

Description

L'invention est relative à une nouvelle classe de virus, ayant la capacité de provoquer des lymphadénopathies susceptibles d'être relayées ensuite par le syndrome d'immuno-déficience acquise (SIDA) chez l'homme. L'invention concerne également des antigènes susceptibles d'être reconnus par des anticorps induits chez l'homme par cette nouvelle classe de virus. Elle concerne également les anticorps induits par des antigènes obtenus à partir de ces virus.

Cette invention concerne, en outre, des séquences d'ADN cloné soit présentant une analogie de séquence, soit une complémentarité avec l'ARN génomique du virus précité. Elle concerne aussi des procédés de préparation de ces séquences d'ADN cloné.

L'invention est également relative à des polypeptides contenant des séquences d'acides aminés codées par les séquences d'ADN cloné.

De plus, l'invention concerne des applications de ces antigènes au diagnostic in vitro chez l'homme de potentialités de certaines formes du SIDA et, en ce qui concerne certains d'entre eux, à la production de compositions immunogènes et de compositions vaccinales contre ce rétrovirus. De même l'invention concerne les applications aux mêmes fins des susdits anticorps et, pour certains d'entre eux, leur application à la production de principes actifs de médicaments contre ces SIDA humains.

L'invention concerne enfin l'application des séquences d'ADN cloné comme sondes dans des kits de diagnostic.

L'isolement et la caractérisation d'un premier rétrovirus, dénommé LAV, dont avait été reconnue la responsabilité dans le développement du SIDA, a fait l'objet d'une description dans un article de F. BARRE-SINOSSI et al. dès 1983 (Science, vol. 220, n° 45-99, 20, p. 868-871. L'application au diagnostic de la présence d'anticorps contre le virus de certains extraits de ce dernier, et plus particulièrement de certaines de ses protéines, a été plus spécialement décrite dans la demande de brevet européen n° 138.667. Depuis, d'autres souches similaires et des variants du LAV ont été isolés. On rappellera pour mémoire ceux connus sous les désignations HTLV-III et ARV.

En application des nouvelles règles de nomenclature publiées dans Nature, en mai 1986, les rétrovirus susceptibles d'induire chez l'homme les susdites lymphadénopathies et le SIDA, seront désignés globalement par « HIV », abréviation de l'expression anglaise « Human immunodeficiency Virus » (ou virus d'immunodéficience humaine). Le sous-ensemble des rétrovirus formés par LAV et de ces variants a initialement été désigné par les expressions « LAV type I » ou « LAV-I ». Le même sous-ensemble sera désigné ci-après par la désignation HIV-1, étant entendu que l'expression LAV sera encore conservée pour désigner celle parmi les souches de rétrovirus (notamment LAAV, IDAV-1 et IDAV-2) appartenant à la classe des virus HIV-1 décrite dans la susdite demande de brevet européen 138.667, qui a été utilisée dans les essais comparatifs décrits plus loin, à savoir LAV_{BRU}, qui a été déposée à la Collection des Cultures Nationales de Microorganismes (CNCM) de l'Institut Pasteur de Paris, France, le 15 juillet 1983, sous le n° I-232.

Le nouveau rétrovirus faisant l'objet du présent brevet et les souches de virus qui en sont proches et qui, comme lui sont susceptibles de se multiplier dans des lymphocytes humains, antérieurement appelées « LAV type II » ou « LAV II » sont désormais appelées « HIV-2 », étant entendu que les désignations de certains isolats de HIV-2 décrits plus loin seront suivies des trois lettres faisant référence aux malades à partir desquels ils ont été isolés.

On peut définir l'ensemble « HIV-2 » comme un ensemble de virus ayant in vitro un tropisme pour des lymphocytes T4 humains, et qui ont un effet cytopathogène à l'égard de ces lymphocytes, lorsqu'ils s'y multiplient, pour alors causer soit des poly-adénopathies généralisées et persistantes, soit un SIDA. Les rétrovirus HIV-2 se sont révélés distincts des virus de type HIV-1 dans les conditions évoquées plus loin. Comme ces derniers, ils sont distincts des autres rétrovirus humains déjà connus (HTLV-I et HTLV-II).

Bien qu'il y ait une assez grande variabilité génétique du virus, les différentes souches HIV-1 isolées à ce jour, à partir des malades américains, européens, haïtiens et africains ont en commun des sites antigéniques conservés sur leurs principales protéines : protéine du noyau (core) p25 et glycoprotéine d'enveloppe gp110 et protéine transmembranaire gp41-43. Cette parenté permet par exemple à la souche prototype LAV d'être utilisée comme souche d'antigènes pour la détection d'anticorps contre tous les virus de la classe HIV-1, chez toutes les personnes qui les portent, quelle que soit leur origine. Cette souche est donc utilisée actuellement pour la détection d'anticorps anti-HIV-1 chez les donneurs de sang et les malades par les techniques d'immunofluorescence, notamment par les techniques dites ELISA, « Western Blot » (ou immuno-empreintes) et « RIPA » abréviation anglaise de « Radio Immunoprecipitation Assay » (test de radio-immunoprécipitation).

Cependant dans une étude sérologique effectuée avec un lysat de HIV-1 sur des malades originaires de l'Afrique de l'Ouest, il a été observé que certains d'entre eux donnaient des réactions séro-négatives ou très faiblement positives, alors qu'ils présentaient les signes cliniques et immunologiques du SIDA.

C'est à partir des lymphocytes mis en culture de l'un de ces malades, que l'on a isolé un premier rétrovirus HIV-2, dont la structure en microscopie électronique et le profil des protéines en gel d'électrophorèse SDS ont une similitude avec ceux de HIV-1. Mais ce nouveau rétrovirus HIV-2 ne présente globalement qu'une faible parenté avec HIV-1, tant du point de vue de l'homologie antigénique

de ses protéines que de l'homologie de son matériel génétique.

Ce nouveau rétrovirus ou des rétrovirus ayant des propriétés antigéniques et immunologiques équivalentes, peuvent donc constituer des sources d'antigènes pour le diagnostic de l'infection par ce virus et des variants qui induisent un SIDA, du type de celui que l'on avait observé pour les premières fois chez des malades africains ou des personnes ayant séjourné en Afrique.

Le premier isolement de ce virus a été réalisé à partir du sang, prélevé sous héparine, d'un malade de 28 ans, hétérosexuel, qui n'avait jamais été transfusé et qui n'était pas toxicomane. Il présentait depuis 1983 une importante diarrhée chronique, un amaigrissement important (17 kg) avec de la fièvre par intermittence. Plus récemment il avait présenté des infections à *Candida* et *Serratia*, dont une candidose œsophagienne, typique du SIDA.

Ce patient présentait également une anémie, une anergie cutanée, une lymphopénie, un rapport lymphocytes T4/lymphocytes T8 de 0,15, avec un taux en lymphocytes T4 inférieur à 100 par mm³ de sérum. Ses lymphocytes en culture ne répondaient pas à la stimulation par la phytohémoagglutinine et la concanavaline A. On a également diagnostiqué chez ce malade des bactériémies récurrentes dues à *S. enteritidis*, des cryptosporidioses, des infections dues à *Isospora belli* et des toxoplasmoses cérébrales.

L'ensemble de ces signes témoignait des symptômes « complexes liés au SIDA » ou « ARC » (abréviation anglaise de « AIDS Related Complex »), du type de ceux causés par le virus HIV-1. Ces différentes observations étaient également conformes aux critères appliqués par le Centre de Contrôle des Maladies (Center of Disease Control ou CDC) d'Atlanta, Etats-Unis.

La mise en culture des lymphocytes de ces malades et l'isolement du rétrovirus ont été effectués selon la technique déjà décrite pour l'isolement du HIV-1 (1) dans l'article de BARRE-SINOSSI et Coll. et la demande de brevet européen n° 84 401834/0 138 667. On les rappelle brièvement ci-après. Des lymphocytes stimulés pendant 3 jours par de la phytohémoagglutinine (PHA) ont été cultivés en milieu de culture RPMI-16-40 additionné de 10 % de sérum de veau fœtal et de 10⁻⁵ M β -mercaptoéthanol, d'interleukine-2 et de sérum anti-interféron α humain.

La production de virus a été suivie par son activité transcriptase inverse. Dans le surnageant de culture, le pic d'activité virale est apparu entre le 14^e et le 22^e jour, puis a diminué. Le déclin et la mort de la culture cellulaire ont suivi. Comme avec le HIV-1, des coupes de lymphocytes infectés par HIV-2 révèlent en microscopie électronique des virions parvenus à maturité et des particules virales bourgeonnant à la surface des cellules infectées. Les lignées cellulaires utilisées pour réaliser les cultures de ces virus isolés peuvent être selon les cas, les lignées cellulaires du type HUT, CEM, MOLT ou de toute lignée lymphocytaire immortalisée portant des récepteurs T4.

Le virus a ensuite été propagé sur des cultures de lymphocytes de donneurs de sang, puis sur des lignées continues d'origine leucémique, telles que HUT 78. Il a été caractérisé comme étant sensiblement distinct du HIV-1 par ses antigènes et son acide nucléique. Le virus a été purifié comme décrit dans les documents antérieurs déjà mentionnés. Un premier isolat de ce virus a été déposé à la CNCM le 19 décembre 1985, sous le n° I-502. Il a été désigné postérieurement sous le nom LAV-II MIR. Un second isolat a été déposé à la CNCM le 21 février 1986 sous le n° I-532. Ce second isolat a pour nom de référence LAV-II ROD. Il sera quelquefois fait simplement référence plus loin, à MIR ou à ROD.

D'une façon générale l'invention concerne tout variant des virus précédents ou tout virus équivalent (par exemple tel que HIV-2 IRMO et HIV-2 EHO déposés à la CNCM le 19 décembre 1986 sous les numéros I-642 et I-643 respectivement) contenant des protéines de structure qui présentent les mêmes propriétés immunologiques que celles des virus HIV-2 déposés à la CNCM sous les numéros I-502, ou I-532. Il sera encore revenu plus loin sur les définitions critères d'équivalence.

En d'autres termes, l'invention concerne un rétrovirus humain HIV-2 ayant la capacité d'infecter des lymphocytes T4 humains et susceptible de provoquer un SIDA chez l'homme, ce rétrovirus étant constitué par l'un des rétrovirus déposés à la CNCM sous les n° I-502, I-532, I-642 et I-643 et à l'ECACC sous les n° 87011001 et 87011002 (correspondant respectivement aux n° I-502 et I-532) ou un variant de l'un de ces rétrovirus comprenant tous les antigènes qui sont reconnus par les anticorps formés contre les antigènes correspondants de l'un quelconque des rétrovirus ayant fait l'objet des susdits dépôts à la CNCM ou à l'ECACC.

L'invention concerne encore un procédé de production du virus HIV-2 ou de variants de celui-ci dans les lignées cellulaires permanentes dérivées de lymphocytes T4, ou portant le phénotype T4, c procédé consistant à cultiver ces lignées préalablement infectées avec le virus HIV-2, et notamment lorsque le niveau d'activité de la transcriptase inverse (ou reverse-transcriptase) a atteint un seuil déterminé, à récupérer les quantités de virus libérées dans le milieu de culture.

Une lignée permanente préférée en vue de la culture de HIV-2 est, par exemple, du type cellules HUT 78. Une lignée de HUT 78, infectée par HIV-2, a été déposée le 6 février 1986 à la CNCM sous le n° I-519. La culture est, par exemple, réalisée comme suit :

Les cellules HUT 78 (10⁶/ml) sont mises en co-cultures avec des lymphocytes humains normaux infectés (10⁶/ml). Le milieu de culture est du RPMI 1640 avec 10 % de sérum de veau fœtal. Au bout de 15 à 21 jours, on observe un effet cytopathogène des cellules HUT 78. On dose la reverse transcriptase une semaine après cette observation, dans le surnageant de culture. On peut alors commencer à récupérer le virus à partir de ce surnageant.

Une autre lignée préférée pour la culture appartient aux lignées des cellules connues sous la désignation CEM.

L'infection, puis la culture des cellules CEM infectées peuvent notamment être réalisées comme suit.

On procède à la co-culture de lymphocytes T4 préalablement infectés avec le virus HIV-II et de cellules non infectées de la lignée CEM pendant le temps nécessaire à l'infection des CEM. On poursuit d'ailleurs ensuite les conditions de culture dans un milieu approprié, par exemple celui décrit ci-après et, lorsque l'activité transcriptase inverse des cellules infectées a atteint un niveau suffisant, on récupère le virus produit à partir du milieu de culture.

On a notamment réalisé une co-culture dans les conditions précisées ci-après de lymphocytes T4 humains qui avaient été infectés cinq jours auparavant avec une souche de virus HIV-II provenant d'un patient désigné ci-après « ROD », d'une part, et de CEM, d'autre part.

Les lymphocytes T4 infectés, préalablement activés par la phytohémataglutinine, se sont révélés posséder une activité de transcriptase inverse de 5 000 cpm/10⁶ lymphocytes T normaux trois jours après le début de l'infection. La culture a été poursuivie jusqu'à ce que l'activité transcriptase inverse mesurée ait atteint 100 000 cpm dans le surnageant. Ces lymphocytes T4 ont alors été mis en contact avec les cellules CEM (3.10⁶ lymphocytes T normaux infectés) et incubées dans le milieu de culture suivant : RPMI 1640 contenant 2,92 mg/ml de L glutamine, 10 % de sérum de veaux foetal décomplémenté, 2 µg/ml de polybrène, 0,05 % de sérum anti-interféron-alpha, 100 000 µg/ml de pénicilline, 10 µg/ml de streptomycine et 10 000 µg/ml de néomycine.

Le milieu de culture est changé deux fois par semaine.

Les mesures d'activité transcriptase inverse mesurée dans le surnageant ont été les suivantes :

— au jour 0	1 000 (bruit de fond)
— au jour 15	20 000
— au jour 21	200 000
— au jour 35	1 000 000

Une culture CEM infectée par le virus HIV-2 a été déposée à la Collection Nationale de Culture de Micro-organismes de l'Institut Pasteur (CNCM) sous le n° I-537 le 24 mars 1986.

Quelques caractéristiques des antigènes et des acides nucléiques, entrant dans la constitution de HIV-2, résultent des essais réalisés dans les conditions indiquées ci-après. Elles seront souvent mieux appréciées par comparaison avec des caractéristiques du même type se rapportant à d'autres types de rétrovirus, notamment HIV-1 et SIV.

Il sera fait référence dans ce qui suit aux dessins dans lesquels :

— les figures 1a, 1b et 1c se rapportent à des essais d'immunoprécipitation croisée entre des sérums respectivement de patients infectés par HIV-1 et HIV-2, et de macaques rhésus infectés avec STLV-III, d'une part, et des extraits viraux de HIV-1, d'autre part ;

— les figures 2a et 2b présentent des résultats comparatifs quant aux mobilités électrophorétiques des protéines de HIV-1, HIV-2 et STLV-III respectivement, dans des gels de polyacrylamide-SDS ;

— la figure 3 présente des résultats d'hybridation croisée entre des séquences génomiques de HIV-1, HIV-2 et STLV-III, d'une part, et des sondes contenant différentes séquences subgénomiques du virus HIV-1, d'autre part ;

— la figure 4 est une carte de restriction de l'ADNc dérivé de l'ARN de HIV-2 ROD ;

— la figure 5 est une carte de restriction d'un fragment E2 de l'ADNc dérivé de HIV-2, ce fragment contenant une région correspondant à la région LTR 3' de HIV-2 ;

— la figure 6 est la séquence nucléotidique d'une partie de E2, cette séquence correspondant à la région U3/R de HIV-2 ;

— la figure 7 fait apparaître :

— d'une part et schématiquement, des éléments de structure de HIV-1 (figure 5A) et, alignée avec une région contenant le LTR 3' de HIV-1, la séquence dérivée de la région E2 de l'ADNc de HIV-2 et,

— d'autre part, les mises en alignement au prix d'un certain nombre de délétions et d'insertions, des nucléotides communs, contenus respectivement dans la séquence dérivée de la région E2 de HIV-2, et dans la séquence correspondante de HIV-1 (fig. 5B) ;

— la figure 8 montre schématiquement les structures de plusieurs clones d'un phage λ modifié par divers insérats issus de l'ADNc dérivé d'HIV-2 (clones ROD4, ROD27 et ROD35) ; on y a également représenté schématiquement des séquences dérivées à leur tour de ROD4, ROD27 et ROD35, sous-clonées dans un plasmide PUC18, ces dernières séquences étant placées en correspondance avec les régions de ROD4, ROD27 et ROD35 dont elles sont respectivement issues ;

— la figure 9 fait apparaître les intensités relatives d'hybridation entre

a) onze fragments prélevés à partir de différentes régions du génome complet de HIV-1 (schématiquement représentés dans la partie inférieure de la figure d'une part, et l'ADNc de HIV-2, contenu dans ROD4, d'autre part, et

b) des fragments issus de HIV-II avec le même ADNc.

D'une façon générale, les antigènes de HIV-2 utilisés dans les tests comparatifs dont la description suit sont issus de la souche de HIV-2 MIR déposée à la CNCM sous le n° I-502, et les séquences d'ADN dérivés de l'ADN génomique de HIV-2 sont issus de la souche HIV-2 ROD déposée à la CNCM sous le n° I-532.

I — Antigènes, notamment protéines et glycoprotéines

10

Le virus initialement cultivé dans HUT 78 a été marqué métaboliquement par la ^{35}S -cystéine et la ^{35}S -méthionine, les cellules infectées étant incubées en présence de ces acides aminés radioactifs en milieu de culture dépourvu de l'acide aminé non marqué correspondant, pour une période de 14 à 16 heures, en particulier selon la technique décrite dans l'article répertorié en (21) dans la bibliographie présentée à la fin de la description, pour ce qui est du marquage à la ^{35}S -cystéine. Le surnageant est ensuite clarifié, puis le virus ultracentrifugé une heure à 100 000 g sur un coussin de 20 % de saccharose. Les principaux antigènes du virus sont séparés par électrophorèse dans un gel de polyacrylamide (12,5 %), dans des conditions dénaturantes (SDS) ou dans un gel de polyacrylamide (10 %) + bis-acrylamide (0,13 %) avec SDS (0,1 % en concentration finale). On utilise comme poids moléculaire de référence les marqueurs colorés suivants :

BRL :

25	myosine	200 Kd
	phosphorylase B	97,4 Kd
	BSA	68 Kd
	ovalbumine	43 Kd
	α chymotrypsine	25,7 Kd
	β lactoglobuline	18,4 Kd
30	lysozyme	14,3 Kd

D'autres marqueurs de poids moléculaires ont été utilisés dans d'autres essais. Il est en particulier fait référence aux figures 1a, 1b et 1c qui renvoient à d'autres marqueurs de poids moléculaires connus (sous la lettre M. dans ces figures). Les antigènes sont encore mieux distingués après immunoprécipitation (RIPA) ou par immunoempreintes (Western blot) en utilisant les anticorps présents dans le sérum du malade : leurs poids moléculaires apparents déterminés par leurs migrations apparentes sont très proches de ceux des antigènes du HIV-1.

D'une façon générale il est précisé que dans ce qui suit les nombres qui suivent les indications « p » et/ou « gp » correspondent aux poids moléculaires approximatifs des protéines et/ou glycoprotéines correspondantes divisés par 1 000. Par exemple la p36 a un poids moléculaire de l'ordre de 36 000. Il est cependant entendu que ces valeurs de poids moléculaires peuvent varier dans un intervalle pouvant atteindre 5 %, voire 10 % ou même plus, selon les techniques utilisées pour les déterminations de ces poids moléculaires.

La répétition des essais a permis de mieux cerner les poids moléculaires apparents des antigènes de HIV-2. Ainsi on a constaté que les poids moléculaires des trois protéines du noyau (core), auxquelles on avait initialement attribué des poids moléculaires de l'ordre de 13 000, 18 000 et 25 000 respectivement, avaient en fait des poids moléculaires apparents plus proches des valeurs suivantes : 12 000, 16 000 et 26 000, respectivement. Ces protéines sont ci-après respectivement désignées par les abréviations p12, p16 et p26.

De même l'existence de bandes protéine ou glycoprotéine dont les poids moléculaires apparents ont été appréciés à des valeurs qui pouvaient s'étager de 32 000 à 42 000-45 000. La répétition des mesures a finalement permis de préciser une bande correspondant à un poids moléculaire apparent de 36 000. Dans ce qui suit, cette bande est désignée par l'abréviation p36. Une autre bande à 42 000-45 000 (p42) est constamment observée aussi. L'une ou l'autre des p36 ou p42 constitue vraisemblablement une glycoprotéine transmembranaire du virus.

