^{12}		Pan7GRN 10^{12}
4	F4/adj B/ Pan7GRN 10^{11}	F4/adj B/ Pan7GRN 10^{11}	F4/adj B/ Pan7GRN 10^{11}

除组 1 仅包括 2 只兔子外，每组 3 只兔子。

进行下列读出：

抗体反应（对来自各组的各个动物的血清进行 ELISA）：

- 抗 F4 的抗体反应
- 抗 F4 组分 p24、RT、Nef 和 p17 的抗体反应

淋巴增殖性反应

通过外周血单核细胞（在密度梯度后从全血分离）对氘标记的胸腺嘧啶的吸收来测定淋巴增殖，该外周血单核细胞在体外经 Nef、p17、p24 和/或 RT 肽库再刺激 88 小时，孵育的最后 16 小时存在氘标记的胸腺嘧啶。

结果：

淋巴增殖性反应：

如图 10 中所示，在用蛋白免疫两次的组中观察到了最高的淋巴增殖性反应。在用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫两次的动物中的淋巴增殖性反应在该组的所有兔子中都观察到了。事实上它在一次注射后达到峰值并且在第三次注射腺病毒/蛋白/佐剂的组合后进一步恢复（与第一次注射后水平相似），这表明前两次注射没有诱导中和反应，该中和反应将抑制对任何再进行类似注射的反应。在其强度方面，在用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫的兔子中所观察到的增殖性反应与用 10^{12} 腺病毒的病毒粒子免疫一次或两次的动物中

观察到的增殖性反应相当，并且高于用 10^{10} 腺病毒的病毒粒子免疫一次或两次的动物中的增殖性反应。总之，这表明使用腺病毒/蛋白/佐剂的组合可以降低使用的腺病毒剂量。最后，在第三次注射腺病毒/蛋白/佐剂的组合后，在组 4 中观察到的反应与用蛋白免疫 3 次的动物（组 1）的反应类似。

血清学：

如图 11 所示，在用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫两次的动物中所观察到的抗 F4 抗体反应的动力学与用蛋白免疫两次的动物的动力学类似：其在第二次注射后 7 天检测到，然后随时间降低。然而，在强度方面，用腺病毒/蛋白/佐剂的组合免疫两次的动物的抗 F4 反应与用蛋白免疫两次的动物的抗 F4 反应相比在后期时间点（第二次免疫后 21 和 63 天）仍然较高。在用 10^{10} 腺病毒的病毒粒子免疫一次的兔子中没有观察到抗 F4 抗体反应。在用 10^{12} 腺病毒的病毒粒子免疫一次的兔子中，仅在免疫后 21 和 63 天检测到抗 F4 反应。在那个组中，在免疫时间点后 63 天（d77）观察到了反应的高度变异性，这是由于（3 只动物中的）一只动物展示出抗不同 F4 组分的较高效价，尤其是抗 p24 和 RT，如分别在图 12a 和 12b 中所示。抗 F4 抗体反应主要由靶向 p24 和 RT 的抗体以及明显较小程度的 Nef 和 p17 抗体构成。

结论：

在两次注射含有免疫原性多肽、含有编码免疫原性多肽的异源多核苷酸的腺病毒载体和佐剂的组合物后，可以在兔子中诱导淋巴增殖性反应和抗体反应。此外，我们证明淋巴增殖性反应可以在第三次注射此组合物之后恢复。最后，观察到的最佳的抗体反应（强度和持久性方面）是用腺病毒/蛋白/佐剂的组合引起的抗体反应。

实施例 4

在 CB6F1 小鼠中 F4（密码子优化的）/佐剂 B 和 C7-GRN 组合给予时的免疫原性

实验设计

用下列不同的组合免疫 CB6F1 小鼠两次（第 0 天和 21 天）。以 50 μ l 佐剂 B 中 9 μ g F4co/动物（1/10 人剂量）使用 F4co/佐剂 B。实施例 4 中的 F4co 如 WO2006/013106 实施例 1 的密码子优化方法中所述制备的 F4。

组合

C7-GRN

C7-GRN/佐剂 B

C7-GRN/F4co

C7-GRN/F4co/佐剂 B

F4co

F4co/佐剂 B

佐剂 B

C7 空白

C7 空白/佐剂 B

C7 空白/F4co

C7 空白/F4co/佐剂 B

免疫方案和免疫反应分析

在第 0 天和第 21 天进行免疫。在第 21 天、28 天（第 2 次免疫后 7 天）、42 天（第 2 次免疫后 21 天）、和 77 天（第 2 次免疫后 56 天）进行胞内细胞因子染色（ICS）。

结果

HIV 特异性 CD4 T 细胞反应

结果显示在下列图中：

图 13. HIV-1 特异性 CD4 T 细胞的定量。示出了在 4 个时间点，对于各个免疫方法，分泌 IFN- γ 和/或 IL-2 的 CD3 CD4 T 细胞的百分比。在离体条件下，用含有 F4 序列的肽库刺激外周血淋巴细胞（PBL）（2 小时后添加布雷菲德菌素（Brefeldin），然后过夜），通过 ICS 测量细胞因子的产生。每

个值是 3 只小鼠的 5 个库的几何平均值。

图 14. 在两次免疫后 7 天 F4 特异性 CD4 T 细胞的频率分布。 示出了对于各个方法，在两次免疫后 7 天 F4 特异性循环 CD4 T 细胞的频率。每个点表示 3 只小鼠的一个库所获得的值。

图 15. 在两次免疫后 7 天 F4 特异性 CD4 T 细胞的细胞因子的产生。 示出了对于 3 只小鼠的 5 个库，分泌 IFN- γ 和/或 IL-2 的 F4 特异性 CD4 T 细胞的百分比。示出了用 F4co/佐剂 B (A)、F4co/佐剂 B/C7 空白(B)和 F4co/佐剂/C7-GRN (C)免疫的结果。

F4 特异性循环 CD4 T 细胞频率在用 F4co/佐剂 B 组合免疫两次后 21 天达 2.82%，在免疫后 56 天降至 0.91% (图 13)。两次剂量的单独 C7-GRN 病毒在最后免疫后 21 天产生 0.52% 的 F4 特异性循环 CD4 T 细胞，佐剂 B 的存在不会改变此反应。

在 F4co/佐剂 B 混合物之外，空载体 C7 或重组 C7-GRN 病毒的存在不增加或干扰 F4 特异性 CD4 T 细胞反应的频率 (最后免疫后 21 天分别为 3.58% 和 2.82%)。即使不进行统计分析，群体分布也表明 F4 特异性 CD4 T 细胞反应的强度在 F4co/佐剂 B、F4co/佐剂 B/C7 空白和 F4co/佐剂 B/C7-GRN 三种方法之间没有不同 (图 14)。

如所预料的，给予没有佐剂 B 的 F4co 不会诱导显著的 F4 特异性 CD4 T 细胞。

细胞因子产生的曲线图显示，在用 F4co/佐剂 B 免疫后，F4 特异性 CD4 T 细胞分泌 IFN- γ 和 IL-2 两者。免疫方法中添加 C7 空白或 C7-GRN 不改变此曲线图。

因此，这些数据表明，在用 F4co/佐剂 B 组合免疫后得到最高的 F4 特异性 CD4 T 细胞反应，C7-GRN 病毒的存在不会改善或改变这种反应。

抗原特异性 CD8 T 细胞反应

结果显示在下列图中

图 16. HIV-1 特异性 CD8 T 细胞的定量。 示出了在 4 个时间点，对于各个免疫方法，分泌 IFN- γ 和/或 IL-2 的 CD3 CD8 T 细胞的百分比。在离体条

件下，用含有 F4 序列的肽库刺激外周血淋巴细胞（PBL）（2 小时后添加布雷菲德菌素，然后过夜），通过 ICS 测量细胞因子产物。每个值是 3 只小鼠的 5 个库的几何平均值。

图 17. 在两次免疫后 7 天 F4 特异性 CD8 T 细胞的细胞因子产生。示出了对于 3 只小鼠的 5 个库，分泌 IL-2 和/或 IFN- γ 的 F4 特异性 CD8 T 细胞的百分比。示出了用 C7-GRN (A)、C7-GRN /佐剂 B (B)和 C7-GRN+F4co/佐剂 B (C)免疫的结果。

在一次注射后，重组载体 C7-GRN 诱导高频率的 F4 特异性循环 CD8 T 细胞（9.70%的总 CD8 T 细胞，免疫后 21 天）（图 4）。第二次注射没有加强 F4 特异性 CD8 T 细胞反应。F4co/佐剂 B 组合诱导很低乃至不可检测的 F4 特异性 CD8 T 细胞，添加这种组合到 C7-GRN 不会改善或削弱 F4 特异性 CD8 T 细胞反应。

当将佐剂 B 添加到 C7-GRN 中时 F4 特异性 CD8 T 细胞反应被延迟，但是在第二次免疫后 21 天达到与 C7-GRN 单独或 C7-GRN/F4co/佐剂 B 组合相同的水平。

C7-GRN 载体单独或与 F4co/佐剂 B 组合注射时，F4 特异性 CD8 T 细胞都主要分泌 IFN- γ （图 17）。

有趣的是，F4 特异性 CD8 T 细胞反应持续到最后免疫后 56 天而没有下降，这表明 C7 载体引起高且持久的 CD8 T 细胞。

结论

F4co/佐剂 B 疫苗在 CB6F1 小鼠中诱导高频率的多功能 HIV 特异性 CD4 T 细胞但非 HIV 特异性 CD8 T 细胞。在相同的动物模型中，表达 Gag、RT 和 Nef 的重组腺病毒 C7（Ad C7-GRN）诱导很高的抗原特异性 CD8 T 细胞反应以及很低乃至不可检测的抗原特异性 CD4 T 细胞反应。F4/佐剂 B 和 Ad C7-GRN 的组合同时引起抗原特异性的 CD4 和 CD8 T 细胞两者。F4co、佐剂 B 和 C7-GRN 三种组分的组合同时引起最高水平的抗原特异性 CD4 和 CD8 T 细胞两者。组合 F4/佐剂 B 和 Ad C7-GRN 对两种细胞免疫反应的强度具有叠加效应。此模型中抗原特异性 CD4 T 细胞反应对抗原特异性 CD8 T

细胞反应的功能性的作用仍待测定。

实施例 5

表达恶性疟原虫 CSP 蛋白的 CS2 构建体的黑猩猩腺病毒 C7 (C7-CS2) 单独给予时的免疫原性

实验设计:

用表达 CSP 疟疾抗原的 C7 黑猩猩腺病毒的剂量范围 (10^{10} 、 10^9 & 10^8 病毒粒子) 肌内免疫 CB6F1 小鼠一次, 在注射后 21、28 和 35 天通过 ICS (胞内细胞因子染色) 测定 CSP 特异性 (C-末端和 N-末端) CD4 和 CD8 T 细胞反应。

CSP 特异性 CD4 T 细胞反应

结果显示于下列图中:

图 18. CSP 特异性 CD4 T 细胞的定量。 示出了在三个时间点, 对于各个方法, 分泌 IFN- γ 和/或 IL-2 的 CD4 T 细胞的百分比。在离体条件下, 用含有 CSP N-末端或 CSP C-末端序列的肽库刺激外周血淋巴细胞 (PBL) (2 小时后添加布雷菲德菌素, 然后过夜), 通过 ICS 测量细胞因子产物。对 C 末端和 N 末端肽库的反应进行合计, 每个值是 4 只小鼠的 5 个库的几何平均值。

图 19. CSP 特异性 CD8 T 细胞的定量。 示出了在三个时间点, 对于各个免疫方法, 分泌 IFN- γ 和/或 IL-2 的 CD8 T 细胞的百分比。在离体条件下, 用含有 CSP N-末端或 CSP C-末端序列的肽库刺激外周血淋巴细胞 (PBL) (2 小时后添加布雷菲德菌素, 然后过夜), 通过 ICS 测量细胞因子产物。对 C 末端和 N 末端肽库的反应进行合计, 每个值是 4 只小鼠的 5 个库的几何平均值。

这些结果表明 10^{10} 和 10^9 剂量的 C7-CS2 引起类似水平的 CSP 特异性 CD4 T 细胞反应 (峰值为 0.5%) 和类似水平的 CSP 特异性 CD8 T 细胞反应 (峰值为 8%)。在随后的实验中选择 10^{10} 的 C7-CS2 剂量, 其中测试了 C7-CS2

与 RTS,S 组合的免疫原性（参见下文）。

实施例 6

当 C7-CS2 与 RTS,S 组合给予时在 CB6F1 小鼠中的免疫原性

实验设计：

用在 50 μ l 佐剂 B 中的疟疾疫苗候选物 RTS,S (5 μ g) 的组合（在下面的图中称为 P-P-P）或在 50 μ l 佐剂 B 中的 RTS,S (5 μ g) 与 C7-CS2 (10^{10} 病毒粒子) 的组合（在下图中称为 C-C-C）肌肉免疫 CB6F1 小鼠三次（第 0、14、28 天）。在下列时间点测定 CSP 特异性（C 末端和 N 末端）CD4 和 CD8 T 细胞反应：

- 2 次免疫后 7 天

- 3 次免疫后 7、21、35 和 49 天

通过 ICS（胞内细胞因子染色）测定 CSP 特异性 T 细胞反应。

还在第 3 次免疫后 14 和 42 天通过 ELISA 测定了来自免疫动物的血清中的 CSP 特异性抗体反应。

CSP 特异性 CD4 T 细胞反应

结果显示在下列图中：

图 20. CSP (N-末端) 特异性 CD4 T 细胞的定量。示出了在五个时间点，对于各个免疫方法，分泌 IFN- γ 和/或 IL-2 的 CD4 T 细胞的百分比。在离体条件下，用含有 CSP N-末端序列的肽库刺激外周血淋巴细胞（PBL）（2 小时后添加布雷菲德菌素，然后过夜），通过 ICS 测量细胞因子产物（IFN γ 和/或 IL-2）。每个值是 7 只小鼠的 4 个库的几何平均值。

图 21. CSP (C-末端) 特异性 CD4 T 细胞的定量。示出了在五个时间点，对于各个免疫方法，分泌 IFN- γ 和/或 IL-2 的 CD4 T 细胞的百分比。在离体条件下，用含有 CSP C-末端序列的肽库刺激外周血淋巴细胞（PBL）（2 小时后添加布雷菲德菌素，然后过夜），通过 ICS 测量细胞因子产物（IFN γ 和/或 IL-2）。每个值是 7 只小鼠的 4 个库的几何平均值。

这些结果表明,用组合[RTS,S + C7-CS2 10^{10} +佐剂 B]注射 3 次免疫的小鼠比用 RTS,S +佐剂 B 注射 3 次免疫的小鼠展现出更高的抗原特异性 CD4 T 细胞反应(抗 CSP 的 C-末端和 N-末端部分)。

CSP 特异性 CD8 T 细胞反应

结果显示在下列图中:

图 22. CSP (N-末端) 特异性 CD8 T 细胞的定量。示出了在五个时间点,对于各个免疫方法,分泌 IFN- γ 和/或 IL-2 的 CD8 T 细胞的百分比。在离体条件下,用含有 CSP N-末端序列的肽库刺激外周血淋巴细胞(PBL)(2 小时后添加布雷菲德菌素,然后过夜),通过 ICS 测量细胞因子产物(IFN γ 和/或 IL-2)。每个值是 7 只小鼠的 4 个库的几何平均值。

图 23. CSP (C-末端) 特异性 CD8 T 细胞的定量。示出了在五个时间点,对于各个免疫方法,分泌 IFN- γ 和/或 IL-2 的 CD8 T 细胞的百分比。在离体条件下,用含有 CSP C-末端序列的肽库刺激外周血淋巴细胞(PBL)(2 小时后添加布雷菲德菌素,然后过夜),通过 ICS 测量细胞因子产物(IFN γ 和/或 IL-2)。每个值是 7 只小鼠的 4 个库的几何平均值。

这些结果表明,用组合[RTS,S + C7-CS2 10^{10} +佐剂 B]注射 3 次免疫的小鼠比用 RTS,S +佐剂 B 注射 3 次免疫的小鼠展现出更高的抗原特异性 CD8 T 细胞反应(抗 CSP 的 C-末端和 N-末端部分)。

CSP 特异性抗体反应

结果显示在下列图中:

图 24. CSP 特异性抗体效价的定量。在第 3 次免疫后 14 和 42 天收集来自小鼠的血清。通过 ELISA 测量这些个体中每个的抗 CSP 抗体效价。数据显示为几何平均值的抗体效价 \pm 95%置信区间。

这些结果显示,用组合[RTS,S + C7-CS2 10^{10} +佐剂 B]注射 3 次免疫的小鼠展示出与用 RTS,S +佐剂 B 注射 3 次免疫的小鼠类似的 CSP 特异性抗体效价。

结论

RTS,S/佐剂 B 疫苗诱导高频率的 CSP C-末端特异性 CD4 T 细胞而非 CSP N-末端特异性 CD4 T 细胞。此外，RTS,S/佐剂 B 疫苗诱导很低乃至不可检测的 CSP C& N-末端特异性 CD8 T 细胞。在相同的动物模型中，表达 CSP 的重组腺病毒 C7 诱导很高的 CSP (C-末端和 N-末端) 特异性 CD8 T 细胞反应和较低的 CSP (C-末端和 N-末端) 特异性 CD4 T 细胞反应。RTS,S/佐剂 B 与 Ad C7-CS2 的组合同时引起高水平的 CSP (C-末端和 N-末端) 特异性 CD4 和 CD8 T 细胞两者。组合 RTS,S/佐剂 B 与 Ad C7-CS2 对两种 T 细胞反应的强度具有叠加效应。最后，RTS,S/佐剂 B 与 Ad C7-CS2 的组合引起高水平的 CSP 特异性抗体反应，与 RTS,S/佐剂 B 诱导的 CSP 特异性抗体反应相当。

序列

SEQ ID No 1:

```

5      1 atgggtgccc gagcttcggt actgtctggt ggagagctgg acagatggga
      51 gaaaattagg ctgcgcccgg gaggcaaaaa gaaatacaag ctcaagcata
     101 tcgtgtgggc ctcgagggag cttgaacggt ttgccgtgaa cccaggcctg
     151 ctggaacat ctgagggatg tcgccagatc ctggggcaat tgcagccatc
     201 cctccagacc gggagtgaag agctgaggtc cttgtataac acagtggcta
     251 ccctctactg cgtacaccag aggatcggaga ttaaggatac caaggaggcc
10     301 ttggacaaaa ttgaggagga gcaaaacaag agcaagaaga aggccagca
     351 ggcagctgct gacactgggc atagcaacca ggtatcacag aactatccta
     401 ttgtccaaaa cattcagggc cagatgggtc atcaggccat cagcccccg
     451 acgctcaatg cctgggtgaa ggctgtcgaa gagaaggcct tttctcctga
     501 ggttatcccc atgtttctccg ctttgagtga gggggccact cctcaggacc
15     551 tcaatacaat gcttaatacc gtgggaggcc atcaggccgc catgcaaatg
     601 ttgaaggaga ctatcaacga ggaggcagcc gagtgggaca gagtgcattc
     651 cgtccacgct ggcccacatc gcgccggaca gatgocggag cctcgggct
     701 ctgacattgc cggcaccacc tctacactgc aagagcaaat cggatggatg
     751 accaacaatc ctcccattcc agttggagaa atctataaac ggtggatcat
20     801 cctgggctg aacaagatcg tgcgcatgta ctctccgaca tccatccttg
     851 acattagaca gggacccaaa gaggccttta gggattacgt cgaccggttt
     901 tataagaccc tgcgagcaga gcaggcctct caggaggtea aaaactggat
     951 gacggagaca ctctgtgtac agaacgctaa ccccgactgc aaaacaatct
25    1001 tgaaggcact agggcccggt gccaccctgg aagagatgat gaccgcctgt
     1051 cagggagtag gcgaccctgg acacaaagcc agagtgttga tgggccccat
     1101 cagtcccatc gagaccgtgc cggtgaaagt gaaaccctgg atggacggcc
     1151 ccaaggtcaa gcagtggcca ctaccggagg agaagatcaa ggccctggtg
     1201 gagatctgca ccgagatgga gaaagagggc aagatcagca agatcgggcc
     1251 ggagaacca tacaacaccc ccgtgtttgc catcaagaag aaggacagca
30    1301 ccaagtggcg caagctgggt gatttcgggg agctgaataa gcggaccag
     1351 gattttctggg aggtccagct gggcatcccc catccggccc gctgaagaa
     1401 gaagaagagc gtgaccgtgc tggacgtggg cgacgcttac ttcagctcc
     1451 ctctggacga ggactttaga aagtaacccg cctttaccat cccatctatc
     1501 aacaacgaga cccctggcat cagatatcag tacaacgtcc tccccaggg
35    1551 ctggaagggc tctccggcca tttccagag ctccatgacc aagatcctgg
     1601 agcggtttct gaagcagaac cccgatctcg tcatctacca gtacatggac
     1651 gacctgtacg tgggctctga cctggaaatc gggcagcatc gcacgaagat
     1701 tgaggagctg aggcagcatc tgctgagatg gggcctgacc actccggaca
     1751 agaagcatca gaaggagccg ccattcctga agatgggcta cgagctccat
40    1801 cccgacaagt ggaccgtgca gcctatctgc ctccccgaga aggcagctg
     1851 gaccgtgaac gacatccaga agctgggtggg caagctcaac tgggctagcc
     1901 agatctatcc cgggatcaag gtgcgccagc tctgcaagct gctgcgaggc
     1951 accaaggccc tgaccgaggt gattcccctc acggaggaag ccgagctcga
45    2001 gctggctgag aaccgggaga tctgaaagga gccctgtcac ggcgtgtact
     2051 atgacccttc caaggacctg atcgccgaaa tccagaagca gggccagggg
     2101 cagtggacat accagattta ccaggagcct ttcaagaacc tcaagaccgg
     2151 caagtacgcc cgcagtaggg gcgcccacac caacgatgtc aagcagctga
     2201 ccgaggccgt ccagaagatc acgaccgagt ccattcgtgat ctgggggaag
     2251 acaccaagt tcaagctgcc tatccagaag gagacctggg agacgtggtg
50    2301 gaccgaatat tggcaggcca cctggattcc cgagtgggag ttcgtgaata
     2351 cacctcctct ggtgaagctg tggtagcagc tcgagaagga gcccatcgtg
     2401 ggcgaggaga cattctacgt ggaaggcggc gccaaaccgc aaacaaagct
     2451 cgggaaggcc gggtagctca ccaaccgggg ccgccagaag gtcgtcacc
     2501 tgaccgacac caccaaccag aagacggagc tgcaggccat ctatctcgt
55    2551 ctcaggact cggcctgga ggtgaacatc gtgacggata gccagtaccg
     2601 gctgggcatt attcaggccc agccggacca gtccgagagc gaactggtga
     2651 accagattat cgagcagctg atcaagaaaag agaaggtcta cctcgcctgg
     2701 gtcccgccc ataagggcat tggcggcaac gagcaggtcg acaagctggt
     2751 gagtgcgggg attagaaagg tgetgatggt gggttttcca gtcacacctc
60    2801 aggtaccttt aagaccaatg acttacaagg cagctgtaga tcttagccac
     2851 tttttaaag aaaagggggg actggaaggg ctaattcact cccaaagaag

```

```

2901 acaagatatac cttgatctgt ggatctacca cacacaaggc tacttcctg
2951 attggcagaa ctacacacca gggccagggg tcagatatcc actgacctt
3001 ggatggtgct acaagctagt accagttgag ccagataagg tagaagaggc
3051 caataaagga gagaacacca gcttggtaca ccoctgtgagc ctgcatggga
5 3101 tggatgacct ggagagagaa gtgtagagt ggaggttga cagccgcta
3151 gcatttcatac acgtggcccc agagctgcat ccggagtact tcaagaactg
3201 ctga

10 SEQ ID No 2:
1 MGARASVLSG GELDRWEKIR LRPGGKKKYK LKHIVWASRE LERFAVNPGL
51 LETSEGCRQI LGQLQPSLQT GSEELRSLYN TVATLYCVIHQ RIEIKDTKEA
101 LDKIEEEQNK SKKKAQAAA DTGHSNQVSO NYPIVQNIQG QMVHQAI SPR
15 151 TLNAWVKVVE EKAFSPEVIP MFSALSEGAT PQDLNMLNT VGGHQAMQM
201 LKETINEEAA EWDRVHPVHA GPIAPGQMRG PRGSDIAGTT STLQEQIGWM
251 TNNPPIPVGE IYKRWILLGL NKIVRMYSPS SILDIRQGP K EPFRDYVDRF
301 YKTLRAEQAS QEVKNWMTET LLVQANPDC KTIKALGPA ATLEEMMTAC
351 QGVGGPGHKA RVLMPISPI ETVPVKLKP MDGPKVKQWP LTEEKIKALV
401 EICTEMEKEG KISKIGPENP YNTPVFAIK KDSTKWRKLV DFRELNKRTQ
20 451 DFWEVQLGIP HPAGLKKKKS VTVLDVGDAY FSVPLDEDFR KYTFTIPS I
501 NNETPGIRYQ YNVL PQGKWK SPAIFQSSMT KILEPFRKQ PDIVIQYMD
551 DLYVGSLEI GQHRTKIEEL RQHLLRWGLT TPDKKHQEP PFLKMGYELH
601 PDKWTVQPIV LPEKDSWTVN DIQKLVGKLN WASQIYPGIK VRQLCKLLRG
651 TKALTEVIPL TEEAELELAE NREILKEPVH GVYYDPSKDL IAEIQKQGG
25 701 QWTYQIQEP FXNLKTGKYA RMRGAHTNDV KQLTEAVQKI TTESIVINCK
751 TPKFKLPIQK ETWETWTEY WQATWIPWE FVNTPLV KL WYQLEKEPIV
801 GAETFYVDGA ANRETKLGA GYVTNRGRQK VVTLTDTTNQ KTELQAIYLA
851 LQDSGLEVNI VTDSQYALGI IQAQPQSES ELVNQIIEQL IKKEKVYLAW
901 VPAHKGIGGN EQVDKLVSAG IRKVLVGFV VTPQVPLRPM TYKAAVDLSH
30 951 FLKEKGGLEG LIHSQRRQDI LDLWIYHTQG YFPDWQNYTP GPGVRYPLTF
1001 GWCYKLVPE PDKVEEANKG ENTSLHPVS LHGMDDPERE VLEWRFD SRL
1051 AFHHVARELH PEYFKNC

35 SEQ ID No 3:
1 atggccgcca gagccagcat cctgagcggg ggcaagctgg acgcctggga
51 gaagatcaga ctgaggcctg gcggcaagaa gaagtaaccg ctgaagcacc
101 tgggtgtgggc cagcagagag ctggatcgct tcgccctgaa tcctagcctg
151 ctggagacca ccgagggctg ccagcagatc atgaaccagc tgcagcccgc
40 201 cgtgaaaacc ggcaccgag agatcaagag cctgttcaac accogtggcca
251 ccctgtactg cgtgcaccag cggatcgagc tgaaggatac caaggaggcc
301 ctggacaaga tcgaggagat ccagaacaag agcaagcaga aaaccagca
351 ggccgctgcc gacaccggcg acagcagcaa agtgagccag aactaccca
401 tcatccagaa tgcccagggc cagatgatcc accagaacct gagcccaga
45 451 accctgaatg cctgggtgaa agtgatcgag gaaaaggcct tcagccccga
501 agtgatccct atgttcagcg ccctgagcga gggcgccacc cccagggacc
551 tgaacgtgat gctgaacatt gtggcgggac accaggccgc catgcagatg
601 ctgaaggaca ccatcaatga ggaggccgcc gactgggaca gactgcaacc
651 cgtgcaggcc ggaccatcc cccctggcca gatcagagag ccagaggca
50 701 gcgacatcgc cggcaccacc tccaccctc aagaacagct gcagtggatg
751 accggcaacc ctccatccc tgtgggcaac atctacaagc ggtggatcat
801 cctgggcctg aacaagattg tgcggatgta cagcccctg tccatcctgg
851 atatcaagca gggccccaag gagcccttca gagactacgt ggaccggttc
901 ttcaaggccc tgagagccga gcaggccacc caggacgtga agggctggat
55 951 gaccgagacc ctgctgggtg agaacgcca ccccgactgc aagagcatcc
1001 tgaaggccct gggcagcggc gccacactgg aggagatgat gaccgcctgc
1051 cagggagtgg gcggaccgg ccacaaggcc agagtgctgg ccgaggccat
1101 gagccaggcc cagcagacca acatcatgat gcagcggggc aacttcagag
1151 gccagaagcg gatcaagtgc ttcaactgcg gcaaggagg ccacctggcc
60 1201 agaaactgca gagccccag gaagaagggc tgctggaagt gtggcaagga
1251 agggcaccag atgaaggact gcaccgagag gcaggccaat tcctgggca

```

	1301	agatttggcc	tagcagcaag	ggcagaccocg	goaatttccc	ccagagcaga
	1351	cccagagcca	ccgcccctcc	cgccagagctg	ttcggcatgg	gcgagggcat
	1401	cgccagcctg	cccaagcagg	agcagaagga	cagagagcag	gtgccccccc
	1451	tgggtgtccct	gaagtccctg	ttcggcaacg	atcctctgag	ccagggatcc
5	1501	cccatcagcc	ccatcgagac	cgtgcccgtg	accctgaagc	ccggcatgga
	1551	tggccccaaa	gtgaaacagt	ggcccctgac	cgaggagaag	attaaggccc
	1601	tgaccgaaat	ctgtaccgag	atggagaagg	agggcaagat	cagcaagatc
	1651	ggccccgaga	accctacaa	cacccccatc	ttcgccatca	agaagaagga
	1701	cagcaccaag	tggcggaaaac	tgggtggactt	ccgggagctg	aacaagagga
10	1751	cccaggactt	ctgggaagtg	cagctgggca	tccccacctg	tcggcgctg
	1801	aagaagaaga	agtccgtgac	agtgtggat	gtgggagacg	cctacttcag
	1851	cgtgcccctg	gacgagaact	tcaggaagta	caccgccttc	accatcccc
	1901	gcaccaacaa	cgagaccccc	ggagtggat	accagtacaa	cgtgctgcct
	1951	cagggctgga	agggcagccc	cgccatcttc	cagagcagca	tgaccaagat
15	2001	cctggagccc	ttcgggagca	agaaccccga	gatcatcctc	taccagtaca
	2051	tggccgcccct	gtatgtgggc	agcagatctgg	agatcggcca	gcacaggacc
	2101	aagatcgaag	agctgagggc	ccacctgctg	agctggggct	tcaccacccc
	2151	cgataagaag	caccagaagg	agcccccttt	cctgtggatg	ggctacgagc
	2201	tgcacccccga	taagtggacc	gtgcagccca	tcatgctgcc	cgataaggag
20	2251	agctggaccg	tgaacgacat	ccagaaactg	gtgggcaagc	tgaattgggc
	2301	cagccaaatc	tacgcccggca	ttaaagtgaa	gcagctgtgc	aggctgctga
	2351	gaggcgccaa	agcccctgaca	gacatcgtga	caetgacaga	ggaggccgag
	2401	ctggagctgg	ccgagaacag	ggagatcctg	aaggaccccg	tgcacggcgt
	2451	gtactacgac	cccagcaagg	acctgggtggc	cgagattcag	aagcagggcc
25	2501	aggaccagtg	gacctaccaa	atctaccagg	agcctttcaa	gaacctgaaa
	2551	accgggaagt	acgcccaggaa	gagaagcgcc	cacaccaacg	atgttgagca
	2601	gctggccgaa	gtgggtgcaga	aagtggctat	ggagagcctc	gtgatctggg
	2651	gcaagacccc	caagttcaag	ctgcccctcc	agaaggagac	ctgggaaacc
	2701	tgggtggatgg	actactggca	ggccacctgg	attcctgagt	gggagttcgt
30	2751	gaacaccccc	cctctggtga	agctgtggta	tcagctggag	aaggaccccc
	2801	tcctggggcgc	cgagaccttc	tacgtggacg	gagccgcca	tagagagacc
	2851	aagctgggca	aggccggcta	cgtgaccgac	agaggcagac	agaaagctgt
	2901	gtctctgacc	gagacaacca	accagaaaac	cgagctgcac	gccatcctgc
	2951	tggccctgca	ggacagcggc	agcgaagtga	acatcgtgac	cgactcccag
35	3001	tacgcccctgg	gcatcattca	ggcccagccc	gatagaagcg	agagcgagct
	3051	ggtgaaccag	atcatcgaga	agctgatcgg	caaggacaaa	atctacctga
	3101	gctgggtgcc	cgcccacaag	ggcatcggcg	gcaacgagca	ggtggacaag
	3151	ctggtgtcca	gcggcatccg	gaaagtgtctg	tttctggacg	gcatcgacaa
	3201	ggcccaggag	gaccacgaga	gataccacag	caactggcgg	acaatggcca
40	3251	gcgacttcaa	cctgcctccc	atcgtggcca	aggagatcgt	ggccagctgc
	3301	gataagtgtc	agctgaaggg	cgaggccatg	cacggccag	tggatgacg
	3351	ccctggcatc	tggcagctgg	cctgcaccca	cctggagggc	aaagtgttc
	3401	tggtyggcctg	gcacgtggcc	agcggctaca	tcgaggccga	agtgatcccc
	3451	gccgagaccg	gccaggagac	cgccacttc	ctgctgaagc	tggccggcag
45	3501	atggcccctg	aaagtggtyc	acaccgcca	cggcagcaac	ttcacctctg
	3551	ccgcccgtgaa	ggccgcctgt	tggtyggcca	atatccagca	ggagttcggc
	3601	atcccctaca	accctcagag	ccagggcgtg	gtggccagca	tgaacaagga
	3651	gctgaagaag	atcatcggcc	aggtgaggg	ccagggccgag	cacctgaaaa
	3701	cagccctgca	gatggccctg	ttcatccaca	acttcaagcg	gaagggcggc
50	3751	attggcggct	acagcgcggg	agagcggatc	atcgacatca	tcgccaccga
	3801	tatccagacc	aaggaactgc	agaagcagat	caccaagatt	cagaacttca
	3851	gagtgtacta	ccgggacagc	agggaccccc	tctggaaggg	ccctgccaa
	3901	ctgctgtgga	agggcgaagg	cgccgtggtg	atccaggaca	acagcgacat
	3951	caaagtggty	ccccggagga	aggccaagat	tctgcccggc	tacggcaaac
55	4001	agatggcccgg	cgatgactgc	gtggccggca	ggcaggatga	ccagatctc
	4051	atgggcccgg	agtggcccaa	gggcagcatt	gtgggctggc	cgagatccg
	4101	ggagagaatg	agaagagccc	ctgcccggcg	tcctggagty	ggcgcctgt
	4151	ctcaggatct	ggataagcac	ggcgccatca	ccagcagcaa	catcaacaac
	4201	cccagctgtg	tgtggctgga	ggcccaggaa	gaggaggaag	tgggcttccc
60	4251	tgtgagacc	caggtgcccc	tgagacccat	gacctacaag	ggcgcctctg
	4301	acctgagcca	cttcctgaag	gagaagggcg	gcctggacgg	cctgatctac

	4351	agccggaagc	ggcaggagat	cctggatctg	tgggtgtacc	acaccaggg
	4401	ctacttcccc	gactggcaga	attacacccc	tggccctgga	gtgcygtatc
	4451	ccctgacctt	cggctgggtc	ttcaagctgg	tgcctatgga	gcccagcгаа
	4501	gtggagaagg	ccacagaggg	cgagaacaac	agcctgctgc	accctatctg
5	4551	ccagcacggc	atggacgatg	aggagcggga	agtgctgatc	tggaagttcg
	4601	acagcaggct	ggccctgaag	cacagagccc	aggaactgca	cccagagttc
	4651	tacaaggact	gctga			
10	SEQ ID No 4:					
	1	MAARASILSG	GKLDWEKIR	LRPGGKKKYR	LKHLVWASRE	LDRFALNPSL
	51	LETTEGCQQI	MNQLQPAVKI	GTEBIKSLFN	TVATLYCVHQ	RIDVKDTKEA
	101	LDKIEEQNK	SKQKTQAAA	DTGDSKVSQ	NYP IIQNAQG	QMIHQNLSPR
	151	TLNAWVKVIE	EKAFSPEVIP	MFSALSEGAT	PQDLNVMLNI	VGHHQAAMQM
15	201	LKDTINEBAA	BWDR LHVPQA	GPIPPGQIRE	PRGSDIAGTT	STPQEQLOWM
	251	TGNPPIPVGN	IYKRWILLGL	NKIVRMYSVP	SILDIKOGPK	EPFRDYVDRF
	301	FKALRABQAT	QDVKGWMTET	LLVQANPDC	KSILKALGSG	ATLEEMTAC
	351	QGVGGPGHKA	RVLAEMSQA	QQTNIMMQRG	NFRGQKRIKC	FNCGKEGHLA
	401	RNCRAPRKKG	CNKCGKEGHQ	MKDC TERQAN	FLGKIWPSSK	GRPGNFPQSR
20	451	PEPTAPP AEL	FGMGEGLASL	PKQE QKDREQ	VPPLVSLKSL	FGNDPLSQGS
	501	PISPIETVPV	TLKPGMDGPK	VKQWPLTEEK	IKALTEICTE	MEKEGKISKI
	551	GPNPYNTPI	FAIKKKDSTK	WRKLVDFREL	NKRTQDFWEV	QLGI PHPAGL
	601	KKKKSVTVLD	VGDAYFSPVL	DENFRKYTAP	TIPSTNNETP	GVRVQYNVLP
	651	QGWKGS PAIF	QSSMTKILBP	FRSKNPEIII	YQYMAALYVG	SDLBIGQHRT
25	701	KIEELRAHLL	SWGFTTPDKK	HQKEPPFLWM	GYELHPDKWT	VQPIMLPDKE
	751	SWTVNDIQKL	VGKLNWASQI	YAGIKVKQLC	RLLRGAKALT	DIVTLTEEAE
	801	LELAENREIL	KDPVHG VYYD	PSKDLVAETQ	KQGQDQWYQ	IYQEPFKNLK
	851	TGKYARKRSA	HTNDVRQLAE	VVQKVAMESI	VIWKT PPKFK	LPIQKETWET
	901	WMDYWQATW	IPWEFVNTP	PLVKLWYQLE	KDPILGAETP	YVDGAANRET
30	951	KLKAGYVTD	RGRQKVVS LT	ETTNQKTELH	AILLALQDSG	SEVNI VTD SQ
	1001	YALGIIQAQP	DRSBSSELVNO	IIEKLI GKDK	IYLSWVPAHK	GIGGNEQV DK
	1051	LVSSGIRKVL	FLDGI DKAQE	DHERYHSNWR	TMASDFNLPP	IVAKEIVASC
	1101	DKCQLKGEAM	HGQVDCSPGI	WQLACTHLEG	KVILVAVHVA	SGYIEAEVIP
	1151	AETGQETAYF	LLKLAGRWPV	KVVHTANGSN	FTSAAVKAAC	WWANIQQBFG
35	1201	IPYNPQSQGV	VASMNKELKK	IIGQVRDQAE	HLKTAVQMAV	PIHNFKRKGG
	1251	IGGYSAGERI	IDIIATDIQT	KELOKQITKI	QNPRVYYRDS	RDPIWKGFAP
	1301	LLWKGE GAVV	IQDNSDIKVV	PRRKA KILRD	YGKQ MAGDDC	VAGRQDEDRS
	1351	MCGKWSK GSI	VGWPEIRERM	RRAPAAAPGV	GAVSQDLDKH	GAITSSNINN
	1401	PSCVWLEAQE	EEEVGF PVRP	QVPLRPMTYK	GAFDLSHFLK	EKGGLDGLIY
40	1451	SRKRQEILDL	WVYHTQGYFP	DWQNYTPGPG	VRYPLTFGWC	FKLVPMPEPDE
	1501	VEKATEGENN	SL LHPI CQHG	MDDEBEREVL I	WKPDSRLALK	HRAQELHPEP
	1551	YKDC				
45	SEQ ID No 5:					
	1	atgagggtga	tggagatcca	gcggaactgc	cagcacctgc	tgagatgggg
	51	catcatgatc	ctgggcatga	ttatcatctg	cagcacccgc	gacaacctgt
	101	gggtgaccgt	gtactacggc	gtgectgtgt	ggagagatgc	cgagaccacc
	151	ctgttctgcy	ccagcgacgc	caaggcctac	agcacccgaga	agcacaatgt
50	201	gtgggcccacc	cacgcctgcy	tgccctacoga	tcccacctct	caggagatcc
	251	ccctggacaa	cgtgaccgag	gagttcaaca	tgtggaagaa	caacatgggtg
	301	gaccagatgc	acgaggacat	catcagcctg	tgggaccaga	gcctgaccgc
	351	ctgcgtgacg	ctgaccccc	tgtgcctgac	cctgaactgc	agcaacgcca
	401	gagtgaacgc	caccttcaac	tccaccgagg	acagggaggg	catgaagaac
55	451	tgcagcttca	acatgaccac	cgagctgcyg	gataagaagc	agcaggtgta
	501	cagcctgttc	taccggctgg	acatcgagaa	gatcaacagc	agcaacaaca
	551	acagcgagta	ccggctggtg	aactgcaata	ccagcgccat	caccagggcc
	601	tgccctaagg	tgaccttoga	gcccatcccc	atccactact	ggcccccctgc
	651	cggcttcgcc	atcctgaagt	gcaacgacac	cgagttcaat	ggcaccggcc
60	701	cctgcaagaa	tgtgagcacc	gtgcagtgca	cccacggcat	caagcccctg
	751	gtgtccaccc	agctgctgct	gaacggcagc	ctggccgaga	gagaagtgcy

```

      801 gatcaggagc gagaacatec ccaacaacgc caagaacatc atcgtgcagt
      851 tcgccagccc cgtgaagatc aactgcatcc ggcccaacaa caatacccgg
      901 aagagctaca gaatcggccc tggccagacc ttctacgcca ccgacattgt
      951 gggcgacatc agacaggccc actgcaacgt gtccaggacc gactggaaca
5    1001 acaccctgag actggtggcc aaccagctgc ggaagtactt gagcaacaag
      1051 accatcatct tcaccaacag cagcggcgga gacctggaga tcaccacca
      1101 cagcttcaat tgtggcggcg agttcttcta ctgcaacacc tccggcctgt
      1151 tcaatagcac ctggaccacc aacaacatgc aggagtccaa cgacaccagc
      1201 aacggcacca tcaccctgcc ctgccggatc aagcagatca tccggatgtg
10   1251 gcagcgcgtg ggccaggcca tgtacgcccc tcccatcgag ggcgtgattc
      1301 gctgcgagag caacatcacc ggccctgatcc tgaccagaga tggcggcaac
      1351 aacaattccg ccaacgagac cttcagacct ggccggcggag atatccggga
      1401 caactggcgg agcagctgtt acaagtacaa ggtggtgaag atcagagcccc
      1451 tgggcgtggc ccccaccaga gccaaagagaa gagtgggtgga gccgggagaag
15   1501 agagccgtgg gcacggcgc cgtgtttctg ggcttcctgg gagccgcgg
      1551 atctacaatg ggagccgcca gcacccctt gaccgtgcag gccagacagc
      1601 tgctgagcgg catcgtgcag cagcagagca atctgctgag agccatcgag
      1651 gccagcagc agctgctgaa gctgacagtg tggggcatca agcagctgca
      1701 ggccaggggtg ctggccgtgg agagatacct gagggaccag cagctcctgg
20   1751 gcatctgggg ctgcagcggc aagctgatct gcaccaccaa cgtgcctgg
      1801 aatagcagct ggagcaacaa gagctacgac gacatctggc agaacatgac
      1851 ctggctgcag tgggacaagg agatcagcaa ctacaccgac atcatctaca
      1901 gctgatcga ggagagccag aaccagcagg agaagaacga gcaggatctg
      1951 ctggccctgg acaagtgggc caacctgtgg aactggttcg acatcagcaa
25   2001 gtggctgtgg tacatcagat cttga

```

SEQ ID No 6:

```

30   1  MRVMEIQRNC QHLLRWGIMI LGMIIICSTA DNLWVTVYYG VPVWRDAETT
      51  LFCASDAKAY STEKHNWVAT HACVPTDPNP QEIPLDNVTE EFNMWKNNMV
      101  DQMHEDIISL WDQSLKPCVQ LTPLCVTLNC SNARVNATEN STEDREGMKN
      151  CSFNMTEELR DKKQOVYSLF YRLDIEKINS SNNNSEYRLV NCNTSAITQA
      201  CPKVTFEPIP IHYCAPAGFA ILKNDTEFN GTGPKNVST VQCTHGKIPV
      251  VSTQLLLNGS LAEREVIRIS ENIANMAKNI IVQFASPVKI NCIRPNNTR
35   301  KSYRIGPGQT FYATDIVGDI ROAHCNVSRD DWNNTLRLVA NQLRKYFSNK
      351  TIIFTNSSGG DLEITTHSFN CGGEFFYCNT SGLFNSWTWT NNMQESNDTS
      401  NGTITLPCR I KQIIRMWQRV QOAMYAPPIE GVIRCESNIT GLILTRDGGN
      451  NNSANETFRP GGDIRDNRW SELYKYKVVK IEPLGVAPTR AKRRVVEREK
      501  RAVGIGAVFL GFLGAAGSTM GAASITLTVQ ARQLLSGIVQ QQSNNLLRAIE
40   551  AQQQLLKLTV WGIKQLQARV LAVERYLRDQ QLLGIWGCSS KLICTTNVPW
      601  NSSWSNKSXD DIWQNMWLQ WDKEISNYTD IIYSLIEESQ NQKEKNEQDL
      651  LALDKWANLW NWFDISKWLW YIRS

```

45 SEQ ID No 7:

```

      atgaaagtga aggagaccag gaagaattat cagcacttgt ggagatgggg 50
      caccatgctc cttgggatgt tgatgatctg tagtgctgca gaacaattgt 100
      gggtcacagt ctattatggg gtacctgtgt ggaaagaagc aactaccact 150
      ctattctgtg catcagatgc taaagcatat gatacagagg tacataatgt 200
50   ttgggccaca catgcctgtg taccacaga ccccaacca caagaagtag 250
      tattgggaaa tgtgacagaa tattttaaca tgtggaaaaa taacatggta 300
      gaccagatgc atgaggatc aatcagttta tgggatcaaa gcttgaagcc 350
      atgtgtaaaa ttaaccccac tctgtgttac tttagattgc gatgatgta 400
      ataccactaa tagtactact accactagta atggttggac aggagaaata 450
55   aggaaaggag aaataaaaaa ctgctctttt aatatacca caagcataag 500
      agataagggt caaaaaagaat atgcaactttt ttataacctt gatgtagtac 550
      caatagatga tgataatgct actaccacaaa ataaaaactac tagaaacttt 600
      aggttgatac attgtaactc ctcagtcatg acacaggcct gtccaaaggt 650
      atcatttgaa ccaattccca tacattattg tgccccggct ggttttgcga 700
60   ttctgaagtg taacaataag acgtttgatg gaaaaggact atgtacaaat 750
      gtcagcacag tacaatgtac acatggaatt aggccagtag tgtcaactca 800

```

	actgctgtta	aatggcagtc	tagcagaaga	agaggtagta	attagatctg	850
	acaatttcat	ggacaatact	aaaaccataa	tagtacagct	gaatgaatct	900
	gtagcaatta	attgtacaag	acccaacaac	aatacaagaa	aaggtataca	950
	tataggacca	gggagagcct	tttatgcagc	aagaaaata	ataggagata	1000
5	taagacaagc	acattgtaac	cttagtagag	cacaatggaa	taacacttta	1050
	aaacagatag	ttataaaatt	aagagaacac	tttgggaata	aaacaataaa	1100
	atttaatacaa	toctcaggag	gggaccaga	aattgtaagg	catagtttta	1150
	attgtggagg	ggaatttttc	tactgtgata	caacacaact	gtttaatagt	1200
	acttggaatg	gtactgaagg	aaataacact	gaaggaaata	gcacaatcac	1250
10	actcccatgt	agaataaaac	aaattataaa	catgtggcag	gaagtaggaa	1300
	aagcaatgta	tgcccctccc	atcggaggac	aaatagatg	ttcatcaaat	1350
	attacagggc	tgctattaac	aagagatggt	ggtaccgaag	ggaatgggac	1400
	agagaatgag	acagagatct	tcagacctgg	aggaggagat	atgagggaca	1450
	attggagaag	tgaattatat	aaatataaag	tagtaaaagt	tgaaccacta	1500
15	ggagtagcac	ccaccagggc	aaagagaaga	gtggtgcaga	gataa	1545

SEQ ID No 8:

20	MKVKETRKNY	QHLWRWGTM	LGMLMICSAA	EQLWVTVYYG	VPVWKBATTT	50
	LFCASDAKAY	DTEVHNWVAT	HACVPTDPNP	QEVVLGNVTE	YFNMWKNNMV	100
	DOMHEDIISL	WDQSLKPCVK	LTPLCVTLDC	DDVNTTNSTT	TTSNGWTGEI	150
	RKGEIKNCSF	NITTSIRDKV	QKEYALFYNL	DVVPIDDDNA	TTKNKTTRNF	200
	RLIHCNSSVM	TQACPKVSFE	PIPIHYCAPA	GFAILKCNK	TFDGKGLCTN	250
	VSTVQCTHGI	RPVVSTQLLL	NGSLAEZEEV	IRSDNFMNDT	KTIIVQLNES	300
25	VAINCTRPNN	NTRKGIHIGP	GRAFYAARKI	IGDIRQAHCN	LSRAQWNNTL	350
	KQIVIKLREH	FGNKTIKFNQ	SSGGDPEIVR	HSFNCGGEFF	YCDTTQLFNS	400
	TWNGTEGNNT	BGNSTITLPC	RIKQIINMWQ	EVGKAMYAPP	IGGQIRCSSN	450
	ITGLLLTRDG	GTEGNGTENE	TEIFRPGGSD	MRDNWRSELY	KYKVVKVEPL	500
30	GVAPTRAKRR	VVQR				514

SEQ ID No 9:

	atgcatcaca	cggccgcgctc	cgataacttc	cagctgtccc	agggtgggca	gggattcgcc	60
	attccgatcg	ggcagggcgat	ggcgatcgcg	ggccagatcc	gatcgggtgg	ggggtcacc	120
35	accgttcata	tcgggcctac	cgccttctc	ggcttgggtg	ttgtcgacaa	caacggcaac	180
	ggcgcacgag	tccaacggct	ggtcgggagc	gctccggcgg	caagtctcgg	catctccacc	240
	ggcgacgtga	tcaccgcggt	cgacggcgct	ccgatcaact	cggccaccgc	gatggcggac	300
	gcgcttaacg	ggcatcatcc	cgtgacgctc	atctcgggtga	cctggcaaac	caagtccggc	360
	ggcacgcgta	cagggaaacgt	gacattggcc	gagggacccc	cggccgaatt	catggtggat	420
40	ttcggggcgt	taccaccgga	gatcaactcc	gcgaggatgt	acgccggccc	gggttcggcc	480
	tcgctgggtg	ccgcggtca	gatgtgggac	agcgtggcga	gtgacctgtt	ttcggccgcy	540
	tcggcggttc	agtcgggtgg	ctggggtctg	acgggtgggt	cgtggatagg	ttcgtcggcg	600
	ggtctgatgg	tggcggggc	ctcgcgctat	gtggcgtgga	tgagcgtcac	cgcggggcag	660
	gcgagatga	cgcgcgcca	ggtccgggtt	gctgcggcgg	cctaccgagac	ggcgtatggg	720
45	ctgacgggtc	ccccgcgggt	gatcgcggag	aaccgtgctg	aactgatgat	tctgatagcg	780
	accaacctct	tggggcaaaa	caccocggcg	atcgcgggtca	acgaggccga	atacggcgag	840
	atgtgggccc	aagacgccgc	cgcgatgttt	ggctacgccg	cggcgacggc	gacggcgacg	900
	gcgacgttgc	tgccgttcga	ggaggcgccg	gagatgacca	gocgggggtg	gctcctcgag	960
	caggccgcgg	cggtcgagga	ggcctccgac	accgcgcggg	cgaaccagtt	gatgaacaat	1020
50	gtgccccagg	cgetgcaaca	gctggcccag	cccacgcagg	gcaccacgcc	ttctccaag	1080
	ctgggtggcc	tgtggaagac	ggtctcggcg	catcggtcgc	cgatcagcaa	catggtgtcg	1140
	atggccaaca	accacatgtc	gatgaccaac	tcgggtgtgt	cgatgaccaa	cacctgagc	1200
	tcgatgttga	agggctttgc	tcggcggcg	gccgccagg	ccgtgcaaac	cgcgccgcaa	1260
	aacggggtcc	gggcatgag	ctcgtcgggc	agctcgtcgg	gttcttcggg	tctgggcggg	1320
55	gggggtggcc	ccaacttggg	tcgggcggcc	tcggtcgggt	cgttgtcggg	gccgcaggcc	1380
	tgggcgcggg	ccaaccaggc	agtcacccc	goggcgcggg	cgctgccgct	gaccagcctg	1440
	accagcggcg	cggaaagagg	gcccgggcag	atgctggggc	ggctgccggg	ggggcagatg	1500
	ggcgccaggg	ccggtggtgg	gctcagtggt	gtgctgctgt	ttccgcggcg	acctatgtg	1560
	atgccgcatt	ctccggcagc	cgggcatatc	gccccgcggg	ccttgtcgca	ggaccgggtc	1620
60	gccgacttcc	ccgcgctgcc	cctcgaccoc	tcgcgatgg	tcgcccagg	ggggccacag	1680
	gtggtcaaca	tcaacaccaa	actgggctac	aacaacgccg	tgggcgcggg	gaccggcctc	1740

	gtcatcgatc	ccaacggtgt	cgtgctgacc	aacaaccacg	tgatcgcggg	cgccaccgac	1800
	atcaatgcgt	tcagcgtegg	ctccggccaa	acctaeggcg	tcgargtggt	cggtatgac	1860
	cgcaaccagg	atgtcgcggt	gctgcagctg	cgcggtgccg	gtggcctgcc	gtcggcgcg	1920
	atcgggtggc	gcgtcgcggt	tggtgagccc	gtcgtcgcga	tgggcaacag	cggtgggcag	1980
5	ggcggaaacg	ccogtgcggg	gcctggcagg	gtggtcgcgc	tcggccaaac	cgtgcaggcg	2040
	tcggattcgc	tgaccgggtg	cgaagagaca	ttgaacgggt	tgatccagtt	cgatgcccg	2100
	atccagccc	gtgatgcggg	cgggcccctc	gtcaacggcc	taggacaggt	ggtcggtatg	2160
	aacacggccg	cgtcctag					2178

10

SEQ ID No 10:

	MKHTAASDNF	QLSQGGQGFA	IPIGQAMAIA	GQIRSGGGSP	TVHIGPTAFL	GLGVVDMNGN	60
	GARVQRVVG	APAASLGIST	GDVITAVDGA	PINSATAMAD	ALNGHHPGDV	ISVTWQTKSG	120
	GTRIGNVTLA	EGPPAEFMVD	FGALPPEINS	ARMYAGPGSA	SLVAAAQMWD	SVASDLPSAA	180
15	SAPQSVVWGL	TVGSWIGSSA	GLMVAASPY	VAVMSVTAGQ	AELTAAQVRV	AAAAVETAYG	240
	LTVPPPVI	NRAELMILIA	TNLLGQNTPA	IAVNEAEYGE	MWAQDAAAMF	GYAAATATAT	300
	ATLLPFEEAP	EMTSAGLLE	QAAAVEEASD	TAAANQLMNN	VPQALQQLAQ	PTQGTTPSSK	360
	LGGLWKTVSP	HRSPISNMVS	MANNHMSMTN	SGVSMNTLS	SMLKGFAPAA	AAQAVQTAAQ	420
	NGVRAMSSLG	SSLGSSGLGG	GVAANLGRAA	SVGSLVYPQA	WAAANQAVTP	AARALPLTSL	480
20	TSAAERGGPQ	MLGGLFVGQM	GARAGGGLSG	VLRVFPRPYV	MPHSPAAGDI	APPALSQDRF	540
	ADFPALPLDP	SAMVAQVGPQ	VVNINTKLG	NNAVAGAGTI	VIDPNGVVL	NNHVIAGATD	600
	INAFSVGSGQ	TYGVDVVG	RTQDVAVLQ	RGAGGLPSAA	IGGGVAVGEP	VVAMGNSGGQ	660
	GCTPRAVPCR	VVALGQTVQA	SDSLTGAET	LNGLIQFDDA	IQPGDAGGPV	VNGLGQVVGM	720
	NTAAS						725

25

SEQ ID No 11:

	atgatgagaa	aacttgecat	cctcagcgtc	agctctttcc	tgctcgtgga		50
	ggccctcttc	caggagatc	agtgctacgg	aagcagcagc	aatacaagg		100
30	tcctgagacg	gctcaactat	gacaacgctg	gaacgaacct	gtataacgag		150
	ctggagatga	actactatgg	caagcaggag	aactggtata	gocggaagaa		200
	gaacagccgg	tcctggggcg	agaacgacga	cggcaacaac	aacaacggcg		250
	acaacggcag	ggagggcaaa	gatgaggaca	agagggacgg	gaacaacgag		300
	gataacgaga	agctgcggaa	gccccagcac	aagaaactca	agcagcccgc		350
35	cgacgggaac	ccggacccca	atgcaaatcc	caacgtcgac	ccaaacgcaa		400
	accctaactg	ggaccccaac	gccaatccca	acgtcgatcc	taatgccaat		450
	ccaaatgcca	accctaacgc	aatcctaata	gcaaacccca	acgccaatcc		500
	taacgccaac	ccaaatgcca	acccaaacgc	taaccccaac	gctaaccctaa		550
	atgcaaatcc	caatgctaac	ccaaacgtgg	accctaacgc	taaccccaac		600
40	gcaaacccca	acgccaatcc	taacgcaaac	cccaatgcaa	accctaacgc		650
	aaatcccaac	gctaacccta	acgcaaacce	caacgccaac	cctaatagcca		700
	acccccatgc	taaccccaac	gccaatccca	acgcaaatcc	aaacgccaac		750
	ccaaatgcaa	acccccacgc	taatcccaac	gccaacccca	acgccaatcc		800
	taacaagaac	aatcaggcca	acgggcaggg	ccataacatg	ccgaacgacc		850
45	ctaactggaa	tgtggacgag	aacgccaacg	ccaacagcgc	cgtgaagaac		900
	aacaacaacg	aggagccctc	cgacaagcac	atcaaggaat	acctgaacaa		950
	gatccagaac	agtctgagca	ccgagtggtc	cccctgctcc	gtgacctgcg		1000
	gcaacggcat	ccaggtgagg	atcaagccc	gctcogccaa	caagcccaag		1050
	gacgagctgg	actacgcca	cgacatcgag	aagaagatct	gcaagatgga		1100
50	gaaatgcagct	ctgtgttcaac	gtcgtgaa	ctccgcatc	ggcctgtga		1149

SEQ ID No 12:

	MMRKLAILSV	SSFLFVEALF	QEYQCYGSSS	NTRVLNELNY	DNAGTNLYNE		50
55	LEMNYYGKOE	NWYSLKKNR	SLGENDDGNN	NNGDNGREGK	DEDKRDGNE		100
	DNEKLRKPKH	KKLKQPADGN	PDPNANPNVD	PNANPNVDPN	ANPNVDPNAN		150
	PNANPNANPN	ANPNANPNAN	PNANPNANPN	ANPNANPNAN	PNVDPNANPN		200
	ANPNANPNAN	PNANPNANPN	ANPNANPNAN	PNANPNANPN	ANPNANPNAN		250
	PNANPNANPN	ANPNANPNKN	NQNGQGHNH	PNDPNRNVD	NANANSVKN		300
60	NNNEEPSDKH	IKEYLNKIQN	SLSTEWSPCS	VTCGNGIQVR	IKPGSANKPK		350
	DELDYANDIE	KKICKMEKCS	SVFNVNSAI	GL			382

SEQ ID No 13:

	atgatggctc	ccgatccctaa	tgcaaatcca	aatgcaaacc	caaacgcaaa	50
	ccccaatgca	aatcctaata	caaaccceaa	tgcaaatcct	aatgcaaate	100
5	ctaatagcaa	tccaaatgca	aatccaaatg	caaaccceaaa	cgcaaaccce	150
	aatgcaaate	ctaatagcaa	tccaaatgca	aatccaaatg	caaaccceaaa	200
	tgcaaaccca	aatgcaaacc	ccaatgcaaa	tcctaataaa	aacaatcaag	250
	gtaatggaca	aggtcacaat	atgccaaatg	accceaaaccg	aatgtagat	300
	gaaaatgcta	atgccaaacag	tgctgtaaaa	aataataata	acgaagaacc	350
10	aagtgataag	cacataaaaag	aatattttaa	caaaatacaa	aattctcttt	400
	caactgaatg	gtcccccatt	agtgttaact	gtggaaatgg	tattcaagtt	450
	agaataaagc	ctggctctgc	taataaacct	aaagacgaat	tagattatgc	500
	aaatgatatt	gaaaaaaaaa	tttgtaaaaa	ggaaaaatgt	tccagtgtgt	550
	ttaatgtcgt	aaatagttca	ataggattag	ggcctgtgac	gaacatggag	600
15	aacatcacat	caggattcct	aggacccttg	ctcgtgttac	aggcgggggt	650
	tttcttggtg	acaagaatcc	tcacaatacc	gcagagtcta	gactcgtggg	700
	ggacttctct	caattttcta	gggggatcac	ccgtgtgtct	tgcccaaaa	750
	tcgcagtccc	caacctccaa	tcactacca	acctcctgtc	ctccaatttg	800
	tctgtggtat	cgctggatgt	gtctgcggcg	ttttatcata	ttcctcttca	850
20	tctgtgtgct	atgcctcctc	ttcttattgg	trctcttgga	ttatcaaggt	900
	atgttgcccg	tttgtcctct	aattccagga	tcaacaacaa	ccaatacggg	950
	accatgcaaa	acctgcacga	ctcctgctca	aggcaactct	atgtttccct	1000
	catgttgctg	tacaaaacct	acggatggaa	attgcacctg	tattcccatt	1050
	ccatcgtcct	gggctttcgc	aaaataccta	tgggagtggg	cctcagtcgg	1100
25	tttctcttgg	ctcagtttac	tagtgccatt	tggtcagtg	ttcgtagggc	1150
	ttccccccac	tgtttggtct	tcagctatat	ggatgatgtg	gtattggggg	1200
	ccaagtctgt	acagcatcgt	gagtcctctt	ataccgctgt	taccaatctt	1250
	ctttgtctct	tggttataca	tttaa			1275

30

SEQ ID No 14:

	MMAADPNANP	NANPNANPNA	NPNANPNANP	NANPNANPNA	NPANPNANP	50
	NANPNANPNA	NPANPNANP	NANPNANPNK	NNQNGQGHN	MPNDPNRNV	100
	ENANANSVAVK	NNNNEEPPSDK	HIKEYLNKIQ	NLSSTEWSPC	SVTCGNGIQV	150
35	RIKPGSANKP	KDELDYANDI	EKKICKMEKC	SSVFNVNSS	IGLGPVTNME	200
	NITSGFLGPL	LVLQAGFFLL	TRILTIPQSL	DSWWTSLNFL	GGSPVCLQON	250
	SQSPTSNHSP	TSCPPICPGY	RWMCLRRFII	FLFILLCLI	FLLVLLDYQG	300
	MLPVCCLIPG	STTTNTGPKC	TCTIPAQGNS	MFPSCCCTKP	TDGNCTCIPI	350
	PSSWAFAYL	NEWASVRFSW	LSLLVPFVQW	FVGLSPTVWL	SAIWMWYWG	400
40	PSLYSIVSPF	IPLLPIFFCL	WVYI			424

SEQ ID No 15:

	atggtcattg	ttcagaacat	acagggccaa	atggtccacc	aggcaattag	50
	tccgogaact	cttaatgcat	gggtgaaggt	cgtggaggaa	aaggcattct	100
45	ccccggaggt	cattccgatg	ttttctgocg	tatctgaggg	cgcaacgccg	150
	caagacctta	ataccatgct	taaacaggta	ggcgggcacc	aagccgctat	200
	gcaaatgcta	aaagagacta	taaacgaaga	ggccgccgaa	tggtatcgag	250
	tgaccccggt	gcacgccggc	ccaattgcac	caggccagat	gcgcgagccg	300
	cgccgggtctg	atattgcagg	aactacgtct	acccttcagg	agcagattgg	350
50	gtggatgact	aacaatccac	caatcccggg	cggagagatc	tataagaggt	400
	ggatcatact	gggactaac	aagatagtcc	gcatgtatc	tccgacttct	450
	atactggata	tacgccaagg	cccaaggagg	ccgttcaggg	actatgtcga	500
	ccgattctat	aagacccttc	gcgcagagca	ggcatcccag	gaggtcaaaa	550
	attggatgac	agaaactctt	ttgggtgcaga	atgcgaatcc	ggattgtaaa	600
55	acaattttaa	aggctctagg	accggccgca	acgctagaag	agatgatgac	650
	ggcttgctcag	ggagtcgggtg	gaccggggca	taaagcccgc	gtcttacaca	700
	tgggccccgat	atctccgata	gaaacagttt	cggtcaagct	taaaccaggg	750
	atggatggctc	caaaggctcaa	gcagtgcccg	ctaaccggaag	agaagattaa	800
	ggcgcctcgta	gagatttgta	ctgaaatgga	gaaggaaggc	aagataagca	850
60	agatcggggcc	agagaaccgg	tacaatacac	cggtatttgc	aataaagaaa	900

	aaggattcaa	caaaatggcg	aaagcttgta	gattttaggg	aactaaacaa	950
	gcgaacccaa	gacttttggg	aagtccaact	agggatccca	catccagccg	1000
	gtctaaagaa	gaagaaatcg	gtcacagtc	tggatgtagg	agacgcatat	1050
	tttagtgtac	cgcttgatga	ggacttccga	aagtatactg	cgtttactat	1100
5	accgagcata	aacaatgaaa	cgccaggcat	tcgctatcag	tacaacgtgc	1150
	tcccgcaggg	ctggaagggg	tctccggcga	tatttcagag	ctgtatgaca	1200
	aaaatacttg	aaccattccg	aaagcagaat	ccggatattg	taatttacca	1250
	atacatggac	gatctctatg	tgggctcggg	tctagaaaatt	gggcagcatc	1300
	gcactaagat	tgaggaactg	aggcaacatc	tgcttcgatg	gggcctcact	1350
10	actcccgaca	agaagcacca	gaaggagccg	ccgttcctaa	agatggggcta	1400
	cgagcttcat	ccggacaagt	ggacagtaca	gccgatagtg	ctgcccgaaa	1450
	aggattcttg	gacogtaaat	gatattcaga	aactagtcgg	caagcttaac	1500
	tgggcctctc	agatttacc	aggcattaag	gtccgacagc	tttgcaagct	1550
	actgagggga	actaaggctc	taacagaggt	catcccatta	acggaggaag	1600
15	cagagcttga	gctggcagag	aatcgcgaaa	ttcttaagg	gccggtagc	1650
	ggggtatact	acgacccctc	caaggacctt	atagccgaga	tccagaagca	1700
	ggggcagggc	caatggaagt	accagatata	tcaagaaccg	tttaagaatc	1750
	tgaagactgg	gaagtacgcg	cgcatgcgag	gggctcatac	taatgatgta	1800
	aagcaactta	cggaagcagt	acaaaagatt	actactgagt	ctattgtgat	1850
20	atggggcaag	accccaaagt	tcaagctgcc	catacagaag	gaaacatggg	1900
	aaacatgggtg	gactgaatat	tggcaagcta	cctggattcc	agaatgggaa	1950
	tttgtcaaca	cgccgccact	tgtaagctt	tggtagcagc	ttgaaaagga	2000
	gccgatagta	ggggcagaga	ccttctatgt	cgatggcgcc	gcgaatcgcg	2050
	aaacgaagct	aggcaaggcg	ggatacgtga	ctaatagggg	ccgccaaaag	2100
25	gtcgtaaccc	ttacggatac	caccaatcag	aagactgaac	tacaagcgat	2150
	ttaccttgca	cttcaggata	gtggcctaga	ggtcaacata	gtcacggact	2200
	ctcaatatgc	gcttggcatt	attcaagcgc	agccagatca	aagcgaagc	2250
	gagcttgtaa	accaaataat	agaacagctt	ataaagaaag	agaaggtata	2300
	tctggcctgg	gtccccgctc	acaagggaa	tggcggcaat	gagcaagtgg	2350
30	acaagctagt	cagcgtggg	attcgcaagg	ttcttgcgat	gggggtaag	2400
	tggcttaagt	ctagcgtagt	cggttggccg	acagtccgcg	agcgcagcgg	2450
	acgcgccgaa	ccagccgcag	atggcgtggg	ggcagcgtct	agggatctgg	2500
	agaagcacgg	ggctataact	tccagtaaca	cggcggcgac	gaacgccgca	2550
	tgcgatgggt	tagaagccca	agaagaggaa	gaagtagggt	ttccggtaac	2600
35	tcccagtggt	ccgttaaggc	cgatgacct	taaggcagcg	gtggatcttt	2650
	ctcacttct	taaggagaaa	ggggggctgg	agggcttaat	tcacagccag	2700
	aggcgacagg	atattcttga	tctgtggatt	taccataccc	aggggtactt	2750
	tccggactgg	cagaattaca	ccccggggcc	aggcgtgctc	tatcccctga	2800
	ctttcgggtg	gtgctacaaa	ctagtcccag	tggaaccgca	caaggctcga	2850
40	gaggctaata	agggcgagaa	cacttctctt	cttcaccggg	taagcctgca	2900
	cgggatggat	gaccagaaac	gagaggtct	agaatggagg	ttcgactctc	2950
	gacttgcgtt	ccatcacgta	gcacgcgagc	tgcattccaga	atatttcaag	3000
	aactgccgcc	caatggggcg	cagggccagt	gtacttagtg	gcggagaact	3050
	agatcgatgg	gaaaagatac	gcctacgccc	ggggggcaag	aagaagtaca	3100
45	agcttaagca	cattgtgtgg	gcctctcgcg	aacttgagcg	attcgagtg	3150
	aatccaggcc	tgcttgagac	gagtgaaggc	tgtaggcaaa	ttctggggca	3200
	gctacagccg	agcctacaga	ctggcagcga	ggagcttcgt	agtctttata	3250
	ataccgtcgc	gactctctac	tgcgttcac	aacgaattga	aataaaggat	3300
	actaaagagg	cccttgataa	aattgaggag	gaacagaata	agtcgaaaaa	3350
50	gaaggcccag	cagggccgcg	ccgacaccgg	gcacagcaac	caggtgtccc	3400
	aaaactacta	a				3411

	SEQ ID No 16:					
	MVIVQNIQGG	MVHQAI SPRT	LNAWVKVVEE	KAFSPEVIPM	FSALSEGATP	50
55	QDLNITMLNTV	GGHQAMQML	KETINEEAAE	WDRVHPVHAG	PIAPGQMRP	100
	RGSDIAGTTS	TLQEQIGWMT	NNPPIPVGEI	YKRWILGLN	KIVRMYSPTS	150
	ILDIRQGPKE	PFRDYVDRFY	KTLRAEQASQ	EVKNWMTETL	LVQANPDCK	200
	TILKALGPAA	TLERMMTACQ	GVGGPGHKAR	VLHMGPISPI	ETVSVKLPKPG	250
	MDGPKVKQWP	LTEEKIKALV	EICTEMEKEBG	KISKIGPENP	YNTPVFAIKK	300
60	KDSTKWRKLV	DFRELNKRTQ	DFWEVQLGIP	HPAGLKKKKS	VTVLDVGDAY	350