Une glycoprotéine majeure d'enveloppe ayant un poids moléculaire de l'ordre de 130-140 Kd est constamment observée : cette glycoprotéine est ci-après désignée par l'expression gp140. Il convient de noter que, d'une façon générale, les poids moléculaires sont appréciés avec une précision de plus ou moins 5 %, cette précision pouvant même devenir un peu moindre pour les antigènes de haut poids moléculaire, comme on l'a constaté pour la gp140 (poids moléculaire de 140 Kd $\pm$ 10 %). L'ensemble de ces antigènes sont peu ou pas reconnus (lorsqu'ils sont marqués par la ^{35}S -cystéine) par des sérums de malades contenant des anticorps anti-HIV-1 dans les systèmes de détection utilisés au laboratoire ou par utilisation des tests mettant en œuvre des lysats de HIV-1, tels que ceux commercialisés par DIAGNOSTICS PASTEUR sous la marque « ELAVIA ». Seule la protéine p26 a été faiblement immunoprécipitée par de tels sérums. La protéine d'enveloppe ne l'a pas été. Le sérum du malade infecté par le

nouveau virus (HIV-2) reconnaît faiblement une protéine p34 du HIV-1. Dans le système de détection utilisé, les autres protéines du HIV-1 n'ont pas été reconnues.

En revanche le HIV-2 possède certaines protéines présentant une certaine parenté immunologique avec des protéines ou glycoprotéines structurales semblables, séparables dans des conditions analogues, à partir d'un rétrovirus récemment isolé à partir de singes macaques rhésus captifs, alors que cette parenté immunologique tend à s'effacer pour d'autres protéines ou glycoprotéines. Ce dernier rétrovirus, qui est présumé être l'agent étiologique de SIDA chez les singes, a été désigné par les chercheurs qui l'ont isolé (références bibliographiques (16-18) ci-après) sous l'appellation « STLV-III_{mac} ». Pour la commodité du langage, il ne sera plus désigné dans ce qui suit que par l'expression « STLV-III » (ou encore par l'expression SIV, abréviation anglaise de « Simian Immunodeficiency Virus » (virus d'immuno-déficience du singe)).

Un autre rétrovirus, désigné « STLV-III_{AGM} », (ou SIV_{AGM}) a été isolé chez des singes verts sauvages. Mais, contrairement au virus présent chez le singe macaque rhésus, la présence de « STLV-III_{AGM} » ne semble pas induire une maladie du type SIDA chez le singe vert d'Afrique.

Toutefois, la parenté immunologique des protéines et des glycoprotéines structurales, et par conséquent la parenté de leurs séquences nucléiques, de HIV-1 d'une part, et des rétrovirus STLV-III_{mac} et STLV-III_{AGM} d'autre part, reste limitée. Des expériences ont permis d'établir une première distinction entre les rétrovirus capables d'infecter l'homme ou le singe, il en ressort ceci :

— le virus HIV-1 ne se multiplie pas de façon chronique dans les lymphocytes du singe macaque rhésus, lorsqu'il a été injecté in vivo et dans des conditions opératoires permettant le développement du virus STLV-III_{mac} telles qu'elles ont été décrites par N. L. Letvin et al., Science (1985) vol. 230, 71-75.

Cette apparente inaptitude de HIV-2 à se développer chez le singe dans des conditions naturelles, permet de différencier biologiquement le virus HIV-1 d'une part, et les isolats du virus STLV-III, d'autre part.

En mettant en œuvre les mêmes techniques que celles rappelées plus haut, il a été constaté que l'on pouvait également obtenir à partir de STLV-III :

- une protéine principale du noyau p27, ayant un poids moléculaire de l'ordre de 27 kilodaltons,
- une glycoprotéine majeure d'enveloppe, gp140,
- une protéine vraisemblablement transmembranaire p32, qui n'est pas observée en RIPA lorsque le virus a au préalable été marqué par la ³⁵S-cystéine, mais qui peut être observée dans les essais d'immunoempreintes (Western blots), sous forme de bandes larges.

La glycoprotéine majeure d'enveloppe de HIV-2 s'est révélée être plus proche immunologiquement de la glycoprotéine majeure d'enveloppe de STLV-III que de la glycoprotéine majeure d'enveloppe de HIV-1.

Ces constatations s'imposent non seulement au niveau des poids moléculaires : 130-140 kilodaltons pour les glycoprotéines majeures de HIV-2 et de STLV-III, contre environ 110 pour la glycoprotéine majeure d'enveloppe de HIV-1, mais aussi au niveau des propriétés immunologiques, puisque des sérums prélevés à partir de malades infectés par HIV-2, et plus particulièrement des anticorps formés contre la gp140 de HIV-2 reconnaissent la gp140 de STLV-III, alors que dans des essais semblables les mêmes sérums et les mêmes anticorps de HIV-2 ne reconnaissent pas la gp10 de HIV-1. Mais les sérums anti-HIV-1 qui n'ont jamais réagi avec la gp140 de HIV-2 précipitent une protéine de 26 Kdal marquée par la ³⁵S-cystéine, contenue dans les extraits de HIV-1.

La protéine majeure du noyau (core) de HIV-2 semble présenter un poids moléculaire moyen (environ 26.000) intermédiaire entre celui de la p25 de HIV-1 et la p27 de STLV-III.

Ces observations résultent des essais réalisés avec des extraits viraux obtenus à partir du HIV-2 isolé à partir de l'un des patients susmentionnés. Des résultats similaires ont été obtenus avec des extraits viraux du HIV-2 isolé à partir du second patient.

Des cellules infectées respectivement avec HIV-1, HIV-2 et STLV-III ont été incubées dans un milieu contenant 200 µCi/ml de ³⁵S-cystéine dans un milieu exempt de cystéine non marquée pendant 16 heures. Les surnageants clarifiés ont été centrifugés à 60.000 g pendant 90 minutes. Les culots ont été lysés dans un tampon RIPA(1), immunoprécipités avec différents sérums, puis soumis à une électrophorèse sur gel de polyacrylamide chargé en dodécylsulfate de sodium (SDS-PAGE).

Les résultats observés sont illustrés par les figures 1a, 1b et 1c.

Dans la figure 1a, sont présentés les résultats d'immunoprécipitation observés entre un extrait viral de HIV-1 obtenu à partir d'une lignée cellulaire CEM C1.13 et les sérums respectifs suivants :

- sérum positif anti-HIV-1 (bande 1),
- sérum obtenu du premier patient mentionné plus haut (bande 2),
- sérum d'un porteur africain sain d'anticorps anti-HIV-1 (bande 3),
- sérum obtenu à partir d'un macaque infecté avec STLV-III (bande 4) et
- sérum du deuxième patient susmentionné (bande 5).

Dans la figure 1b, sont rapportés les résultats d'immunoprécipitation observés entre les antigènes de HIV-2 obtenus à partir du premier patient, après culture préalable sur des cellules HUT-78, et différents sérums, plus particulièrement le sérum du premier patient sus-mentionné (bande 1), le sérum positif anti-

HIV-1 (bande 2), le sérum du macaque infecté par STLV-III (bande 3), le sérum du second patient susdit (bande 4).

Enfin, la figure 1c illustre les résultats d'immunoprécipitation observés entre les antigènes d'un isolat de STLV-III obtenu à partir d'un macaque présentant un SIDA de sirige. Les sérums utilisés et auxquelles se réfèrent les bandes 1 à 5 sont les mêmes que ceux rappelés plus haut en rapport avec la figure 1a.

M se réfère aux marqueurs myosine (200 Kd) galactosidase (130 Kd), sérum albumine bovine (69 Kd), phosphorylase B (93 Kd), ovalbumine (46 Kd) et carbonate anhydrase (30 Kd).

Les figures 2a et 2b présentent les résultats comparatifs quant aux mobilités électrophorétiques des protéines de HIV-1, HIV-2 et STLV-III.

La figure 2a se rapporte aux essais réalisés avec des extraits de virus marqués par la ^{35}S -cystéine, après immunoprécipitation sur SDS-PAGE. Les différentes bandes se rapportent aux extraits de virus suivants : virus obtenu à partir du patient 1 et immunoprécipité par le sérum provenant du même patient (bande 1), extrait du même virus immunoprécipité avec un sérum témoin négatif provenant d'une personne ne portant pas d'anticorps anti-HIV-1 ou anti-HIV-2 (bande 2), extrait de virus STLV-III immunoprécipité par un sérum provenant d'un macaque infecté par STLV-III (bande 3), immunoprécipitations observées entre des extraits du même virus et d'un sérum témoin négatif (bande 4), extrait de HIV-1 immunoprécipité par un sérum d'un patient européen infecté par le SIDA.

La figure 1b présente les résultats obtenus dans des essais de Western-blot (immunoempreinte). Des lysats cellulaires provenant de cellules HUT-78 non infectées ou infectées ont été soumis à une électrophorèse sur SDS-PAGE, puis transférés électrophorétiquement sur un filtre de nitrocellulose, avant d'être mis à réagir avec le sérum du premier patient susmentionné (sérum dilué au 1/100e). Le filtre de nitrocellulose a ensuite été lavé et la détection des anticorps fixés révélée avec des IgG antihumaines de chèvre marquées par ^{125}I .

Les taches observées dans les bandes 1, 2 et 3 se rapportent respectivement aux essais d'agglutination entre le susdit sérum et des extraits de cellules HUT-78 non infectées (bande 1), des extraits de cellules HUT-78 infectées avec un virus HIV-2 (bande 2) et des extraits de cellules HUT-78 infectées par STLV-III (bande 3). Les nombres qui apparaissent dans les marges de chacune des bandes correspondent aux poids moléculaires approximatifs des protéines virales les plus représentatives (poids moléculaires en kilodaltons).

II — Acides nucléiques

1) les ARNs du rétrovirus HIV-2

L'ARN du virus, déposé sur filtre d'après la technique du « spot blot » n'a pas hybridé, dans des conditions stringentes avec l'ADN du HIV-1.

Par « conditions stringentes » on entend : les conditions dans lesquelles la réaction d'hybridation entre l'ARN du HIV-2 et la sonde choisie marquée radioactivement au p^{32} (ou marquée de façon différente), puis les lavages de la sonde sont faits. L'hybridation, sur membrane, est faite à 42 °C en présence d'une solution aqueuse 0,1 % SDS/5 × SSC, contenant 50 % de formamide (volume/volume) pendant 18 heures. La membrane sur laquelle a été faite la réaction d'hybridation est lavée ensuite à 65 °C dans un tampon contenant 0,1 % de SDS et 0,1 × SSC.

Par « conditions non stringentes », on entend les conditions dans lesquelles la réaction d'hybridation et les lavages sont faits. L'hybridation est réalisée en mettant en contact avec la sonde choisie marquée au p^{32} (ou marquée autrement), à savoir à 42 °C dans un tampon 5 × SSC, 0,1 % SDS contenant 30 % de formamide pendant 18 heures. Le lavage de la membrane est réalisé à 50 °C avec un tampon contenant 0,1 % de SDS et 2 × SSC.

On a également réalisé des essais d'hybridation avec une sonde d'hybridation constituée par un plasmide recombinant pBT1 obtenu par clonage de l'ADN du HIV-1 provenant de ΔJ19 (Cell 1985, vol. 40, p. 9) dans le vecteur pUC18. En conditions non stringentes, on n'a observé qu'une très faible hybridation entre l'ARN de HIV-2 et l'ADN cloné dérivé de HIV-1.

D'autres sondes contenant des séquences clonées de HIV-1 ont été utilisées :

a) Des sondes simple brin de l'ADN du HIV-1 subgénomique élaborées à partir de sous-clones du génome du HIV-1 et insérées dans le phage M13. Les régions clonées concernaient le gène protéase ou le gène « endonucléase ».

Seule une sonde de la région endonucléase de HIV-1 (séquence de nucléotides comprise entre les bases n° 3760 et 4130) a donné une hybridation faible en conditions non stringentes avec le HIV-2. La sonde « protéase » (séquence de nucléotides de HIV-1 comprise entre les bases n° 1680 et 1804) n'a pas hybridé, même en conditions non stringentes avec le HIV-2.

b) Une sonde pRS3 constituée par la séquence codant pour la région « enveloppe » du HIV-1 (sous-clonage dans pUC18) n'a pas donné d'hybridation en conditions non stringentes avec HIV-2.

La technique du « spot blot » est appelée aussi « dot blot » (transfert par taches).

Des résultats d'hybridation supplémentaires entre des ARNs génomiques de HIV-1, HIV-2 et STLV-III,

d'une part, et des sondes contenant différentes séquences sub-génomiques du virus HIV-1, d'autre part, apparaissent dans la figure 3.

Les surnageants des différents milieux de culture (à raison de 0,5 à 1 ml pour chaque tache) ont été centrifugés pendant 5 minutes à 45.000 tours par minute ; les culots ont été remis en suspension dans un tampon NTE contenant 0,1 % de SDS et déposés sur filtre de nitrocellulose. Celui-ci a été prétrempé dans un milieu $2 \times$ SSC (NaCl 0,3 M, citrate de sodium 0,03 M). Après cuisson (pendant 2 heures à 80 °C), les filtres ont été hybridés avec diverses sondes contenant des sous-fragments génomiques de HIV-1, dans des conditions non stringentes (30 % de formamide, $5 \times$ SSC, 40 °C), lavés avec une solution $2 \times$ SSC et contenant 0,1 % de SDS, à 50 °C, puis autoradiographiés pendant 48 heures à -70 °C avec des écrans d'amplification.

Les sondes 1-4 sont des sondes à brin unique obtenues par la méthode de « coupe principale » (prime cut method) telle que décrite en (25). En bref des fragments mono-brins issus du virus M13 et portant des insérats de HIV-1 subgénomiques (30) ont été ligaturés à des fragments d'oligomères (17 nucléotides) issus de M13 (BIOLABS). Le brin complémentaire a été ensuite synthétisé avec l'enzyme de Klenow dans un tampon TM (Tris 10 mM, pH 7,5, $MgCl_2$ 10 mM) en présence de dATP, dGTP, dTTP et dCTP marqués par du ^{32}P en alpha (Amersham, 3000 Ci/mMol). L'ADN a ensuite été digéré par les enzymes de restriction appropriés, dénaturé par la chaleur et soumis à électrophorèse sur un gel dénaturant de polyacrylamide (contenant 6 % d'acrylamide, de l'urée 8 M dans un tampon TDE). Le gel a ensuite été autoradiographié pendant 5 minutes. La sonde a ensuite été découpée et éluée dans un tampon de NaCl 300 mM, SDS 0,1 %. Des activités spécifiques (AS) de ces sondes à brin unique ont été estimées à 5.10^8 - 10^9 désintégrations par minute/microgramme (dpm/ μ g).

Les séquences caractéristiques contenues dans les différentes sondes étaient les suivantes :

sonde 1 : nucléotides 990-1070,
sonde 2 : nucléotides 990-1260,
sonde 3 : nucléotides 2170-2240,
sonde 4 : nucléotides 3370-3640.

Les numérotations des nucléotides qui précèdent sont celles envisagées dans l'article référencé en (30).

Enfin la sonde 5 consiste en un plasmide pUC-18 portant le fragment EcoR1-Sac1 du HIV cloné dans λ J19 (31), lequel a fait l'objet d'une translation de coupure (nick-translation) pour obtenir un AS d'approximativement 10^8 dpm/ μ g.

Les dispositions relatives des fragments subgénomiques contenus dans les sondes vis-à-vis du génome entier de HIV-1 sont schématisées à la figure 3. Les différentes taches correspondent respectivement :

- tache A : virus obtenus à partir d'une culture de cellules CEM C1.13 infectées par HIV-1,
- tache B : virus obtenus à partir de cellules HUT-78 infectées par STLV-III,
- taches C et D : isolats respectivement obtenus à partir des virus des deux patients africains susmentionnés,
- tache E : extrait cellulaire témoin négatif obtenu à partir de cellules HUT-78 non infectées,
- tache F : virus obtenu à partir d'un patient du Zaïre affecté par le SIDA et ayant été cultivé sur des lymphocytes T normaux en présence de TCGF.

Toutes les taches ont été obtenues avec une quantité de virus correspondant à 25.000 dpm en activité transcriptase inverse, sauf pour les taches C : 15.000 dpm.

Les observations faites ont été les suivantes :

Les ARNs génomiques des deux isolats de HIV-2, obtenus à partir de particules virales purifiées, n'ont hybridé avec aucune des sondes dans les conditions stringentes sus-indiquées, bien que les particules virales aient été isolées et purifiées à partir de surnageants de cultures de cellules hautement infectées témoignant d'une activité transcriptase inverse élevée.

Dans les conditions non stringentes sus-indiquées, les observations suivantes ont été faites.

Toutes les sondes ont hybridé de façon intense avec les ARNs génomiques obtenus des préparations témoins de HIV-1 et d'un autre isolat obtenu à partir d'un patient du Zaïre souffrant du SIDA.

Deux des sondes obtenues (nucléotides 990-1070 et 990-1260, toutes deux issues de la région gag de HIV-1) ont hybridé légèrement avec les taches des extraits des rétrovirus HIV-2 ; l'une seulement de ces deux sondes (nucléotides 990-1260) a aussi montré une légère hybridation avec la tache de STLV-III (figure 3). En ce qui concerne la sonde contenant un fragment de la région pol (nucléotides 2170-2240), on a observé une hybridation avec STLV-III et, mais de façon beaucoup plus faible, avec l'ARN de HIV-2. L'autre sonde de la région pol (nucléotides 3370-3640) n'a donné d'hybridation avec aucune des taches de HIV-2 et de STLV-III.

Enfin, la sonde modifiée par translation de coupure et contenant la totalité du gène env et le LTR (nucléotides 5290-9130) de HIV-1 n'a hybridé ni avec les ARNs de STLV-III, ni avec ceux de HIV-2.

On remarquera encore qu'une autre sonde, qui contenait l'extrémité 5' du cadre de lecture de pol de HIV-1 (correspondant à la région protéase) n'a hybridé ni avec les ARNs de HIV-2, ni avec les ARNs de STLV-III.

Il résulte donc encore de ce qui précède que le virus HIV-2 paraît plus éloigné, sur le plan structural, du virus HIV-1 qu'il ne l'est de STLV-III. HIV-2 diffère néanmoins de façon significative de STLV-III, ce qui vient à l'appui des résultats différents observés quant aux capacités infectieuses des virus HIV-2 pratiquement nulles chez les singes, comparés aux capacités infectieuses certaines des STLV-III chez les mêmes espèces de singes.

Les cartes de restriction et les séquences de l'ARN génomique de HIV-2 ou des cADNs obtenus à partir de ces ARNs génomiques sont accessibles à l'homme du métier, dès lors que les souches de HIV-2 déposées de la C.N.C.M. peuvent, après multiplication appropriée, mettre en ses mains le matériel génétique nécessaire aux déterminations de ces cartes de restriction et séquences nucléotidiques. Les conditions dans lesquelles la carte de restriction du génome de l'un des isolats de HIV-2 de cette invention ont été établies et les conditions dans lesquelles certaines des parties de ADNc dérivées de ces génomes ont été séquencées sont décrites ci-après.

La carte de restriction du génome d'un rétrovirus représentatif des rétrovirus HIV-2 est représentée dans la figure 4. La carte de restriction d'un fragment important de cet ADNc apparaît à la figure 5. Enfin une partie de ce dernier fragment a été séquencé.

Cette séquence et un certain nombre des sites de restriction qu'elle contient apparaissent à la figure 6. L'ADNc entier cloné — ou des fragments clonés de cet ADNc — peuvent eux-mêmes être utilisés comme sondes d'hybridation spécifiques.

2) ADNc et fragments de cet ADNc, respectivement dérivés de l'ARN de HIV-2

Les conditions dans lesquelles l'ADNc susdit a été obtenu, sont décrites ci-après.

La première étape de fabrication de cet ADNc a compris la production d'un oligo (dT) servant d'amorce ou de brins d'ADNc initiateurs, pour la réalisation d'une réaction endogène activée par un détergent, utilisant la transcriptase inverse de HIV-2, sur des virions purifiés, obtenus à partir de surageants de cellules CEM infectées. La lignée cellulaire CEM était une lignée cellulaire lymphoblastoïde CD4+ décrite par G. E. Foley et al. dans Cancer 18 : 522-529 (1985), dont le contenu est considéré comme faisant partie de la présente description. Ces cellules CEM utilisées sont infectées avec un isolat ROD, qui s'est révélé produire de façon continue des quantités importantes de HIV-2.

Après la synthèse du second brin (en présence de nucléotides et d'une ADN polymérase bactérienne), les cADNs double-brins ont été insérés dans un vecteur de phage bactérien M13 TG130. Une banque de phages de 10^4 phages recombinants M13 a été obtenue et soumise à un tri in situ avec une sonde HIV-1. Celle-ci contient un fragment de 1.5 kb issu de l'extrémité 3' de l'ADNc dérivée de l'ARN de l'isolat LAV (montré dans la figure 7 A). Environ 50 plaques positives ont été détectées, purifiées et caractérisées par une hybridation croisée des insérats et séquençage des extrémités.

Cette procédure a permis l'isolement de différents clones contenant des séquences approximativement complémentaires de l'extrémité 3' de l'ARN polyadénylé de la région de « répétition longue terminale » LTR (abréviation anglaise de « long terminal repeat » de HIV-1, décrite par S. Wain Hobson et al. dans Cell 40 : 9-17 (1985)) dont le contenu est considéré ici comme faisant partie de la description.

Le plus important des insérats du groupe concerné de clones de M13 hybridant avec la région LTR3' de HIV-1, est un clone désigné par E2, d'environ 2 kb. Comme la région LTR3' de HIV-1, le clone E2 contient un signal AATAAA situé à environ 20 nucléotides en amont d'une partie terminale poly A, et une région LTR3' correspondant à celle de HIV-2. Après séquençage partiel, cette région LTR3' de HIV-2 s'est révélée présenter une parenté éloignée avec le domaine homologue de HIV-1.

La figure 5 est une carte de restriction du fragment de E2 (zone rectangulaire allongée) incorporé dans le plasmide pSPE2 qui le contient. Il comprend une partie de la région R, la région U3 de HIV-2. Le dessin ne fait pas apparaître les limites des régions R et U3.

La séquence d'une partie de E2 apparaît à la figure 6. Les positions de sites de restriction spécifiques y sont indiquées. Le faible degré de parenté entre les régions LTR3' de HIV-1 et HIV-2 est illustré par la figure 7. En effet, à peu près 50 % seulement des nucléotides des deux LTR peuvent être mis en alignement (homologie de séquence d'environ 50 %) au prix d'une certaine d'insertions ou de délétions. En comparaison, l'homologie de séquence des régions correspondantes des isolats américains et africains différents variants de HIV-1 est supérieure à 95 %, sans insertion ni délétion.

Le clone E2 a été utilisé comme sonde spécifique d'HIV-2, pour l'identification sur filtre d'hybridation des séquences issues de HIV-2, contenues dans d'autres clones.

Cette sonde détecte également l'ARN génomique de HIV-2 dans des conditions stringentes. Elle permet, de même, la détection par la méthode dite de « Southern blot » sur l'ADN de cellules CEM ou analogues infectées avec un isolat ROD ou d'autres isolats de HIV-2. Aucun signal n'est détecté dans les mêmes conditions de stringence dans des essais d'hybridation de cette sonde avec des ADNc issus de cellules non infectées ou de cellules infectées par HIV-1. Ces résultats ont confirmé la nature exogène de HIV-2 vis-à-vis de HIV-1. Une espèce d'environ 10 kb, correspondant probablement à l'ADN viral non intégré, a été détecté à titre principal dans l'ADN non digéré de cellules infectées par HIV-2. Un autre ADN ayant une taille apparente de 6 kb correspondant peut être à une forme circulaire de l'ADN viral, a été détecté aussi.

Les autres parties du génome de HIV-2 ont été identifiées également. A cet effet, une banque

génomique a été construite dans le phage lambda L47. Le phage lambda L47.1 a été décrit par W. A. M. Loenen et al. dans *Gène* 10:249-259 (1980), publication dont le contenu est considéré comme faisant partie de la présente description.

La banque génomique est construite avec des fragments obtenus par digestion de l'ADN provenant de la lignée cellulaire CEM infectée avec HIV-2_{ROD}, après digestion avec l'enzyme Sau3A.

Environ 2×10^6 plaques de recombinants ont été triées in situ avec un clone contenant l'insérat E2 marqué de l'ADNc de HIV-2. Dix phages recombinants ont été détectés sur plaques et purifiés. Les cartes de restriction de trois de ces phages, caractérisés par leur capacité d'hybridation en « Southern blot » avec l'insérat E2 dans des conditions stringentes, ainsi qu'avec des sondes subgénomiques de HIV-1 dans des conditions non-stringentes.

Un clone portant un insérat de 9.5 kb et dérivant de l'ADN viral circulaire entier, contenant le génome complet de HIV-2, a été identifié. Il a été désigné « Lambda ROD 4 ». Les deux autres clones, Lambda ROD 27 et Lambda ROD 35 dérivant de provirus intégrés, portant des séquences LTR des séquences codantes virales et des séquences LTR des séquences codantes virales et des séquences adjacentes d'ADN cellulaire. Les différentes séquences découlent de la figure 8.

Des fragments des clones Lambda ont été sous-clonés dans le vecteur plasmidique pUC 18. Les fragments issus de λ ROD 4, λ ROD 27 et λ ROD 35 et respectivement sous-clonés dans le susdit vecteur plasmide apparaissant également à la figure 8. Les sous-clones suivants ont été obtenus.

— pROD 27-5 dérive de Lambda ROD 27, contient une région de 5,2 kb du génome de HIV-2 et des séquences cellulaires adjacentes (5'LTR et séquence virale codante 5' autour d'un site Eco RI).

— pROD 4.8 dérivé de Lambda ROD 4, contient un fragment Hind III d'environ 5 kb. Ce fragment correspond à la partie centrale du génome HIV-2.

— pROD 27-5' et pROD 4.8 contiennent des insérats de HIV-2 qui se chevauchent mutuellement.

— pROD 4.7 contient un fragment HIND III de 1.8 kb de Lambda ROD 4 ; ce fragment est placé dans la direction 3 vis-à-vis du fragment sous-cloné dans pROD 4.8 et contient environ 0.8 kb de séquences virales codantes et une partie située entre les sites de clonage Bam H1 et Hind III du bras gauche du phage Lambda (Lambda L 47.1).

— pROD 35 contient toutes les séquences HIV-2 codantes dans la direction 3, vis-à-vis du site Eco RI, l'extrémité 3' LTR et environ 4 kb de séquences nucléiques adjacentes d'origine cellulaire.

— pROD 27-5' et pROD 35 contenus dans E. Coli HB 101, ont été déposés à la CNCM sous les numéros respectifs I-626 et I-633.

pROD 4.7 et pROD 4.8, contenus dans E. Coli TG1, ont été déposés à la CNCM respectivement sous les numéros 1-627 et 1-628.

Le génome complet de HIV-2 ROD, dont la carte de restriction apparaît à la figure 4, a été reconstitué à partir de pROD 35, linéarisé au préalable avec Eco RI, et de pROD 27-5'. L'insérat Eco RI de pROD 27-5 a été ligaturé dans l'orientation correcte dans le site EcoRI de pROD 35.

Le degré de parenté entre HIV-2 et les autres rétrovirus humains ou simiens a été apprécié par des expériences d'hybridation mutuelle. L'homologie relative entre les différentes régions de génomes de HIV-1 et de HIV-2 a été déterminée par des essais d'hybridation de fragments respectivement issus de génome de HIV-1 cloné et de Lambda ROD 4 marqué radioactivement. Les positions relatives de ces fragments (numérotés de 1 à 11) vis-à-vis du génome de HIV-1 apparaissant au bas de la figure 9.

Même dans des conditions de très faible stringence (TM-42 °C) les génomes de HIV-1 et HIV-2 n'hybrident qu'aux niveaux de leurs gènes respectifs *gag* (taches 1 et 2), des régions reverse transcriptase dans *pol* (tache 3), des régions d'extrémités de *pol*, des gènes Q (ou *src*) (tache 5) et des gènes F (ou 3' *orf*) et 3' LTR (tache 11). Le fragment HIV-1 utilisé pour détecter les premiers clones ADNc de HIV-2 correspond au sous-clone de la tache 11, qui hybride relativement bien avec HIV-2 dans des conditions non stringentes. Un signal provenant de la tache 5 est le seul persistant après un lavage stringent. Le gène d'enveloppe, la région du gène *tat* et une partie de *pol* apparaissent très divergents. Ces données, ainsi que la séquence obtenue avec LTR (figure 3) démontrent que HIV-2 n'est pas (en tous les cas au niveau de son enveloppe) un variant de HIV-1.

On observe que HIV-2 est plus proche de SIV (décrit par M. D. Daniel et al. dans *Science* 228 : 1201-1204 (1985), dont le contenu doit être considéré comme faisant partie de la présente description) qu'il ne l'est de HIV-1.

Toutes les protéines de SIV, y compris la protéine de l'enveloppe, sont immuno-précipitées par des sérums de patients infectés par HIV-2, tandis que la réactivité sérologique croisée de HIV-1 et HIV-2 est limitée aux protéines du noyau. Cependant SIV et HIV-2 peuvent être distingués par les différences mentionnées plus haut au niveau des poids moléculaires de leurs protéines.

En ce qui concerne les séquences nucléotidiques, on remarque aussi que HIV-2 a une parenté avec SIV.

De plus, la caractérisation de HIV-2 permet aussi de délimiter le domaine de la glycoprotéine d'enveloppe qui est responsable de la fixation du virus à la surface des cellules cibles et de l'internalisation ultérieure du virus. L'interaction se fait par l'intermédiaire de la molécule CD4 elle-même et il semble que HIV-1 et HIV-2 utilisent le même récepteur. Aussi, bien qu'il existe de grandes différences entre les gènes *env* de HIV-1 et HIV-2, les domaines homologues restreints des enveloppes des deux HIV peuvent-ils être considérés comme constituant de fixation à un récepteur commun des lymphocytes T4.

Ces sites sont appelés à constituer des épitopes porteurs de l'immunogénicité de peptides qui pourraient être utilisés pour susciter chez l'homme une réponse immunitaire protectrice contre les virus HIV.

Des séquences avantageuses pour la constitution de sondes dans des réactions d'hybridation avec le matériel génétique de patients porteurs de virus ou de provirus, notamment pour détecter la présence d'ARN de virus HIV-2 dans leurs lymphocytes contiennent une séquence nucléotidique résultant de combinaison des fragments de 5 kb de HindIII de ROD 4 et de l'ADNc E2. Les essais peuvent être réalisés selon toutes méthodes notamment selon les techniques de « Northern blot », « Southern blot » et « dot blot ».

Des caractéristiques supplémentaires de l'invention apparaîtront encore de façon non limitative au cours de la description qui suit d'exemples d'identification de certaines parties du génome rétroviral et de la production d'un certain nombre d'ADNs recombinants mettant en jeu diverses parties d'un ADNc dérivé du génome rétroviral de HIV-2.

Exemples

Exemple I

Sonde ADN, pour l'utilisation dans les kits de diagnostic de HIV-2.

Un ADNc complémentaire de l'ARN du génome obtenu à partir de virions purifiés, a été préparé selon la méthode suivante :

Le surnageant obtenu après 48 heures de culture de cellules CEM infectées par un isolat HIV-2 ROD de HIV-2 a été ultracentrifugé. Le culot de centrifugation contenant le virion a été centrifugé sur gradient de sucrose pour former un nouveau culot de centrifugation substantiellement par la même méthode que celle décrite dans la demande de brevet européen EP-A-0.138.667 déjà mentionnée.

La préparation de HIV-2 purifié a été utilisée pour la synthèse d'ADNc en mettant en œuvre une réaction endogène, activée par un détergent.

En résumé, la préparation du virion a été ajoutée à un mélange de réaction contenant 50 mM Tris-HCl, 5 mM MgCl₂, 10 mM DTT, 0.025 % du détergent commercialisé sous la marque TRITON®, et 50 µM de chacun des 4 déoxynucleoside-triphosphates et un initiateur oligo (dT). La réaction a été conduite pendant 90 minutes à 37 °C.

Après l'extraction au phénol des protéines présentes dans le premier milieu de réaction, la seconde chaîne de l'ADNc a été synthétisée en présence de RNase, ADN polymérase 1 de E. coli et des 4 déoxynucleotides, pendant 1 heure à 15 °C et 1 heure à 22 °C. Des extrémités franches ont été créées sur cette double chaîne ADNc, par l'action de la T4 ADN polymérase. Tous les réactifs de ce procédé sont disponibles dans le commerce (kit ADNc de la Société AMERSHAM) et ont été utilisés comme recommandé par le fournisseur.

Après (1) ligation d'adaptateurs (linkers) contenant un site EcoR1 (commercialisés par Pharmacia) aux extrémités franches de l'ADNc en présence d'une ligase ADN T4 (commercialisée par BIOLABS) (2), digestion de ces « linkers » par l'endonuclease de restriction EcoR1, et (3) élimination des fragments de « linker » par une filtration sur gel (colonne du gel commercialisé sous la marque ULTROGEL®) Aca 34 (LKB-IBF), l'ADNc est inséré dans un vecteur M13 TG 130 clivé par EcoR1. Une banque d'ADNcs a été obtenue après transformation de la souche de E. coli TG1. On a obtenu approximativement 10⁴ plaque de recombinants M13.

Pour sélectionner dans la banque d'ADNcs des clones M13 recombinants contenant l'ADNc de HIV-2, la technique d'hybridation sur plaque a été utilisée. L'ADN des plaques M13 a été transféré sur des filtres de nitrocellulose, et hybridé à des sondes de HIV-1 subgénomiques dérivées du clone « lambda J19 » d'un virus LAV (ou HIV) décrit dans la demande de brevet européen. Cette sonde comprenait un insérat constitué par une partie ayant une longueur approximative de 1500 paires de bases (pb) de l'ADN de HIV-1. Cet insérat était délimité par deux sites de restriction HindIII respectivement à l'intérieur du cadre de lecture ouverte du gène « env » et dans le segment R de l'extrémité 3' LTR de HIV-1. Cette sonde contenait l'extrémité 3' du gène env, la totalité du gène F, le segment U3 et une partie du segment R de LTR, d'une longueur approximative de 1500 paires de bases (pb).

La sonde contenant l'insérat HindIII de 1,5 kb a été marquée avec du ³²P dCTP et dTTP (3000 Ci × 10⁻³ mole) par incubation de la sonde en présence d'initiateurs et d'ADN polymérase I de Klenow, pendant 4 heures à 15 °C (en utilisant un kit de AMERSHAM). Les essais d'hybridation des clones d'ADNc de la banque ont été conduits pendant toute la nuit dans des conditions de faible stringence, au sein d'une solution d'un milieu d'hybridation contenant 5X SSC, 5X Denhart, 25 % de formamide, 100 µg/ml d'ADN de sperme de saumon dénaturé et la sonde marquée (2 × 10⁷ cpm avec une spécificité de 10⁹ cpm/ug) à 37 °C. Les filtres ont été soumis à trois étapes de lavage, successivement en présence des trois solutions dont les compositions sont indiquées ci-après : Lavage n° 1 : 5XSSC, 0.1 % SDS, à 25 °C pendant 4 × 15 minutes. Lavage n° 2 : 2XSSC, 0.1 % SDS, à 42 °C pendant 2 × 30 minutes. Lavage n° 3 : 0.1XSSC, 0.1 % SDS, à 65 °C pendant 2 × 30 minutes. Chaque lavage est suivi par une autoradiographie des filtres.

Plusieurs clones positifs ont été détectés après le lavage n° 1 et l'ont encore été après le lavage n° 2. Cependant, tous les signaux disparaissaient après le lavage n° 3. Ceci indique que les clones positifs

n'avaient avec le génome de HIV-1 qu'une faible parenté, néanmoins suffisante pour effectuer la susdite sélection. Les clones positifs ont été repiqués, redéposés sur des plaques et de nouveau hybridés avec la même sonde dans les conditions de stringence correspondant au lavage n° 1. La majorité d'entre-eux étaient encore positifs.

- 5 Les clones ont aussi été sélectionnés en mettant en œuvre une sonde d'ADN humain total dans des conditions de stringence moyenne et par hybridation dans 5X SSC, 5X Denhart, et 40 % de formamide, suivie d'un lavage dans 1X SSC, 0.1 % SDS, à 50 °C. Aucun des clones préalablement positifs n'a été détecté, par conséquent ne correspondait pas à l'ADN répétitif spécifique ou à l'ADNc de l'ARN ribosomal.

- 10 Les clones recombinants M13 positifs ont été cultivés dans un milieu liquide et caractérisés :

(1) Taille de leur insertion :

- 15 Un ADN type simple brin de M13 a été obtenu à partir de chaque clone individuel, et la synthèse du second brin a été conduite avec une séquence initiateur 17-mer M13 et l'enzyme de Klenow. Les insérats ont été excisés à l'aide d'EcoR1 (BOEHRINGER) et analysés par électrophorèse sur gel d'agarose. La plupart des insérats contenaient de 200 à 600 et 200 pb, à l'exception du clone dénommé E2.1, qui avait approximativement une longueur de 2 Kpb.

- 20 (2) Analyse de la séquence nucléotidique :

- Plusieurs clones ont été partiellement séquencés, en utilisant la méthode dideoxy de Sanger et al. décrite dans Proc. Natl. Acad. Sci. 74 :5463-7 (1977), faisant partie de la présente description. Différents clones indépendants contenaient des séquences nucléotidiques similaires, à l'exception des chaînes poly-A à leurs extrémités 3' dont les longueurs étaient différentes. Ces résultats démontrent que ces clones ADNc étaient dérivés dans la matrice d'ARN. L'analyse de séquence détaillée de ces clones ADNc, comprenant l'extrémité 3' du génome de HIV-2, a montré une parenté limitée avec HIV-1.

(3) Hybridation avec l'ARN et l'ADN génomique de HIV-2.

- 30 (a) Obtention de l'ARN génomique de HIV-2 : Un surnageant infecté a été centrifugé (50.000 rotations, 30 minutes). Le culot du dépôt a été resuspendu dans 10 mM Tris pH 7.5, 1 mM EDTA, 0.1 % SDS. L'un des clones d'insertion F1.1 a été marqué et utilisé comme sonde pour l'hybridation avec l'ARN génomique de différents isolats viraux, conformément à la technique de « dot-blot ».

- 35 La technique « dot-blot » comprenait les étapes suivantes :

(i) déposer l'échantillon (lysate HIV-2) en taches sur une membrane de nitrocellulose préalablement trempée dans 20X SSC (3M NaCl, 0.3M de citrate de sodium) et séchée à l'air, (ii) faire cuire la membrane pendant 2 heures à 80 °C, et (iii) effectuer l'hybridation.

- 40 Cette hybridation a été conduite dans des conditions de haute stringence (5X SSC, 5X Denhart, 50 % formamide à 42 °C). Elle a été suivie d'un lavage dans 0.1X SSC, 0.1 % SDS à 65 °C. Dans ces conditions, la sonde hybride fortement aux taches provenant de deux isolats indépendants de HIV-2, incluant le LAV-II ROD, dont l'ADNc cloné était issu. Un faible signal d'hybridation a été détecté avec la tache formée par STLV-III mac (Virus T-Lymphotrope de Singe (également connu comme « SIV ») de type III, macaque), et aucune hybridation n'a été détectée avec les isolats de HIV-1.

- 45 Les expériences de « Southern Blot », mettant en jeu le clone E-2.1 contenant l'insertat de 2 Kb en tant que sonde marquée au ³²P, ne manifestèrent aucune hybridation avec des ADNc de cellules non infectées, mais détectaient des bandes dans des cellules détachées infectées par HIV-2 dans des conditions de forte stringence. HIV-2 montre un polymorphisme à deux niveaux de sa carte de restriction équivalents à ceux des cartes de restriction de HIV-1. Avec de l'ADN cellulaire complet de cellules infectées, deux sortes de signaux sont détectés par la méthode de « Southern Blot » : (1) dans des fractions d'ADN ayant des poids moléculaires PM d'environ 20 kb et plus dans le cas de formes intégrées du virus, et (2) dans les fractions de PM plus faibles (9, 10 kb), dans le cas de virus non intégré au génome.

Ces caractéristiques sont hautement spécifiques d'un rétrovirus.

- 55 Certaines expériences effectuées avec STLV-III (SIV-3) de cellules infectées ont permis de constater que le rétrovirus simien est relativement distant de HIV-2 (le signal est uniquement détecté dans des conditions de faible stringence). Ces expériences montrent que les susdites sondes permettent la détection spécifique de HIV-2.

(4) Sous-clonage de l'ADNc de HIV-2 dans un vecteur plasmidique bactérien :

- 60 Le clone M13 positif, E-2.1 a été sélectionné et sous-cloné dans un vecteur plasmidique. L'ADN du phage M13 (TG 130) recombinant E-2 a été purifié sous forme d'un ADN simple brin (M-13-ROD-E2) contenant l'insertat de 2 kb, contenant la portion 3' du génome de HIV-2 (obtenu à partir de HIV-2 ROD). Cet insertat a été transféré dans le plasmide pSP65, décrit par Melton, D. A. dans 357 Nucleic Acid Res.
65 12 :035-7056 (1984).

Une seconde chaîne a été construite in vitro en présence de la séquence d'initiateur 17 mer (AMERSHAM), des quatre nucléotides A, C, T, G, et de l'ADN polymérase I (Klenow). L'insertat EcoR1 a été excisé par digestion EcoR1 et purifiée sur gel d'agarose, puis ligué à pSP65, lui-même préalablement digéré avec EcoR1. Le mélange de ligation a été utilisé pour transformer la souche E. coli DH1 et des recombinants ont été sélectionnés grâce à leur capacité de résistance à l'ampicilline. Les recombinants identifiés ont été cultivés sur milieu LB (Luria medium) contenant 50 µ/ml d'ampicilline. Ces plasmides recombinants ont été purifiés et contrôlés quant à la présence du fragment inséré correct.

L'un des clones obtenus désigné par la référence pSPE2, a été déposé à la CNM à PARIS, France, sous le n° d'accès I-595 le 5 septembre 1986.

Les inserts dérivés des ADNc de HIV-2 et qui se trouvaient insérés dans la sonde susdite contenaient la séquence de nucléotides qui a été définie plus haut, en rapport avec une partie de E2.