	FSVPLDEDFR	KYTAFTIPSI	NNETPGIRYQ	YNVLPQGWK	SPAIFQSCMT	400
	KILEPFRKQN	PDIVIYQYMD	DLYVGSLEI	GQHRTKIEEL	RQHLLRWGLT	450
	TPDKKHQKEP	PFLKMGYELH	PDKWTVQPIV	LPEKDSWTVN	DIQKLVGKLN	500
	WASQIYPGIK	VRQLCKLLRG	TKALTEVIPL	TEEALELAB	NREILKEPVH	550
5	GVYYDPSKDL	IABIQKQGQG	QWTYQIYQEP	FKNLKTGKYA	RMRGAHTNDV	600
	KQLTEAVQKI	TTESIVIWGK	TPKFKLPIQK	ETWETWTEY	WQATWIPEWE	650
	FVNTPLVVKL	WYQLEKEPIV	GAETFYVDGA	ANRETKLGKA	GYVTNRGRQK	700
	VVTLTDTTNO	KTELQAIYLA	LQDSGLEVNI	VTDSQYALGI	IQAQPDQSES	750
	ELVNQIIEQL	IKKEKVYLAW	VPAHKGIGGN	EQVDKLVSAG	IRKVLAMGGK	800
10	WSKSSVVGWP	TVRERMRAE	PAADGVGAAS	RDLEKHGAIT	SSNTAATNAA	850
	CAWLEAQEEB	EVGFVTPQV	PLRPMYKAA	VDLSHFLKEK	GGLEGLIHSQ	900
	RRQDILDWI	YHTQGYFPDW	QNYTPGPGVR	YPLTFGWCYK	LVPVEPKVE	950
	EANKGENTSL	LHPVSLHGMD	DPEREVLEWR	FDSRLAFHHV	ARELHPEYFK	1000
	NCRPMGARAS	VLSGGELDRW	EKIRLRPGGK	KKYKLKHIVW	ASRELERFAV	1050
15	NPGLLETSEG	CRQILGQLQP	SLQGTSEELR	SLYNTVATLY	CVHQRIEIKD	1100
	TKEALDKIEE	BONKSKKKAQ	QAAADTGHNS	QVSQNY		1136

序列表

<110> 葛兰素史密丝克莱恩生物有限公司 (GlaxoSmithKline Biologicals)
葛兰素史密丝克莱恩生物有限公司 (GlaxoSmithKline Biologicals)

<120> 新的方法和组合物

<130> V62209

<160> 16

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 3204

<212> DNA

<213> HIV

<400> 1

```

atgggtgcc gagcttcggt actgtctggt ggagagctgg acagatggga gaaaattagg 60
ctgcgccgg gagcaaaaa gaaatacaag ctcaagcata tcgtgtgggc ctcgaggag 120
cttgaacggt ttgccgtgaa cccaggcctg ctggaacat ctgagggatg tcgccagatc 180
ctggggcaat tgcagccatc cctccagacc gggagtgaag agctgaggtc cttgtataac 240
acagtggcta ccctctactg cgtacaccag aggatcgaga ttaaggatac caaggaggcc 300
ttggacaaaa ttgaggagga gcaaaacaag agcaagaaga aggccagca ggcagctgct 360
gacactgggc atagcaacca ggtatcacag aactatccta ttgtccaaaa cattcagggc 420
cagatggttc atcaggccat cagcccccg acgctcaatg cctgggtgaa gtttgcgaa 480
gagaaggcct tttctctga gtttatccc atgttctcc ctttgagtga gggggccact 540
cctcaggacc tcaatacaat gcttaatacc gtggcgcc atcaggccgc catgcaaatg 600
ttgaaggaga ctatcaacga ggaggcagcc gagtgggaca gagtgcattc cgtccacgct 660
ggcccaatcg cgcccgaca gatgcgggag cctcgggct ctgacattgc cggcaccacc 720
tctacactgc aagagcaaat cggatggatg accaacaatc ctccatccc agttggagaa 780
atctataaac ggtggatcat cctgggectg aacaagatcg tgcgcatgta ctctccgaca 840
tccatccttg acattagaca gggacccaaa gagccttita gggattacgt cgaccggtt 900
tataagacc tgcgagcaga gcaggcctct caggaggta aaaactggat gacggagaca 960
ctcctgttac agaacgctaa ccccgactgc aaaacaatct tgaaggcact aggcccgct 1020
gccaccctgg aagagatgat gaccgctgt cagggagtag gcggaccgg acacaaagcc 1080
agagtgttga tggccccat cagtccatc gagaccgtgc cggatgaagct gaaaccggg 1140
atggacggcc ccaaggtcaa gcagtggcca ctcaccgagg agaagatcaa ggccctggtg 1200
gagatctgca ccgagatgga gaaagagggc aagatcagca agatcgggcc ggagaacca 1260
tacaacacc ccgtgtttgc catcaagaag aaggacagca ccaagtggcg caagctggtg 1320
gatttccggg agctgaataa gcggaccag gatttctggg aggtccagct gggcatcccc 1380
catccggccg gcctgaagaa gaagaagagc gtgaccgtgc tggacgtggg cgacgcttac 1440
ttcagcgtcc ctctggacga ggactttaga aagtacaccg cttttaccat cccatctatc 1500
aacaacgaga cccctggcat cagatatcag tacaacgtcc tccccaggg ctggaagggc 1560
tctcccgcca tttccagag ctccatgacc aagatcctgg agccgtttcg gaagcagaac 1620
cccgatatcg tcactacca gtacatggac gacctgtacg tgggctctga cctggaaatc 1680
gggcagcatc gcacgaagat tgaggagctg aggcagcatc tgctgagatg ggcctgacc 1740
actccggaca agaagcatca gaaggagccg ccattcctga agatgggcta cgagctccat 1800
cccgacaagt ggaccgtgca gcctatcgtc ctccccgaga aggacagctg gaccgtgaac 1860
gacatccaga agctggtggg caagctcaac tgggctagcc agatctatcc cgggatcaag 1920
gtgcgccagc tctgcaagct gctgcgcggc accaaggccc tgaccgaggt gattcccctc 1980

```

```

acggaggaag ccgagctcga gctggctgag aaccgggaga tcctgaagga gcccggtgcac 2040
ggcgtgtact atgacctc ccaaggacctg atcgccgaaa tccagaagca gggccagggg 2100
cagtgagcat accagattta ccaggagcct ttcaagaacc tcaagaccgg caagtacgcc 2160
cgcatgaggg gcgcccacac caacgatgtc aagcagctga ccgaggccgt ccagaagatc 2220
acgaccgagt ccatcgtgat ctgggggaag acaccaagt tcaagctgcc tatccagaag 2280
gagacctggg agacgtgggt gaccgaatat tggcaggcca cctggattcc cgagtggggag 2340
ttcgtgaata cacctcctct ggtgaagctg tggtagcagc tcgagaagga gcccatcgtg 2400
ggcgcggaag cattctacgt ggacggcgcg gccaacgcg aaacaaagct cggaaggcc 2460
gggtacgtca ccaaccgggg ccgccagaag gtcgtcacc tgaccgacac caccaaccag 2520
aagacggagc tgcaggccat ctatctcgt ctccaggact cggcctgga ggtgaacatc 2580
gtgacggaca gccagtagc gctgggcatt attcaggccc agccggacca gtccgagagc 2640
gaactggtga accagattat cgagcagctg atcaagaaag agaaggtcta cctcgcctgg 2700
gtcccggccc ataaggcat tggcggcaac gagcaggctg acaagctggt gactgcccggg 2760
attagaaagg tgctgatggt gggttttcca gtcacacctc aggtaccttt aagaccaatg 2820
acttacaagg cagctgtaga tcttagccac tttttaaag aaaagggggg actggaaggg 2880
ctaattcact ccaaagaag acaagatc cttgatctgt ggatctacca cacacaaggc 2940
tacttcctg attggcagaa ctacacacca gggccagggg tcagatatcc actgaccttt 3000
ggatggtgct acaagctagt accagttgag ccagataagg tagaagaggc caataaagga 3060
gagaacacca gcttggtaca ccctgtgagc ctgcatggga tggatgacc ggagagagaa 3120
gtgttagagt ggaggttga cagccgcta gatttcac acgtggccc agagctgcat 3180
ccggagtact tcaagaactg ctga 3204

```

<210> 2

<211> 1067

<212> PRT

<213> HIV

<400> 2

```

Met Gly Ala Arg Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp
 1           5           10           15
Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys
          20           25           30
His Ile Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro
          35           40           45
Gly Leu Leu Glu Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu
          50           55           60
Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
65           70           75           80
Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
          85           90           95
Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
          100          105          110
Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly His Ser Asn Gln Val
          115          120          125
Ser Gln Asn Tyr 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 Met Gly Pro Ile Ser
 355 360 365
 Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro
 370 375 380
 Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val
 385 390 395 400
 Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly
 405 410 415
 Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp
 420 425 430
 Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg
 435 440 445
 Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly
 450 455 460
 Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr
 465 470 475 480
 Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr
 485 490 495
 Ile Pro Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn
 500 505 510
 Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser
 515 520 525
 Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val
 530 535 540
 Ile Tyr Gln Tyr Met Asp Asp Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile
 545 550 555 560
 Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg
 565 570 575
 Trp Gly Leu Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe
 580 585 590
 Leu Lys Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro
 595 600 605

Ile Val Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys
 610 615 620
 Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys
 625 630 635 640
 Val Arg Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu
 645 650 655
 Val Ile Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg
 660 665 670
 Glu Ile Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys
 675 680 685
 Asp Leu Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln Gly Gln Trp Thr Tyr
 690 695 700
 Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala
 705 710 715 720
 Arg Met Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala
 725 730 735
 Val Gln Lys Ile Thr Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro
 740 745 750
 Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr
 755 760 765
 Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr
 770 775 780
 Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu Pro Ile Val
 785 790 795 800
 Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys
 805 810 815
 Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asn Arg Gly Arg Gln Lys Val Val
 820 825 830
 Thr Leu Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Glu Leu Gln Ala Ile Tyr
 835 840 845
 Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val Thr Asp Ser
 850 855 860
 Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Gln Ser Glu Ser
 865 870 875 880
 Glu Leu Val Asn Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Lys Val
 885 890 895
 Tyr Leu Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln
 900 905 910
 Val Asp Lys Leu Val Ser Ala Gly Ile Arg Lys Val Leu Met Val Gly
 915 920 925
 Phe Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr Lys Ala
 930 935 940
 Ala Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu Glu Gly
 945 950 955 960
 Leu Ile His Ser Gln Arg Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu Trp Ile Tyr
 965 970 975
 His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro
 980 985 990
 Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Tyr Lys Leu Val Pro
 995 1000 1005
 Val Glu Pro Asp Lys Val Glu Glu Ala Asn Lys Gly Glu Asn Thr Ser
 1010 1015 1020


```

gtgggcaagc tgaattgggc cagccaaatc tacgccggca ttaaagtga gacagctgtgc 2340
aggctgtctga gaggcgccaa agccctgaca gacatcgtga cactgacaga ggaggccgag 2400
ctggagctgg ccgagaacag ggagatcctg aaggaccccg tgcacggcgt gtactacgac 2460
cccagcaagg acctggtggc cgagattcag aagcagggcc aggaccagtg gacctaccaa 2520
atctaccagg agcctttcaa gaacctgaaa accgggaagt acgccaggaa gagaagcgcc 2580
cacaccaacg atgtgaggca gctggccgaa gtggtgcaga aagtggctat ggagagcatc 2640
gtgatctggg gcaagacccc caagtcaag ctgccatcc agaaggagac ctgggaaacc 2700
tggtggtgag actactggca ggccacctgg attcctgagt gggagtctgt gaacaccccc 2760
cctctggtga agctgtggtg tcaactggag aaggacccca tcctggggcg cgagaccttc 2820
tacgtggacg gagccgcca tagagagacc aagctgggca agcccggtc cgtgaccgac 2880
agaggcagac agaaagtggg gtctctgacc gagacaacca accagaaaac cgagctgcac 2940
gccatcctgc tggccctgca ggacagcggc agcgaagtga acatcgtgac cgactcccag 3000
tacgccctgg gcatcattca ggcccagccc gatagaagcg agagcgagct ggtgaaccag 3060
atcatcgaga agctgatcgg caaggacaaa atctacctga gctgggtgcc cgcccacaag 3120
ggcatcggcg gcaacgagca ggtggacaag ctggtgtcca gcggcatccg gaaagtgtg 3180
tttctggacg gcatcgacaa ggcccaggag gaccacgaga gataccacag caactggcgg 3240
acaatggcca gcgacttcaa cctgcctccc atcgtggcca aggagatcgt ggccagctgc 3300
gataagtgtc agctgaaggg cgaggccatg cacggccagg tggactgcag ccctggcatc 3360
tggcagctgg cctgcacca cctggagggc aaagtgattc tggtgccgt gcacgtggcc 3420
agcggctaca tcgaggccga agtgattccc gccgagaccg gccaggagac cgcctacttc 3480
ctgctgaagc tggccggcag atggcccgtg aaagtgggtg acaccgcca cggcagcaac 3540
ttcacctctg ccgccgtgaa ggccgcctgt tggtgggcca atatccagca ggagtctggc 3600
atcccctaca acctcagag ccaggcgtg gtggccagca tgaacaagga gctgaagaag 3660
atcatcggcc aggtgaggga ccaggccgag cacctgaaaa cagccgtgca gatggccgtg 3720
ttcatccaca acttcaagcg gaagggcggc attggcggct acagcggcgg agagcggatc 3780
atcgacatca tcgccaccga tatccagacc aaggaactgc agaagcagat caccaagatt 3840
cagaacttca gactgtacta ccgggacagc agggaccca tctggaagg ccctgccaag 3900
ctgctgtgga agggcgaagg cgccgtggtg atccaggaca acagcgacat caaagtgggtg 3960
ccccggagga agccaagat tctgcgggac tacggcaaac agatggccgg cgatgactgc 4020
gtggccggca ggcaggatga ggacagatct atggcggca agtggtcaa gggcagcatt 4080
gtgggctggc ccgagatccg ggagagaatg agaagagccc ctgccgccgc tcctggagtg 4140
ggcgcctgtg ctgagatct ggataagcac ggcccatca ccagcagcaa catcaacaac 4200
cccagctgtg tgtggctgga ggcccaggaa gaggaggaag tggccttccc tgtgagacct 4260
caggtgcccc tgagaccat gacctacaag ggcccttcg acctgagcca cttcctgaag 4320
gagaagggcg gcctggacgg ctgatctac agccggaagc ggcaggagat cctggatctg 4380
tgggtgtacc acaccaggg ctacttcccc gactggcaga attacacccc tggccctgga 4440
gtgcggtatc ccctgacctt cggtggtg tcaagctgg tgcctatgga gcccagcaga 4500
gtggagaagg ccacagagg cgagaacaac agcctgctgc accctatctg ccagcacggc 4560
atggacgatg aggagcggga agtgctgatc tggaaagtctg acagcaggtt ggccctgaag 4620
cacagagccc aggaactgca cccagagttc tacaaggact gctga 4665

```

<210> 4

<211> 1554

<212> PRT

<213> HIV

<400> 4

```

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

```



```

      450                455                460
Glu Gly Ile Ala Ser Leu Pro Lys Gln Glu Gln Lys Asp Arg Glu Gln
465                470                475                480
Val Pro Pro Leu Val Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp Pro Leu
      485                490                495
Ser Gln Gly Ser Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Thr Leu
      500                505                510
Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu
      515                520                525
Glu Lys Ile Lys Ala Leu Thr Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu
      530                535                540
Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile
545                550                555                560
Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp
      565                570                575
Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu
      580                585                590
Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val
      595                600                605
Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asn Phe
      610                615                620
Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr Asn Asn Glu Thr Pro
625                630                635                640
Gly Val Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser
      645                650                655
Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg
      660                665                670
Ser Lys Asn Pro Glu Ile Ile Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr
      675                680                685
Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu
      690                695                700
Leu Arg Ala His Leu Leu Ser Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys
705                710                715                720
His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro
      725                730                735
Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Met Leu Pro Asp Lys Glu Ser Trp
      740                745                750
Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser
      755                760                765
Gln Ile Tyr Ala Gly Ile Lys Val Lys Gln Leu Cys Arg Leu Leu Arg
      770                775                780
Gly Ala Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Thr Leu Thr Glu Glu Ala Glu
785                790                795                800
Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Asp Pro Val His Gly
      805                810                815
Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Val Ala Glu Ile Gln Lys Gln
      820                825                830
Gly Gln Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn
      835                840                845
Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Arg Lys Arg Ser Ala His Thr Asn Asp
850                855                860
Val Arg Gln Leu Ala Glu Val Val Gln Lys Val Ala Met Glu Ser Ile

```

865		870		875		880
Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu						
		885		890		895
Thr Trp Glu Thr Trp Trp Met Asp Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro						
		900		905		910
Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln						
		915		920		925
Leu Glu Lys Asp Pro Ile Leu Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly						
		930		935		940
Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp						
		945		950		955
Arg Gly Arg Gln Lys Val Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn Gln Lys						
		965		970		975
Thr Glu Leu His Ala Ile Leu Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Ser Glu						
		980		985		990
Val Asn Ile Val Thr Asp Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala						
		995		1000		1005
Gln Pro Asp Arg Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile Ile Glu Lys						
		1010		1015		1020
Leu Ile Gly Lys Asp Lys Ile Tyr Leu Ser Trp Val Pro Ala His Lys						
		1025		1030		1035
Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Ser Gly Ile						
		1045		1050		1055
Arg Lys Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Asp His						
		1060		1065		1070
Glu Arg Tyr His Ser Asn Trp Arg Thr Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu						
		1075		1080		1085
Pro Pro Ile Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Lys Cys Gln						
		1090		1095		1100
Leu Lys Gly Glu Ala Met His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile						
		1105		1110		1115
Trp Gln Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu Val Ala						
		1125		1130		1135
Val His Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu						
		1140		1145		1150
Thr Gly Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Leu Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp						
		1155		1160		1165
Pro Val Lys Val Val His Thr Ala Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala						
		1170		1175		1180
Ala Val Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Asn Ile Gln Gln Glu Phe Gly						
		1185		1190		1195
Ile Pro Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Ala Ser Met Asn Lys						
		1205		1210		1215
Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu						
		1220		1225		1230
Lys Thr Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys						
		1235		1240		1245
Gly Gly Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Ile Asp Ile Ile						
		1250		1255		1260
Ala Thr Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile						
		1265		1270		1275
Gln Asn Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Ile Trp Lys						

	1285		1290		1295
Gly Pro Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln					
	1300		1305		1310
Asp Asn Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Leu					
	1315		1320		1325
Arg Asp Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Gly Arg					
	1330		1335		1340
Gln Asp Glu Asp Arg Ser Met Gly Gly Lys Trp Ser Lys Gly Ser Ile					
1345		1350		1355	1360
Val Gly Trp Pro Glu Ile Arg Glu Arg Met Arg Arg Ala Pro Ala Ala					
	1365		1370		1375
Ala Pro Gly Val Gly Ala Val Ser Gln Asp Leu Asp Lys His Gly Ala					
	1380		1385		1390
Ile Thr Ser Ser Asn Ile Asn Asn Pro Ser Cys Val Trp Leu Glu Ala					
	1395		1400		1405
Gln Glu Glu Glu Glu Val Gly Phe Pro Val Arg Pro Gln Val Pro Leu					
	1410		1415		1420
Arg Pro Met Thr Tyr Lys Gly Ala Phe Asp Leu Ser His Phe Leu Lys					
1425		1430		1435	1440
Glu Lys Gly Gly Leu Asp Gly Leu Ile Tyr Ser Arg Lys Arg Gln Glu					
	1445		1450		1455
Ile Leu Asp Leu Trp Val Tyr His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp					
	1460		1465		1470
Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly					
	1475		1480		1485
Trp Cys Phe Lys Leu Val Pro Met Glu Pro Asp Glu Val Glu Lys Ala					
	1490		1495		1500
Thr Glu Gly Glu Asn Asn Ser Leu Leu His Pro Ile Cys Gln His Gly					
1505		1510		1515	1520
Met Asp Asp Glu Glu Arg Glu Val Leu Ile Trp Lys Phe Asp Ser Arg					
	1525		1530		1535
Leu Ala Leu Lys His Arg Ala Gln Glu Leu His Pro Glu Phe Tyr Lys					
	1540		1545		1550
Asp Cys					

<210> 5

<211> 2025

<212> DNA

<213> HIV

<400> 5

```

atgagggtga tggagatcca gcggaactgc cagcacctgc tgagatgggg catcatgatc 60
ctgggcatga ttatcatctg cagcaccgcc gacaacctgt gggtagaccgt gtactacggc 120
gtgcctgtgt ggagagatgc cgagaccacc ctgttctgcg ccagcgacgc caaggcctac 180
agcaccgaga agcacaatgt gtgggccacc cacgcctgcg tgcctaccga tcccaaccct 240
caggagatcc ccctggacaa cgtgaccgag gagtcaaca tgtggaagaa caacatggtg 300
gaccagatgc acgaggacat catcagcctg tgggaccaga gcctgaagcc ctgctgacag 360
ctgaccccc tgtgctgac cctgaactgc agcaacgcca gagtgaacgc caccttcaac 420
tccaccgagg acagggagg catgaagaac tgcagcttca acatgaccac cgagctgagg 480
gataagaagc agcaggtgta cagcctgttc taccgctgg acatcgagaa gatcaacagc 540

```

```

agcaacaaca acagcgagta cgggtggtg aactgcaata ccagcgccat caccaggcc 600
tgccctaagg tgaccttcca gccatcccc atccactact gcgcccctgc cggcttcgcc 660
atcctgaagt gcaacgacac cgagttcaat ggaccggcc cctgcaagaa tgtgagcacc 720
gtgcagtgca cccacggcat caagcccgtg gtgtccacc agctgctgct gaacggcagc 780
ctggccgaga gagaagtgcg gatcaggagc gagaacatcg ccaacaacgc caagaacatc 840
atcgtgcagt tcgccagccc cgtgaagatc aactgcatcc ggccaacaa caatacccgg 900
aagagctaca gaatcgccc tggccagacc ttctacgcca ccgacattgt gggcgacatc 960
agacaggccc actgcaactg gtcaggacc gactggaaca acaccctgag actggtggcc 1020
aaccagctgc ggaagtactt cagcaacaag accatcatct tcaccaacag cagcggcgga 1080
gacctggaga tcaccacca cagcttcaat tgtggcggcg agttcttcta ctgcaacacc 1140
tccggcctgt tcaatagcac ctggaccacc aacaacatgc aggagtcaa cgacaccagc 1200
aacggcacca tcaccctgcc ctgccggtc aagcagatca tccggatgtg gcagcgcgtg 1260
ggccaggcca tgtacgcccc tccatcgag ggcgtgattc gctgcgagag caacatcacc 1320
ggcctgatcc tgaccagaga tggcggcaac aacaattccg ccaacgagac cttcagacct 1380
ggcggcggag atatcggga caactggcgg agcgagctgt acaagtaca ggtggtgaag 1440
atcgagcccc tggcgtggc ccccaccaga gccaaagaaa gagggtgga gcgggagaag 1500
agagccgtgg gcacggcgc cgtgtttctg ggcttcctgg gagccgccg atctacaatg 1560
ggagccgcca gcacacctt gaccgtgcag gccagacagc tgctgagcgg catcgtgcag 1620
cagcagagca atctgctgag agccatcgag gccagcagc agctgctgaa gctgacagtg 1680
tggggcatca agcagctgca ggccagggtg ctggccgtgg agagatacct gagggaccag 1740
cagctcctgg gcacgtgggg ctgcagcggc aagctgatct gcaccacaa cgtgccttgg 1800
aatagcagct ggagcaacaa gagctacgac gacatctggc agaacatgac ctggctgcag 1860
tgggacaagg agatcagcaa ctacaccgac atcatctaca gcctgatcga ggagagccag 1920
aaccagcagg agaagaacga gcaggatctg ctggccctgg acaagtgggc caacctgtgg 1980
aactggttcg acatcagcaa gtggctgtgg tacatcagat cttga 2025

```

<210> 6

<211> 674

<212> PRT

<213> HIV

<400> 6

```

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

```

Asp Lys Lys Gln Gln Val Tyr Ser Leu Phe Tyr Arg Leu Asp Ile Glu
 165 170 175
 Lys Ile Asn Ser Ser Asn Asn Asn Ser Glu Tyr Arg Leu Val Asn Cys
 180 185 190
 Asn Thr Ser Ala Ile Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Thr Phe Glu Pro
 195 200 205
 Ile Pro Ile His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys Cys
 210 215 220
 Asn Asp Thr Glu Phe Asn Gly Thr Gly Pro Cys Lys Asn Val Ser Thr
 225 230 235 240
 Val Gln Cys Thr His Gly Ile Lys Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu
 245 250 255
 Leu Asn Gly Ser Leu Ala Glu Arg Glu Val Arg Ile Arg Ser Glu Asn
 260 265 270
 Ile Ala Asn Asn Ala Lys Asn Ile Ile Val Gln Phe Ala Ser Pro Val
 275 280 285
 Lys Ile Asn Cys Ile Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Ser Tyr Arg
 290 295 300
 Ile Gly Pro Gly Gln Thr Phe Tyr Ala Thr Asp Ile Val Gly Asp Ile
 305 310 315 320
 Arg Gln Ala His Cys Asn Val Ser Arg Thr Asp Trp Asn Asn Thr Leu
 325 330 335
 Arg Leu Val Ala Asn Gln Leu Arg Lys Tyr Phe Ser Asn Lys Thr Ile
 340 345 350
 Ile Phe Thr Asn Ser Ser Gly Gly Asp Leu Glu Ile Thr Thr His Ser
 355 360 365
 Phe Asn Cys Gly Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asn Thr Ser Gly Leu Phe
 370 375 380
 Asn Ser Thr Trp Thr Thr Asn Asn Met Gln Glu Ser Asn Asp Thr Ser
 385 390 395 400
 Asn Gly Thr Ile Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Arg Met
 405 410 415
 Trp Gln Arg Val Gly Gln Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Glu Gly Val
 420 425 430
 Ile Arg Cys Glu Ser Asn Ile Thr Gly Leu Ile Leu Thr Arg Asp Gly
 435 440 445
 Gly Asn Asn Asn Ser Ala Asn Glu Thr Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp
 450 455 460
 Ile Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys
 465 470 475 480
 Ile Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Arg Ala Lys Arg Arg Val Val
 485 490 495
 Glu Arg Glu Lys Arg Ala Val Gly Ile Gly Ala Val Phe Leu Gly Phe
 500 505 510
 Leu Gly Ala Ala Gly Ser Thr Met Gly Ala Ala Ser Ile Thr Leu Thr
 515 520 525
 Val Gln Ala Arg Gln Leu Leu Ser Gly Ile Val Gln Gln Gln Ser Asn
 530 535 540
 Leu Leu Arg Ala Ile Glu Ala Gln Gln Gln Leu Leu Lys Leu Thr Val
 545 550 555 560
 Trp Gly Ile Lys Gln Leu Gln Ala Arg Val Leu Ala Val Glu Arg Tyr
 565 570 575

Leu Arg Asp Gln Gln Leu Leu Gly Ile Trp Gly Cys Ser Gly Lys Leu
 580 585 590
 Ile Cys Thr Thr Asn Val Pro Trp Asn Ser Ser Trp Ser Asn Lys Ser
 595 600 605
 Tyr Asp Asp Ile Trp Gln Asn Met Thr Trp Leu Gln Trp Asp Lys Glu
 610 615 620
 Ile Ser Asn Tyr Thr Asp Ile Ile Tyr Ser Leu Ile Glu Glu Ser Gln
 625 630 635 640
 Asn Gln Gln Glu Lys Asn Glu Gln Asp Leu Leu Ala Leu Asp Lys Trp
 645 650 655
 Ala Asn Leu Trp Asn Trp Phe Asp Ile Ser Lys Trp Leu Trp Tyr Ile
 660 665 670
 Arg Ser

<210> 7

<211> 1545

<212> DNA

<213> HIV

<400> 7

atgaaagtga aggagaccag gaagaattat cagcacttgt ggagatgggg caccatgctc 60
 cttgggatgt tgatgatctg tagtgctgca gaacaattgt gggtcacagt ctattatggg 120
 gtacctgtgt gaaagaagc aactaccact ctattctgtg catcagatgc taaagcatat 180
 gatacagagg tacataatgt ttgggccaca catgcctgtg taccacaga cccaacca 240
 caagaagtag tattgggaaa tgtgacagaa tattttaaca tgtggaaaa taacatggta 300
 gaccagatgc atgaggatat aatcagttta tgggatcaaa gcttgaagcc atgtgtaaaa 360
 ttaacccac tctgtgttac tttagattgc gatgatgtga ataccactaa tagtactact 420
 accactagta atggttggac aggagaaata aggaaaggag aaataaaaaa ctgctctttt 480
 aatacacca caagcataag agataaggtt caaaaagaat atgcactttt ttataacctt 540
 gatgtagtac caatagatga tgataatgct actacaaaa ataaaactac tagaaacttt 600
 aggttgatac attgtaactc ctcagtcag acacaggcct gtccaaaggt atcattttaa 660
 ccaattccca tacattattg tgccccggct ggttttgca ttctgaagtg taacaataag 720
 acgtttgatg gaaaaggact atgtacaaat gtcagcacag tacaatgtac acatggaatt 780
 aggccagtag tgtcaactca actgctgtta aatggcagtc tagcagaaga agaggtagta 840
 attagatctg acaatttcat ggacaatact aaaaccataa tagtacagct gaatgaatct 900
 gtagcaatta attgtacaag acccaacaac aatacaagaa aaggtataca tataggacca 960
 gggagagcct tttatgcagc aagaaaaata ataggagata taagacaagc acattgtaac 1020
 cttagtagag cacaatggaa taacacttta aaacagatag ttataaaatt aagagaacac 1080
 tttgggaata aaacaataaa atttaatcaa tcttcaggag gggaccaga aattgtaagg 1140
 catagtttta attgtggagg ggaatttttc tactgtgata caacacaact gtttaatagt 1200
 acttggaatg gtactgaagg aaataacact gaaggaaata gcacaatcac actcccatgt 1260
 agaataaac aaattataaa catgtggcag gaagtaggaa aagcaatgta tgcccctccc 1320
 atcggaggac aaattagatg ttcacaaat attacaggc tgctattaac aagagatggt 1380
 ggtaccgaag ggaatgggac agagaatgag acagagatct tcagacctgg aggaggagat 1440
 atgagggaca attggagaag tgaattatat aaatataaag tagtaaaagt tgaaccacta 1500
 ggagtagcac ccaccagggc aaagagaaga gtggtgcaga gataa 1545

<210> 8

<211> 514

<212> PRT

<213> HIV

<400> 8

Met Lys Val Lys Glu Thr Arg Lys Asn Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp
 1 5 10 15
 Gly Thr Met Leu Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Ala Glu Gln
 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 Asn Pro
 65 70 75 80
 Gln Glu Val Val Leu Gly Asn Val Thr Glu Tyr Phe Asn Met Trp Lys
 85 90 95
 Asn Asn Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile 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
 Asp Cys Asp Asp Val Asn Thr Thr Asn Ser Thr Thr Thr Thr Ser Asn
 130 135 140
 Gly Trp Thr Gly Glu Ile Arg Lys Gly Glu Ile Lys Asn Cys Ser Phe
 145 150 155 160
 Asn Ile Thr Thr Ser Ile Arg Asp Lys Val Gln Lys Glu Tyr Ala Leu
 165 170 175
 Phe Tyr Asn Leu Asp Val Val Pro Ile Asp Asp Asp Asn Ala Thr Thr
 180 185 190
 Lys Asn Lys Thr Thr Arg Asn Phe Arg Leu Ile His Cys Asn Ser Ser
 195 200 205
 Val Met Thr Gln Ala Cys Pro Lys Val Ser Phe Glu Pro Ile Pro Ile
 210 215 220
 His Tyr Cys Ala Pro Ala Gly Phe Ala Ile Leu Lys Cys Asn Asn Lys
 225 230 235 240
 Thr Phe Asp Gly Lys Gly Leu Cys Thr Asn Val Ser Thr Val Gln Cys
 245 250 255
 Thr His Gly Ile Arg Pro Val Val Ser Thr Gln Leu Leu Leu Asn Gly
 260 265 270
 Ser Leu Ala Glu Glu Glu Val Val Ile Arg Ser Asp Asn Phe Met Asp
 275 280 285
 Asn Thr Lys Thr Ile Ile Val Gln Leu Asn Glu Ser Val Ala Ile Asn
 290 295 300
 Cys Thr Arg Pro Asn Asn Asn Thr Arg Lys Gly Ile His Ile Gly Pro
 305 310 315 320
 Gly Arg Ala Phe Tyr Ala Ala Arg Lys Ile Ile Gly Asp Ile Arg Gln
 325 330 335
 Ala His Cys Asn Leu Ser Arg Ala Gln Trp Asn Asn Thr Leu Lys Gln
 340 345 350
 Ile Val Ile Lys Leu Arg Glu His Phe Gly Asn Lys Thr Ile Lys Phe
 355 360 365
 Asn Gln Ser Ser Gly Gly Asp Pro Glu Ile Val Arg His Ser Phe Asn
 370 375 380
 Cys Gly Gly Glu Phe Phe Tyr Cys Asp Thr Thr Gln Leu Phe Asn Ser

385 390 395 400
 Thr Trp Asn Gly Thr Glu Gly Asn Asn Thr Glu Gly Asn Ser Thr Ile
 405 410 415
 Thr Leu Pro Cys Arg Ile Lys Gln Ile Ile Asn Met Trp Gln Glu Val
 420 425 430
 Gly Lys Ala Met Tyr Ala Pro Pro Ile Gly Gly Gln Ile Arg Cys Ser
 435 440 445
 Ser Asn Ile Thr Gly Leu Leu Leu Thr Arg Asp Gly Gly Thr Glu Gly
 450 455 460
 Asn Gly Thr Glu Asn Glu Thr Glu Ile Phe Arg Pro Gly Gly Gly Asp
 465 470 475 480
 Met Arg Asp Asn Trp Arg Ser Glu Leu Tyr Lys Tyr Lys Val Val Lys
 485 490 495
 Val Glu Pro Leu Gly Val Ala Pro Thr Arg Ala Lys Arg Arg Val Val
 500 505 510
 Gln Arg

<210> 9

<211> 2178

<212> DNA

<213> 结核分支杆菌

<400> 9

atgcatcaca cggccgcgct cgataacttc cagctgtccc aggggtgggca gggattcggc 60
 attccgatcg ggcaggcgat ggcgatcgcg ggccagatcc gatcggtgg ggggtcacc 120
 accgtcata tcgggcttac cgccttcctc ggcttgggtg ttgtcgacaa caacggcaac 180
 ggcgacgag tccaacgcgt ggtcgggagc gctccggcgg caagtctcgg catctccacc 240
 ggcgactga tcaccgcgt cgacggcgt cccgatcaact cggccaccgc gatggcggac 300
 gcgcttaacg ggcatcatcc cggtgacgtc atctcgggtga cctggcaaac caagtcgggc 360
 ggcacgcgta caggaacgt gacattggcc gagggacccc cggccgaatt catggtggat 420
 ttcggggcgt taccaccgga gatcaactcc gcgaggatgt acgccggccc gggttcggcc 480
 tcgctggtgg ccgcggtca gatgtgggac agcgtggcga gtgacctgt ttcggccgcg 540
 tcggcgtttc agtcgggtgt ctggggtctg acgggtgggt cgtggatagg ttcgtcggcg 600
 ggtctgatgg tggcggcggc ctcgccgtat gtggcgtgga tgagcgtcac cgcgggagc 660
 gccgagctga ccgcccga ggtccgggtt gctgcggcgg cctacgagac ggcgtatggg 720
 ctgacggtgc ccccgcgggt gatgccgag aaccgtgctg aactgatgat tctgatagcg 780
 accaacctct tggggcaaaa caccgcggcg atcgcggtca acgaggccga atacggcgag 840
 atgtgggccc aagacccgc cgcgatgttt ggctacgcc cggcgacggc gacggcgacg 900
 gcgacgttgc tgccgttcga ggaggcgccg gagatgacca gcgcggtgg gctcctcgag 960
 caggccgccc cggtcgagga ggcctccgac accgccgagg cgaaccagt gatgaacaat 1020
 gtgccccagg cgctgcaaca gctggcccag cccacgcagg gcaccagcc ttctccaag 1080
 ctgggtggcc tgtggaagac ggtctcgccc catcggtcgc cgatcagcaa catggtgtcg 1140
 atggccaaca accacatgtc gatgaccaac tcgggtgtgt cgatgaccaa cacctgagc 1200
 tcgatgttga agggctttgc tccggcggcg gcccccagg ccgtgcaaac cgcggcgcaa 1260
 aacgggtcc gggcgatgag ctcgctgggc agctcgtggt gttcttcggg tctggcggt 1320
 ggggtggccg ccaacttggg tcgggcggcc tcggtcggtt cgttgtcggg gccgcaggcc 1380
 tggccgcgg ccaaccaggc agtcacccc gcggcgcggg cgctgccgct gaccagcctg 1440
 accagcggc cggaaagagg gcccgggcag atgctgggag ggctgccggt ggggcagatg 1500
 ggcccgagg ccggtggtg gctcagtggt gtgctgctg ttccgccgag accctatgtg 1560
 atgccgatt ctccggcagc cggcgatc gccccgccg ccttgtcga ggaccggttc 1620