Exemple II

15 Clonage d'un ADNc complémentaire à l'ADN complémentaire à l'ADN génomique de virions de HIV-2.

Des virions HIV-2 ont été purifiés à partir de 5 litres d'un surnageant d'une culture d'une lignée CEM infectée avec un isolat ROD. Un premier brin d'ADNc a été synthétisé au contact de virus purifié sédimenté, en présence d'un initiateur oligo (dT) et en mettant en œuvre une réaction endogène activée par un détergent, selon la technique décrite par Alizon et al., Nature 312: 757-760 (1984). Les hybrides ARN-ADNc ont été purifiés par une extraction par un mélange phénolchloroforme et par une précipitation à l'éthanol. Le second brin d'ADNc a été produit en présence d'ADN polymérase I/RNase H selon la méthode décrite par Gubler et Hoffman Gene 25: 263-269 (1983). La description de cet article est considérée comme faisant partie de la présente description.

L'ADNc double brin a été muni d'extrémités franches en présence d'ADN polymérase T4 en utilisant les constituants d'un kit de synthèse d'ADNc commercialisé par AMERSHAM.

Des adaptateurs (linker) Eco R1 commercialisés par PHARMACIA, ont été fixés à l'extrémité de l'ADNc; l'ADNc ainsi modifié a été inséré après digestion en présence de Eco R1 dans un vecteur de phage déphosphorilé M13tg130 lui-même digéré par Eco R1, également commercialisé par AMERSHAM.

Une bande d'ADNc a été obtenue après transformation de la souche E. coli TG1. Des plaques de recombinants (10^4) ont été triés in situ sur des filtres permettant des répliques par hybridation avec le clone J19 contenant le fragment Hind III de 1,5 kb déjà mentionné plus haut, issu de HIV-1.

Les filtres ont été préhybridés en présence d'un milieu contenant $5 \times$ SSC, $5 \times$ solution DENHARDT, formamide à 25 %, de l'ADN dénaturé de sperme de saumon (100 microgrammes/mml) à 37 °C, pendant 4 heures, puis hybridé pendant 16 heures dans le même tampon ($T_m - 42$ °C) en présence d'un supplément de sonde marquée (4×10^7 cpm), pour fournir une solution finale de tampon d'hybridation contenant 10^6 cpm/ml. Le lavage a été fait avec une solution $5 \times$ SSC, 0,1 % SDS à 25 °C pendant 2 heures (étant entendu que $20 \times$ SSC correspond à une solution NaCl 3M et de citrate de sodium 0,3M). Les plaques répondant positivement ont été purifiées et les ADNc mono-brins de M13 ont été préparés et leurs extrémités ont été séquencées selon la méthode de Sanger et al.

Hybridation d'un ADN de cellules infectées par HIV-1 et HIV-2 et d'ARNs de HIV-1, HIV-2 et de virions SIV respectivement avec une sonde dérivée d'un ADNc cloné de HIV-2.

Les ADNc ont été extraits de cellules CEM infectées produisant de façon continue respectivement HIV-1 et HIV-2. Des échantillons d'ADN de ces deux rétrovirus, digérés pour certains par 20 µg de PstI, non digérés pour d'autres ont été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose à 0,8 % et transféré par la méthode « Southern » sur membrane de nylon. Des petits volumes de surnageant infecté, repris dans un tampon NTE contenant 0,1 % de SDS ayant les mêmes activités de transcriptase inverse ont été déposés sur nitrocellulose, qui avait été trempé auparavant dans une solution $2 \times$ SSC.

Une préhybridation a été faite dans une solution contenant 50 % de formamide, $5 \times$ SSC, $5 \times$ Denhardt, et 100-mg/ml d'ADN de sperme de saumon dénaturé pendant 4 heures à 42 °C. Une hybridation a été conduite dans le même tampon, auquel avait été ajouté 10 % de sulfate de dextran, et 10^6 cpm/ml. d'insertat marqué E2 (activité spécifique 10^6 cpm/µg) pendant 16 heures à 42 °C. Deux lavages ont ensuite été faits avec une solution $0,1 \times$ SSC, 0,1 % SDS pendant 30 mn chacun. Après l'exposition pendant 16 heures avec un écran d'intensification la membrane de Southern Blot est déshybridée dans 0,4 N NaOH, neutralisée et réhybridée dans les mêmes conditions à la sonde HIV-1 marquée avec 10^6 cpm/µg.

Exemple III

Clonage dans le Phage Lambda de l'ADN complet du provirus de HIV-2.

L'ADN des cellules CEM infectées par HIV-1/ROD (figure 2, bandes a et c) est partiellement digéré avec Sau3A. La fraction 9-15 kb a été sélectionnée sur gradient de sucrose à 5-40 % et liguée aux bras

BamHI du vecteur lambda L47.1. Les plaques (2×10^6) obtenues après empaquetage in vitro et dépôt sur souche E. coli LA 101 ont été triées in situ par hybridation avec l'insérat de l'ADNc cloné E2. Approximativement, 10 clones positifs ont été purifiés sur plaque et propagés sur E. coli C600 recBC. Les clones lambda ROD 4, ROD 27 et ROD 35 ont été amplifiés et leurs ADN caractérisés par établissement de leurs cartes de restriction et par hybridation par la méthode de « Southern » avec le clone ADNc de HIV-II dans des conditions stringentes et avec les ondes gag-pol de HIV-1 dans des conditions non stringentes.

La figure 8 présente de façon schématique les structures de 3 des phages recombinants obtenus ROD 4, ROD 27 et ROD 35.

Les parties rectangulaires allongées de ces schémas correspondent à des séquences pro-virales issues des ADNs des cellules CEM initialement infectées, les parties blanches correspondant à des séquences rétrovirales, les parties grisées à des parties des ADNs cellulaires et les parties en noir au LTR dans lesdites fréquences virales.

Les traits fins désignés par les lettres L et R correspondent aux bras issus du vecteur de phage Lambda L47.1 ayant servi au clonage.

Certains des sites des restrictions ont également été indiqués : il s'agit plus particulièrement des sites suivants :

B : BamHI ; E : EcoRI ; H : HindIII ; K : KpnI ; Ps : PstI ; Pv : PvuII ; S : SacI ; X : XbaI.

Ces séquences virales ont des parties en commun avec la séquence E2. Les positions relatives de ces parties déterminées par hybridation avec E2, apparaissent également dans les figures.

ROD 4 est dérivé d'un ADN viral circulaire. ROD 27 et ROD 35 sont dérivés de provirus intégrés dans une structure ADN cellulaire.

Enfin, on voit apparaître dans ces figures les insérats sous-clonés dans les conditions qui ont été indiquées plus haut et leurs positions relatives vis-à-vis des séquences correspondantes de ROD 4, ROD 27 et ROD 35.

Il s'agit plus particulièrement des insérats des plasmides pROD 27-5', pROD 35-3', pROD 4.6, pROD 4.8 et pROD 4.7.

La figure 9 est une représentation des intensités relatives des taches d'hybridation qui ont été réalisées entre ROD-4 et des sous-fragments 1 à 11 respectivement issus des différentes parties d'un ADN à chaîne unique issu de sous-clone de M13 contenant un acide nucléique dérivé du génome entier de LAV. Les positions relatives de ces divers fragments vis-à-vis du génome entier de LAV (déterminé par séquençage) sont indiquées dans la partie inférieure de la figure. Le point 12 correspond à une tache témoin réalisé en mettant en œuvre un ADN témoin du phage Lambda.

Les essais d'hybridation dans la méthode de transfert par tache (dot-blot) ont été réalisés dans les conditions de faible stringence de l'exemple II. En utilisant à titre de sonde, le recombinant Lambda ROD 4 contenant l'ADNc total de HIV 2. Les lavages ont ensuite été faits successivement dans les conditions suivantes : $2 \times$ SSC, 0.1 % SDS à 25 °C. ($T_m - 42$ °C), $1 \times$ SSC, 0.1 % SDS à 60 °C. ($T_m - 20$ °C), et $0.1 \times$ SSC, 0.1 % SDS à 60 °C. ($T_m - 3$ °C).

Les taches représentées ont été obtenues après exposition radiographique pendant 1 nuit.

Exemple IV

Test de diagnostic in vitro de la présence du virus HIV-2 dans un milieu biologique

Matériel et méthodes

Patients

Les patients infectés par HIV-2 ont été sélectionnés parmi des personnes admises à l'hôpital Egas Moniz de LISBONNE pour hospitalisation ou pour consultation, entre septembre 1985 et septembre 1986.

Pour réaliser cette sélection, tous les individus d'origine africaine ou ayant séjourné en Afrique ont subi un test sérologique à la fois pour rechercher la présence d'anticorps contre HIV-1 (immunofluorescence-IFA-et/ou ELISA) et contre HIV-2 (IFA). Seuls les patients pour lesquels on a prouvé sérologiquement l'infection avec HIV-2 ont été retenus dans cette étude.

Isolation du virus

Chez 12 patients, l'isolation de HIV a été conduite comme on le rappelle brièvement. Les lymphocytes périphériques sanguins des patients (PBL) ont été stimulés avec PHA, cultivés en coculture avec des PBLs normaux humains stimulés par PHA et maintenus en présence d'interleukine-2 (IL-2). Les cultures ont été contrôlées afin de repérer la présence éventuelle d'un effet cytopathogénique (CPE) et afin de mesurer l'activité de transcriptase inverse (RT) dans le surnageant.

Test d'immunofluorescence (IFA)

Des plaques IFA ont été préparées comme suit : des cellules MOLT-4 infectées avec HIV-2 ont été lavées 2 fois dans PBS et étalées sur des lames de verre IFA (10^4 cellules par puits), puis séchées à l'air et fixées par de l'acétone à froid. Pour le test IFA, ces cellules ont été soumises à une réaction, le sérum de test étant dilué à 1/10, pendant 45' à 37 °C, ont été lavées, séchées et soumises à une réaction avec de la fluorescéine conjuguée à des IgG, A, M anti-humaines de chèvre (dilué à 1/100) pendant 30 minutes à 37 °C. Après le lavage, les cellules ont été colorées avec du bleu Evans, à 0,006 %, montées dans un mélange de 90 % de glycérol, 10 % de PBS et examinées au microscope à fluorescence.

Elisa

Certains sérums de patients ont été examinés pour déterminer la présence d'anticorps anti-HIV-1 en utilisant les tests sérologiques disponibles dans le commerce sous la dénomination ELAVIA (Pasteur Diagnostics) ou ABBOTT.

Test de radio-immunoprécipitation (RIPA)

Des cellules CEM infectées avec HIV-1 ou HIV-2 ont été cultivées en présence de ^{35}S cystéine (200 microCi/ml) pendant 16 heures. Le surnageant a été recueilli, les particules virales ont été centrifugées et lysées sur un tampon RIPA (Tris-HCl 50mM pH 7.5, NaCl 150mM, EDTA 1mM, 1 % Triton X100®, Sodium deoxycholate 0.1 %, SDS 0.1 %). Pour chaque réaction, 50 microlitres de lysat dilué correspondant à 10^5 cpm ont été mis en réaction avec 5 microlitres d'un sérum test pendant 18 heures à 4 °C. Des complexes immuns ont été liés grâce à une protéine A fixée sur du Sépharose® PHARMACIA lavés, et élués pendant une ébullition de 2 minutes. Les antigènes élués ont été analysés par électrophorèse sur gel SDS-polyacrylamide et par autographie.

Hybridation Dot-blot.

Des virus isolés dans des PBLs de patients ont été centrifugés et lysés dans Tris-HCl 10mM pH 7.5, NaCl 10mM, EDTA 1 mM, SDS 0.5 %. Un microlitre de chaque lysat, correspondant à une activité RT de 50.000 cpm a été déposé sur un support de nitrocellulose. Une hybridation et un lavage ont été réalisés dans des conditions de forte stringence : hybridation dans $6\times$ SSC, $5\times$ Denhart, 50 % de formamide, pendant 18 heures à 42 °C ; et lavage dans $0.1\times$ SSC, 0.1 % SDS à 65 °C. On a utilisé des sondes HIV-1 et HIV-2, marquées au ^{32}p (activité spécifique de 10^8 cpm/microgramme). La sonde HIV-1 correspond au génome complet de l'isolat LAV_{BRU}, et la sonde HIV-2 dérive d'un ADN cloné de 2 kilobases de l'isolat LAV-2_{ROD}.

Résultats

Population des patients

30 patients chez lesquels on décelait une infection par HIV-2 par mise en évidence sérologique ou virale, ont été étudiés. Parmi ces 30 patients on comptait 12 hommes et 18 femmes. La moyenne d'âge était de 35 ans pour un intervalle de 11 à 55 ans. Tous les patients excepté 1, étaient restés plusieurs années en Afrique de l'Ouest : 26 étaient nés et vivaient en Guinée-Bissau et 2 étaient originaires des Iles du Cap-Vert. 1 patient était un garçon de 11 ans de l'Angola, qui avait vécu dans les Iles du Cap-Vert pendant plusieurs années. Le seul européen de la population étudiée était un Portugais de 40 ans qui avait vécu pendant 8 ans au Zaïre, mais démentait tout séjour en Afrique de l'Ouest.

Présentation clinique

Parmi les 30 patients, 17 avaient un SIDA, conformément aux critères reconnus CDC. Le symptôme majeur chez ces patients était la diarrhée chronique, accompagnée dans la plupart des cas d'une perte de poids de plus de 10 kg. en 1 an. Chez 10 patients la diarrhée était associée avec la présence d'une infection intestinale soudaine ; pour 7 cas, l'agent pathogène était le seul *Isospora belli*, 1 patient était atteint uniquement par *Cryptosporidium* et 2 avaient à la fois les 2 agents pathogènes. Dans 3 cas, aucun agent pathogène intestinal inattendu n'a été révélé. Parmi les 17 cas de malades atteints de SIDA, on a diagnostiqué chez 8 des candidoses œsophagiennes. 6 patients atteints du SIDA présentaient des symptômes respiratoires. Une tuberculose pulmonaire a été diagnostiquée chez 2 d'entre eux et une microbactérie différente non identifiée a été décelée chez l'un d'entre eux.

2 patients souffraient d'une aspergillose pulmonaire à la suite d'une tuberculose. 2 autres patients atteints du SIDA présentaient des phases récurrentes de pneumonie sans identification de l'agent pathogène, et 1 patient avait une pneumonie du type *pneumocystis carinii*, qui fut diagnostiquée uniquement post-mortem. Quatre des 17 patients atteints du SIDA avaient un sarcome de Kaposi : dans 3 cas il est apparu comme limité à la peau et chez un autre patient un examen post-mortem a révélé des lésions disséminées au niveau viscéral. Des désordres du système nerveux central sont apparus chez

2 patients atteints du SIDA : 1 avait un lymphome cérébral, et l'autre avait une encéphalite subaiguë de cause inconnue.

4 patients présentaient les symptômes du complexe lié au SIDA (ARC) :

2 avaient des lymphadénopathies diffuses avec fièvre persistante, 1 avait une diarrhée chronique avec perte de poids, et 1 avait des phases récurrentes de bronchopneumonie et des lymphadénopathies multiples.

Parmi les 9 patients restants, 6 n'avaient aucun symptôme rattachable à l'infection par HIV, 1 était atteint uniquement d'une tuberculose pulmonaire, 1 avait uniquement des lymphadénopathies diffuses persistantes et 1 présentait une syphilis neurologique. Pendant la période d'étude de 12 mois, 7 patients sont morts, tous présentant un SIDA.

Etude sérologique

Chaque patient fait l'objet d'au moins un test sérologique pour rechercher la présence d'anticorps contre à la fois HIV-1 et HIV-2. Tous les sérums des patients ont été testés par test IFA afin de repérer les anticorps contre HIV-2 et tous se sont révélés positifs. Parmi eux, 21 furent aussi testés pour les anticorps contre HIV-2 par un test RIPA : tous ont précipité de façon claire la glycoprotéine de haut poids moléculaire de l'enveloppe du virus, désignée par gp140, et 16 d'entre eux ont réagi également avec la protéine majeure du noyau p26, alors qu'une seulement réagit avec une autre protéine virale du noyau, désignée par p16.

Dans ces sérums on a recherché la présence d'anticorps présentant des réactions croisées avec HIV-1 en utilisant les différents tests. Un test IFA a été utilisé pour 24 sérums : 12 sont négatifs, 10 sont faiblement réactifs, et 2 positifs. Dans un test ELISA, 21 sérums ont été testés : 16 étaient négatifs, et 5 étaient positifs. Finalement, on a recherché dans 11 sérums la présence d'anticorps contre les protéines de HIV-1 par la méthode RIPA.

3 d'entre eux n'ont absolument pas réagi, et ceci avec aucune protéine virale, 2 seulement ont précipité avec la protéine p34, issue du gène pol, et 5 ont réagi avec la protéine p25, protéine majeure du noyau. 2 sérums ont réagi seulement faiblement avec la glyco-protéine gp110 de l'enveloppe du virus HIV-1. Ces deux sérums ainsi que tous les sérums positifs lors des tests IFA ou ELISA concernant les anticorps anti HIV-1 ont réagi fortement avec la gp140 de HIV-2 dans un test RIPA, indiquant une infection avec HIV-2 plutôt qu'avec HIV-1. Seulement 1 patient, qui n'est pas inclus dans la population étudiée, a été reconnu sérologiquement comme étant infecté par HIV-1 et non par HIV-2. Ce patient était une femme de 21 ans de l'Afrique Centrale (Ile Sao Tome) présentant un SIDA.

Isolation du virus

L'isolation des virus dans les lymphocytes périphériques du sang a été pratiquée sur 12 patients. Un HIV a été isolé chez 11 d'entre eux, grâce à la présence d'un effet cytopathogénique, et à la mesure d'un pic des particules associées à l'activité de transcriptase inverse dans les surnageants de culture.

Ces 11 isolats ont été identifiés comme étant des isolats de HIV-2 en utilisant la technique d'hybridation « dot-blot ». Les taches virales obtenues à partir de 10 isolats ont montré une hybridation forte dans les conditions stringentes d'hybridation et de lavage avec une sonde HIV-2 dérivée d'un EDNc cloné de HIV-2, alors qu'aucune d'entre-elles n'hybridait avec les sondes HIV-1 dans les mêmes conditions. Un isolat hybridait seulement faiblement avec une sonde HIV-2, mais n'hybridait pas avec une sonde HIV-1.

Evaluation immunologique

13 patients ont été étudiés pour évaluer le nombre de leurs lymphocytes circulant identifiés comme étant des cellules T auxiliaires (helper) (CD4+) et le rapport de : cellules T auxiliaires/cellules T suppresseur. Parmi ces patients, 11 avaient un SIDA : leurs nombres de cellules T auxiliaires étaient de 243 à 300 par microlitre, et leur rapport cellules T auxiliaires/cellules T suppresseur moyen était de 0,25 à 0,15. 1 patient présentait des signes cliniques de ARC, avait un nombre de lymphocytes T helper de 240/microlitre et un ratio de 0,18. Un autre patient, présentant une syphilis neurologique et aucun symptôme lié de façon évidente à HIV, avait un nombre de lymphocytes T helper de 690 par microlitre et un ratio de 0,82.

Discussion

Dans cette étude, l'infection par HIV-2 a été mise en évidence chez 30 patients africains d'Afrique de l'Ouest présentant soit un SIDA, soit des symptômes du complexe ARC ou n'ayant aucun signe clinique rattaché au SIDA. Les résultats permettent néanmoins de conclure que HIV-2 doit être considéré comme un agent étiologique majeur du SIDA chez les patients d'Afrique de l'Ouest. Les résultats sérologiques et viraux qui ont été observés indiquent que l'infection par HIV-2 n'était pas souvent associée avec une infection par HIV-1 parmi ces patients.

En dépit de différences antigéniques et génétiques importantes, HIV-1 et HIV-2 présentent un tropisme similaire pour les lymphocytes T CD4+, ont des effets cytopathogènes similaires, une morphologie similaire, et partagent des épitopes d'immunoréaction communs pour certaines de leurs protéines constitutives.

- 5 Dans la mesure où tous les patients d'Afrique de l'Ouest, infectés avec HIV et étudiés ici ont été reconnus comme étant infectés par HIV-2 alors qu'aucun n'était infecté par HIV-1, le nouveau virus HIV-2 pourrait être la cause majeure du SIDA en Afrique de l'Ouest.

Les symptômes du SIDA liés à HIV-2 ne sont pas différents de ceux du SIDA liés à HIV-1 en Afrique Centrale : Le symptôme le plus commun consiste dans des diarrhées chroniques, avec perte importante
10 de poids, troubles dûs la plupart du temps à *Isospora belli* et/ou *Cryptosporidium*. La fréquence d'autres infections soudaines, telles que des candidoses, des microbactéries (incluant *M. tuberculosis*) et des toxoplasmoses comparable à ce que l'on reconnaissait chez les Africains atteints d'un SIDA lié à HIV-1. La pneumonie du type *Pneumocystis carinii*, considérée comme une complication très commune chez les malades atteints du SIDA aux USA et en Europe, a été décelée seulement une fois lors de notre étude, et
15 des méningites de type cryptococcal n'ont pas été détectées.

Néanmoins, les anomalies immunologiques décelées parmi des patients atteints du SIDA lié à une infection par HIV-2 sont identiques à celles décrites lors de SIDA lié à HIV-1.

Parmi les 30 patients qui possédaient dans leur sérum des anticorps réagissant avec les antigènes HIV-2, seuls 7 d'entre eux avaient des anticorps spécifiques contre HIV-1 détectables par des tests IFA ou
20 ELISA. Lors d'un test RIPA, on observe que ces 7 patients présentent des anticorps réagissant contre les protéines majeures du noyau p25 (HIV-1) ou p26 (HIV-2), qui ont en commun des épitopes fortement immunoréactifs. 5 patients ne présentent pas de tels anticorps : ces 5 patients ont des réponses négatives à des tests ELISA vis-à-vis de HIV-1. 2 d'entre eux ont des réponses négatives à des tests IFA et 3 d'entre eux ont des réponses très faibles. Cependant, bien que certain d'entre eux n'aient pas été totalement
25 étudiés, 9 patients ont été observés qui possédaient dans leur sérum des anticorps de la protéine virale p26 du noyau de HIV-2 et qui présentaient une réaction faible ou une réaction négative à des tests IFA ou ELISA spécifiques de HIV-1. Ces résultats font ressortir l'importance de l'incorporation d'antigène HIV-2 dans des tests sérologiques HIV utilisés en Afrique et peut-être dans d'autres endroits.

Un rétrovirus a été isolé des lymphocytes périphériques de 11 patients. Dans tous les cas la
30 croissance virale a été obtenue en 2 semaines, caractérisée par la présence d'une activité de transcriptase inverse dans le surnageant de culture et par un effet cytopathogénique. Cependant, cet effet cytopathogène est apparu d'importance variable pour les différents isolats : certains isolats présentaient un nombre important de syncytia de grande taille accompagné d'une lyse cellulaire importante, alors que d'autres présentaient seulement peu de syncytia de taille limitée, et affectant la viabilité de la culture.

35 Tous les ARNs sauf celui d'un unique isolat hybrident avec une sonde dérivée d'un ADNc cloné de HIV-2 représentant la terminaison 3' du génome, dans des conditions de fortes stringences. Aucun n'hybride avec une sonde HIV-1 dans les mêmes conditions. Ceci démontre que les isolats infectant ces patients appartiennent au même type de virus. Un isolat seulement hybride mais rarement avec une sonde HIV-2 à la fois dans des conditions de forte et de faible stringence, et n'hybride pas avec HIV-1. Ce virus a
40 cependant été isolé chez un patient possédant dans son sérum des anticorps capables de réagir avec tous les antigènes de HIV-2 lors d'un test RIPA.

D'une façon générale, l'invention concerne, outre le virus HIV-2 et ses variants, tout virus équivalent infectieux pour l'homme présentant des caractéristiques immunologiques propres au HIV-2. D'une façon générale, l'invention concerne tout virus qui, outre les propriétés que possède les virus HIV-2 déposés à la
45 CNCM, présente encore les caractéristiques suivantes.

La cible préférentielle du rétrovirus HIV-2 est constituée par les cellules Leu 3 (ou lymphocytes T4) humaines et pour des cellules « immortalisées » dérivées de ces lymphocytes T4, par exemple les cellules des lignées HUT-78 considérées dans le cadre de cette demande. En d'autres termes, il a un tropisme spécifique pour ces cellules. Il peut être cultivé dans des lignées permanentes du type HUT, CEM, MOLT
50 ou analogue exprimant la protéine T4. Il n'est pas infectieux pour les lymphocytes T8. Il est cytotoxique pour les lymphocytes T4 humains. Le caractère cytopathique des virus HIV-2 à l'égard des lymphocytes T4 se manifeste notamment par l'apparition de cellules multinucléées. Il a une activité de transcriptase inverse nécessitant la présence d'ions Mg^{2+} et présentant une forte affinité pour le poly(adénylate-oligo-déoxythymidylase) (poly(A)-oligo (dT) 12-18). Il a une densité d'environ 1,16 dans un gradient de sucrose.
55 Il a un diamètre moyen de 140 nanomètres et un noyau ayant un diamètre moyen de 41 nanomètres. Les lysats de ce virus contiennent une protéine p26 qui ne croise pas immunologiquement avec la protéine p24 du virus HTLV-I ou du virus HTLV-II. Ces protéines p26 présentent donc un poids moléculaire un peu plus élevée (d'environ 1000) que les p25 correspondantes des HIV-1 et un peu moins élevée (de nouveau de l'ordre d'environ 1000) que les p27 correspondantes des SIV. Les lysats de HIV-2
60 contiennent en outre une protéine p16 qui n'est pas reconnue immunologiquement par la protéine p19 de HTLV-I ou de HTLV-II dans des essais de radioimmunoprécipitation RIPA (abréviation de l'expression anglaise « radioimmunoprecipitation assay »). Ils contiennent en outre une glycoprotéine d'enveloppe ayant un poids moléculaire de l'ordre de 130.000-140.000 qui ne croise pas immunologiquement avec la gp110 du HIV-1, mais qui, par contre, croise immunologiquement avec la glycoprotéine d'enveloppe
65 gp140 de STLV-III. Ces lysats contiennent encore des protéines ou glycoprotéines, marquables par la ^{35}S .

cystéine, ayant des poids moléculaires respectivement de l'ordre de 36.000 et 42.000-45.000. L'ARN génomique de HIV-2 n'hybride pas avec l'ARN génomique de HIV-1 dans des conditions stringentes. Dans des conditions non stringentes, il n'hybride, ni avec la séquence nucléotidique dérivée de HIV-1 et contenant le gène env et le LTR qui le jouxte. En particulier il n'hybride pas avec la séquence de nucléotides 5290-9130 de HIV-1, ni avec des séquences de la région pol du génome de HIV-1, en particulier avec la séquence de nucléotides 2170-2240. Dans des conditions non stringentes, il hybride faiblement avec des séquences de nucléotides de la région de HIV-1, notamment les séquences de nucléotides 990-1070 et 990-1260.

Il est à remarquer que tout rétrovirus infectieux pour l'homme susceptible d'induire un SIDA ayant les propriétés essentielles susdites et dont l'ARN génomique est susceptible de s'hybrider dans les conditions stringentes avec ceux des souches virales de HIV-2 déposées à la C.N.C.M. (ou avec un cADN ou fragment de cADN dérivés de ces ARNs génomiques doit être considéré comme un équivalent de HIV-2.

L'invention concerne encore chacun des antigènes, notamment protéines et glycoprotéines à l'état purifié, tels qu'ils peuvent être obtenus à partir de HIV-2. On parle de protéines ou glycoprotéines « purifiées » lorsque ces protéines ou glycoprotéines ne conduisent respectivement qu'à des bandes uniques en électrophorèse sur gel de polyacrylamide, notamment dans les conditions expérimentales qui ont été indiquées plus haut. Tout procédé approprié de séparation et/ou de purification pour obtenir chacune d'entre elles peut être utilisé. On mentionnera à titre d'exemple de technique pouvant être mise en œuvre celle décrite par R. C. MONTELARO et Coll., J. of Virology, juin 1982, pp. 1029-1038.

D'une façon générale, l'invention concerne tous antigènes, notamment protéines, glycoprotéines ou polypeptides issus d'un HIV-2 et ayant des propriétés immunologiques équivalentes à ceux ou celles du HIV-2. Deux antigènes sont dits « équivalents » dans le cadre de cet exposé, dès lors qu'ils sont reconnus par les mêmes anticorps, notamment d'anticorps isolables à partir d'un sérum obtenu à partir d'un patient ayant fait une infection avec un HIV-2, ou dès lors qu'ils répondent aux conditions « d'équivalence immunologique » indiquées ci-après.

Parmi les polypeptides, protéines ou glycoprotéines équivalents, doivent être rangés des fragments des antigènes qui précèdent (ou des peptides reconstitués par synthèse chimique), dès lors qu'ils donnent lieu à des réactions immunologiques croisées avec les antigènes dont ils sont dérivés. En d'autres termes, l'invention concerne tout polypeptide ayant, en commun avec les susdits antigènes, des épitopes identiques ou semblables, susceptibles d'être reconnus par les mêmes anticorps. Font partie de ce dernier type de polypeptides les produits d'expression de séquences correspondantes des ADNs codant pour les séquences polypeptidiques correspondantes.

Le virus HIV-2 s'est avéré utilisable comme source d'antigènes pour la détection d'anticorps chez toutes personnes ayant été mises en contact avec le virus HIV-2.

D'une façon générale, l'invention concerne toute composition utilisable pour le diagnostic de la présence dans un sérum fluide biologique, notamment de personnes ayant été mises au contact de HIV-2, d'anticorps contre l'un au moins des antigènes de HIV-2. Cette composition peut être appliquée au diagnostic sélectif de la variété correspondante du SIDA, en mettant en œuvre les techniques de diagnostic, telles que décrites dans la demande de brevet européen citée ci-dessus, si ce n'est que l'on utilise des extraits, lysats ou encore antigènes purifiés de HIV-2 au lieu de ceux de HIV-1. A cet égard, l'invention concerne plus particulièrement des compositions contenant l'une au moins des protéines p12, p16, p26, s'agissant des protéines internes, ou l'une au moins des glycoprotéines p36 ou gp140. On mentionnera à titre d'exemples de compositions, celles qui contiennent simultanément :

- la p26 et la gp36,
- la p26, les p36 et gp140,
- les p12, p16 et p26,
- les p16, p26 et gp140...

Il va de soi que ces compositions n'ont que valeur d'exemples. En particulier, l'invention concerne les extraits ou lysats viraux contenant l'ensemble de ces protéines et/ou glycoprotéines ou toutes fractions dont auront au préalable été séparées une ou plusieurs des protéines ou glycoprotéines susdites.

L'invention concerne encore des compositions associant des protéines et/ou glycoprotéines d'un HIV-2, avec des protéines et/ou glycoprotéines d'un HIV-1, par exemple :

- soit des protéines du noyau (core) de HIV-1 et de HIV-2, notamment les p25 d'un HIV-1 et p26 d'un HIV-2, ou encore la p18 d'un HIV-1 et la p16 d'un HIV-2,
- soit des glycoprotéines d'enveloppe d'un HIV-1, et des glycoprotéines d'enveloppe d'un HIV-2, notamment la gp110 de HIV-1 et la gp140 de HIV-2, ou encore la p42 de HIV-1 et la p36 ou p42-45 de HIV-2,
- soit naturellement des mélanges de protéines et/ou glycoprotéines d'un HIV-1 et de protéines et/ou glycoprotéines d'un HIV-2.

De telles compositions, utilisées pour le diagnostic, permettent par conséquent des opérations de diagnostic du SIDA ou des symptômes qui lui sont associés, qui s'étendent sur un plus large spectre des agents étiologiques responsables. Il va sans dire que l'utilisation pour les opérations de diagnostic de compositions qui ne contiennent que des protéines et/ou glycoprotéines de HIV-2 n'en reste pas moins

utile pour des diagnostics plus sélectifs de la catégorie de rétrovirus qui peut être tenue pour responsable de la maladie.

L'invention concerne encore les ADNs ou fragments d'ADNs, plus particulièrement ADNs et fragments d'ADNs clonés obtenus à partir de l'ARN ou de cADNs dérivés de l'ARN du rétrovirus HIV-2.

- 5 L'invention concerne encore particulièrement tous ADNs équivalents, notamment tout ADN présentant des homologies de séquences avec l'ADN du HIV-2, en particulier avec les séquences codant pour les régions env et pol de la souche de HIV-2 déposée à la C.N.C.M., au moins égales à 50 %, de préférence à 70 %, et plus avantageusement encore à 90 %. D'une façon générale, on dira encore que l'invention concerne tout ADN (ou ARN) équivalent capable d'hybrider avec l'ADN ou l'ARN du HIV-2 dans la

10 technique du « spot blot » dans des conditions non stringentes telles que définies ci-dessus.

- L'invention concerne de la même façon les sérums susceptibles d'être produits chez l'animal par inoculation à celui-ci de HIV-2. L'invention concerne donc plus particulièrement les anticorps polyclonaux plus spécifiquement orientés contre chacun des antigènes, notamment protéines ou glycoprotéines du virus. Elle concerne aussi les anticorps monoclonaux qui peuvent être produits par des techniques

15 classiques, ces anticorps monoclonaux étant orientés respectivement plus spécifiquement contre les différentes protéines du HIV-2.

- Ces anticorps polyclonaux ou monoclonaux sont utilisables dans différentes applications. On mentionnera essentiellement leur utilisation pour neutraliser les protéines correspondantes, voir inhiber l'infectivité du virus entier. Ils peuvent également être utilisés, par exemple, pour mettre en évidence des

20 antigènes viraux dans les préparations biologiques ou pour réaliser des opérations de purification des protéines et/ou glycoprotéines correspondantes, par exemple par leur utilisation dans des colonnes de chromatographie d'affinité.

- Il est entendu que, d'une façon générale, la littérature technique disponible (notamment celle dont les références bibliographiques sont rappelées dans le cadre de la présente description) en ce qui

25 concerne le HIV-1 et le virus dénommé HTLV-III doit être considérée comme faisant partie de la présente invention, dès lors que les techniques décrites par cette littérature s'appliquent dans des conditions semblables à l'isolement du virus HIV-2 ou de virus équivalents, à l'obtention à partir de ces virus de leurs différents constituants (notamment protéines, glycoprotéines, polypeptides, acides nucléiques). On peut également faire appel aux enseignements de cette littérature technique pour ce qui est de l'application

30 des différents constituants concernés, notamment à des opérations de diagnostic des formes correspondantes de SLA ou de SIDA.

- La présente invention concerne plus particulièrement un procédé de diagnostic in vitro du SIDA, qui comprend la mise en contact d'un sérum ou d'un autre milieu biologique provenant d'un malade faisant l'objet du diagnostic avec une composition contenant l'une au moins des protéines ou glycoprotéines du

35 HIV-2, ou encore un extrait ou lysat du virus, et la détection de la réaction immunologique. Des exemples de telles compositions ont été indiqués plus haut.

- Des méthodes préférées mettent en jeu par exemple des réactions immunoenzymatiques de type ELISA ou d'immunofluorescence. Les titrages peuvent être des mesures par immunofluorescence directe ou indirecte ou des dosages immunoenzymatiques directs ou indirects.

- 40 Ainsi la présente invention est également relative à des extraits de virus (soit d'un extrait d'un ou plusieurs HIV-2 seulement, soit d'un mélange d'extraits originaires d'un ou plusieurs HIV-2, d'une part, et d'un ou plusieurs HIV-1, d'autre part), ces extraits étant marqués. On peut utiliser tout type de marqueur approprié : enzymatique, fluorescent, radioactif, etc...

De tels titrages comprennent par exemple :

- 45 — le dépôt de quantités déterminées de l'extrait ou des compositions visées conformes à la présente invention dans les puits d'une microplaque de titrage ;
 — l'introduction dans ces puits de dilutions croissantes du sérum contenant essentiellement les anticorps dont la présence doit être détectée in vitro ;
 — l'incubation de la microplaque ;
 50 — le lavage soigneux de la microplaque avec un tampon approprié ;
 — l'introduction dans les puits de la microplaque d'anticorps marqués spécifiques d'immunoglobulines humaines, le marquage étant réalisé par une enzyme choisie parmi celles qui sont capables d'hydrolyser un substrat de telle sorte que ce dernier subit alors une modification de son absorption des radiations, au moins dans une bande de longueurs d'ondes déterminée et
 55 — la détection, de préférence de façon comparative par rapport à un témoin, de l'importance de l'hydrolyse du substrat en tant que mesure des risques potentiels ou de la présence effective de la maladie.

La présente invention est également relative à des nécessaires ou « kits » pour le diagnostic ci-dessus, lesquels comprennent :

- 60 — un extrait ou une fraction plus purifiée des types de virus indiqués ci-dessus, cet extrait ou fraction étant marqué, par exemple de façon radioactive, enzymatique ou immunofluorescence ;
 — des anti-immunoglobulines humaines ou une protéine A (fixée de façon avantageuse sur un support insoluble dans l'eau, tel que des billes d'agarose) ;
 — un extrait de lymphocytes obtenus à partir d'une personne en bonne santé ;
 65 — des tampons et, le cas échéant, des substrats pour la visualisation du marquage.

De ce qui précède, il résulte que l'invention concerne le diagnostic du virus HIV-2 ou d'un variant grâce à la mise en œuvre des sondes décrites précédemment dans un procédé faisant appel à différentes étapes rappelées ci-après, ces étapes étant spécifiquement prévues pour faire apparaître les propriétés caractéristiques du virus HIV-2.

L'invention concerne naturellement aussi l'utilisation des cADNs ou de leurs fragments (ou de recombinants les contenant) en tant que sondes, pour le diagnostic de la présence ou non de virus HIV-2 dans des échantillons de sérums ou d'autres liquides ou tissus biologiques obtenus à partir de patients suspectés d'être porteurs du virus HIV-2. Ces sondes sont de préférence marquées également (marqueurs radio-actifs, enzymatiques, fluorescents, etc.). Des sondes particulièrement intéressantes pour la mise en œuvre du procédé de diagnostic du virus HIV-2 ou d'un variant de HIV-2 peuvent être caractérisées en ce qu'elles comprennent la totalité ou une fraction de l'ADNc complémentaire du génome du virus HIV-2 ou encore notamment les fragments contenus dans les divers clones identifiés ci-dessus. On mentionnera plus particulièrement une fraction de l'ADNc de HIV-2 contenu dans le clone E2, plus particulièrement la séquence de l'extrémité 3' (LTR) et/ou de l'extrémité 5' de la séquence HIV du clone E2 précité, ou encore l'ADNc contenant la région *env*, de l'ADNc du virus HIV-2.

Les sondes mises en œuvre dans ce procédé de diagnostic du virus HIV-2 et dans les kits de diagnostic, ne sont en aucune façon réduites aux sondes décrites précédemment. Elles comprennent au contraire toutes les séquences nucléotidiques issues du génome du virus HIV-2, d'un variant de HIV-2 ou d'un virus proche par sa structure, dès lors qu'elles permettent la détection dans des fluides biologiques de personnes susceptibles de développer un SIDA d'anticorps dirigés contre un HIV-2. Naturellement l'utilisation de séquences nucléotidiques issues d'un HIV-2, initialement infectieux pour l'homme, est néanmoins préférée.

La détection peut être réalisée de toutes façons en soi connues, notamment par une mise en contact de ces sondes soit avec les acides nucléiques obtenus à partir des cellules contenues dans ces sérums ou autres milieux biologiques, par exemple liquides céphalo-rachidiens, salive, etc..., soit avec ces milieux eux-mêmes dès lors que leurs acides nucléiques auront été rendus accessibles à l'hybridation avec ces sondes, et ce dans des conditions permettant l'hybridation entre ces sondes et ces acides nucléiques et par une détection de l'hybridation éventuellement produite. Le susdit diagnostic mettant en jeu des réactions d'hybridation peut également être réalisé à l'aide de mélanges de sondes respectivement originaires d'un HIV-1 et d'un HIV-2, dès lors qu'il n'est pas nécessaire de faire une différence entre le type de virus HIV recherché.

D'une façon générale, le procédé de diagnostic de la présence ou non du virus HIV-2 ou d'un variant dans des échantillons de sérums ou d'autres liquides ou tissus obtenus à partir de patients suspectés d'être porteurs du virus HIV-2 comprend les étapes suivantes :

- 1) la fabrication d'une sonde marquée,
- 2) au moins une étape d'hybridation conduite dans des conditions stringentes, par mise en contact de l'ADN de cellules de l'échantillon du patient suspect avec ladite sonde marquée sur une membrane appropriée,
- 3) le lavage de ladite membrane avec une solution assurant la conservation de ces conditions stringentes de l'hybridation,
- 4) la détection de la présence ou non du virus HIV-2 par une méthode d'immunodétection.

Dans un autre mode de réalisation préféré du procédé selon l'invention l'hybridation précitée est conduite dans des conditions non stringentes et le lavage de la membrane est réalisé dans des conditions adaptées à celles de l'hybridation.

L'invention concerne en particulier les virus HIV-2, caractérisés par le fait que leur ARN viral est en correspondance avec un ADNc dont les régions contenant les gènes *gag* et *env* comportent respectivement les séquences nucléotidiques qui suivent (GAGRODN et ENVRN). Elles résultent du séquençage des régions correspondantes de l'ADNc correspondant au génome de HIV-2 ROD. Elles sont mises en correspondance avec les acides aminés qu'elles codent.

Il est entendu que la référence quelquefois faite pour des raisons de commodités dans la description et même dans les revendications quant aux possibilités d'hybridation entre des ARNs, doit être comprise comme signifiant que ce sont les brins appropriés correspondants dérivés de cADNs eux-mêmes produits à partir de ces ARNs qui sont susceptibles d'hybridation mutuelle.