```

gccgacttcc cgcgctgcc cctcgaccg tccgcatgg tcgccaagt ggggccacag 1680
gtggtcaaca tcaacaccaa actgggctac aacaacgccc tggcgccgg gaccggcatc 1740
gtcatcgatc ccaacggtgt cgtgctgacc aacaaccacg tgatcgcggg cgccaccgac 1800
atcaatgcgt tcagcgtcgg ctccggccaa acctacggcg tcgatgtggt cgggtatgac 1860
cgcacccagg atgtcgcggt gctgcagctg cgcggtgccg gtggcctgcc gtcggcggcg 1920
atcgggtggcg gcgtcgcggt tggtagccc gtcgtcgcga tgggcaacag cgggtgggcag 1980
ggcggaacgc cccgtgcggt gcctggcagg gtggtcgcgc tcggccaaac cgtgcaggcg 2040
tcgattcgc tgaccggtgc cgaagagaca ttgaacgggt tgatccagtt cgatgccgcg 2100
atccagcccg gtgatgcggg cgggcccgtc gtcaacggcc taggacaggt ggtcggtatg 2160
aacacggccg cgtcctag 2178

```

<210> 10

<211> 725

<212> PRT

<213> 结核分支杆菌

<400> 10

```

Met His His Thr Ala Ala Ser Asp Asn Phe Gln Leu Ser Gln Gly Gly
1          5          10          15
Gln Gly Phe Ala Ile Pro Ile Gly Gln Ala Met Ala Ile Ala Gly Gln
20          25          30
Ile Arg Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Val His Ile Gly Pro Thr Ala
35          40          45
Phe Leu Gly Leu Gly Val Val Asp Asn Asn Gly Asn Gly Ala Arg Val
50          55          60
Gln Arg Val Val Gly Ser Ala Pro Ala Ala Ser Leu Gly Ile Ser Thr
65          70          75          80
Gly Asp Val Ile Thr Ala Val Asp Gly Ala Pro Ile Asn Ser Ala Thr
85          90          95
Ala Met Ala Asp Ala Leu Asn Gly His His Pro Gly Asp Val Ile Ser
100         105         110
Val Thr Trp Gln Thr Lys Ser Gly Gly Thr Arg Thr Gly Asn Val Thr
115         120         125
Leu Ala Glu Gly Pro Pro Ala Glu Phe Met Val Asp Phe Gly Ala Leu
130         135         140
Pro Pro Glu Ile Asn Ser Ala Arg Met Tyr Ala Gly Pro Gly Ser Ala
145         150         155         160
Ser Leu Val Ala Ala Ala Gln Met Trp Asp Ser Val Ala Ser Asp Leu
165         170         175
Phe Ser Ala Ala Ser Ala Phe Gln Ser Val Val Trp Gly Leu Thr Val
180         185         190
Gly Ser Trp Ile Gly Ser Ser Ala Gly Leu Met Val Ala Ala Ala Ser
195         200         205
Pro Tyr Val Ala Trp Met Ser Val Thr Ala Gly Gln Ala Glu Leu Thr
210         215         220
Ala Ala Gln Val Arg Val Ala Ala Ala Tyr Glu Thr Ala Tyr Gly
225         230         235         240
Leu Thr Val Pro Pro Pro Val Ile Ala Glu Asn Arg Ala Glu Leu Met
245         250         255
Ile Leu Ile Ala Thr Asn Leu Leu Gly Gln Asn Thr Pro Ala Ile Ala
260         265         270
Val Asn Glu Ala Glu Tyr Gly Glu Met Trp Ala Gln Asp Ala Ala Ala

```


Gly Asn Asn Glu Asp Asn Glu Lys Leu Arg Lys Pro Lys His Lys Lys
 100 105 110
 Leu Lys Gln Pro Ala Asp Gly Asn Pro Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 115 120 125
 Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 130 135 140
 Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 145 150 155 160
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 165 170 175
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 180 185 190
 Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 195 200 205
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 210 215 220
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 225 230 235 240
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 245 250 255
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Lys Asn Asn Gln
 260 265 270
 Gly Asn Gly Gln Gly His Asn Met Pro Asn Asp Pro Asn Arg Asn Val
 275 280 285
 Asp Glu Asn Ala Asn Ala Asn Ser Ala Val Lys Asn Asn Asn Glu
 290 295 300
 Glu Pro Ser Asp Lys His Ile Lys Glu Tyr Leu Asn Lys Ile Gln Asn
 305 310 315 320
 Ser Leu Ser Thr Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val Thr Cys Gly Asn Gly
 325 330 335
 Ile Gln Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro Lys Asp Glu
 340 345 350
 Leu Asp Tyr Ala Asn Asp Ile Glu Lys Lys Ile Cys Lys Met Glu Lys
 355 360 365
 Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser Ala Ile Gly Leu
 370 375 380

<210> 13

<211> 1275

<212> DNA

<213> 恶性疟原虫

<400> 13

atgatggctc ccgatcctaa tgcaaatcca aatgcaaacc caaacgcaaa cccaatgca 60
 aatcctaag caaaccccaa tgcaaatcct aatgcaaacc ctaatgccaa tccaaatgca 120
 aatccaaatg caaacccaaa cgcaaacccc aatgcaaacc ctaatgccaa tccaaatgca 180
 aatccaaatg caaacccaaa tgcaaaccca aatgcaaacc ccaatgcaaa tcctaataaa 240
 aacaatcaag gtaatggaca aggtcacaat atgccaatg acccaaaccg aatgtagat 300
 gaaaatgcta atgccaacag tgctgtaaaa aataataata acgaagaacc aagtgataag 360
 cacataaaag aatatttaaa caaaatacaa aattctcttt caactgaatg gtccccatgt 420
 agtgtaactt gtggaaatgg tattcaagtt agaataaagc ctggctctgc taataaacct 480

```

aaagacgaat tagattatgc aatgatatt gaaaaaaaaa tttgtaaaat ggaaaaatgt 540
tccagtgtgt ttaatgtcgt aaatagttca ataggattag ggcctgtgac gaacatggag 600
aacatcacat caggattcct aggacccctg ctctgtttac aggcgggggt tttcttgttg 660
acaagaatcc tcacaatacc gcagagtcta gactcgtggt ggacttctct caattttcta 720
gggggatcac ccggtgtgtct tggccaaaat tcgcagtccc caacctcaa tcactcacca 780
acctctgtc ctccaatttg tcttggttat cgctggatgt gtctgcggcg ttttatcata 840
ttctcttca tctgctgct atgcctcacc ttcttattgg ttcttctgga ttatcaagg 900
atgttgcccg tttgtcctct aattccagga tcaacaacaa ccaatacggg accatgcaaa 960
acctgcacga ctctgctca aggcaactct atgtttccct catgttgctg taaaaacct 1020
acggatggaa attgcacctg tattcccacc ccatcgtcct gggctttcgc aaaataccta 1080
tgggagtggg cctcagtcgg tttctcttgg ctacagttac tagtgccatt tgttcagtgg 1140
ttcgtagggc tttccccac tgtttggcct tcagctatat ggatgatgtg gtattggggg 1200
ccaagtctgt acagcatcgt gagtcccttt ataccgctgt taccaatfff cttttgtctc 1260
tgggtataca tttaa 1275

```

<210> 14

<211> 424

<212> PRT

<213> 恶性疟原虫

<400> 14

```

Met Met Ala Pro Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
1          5          10         15
Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
20        25        30
Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
35        40        45
Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
50        55        60
Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Lys
65        70        75        80
Asn Asn Gln Gly Asn Gly Gln Gly His Asn Met Pro Asn Asp Pro Asn
85        90        95
Arg Asn Val Asp Glu Asn Ala Asn Ala Asn Ser Ala Val Lys Asn Asn
100       105      110
Asn Asn Glu Glu Pro Ser Asp Lys His Ile Lys Glu Tyr Leu Asn Lys
115      120      125
Ile Gln Asn Ser Leu Ser Thr Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val Thr Cys
130      135      140
Gly Asn Gly Ile Gln Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro
145      150      155      160
Lys Asp Glu Leu Asp Tyr Ala Asn Asp Ile Glu Lys Lys Ile Cys Lys
165      170      175
Met Glu Lys Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser Ser Ile Gly
180      185      190
Leu Gly Pro Val Thr Asn Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly
195      200      205
Pro Leu Leu Val Leu Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu
210      215      220
Thr Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu
225      230      235      240
Gly Gly Ser Pro Val Cys Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser

```

	245		250		255
Asn His Ser Pro Thr Ser Cys Pro Pro Ile Cys Pro Gly Tyr Arg Trp					
	260		265		270
Met Cys Leu Arg Arg Phe Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Cys					
	275		280		285
Leu Ile Phe Leu Leu Val Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val					
	290		295		300
Cys Pro Leu Ile Pro Gly Ser Thr Thr Thr Asn Thr Gly Pro Cys Lys					
305		310		315	320
Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Asn Ser Met Phe Pro Ser Cys Cys					
	325		330		335
Cys Thr Lys Pro Thr Asp Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser					
	340		345		350
Ser Trp Ala Phe Ala Lys Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Val Arg Phe					
	355		360		365
Ser Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu					
	370		375		380
Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Ala Ile Trp Met Met Trp Tyr Trp Gly					
385		390		395	400
Pro Ser Leu Tyr Ser Ile Val Ser Pro Phe Ile Pro Leu Leu Pro Ile					
	405		410		415
Phe Phe Cys Leu Trp Val Tyr Ile					
	420				

<210> 15

<211> 3411

<212> DNA

<213> HIV

<400> 15

```

atggtcattg ttcagaacat acagggccaa atggtccacc aggcaattag tccgcgaact 60
cttaatgcat gggatgaaggt cgtggaggaa aaggcattct ccccgagggt cattccgatg 120
ttttctgcgc tatctgaggg cgcaacgccg caagacctta ataccatgct taacacggta 180
ggcgggcacc aagccgctat gcaaatgcta aaagagacta taaacgaaga ggccgccgaa 240
tgggatcgag tgcacccggt gcacgccgpc ccaattgcac caggccagat gcgcgagccg 300
cgcgggtctg atattgcagg aactacgtct acccttcagg agcagattgg gtggatgact 360
aacaatccac caatcccgtt cggagagatc tataagaggt ggatcactact gggactaaac 420
aagatagtcc gcatgtattc tccgacttct atactggata tacgccaagg cccaaaggag 480
ccgttcaggg actatgtcga ccgattctat aagacccttc gcgcagagca ggcatcccag 540
gaggtcaaaa attggatgac agaaactctt ttggtgcaga atgcgaatcc ggattgtaaa 600
acaattttaa aggtcttagg accggccgca acgctagaag agatgatgac ggcttgtcag 660
ggagtccggtg gaccggggca taaagcccgc gtcttacaca tgggcccgat atctccgata 720
gaaacagttt cgtcaagct taaaccaggg atggatggtc caaaggtaaa gcagtggccg 780
ctaacggaag agaagattaa ggcgctcgta gagatttcta ctgaaatgga gaaggaaggc 840
aagataagca agatcggggc agagaacccg tacaatacac cggtatattgc aataaagaaa 900
aaggattcaa caaatggcgc aaagcttgta gattttaggg aactaaacaa gcgaacccaa 960
gacttttggg aagtccaact agggatccca catccagccg gtctaaagaa gaagaaatcg 1020
gtcacagtcc tggatgtagg agacgcata tttagtgtac cgcttgatga ggacttccga 1080
aagtatactg cgtttactat accgagcata aacaatgaaa cgccaggcat tcgctatcag 1140
tacaacgtgc tcccgcaggg ctggaagggg tctccggcga tatttcagag ctgtatgaca 1200
aaaatacttg aaccattccg aaagcagaat ccggatattg taattacca atacatggac 1260

```

gatctctatg tgggctcggg tctagaaatt gggcagcatc gcactaagat tgaggaactg 1320
aggcaacatc tgcttcgatg gggcctcact actcccgaca agaagcacca gaaggagccg 1380
ccgttcctaa agatgggcta cgagcttcat cgggacaagt ggacagtaca gccgatagtg 1440
ctgcccgaaa aggattcttg gaccgtaaat gatattcaga aactagtcgg caagctaac 1500
tgggcctctc agatttacc aggcatatg gtccgacagc tttgcaagct actgagggga 1560
actaaggctc taacagaggt catccatta acggaggaag cagagcttga gctggcagag 1620
aatcgcgaaa ttcttaagga gccggtgcac ggggtatact acgaccctc caaggacctt 1680
atagccgaga tccagaagca ggggcagggc caatggacgt accagatata tcaagaaccg 1740
tttaagaatc tgaagactgg gaagtacgcg cgcatgagc gggctcatalc taatgatgta 1800
aagcaactta cggaaagcagt acaaaagatt actactgagt ctatttgat atggggcaag 1860
accccaaagt tcaagctgcc catacagaag gaaacatggg aaacatggtg gactgaatat 1920
tggcaagcta cctggattcc agaatgggaa ttgtcaaca cgccgccact tgttaagctt 1980
tggtagcagc ttgaaaagga gccgatagta ggggcagaga ctttctatgt cgatggcgcc 2040
gcgaatcgcg aaacgaagct aggcaaggcg ggatacgtga ctaatagggg ccgcaaaaag 2100
gtcgtaaccc ttacggatac caccaatcag aagactgaac tacaagcgat ttacctgca 2160
cttcaggata gtggcctaga ggtcaacata gtcacggact ctcaatatgc gcttggcatt 2220
attcaagcgc agccagatca aagcgaagc gagcttgtaa accaaataat agaacagctt 2280
ataaagaaag agaaggtata tctggcctgg gtccccgctc acaagggaat tggcggcaat 2340
gagcaagtgg acaagctagt cagcgtggg attcgcaagg ttcttgcatg ggggggtaag 2400
tggcttaagt ctacgctagt cggctggccg acagtccgag agcgcatgag acgcccga 2460
ccagccgagc atggcgtggg ggcagcgtct agggatctgg agaagcacgg ggctataact 2520
tccagtaaca cggcggcgac gaacgccgca tgcgcatggt tagaagccca agaagaggaa 2580
gaagtagggt ttccggtaac tcccaggtg ccgttaagc cgatgacctc taaggcagcg 2640
gtggatcttt ctacttctc taaggagaaa ggggggctgg agggcttaat tcacagccag 2700
aggcgacagg atattcttga tctgtggatt taccataccc aggggtactt tccggactgg 2760
cagaattaca ccccggggccc aggcgtgcgc tatcccctga ctttcgggtg gtgtacaaa 2820
ctagtcccag tggaaccgca caaggtcgaa gaggctaata agggcgagaa cacttctctt 2880
cttcaaccgg taagcctgca cgggatggat gaccagaaac gagaggttct agaattggagg 2940
ttcgactctc gacttgcgtt ccatcacgta gcacgcgagc tgcatccaga atatttcaag 3000
aactgccgcc caatgggccc caggccagc gtacttagtg gcggagaact agatcgatgg 3060
gaaaagatac gcctacgccc ggggggcaag aagaagtaca agcttaagca cattgtgtgg 3120
gcctctcgcg aacttgagcg attcgcagtg aatccaggcc tgcttgagac gagtgaagc 3180
tgtaggcaaa ttctggggca gctacagccg agcctacaga ctggcagcga ggagcttctg 3240
agtctttata ataccgtcgc gactctctac tgcgttcac aacgaattga aataaaggat 3300
actaaagagg ccttgataa aattgaggag gaacagaata agtcgaaaaa gaaggcccag 3360
caggccgccc ccgacaccgg gcacagcaac caggtgtccc aaaactacta a 3411

<210> 16

<211> 1136

<212> PRT

<213> HIV

<400> 16

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

65		70		75		80
Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala Pro Gly Gln						
		85		90		95
Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Thr Leu						
		100		105		110
Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly						
		115		120		125
Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg						
		130		135		140
Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly Pro Lys Glu						
		145		150		155
Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu Arg Ala Glu						
		165		170		175
Gln Ala Ser Gln Glu Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr Leu Leu Val						
		180		185		190
Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala Leu Gly Pro						
		195		200		205
Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly						
		210		215		220
Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu His Met Gly Pro Ile Ser Pro Ile						
		225		230		235
Glu Thr Val Ser Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Lys Val						
		245		250		255
Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val Glu Ile						
		260		265		270
Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly Pro Glu						
		275		280		285
Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr						
		290		295		300
Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln						
		305		310		315
Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys						
		325		330		335
Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser						
		340		345		350
Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro						
		355		360		365
Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu						
		370		375		380
Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Cys Met Thr						
		385		390		395
Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr						
		405		410		415
Gln Tyr Met Asp Asp Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln						
		420		425		430
His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg Trp Gly						
		435		440		445
Leu Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Lys						
		450		455		460
Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Val						
		465		470		475
Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val						

485 490 495
 Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg
 500 505 510
 Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu Val Ile
 515 520 525
 Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile
 530 535 540
 Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu
 545 550 555 560
 Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln Gly Gln Trp Thr Tyr Gln Ile
 565 570 575
 Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Arg Met
 580 585 590
 Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln
 595 600 605
 Lys Ile Thr Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe
 610 615 620
 Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr Glu Tyr
 625 630 635 640
 Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro
 645 650 655
 Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu Pro Ile Val Gly Ala
 660 665 670
 Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly
 675 680 685
 Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asn Arg Gly Arg Gln Lys Val Val Thr Leu
 690 695 700
 Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Glu Leu Gln Ala Ile Tyr Leu Ala
 705 710 715 720
 Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val Thr Asp Ser Gln Tyr
 725 730 735
 Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Gln Ser Glu Ser Glu Leu
 740 745 750
 Val Asn Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Lys Val Tyr Leu
 755 760 765
 Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp
 770 775 780
 Lys Leu Val Ser Ala Gly Ile Arg Lys Val Leu Ala Met Gly Gly Lys
 785 790 795 800
 Trp Ser Lys Ser Ser Val Val Gly Trp Pro Thr Val Arg Glu Arg Met
 805 810 815
 Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala Asp Gly Val Gly Ala Ala Ser Arg Asp
 820 825 830
 Leu Glu Lys His Gly Ala Ile Thr Ser Ser Asn Thr Ala Ala Thr Asn
 835 840 845
 Ala Ala Cys Ala Trp Leu Glu Ala Gln Glu Glu Glu Glu Val Gly Phe
 850 855 860
 Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr Lys Ala Ala
 865 870 875 880
 Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu Glu Gly Leu
 885 890 895
 Ile His Ser Gln Arg Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu Trp Ile Tyr His

900 905 910
Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly
915 920 925
Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Tyr Lys Leu Val Pro Val
930 935 940
Glu Pro Asp Lys Val Glu Glu Ala Asn Lys Gly Glu Asn Thr Ser Leu
945 950 955 960
Leu His Pro Val Ser Leu His Gly Met Asp Asp Pro Glu Arg Glu Val
965 970 975
Leu Glu Trp Arg Phe Asp Ser Arg Leu Ala Phe His His Val Ala Arg
980 985 990
Glu Leu His Pro Glu Tyr Phe Lys Asn Cys Arg Pro Met Gly Ala Arg
995 1000 1005
Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp Glu Lys Ile Arg
1010 1015 1020
Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val Trp
1025 1030 1035 1040
Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro Gly Leu Leu Glu
1045 1050 1055
Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu Gln Pro Ser Leu
1060 1065 1070
Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn Thr Val Ala Thr
1075 1080 1085
Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp Thr Lys Glu Ala
1090 1095 1100
Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys Lys Lys Ala Gln
1105 1110 1115 1120
Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly His Ser Asn Gln Val Ser Gln Asn Tyr
1125 1130 1135

本申请中所引用的所有参考文献，包括专利和专利申请，以全文可用的程度并入本文。

整个说明书和下面的权利要求书中，除非内容另外要求，否则词语“包括”和变化形式如“包含”和“含有”，应理解为包括所述的整数、步骤、整数组或步骤组，但是不排除任何其他的整数、步骤、整数组或步骤组。

部分由此说明书和权利要求构成的申请可以用作任何后续申请的优先权基础。该后续申请的权利要求可以涉及本文所述特征的任何特征或组合。它们可以采取产品、组合物、方法或用途权利要求的形式，可以包括：例如但不限于下列权利要求。

<110> 葛兰素史密丝克莱恩生物有限公司 (GlaxoSmithKline Biologicals)
葛兰素史密丝克莱恩生物有限公司 (GlaxoSmithKline Biologicals)

<120> 新的方法和组合物

<130> VB62209

<160> 16

<170> PatentIn 3.5 版

<210> 1

<211> 3204

<212> DNA

<213> HIV

<400> 1

```

atgggtgcc gagcttcggt actgtctggt ggagagctgg acagatggga gaaaattagg 60
ctgcgcccg gaggcaaaaa gaaatacaag ctcaagcata tcgtgtgggc ctcgagggag 120
cttgaacggt ttgccgtgaa cccaggcctg ctggaaacat ctgagggatg tcgccagatc 180
ctggggcaat tgcagccatc cctccagacc gggagtgaag agctgaggtc cttgtataac 240
acagtggcta cctctactg cgtacaccag aggatcgaga ttaaggatac caaggagccc 300
ttgacaaaa ttgaggagga gaaaacaag agcaagaaga aggcccagca ggcagctgct 360
gacactgggc atagcaacca ggtatcacag aactatccta ttgtccaaaa cattcagggc 420
cagatggttc atcaggccat cagccccgg acgctcaatg cctgggtgaa ggttgtcgaa 480
gagaaggcct tttctcctga gttatcccc atgttctccg ctttgagtga gggggccact 540
cctcaggacc tcaatacaat gcttaatacc gtggcgggcc atcaggccgc catgcaaatg 600
ttgaaggaga ctatcaacga ggaggcagcc gagtgggaca gagtgcattc cgtccacgct 660
ggcccaatcg cgcccgaca gatcgggag cctcgcggtc ctgacattgc cggcaccacc 720
tctacactgc aagagcaaat cggatggatg accaacaatc ctccatccc agttggagaa 780
atctataaac ggtggatcat cctgggcctg aacaagatcg tgcgcatgta ctctccgaca 840
tccatccttg acattagaca gggacccaaa gagcctttta gggattacgt cgaccggttt 900
tataagacc tgcgagcaga gcaggcctct caggaggtca aaaactggat gacggagaca 960
ctcctgttac agaacgctaa ccccgactgc aaaacaatct tgaaggcact aggcccggt 1020
gccaccctgg aagagatgat gaccgcctgt caggagtag gcggaccgg acacaaagcc 1080
agagtgttga tggccccat cagtcctatc gagaccgtgc cggatgaagct gaaaccggg 1140
atggacggcc ccaaggtcaa gcagtggcca ctaccgagg agaagatcaa ggcctggtg 1200
gagatctgca ccgagatgga gaaagagggc aagatcagca agatcgggcc ggagaacca 1260
tacaacacc ccgtgtttgc catcaagaag aaggacagca ccaagtggcg caagctggtg 1320
gattccggg agctgaataa gcggaccag gatttctggg aggtccagct gggcatcccc 1380
catccggccg gctgaagaa gaagaagagc gtgaccgtgc tggacgtgg cgacgcttac 1440

```

```

ttcagcgtcc ctctggacga ggactttaga aagtacaccg cttttacat cccatctatc 1500
aacaacgaga cccctggcat cagatatcag tacaacgtcc tccccaggc ctggaagggc 1560
tctcccgcga ttttccagag ctccatgacc aagatcctgg agccgtttcg gaagcagaac 1620
cccgatatcg tcatctacca gtacatggac gacctgtacg tgggctctga cctggaaatc 1680
gggcagcatc gcacgaagat tgaggagctg aggcagcatc tgctgagatg gggcctgacc 1740
actccggaca agaagcatca gaaggagccg ccattcctga agatgggcta cgagctccat 1800
cccgacaagt ggaccgtgca gcctatcgtc ctccccgaga aggacagctg gaccgtgaac 1860
gacatccaga agctgggtgg caagctcaac tgggctagcc agatctatcc cgggatcaag 1920
gtgcgccagc tctgcaagct gctgcgcggc accaaggccc tgaccgaggt gattcccctc 1980
acggaggaag ccgagctcga gctggctgag aaccgggaga tcctgaagga gcccgtgcac 2040
ggcgtgtact atgaccctc caaggacctg atcgccgaaa tccagaagca gggccagggg 2100
cagtggacat accagattta ccaggacct ttcaagaacc tcaagaccg caagtacgcc 2160
cgcatgaggg gcgcccacac caacgatgac aagcagctga ccgaggccgt ccagaagatc 2220
acgaccgagt ccatcgtgat ctgggggaag acaccaagt tcaagctgcc tatccagaag 2280
gagacctggg agacgtggtg gaccgaatat tggcaggcca cctggattcc cgagtgggag 2340
ttcgtgaata cacctcctct ggtgaagctg tggtagcagc tcgagaagga gcccatcgtg 2400
ggcgccgaga cattctacgt ggacggcgcg gccaacgcg aaacaaagct cgggaaggcc 2460
gggtacgtca ccaaccgggg ccgccagaag gtcgtcacc tgaccgacac caccaaccag 2520
aagacggagc tgcaggccat ctatctcgtc ctccaggact ccggcctgga ggtgaacatc 2580
gtgacggaca gccagtagc gctgggcatt attcaggccc agccggacca gtccgagagc 2640
gaactggtga accagattat cgagcagctg atcaagaaag agaaggtcta cctcgcctgg 2700
gtcccggccc ataagggcat tggcggcaac gacaggtcg acaagctggt gagtgcgggg 2760
attagaaagg tgctgatggt gggttttcca gtcacacctc aggtaccttt aagaccaatg 2820
acttacaagg cagctgtaga tcttagccac tttttaaag aaaagggggg actggaaggg 2880
ctaattcact cccaaagaag acaagatata cttgatctgt ggatctacca cacacaaggc 2940
tacttcctg attggcagaa ctacacacca gggccagggg tcagatatcc actgaccttt 3000
ggatggtgct acaagctagt accagttgag ccagataagg tagaagaggc caataaagga 3060
gagaacacca gcttggtaca ccctgtgagc ctgcatggga tggatgacct ggagagagaa 3120
gtgttagagt ggaggtttga cagccgccta gcatttcac acgtggcccg agagctgcat 3180
ccggagtact tcaagaactg ctga 3204

```

<210> 2

<211> 1067

<212> PRT

<213> HIV

<400> 2

```

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

```

```

50          55          60
Gln Pro Ser Leu Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn
65          70          75          80
Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp
          85          90          95
Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys
          100          105          110
Lys Lys Ala Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly His Ser Asn Gln Val
          115          120          125
Ser Gln Asn Tyr 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 Met Gly Pro Ile Ser
          355          360          365
Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro
          370          375          380
Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val
          385          390          395          400
Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly

```