GAGRODN

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu
ATGGCGCGGAGAACTCCGTCTTGAGAGCGGAAAAAGCAGATGAA

LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
TTAGAAAGAATCAGGTTACGGCCCGCGGAAAGAAAAAGTACAGG

LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
CTAAAACATATTGTGTGGGCAGCGAATAAATTGGACAGATTCCGA

100

LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle
TTAGCAGAGAGCCTGTTGAGTCAAAAGAGGGTTGTCAAAAAATT

LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
CTTACAGTTTTAGATCCAATGGTACCGACAGGTTCAGAAAAATTA

200

LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
AAAAGTCTTTTAAATACTGTCTGCGTCATTTCGTGCATACACGCA

GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
GAAGAGAAAGTGAAGATACTGAAGGAGCAAAACAAATAGTGGCG

300

ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
AGACATCTAGTGGCAGAAACAGGAAGTGCAGAGAAAATGCCAAGC

ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr
ACAAGTAGACCAACAGCACCATCTAGCGAGAAGGGAGGAAATTAC

400

ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
CCAGTGCAACATGTAGGCGGCAACTACACCCATATACCGCTGAGT

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
CCCCGAACCCTAAATGCCTGGGTAAAATTAGTAGAGGAAAAAAG

PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly
TTGGGGCAGAAAGTAGTGCCAGGATTTTCAGGCACTCTCAGAAGGC

500

CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp
TGCACGCCCTATGATATCAACCAAATGCTTAATTGTGTGGCGCAC

HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGluIleIleAsnGluGlu
CATCAAGCAGCCATGCAGATAATCAGGGAGATTATCAATGAGGAA

600

AlaAlaGluTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro
GCAGCAGAAATGGGATGTGCAACATCCAATACCAGGCCCTTACCA

AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr
CGCGGGCAGCTTAGAGAGCCAAGGGGATCTGACATAGCAGGGACA

700

ThrSerThrValGluGluGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln
ACAAGCACAGTAGAAGAACAGATCCAGTGGATGTTTAGGCCACAA

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle
AATCCTGTACCAGTAGGAAACATCTATAGAAGATGCATCCAGATA

800

GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu
GGATTGCAGAAGTGTGTGTCAGGATGTACAACCCGACCAACATCCTA

AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp
GACATAAAACAGGGACCAAAGGAGCCGTTCCAAAGCTATGTAGAT

900

ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal
AGATTCTACAAAAGCTTGAGGGCAGAACAAACAGATCCAGCAGTG

LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro
AAGAATTGGATGACCCAAACACTGCTAGTACAAAATGCCAACCCA

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu
GACTGTAAATTAGTGCTAAAAGGACTAGGGATGAACCCCTACCTTA

1000

GluGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln
GAAGAGATGCTGACCGCCTGTGAGGGGTAGGTGGGCCAGGCCAG

LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro
AAAGCTAGATTAATGGCAGAGGCCCTGAAAGAGGTCATAGGACCT

1100

AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGlnArgLysAlaPheLys
GCCCCATATCCCATTTCGCAGCAGCCCAGCAGAGAAAGGCATTTAAA

CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg
TGCTGGAAGTGTGCAAAGGAAGGGCACTCGGCAAGACAATGCCGA

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis
GCACCTAGAAGGCAGGGCTGCTGGAAGTGTGGTAAGCCAGGACAC

IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu
ATCATGACAAACTGCCCAGATAGACAGGCAGGTTTTTTTAGGACTG

1300

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal
GGCCCTTGGGGAAGAAGCCCCGCAACTTCCCCCTGGCCCAAGTT

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal
CCGCAGGGGCTGACACCAACAGCAGCCCCAGTGGATCCAGCAGTG

AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGlu
GATCTACTGGAGAAATATATGCAGCAAGGAAAAGACAGAGAGAG

1400

GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis
CAGAGAGAGAGACCATAACAAGGAAGTGACAGAGGACTTACTGCAC

LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp
CTCGAGCAGGGGAGACACCATACAGGCAGCCACCAACAGAGGAC

1500

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln
TTGCTGCACCTCAATTCTCTCTTTGAAAAGACCAG

ENVRN

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys
ATGATGAATCAGCTGCTTATTGCCATTTTATTAGCTAGTGCTTGC

LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro
TTAGTATATTGCACCCAATATGTAAGTGTCTTCTATGGCGTACCC

ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn
ACGTGGAAAAATGCAACCATTCCTCTTTGTGCAACCAGAAAT

100

ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp
AGGGTACTTGGGGAACCATACAGTGCTTGCTGACAATGATGAT

TyrGlnGlnIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp
TATCAGGAAATAACTTTGAATGTAACAGAGGCTTTTGATGCATGG

200

AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu
AATAATACAGTAACAGAACAAGCAATAGAAGATGTCTGGCATCTA

PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys
TTCGAGACATCAATAAAACCATGTGTCAAACCTAACACCTTTATGT

300

ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn
GTAGCAATGAAATGCAGCAGCACAGAGAGCAGCACAGGGAACAAC

ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp
ACAACCTCAAAGAGCACAAGCACAACCACAACCACACCCACAGAC

400

GlnGluGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp
CAGGAGCAAGAGATAAGTGAGGATACTCCATGCGCAGCGCAGAC

EP 0 239 425 B1

AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe
AACTGCTCAGGATTGGGAGAGGAAGAAACGATCAATTGCCAGTTC

5 AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGlu
AATATGACAGGATTAGAAAGAGATAAGAAAAACAGTATAATCAA
500
ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr
ACATGGTACTCAAAAGATGTGGTTTGTGAGACAAATAATAGCACA

10 AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle
AATCAGACCCAGTGTACATGAACCATTCGAACACATCAGTCATC
600
ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg
ACAGAATCATGTGACAAGCACTATTGGGATGCTATAAGGTTTAGA

15 TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr
TACTGTGCACCACCGGGTTATGCCCTATTAAGATGTAATGATACC
700
AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer
AATTATTACGGCTTTGCACCCAACTGTTCTAAAGTAGTAGCTTCT

20 ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly
ACATGCACCAGGATGATGGAACGCAAACTTCCACATGGTTTGGC
800
PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis
TTTAATGGCACTAGAGCAGAGAATAGAACATATATCTATTGGCAT

25 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
GGCAGAGATAATAGAACTATCATCAGCTTAAACAAATATTATAAT
900
LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln
CTCAGTTTGCATTGTAAGAGGCCAGGGAATAAGACAGTGAAACAA

30 IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro
ATAATGCTTATGTGAGGACATGTGTTTCACTCCCACTACCAGCCG
1000
IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
ATCAATAAAAGACCCAGACAAGCATGGTGCTGGTTCAAAGGCAAA
1000
TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro
TGGAAGACGCCATGCAGGAGGTGAAGACCCTTGCAAAACATCCC

35 ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla
AGGTATAGAGGAACCAATGACACAAGGAATATTAGCTTTGCAGCG
1100
ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn
CCAGGAAAAGGCTCAGACCCAGAAGTAGCATACATGTGGACTAAC

40 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn
TGCAGAGGAGAGTTTCTCTACTGCAACATGACTTGGTTCCTCAAT
1200
TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle
TGGATAGAGAATAAGACACACCGCAATTATGCACCGTGCCATATA

45 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
AAGCAAATAATTAACACATGGCATAAGGTAGGGAGAAATGTATAT
1300
LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr
TTGCCCTCCCAGGGAAGGGGAGCTGTCTGCAACTCAACAGTAACC

50 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn
AGCATAATTGCTAACATTGACTGGCAAAACAATAATCAGACAAAC

55

60

65

IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 ATTACCTTTAGTGCAGAGGTGGCAGAACTATACAGATTGGAGTTG
 1400
 5 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro
 GGAGATTATAAATTGGTAGAAATAACACCAATTGGCTTCGCACCT
 ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 ACAAAGAAAAAGATACTCTCTGCTCACGGGAGACATACAAGA
 1500
 10 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 GGTGTGTTCTGTAGGGTTCTTGGGTTTTCTCGCAACAGCAGGT
 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 TCTGCAATGGGCGCTCGAGCGTCCCTGACCGTGTCCGCTCAGTCC
 1600
 15 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 CGGACTTTACTGGCCGGGATAGTGCAGCAACAGCAACAGCTGTTG
 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 20 CACGTGGTCAAGAGACAACAAGAACTGTTGCGACTGACCGTCTGG
 1700
 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 CGAACGAAAAACCTCCAGGCAAGAGTCACTGCTATAGACAAGTAC
 25 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 CTACAGGACCAGGCGCGCTAAATTCATGGGGATGTGCGTTTAGA
 1800
 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 CAAGTCTGCCCACTACTGTACCATGGGTTAATGATTCCTTAGCA
 30 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 CTTGACTGGGACAATATGACGTGGCAGGAATGGGAAAAACAAGTC
 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
 35 CGCTACCTGGAGGCAAATATCAGTAAAAGTTTAGAACAGGCACAA
 1900
 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 ATTCAGCAAGAGAAAAATATGTATGAACTACAAAAATTAAATAGC
 40 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 TGGCATATTTTGGCAATTGGTTTCACTTAACCTCCTGGGTCAAG
 2000
 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 45 TATATTCAATATGGAGTGCTTATAATAGTAGCAGTAATAGCTTTA
 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
 ACAATAGTGATATATGTAGTACAAATGTTAAGTAGGCTTAGAAAG
 2100
 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
 50 CGCTATAGGCCTGTTTTCTCTCCCCCCCCGGTTATATCCAACAG
 IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr
 ATCCATATCCACAAGGACCGGGGACAGCCAGCCAACGAAGAAACA
 2200
 55 GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp
 GAAGAAGACGGTGGAAAGCAACGGTGGAGACAGATACTGGCCCTGG
 ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu
 60 CGCATAGCATATATACATTTCTGATCCGCCAGCTGATTCGCCTC
 LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer
 TTGACCAGACTATACAGCATCTGCAGGGACTTACTATCCAGGAGC
 2300
 PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu
 65 TTCCTGACCTCCAACCTCATCTACCAGAATCTCAGAGACTGGCTG

EP 0 239 425 B1

ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGluTrpIleGln
AGACTTAGAACAGCCTTCTTCCAATATGGGTGCGAGTGGATCCAA
2400
GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGluThrLeuAla
GAAGCATTCCAGGCCGCCGCCGAGGGCTACAAGAGAGACTCTTGCG
GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArg
GGCGCGTGCAGGGGCTTGTGGAGGGTATTGGAACGAATCGGGAGG
2500
GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle
GGAATACTCGCGGTTCCAACAAGGATCAGACAGGGAGCAGAAATC
AlaLeuLeu
GCCCTCCTG

Comme déjà indiqué plus haut, l'invention concerne naturellement tous les HIV-2 dont les ARNs présentent des caractéristiques semblables, en particulier des régions gag et env comportant des séquences ayant des homologies de séquence nucléotidique d'au moins 50 %, de préférence 70 % et plus
avantageusement encore 90 % avec les séquences gag et env de HIV-2 ROD.

L'invention concerne plus particulièrement les fragments d'ADNc qui codent respectivement pour les protéines p16, p26 et p12 et qui sont également incluses dans GAGRODN. En particulier elle concerne les séquences s'étendant :

- à partir du nucléotide 1 jusqu'au nucléotide 405 (codant pour p16)
- à partir du nucléotide 406 jusqu'au nucléotide 1155 (codant pour p26) et,
- à partir du nucléotide 1156 jusqu'au nucléotide 1566 (codant pour p12).

Elle concerne aussi plus particulièrement le fragment d'ADNc codant pour la gp140 incluse dans ENVRN et s'étendant à partir du nucléotide 1 jusqu'au nucléotide 2574.

Elle concerne également les séquences de nucléotides qui se distinguent des précédentes par des substitutions de nucléotides mettant à profit la dégénérescence du code génétique, dès lors que ces substitutions n'entraînent pas une modification des séquences en acides aminés que codent lesdites séquences de nucléotides.

De même l'invention concerne les protéines ou glycoprotéines dont les séquences en acides aminés correspondent à celles qui découlent des pages précédentes, ainsi que les peptides équivalents à savoir des peptides se distinguant de ceux qui découlent des pages précédentes par addition, substitution ou délétion d'acides aminés qui n'affectent pas les propriétés immunologiques globales desdits peptides.

L'invention concerne tout particulièrement la glycoprotéine d'enveloppe présentant la séquence en acides aminés qui découle de ENVRN.

L'invention concerne également une composition immunogène caractérisée en ce qu'elle est dosée en antigène, tel que la gp 140 du virus HIV-2, de façon à permettre l'administration de doses unitaires de 10 à 500, notamment du 50 à 100 mg par kg de corps.

A titre indicatif, les poids moléculaires théoriques (PM) des protéines de HIV-2 sont indiqués, en comparaison avec ceux de HIV-1.

PM des protéines de HIV-2		PM des protéines pour HIV-1	
en kd		en kd	
<u>gag</u> complet	58,3	<u>gag</u> complet	55,8
p 16	15	p 18	14,9
p 26	27,6		
p 12	15,8		
<u>env</u>	98,6	<u>env</u>	97,4
<u>env</u> externe	57,4		
<u>env</u> transmem-	41,2		
branaire			

HIV-2 MIR et HIV-2 ROD ont également été déposés à la « National Collection of Animal Cell Cultures » (ECACC) à SALISBURY. (Grande-Bretagne) le 9 janvier 1987 sous les numéros d'accès 87.01.1001 et 87.01.1002 respectivement.



EP 0 239 425 B1

De plus, les plasmides pROD35 et pROD27,5 ont été déposés à la « National Collection of Industrial Bacteria » (NCIB) à ABERDEEN (Grande-Bretagne) le 9 janvier 1987 sous les numéros d'accès respectifs 12.398 et 12.399.

Toutes les publications auxquelles il a été fait référence dans cette description doivent être
5 considérées comme faisant partie de cette description.

Bibliographie

- 1 — F. Barré-Sinoussi et al., Science 220, 868 (1983).
- 10 2 — L. Montagnier et al., In : Human T-cell leukemia or lymphoma viruses (Gallo, R. C., Essex, M. E., Gross, L., eds.) Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 363 (1984).
- 3 — M. Popovic, M. G. Sarngadharan, E. Read, R. C. Gallo, Science 224, 497 (1984).
- 4 — J. Levy et al., Science 225, 840 (1984).
- 5 — P. Sonigo et al., Cell 42, 369 (1985).
- 15 7 — J. W. Curran et al., Science 229, 1352 (1985).
- 8 — A. Ellrodt et al., Lancet i, 1383 (1984).
- 9 — P. Piot et al., Lancet ii, 65 (1984).
- 10 — F. Brun-Vezinet et al., Science 226, 453 (1984).
- 11 — N. Clumeck et al., N. Engl. J. Med. 313, 182 (1985).
- 20 12 — A. B. Rabson and M. A. Martin, Cell 40, 477 (1985).
- 13 — S. Benn et al., Science 230, 949 (1985).
- 14 — M. Alizon, Manuscript in preparation.
- 15 — F. Brun-Vezinet, Unpublished data.
- 16 — M. D. Daniel et al., Science 228, 1201 (1985).
- 25 17 — P. J. Kanki et al., Science 228, 1199 (1985).
- 18 — N. L. Letwin et al., Science 230, 71 (1985).
- 19 — A. Gatzar et al., Blood 55, 409 (1980).
- 20 — D. Klatzmann et al., Science 225, 59 (1984).
- 21 — L. Montagnier et al., Virology 144, 283 (1985).
- 30 22 — J. S. Allan et al., Science 228, 1091 (1985).
- 23 — U. Gübler et B. J. Hoffmann, Gene 25, 263 (1983).
- 24 — F. diMarzo Veronese et al., Science 229, 1402 (1985).
- 25 — V. S. Kalyanaraman et al., Science 218, 571 (1982).
- 26 — I. S. Y. Chen, J. McLaughlin, J. C. Gasson, S. C. Clark and D. W. Golde, Nature 305, 502 (1983).
- 35 27 — F. Barin et al., Lancet ii, 1387 (1985).
- 28 — P. J. Kanki, J. alroy, M. Essex, Science 230, 951 (1985).
- 29 — H. Towbin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 4350 (1979).
- 30 — S. Wain-Hobson, P. Sonigo, O. Danos, S. Cole et M. Alizon, Cell 40, 9 (1985).
- 31 — M. Alizon et al., Nature 312, 757 (1984).
- 40

Revendications (pour les Etats contractants : BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE)

- 45 1. Rétrovirus humain HIV-2 ayant la capacité d'infecter des lymphocytes T4 humains et susceptible de provoquer un SIDA chez l'homme, ce rétrovirus étant constitué par l'un des rétrovirus déposés à la CNCM sous les n° I-502, I-532, I-642 et I-643 et à l'ECACC sous les n° 87011001 et 87011002 (correspondant respectivement aux n° I-502 et I-532) ou un variant de l'un de ces rétrovirus comprenant tous les antigènes qui sont reconnus par les anticorps formés contre les antigènes correspondants de
50 l'un quelconque des rétrovirus ayant fait l'objet des susdits dépôts à la CNCM ou à l'ECACC.
2. Rétrovirus humain selon la revendication 1 caractérisé en ce que son ARN génomique est susceptible de s'hybrider dans des conditions stringentes avec la chaîne complémentaire d'un cADN ou fragment de cADN dérivé de l'ARN génomique de l'un quelconque des rétrovirus déposés à la CNCM sous les n° I-502, I-532, I-642 et I-643 et à l'ECACC sous les n° 87011001 et 87011002 (correspondant
55 respectivement aux n° I-502 et I-532).
3. Rétrovirus humain selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend un ensemble d'antigènes formés par des protéines du noyau (core) ayant des poids moléculaires de l'ordre de 12.000, 16.000 et 26.000 daltons respectivement, des protéines ou glycoprotéines ayant des poids moléculaires respectivement de l'ordre de 36.000 daltons et de l'ordre de 42.000-45.000 daltons et une glycoprotéine
60 majeure d'enveloppe ayant un poids moléculaire de l'ordre de 130.000-140.000 daltons.
4. Rétrovirus humain purifié selon la revendication 1, pathogène pour l'homme et susceptible de provoquer un SIDA, caractérisé par l'ensemble des propriétés suivantes :
 - la cible préférentielle du rétrovirus HIV-2 est constituée par les cellules Leu3 (ou lymphocytes T4) humaines et pour des lignées cellulaires permanentes dérivées de ces lymphocytes T4 ;
 - 65 — il est susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour les lymphocytes T4 humains qu'il infecte ;

De plus, les plasmides pROD35 et pROD27,5 ont été déposés à la « National Collection of Industrial Bacteria » (NCIB) à ABERDEEN (Grande-Bretagne) le 9 janvier 1987 sous les numéros d'accès respectifs 12.398 et 12.399.

Toutes les publications auxquelles il a été fait référence dans cette description doivent être
5 considérées comme faisant partie de cette description.

Bibliographie

- 1 — F. Barré-Sinoussi et al., Science 220, 868 (1983).
- 10 2 — L. Montagnier et al., In : Human T-cell leukemia or lymphoma viruses (Gallo, R. C., Essex, M. E., Gross, L., eds.) Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 363 (1984).
- 3 — M. Popovic, M. G. Sarngadharan, E. Read, R. C. Gallo, Science 224, 497 (1984).
- 4 — J. Levy et al., Science 225, 840 (1984).
- 5 — P. Sonigo et al., Cell 42, 369 (1985).
- 15 7 — J. W. Curran et al., Science 229, 1352 (1985).
- 8 — A. Ellrodt et al., Lancet i, 1383 (1984).
- 9 — P. Piot et al., Lancet ii, 65 (1984).
- 10 — F. Brun-Vezinet et al., Science 226, 453 (1984).
- 11 — N. Clumeck et al., N. Engl. J. Med. 313, 182 (1985).
- 20 12 — A. B. Rabson and M. A. Martin, Cell 40, 477 (1985).
- 13 — S. Benn et al., Science 230, 949 (1985).
- 14 — M. Alizon, Manuscript in preparation.
- 15 — F. Brun-Verzinet, Unpublished data.
- 16 — M. D. Daniel et al., Science 228, 1201 (1985).
- 25 17 — P. J. Kanki et al., Science 228, 1199 (1985).
- 18 — N. L. Letwin et al., Science 230, 71 (1985).
- 19 — A. Gatzar et al., Blood 55, 409 (1980).
- 20 — D. Klatzmann et al., Science 225, 59 (1984).
- 21 — L. Montagnier et al., Virology 144, 283 (1985).
- 30 22 — J. S. Allan et al., Science 228, 1091 (1985).
- 23 — U. Gübler et B. J. Hoffmann, Gene 25, 263 (1983).
- 24 — F. diMarzo Veronese et al., Science 229, 1402 (1985).
- 25 — V. S. Kalyanaraman et al., Science 218, 571 (1982).
- 26 — I. S. Y. Chen, J. McLaughlin, J. C. Gasson, S. C. Clark and D. W. Golde, Nature 305, 502 (1983).
- 35 27 — F. Barin et al., Lancet ii, 1387 (1985).
- 28 — P. J. Kanki, J. alroy, M. Essex, Science 230, 951 (1985).
- 29 — H. Towbin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 4350 (1979).
- 30 — S. Wain-Hobson, P. Sonigo, O. Danos, S. Cole et M. Alizon, Cell 40, 9 (1985).
- 31 — M. Alizon et al., Nature 312, 757 (1984).

Revendications (pour les Etats contractants : BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE)

- 45 1. Rétrovirus humain HIV-2 ayant la capacité d'infecter des lymphocytes T4 humains et susceptible de provoquer un SIDA chez l'homme, ce rétrovirus étant constitué par l'un des rétrovirus déposés à la CNCM sous les n° I-502, I-532, I-642 et I-643 et à l'ECACC sous les n° 87011001 et 87011002 (correspondant respectivement aux n° I-502 et I-532) ou un variant de l'un de ces rétrovirus comprenant tous les antigènes qui sont reconnus par les anticorps formés contre les antigènes correspondants de
50 l'un quelconque des rétrovirus ayant fait l'objet des susdits dépôts à la CNCM ou à l'ECACC.
2. Rétrovirus humain selon la revendication 1 caractérisé en ce que son ARN génomique est susceptible de s'hybrider dans des conditions stringentes avec la chaîne complémentaire d'un cADN ou fragment de cADN dérivé de l'ARN génomique de l'un quelconque des rétrovirus déposés à la CNCM sous les n° I-502, I-532, I-642 et I-643 et à l'ECACC sous les n° 87011001 et 87011002 (correspondant
55 respectivement aux n° I-502 et I-532).
3. Rétrovirus humain selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend un ensemble d'antigènes formés par des protéines du noyau (core) ayant des poids moléculaires de l'ordre de 12.000, 16.000 et 26.000 daltons respectivement, des protéines ou glycoprotéines ayant des poids moléculaires respectivement de l'ordre de 36.000 daltons et de l'ordre de 42.000-45.000 daltons et une glycoprotéine
60 majeure d'enveloppe ayant un poids moléculaire de l'ordre de 130.000-140.000 daltons.
4. Rétrovirus humain purifié selon la revendication 1, pathogène pour l'homme et susceptible de provoquer un SIDA, caractérisé par l'ensemble des propriétés suivantes :
 - la cible préférentielle du rétrovirus HIV-2 est constituée par les cellules Leu3 (ou lymphocytes T4) humaines et pour des lignées cellulaires permanentes dérivées de ces lymphocytes T4 ;
 - 65 — il est susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour les lymphocytes T4 humains qu'il infecte ;



- il a une activité de transcriptase inverse nécessitant la présence d'ions Mg^{2+} et présentant une forte activité pour le poly(adénylate-oligodéoxythymidylate) (poly(A)-oligo(DT) 12-18);
 - il a une densité d'environ 1,16 dans un gradient de sucrose;
 - il a un diamètre moyen de 140 nanomètres et un noyau ayant un diamètre moyen de 41 nanomètres;
 - il peut être cultivé dans des lignées permanentes exprimant la protéine T4;
 - il n'est pas infectieux pour les lymphocytes T8;
 - les lysats de ce virus contiennent une protéine p26 qui ne croise pas immunologiquement avec la protéine p24 du virus HTLV-1 ou du virus HTLV-2;
 - ces lysats contiennent en outre une protéine p16 qui ne croise pas immunologiquement avec la protéine p19 de HTLV-1 ou de HTLV-2 dans des essais de radioimmuno-précipitation;
 - ils contiennent en outre une glycoprotéine d'enveloppe ayant un poids moléculaire de l'ordre de 130.000-140.000 daltons qui ne croise pas immunologiquement avec la glycoprotéine d'enveloppe gp110 du rétrovirus HIV-1;
 - ces lysats contiennent encore une protéine ou glycoprotéine, marquée par la ^{35}S -cystéine, ayant un poids moléculaire de l'ordre de 36.000 daltons;
 - l'ARN génomique de HIV-2 n'hybride pas, dans des conditions stringentes, avec l'ARN génomique de HIV-1 et n'hybride pas, dans des conditions non stringentes, soit avec le gène env, soit avec les LTR de HIV-1;
 - l'ARN génomique de HIV-2 hybride faiblement dans des conditions non stringentes avec les séquences de nucléotides comprenant d'une part les nucléotides 990-1070, d'autre part les nucléotides 990-1260 de la région gag du génome de HIV-1.
5. Rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il ne se multiplie pas de façon chronique dans les lymphocytes de singe macaque rhésus, lorsqu'il a été injecté in vivo et dans des conditions opératoires permettant le développement du virus STLV-III_{mac} telles qu'elles ont été décrites par Letvin et al., Science (1985) vol. 230, 71-75.
6. Rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la séquence comprenant la région R et la région U3 de la séquence comprenant son ARN génomique contient une séquence nucléotidique correspondant à la séquence de nucléotides suivante :

```

30  GTGGAACGGGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTAGTTAAAGGACAG
    GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGCTGAG
35  ACTGCAGGGACTTTCCAGAAAGGGGCTGTAACCAAGGGAGGGACATGGGAG
    GAGCTGGTGGGGAACGCCTCATATTCTCTGTATAATATACCCGCTGCTTG
    CATTGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
40  GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
    CCAGCACTTGGCCGGTGCTGGCAGACGGCCCCACGCTTGCCTGCTTAAAX
    ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

```

7. Rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que son ARN génomique contient une séquence gag correspondant à la séquence de nucléotides :

```

50  CAGRODE
    ATCGGCGGAGAGAACTCCGTGTTGAGAGGGAAGGAGATCAA
55  TTAGAAAGAAATCAGGTTACGGCCCGGCGGAAAGAAAAAGTACAGG
    CTAACACATATTGTGTGGGCAGCGAATAAATTGGACAGATTCCGA
    100
60  TTAGCAGAGAGCCTGTTGAGTCAAAAGAGGGTTGTCAAAAAATT
    CTTACAGTTTTAGATCCAATGGTACCGACAGGTTCAAAAAATT
65  200

```



5 AAAAGTCTTTTAACTACTGCTCTGCGTCATTTGGTGCATACACCGCA
GAAGAGAAAGTGAAGATACTGAAGGAGCAAAACAAATAGTGCGG
300
10 AGCATCTAGTGGCAGAAACAGGAAGTGCAGAGAAAATGCCAAGC
ACAAGTAGACCAACAGCACCATCTAGCGAGAGGGAGGAAATTAG
400
15 CCAGTGCAACATGTAGGCGGAACTACACCCATATACCGCTGAGT
CCCCGAACCTAAATGCCTGGGTAAAAATTAGTAGAGGAAAAAAG
20 TTCGGGGCAGAAAGTAGTGCCAGGATTTGAGGCACTCTCAGAAGGC
300
25 TGCACGGCCCTATGATATCAACCAAATGCTTAATTGTGTGGGGGAC
CATCAAGCAGCCATGCAGATAATCAGGGAGATTATCAATGAGGAA
600
30 GCAGCAGAATGGGATGTGCAACATCCAATACCAGGCCCTTACCA
GGGGGGCAGCTTAGAGAGCCAAAGGGGATCTGACATAGCAGGGACA
700
35 ACAAGCACAGTACAACAACAGATCCAGTGGATGTTTAGGCCACAA
AATCCTGTACCAGTAGCAACATCTATAGAAGATGGATCCAGATA
800
40 GGATTGCAGAAGTGTGTCAGGATGTACAACCCGACCAACATCCTA
GACATAAAACAGCGACCAAGGAGCCGTTCCAAAGCTATGTAGAT
900
45 AGATTCTACAAAAGCTTGAGGGCAGAACAAACAGATCCAGCAGTG
AAGAATTGGATGACCCAAACACTGCTAGTACAAAATGCCAACCCA
50 GACTGTAAATTAGTGCTAAAAGGACTAGGGATGAACCTACCTTA
1000
55 GAAGAGATGCTGACCGCCTGTCAGGGGGTAGCTGGGGCAGGCCAG
AAAGCTAGATTAAATGCCAGAGGCCCTGAAAGAGGTATAGGACCT
1100
60 GCCCCTATCCCATTCGCAGCAGCCGAGCAGAGAAAGGCATTAAAA
TGCTGGAAGTGTGAAAGGAAGGGCACTCGGCAAGACAATGCCGA
1200
65



5 GCACCTAGAAGGCAGGGCTGCTGGAAGTGTGGTAAGCCAGGACAC
 ATCATGACAAACTGCCCAGATAGACAGGCAGGTTTTTTAGGACTG
 1300
 10 GGGCCCTTGGGAAAAGAAGCCCCGCAACTTCCCCCTGGCCCAAGTT
 CCGCAGGGGCTGACACCAACAGCAGCCCCAGTGGATCCAGCAGTG
 15 GATCTACTGGAGAAATATATCCAGCAAGGGAAGACAGAGAGAG
 1400
 CAGAGAGAGAGACCATACAAGGAAGTGACAGAGGACTTACTGCAC
 20 CTCGAGCAGGGGAGACACCATACAGGCAGCCACCAACAGAGGAC
 1500
 TTGCTGCACCTCAATTCTCTCTTTGCAAAAAGCCAG

8. Rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que son ARN génomique contient une séquence env correspondant à la séquence de nucléotides :

30 **ENVEN**
 ATGATGAATCAGCTGCTTATTGCCATTTTATTAGCTAGTGCTTGC
 35 TTAGTATATTGCACCCAATATGTAAGTGTCTTCTATGGCGTACCC
 40 ACGTGGA AAAATGCAACCATTCCCCTCTTTGTGCAACCAGAAAT
 100
 AGGCATACTTGGGGAACCATACAGTGCTTGCCTGACAATGATGAT
 45 TATCAGGAATAACTTTGAATGTAACAGAGGCTTTTGATGCATGG
 200
 AATAATACAGTAACAGAACCAAGCAATAGAAGATCTCTGGCATCTA
 50 TTGGAGACATCAATAAAACCATGTCTCAAACTAACACCTTTATGT
 300
 55 GTAGCAATGAAATGCAGCAGCACAGAGCAGCAGGGAACAAC
 ACAACCTCAAAGAGCACAAGCACAACCACAACCACACCCACAGAG
 400
 60 CAGGAGCAAGAGATAAGTGAGGATACTCCATGCGCAGGCGCAGAC
 65 AACTGCTCAGGATTGGGAGAGGAAGAAACGATCAATTGCCAGTTC

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

AAATGACAGGATTAGAAAGAGATAAGAAAAACAGTATAATGAA
500
ACATCGTACTCAAAAGATGTGGTTTGTGAGACAAATAATAGCACA
AATCAGACCCAGTGTACATGAACCATTGCAACACATCAGTCATC
600
ACAGAATCATGTGACAAGCACTATTGGCATGCTATAAGGTTTACA
TACTGTGCACCACCGGTTATGCCCTATTAAGATGTAATGATACC
700
AATTATTACGGCTTTGCCACCAACTGTTCTAAAGTAGTAGCTTCT
ACATGCACCAGGATGATGGAACGCAAACTTCCACATGGTTTGGC
800
TTTAATGGCACTAGAGCAGAGAATAGAACATATATCTATTGGCAT
GGCAGAGATAATAGAACTATCATCAGCTTAAACAAATATTATAAT
900
CTCAGTTTGCATTGTAAGAGGCCAGGGAATAAGACAGTGAACAA
ATAATGCTTATGTGAGGACATGTGCTTCACTCCCACTACCAGCCG
ATCAATAAAAGACCCAGACAAGCATGGTGCTGCTTCAAAGGCAAA
1000
TGGAAAGACGCCATGCAGGAGGTGAAGACCCTTGCAAAACATCCG
AGGTATAGAGGAACCAATGACACAAGCAATATTAGCTTTGCAGCG
1100
CCAGGAAAAGGCTCAGACCCAGAAGTAGCATACATGTGGACTAAG
TGCAGAGGAGAGTTTCTCTACTGCAACATGACTTGGTTCTCAAT
1200
TGGATAGAGAATAAGACACACCGCAATTATGCACCGTGCCATATA
AAGCAATAATTAACACATGGCATAAGCTAGGAGAAATGTATAT
1300
TTGCCTCCAGGGAAGGGGAGCTGTCTGCAACTCAACAGTAACC
AGCATAATTGCTAACATTGACTGGCAAAACAATAATCAGACAAAC
ATTACCTTTAGTGCAGAGGTGGCAGAACTATACAGATTGGAGTTG
1400
GCAGATTATAAATTGCTAGAAATAACACCAATTGGCTTGGACCT



EP 0 239 425 B1

ACAAAAGAAAAAGATACTCTCTGCTCACGGCAGACATACAAGA
1500

GGTGTGTTTCGTGCTAGGGTTCTTGGGTTTTCTCGCAACAGCAGGT

TCTGCAATGGGCGCTCGAGCGTCCCTGACCGTGTGGCTCAGTCC
1600

CGGACTTTACTGGCCGGGATAGTGCAGCAACAGCAACAGCTGTTG

GACGTGCTCAAGAGACAACAAGAACTGTTGGCACTGACCGTCTGG
1700

GGAACGAAAAACCTCCAGGCAAGAGTCACTGCTATAGAGAAGTAC

CTACAGGACCAGCGCGGCTAAATTCATGGGGATGTGCGTTTAGA
1800

CAAGTCTGCCACACTACTGTACCATGGGTTAATGATTCTTAGCA

CCTGACTGGGACAATATGACGTGGCAGGAATGGGAAAAACAAGTC

CGCTACCTGGAGGCAATATCAGTAAAAGTTAGAACAGGCACAA
1900

ATTACGCAAGAGAAAAATATGTATGAACTACAAAAATTAAATAGC

TGGGATATTTTTGGCAATTGGTTTGACTTAACCTCCTGGGTCAAG
2000

TATATTCAATATGGAGTGCTTATAATAGTAGCAGTAATAGCTTTA

AGAATAGTGATATATGTAGTACAAATGTTAAGTAGGCTTAGAAAG
2100

GGCTATAGGCCTGTTTTCTCTTCCCCCCCCGGTTATATCCAACAG

ATCCATATCCACAAGGAACGGGACAGCCAGCCAAACGAAGAAACA
2200

GAAGAAGACGGTGGAAAGCAACGGTGCAGACAGATACTGGCCCTGG

CGGATAGCATATATACATTTCCTGATCCGCAGCTGATTGGCCTC

TTGACCAGACTATACAGCATCTGCAGGGACTTACTATCCAGGAGC
2300

TTCTGACCTTCCAACCTCATCTACCAGAATCTCAGAGACTGGCTG

AGACTTAGAACAGCCTTCTTGCAATATGGGTGGGAGTGGATCQAA
2400

GAAGCATTCCAGGCCGCCGGAGGGCTACAAGAGAGACTCTTGGC



CGCGCGTGCACGGCGCTTGTGCGAGGGTATTGGAACGAATCGGGAGG
 2500
 CGAATACTCGCGGTTCCAAGAAGCATCAGACAGGGAGCAGAAATC
 5
 CCCCTCTG

9. Rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que son ARN n'hybride pas dans des conditions stringentes avec l'ARN génomique de HIV-1 et n'hybride pas, dans des conditions non stringentes, avec le gène env et le LTR qui le jouxte, plus particulièrement avec la séquence de nucléotides 5290-9130, de HIV-1, et n'hybride pas, dans des conditions non stringentes, avec des séquences de la région pol du génome de HIV-1, en particulier avec la séquence de nucléotides 2170-2240.

10. Antigène purifié du rétrovirus HIV-2 ayant les caractéristiques immunologiques de la protéine p12 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, et ayant un poids moléculaire de l'ordre de 12.000 daltons.

11. Antigène purifié du rétrovirus HIV-2 ayant les caractéristiques immunologiques de la protéine p16 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 et ayant un poids moléculaire de l'ordre de 16.000 daltons.

12. Antigène purifié du rétrovirus HIV-2, ayant les caractéristiques immunologiques de la protéine p26 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 et ayant un poids moléculaire de l'ordre de 26.000 daltons.

13. Antigène purifié, du rétrovirus HIV-2 ayant les caractéristiques immunologiques de la glycoprotéine gp36 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 et ayant un poids moléculaire de l'ordre de 36.000 daltons.

14. Antigène purifié, du rétrovirus HIV-2 ayant les caractéristiques immunologiques de la protéine p42 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 et ayant un poids moléculaire de l'ordre de 42.000-45.000 daltons.

15. Antigène purifié, du rétrovirus HIV-2 ayant les caractéristiques immunologiques de la glycoprotéine gp140 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 et ayant un poids moléculaire de l'ordre de 130.000-140.000 daltons.

16. Antigène ayant la séquence d'acides aminés ci-après ou partie de cette séquence dès lors qu'elle donne lieu à une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2, selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment lorsque cet antigène est mis en contact avec un sérum d'un patient infecté avec HIV-2 :

ArgLysAlaPheLys
 40 CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg
 1200
 AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis
 45 IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu
 1300
 50 GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal
 ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal
 55 AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln
 1400
 60 GlnArgGlnArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis
 LeuGlnGlnGlyGlnThrProTyrArgGluProProThrGluAsp
 1500
 65 LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln





EP 0 239 425 B1

17. Antigène ayant la séquence d'acides aminés ci-après ou une partie de cette séquence, dès lors qu'elle donne lieu à une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2, selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment lorsque cet antigène est mis en contact avec un sérum d'un patient infecté avec HIV-2 :

5 MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu
LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
10 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
15 100
LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle
LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
20 200
LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
25 300
ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
30 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr
400

35 18. Antigène ayant la séquence d'acides aminés ci-après ou une partie de cette séquence, dès lors qu'elle donne lieu à une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2, selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment lorsque cet antigène est mis en contact avec un sérum d'un patient infecté avec HIV-2 :

40 ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
45 PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly
50 500
CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp
HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGlnIleIleAsnGluGlu
55 600
AlaAlaGluTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro
AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr
60 700
ThrSerThrValGlnGlnGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln
65

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle
800
GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu
AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp
900
ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal
LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro
1000
AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu
1000
GluGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln
LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro
1100
AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln

30 19. Antigène ayant la séquence d'acides aminés ci-après, ou partie de cette séquence, dès lors qu'elle donne lieu à une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2, selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment lorsque cet antigène est mis en contact avec un sérum d'un patient infecté avec HIV-2 ;

35
ENVRN
MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys
40
LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro
45
ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn
100
ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp
50
TyrGlnGlnIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp
200
AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu
55
PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys
300
ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn
60
ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp
65
400



GlnGluGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp
 AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe
 AsnHetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGlu
 500
 ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr
 AsnGlnThrGlnCysTyrHetAsnEisCysAsnThrSerValIle
 600
 ThrGluSerCysAspLysEisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg
 TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr
 700
 AsaTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer
 ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly
 800
 PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis
 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
 900
 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln
 IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerEisTyrGlnPro
 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
 1000
 TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro
 ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla
 1100
 ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrHetTrpThrAsn
 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnHetThrTrpPheLeuAsn
 1200
 TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle
 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
 1300
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr



SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn
 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 1400
 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro
 ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 1500
 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 1600
 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 1700
 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 1800
 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
 1900
 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 2000
 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
 2100
 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
 IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr
 2200
 GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp
 ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu
 LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer
 2300



PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu

ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGlnTrpIleGln

2400
GlnAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGlnThrLeuAla

10 GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGlnArgIleGlyArg

2500
GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle

15 AlaLeuLeu

20 20. Composition pour le diagnostic in vitro de la présence dans un prélèvement biologique humain, d'anticorps contre un virus HIV-2 humain susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour les lymphocytes T4, caractérisée en ce qu'elle contient au moins un antigène, notamment une protéine ou une glycoprotéine du rétrovirus HIV-2 selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, ou au moins un antigène selon l'une quelconque des revendications 10 à 19.

25 21. Composition selon la revendication 20, caractérisée en ce qu'elle consiste en un extrait total ou en un lysat du susdit rétrovirus.

22. Composition selon la revendication 20, caractérisée en ce que l'antigène consiste en au moins l'une des protéines internes du noyau (core) du susdit virus, choisies parmi les protéines ou glycoprotéines p12, p16 et p26, ayant respectivement des poids moléculaires de l'ordre de 12.000, 16.000 et 26.000 daltons.

30 23. Composition selon la revendication 20 ou la revendication 21, caractérisée en ce qu'elle contient une glycoprotéine gp140 ayant un poids moléculaire de l'ordre de 130.000 à 140.000 daltons.

24. Composition selon la revendication 20 ou la revendication 21, caractérisée en ce qu'elle contient une glycoprotéine gp36 ayant un poids moléculaire de l'ordre de 36.000 daltons.

35 25. Composition pour le diagnostic in vitro dans un prélèvement biologique humain, d'anticorps contre un rétrovirus humain susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour les lymphocytes T4 humains, comprenant au moins un antigène de HIV-1, caractérisée en ce qu'elle comprend également au moins un antigène de HIV-2, selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment une protéine ou une glycoprotéine de ce rétrovirus HIV-2 ou au moins un antigène selon l'une quelconque des revendications 10 à 19.