```

      755              760              765
Glu Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr
  770              775              780
Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu Pro Ile Val
  785              790              795              800
Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys
      805              810              815
Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asn Arg Gly Arg Gln Lys Val Val
      820              825              830
Thr Leu Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Glu Leu Gln Ala Ile Tyr
      835              840              845
Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val Thr Asp Ser
      850              855              860
Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Gln Ser Glu Ser
  865              870              875              880
Glu Leu Val Asn Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Lys Val
      885              890              895
Tyr Leu Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln
      900              905              910
Val Asp Lys Leu Val Ser Ala Gly Ile Arg Lys Val Leu Met Val Gly
      915              920              925
Phe Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr Lys Ala
      930              935              940
Ala Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu Glu Gly
  945              950              955              960
Leu Ile His Ser Gln Arg Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu Trp Ile Tyr
      965              970              975
His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro
      980              985              990
Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Tyr Lys Leu Val Pro
      995              1000              1005
Val Glu Pro Asp Lys Val Glu Glu Ala Asn Lys Gly Glu Asn Thr Ser
      1010              1015              1020
Leu Leu His Pro Val Ser Leu His Gly Met Asp Asp Pro Glu Arg Glu
  1025              1030              1035              1040
Val Leu Glu Trp Arg Phe Asp Ser Arg Leu Ala Phe His His Val Ala
      1045              1050              1055
Arg Glu Leu His Pro Glu Tyr Phe Lys Asn Cys
      1060              1065

```

<210> 3

<211> 4665

<212> DNA

<213> HIV

<400> 3

atggccgcca gagccagcat cctgagcggg ggcaagctgg acgcctggga gaagatcaga 60
ctgaggcctg gcggaagaa gaagtaccgg ctgaagcacc tgggtgtgggc cagcagagag 120
ctggatcgct tcgccctgaa tcctagcctg ctggagacca ccgagggctg ccagcagatc 180
atgaaccagc tgcagcccgc cgtgaaaacc ggcaccgagg agatcaagag cctgttcaac 240
accgtggcca cctgtactg cgtgcaccag cggatcgac tgaaggatac caaggaggcc 300
ctggacaaga tcgaggagat ccagaacaag agcaagcaga aaaccagca ggccgctgcc 360
gacaccggcg acagcagcaa agtgagccag aactacceca tcatccagaa tgcccagggc 420
cagatgatcc accagaacct gagccccaga accctgaatg cctgggtgaa agtgatcgag 480
gaaaaggcct tcagccccga agtgatccct atgttcagcg ccctgagcga gggcgccacc 540
ccccaggacc tgaacgtgat gctgaacatt gtgggcggac accaggccgc catgcagatg 600
ctgaaggaca ccatcaatga ggaggccgcc gagtgggaca gactgcaccc cgtgcaggcc 660
ggaccatcc ccctggcca gatcagagag ccagaggca gcgacatgc cggcaccacc 720
tccaccctc aagaacagct gcagtggatg accggcaacc ctccatccc tgtgggcaac 780
atctacaagc ggtggatcat cctgggcctg aacaagattg tgcggatgta cagccccgtg 840
tccatcctgg atatcaagca gggcccaag gagcccttca gagactacgt ggaccggtt 900
ttcaaggccc tgagagccga gcaggccacc caggacgtga agggctggat gaccgagacc 960
ctgctggtgc agaacgcaa ccccgactgc aagagcatcc tgaaggccct gggcagcggc 1020
gccacactgg aggagatgat gaccgcctgc cagggagtgg gcggaccgg ccacaaggcc 1080
agagtgtgg ccgaggccat gagccaggcc cagcagacca acatcatgat gcagcggggc 1140
aacttcagag gccagaagcg gatcaagtgc ttcaactgcg gcaaggaggg ccacctggcc 1200
agaaactgca gagccccag gaagaagggc tgctggaagt gtggcaagga agggcaccag 1260
atgaaggact gcaccgagag gcaggccaat ttctgggca agatttgcc tagcagcaag 1320
ggcagaccgg gcaatttccc ccagagcaga ccagagccca ccgcccctcc cgccgagctg 1380
ttcgcatgg gcgagggcat cgccagcctg cccaagcagg agcagaagga cagagagcag 1440
gtgccccccc tgggttcctt gaagtcctt ttcggaacg atcctctgag ccagggatcc 1500
cccatcagcc ccatcgagac cgtgcccgtg accctgaagc ccggcatgga tggccccaaa 1560
gtgaaacagt ggcccctgac cgaggagaag attaaggccc tgaccgaaat ctgtaccgag 1620
atggagaagg agggcaagat cagcaagatc gccccgaga acccctaaa caccaccatc 1680
ttcgcatca agaagaagga cagcaccag tggcggaac tgggtgactt ccgggagctg 1740
aacaagagga ccaggactt ctgggaagtg cagctgggca tccccaccc tgccggcctg 1800
aagaagaaga agtccgtgac agtgctggat gtgggcgacg cctacttcag cgtgcccctg 1860
gacgagaact tcaggaagta caccgccttc accatccca gcaccaaaa cgagaccccc 1920
ggagtgagat accagtacaa cgtgctgcct cagggctgga agggcagccc cgccatcttc 1980
cagagcagca tgaccaagat cctggagccc ttccggagca agaaccgga gatcatcatc 2040
taccagtaca tggccgccc gtatgtgggc agcgatctgg agatcggcca gcacaggacc 2100
aagatcgaag agctgagggc ccacctgctg agctggggct tcaccacccc cgataagaag 2160
caccagaagg agccccctt cctgtggatg ggctacgagc tgcaccccga taagtggacc 2220
gtgcagccca tcatgctgcc cgataaggag agctggaccg tgaacgacat ccagaaactg 2280
gtgggcaagc tgaattgggc cagccaaatc tacgccgca ttaaagtga gcagctgtgc 2340
aggctgctga gaggcgcaa agccctgaca gacatcgtga cactgacaga ggaggccgag 2400
ctggagctgg ccgagaacag ggagatcctg aaggacccc tgcacggcgt gtactacgac 2460

cccagcaagg acctggtggc cgagattcag aagcagggcc aggaccagtg gacctaccaa 2520
 atctaccagg agcctttcaa gaacctgaaa accgggaagt acgccaggaa gagaagcgcc 2580
 cacaccaacg atgtgaggca gctggccgaa gtggtgcaga aagtggctat ggagagcatc 2640
 gtgatctggg gcaagacccc caagttcaag ctgcccatcc agaaggagac ctgggaaacc 2700
 tgggtgatgg actactggca ggccacctgg attcctgagt gggagtctgt gaacaccccc 2760
 cctctggtga agctgtggtg tcagctggag aaggacccca tcctgggctg cgagacctc 2820
 tacgtggacg gagccgcaa tagagagacc aagctgggca aggccggcta cgtgaccgac 2880
 agaggcagac agaaagtggg gtctctgacc gagacaacca accagaaaac cgagctgcac 2940
 gccatcctgc tggccctgca ggacagcggc agcgaagtga acatcgtgac cgactcccag 3000
 tacgcccctgg gcatcattca ggcccagccc gatagaagcg agagcgagct ggtgaaccag 3060
 atcatcgaga agctgacgg caaggacaaa atctacctga gctgggtgcc cgcccacaag 3120
 ggcatcggcg gcaacgagca ggtggacaag ctggtgtcca gcggcatccg gaaagtgtg 3180
 tttctggacg gcatcgaaa ggcccaggag gaccacgaga gataccacag caactggcgg 3240
 acaatggcca gcgacttcaa cctgcctccc atcgtggcca aggagatcgt ggccagctgc 3300
 gataagtgtc agctgaaggg cgaggccatg cacggccagg tggactgcag ccctggcatc 3360
 tggcagctgg cctgcaccca cctggagggc aaagtgattc tgggtggcct gcacgtggcc 3420
 agcggctaca tcgagccga agtgattccc gccgagaccg gccaggagac cgcctacttc 3480
 ctgctgaagc tggccggcag atggcccgtg aaagtgtgtc acaccgcaa cggcagcaac 3540
 ttcacctctg ccgccgtgaa ggccgcctgt tgggtggcca atatccagca ggagtccggc 3600
 atcccctaca accctcagag ccagggcgtg gtggccagca tgaacaagga gctgaagaag 3660
 atcatcggcc aggtgagggg ccaggccgag cacctgaaaa cagccgtgca gatggccgtg 3720
 ttcattcaca acttcaagcg gaaggcggc attggcggct acagcggcg agagcggatc 3780
 atcgacatca tcgccaccga tatccagacc aaggaactgc agaagcagat caccaagatt 3840
 cagaacttca gagtgtacta ccgggacagc agggacccca tctggaaggg ccctgccaag 3900
 ctgctgtgga agggcgaagg cgccgtggtg atccaggaca acagcgacat caaagtgtg 3960
 ccccgaggga aggccaagat tctgcgggac tacggcaaac agatggccgg cgatgactgc 4020
 gtggccggca ggccaggatga ggacagatct atgggcgga agtggtcca gggcagcatt 4080
 gtgggctggc ccgagatccg ggagagaatg agaagagccc ctgccgccg tcctggagtg 4140
 ggccgctgtg ctgagatct ggataagcac ggcgccatca ccagcagcaa catcaacaac 4200
 cccagctgtg tgtggtgga ggcccaggaa gaggaggaag tgggcttccc tgtgagacc 4260
 cagggtcccc tgagaccat gacctacaag ggcgccttcg acctgagcca cttcctgaag 4320
 gagaagggcg gcctggacgg cctgatctac agccggaagc ggcaggagat cctggatctg 4380
 tgggtgtacc acaccaggg ctacttccc gactggcaga attacacccc tggccctgga 4440
 gtgcggtatc ccctgacct cggtggtg ttcaagctgg tgcctatgga gcccagcga 4500
 gtggagaagg ccacagagg cgagaacaac agcctgtg accctatctg ccagcacggc 4560
 atggacgatg aggagcggga agtgctgac tggaaattcg acagcaggct ggccctgaag 4620
 cacagagccc aggaactgca cccagagttc tacaaggact gctga 4665

<210> 4

<211> 1554

<212> PRT

<213> HIV

<400> 4

Met Ala Ala Arg Ala Ser Ile Leu Ser Gly Gly Lys Leu Asp Ala Trp
 1 5 10 15
 Glu Lys Ile Arg Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Arg Leu Lys
 20 25 30
 His Leu Val Trp Ala Ser Arg Glu Leu Asp Arg Phe Ala Leu Asn Pro
 35 40 45
 Ser Leu Leu Glu Thr Thr Glu Gly Cys Gln Gln Ile Met Asn Gln Leu
 50 55 60
 Gln Pro Ala Val Lys Thr Gly Thr Glu Glu Ile Lys Ser Leu Phe Asn
 65 70 75 80
 Thr Val Ala Thr Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Asp Val Lys Asp
 85 90 95
 Thr Lys Glu Ala Leu Asp Lys Ile Glu Glu Ile Gln Asn Lys Ser Lys
 100 105 110
 Gln Lys Thr Gln Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly Asp Ser Ser Lys Val
 115 120 125
 Ser Gln Asn Tyr Pro Ile Ile Gln Asn Ala Gln Gly Gln Met Ile His
 130 135 140
 Gln Asn Leu Ser Pro Arg Thr Leu Asn Ala Trp Val Lys Val Ile 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 Val Met Leu Asn Ile Val Gly
 180 185 190
 Gly His Gln Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Asp Thr Ile Asn Glu Glu
 195 200 205
 Ala Ala Glu Trp Asp Arg Leu His Pro Val Gln Ala Gly Pro Ile Pro
 210 215 220
 Pro Gly Gln Ile Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr
 225 230 235 240
 Ser Thr Pro Gln Glu Gln Leu Gln Trp Met Thr Gly Asn Pro Pro Ile
 245 250 255
 Pro Val Gly Asn Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys
 260 265 270
 Ile Val Arg Met Tyr Ser Pro Val Ser Ile Leu Asp Ile Lys Gln Gly
 275 280 285
 Pro Lys Glu Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Phe Lys Ala Leu
 290 295 300
 Arg Ala Glu Gln Ala Thr Gln Asp Val Lys Gly Trp Met Thr Glu Thr
 305 310 315 320
 Leu Leu Val Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Ser Ile Leu Lys Ala
 325 330 335
 Leu Gly Ser Gly 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 Ala Gln Gln Thr Asn Ile Met Met Gln Arg Gly Asn Phe Arg Gly
 370 375 380
 Gln Lys Arg Ile Lys Cys Phe Asn Cys Gly Lys Glu Gly His Leu Ala
 385 390 395 400
 Arg Asn Cys Arg Ala Pro Arg Lys Lys Gly Cys Trp Lys Cys Gly Lys
 405 410 415
 Glu Gly His Gln Met Lys Asp Cys Thr Glu Arg Gln Ala Asn Phe Leu
 420 425 430
 Gly Lys Ile Trp Pro Ser Ser Lys Gly Arg Pro Gly Asn Phe Pro Gln
 435 440 445
 Ser Arg Pro Glu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Glu Leu Phe Gly Met Gly
 450 455 460
 Glu Gly Ile Ala Ser Leu Pro Lys Gln Glu Gln Lys Asp Arg Glu Gln
 465 470 475 480
 Val Pro Pro Leu Val Ser Leu Lys Ser Leu Phe Gly Asn Asp Pro Leu
 485 490 495
 Ser Gln Gly Ser Pro Ile Ser Pro Ile Glu Thr Val Pro Val Thr Leu
 500 505 510
 Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Lys Val Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu
 515 520 525
 Glu Lys Ile Lys Ala Leu Thr Glu Ile Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu
 530 535 540
 Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly Pro Glu Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Ile
 545 550 555 560
 Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp
 565 570 575
 Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu
 580 585 590
 Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys Lys Lys Lys Ser Val Thr Val
 595 600 605
 Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser Val Pro Leu Asp Glu Asn Phe
 610 615 620
 Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro Ser Thr Asn Asn Glu Thr Pro
 625 630 635 640
 Gly Val Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser
 645 650 655
 Pro Ala Ile Phe Gln Ser Ser Met Thr Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg
 660 665 670
 Ser Lys Asn Pro Glu Ile Ile Ile Tyr Gln Tyr Met Ala Ala Leu Tyr
 675 680 685
 Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln His Arg Thr Lys Ile Glu Glu
 690 695 700

Leu Arg Ala His Leu Leu Ser Trp Gly Phe Thr Thr Pro Asp Lys Lys
 705 710 715 720
 His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Trp Met Gly Tyr Glu Leu His Pro
 725 730 735
 Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Met Leu Pro Asp Lys Glu Ser Trp
 740 745 750
 Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser
 755 760 765
 Gln Ile Tyr Ala Gly Ile Lys Val Lys Gln Leu Cys Arg Leu Leu Arg
 770 775 780
 Gly Ala Lys Ala Leu Thr Asp Ile Val Thr Leu Thr Glu Glu Ala Glu
 785 790 795 800
 Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile Leu Lys Asp Pro Val His Gly
 805 810 815
 Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu Val Ala Glu Ile Gln Lys Gln
 820 825 830
 Gly Gln Asp Gln Trp Thr Tyr Gln Ile Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn
 835 840 845
 Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Arg Lys Arg Ser Ala His Thr Asn Asp
 850 855 860
 Val Arg Gln Leu Ala Glu Val Val Gln Lys Val Ala Met Glu Ser Ile
 865 870 875 880
 Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu
 885 890 895
 Thr Trp Glu Thr Trp Trp Met Asp Tyr Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro
 900 905 910
 Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln
 915 920 925
 Leu Glu Lys Asp Pro Ile Leu Gly Ala Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly
 930 935 940
 Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asp
 945 950 955 960
 Arg Gly Arg Gln Lys Val Val Ser Leu Thr Glu Thr Thr Asn Gln Lys
 965 970 975
 Thr Glu Leu His Ala Ile Leu Leu Ala Leu Gln Asp Ser Gly Ser Glu
 980 985 990
 Val Asn Ile Val Thr Asp Ser Gln Tyr Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala
 995 1000 1005
 Gln Pro Asp Arg Ser Glu Ser Glu Leu Val Asn Gln Ile Ile Glu Lys
 1010 1015 1020
 Leu Ile Gly Lys Asp Lys Ile Tyr Leu Ser Trp Val Pro Ala His Lys
 1025 1030 1035 1040
 Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp Lys Leu Val Ser Ser Gly Ile
 1045 1050 1055

Arg Lys Val Leu Phe Leu Asp Gly Ile Asp Lys Ala Gln Glu Asp His
 1060 1065 1070
 Glu Arg Tyr His Ser Asn Trp Arg Thr Met Ala Ser Asp Phe Asn Leu
 1075 1080 1085
 Pro Pro Ile Val Ala Lys Glu Ile Val Ala Ser Cys Asp Lys Cys Gln
 1090 1095 1100
 Leu Lys Gly Glu Ala Met His Gly Gln Val Asp Cys Ser Pro Gly Ile
 1105 1110 1115 1120
 Trp Gln Leu Ala Cys Thr His Leu Glu Gly Lys Val Ile Leu Val Ala
 1125 1130 1135
 Val His Val Ala Ser Gly Tyr Ile Glu Ala Glu Val Ile Pro Ala Glu
 1140 1145 1150
 Thr Gly Gln Glu Thr Ala Tyr Phe Leu Leu Lys Leu Ala Gly Arg Trp
 1155 1160 1165
 Pro Val Lys Val Val His Thr Ala Asn Gly Ser Asn Phe Thr Ser Ala
 1170 1175 1180
 Ala Val Lys Ala Ala Cys Trp Trp Ala Asn Ile Gln Gln Glu Phe Gly
 1185 1190 1195 1200
 Ile Pro Tyr Asn Pro Gln Ser Gln Gly Val Val Ala Ser Met Asn Lys
 1205 1210 1215
 Glu Leu Lys Lys Ile Ile Gly Gln Val Arg Asp Gln Ala Glu His Leu
 1220 1225 1230
 Lys Thr Ala Val Gln Met Ala Val Phe Ile His Asn Phe Lys Arg Lys
 1235 1240 1245
 Gly Gly Ile Gly Gly Tyr Ser Ala Gly Glu Arg Ile Ile Asp Ile Ile
 1250 1255 1260
 Ala Thr Asp Ile Gln Thr Lys Glu Leu Gln Lys Gln Ile Thr Lys Ile
 1265 1270 1275 1280
 Gln Asn Phe Arg Val Tyr Tyr Arg Asp Ser Arg Asp Pro Ile Trp Lys
 1285 1290 1295
 Gly Pro Ala Lys Leu Leu Trp Lys Gly Glu Gly Ala Val Val Ile Gln
 1300 1305 1310
 Asp Asn Ser Asp Ile Lys Val Val Pro Arg Arg Lys Ala Lys Ile Leu
 1315 1320 1325
 Arg Asp Tyr Gly Lys Gln Met Ala Gly Asp Asp Cys Val Ala Gly Arg
 1330 1335 1340
 Gln Asp Glu Asp Arg Ser Met Gly Gly Lys Trp Ser Lys Gly Ser Ile
 1345 1350 1355 1360
 Val Gly Trp Pro Glu Ile Arg Glu Arg Met Arg Arg Ala Pro Ala Ala
 1365 1370 1375
 Ala Pro Gly Val Gly Ala Val Ser Gln Asp Leu Asp Lys His Gly Ala
 1380 1385 1390
 Ile Thr Ser Ser Asn Ile Asn Asn Pro Ser Cys Val Trp Leu Glu Ala
 1395 1400 1405

Gln Glu Glu Glu Glu Val Gly Phe Pro Val Arg Pro Gln Val Pro Leu
 1410 1415 1420
 Arg Pro Met Thr Tyr Lys Gly Ala Phe Asp Leu Ser His Phe Leu Lys
 1425 1430 1435 1440
 Glu Lys Gly Gly Leu Asp Gly Leu Ile Tyr Ser Arg Lys Arg Gln Glu
 1445 1450 1455
 Ile Leu Asp Leu Trp Val Tyr His Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp
 1460 1465 1470
 Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly
 1475 1480 1485
 Trp Cys Phe Lys Leu Val Pro Met Glu Pro Asp Glu Val Glu Lys Ala
 1490 1495 1500
 Thr Glu Gly Glu Asn Asn Ser Leu Leu His Pro Ile Cys Gln His Gly
 1505 1510 1515 1520
 Met Asp Asp Glu Glu Arg Glu Val Leu Ile Trp Lys Phe Asp Ser Arg
 1525 1530 1535
 Leu Ala Leu Lys His Arg Ala Gln Glu Leu His Pro Glu Phe Tyr Lys
 1540 1545 1550
 Asp Cys

<210> 5

<211> 2025

<212> DNA

<213> HIV

<400> 5

atgaggggtga tggagatcca gcggaactgc cagcacctgc tgagatgggg catcatgatc 60
 ctgggcatga ttatcatctg cagcaccgcc gacaacctgt gggtgaccgt gtactacggc 120
 gtgcctgtgt ggagagatgc cgagaccacc ctgttctgcg ccagcgacgc caaggcctac 180
 agcaccgaga agcacaatgt gtgggccacc cagcctggeg tgcctaccga tccaaccct 240
 caggagatcc ccctggacaa cgtgaccgag gagttcaaca tgtggaagaa caacatggtg 300
 gaccagatgc acgaggacat catcagcctg tgggaccaga gcctgaagcc ctgcgtgcag 360
 ctgaccccc tgtgcgtgac cctgaactgc agcaacgcca gactgaacgc caccttcaac 420
 tccaccgagg acagggagg catgaagaac tgcagcttca acatgaccac cgagctgcgg 480
 gataagaagc agcaggtgta cagcctgttc taccggctgg acatcgagaa gatcaacagc 540
 agcaacaaca acagcgagta ccggctggtg aactgcaata ccagcgccat caccagggcc 600
 tgccctaagg tgaccttcca gccatcccc atccactact gcgccctgc cggcttcgcc 660
 atcctgaagt gcaacgacac cgagttcaat ggcaccggcc cctgcaagaa tgtgagcacc 720
 gtgcagtgca cccacggcat caagcccgtg gtgtccacc agctgctgct gaacggcagc 780
 ctggccgaga gagaagtgcg gatcaggagc gagaacatcg ccaacaacgc caagaacatc 840
 atcgtgcagt tcgccagccc cgtgaagatc aactgcatcc ggccaacaa caatacccg 900
 aagagctaca gaatcggccc tggccagacc ttctacgcca ccgacattgt gggcgacatc 960

```

agacaggccc actgcaacgt gtccaggacc gactggaaca acaccctgag actggtggcc 1020
aaccagctgc ggaagtactt cagcaacaag accatcatct tcaccaacag cagcggcgga 1080
gacctggaga tcaccaccca cagcttcaat tgtggcggcg agttcttcta ctgcaacacc 1140
tccggcctgt tcaatagcac ctggaccacc aacaacatgc aggagtcaa cgacaccagc 1200
aacggcacca tcaccctgcc ctgccgatc aagcagatca tccggatgtg gcagcgcgtg 1260
ggccaggcca tgtacgcccc tcccacgag ggcgtgattc gctgcgagag caacatcacc 1320
ggcctgatcc tgaccagaga tggcggcaac aacaattccg ccaacgagac cttcagacct 1380
ggcggcggag atatccggga caactggcgg agcgagctgt acaagtacaa ggtggtgaag 1440
atcgagcccc tgggcgtggc ccccaccaga gccaaagaaa gagtgggtga gcgggagaag 1500
agagccgtgg gcatcggcgc cgtgtttctg ggcttcctgg gagccgccc atctacaatg 1560
ggagccgcca gcatcacctt gaccgtgcag gccagacagc tgctgagcgg catcgtgcag 1620
cagcagagca atctgctgag agccatcgag gccacgagc agctgctgaa gctgacagtg 1680
tggggcatca agcagctgca ggccagggtg ctggccgtgg agagatacct gagggaccag 1740
cagctcctgg gcatctgggg ctgcagcggc aagctgatct gcaccaccaa cgtgccctgg 1800
aatagcagct ggagcaacaa gagctacgac gacatctggc agaacatgac ctggctgcag 1860
tgggacaagg agatcagcaa ctacaccgac atcatctaca gcctgatcga ggagagccag 1920
aaccagcagg agaagaacga gcaggatctg ctggccctgg acaagtgggc caacctgtgg 1980
aactggttcg acatcagcaa gtggctgtgg tacatcagat cttga 2025

```

<210> 6

<211> 674

<212> PRT

<213> HIV

<400> 6

```

Met Arg Val Met Glu Ile Gln Arg Asn Cys Gln His Leu Leu Arg Trp
 1          5          10         15
Gly Ile Met Ile Leu Gly Met Ile Ile Ile Cys Ser Thr Ala Asp Asn
          20          25          30
Leu Trp Val Thr Val Tyr Tyr Gly Val Pro Val Trp Arg Asp Ala Glu
          35          40          45
Thr Thr Leu Phe Cys Ala Ser Asp Ala Lys Ala Tyr Ser Thr Glu Lys
          50          55          60
His Asn Val Trp Ala Thr His Ala Cys Val Pro Thr Asp Pro Asn Pro
65          70          75          80
Gln Glu Ile Pro Leu Asp Asn Val Thr Glu Glu Phe Asn Met Trp Lys
          85          90          95
Asn Asn Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile Ile Ser Leu Trp Asp
          100         105         110
Gln Ser Leu Lys Pro Cys Val Gln Leu Thr Pro Leu Cys Val Thr Leu
          115         120         125
Asn Cys Ser Asn Ala Arg Val Asn Ala Thr Phe Asn Ser Thr Glu Asp
          130         135         140
Arg Glu Gly Met Lys Asn Cys Ser Phe Asn Met Thr Thr Glu Leu Arg

```


	500		505		510										
Leu	Gly	Ala	Ala	Gly	Ser	Thr	Met	Gly	Ala	Ala	Ser	Ile	Thr	Leu	Thr
	515						520						525		
Val	Gln	Ala	Arg	Gln	Leu	Leu	Ser	Gly	Ile	Val	Gln	Gln	Gln	Ser	Asn
	530						535						540		
Leu	Leu	Arg	Ala	Ile	Glu	Ala	Gln	Gln	Gln	Leu	Leu	Lys	Leu	Thr	Val
	545				550					555					560
Trp	Gly	Ile	Lys	Gln	Leu	Gln	Ala	Arg	Val	Leu	Ala	Val	Glu	Arg	Tyr
			565						570						575
Leu	Arg	Asp	Gln	Gln	Leu	Leu	Gly	Ile	Trp	Gly	Cys	Ser	Gly	Lys	Leu
			580						585						590
Ile	Cys	Thr	Thr	Asn	Val	Pro	Trp	Asn	Ser	Ser	Trp	Ser	Asn	Lys	Ser
		595					600						605		
Tyr	Asp	Asp	Ile	Trp	Gln	Asn	Met	Thr	Trp	Leu	Gln	Trp	Asp	Lys	Glu
	610					615							620		
Ile	Ser	Asn	Tyr	Thr	Asp	Ile	Ile	Tyr	Ser	Leu	Ile	Glu	Glu	Ser	Gln
	625				630					635					640
Asn	Gln	Gln	Glu	Lys	Asn	Glu	Gln	Asp	Leu	Leu	Ala	Leu	Asp	Lys	Trp
			645						650						655
Ala	Asn	Leu	Trp	Asn	Trp	Phe	Asp	Ile	Ser	Lys	Trp	Leu	Trp	Tyr	Ile
		660							665						670
Arg	Ser														

<210> 7

<211> 1545

<212> DNA

<213> HIV

<400> 7

```

atgaaagtga aggagaccag gaagaattat cagcacttgt ggagatgggg caccatgctc 60
cttgggatgt tgatgatctg tagtgctgca gaacaattgt gggtcacagt ctattatggg 120
gtacctgtgt gaaagaagc aactaccact ctattctgtg catcagatgc taaagcatat 180
gatacagagg tacataatgt ttgggccaca catgcctgtg taccacaga cccaacca 240
caagaagtag tattgggaaa tgtgacagaa tattttaaca tgtggaaaa taacatggta 300
gaccagatgc atgaggatat aatcagttta tgggatcaaa gcttgaagcc atgtgtaaaa 360
ttaacccac tctgtgttac tttagattgc gatgatgtga ataccactaa tagtactact 420
accactagta atggttgac aggagaaata aggaaaggag aaataaaaaa ctgctctttt 480
aatatcacca caagcataag agataaggtt caaaaagaat atgcactttt ttataacctt 540
gatgtagtac caatagatga tgataatgct actacaaaa ataaaactac tagaaacttt 600
aggttgatac attgtaactc ctcagtcatg acacaggcct gtccaaaggc atcatttgaa 660
ccaattccca tacattattg tgccccgctt ggttttgcga ttctgaagtg taacaataag 720
acgtttgatg gaaaaggact atgtacaaat gtcagcacag tacaatgtac acatggaatt 780

```

aggccagtag tgtcaactca actgctgtta aatggcagtc tagcagaaga agaggtagta 840
 attagatctg acaatttcat ggacaatact aaaaccataa tagtacagct gaatgaatct 900
 gtagcaatta attgtacaag acccaacaac aatacaagaa aaggtataca tataggacca 960
 gggagagcct tttatgcagc aagaaaaata ataggagata taagacaagc acattgtaac 1020
 cttagtagag cacaatggaa taacacttta aaacagatag ttataaaatt aagagaacac 1080
 tttgggaata aaacaataaa atttaataca tcctcaggag gggaccaga aattgtaagg 1140
 catagtttta attgtggagg ggaatttttc tactgtgata caacacaact gttaaatagt 1200
 acttggaaatg gtactgaagg aaataacact gaaggaaata gcacaatcac actcccatgt 1260
 agaataaaac aaattataaa catgtggcag gaagtaggaa aagcaatgta tgcccctccc 1320
 atcggaggac aaattagatg ttcatcaaat attacagggc tgctattaac aagagatggt 1380
 ggtaccgaag ggaatgggac agagaatgag acagagatct tcagacctgg aggaggagat 1440
 atgagggaca attggagaag tgaattatat aaatataaag tagtaaaagt tgaaccacta 1500
 ggagtagcac ccaccagggc aaagagaaga gtggtgcaga gataa 1545

<210> 8

<211> 514

<212> PRT

<213> HIV

<400> 8

Met Lys Val Lys Glu Thr Arg Lys Asn Tyr Gln His Leu Trp Arg Trp
 1 5 10 15
 Gly Thr Met Leu Leu Gly Met Leu Met Ile Cys Ser Ala Ala Glu Gln
 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 Asn Pro
 65 70 75 80
 Gln Glu Val Val Leu Gly Asn Val Thr Glu Tyr Phe Asn Met Trp Lys
 85 90 95
 Asn Asn Met Val Asp Gln Met His Glu Asp Ile 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
 Asp Cys Asp Asp Val Asn Thr Thr Asn Ser Thr Thr Thr Thr Ser Asn
 130 135 140
 Gly Trp Thr Gly Glu Ile Arg Lys Gly Glu Ile Lys Asn Cys Ser Phe
 145 150 155 160
 Asn Ile Thr Thr Ser Ile Arg Asp Lys Val Gln Lys Glu Tyr Ala Leu
 165 170 175
 Phe Tyr Asn Leu Asp Val Val Pro Ile Asp Asp Asp Asn Ala Thr Thr
 180 185 190

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

<210> 9

<211> 2178

<212> DNA

<213> 结核分支杆菌

<400> 9

```

atgcatcaca cggccgcgtc cgataacttc cagctgtccc agggtgggca gggattcgcc 60
attccgatcg ggcaggcgat ggcgatcgcg ggcagatcc gatcgggtgg ggggtcacc 120
accgttcata tcgggcttac cgccttcctc ggcttggggtg ttgtcgacaa caacggcaac 180
ggcgacgag tccaacgcgt ggtcgggagc gctccggcgg caagtctcgg catctccacc 240
ggcgacgtga tcaccgcggt cgacggcgct ccgatcaact cggccaccgc gatggcggac 300
gcgcttaacg ggcatcatcc cggtgacgtc atctcgggtga cctggcaaac caagtcgggc 360
ggcacgcgta cagggaaacgt gacattggcc gagggacccc cggccgaatt catggtggat 420
ttcggggcgt taccaccgga gatcaactcc gcgaggatgt acgccggccc gggttcggcc 480
tcgctggtgg ccgcgctca gatgtgggac agcgtggcga gtgacctgtt ttcggccgcg 540
tcggcgtttc agtcgggtgt ctggggtctg acggtggggt cgtggatagg ttcgtcggcg 600
ggctctgatgg tggcggcggc ctcccgctat gtggcgtgga tgagcgtcac cgcggggcag 660
gccgagctga ccgccccca ggtccgggtt gctgcggcgg cctacgagac ggcgatatggg 720
ctgacggtgc ccccgcggt gatcgccgag aaccgtgctg aactgatgat tctgatagcg 780
accaacctct tggggcaaaa caccgcggcg atcgcggtca acgaggccga atacggcgag 840
atgtgggccc aagacgccg cgcgatgttt ggctacgcc cggcgacggc gacggcgacg 900
gcgacgttgc tgccgttcga ggaggcggc gagatgacca gcgcgggtgg gctcctcgag 960
caggccgccc cggtcgagga ggcctccgac accgccgagg cgaaccagtt gatgaacaat 1020
gtgccccagg cgctgcaaca gctggcccag cccacgcagg gcaccacgcc ttcttccaag 1080
ctgggtggcc tgtggaagac ggtctcgccc catcggtcgc cgatcagcaa catggtgtcg 1140
atggccaaca accacatgtc gatgaccaac tcgggtgtgt cgatgaccaa caccttgagc 1200
tcgatgttga agggctttgc tccggcggcg gccgccagg ccgtgcaaac cgcggcgcaa 1260
aacggggtcc gggcgatgag ctcgctgggc agctcgtggt gttcttcggg tctgggcggt 1320
ggggtggccg ccaacttggg tcgggcggcc tcggtcggtt cgttgtcggg gccgcaggcc 1380
tgggcccggg ccaaccaggc agtcaccccg gcggcgcggg cgctgccgct gaccagcctg 1440
accagcggcg cggaaagagg gcccgggcag atgctgggcg ggctgccggt ggggcagatg 1500
ggcgccaggg ccggtggtgg gctcagtggt gtgctgcgtg ttccgccgcg accctatgtg 1560
atgcccatt ctccggcagc cggcgatata gcccgcggg ccttgtcgca ggaccggtt 1620
gccgacttcc ccgcgtgcc cctcgaccgg tccgcgatgg tcgccaagt ggggccacag 1680
gtggtcaaca tcaacaccaa actgggctac aacaacgcc tgggcgccgg gaccggcatc 1740
gtcatcgatc ccaacggtgt cgtgctgacc aacaaccagc tgatcgcggg cggcaccgac 1800
atcaatgcgt tcagcgtcgg ctccggccaa acctacggcg tcgatgtggt cgggtatgac 1860
cgcaccaggg atgtcgcggt gctgcagctg cgcggtgccg gtggcctgcc gtcggcggcg 1920
atcggtggcg gcgtcgcggt tggtgagccc gtcgtcgcga tgggcaacag cgggtggcag 1980
ggcggaacgc cccgtgcggt gcctggcagg gtggtcgcgc tcggccaaac cgtgcaggcg 2040
tcggattcgc tgaccggtgc cgaagagaca ttgaacgggt tgatccagtt cgatgccgcg 2100
atccagcccg gtgatgcggg cgggcccgtc gtcaacggcc taggacaggt ggtcggtatg 2160
aacacggccc cgtcctag

```

<210> 10

<211> 725

<212> PRT

<213> 结核分支杆菌

<400> 10

```

Met His His Thr Ala Ala Ser Asp Asn Phe Gln Leu Ser Gln Gly Gly
 1           5           10           15
Gln Gly Phe Ala Ile Pro Ile Gly Gln Ala Met Ala Ile Ala Gly Gln
           20           25           30
Ile Arg Ser Gly Gly Gly Ser Pro Thr Val His Ile Gly Pro Thr Ala
           35           40           45
Phe Leu Gly Leu Gly Val Val Asp Asn Asn Gly Asn Gly Ala Arg Val
 50           55           60
Gln Arg Val Val Gly Ser Ala Pro Ala Ala Ser Leu Gly Ile Ser Thr
65           70           75           80
Gly Asp Val Ile Thr Ala Val Asp Gly Ala Pro Ile Asn Ser Ala Thr
           85           90           95
Ala Met Ala Asp Ala Leu Asn Gly His His Pro Gly Asp Val Ile Ser
           100          105          110
Val Thr Trp Gln Thr Lys Ser Gly Gly Thr Arg Thr Gly Asn Val Thr
           115          120          125
Leu Ala Glu Gly Pro Pro Ala Glu Phe Met Val Asp Phe Gly Ala Leu
           130          135          140
Pro Pro Glu Ile Asn Ser Ala Arg Met Tyr Ala Gly Pro Gly Ser Ala
145           150          155          160
Ser Leu Val Ala Ala Ala Gln Met Trp Asp Ser Val Ala Ser Asp Leu
           165          170          175
Phe Ser Ala Ala Ser Ala Phe Gln Ser Val Val Trp Gly Leu Thr Val
           180          185          190
Gly Ser Trp Ile Gly Ser Ser Ala Gly Leu Met Val Ala Ala Ala Ser
           195          200          205
Pro Tyr Val Ala Trp Met Ser Val Thr Ala Gly Gln Ala Glu Leu Thr
           210          215          220
Ala Ala Gln Val Arg Val Ala Ala Ala Ala Tyr Glu Thr Ala Tyr Gly
225           230          235          240
Leu Thr Val Pro Pro Pro Val Ile Ala Glu Asn Arg Ala Glu Leu Met
           245          250          255
Ile Leu Ile Ala Thr Asn Leu Leu Gly Gln Asn Thr Pro Ala Ile Ala
           260          265          270
Val Asn Glu Ala Glu Tyr Gly Glu Met Trp Ala Gln Asp Ala Ala Ala
           275          280          285
Met Phe Gly Tyr Ala Ala Ala Thr Ala Thr Ala Thr Ala Thr Leu Leu
           290          295          300

```

Pro Phe Glu Glu Ala Pro Glu Met Thr Ser Ala Gly Gly Leu Leu Glu
 305 310 315 320
 Gln Ala Ala Ala Val Glu Glu Ala Ser Asp Thr Ala Ala Ala Asn Gln
 325 330 335
 Leu Met Asn Asn Val Pro Gln Ala Leu Gln Gln Leu Ala Gln Pro Thr
 340 345 350
 Gln Gly Thr Thr Pro Ser Ser Lys Leu Gly Gly Leu Trp Lys Thr Val
 355 360 365
 Ser Pro His Arg Ser Pro Ile Ser Asn Met Val Ser Met Ala Asn Asn
 370 375 380
 His Met Ser Met Thr Asn Ser Gly Val Ser Met Thr Asn Thr Leu Ser
 385 390 395 400
 Ser Met Leu Lys Gly Phe Ala Pro Ala Ala Ala Ala Gln Ala Val Gln
 405 410 415
 Thr Ala Ala Gln Asn Gly Val Arg Ala Met Ser Ser Leu Gly Ser Ser
 420 425 430
 Leu Gly Ser Ser Gly Leu Gly Gly Gly Val Ala Ala Asn Leu Gly Arg
 435 440 445
 Ala Ala Ser Val Gly Ser Leu Ser Val Pro Gln Ala Trp Ala Ala Ala
 450 455 460
 Asn Gln Ala Val Thr Pro Ala Ala Arg Ala Leu Pro Leu Thr Ser Leu
 465 470 475 480
 Thr Ser Ala Ala Glu Arg Gly Pro Gly Gln Met Leu Gly Gly Leu Pro
 485 490 495
 Val Gly Gln Met Gly Ala Arg Ala Gly Gly Gly Leu Ser Gly Val Leu
 500 505 510
 Arg Val Pro Pro Arg Pro Tyr Val Met Pro His Ser Pro Ala Ala Gly
 515 520 525
 Asp Ile Ala Pro Pro Ala Leu Ser Gln Asp Arg Phe Ala Asp Phe Pro
 530 535 540
 Ala Leu Pro Leu Asp Pro Ser Ala Met Val Ala Gln Val Gly Pro Gln
 545 550 555 560
 Val Val Asn Ile Asn Thr Lys Leu Gly Tyr Asn Asn Ala Val Gly Ala
 565 570 575
 Gly Thr Gly Ile Val Ile Asp Pro Asn Gly Val Val Leu Thr Asn Asn
 580 585 590
 His Val Ile Ala Gly Ala Thr Asp Ile Asn Ala Phe Ser Val Gly Ser
 595 600 605
 Gly Gln Thr Tyr Gly Val Asp Val Val Gly Tyr Asp Arg Thr Gln Asp
 610 615 620
 Val Ala Val Leu Gln Leu Arg Gly Ala Gly Gly Leu Pro Ser Ala Ala
 625 630 635 640
 Ile Gly Gly Gly Val Ala Val Gly Glu Pro Val Val Ala Met Gly Asn
 645 650 655

Ser Gly Gly Gln Gly Gly Thr Pro Arg Ala Val Pro Gly Arg Val Val
660 665 670
Ala Leu Gly Gln Thr Val Gln Ala Ser Asp Ser Leu Thr Gly Ala Glu
675 680 685
Glu Thr Leu Asn Gly Leu Ile Gln Phe Asp Ala Ala Ile Gln Pro Gly
690 695 700
Asp Ala Gly Gly Pro Val Val Asn Gly Leu Gly Gln Val Val Gly Met
705 710 715 720
Asn Thr Ala Ala Ser
725

<210> 11

<211> 1149

<212> DNA

<213> 恶性疟原虫

<400> 11

atgatgagaa aacttgccat cctcagcgtc agctctttcc tgttcgtgga ggccctcttc 60
caggagtatc agtgcacgga aagcagcagc aatacaaggg tectgaacga gctcaactat 120
gacaacgctg gaacgaacct gtataacgag ctggagatga actactatgg caagcaggag 180
aactggtata gcctgaagaa gaacagccgg tccctgggagc agaacgacga cggcaacaac 240
aacaacggcg acaacggcag ggagggcaaa gatgaggaca agagggacgg gaacaacgag 300
gataacgaga agctgcggaa gcccaagcac aagaaactca agcagcccgc cgacgggaac 360
ccggacccca atgcaaatcc caacgtcgac ccaaacgcaa accctaactg ggaccccaac 420
gccaatccca acgtcgatcc taatgccaat ccaaatgcca accctaacgc aaatcctaata 480
gcaaacccca acgccaatcc taacgccaac ccaaatgcca acccaaacgc taaccccaac 540
gctaacccta atgcaaatcc caatgctaac ccaaacgtgg accctaacgc taaccccaac 600
gcaaacccca acgccaatcc taacgccaac ccaaatgcaa acccaaacgc aaatcccaac 660
gctaacccta acgcaaacce caacgccaac cctaatagcca acccaaatgc taaccccaac 720
gccaatccca acgcaaatcc aaacgccaac ccaaatgcaa acccaaacgc taatcccaac 780
gccaacccta acgccaatcc taacaagaac aatcagggca acgggcaggc ccataaatatg 840
ccgaacgacc ctaatcggaa tgtggacgag aacgccaacg ccaacagcgc cgtgaagaac 900
aacaacaacg aggagccctc cgacaagcac atcaaggaat acctgaacaa gatccagaac 960
agtctgagca ccgagtggtc cccctgctcc gtgacctgag gcaacggcat ccaggtgagg 1020
atcaagcccg gctccgcca caagcccaag gacgagctgg actacgcca cgacatcgag 1080
aagaagatct gcaagatgga gaaatgcagc tctgtgttca acgtcgtgaa ctccgccatc 1140
ggcctgtga 1149

<210> 12

<211> 382

<212> PRT

<213> 恶性疟原虫

<400> 12

Met Met Arg Lys Leu Ala Ile Leu Ser Val Ser Ser Phe Leu Phe Val
 1 5 10 15
 Glu Ala Leu Phe Gln Glu Tyr Gln Cys Tyr Gly Ser Ser Ser Asn Thr
 20 25 30
 Arg Val Leu Asn Glu Leu Asn Tyr Asp Asn Ala Gly Thr Asn Leu Tyr
 35 40 45
 Asn Glu Leu Glu Met Asn Tyr Tyr Gly Lys Gln Glu Asn Trp Tyr Ser
 50 55 60
 Leu Lys Lys Asn Ser Arg Ser Leu Gly Glu Asn Asp Asp Gly Asn Asn
 65 70 75 80
 Asn Asn Gly Asp Asn Gly Arg Glu Gly Lys Asp Glu Asp Lys Arg Asp
 85 90 95
 Gly Asn Asn Glu Asp Asn Glu Lys Leu Arg Lys Pro Lys His Lys Lys
 100 105 110
 Leu Lys Gln Pro Ala Asp Gly Asn Pro Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 115 120 125
 Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 130 135 140
 Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 145 150 155 160
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 165 170 175
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 180 185 190
 Val Asp Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 195 200 205
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 210 215 220
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 225 230 235 240
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn
 245 250 255
 Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Lys Asn Asn Gln
 260 265 270
 Gly Asn Gly Gln Gly His Asn Met Pro Asn Asp Pro Asn Arg Asn Val
 275 280 285
 Asp Glu Asn Ala Asn Ala Asn Ser Ala Val Lys Asn Asn Asn Asn Glu
 290 295 300
 Glu Pro Ser Asp Lys His Ile Lys Glu Tyr Leu Asn Lys Ile Gln Asn
 305 310 315 320
 Ser Leu Ser Thr Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val Thr Cys Gly Asn Gly
 325 330 335
 Ile Gln Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro Lys Asp Glu

	340		345		350
Leu	Asp Tyr Ala Asn Asp Ile Glu Lys Lys Ile Cys Lys Met Glu Lys				
	355		360		365
Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser Ala Ile Gly Leu					
	370		375		380

<210> 13
 <211> 1275
 <212> DNA
 <213> 恶性疟原虫

<400> 13

```

atgatggctc cggatcctaa tgcaaatcca aatgcaaacc caaacgcaaa cccaatgca 60
aatcctaata caaaccccaa tgcaaatcct aatgcaaacc ctaatgcca tccaaatgca 120
aatccaaatg caaacccaaa cgcaaacccc aatgcaaacc ctaatgcca tccaaatgca 180
aatccaaatg caaacccaaa tgcaaaccca aatgcaaacc ccaatgcaaa tcctaataaa 240
aacaatcaag gtaatggaca aggtcacaat atgccaaatg acccaaaccg aatgtagat 300
gaaaatgcta atgccaacag tgctgtaaaa aataataata acgaagaacc aagtgataag 360
cacataaaag aatatttaaa caaaatacaa aattctcttt caactgaatg gtccccatgt 420
agtgttaact gtggaaatgg tattcaagtt agaataaagc ctggctctgc taataaacct 480
aaagacgaat tagattatgc aaatgatatt gaaaaaaaaa tttgtaaaat ggaaaaatgt 540
tccagtgtgt ttaatgtcgt aaatagttca ataggattag ggcctgtgac gaacatggag 600
aacatcacat caggattcct aggaccctg ctcgtgttac aggcgggggt tttctgttg 660
acaagaatcc tcacaatacc gcagagtcta gactcgtggt ggacttctct caatcttcta 720
gggggatcac cgtgtgtctc tggccaaaat tcgcagtccc caacctcaa tcaactacca 780
acctcctgtc ctccaatttg tcttggttat cgctggatgt gtctgcggcg ttttatcata 840
ttctcttca tctgtctgat atgcctcacc ttcttattgg ttcttctgga ttatcaaggt 900
atgttgcccg tttgtcctct aattccagga tcaacaacaa ccaatacggg accatgcaaa 960
acctgcacga ctctgtctca aggcaactct atgtttccct catgttctgt taaaaacct 1020
acggatggaa atgcacctg tattcccatc ccatcgtcct gggctttcgc aaaataccta 1080
tgggagtggg cctcagtcgg tttctcttgg ctcaagttac tagtgccatt tgttcagtgg 1140
ttcgtagggc tttccccac tgtttggctt tcagctatat ggatgatgtg gtattggggg 1200
ccaagtctgt acagcatcgt gagtcctttt ataccgctgt taccaatctt cttttgtctc 1260
tgggtataca tttaa 1275
    
```

<210> 14
 <211> 424
 <212> PRT
 <213> 恶性疟原虫

<400> 14

Met	Met	Ala	Pro	Asp	Pro	Asn	Ala	Asn	Pro	Asn	Ala	Asn	Pro	Asn	Ala
1				5					10						15

Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
 20 25 30
 Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
 35 40 45
 Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala
 50 55 60
 Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Ala Asn Pro Asn Lys
 65 70 75 80
 Asn Asn Gln Gly Asn Gly Gln Gly His Asn Met Pro Asn Asp Pro Asn
 85 90 95
 Arg Asn Val Asp Glu Asn Ala Asn Ala Asn Ser Ala Val Lys Asn Asn
 100 105 110
 Asn Asn Glu Glu Pro Ser Asp Lys His Ile Lys Glu Tyr Leu Asn Lys
 115 120 125
 Ile Gln Asn Ser Leu Ser Thr Glu Trp Ser Pro Cys Ser Val Thr Cys
 130 135 140
 Gly Asn Gly Ile Gln Val Arg Ile Lys Pro Gly Ser Ala Asn Lys Pro
 145 150 155 160
 Lys Asp Glu Leu Asp Tyr Ala Asn Asp Ile Glu Lys Lys Ile Cys Lys
 165 170 175
 Met Glu Lys Cys Ser Ser Val Phe Asn Val Val Asn Ser Ser Ile Gly
 180 185 190
 Leu Gly Pro Val Thr Asn Met Glu Asn Ile Thr Ser Gly Phe Leu Gly
 195 200 205
 Pro Leu Leu Val Leu Gln Ala Gly Phe Phe Leu Leu Thr Arg Ile Leu
 210 215 220
 Thr Ile Pro Gln Ser Leu Asp Ser Trp Trp Thr Ser Leu Asn Phe Leu
 225 230 235 240
 Gly Gly Ser Pro Val Cys Leu Gly Gln Asn Ser Gln Ser Pro Thr Ser
 245 250 255
 Asn His Ser Pro Thr Ser Cys Pro Pro Ile Cys Pro Gly Tyr Arg Trp
 260 265 270
 Met Cys Leu Arg Arg Phe Ile Ile Phe Leu Phe Ile Leu Leu Leu Cys
 275 280 285
 Leu Ile Phe Leu Leu Val Leu Leu Asp Tyr Gln Gly Met Leu Pro Val
 290 295 300
 Cys Pro Leu Ile Pro Gly Ser Thr Thr Thr Asn Thr Gly Pro Cys Lys
 305 310 315 320
 Thr Cys Thr Thr Pro Ala Gln Gly Asn Ser Met Phe Pro Ser Cys Cys
 325 330 335
 Cys Thr Lys Pro Thr Asp Gly Asn Cys Thr Cys Ile Pro Ile Pro Ser
 340 345 350
 Ser Trp Ala Phe Ala Lys Tyr Leu Trp Glu Trp Ala Ser Val Arg Phe
 355 360 365

Ser Trp Leu Ser Leu Leu Val Pro Phe Val Gln Trp Phe Val Gly Leu
 370 375 380
 Ser Pro Thr Val Trp Leu Ser Ala Ile Trp Met Met Trp Tyr Trp Gly
 385 390 395 400
 Pro Ser Leu Tyr Ser Ile Val Ser Pro Phe Ile Pro Leu Leu Pro Ile
 405 410 415
 Phe Phe Cys Leu Trp Val Tyr Ile
 420

<210> 15

<211> 3411

<212> DNA

<213> HIV

<400> 15

atggtcattg ttcagaacat acagggccaa atgggtccacc aggcaattag tccgcgaact 60
 cttaatgcat ggggtgaaggt cgtggaggaa aaggcattct ccccggaggt cattccgatg 120
 ttttctgcgc tatctgaggg cgcaacgccg caagacctta ataccatgct taacacggta 180
 ggcgggcacc aagccgctat gcaaatgcta aaagagacta taaacgaaga ggccgccgaa 240
 tgggatcgag tgcacccggt gcacgccggc ccaattgcac caggccagat gcgcgagccg 300
 cgcgggtctg atattgcagg aactacgtct acccttcagg agcagattgg gtggatgact 360
 aacaatccac caatcccggg cggagagatc tataagaggt ggatcactact gggactaaac 420
 aagatagtcc gcattgtatt tccgacttct atactggata tacgccaaagg cccaaaggag 480
 ccgttcaggg actatgtcga ccgattctat aagacccttc gcgcagagca ggcatcccag 540
 gaggtcaaaa attggatgac agaaactctt ttgggtgcaga atgcgaatcc ggattgtaaa 600
 acaattttaa aggcctctagg accggccgca acgctagaag agatgatgac ggcttgtcag 660
 ggagtcgggtg gaccggggca taaagcccgc gtcttacaca tgggcccgat atctccgata 720
 gaaacagttt cggtaacgct taaaccaggg atggatggtc caaagggtcaa gcagtggccg 780
 ctaacggaag agaagattaa ggcgctcgtg gagatttgta ctgaaatgga gaaggaaggc 840
 aagataagca agatcggggc agagaacccg tacaatacac cggatattgc aataaagaaa 900
 aaggattcaa caaatggcg aaagcttgta gatcttaggg aactaaaca gcgaacccaa 960
 gacttttggg aagtccaact agggatccca catccagccg gtctaaagaa gaagaaatcg 1020
 gtcacagtcc tggatgtagg agacgcata tttagtgtac cgcttgatga ggacttccga 1080
 aagtatactg cgtttactat accgagcata aacaatgaaa cgccaggcat tcgctatcag 1140
 tacaacgtgc tcccgcaggg ctggaagggg tctccggcga tatttcagag ctgtatgaca 1200
 aaaatacttg aaccattccg aaagcagaat ccggatattg taatttacca atacatggac 1260
 gatctctatg tgggctcggg tctagaaatt gggcagcatc gcactaagat tgaggaactg 1320
 aggcaacatc tgcttcgatg gggcctcact actcccgaca agaagcacca gaaggagccg 1380
 ccgttcctaa agatgggcta cgagcttcat ccggacaagt ggacagtaca gccgatagtg 1440
 ctgcccgaaa aggattcttg gaccgtaaat gatattcaga aactagtcgg caagcttaac 1500
 tgggcctctc agatttacc aggcattaag gtccgacagc tttgcaagct actgagggga 1560
 actaaggctc taacagaggt catcccatta acggaggaag cagagcttga gctggcagag 1620
 aatcgcgaaa ttcttaagga gccggtgcac ggggtatact acgaccctc caaggacctt 1680

```

atagccgaga tccagaagca ggggcagggc caatggacgt accagatata tcaagaaccg 1740
tttaagaatc tgaagactgg gaagtacgcg cgcatgcbag gggctcatal taatgatgta 1800
aagcaactta cggaaacagt acaaaagatt actactgagt ctattgtgat atggggcaag 1860
accccaaagt tcaagctgcc catacagaag gaaacatggg aaacatggtg gactgaatat 1920
tggcaagcta cctggattcc agaatgggaa tttgtcaaca cgccgccact tgtaagctt 1980
tggtagcage ttgaaaagga gccgatagta ggggcagaga cttctatgt cgatggcgcc 2040
gcgaatcgcg aaacgaagct aggcaaggcg ggatacgtga ctaatagggg ccgccaaaag 2100
gtcgtaaccc ttacggatac caccaatcag aagactgaac tacaagcgaat ttaccttgca 2160
cttcaggata gtggcctaga ggtcaacata gtcacggact ctcaatatgc gcttggcatt 2220
attcaagcgc agccagatca aagcgaagc gagcttgha accaaataat agaacagctt 2280
ataaagaaag agaaggtata tctggcctgg gtccccgctc acaagggaat tggcggcaat 2340
gagcaagtgg acaagctagt cagcgtggg attcgaagg ttcttgcgat ggggggtaag 2400
tgggtctaagt ctagcgtagt cggctggccg acagtccgag agcgcgatgcg acgcccga 2460
ccagccgcag atggcgtggg ggcagcgtct agggatctgg agaagcacgg ggctataact 2520
tccagtaaca cggcggcgac gaacgccga tgcgatggt tagaagccca agaagaggaa 2580
gaagtagggt ttccggtaac tcccagggt ccgtaagcc cgatgacct taaggcagcg 2640
gtggatcttt ctacttcct taaggagaaa ggggggctgg agggcttaat tcacagccag 2700
aggcgcagag atattcttga tctgtggatt taccataccc aggggtactt tccggactgg 2760
cagaattaca ccccggggcc aggcgtgcbg tatcccctga ctttcgggtg gtgctacaaa 2820
ctagtcccag tggaaccgca caaggtcga gaggctaata agggcgagaa cacttctctt 2880
cttaccgg taagcctgca cgggatgat gaccagaac gagaggttct agaatggagg 2940
ttcactctc gacttgcgtt ccatcacgta gcacgcgagc tgcattcaga atatttcaag 3000
aactgccgcc caatggcgc cagggccagt gtacttagtg gcggagaact agatcgatgg 3060
gaaaagatac gcctacgcc ggggggcaag aagaagtaca agcttaagca cattgtgtgg 3120
gcctctcgcg aacttgagcg attcgcagt aatccaggcc tgcttgagac gactgaagcc 3180
tgtaggcaaa ttctggggca gctacagccg agcctacaga ctggcagcga ggagcttcgt 3240
agtctttata ataccgtcgc gactctctac tgcgttcac aacgaattga aataaaggat 3300
actaaagagg cccttgataa aattgaggag gaacagaata agtcgaaaaa gaaggcccag 3360
caggccgccg ccgacaccgg gcacagcaac caggtgtccc aaaactacta a 3411

```

<210> 16

<211> 1136

<212> PRT

<213> HIV

<400> 16

```

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

```

Ala Ala Met Gln Met Leu Lys Glu Thr Ile Asn Glu Glu Ala Ala Glu
 65 70 75 80
 Trp Asp Arg Val His Pro Val His Ala Gly Pro Ile Ala Pro Gly Gln
 85 90 95
 Met Arg Glu Pro Arg Gly Ser Asp Ile Ala Gly Thr Thr Ser Thr Leu
 100 105 110
 Gln Glu Gln Ile Gly Trp Met Thr Asn Asn Pro Pro Ile Pro Val Gly
 115 120 125
 Glu Ile Tyr Lys Arg Trp Ile Ile Leu Gly Leu Asn Lys Ile Val Arg
 130 135 140
 Met Tyr Ser Pro Thr Ser Ile Leu Asp Ile Arg Gln Gly Pro Lys Glu
 145 150 155 160
 Pro Phe Arg Asp Tyr Val Asp Arg Phe Tyr Lys Thr Leu Arg Ala Glu
 165 170 175
 Gln Ala Ser Gln Glu Val Lys Asn Trp Met Thr Glu Thr Leu Leu Val
 180 185 190
 Gln Asn Ala Asn Pro Asp Cys Lys Thr Ile Leu Lys Ala Leu Gly Pro
 195 200 205
 Ala Ala Thr Leu Glu Glu Met Met Thr Ala Cys Gln Gly Val Gly Gly
 210 215 220
 Pro Gly His Lys Ala Arg Val Leu His Met Gly Pro Ile Ser Pro Ile
 225 230 235 240
 Glu Thr Val Ser Val Lys Leu Lys Pro Gly Met Asp Gly Pro Lys Val
 245 250 255
 Lys Gln Trp Pro Leu Thr Glu Glu Lys Ile Lys Ala Leu Val Glu Ile
 260 265 270
 Cys Thr Glu Met Glu Lys Glu Gly Lys Ile Ser Lys Ile Gly Pro Glu
 275 280 285
 Asn Pro Tyr Asn Thr Pro Val Phe Ala Ile Lys Lys Lys Asp Ser Thr
 290 295 300
 Lys Trp Arg Lys Leu Val Asp Phe Arg Glu Leu Asn Lys Arg Thr Gln
 305 310 315 320
 Asp Phe Trp Glu Val Gln Leu Gly Ile Pro His Pro Ala Gly Leu Lys
 325 330 335
 Lys Lys Lys Ser Val Thr Val Leu Asp Val Gly Asp Ala Tyr Phe Ser
 340 345 350
 Val Pro Leu Asp Glu Asp Phe Arg Lys Tyr Thr Ala Phe Thr Ile Pro
 355 360 365
 Ser Ile Asn Asn Glu Thr Pro Gly Ile Arg Tyr Gln Tyr Asn Val Leu
 370 375 380
 Pro Gln Gly Trp Lys Gly Ser Pro Ala Ile Phe Gln Ser Cys Met Thr
 385 390 395 400
 Lys Ile Leu Glu Pro Phe Arg Lys Gln Asn Pro Asp Ile Val Ile Tyr
 405 410 415

Gln Tyr Met Asp Asp Leu Tyr Val Gly Ser Asp Leu Glu Ile Gly Gln
 420 425 430
 His Arg Thr Lys Ile Glu Glu Leu Arg Gln His Leu Leu Arg Trp Gly
 435 440 445
 Leu Thr Thr Pro Asp Lys Lys His Gln Lys Glu Pro Pro Phe Leu Lys
 450 455 460
 Met Gly Tyr Glu Leu His Pro Asp Lys Trp Thr Val Gln Pro Ile Val
 465 470 475 480
 Leu Pro Glu Lys Asp Ser Trp Thr Val Asn Asp Ile Gln Lys Leu Val
 485 490 495
 Gly Lys Leu Asn Trp Ala Ser Gln Ile Tyr Pro Gly Ile Lys Val Arg
 500 505 510
 Gln Leu Cys Lys Leu Leu Arg Gly Thr Lys Ala Leu Thr Glu Val Ile
 515 520 525
 Pro Leu Thr Glu Glu Ala Glu Leu Glu Leu Ala Glu Asn Arg Glu Ile
 530 535 540
 Leu Lys Glu Pro Val His Gly Val Tyr Tyr Asp Pro Ser Lys Asp Leu
 545 550 555 560
 Ile Ala Glu Ile Gln Lys Gln Gly Gln Gly Gln Trp Thr Tyr Gln Ile
 565 570 575
 Tyr Gln Glu Pro Phe Lys Asn Leu Lys Thr Gly Lys Tyr Ala Arg Met
 580 585 590
 Arg Gly Ala His Thr Asn Asp Val Lys Gln Leu Thr Glu Ala Val Gln
 595 600 605
 Lys Ile Thr Thr Glu Ser Ile Val Ile Trp Gly Lys Thr Pro Lys Phe
 610 615 620
 Lys Leu Pro Ile Gln Lys Glu Thr Trp Glu Thr Trp Trp Thr Glu Tyr
 625 630 635 640
 Trp Gln Ala Thr Trp Ile Pro Glu Trp Glu Phe Val Asn Thr Pro Pro
 645 650 655
 Leu Val Lys Leu Trp Tyr Gln Leu Glu Lys Glu Pro Ile Val Gly Ala
 660 665 670
 Glu Thr Phe Tyr Val Asp Gly Ala Ala Asn Arg Glu Thr Lys Leu Gly
 675 680 685
 Lys Ala Gly Tyr Val Thr Asn Arg Gly Arg Gln Lys Val Val Thr Leu
 690 695 700
 Thr Asp Thr Thr Asn Gln Lys Thr Glu Leu Gln Ala Ile Tyr Leu Ala
 705 710 715 720
 Leu Gln Asp Ser Gly Leu Glu Val Asn Ile Val Thr Asp Ser Gln Tyr
 725 730 735
 Ala Leu Gly Ile Ile Gln Ala Gln Pro Asp Gln Ser Glu Ser Glu Leu
 740 745 750
 Val Asn Gln Ile Ile Glu Gln Leu Ile Lys Lys Glu Lys Val Tyr Leu
 755 760 765

Ala Trp Val Pro Ala His Lys Gly Ile Gly Gly Asn Glu Gln Val Asp
 770 775 780
 Lys Leu Val Ser Ala Gly Ile Arg Lys Val Leu Ala Met Gly Gly Lys
 785 790 795 800
 Trp Ser Lys Ser Ser Val Val Gly Trp Pro Thr Val Arg Glu Arg Met
 805 810 815
 Arg Arg Ala Glu Pro Ala Ala Asp Gly Val Gly Ala Ala Ser Arg Asp
 820 825 830
 Leu Glu Lys His Gly Ala Ile Thr Ser Ser Asn Thr Ala Ala Thr Asn
 835 840 845
 Ala Ala Cys Ala Trp Leu Glu Ala Gln Glu Glu Glu Glu Val Gly Phe
 850 855 860
 Pro Val Thr Pro Gln Val Pro Leu Arg Pro Met Thr Tyr Lys Ala Ala
 865 870 875 880
 Val Asp Leu Ser His Phe Leu Lys Glu Lys Gly Gly Leu Glu Gly Leu
 885 890 895
 Ile His Ser Gln Arg Arg Gln Asp Ile Leu Asp Leu Trp Ile Tyr His
 900 905 910
 Thr Gln Gly Tyr Phe Pro Asp Trp Gln Asn Tyr Thr Pro Gly Pro Gly
 915 920 925
 Val Arg Tyr Pro Leu Thr Phe Gly Trp Cys Tyr Lys Leu Val Pro Val
 930 935 940
 Glu Pro Asp Lys Val Glu Glu Ala Asn Lys Gly Glu Asn Thr Ser Leu
 945 950 955 960
 Leu His Pro Val Ser Leu His Gly Met Asp Asp Pro Glu Arg Glu Val
 965 970 975
 Leu Glu Trp Arg Phe Asp Ser Arg Leu Ala Phe His His Val Ala Arg
 980 985 990
 Glu Leu His Pro Glu Tyr Phe Lys Asn Cys Arg Pro Met Gly Ala Arg
 995 1000 1005
 Ala Ser Val Leu Ser Gly Gly Glu Leu Asp Arg Trp Glu Lys Ile Arg
 1010 1015 1020
 Leu Arg Pro Gly Gly Lys Lys Lys Tyr Lys Leu Lys His Ile Val Trp
 1025 1030 1035 1040
 Ala Ser Arg Glu Leu Glu Arg Phe Ala Val Asn Pro Gly Leu Leu Glu
 1045 1050 1055
 Thr Ser Glu Gly Cys Arg Gln Ile Leu Gly Gln Leu Gln Pro Ser Leu
 1060 1065 1070
 Gln Thr Gly Ser Glu Glu Leu Arg Ser Leu Tyr Asn Thr Val Ala Thr
 1075 1080 1085
 Leu Tyr Cys Val His Gln Arg Ile Glu Ile Lys Asp Thr Lys Glu Ala
 1090 1095 1100
 Leu Asp Lys Ile Glu Glu Glu Gln Asn Lys Ser Lys Lys Lys Ala Gln
 1105 1110 1115 1120

Gln Ala Ala Ala Asp Thr Gly His Ser Asn Gln Val Ser Gln Asn Tyr
1125 1130 1135

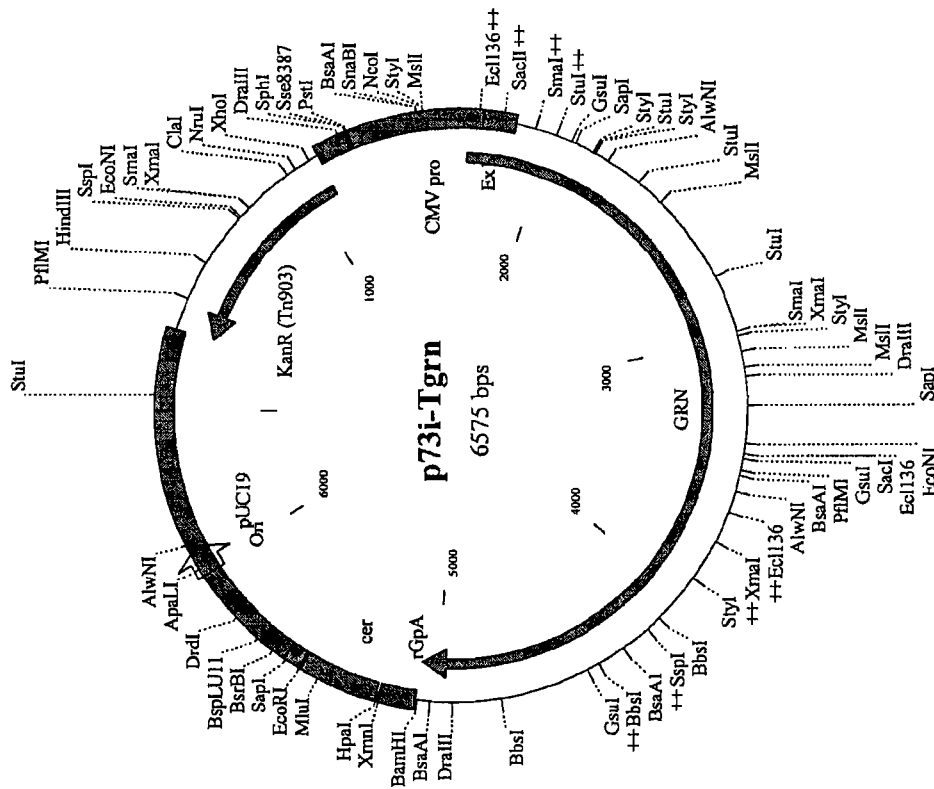
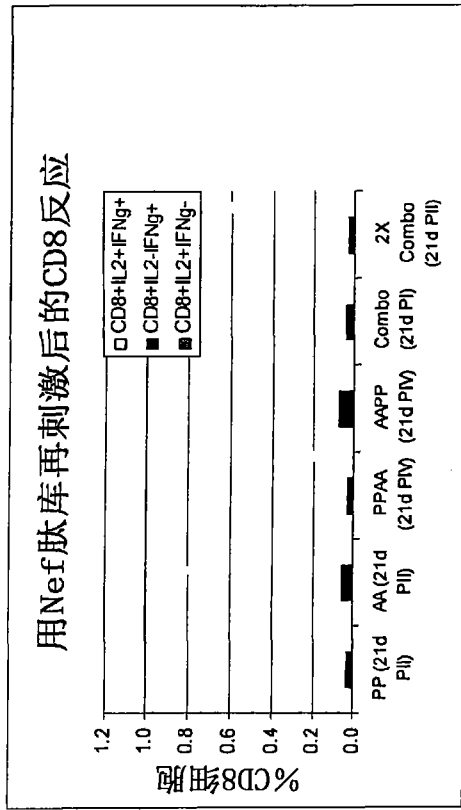
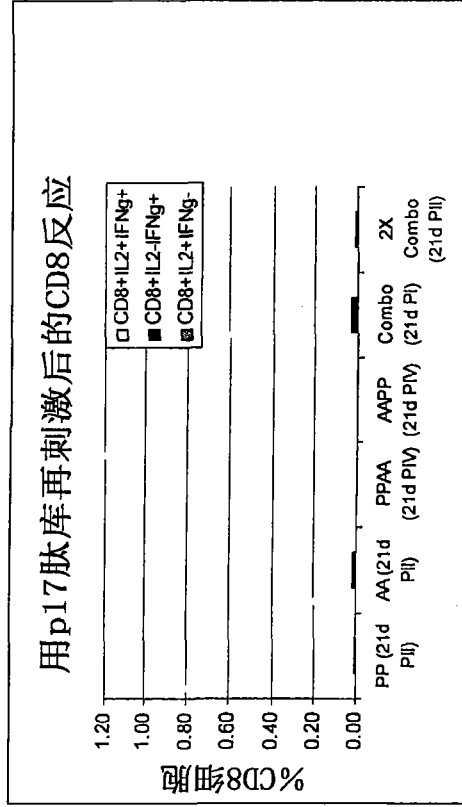


图1

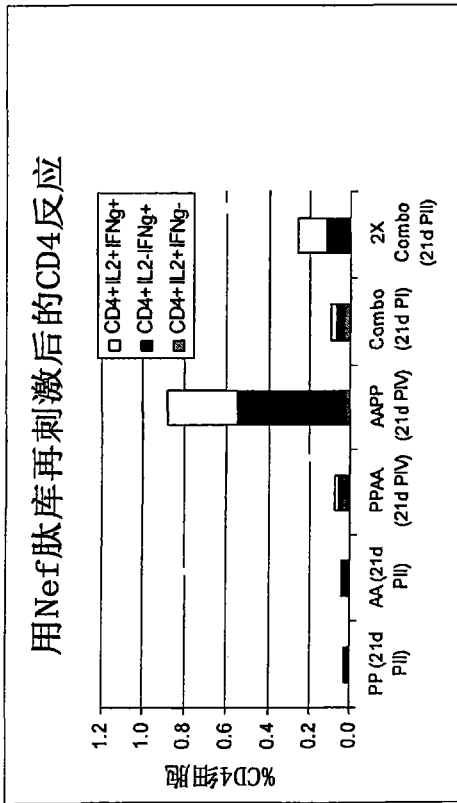
CD8反应



用p17肽库再刺激后的CD8反应



CD4反应



用p17肽库再刺激后的CD4反应

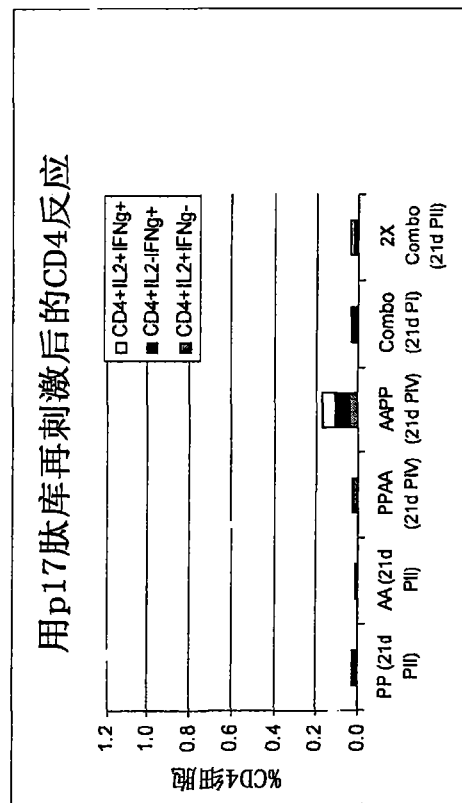
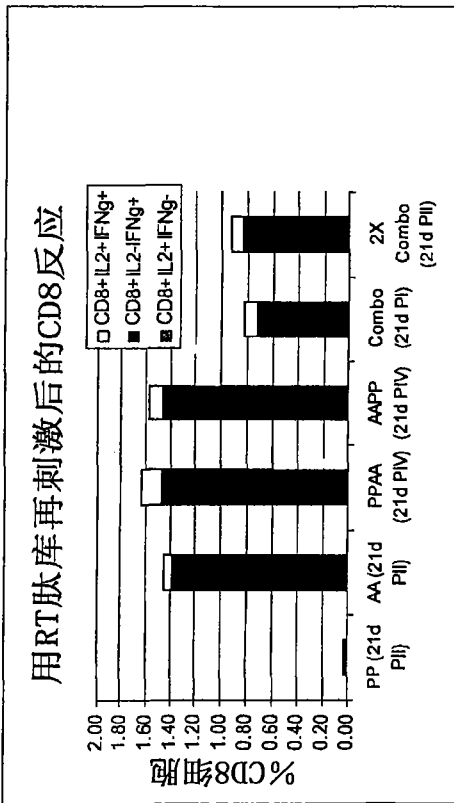
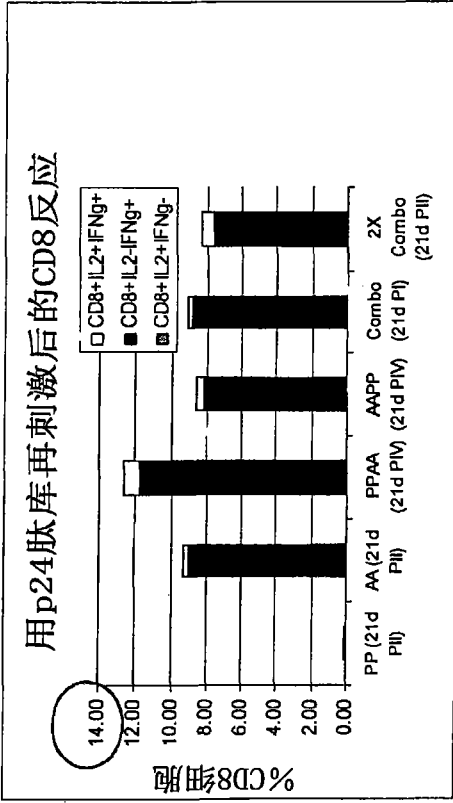


图2a

CD8反应



CD4反应

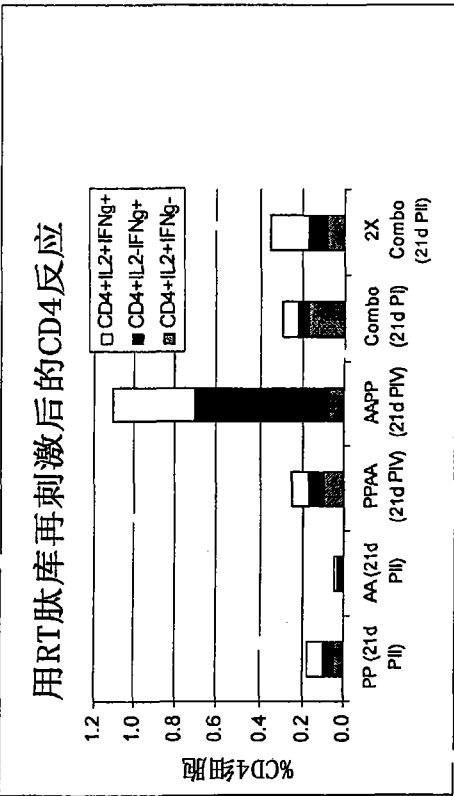
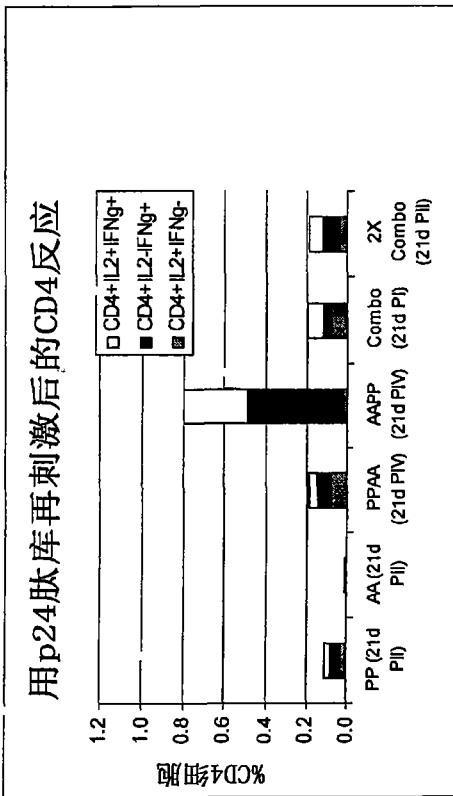


图2b

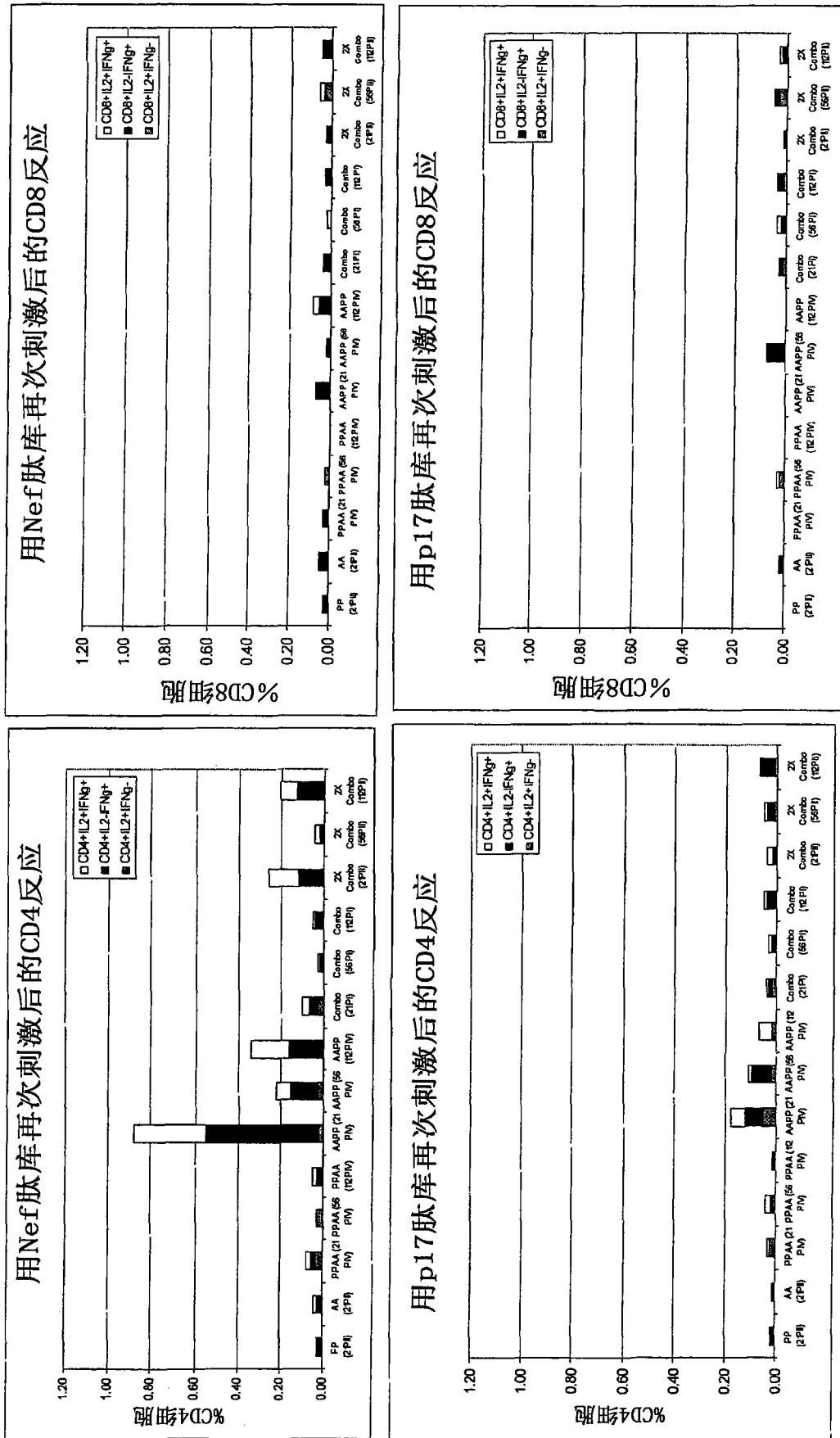


图3a

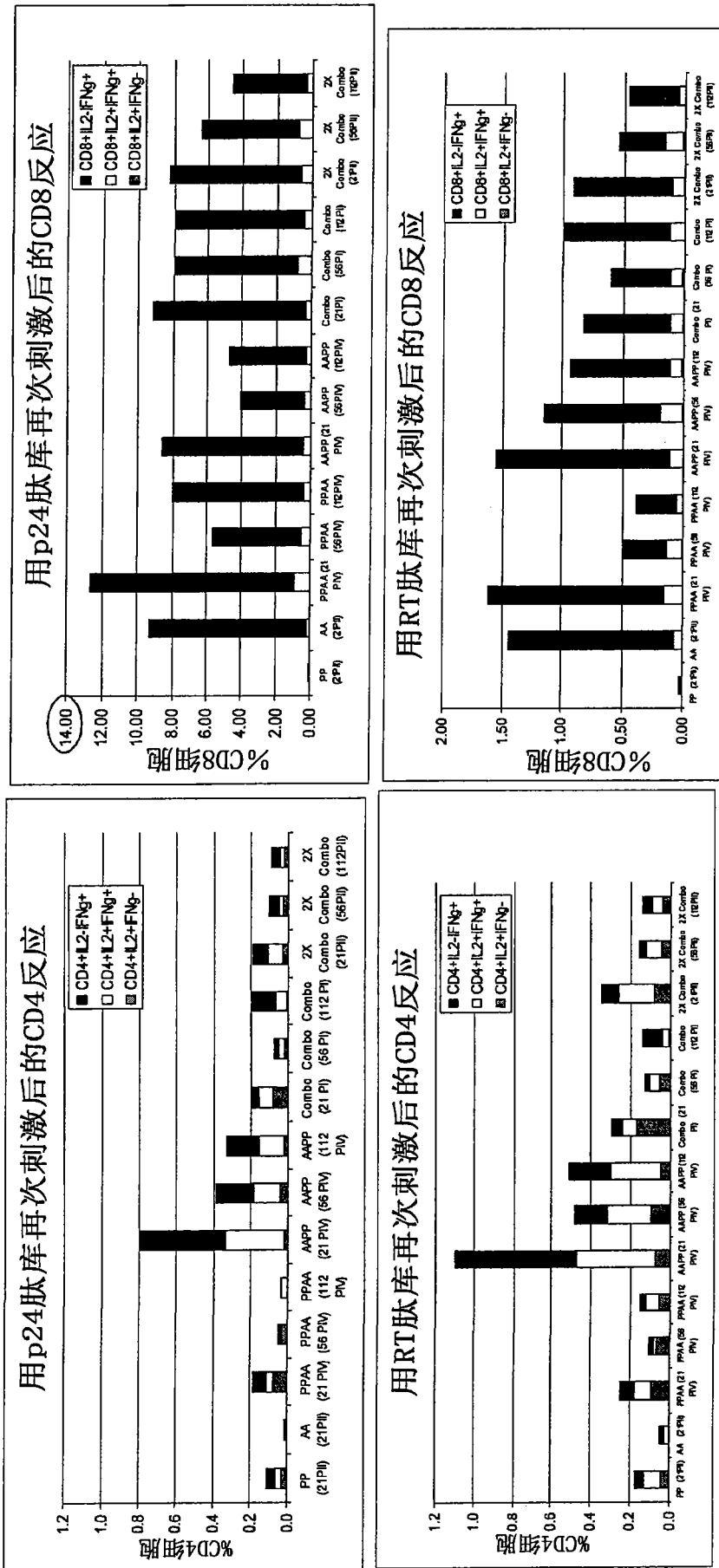


图3b

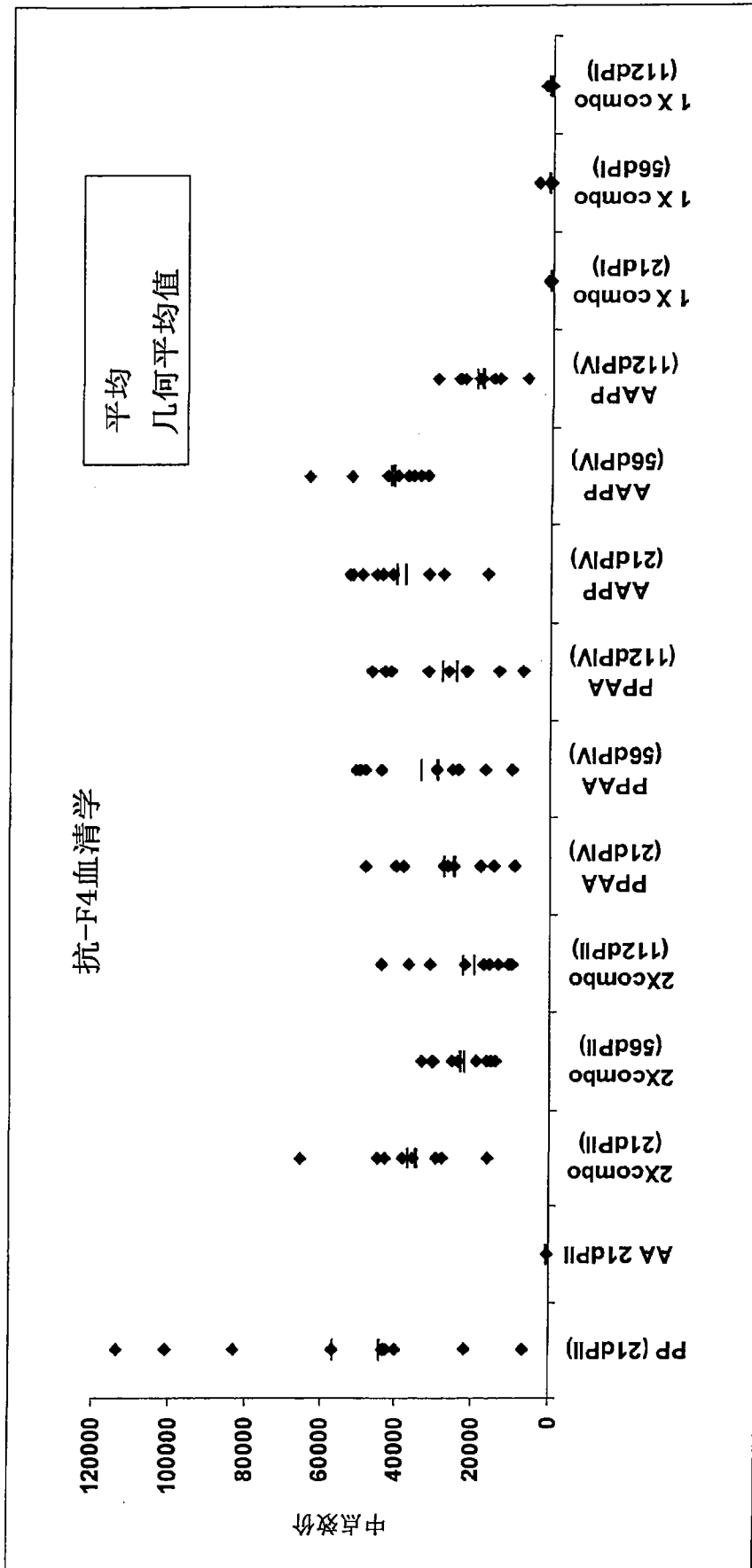


图4

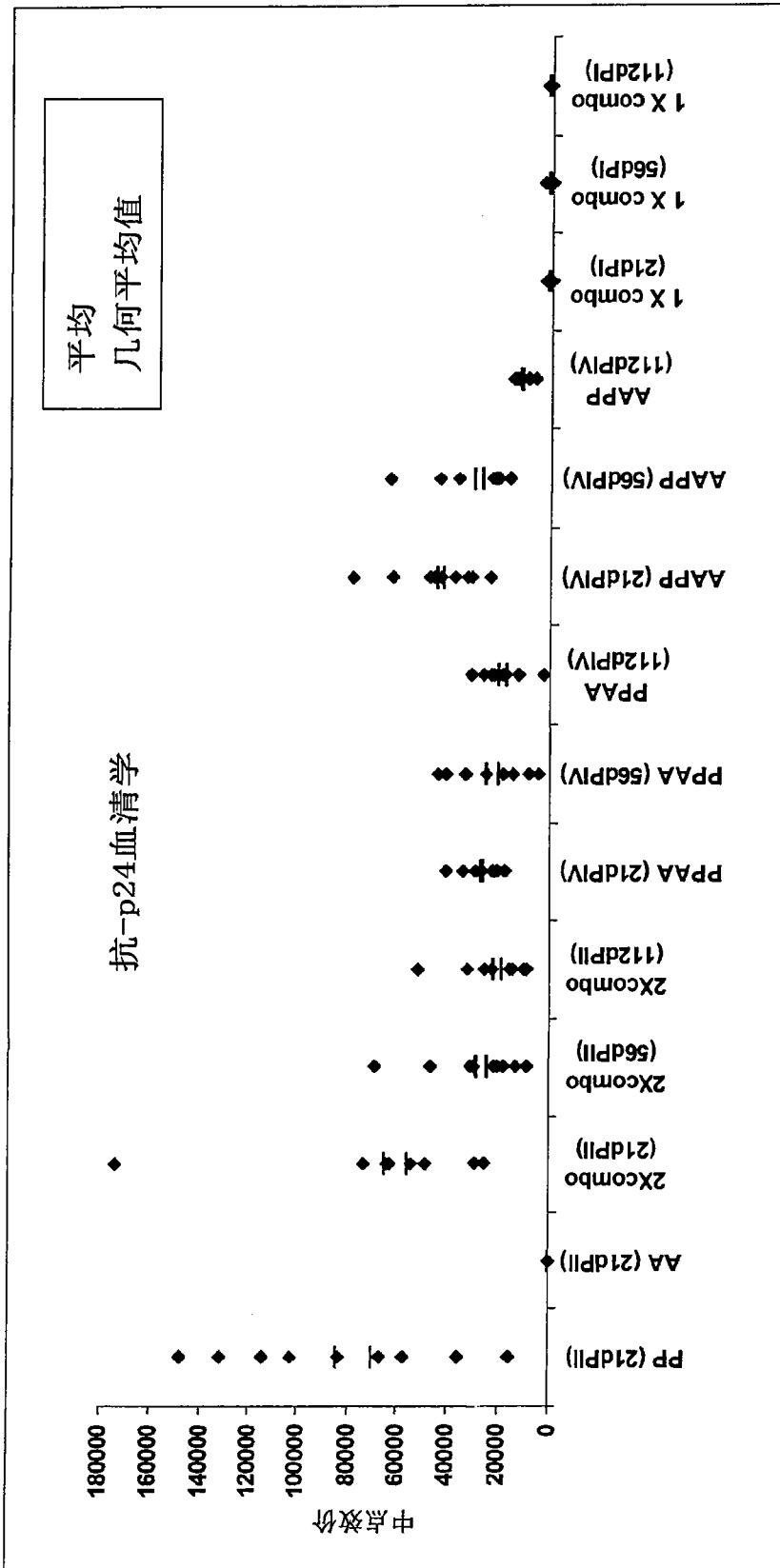


图15

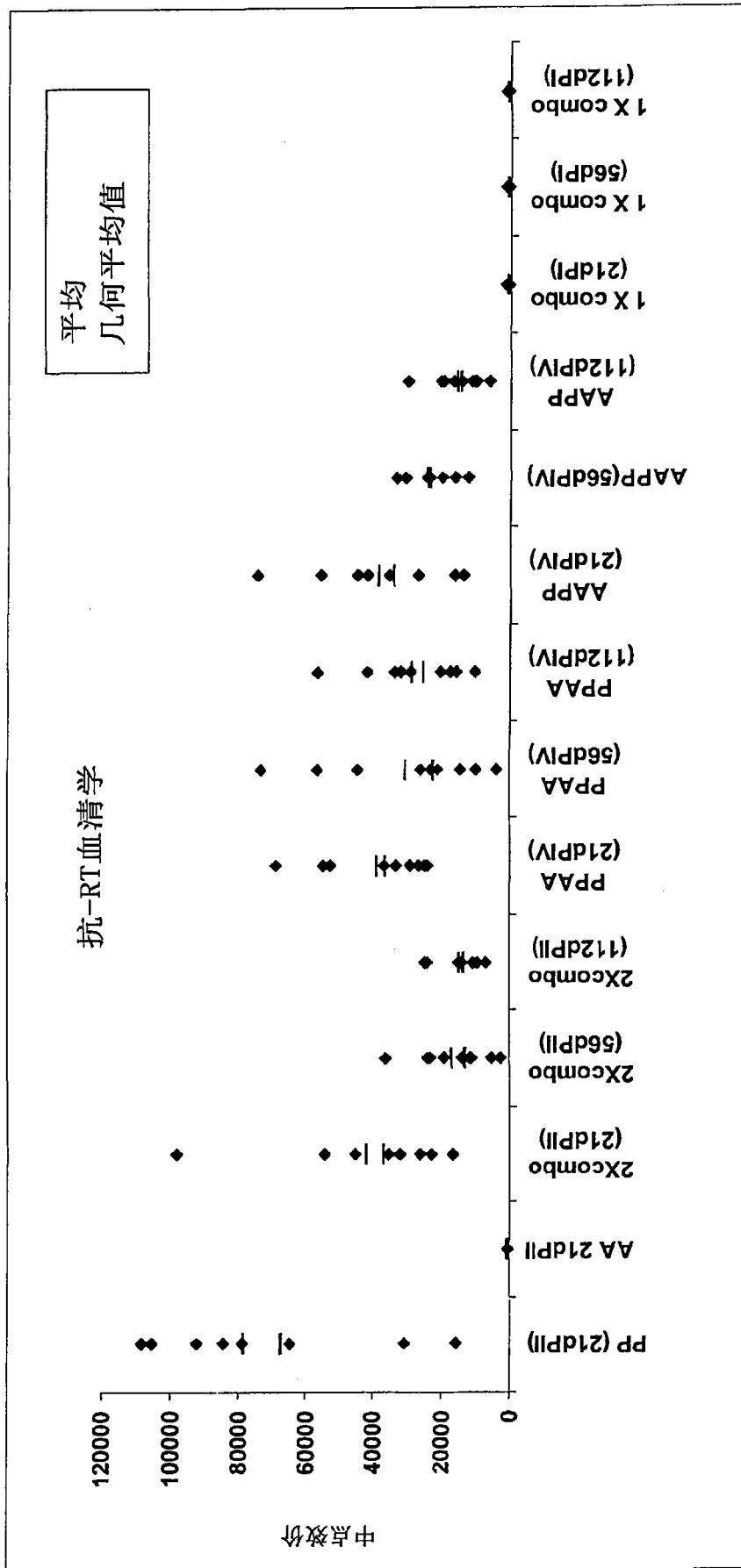


图6

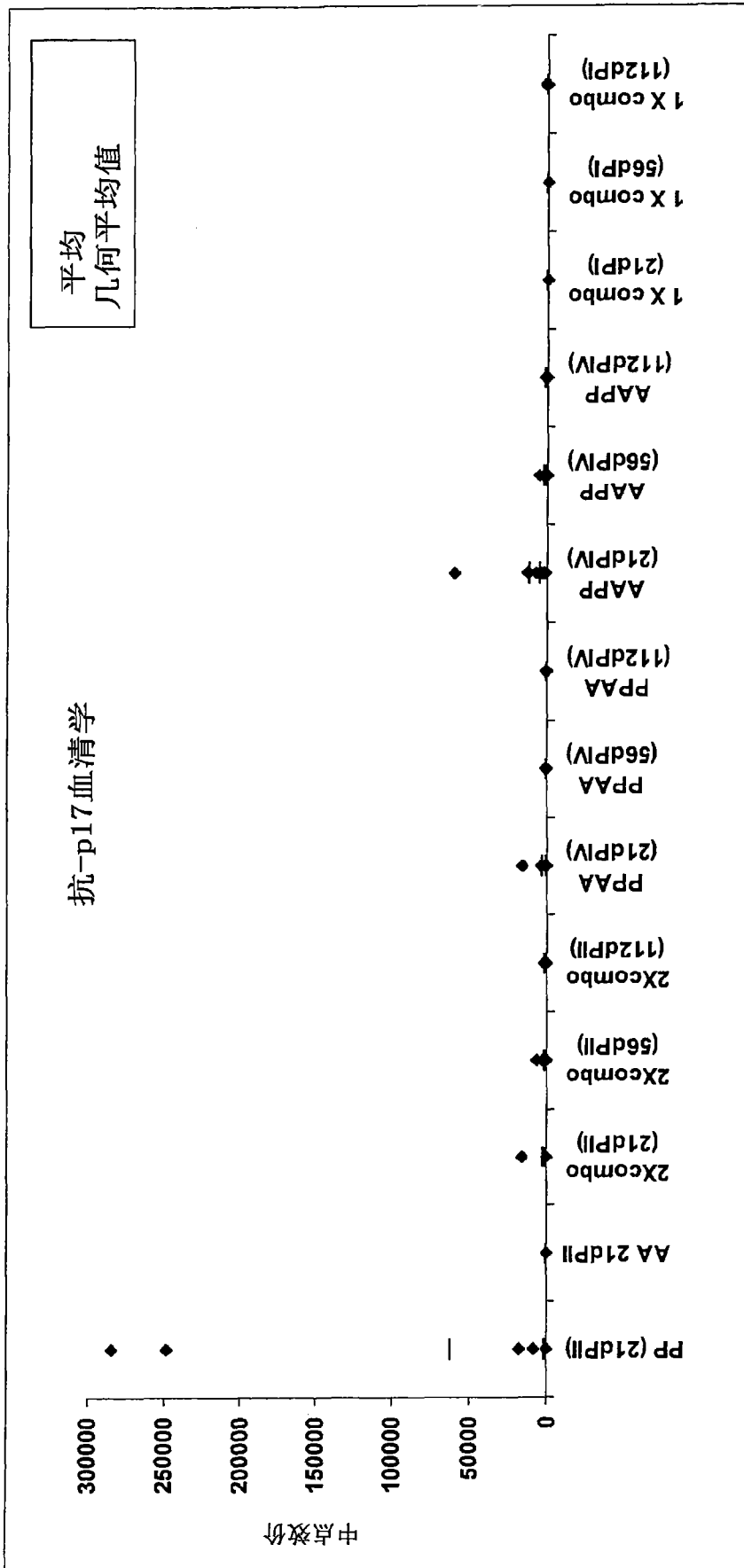


图1

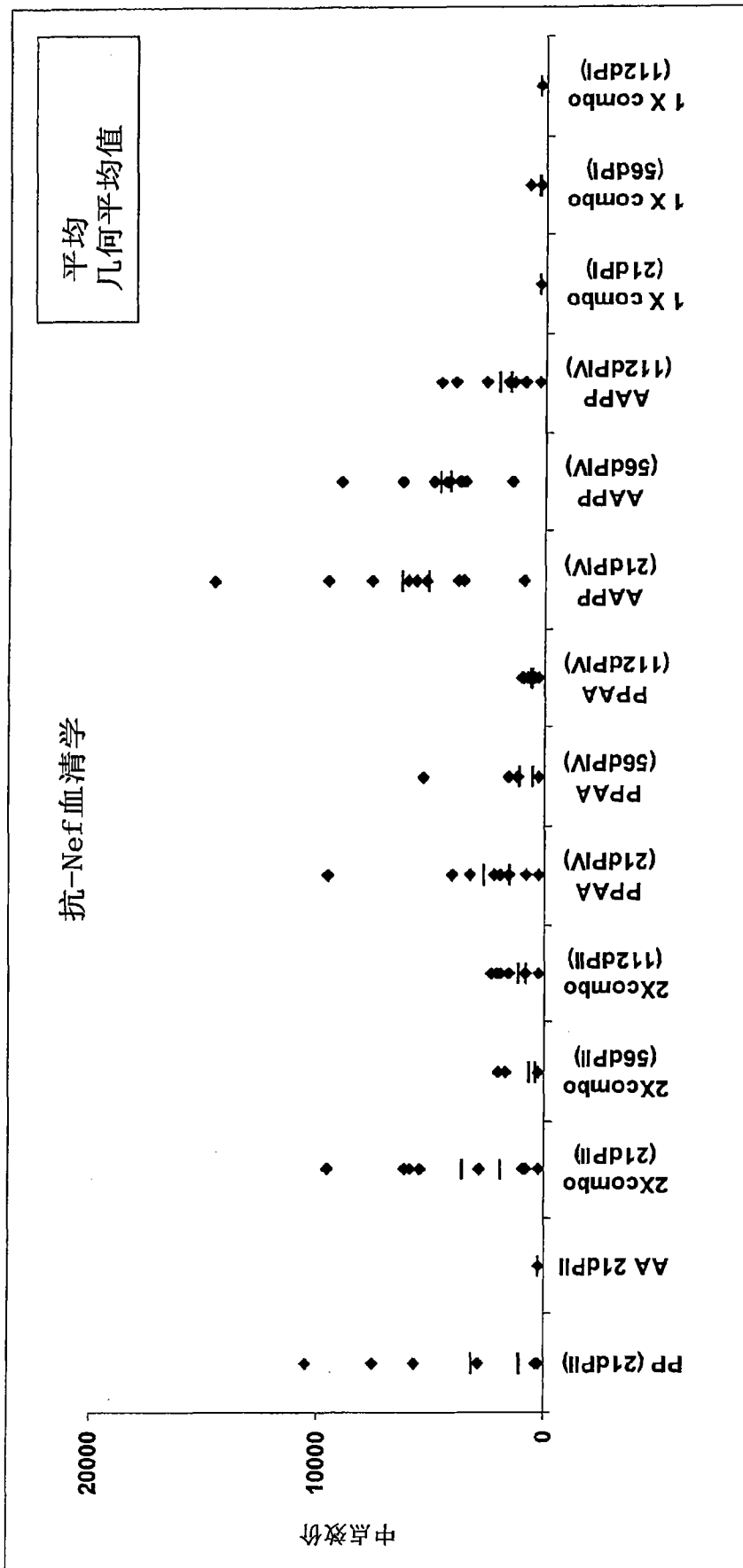


图 8

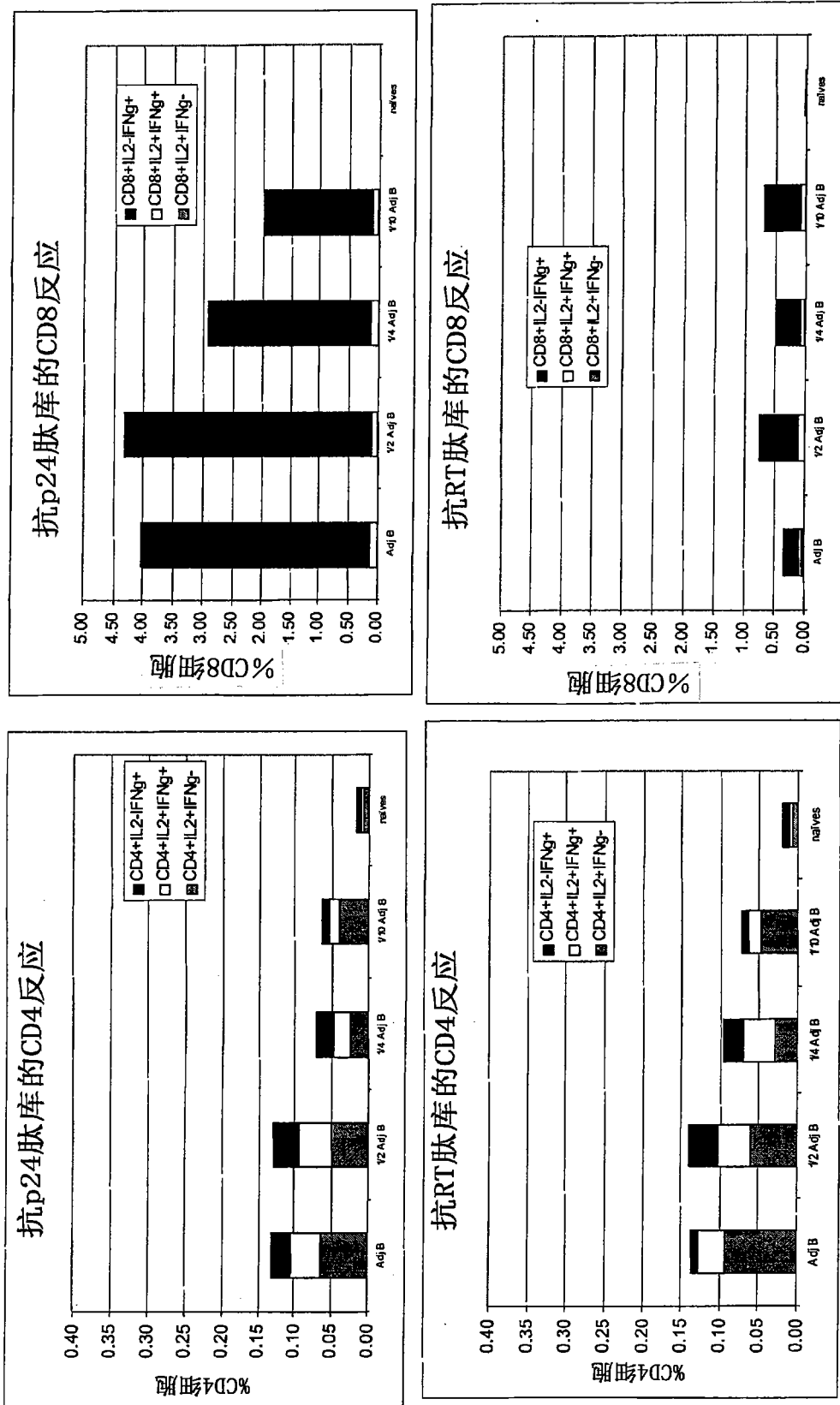


图9

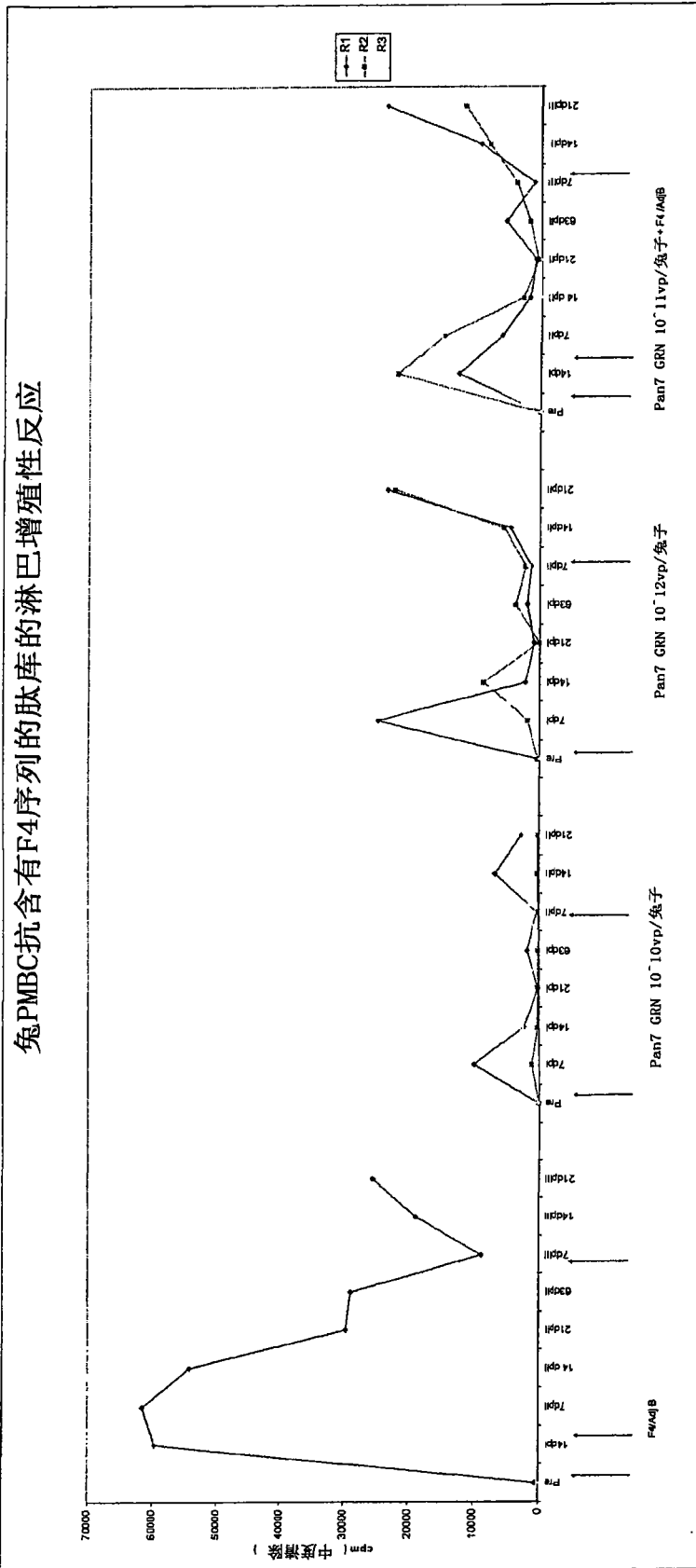


图10

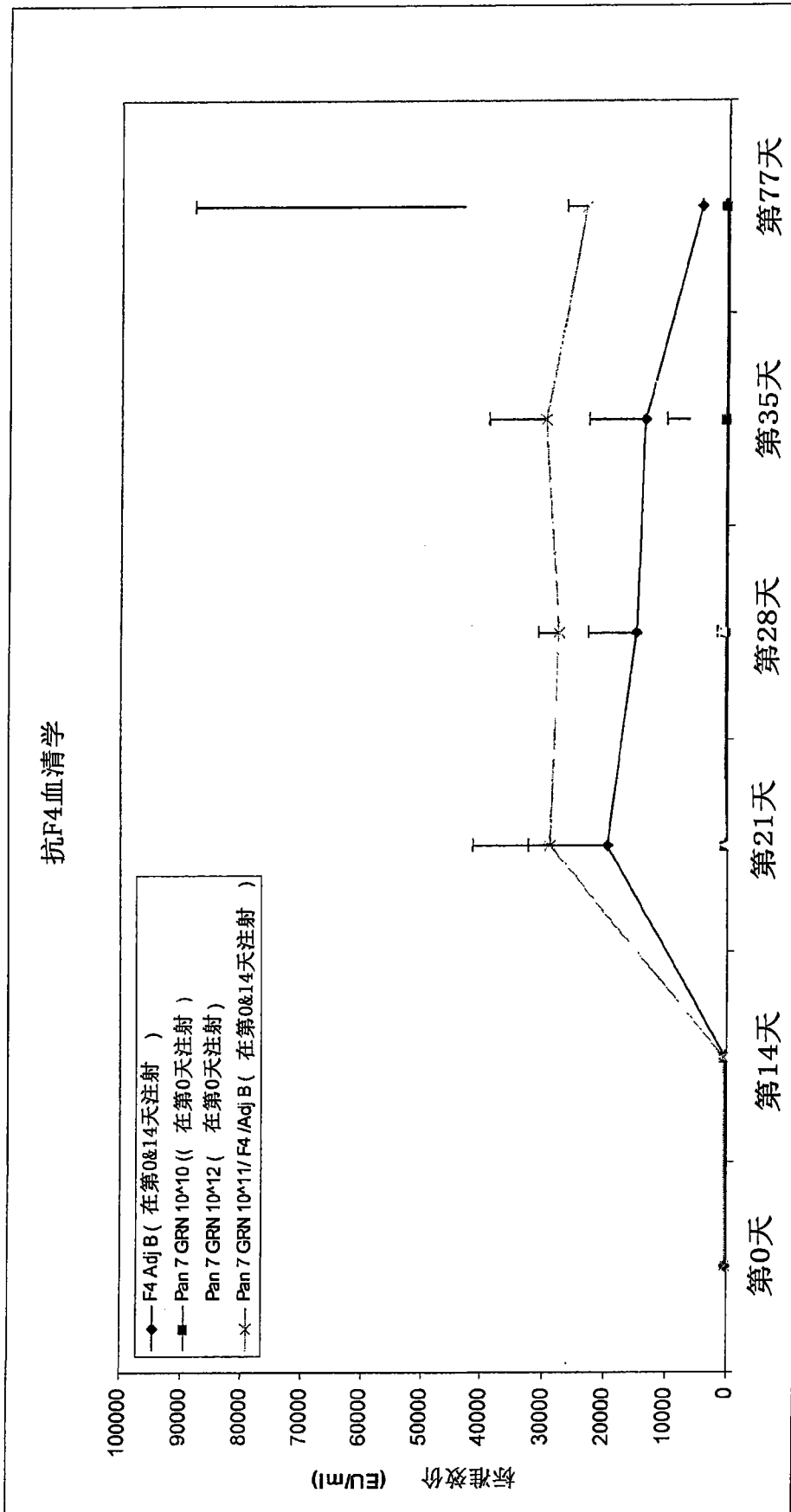


图11

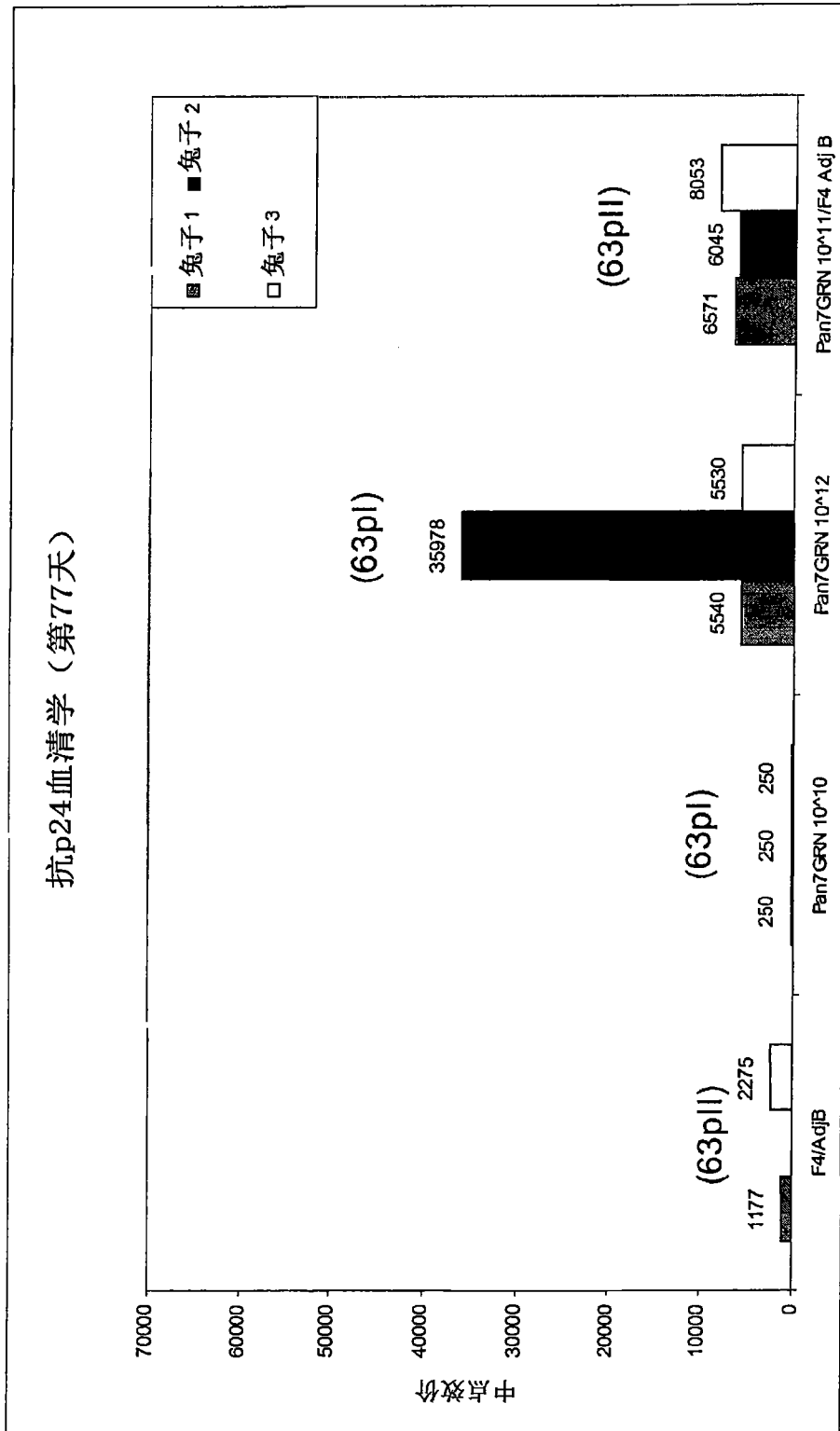


图12a

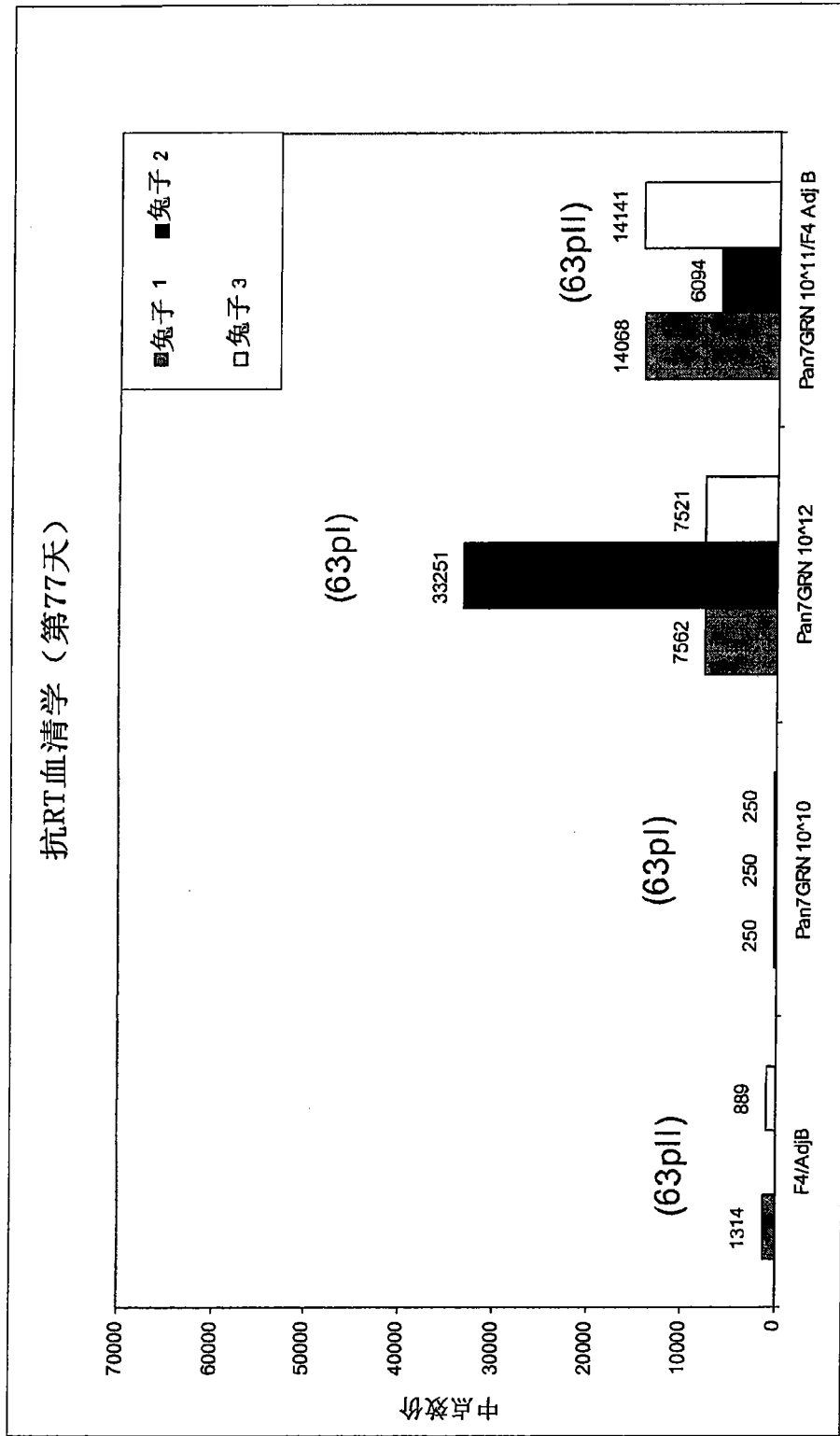


图12b

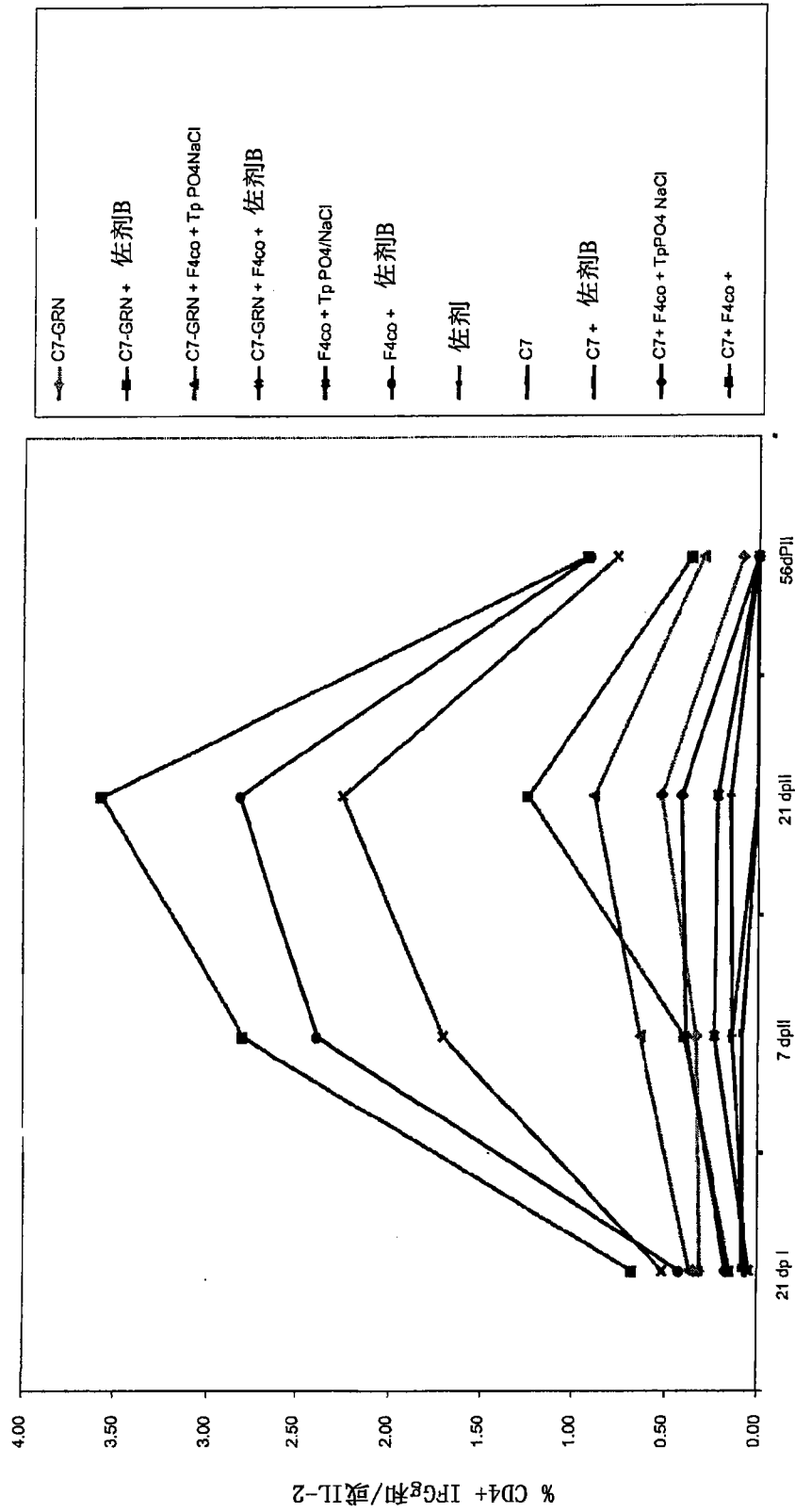


图13

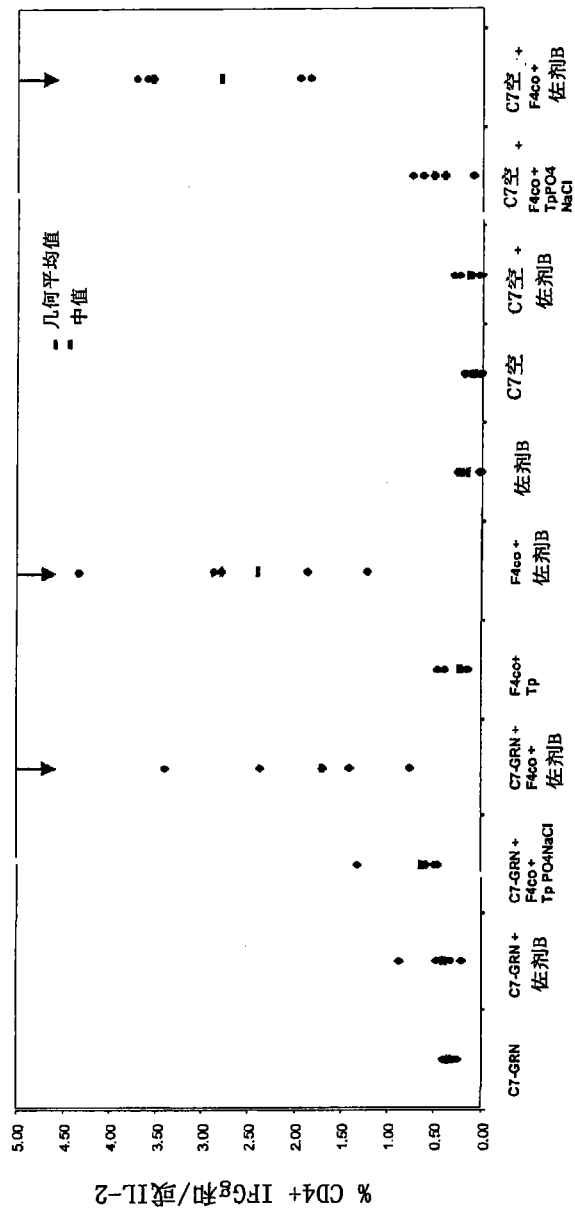


图14

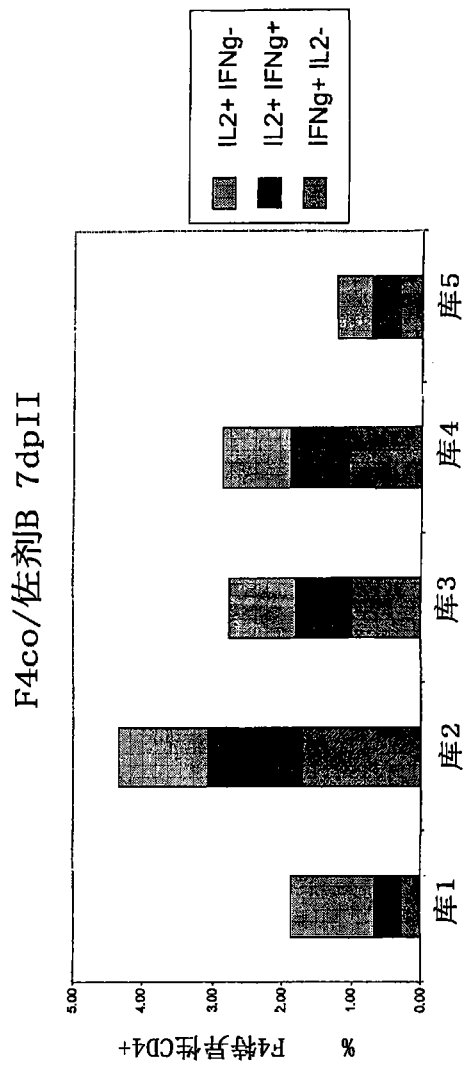


图15A

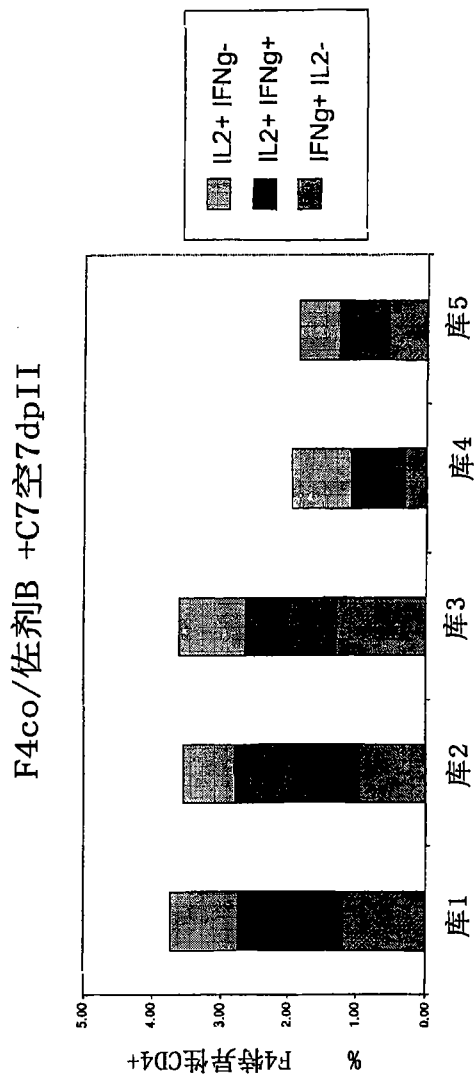


图15B

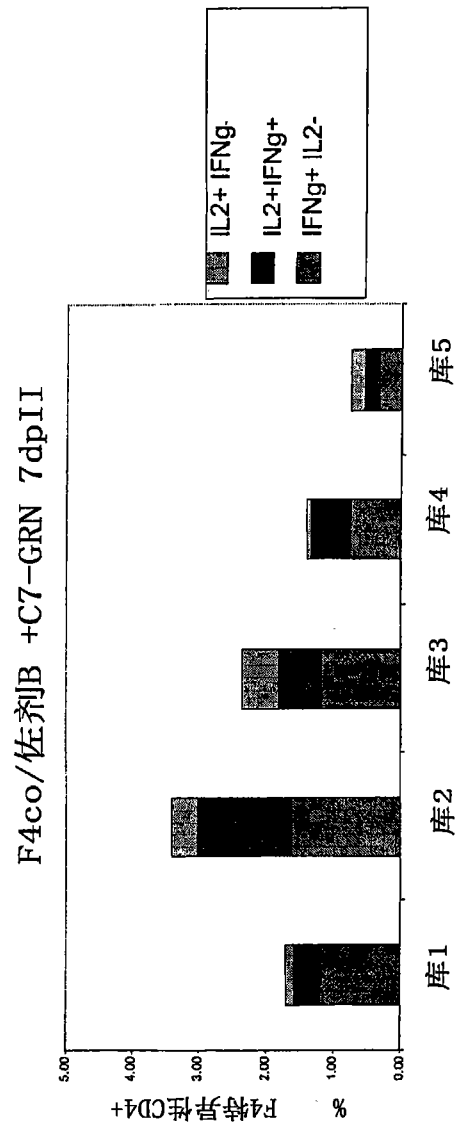


图15C

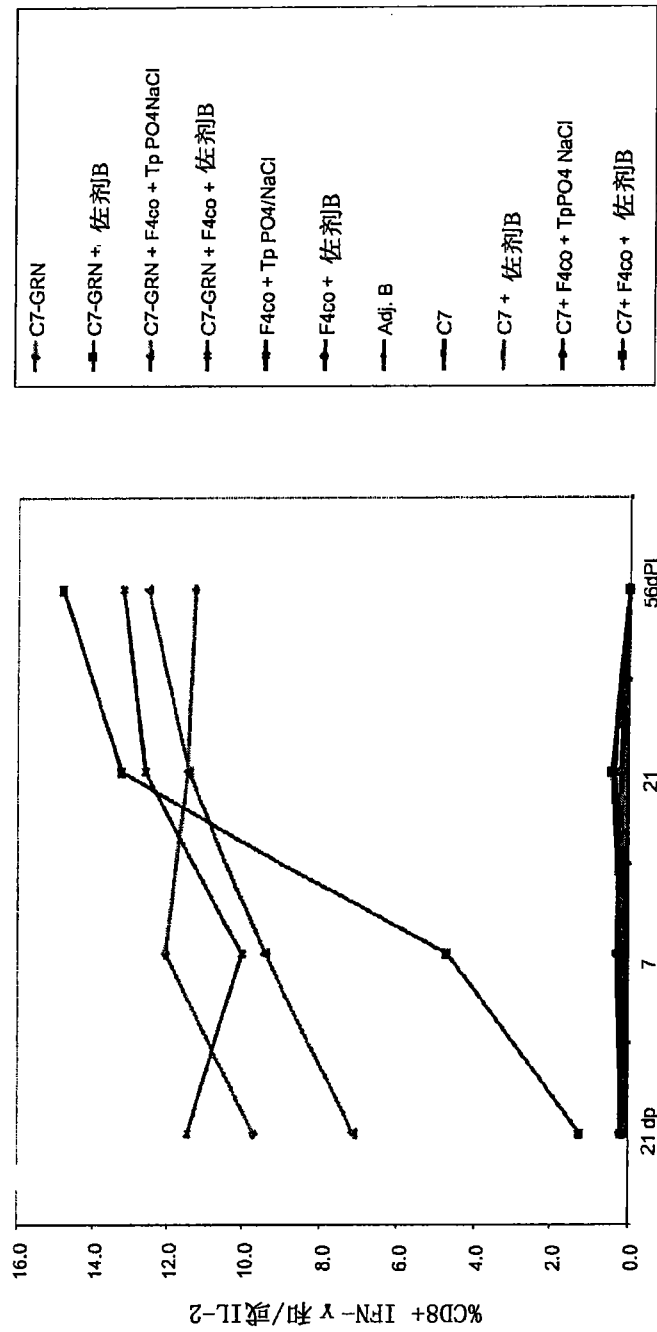


图16

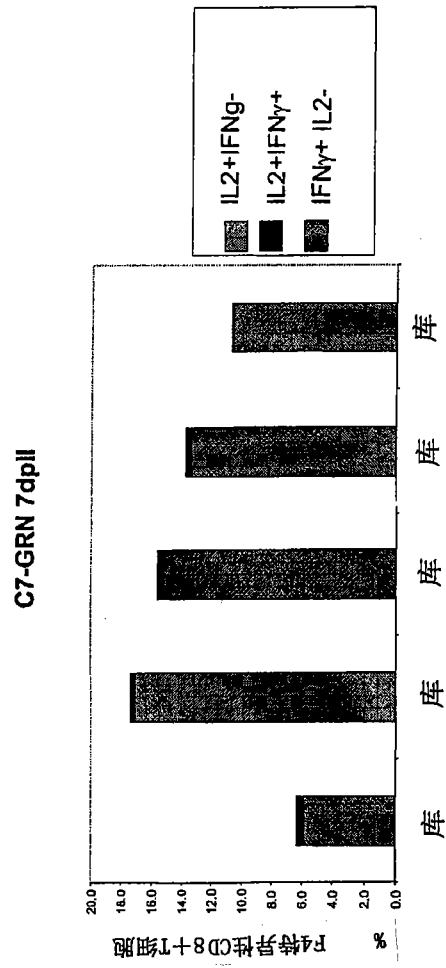


图17A

C7-GRN/ 佐剂 B 7dpi

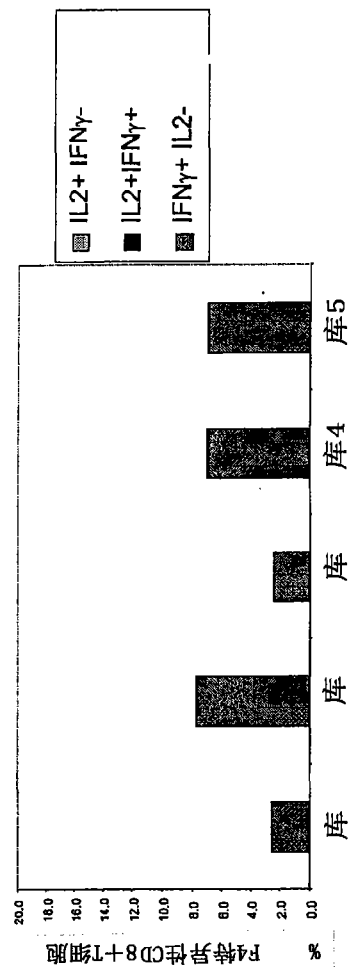


图17B

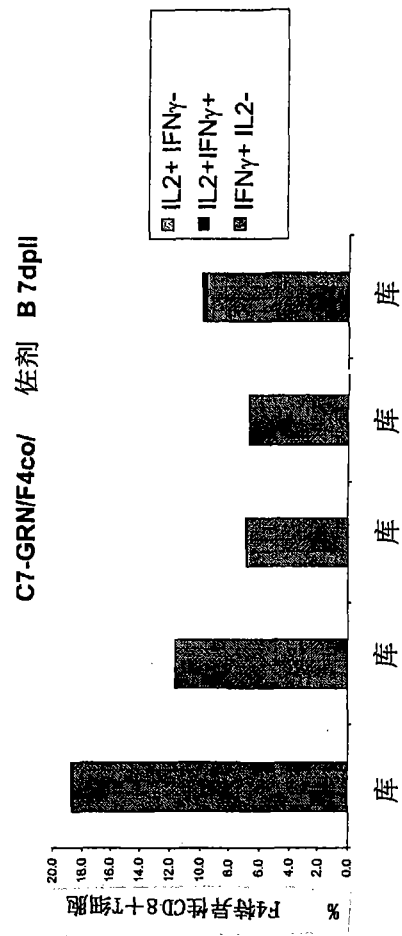


图17C

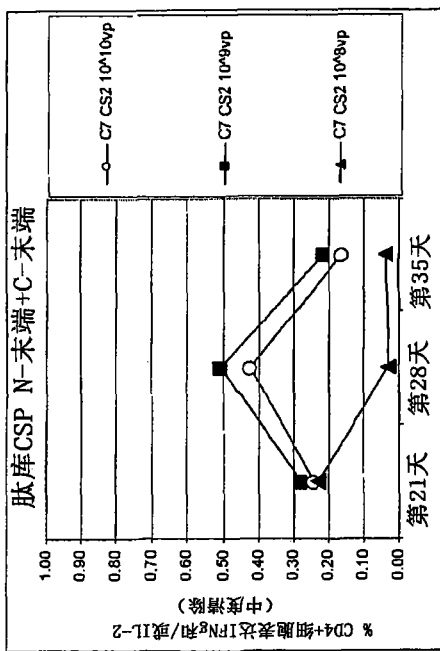


图18

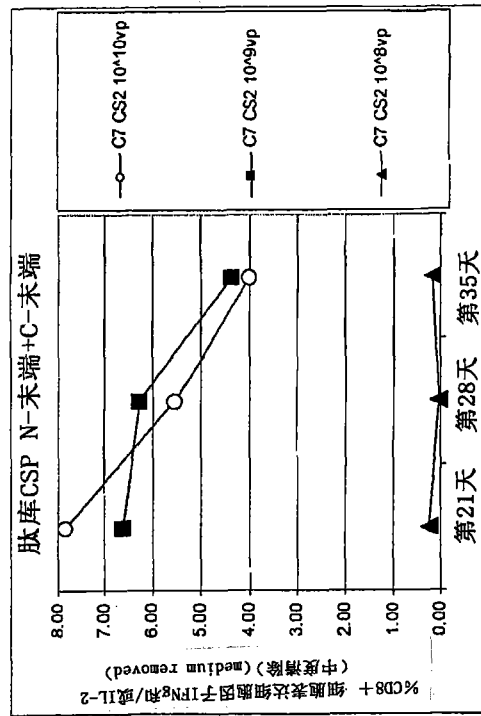


图19

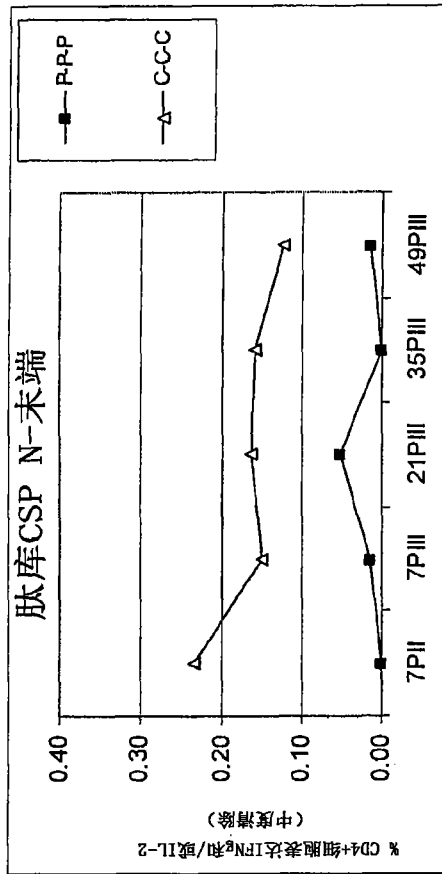


图20

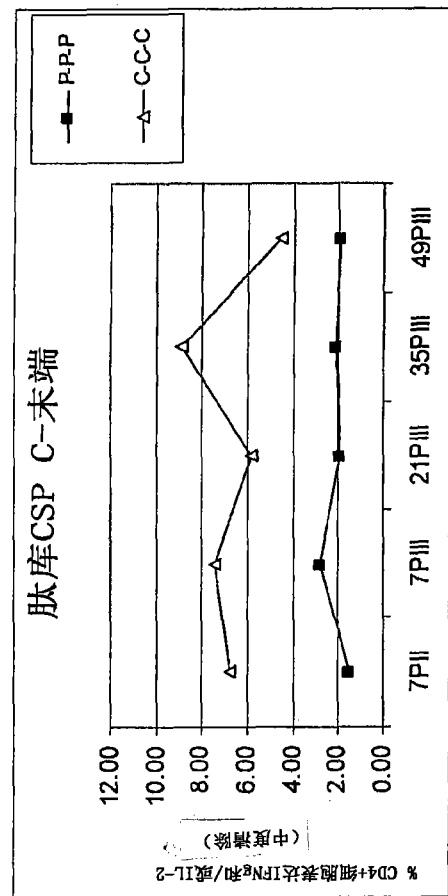


图21

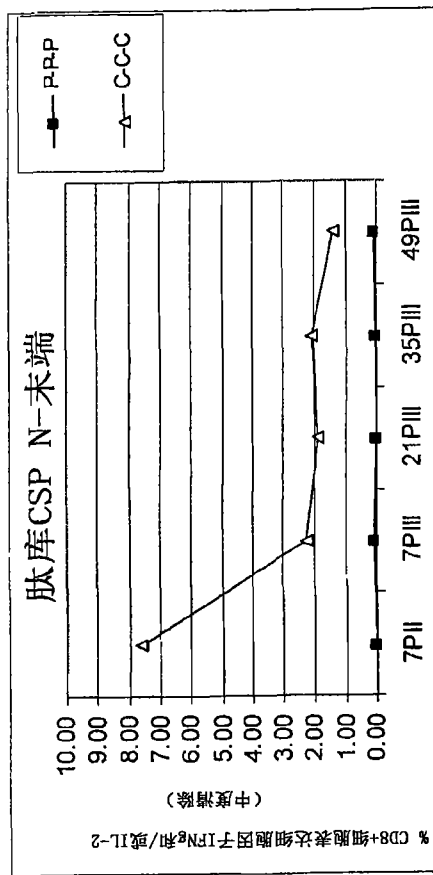


图22

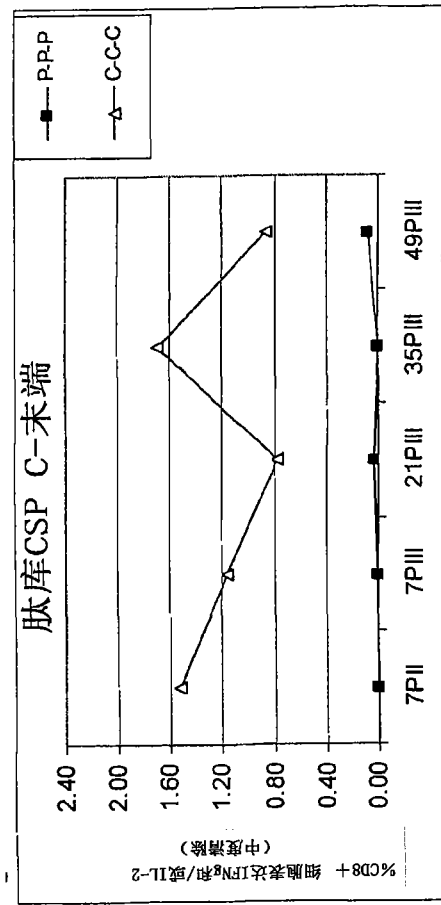


图23

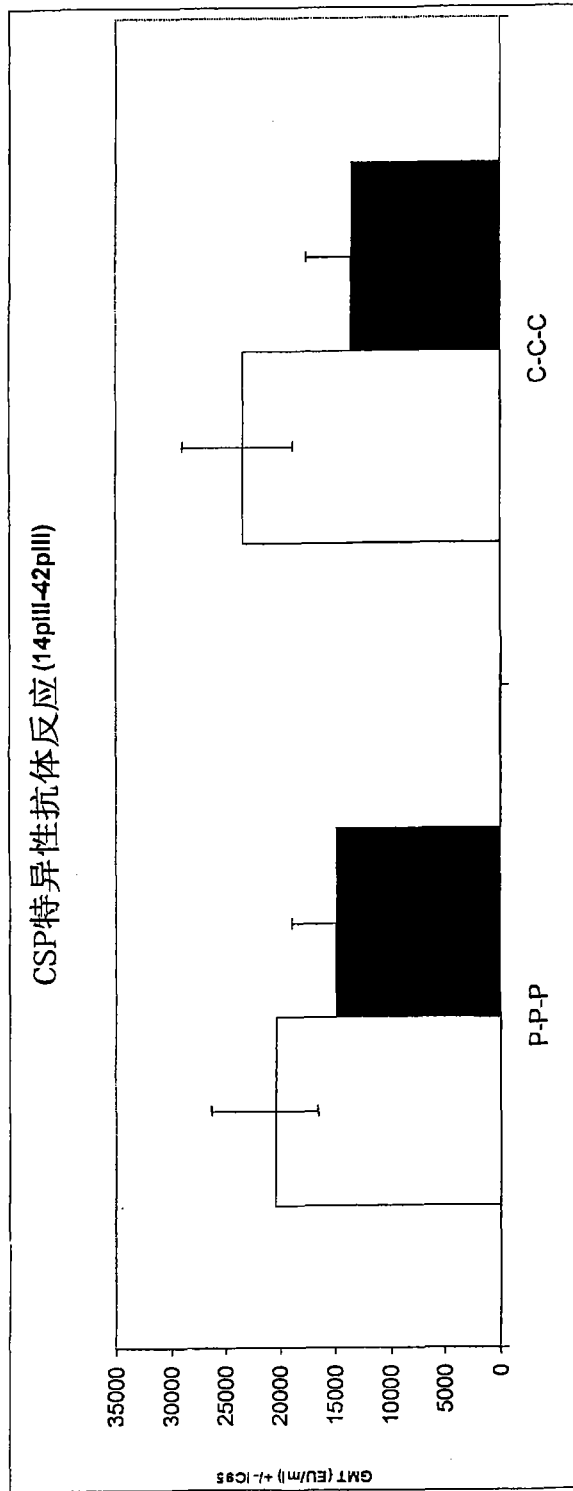


图24