40 26. Composition selon la revendication 25, caractérisée en ce qu'elle contient des protéines du noyau (core) de HIV-1 et de HIV-2.

27. Composition selon la revendication 26, caractérisée en ce qu'elle contient les p25 d'un HIV-1 et p26 d'un HIV-2.

45 28. Composition selon la revendication 26, ou la revendication 26, caractérisée en ce qu'elle contient la p18 d'un HIV-1 et la p16 d'un HIV-2.

29. Composition selon la revendication 25, caractérisée en ce qu'elle contient des glycoprotéines d'enveloppe d'un HIV-1 et des glycoprotéines d'enveloppe d'un HIV-2.

50 30. Composition selon la revendication 29, caractérisée en ce qu'elle contient la gp110 de HIV-1 et la gp140 de HIV-2.

31. Composition selon la revendication 29 ou la revendication 30, caractérisée en ce qu'elle contient la gp42 de HIV-1 et la p36 de HIV-2.

55 32. Composition selon la revendication 26, caractérisée en ce qu'elle contient des mélanges d'une part, d'antigènes de protéines ou de glycoprotéines de HIV-1 ou de l'ensemble, d'autre part, des mélanges de protéines ou de glycoprotéines de HIV-2 ou des deux à la fois.

60 33. Méthode pour la détection in vitro de la présence d'anticorps induits chez l'homme infecté par un rétrovirus humain HIV-2 dans un échantillon biologique humain, tel qu'un sérum et, plus particulièrement pour le diagnostic in vitro d'un SLA ou SIDA potentiel ou existant dû à un tel rétrovirus et provenant de la personne faisant l'objet du diagnostic, caractérisée en ce que l'on met en contact cet échantillon biologique avec un antigène reconnu par un anticorps induit chez l'homme infecté par un rétrovirus humain HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, dans des conditions autorisant la formation d'un composé immunologique entre cet antigène et ledit anticorps et en ce que l'on détecte le conjugué immunologique éventuellement formé entre cet anticorps et l'antigène mis en œuvre.

65 34. Méthode selon la revendication 33, caractérisée en ce que l'échantillon biologique est mis en



contact avec un antigène selon l'une quelconque des revendications 10 à 19 ou une composition selon l'une quelconque des revendications 20 à 24 dans des conditions autorisant la formation d'un composé immunologique entre cet antigène et lesdits anticorps et en ce que l'on détecte le conjugué immunologique éventuellement formé entre ces anticorps anti-HIV-2 et l'antigène mis en œuvre.

5 35. Méthode selon la revendication 34, caractérisée en ce que l'on réalise la détection dudit conjugué immunologique en faisant réagir le conjugué immunologique éventuellement formé avec un réactif marqué formé soit par des anticorps anti-immunoglobulines humaines, soit par une protéine A bactérienne et en ce que l'on détecte le complexe formé entre le réactif et le susdit conjugué immunologique.

10 36. Méthode pour la détection in vitro de la présence d'anticorps reconnaissant des antigènes d'un rétrovirus humain susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour les lymphocytes T4 humains, dans un échantillon biologique humain, tel qu'un sérum, et plus particulièrement pour le diagnostic in vitro d'un SLA ou SIDA potentiel ou existant dû à un rétrovirus humain caractérisée en ce que l'on met en contact cet échantillon biologique provenant de la personne faisant l'objet du diagnostic avec un mélange
15 d'antigènes capables de donner une réaction immunologique spécifique avec les anticorps contre d'une part un rétrovirus humain HIV-2 susceptible d'avoir un effet cytopathogène tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, d'autre part un rétrovirus humain HIV-1 et, en ce que l'on détecte le conjugué immunologique éventuellement formé entre l'un au moins de ces antigènes et lesdits anticorps.

20 37. Méthode selon la revendication 36, caractérisée en ce que l'échantillon biologique provenant de la personne faisant l'objet du diagnostic est mis en contact avec un mélange d'antigènes issus à la fois de HIV-1 et d'un HIV-2, selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment avec une composition selon l'une quelconque des revendications 26 à 32 et en ce que l'on détecte le conjugué immunologique éventuellement formé entre l'un au moins de ces antigènes et lesdits anticorps.

25 38. Nécessaire ou kit pour la détection d'anticorps contre un rétrovirus susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour l'homme, du type HIV-2 dans un échantillon biologique, notamment d'un porteur éventuel de ces anticorps, caractérisé en ce qu'il comprend :

— au moins un antigène selon l'une quelconque des revendications 10 à 19 ou une composition telle que définie dans l'une quelconque des revendications 20 à 32, et 34

30 — des moyens pour détecter le conjugué immunologique résultant de la réaction immunologique entre l'antigène et ledit échantillon biologique.

39. Nécessaire ou kit selon la revendication 38, caractérisé en ce que les moyens pour détecter le conjugué immunologique formé comprennent des anti-immunoglobulines humaines ou une protéine A et des moyens pour détecter le complexe formé entre les anticorps anti-HIV-2 contenus dans le conjugué immunologique détecté.

35 40. Nécessaire ou kit pour le diagnostic in vitro de la présence d'anticorps contre un rétrovirus cytopathogène pour des lymphocytes T4 humains, notamment d'un porteur éventuel de ces anticorps, caractérisé en ce qu'il comprend :

— un mélange d'au moins un antigène de HIV-1 et d'au moins un antigène de HIV-2, notamment une composition telle que définie dans l'une quelconque des revendications 25 à 32,

40 — des moyens pour détecter le conjugué immunologique résultant de la réaction immunologique entre les antigènes et les anticorps du fluide biologique.

41. Composition immunogène contenant une glycoprotéine d'enveloppe du rétrovirus humain HIV-2, tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, telle que la gp140 de ce rétrovirus, ou une partie de cette glycoprotéine capable d'induire des anticorps contre HIV-2 en association avec un
45 véhicule pharmaceutiquement acceptable, approprié à la constitution de vaccins contre HIV-2.

42. Composition selon la revendication 41, caractérisée en ce qu'elle contient au moins une partie immunogène d'une glycoprotéine contenant une ossature protéique ayant la séquence suivante, cette partie immunogène étant capable d'induire des anticorps contre un rétrovirus humain HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9 :

ENVEN

55 HecHetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys

LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro

60 ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn

100 ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp



TyrGlnGlnIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp

200

AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu

PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys

300

ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn

ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp

400

GlnGlnGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp

AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe

AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGlu

500

ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr

AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle

600

ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg

TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr

700

AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer

ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly

800

PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis

GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn

900

LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln

IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro

IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys

1000

TrpLysAspAlaMetGlnGlnValLysThrLeuAlaLysHisPro

ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla

1100



ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn
 5 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn
 TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle
 10 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr
 15 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn
 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 20 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro
 ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 25 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerIleThrValSerAlaGlnSer
 30 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 35 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 40 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 45 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 50 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 55
 60
 65



ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys

2100
GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr

2200
GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp

ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu

LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer

2300
PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu

ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGlnTrpIleGln

2400
GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGlnThrLeuAla

GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGlnArgIleGlyArg

2500
GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGlnIle

AlaLeuLeu

43. Composition immunogène selon la revendication 41 ou la revendication 42, caractérisée en ce qu'elle est dosée en antigène de façon à permettre l'administration d'une dose unitaire de 10 à 500, notamment de 50 à 100 microgrammes par kilogramme de corps.

44. Anticorps reconnaissant spécifiquement un antigène d'un rétrovirus HIV-2, selon l'une quelconque des revendications 1 à 9.

45. Anticorps selon la revendication 44, caractérisé en ce qu'il est monoclonal.

46. Acide nucléique, le cas échéant marqué, dérivé d'une partie au moins de l'ARN du virus HIV-2 ou de l'un de ses variants, tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, caractérisé par sa capacité d'hybridation avec l'ARN dudit virus HIV-2 et par l'absence d'hybridation dans les conditions stringentes avec les sondes 1 à 4 comprenant respectivement les nucléotides 990-1070, 990-1260, 2170-2240, 3370-3640 de l'ADN dérivé du génome de HIV-1.

47. Acide nucléique selon la revendication 46, contenant une partie au moins d'une séquence d'ADNc capable de s'hybrider avec l'ARN génomique entier d'un rétrovirus HIV-2 selon une quelconque des revendications 1 à 9, et ne s'hybridant pas dans les conditions stringentes avec les sondes dont les fragments d'ADN dérivés du génome de HIV-1 respectivement constitués de fragments délimités par les nucléotides 990-1070, 990-1260, 2170-2240, 3370-3640 de l'ADN dérivé du génome de HIV-1.

48. Acide nucléique selon la revendication 46, caractérisé en ce qu'il contient la séquence de nucléotides :

GTGGAAGGCGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTTAGTTAAAGGACAG
GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGCTGAG
ACTGCAGGGACTTTCCAGAAGGGGCTGTAACTAAGGGAGGGACATGGGAG
GAGCTGGTGGGGAACGGCTCATATTCTCTGTATAATATACCCGCTGCTTG
CATTTGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
CCAGCACTTGGCCGGTGTGTCAGACGGCCCCACGCTTGCTGCTTAAAA
ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA



49. Acide nucléique selon la revendication 46, caractérisé en ce qu'il contient une séquence nucléotidique codant pour tout ou partie de la séquence d'acides aminés indiquée ci-après, cette séquence ou partie de séquence d'acides aminés ayant la capacité de donner une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, lorsque cette séquence d'acides aminés est mise en contact avec un sérum d'un patient infecté avec un rétrovirus HIV-2 :

CACRODN

10 MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu
 15 LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
 20 100
 LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle
 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
 25 200
 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
 30 GlnGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
 300
 ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
 35 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr
 400
 ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
 40 ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
 45 PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly
 500
 CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp
 50 HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGluIleIleAsnGluGln
 600
 AlaAlaGluTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro
 55 AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr
 700
 ThrSerThrValGluGluGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln
 60 AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle
 800
 65



GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu
 AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp
 ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal
 LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro
 AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu
 GluGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln
 LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro
 AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGlnArgLysAlaPheLys
 CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg
 AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis
 IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu
 GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal
 ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal
 AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGlu
 GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis
 LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp
 LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

50. Acide nucléique selon la revendication 46, caractérisé en ce qu'il contient une séquence
 nucléotidique codant pour une partie au moins de la séquence d'acides aminés indiquée ci-après, cette
 séquence d'acides aminés étant capable de donner une réaction immunologique spécifique avec des
 anticorps contre un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9,
 lorsque cette séquence d'acides aminés est mise en contact avec un sérum d'un patient infecté avec un
 rétrovirus HIV-2.

ArgLysAlaPheLys
 CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200



AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis
 IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu
 GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal
 ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal
 AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln
 GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis
 LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp
 LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

51. Acide nucléique selon la revendication 46, caractérisé en ce qu'il contient une séquence nucléotidique codant pour tout ou partie de la séquence d'acides aminés indiquée ci-après, la séquence codée d'acides aminés ayant la capacité de donner une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, lorsqu'elle est mise en contact avec un sérum d'un patient infecté avec un rétrovirus HIV-2 :

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln
 LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
 LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGlnGlyCysGlnLysIle
 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
 GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
 ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr

52. Acide nucléique selon la revendication 46, caractérisé en ce qu'il contient une séquence nucléotidique codant pour tout ou partie de la séquence d'acides aminés indiquée ci-après, la séquence codée d'acides aminés ayant la capacité de donner une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, lorsqu'elle est mise en contact avec un sérum d'un patient infecté spécifiquement avec un rétrovirus HIV-2 :



ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys

PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly

500
CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp

HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGluIleIleAsnGlnGln

600
AlaAlaGlnTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro

AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

700
ThrSerThrValGlnGlnGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle

800
GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp

900
ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal

LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

1000
GluGlnMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro

1100
AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln

53. Acide nucléique selon la revendication 46, caractérisé en ce qu'il contient une séquence nucléotidique codant pour tout ou partie de la séquence d'acides aminés indiquée ci-après, la séquence codée d'acide aminé ayant la capacité de donner une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, lorsqu'elle est mise en contact avec un sérum d'un patient infecté avec un rétrovirus HIV-2 :

INVRSE

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys

LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro



ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn
 100
 ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp
 5 TyrGlnGluIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp
 200
 AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu
 10 PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys
 15 ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn
 300
 ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp
 20 GlnGluGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp
 400
 25 AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe
 AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGlu
 30 300
 ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr
 35 AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle
 600
 ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg
 40 TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr
 700
 45 AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer
 ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly
 800
 50 PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis
 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
 900
 55 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln
 IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro
 60 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
 1000
 65



TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro

ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla

1100

ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn

CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn

1200

TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle

LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr

1300

LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr

SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn

IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu

1400

GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro

ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg

1500

GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly

SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer

1600

ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu

AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp

1700

GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr

LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg

1800

GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla

ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal

ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln

1900

IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer



TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys

2000

TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu

ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys

2100

GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln

IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr

2200

GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp

ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu

LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer

2300

PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu

ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGluTrpIleGln

2400

GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGluThrLeuAla

GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArg

2500

GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle

AlaLeuLeu

54. Acide nucléique recombinant comprenant un ADNc ou une partie de cet ADNc selon l'une quelconque des revendications 46 à 53, et/ou un ARN ou une partie d'un ARN correspondant à cet ADNc, inséré dans un acide nucléique provenant d'un vecteur.

55. Acide nucléique recombinant selon la revendication 52, caractérisé en ce qu'il est marqué.

56. Procédé de détection d'un rétrovirus susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour l'homme du type HIV-2 ou de son ARN dans un liquide ou tissu biologique, notamment en vue du diagnostic in vitro chez l'homme de la potentialité ou de l'existence d'un SLA ou d'un SIDA, caractérisé par la mise en contact des acides nucléiques contenus dans ce liquide ou tissu biologique avec une sonde contenant un acide nucléique selon l'une quelconque des revendications 49 à 53 dans des conditions d'hybridation stringentes, ou contenant un ADN présentant une homologie de séquence au moins égale à 70 %, de préférence au moins égale à 90 % avec l'ARN d'un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 et capable de s'hybrider avec celui-ci, dans des conditions non stringentes, dans la technique du « spot blot » la mise en contact ci-dessus étant réalisée pendant le temps nécessaire à la réalisation de cette hybridation et étant suivie du lavage de l'hybride formé, avec une solution assurant la conservation de ces conditions stringentes, et la détection de l'hybride formé.

57. Procédé de production d'un rétrovirus susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour l'homme du type HIV-2, caractérisé par la culture dans des lymphocytes T4 humains ou dans des lignées cellulaires permanentes dérivées de lymphocytes T4 et portant le phénotype T4, ces lymphocytes ou ces lignées ayant préalablement été infectés avec un isolat de virus HIV-2, tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, et notamment lorsque le niveau d'activité de la transcriptase inverse (ou reverse-transcriptase) a atteint un seuil déterminé, par la récupération et la purification de quantités de virus libérées dans le milieu de culture de ces lymphocytes ou lignées, notamment par centrifugation différentielle dans un gradient de sucrose ou de métrizamide.



58. Procédé pour la production d'antigènes spécifiques du rétrovirus HIV-2, caractérisé par la lyse, notamment à l'aide de détergents, tels que le Sodium dodécylsulfate (par exemple SDS à 0,1 % dans un tampon RIPA), du virus purifié obtenu au terme du procédé selon la revendication 57, et la récupération du lysat contenant lesdits antigènes.

59. Procédé de production d'une sonde d'hybridation pour la détection d'un ARN de rétrovirus HIV-2, caractérisé par l'insertion d'une séquence l'ADN, notamment selon l'une quelconque des revendications 46 à 53 dans un vecteur de clonage, par recombinaison in vitro, par le clonage du vecteur modifié obtenu dans un hôte cellulaire compétent et par la récupération des ADN-recombinants obtenus.

60. Les hybridomes sécrétant des anticorps monoclonal selon la revendication 45.

61. Application des anticorps polyclonaux selon la revendication 44, ou monoclonaux selon la revendication 45, à la détection du rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9 dans une préparation biologique.

62. Application des anticorps polyclonaux selon la revendication 44 ou des anticorps monoclonaux selon la revendication 45 à la détection d'antigènes du rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9 dans une préparation biologique.

63. Application des anticorps polyclonaux selon la revendication 44, ou monoclonaux selon la revendication 45, à la purification d'antigènes viraux d'un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9.

Revendications (pour les Etats contractants : AT, ES, GR)

1. Rétrovirus humain HIV-2 ayant la capacité d'infecter des lymphocytes T4 humains et susceptible de provoquer un SIDA chez l'homme, ce rétrovirus étant constitué par l'un des rétrovirus déposés à la CNCM sous les n° I-502, I-532, I-642 et I-643 et à l'ECACC sous les n° 87011001 et 87011002 (correspondant respectivement aux n° I-502 et I-532) ou un variant de l'un de ces rétrovirus comprenant tous les antigènes qui sont reconnus par les anticorps formés contre les antigènes correspondants de l'un quelconque des rétrovirus ayant fait l'objet des susdits dépôts à la CNCM ou à l'ECACC.

2. Rétrovirus humain selon la revendication 1 caractérisé en ce que son ARN génomique est susceptible de s'hybrider dans des conditions stringentes avec la chaîne complémentaire d'un cADN ou fragment de cADN dérivé de l'ARN génomique de l'un quelconque des rétrovirus déposés à la CNCM sous les n° I-502, I-532, I-642 et I-643 et à l'ECACC sous les n° 87011001 et 87011002 (correspondant respectivement aux n° I-502 et I-532).

3. Rétrovirus humain selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend un ensemble d'antigènes formés par des protéines du noyau (core) ayant des poids moléculaires de l'ordre de 12.000, 16.000 et 26.000 daltons respectivement, des protéines ou glycoprotéines ayant des poids moléculaires respectivement de l'ordre de 36.000 daltons et de l'ordre de 42.000-45.000 daltons et une glycoprotéine majeure d'enveloppe ayant un poids moléculaire de l'ordre de 130.000-140.000 daltons.

4. Rétrovirus humain purifié selon la revendication 1, pathogène pour l'homme et susceptible de provoquer un SIDA, caractérisé par l'ensemble des propriétés suivantes :

— la cible préférentielle du rétrovirus HIV-2 est constituée par les cellules Leu3 (ou lymphocytes T4) humaines et pour des lignées cellulaires permanentes dérivées de ces lymphocytes T4 ;

— il est susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour les lymphocytes T4 humains qu'il infecte ;

— il a une activité de transcriptase inverse nécessitant la présence d'ions Mg^{2+} et présentant une forte activité pour le poly(adénylate-oligodésoxythymidylate) (poly(A)- oligo(DT) 12-18) ;

— il a une densité d'environ 1,16 dans un gradient de sucrose ;

— il a un diamètre moyen de 140 nanomètres et un noyau ayant un diamètre moyen de 41 nanomètres ;

— il peut être cultivé dans des lignées permanentes exprimant la protéine T4 ;

— il n'est pas infectieux pour les lymphocytes T8 ;

— les lysats de ce virus contiennent une protéine p26 qui ne croise pas immunologiquement avec la protéine p24 du virus HTLV-1 ou du virus HTLV-2 ;

— ces lysats contiennent en outre une protéine p16 qui ne croise pas immunologiquement avec la protéine p19 de HTLV-1 ou de HTLV-2 dans des essais de radioimmunoprécipitation ;

— ils contiennent en outre une glycoprotéine d'enveloppe ayant un poids moléculaire de l'ordre de 130.000-140.000 daltons qui ne croise pas immunologiquement avec la gp110 du rétrovirus HIV-1 ;

— ces lysats contiennent encore une protéine ou glycoprotéine, marquée par la ^{35}S -cystéine, ayant un poids moléculaire de l'ordre de 36.000 daltons ;

— l'ARN génomique de HIV-2 n'hybride pas, dans des conditions stringentes, avec l'ARN génomique de HIV-1 et n'hybride pas, dans des conditions non stringentes, soit avec le gène *env*, soit avec les LTR de HIV-1 ;

— l'ARN génomique de HIV-2 hybride faiblement dans des conditions non stringentes avec les séquences de nucléotides comprenant d'une part les nucléotides 990-1070, d'autre part les nucléotides 990-1260 de la région *gag* du génome de HIV-1.

5. Rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce qu'il ne se multiplie



pas de façon chronique dans les lymphocytes de singe macaque rhesus, lorsqu'il a été injecté in vivo et dans des conditions opératoires permettant le développement du virus STLV-III_{mac} telles qu'elles ont été décrites par Letvin et al., Science (1985) vol. 230, 71-75.

6. Rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la séquence comprenant la région R et la région U3 de la séquence comprenant son ARN génomique contient une séquence nucléotidique correspondant à la séquence de nucléotides suivante :

GTGGAAGCGGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTTAGTTAAAGGACAG
 10 GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGCTGAG
 ACTGCAGGGACTTTCCAGAAGGGGCTGTAACCAAGGGAGGGACATGGGAG
 GAGCTGGTGGGGAACGGCTCATATTCTCTGTATAATATACCCGCTGCTTG
 15 CATTGTACTTCAGTCGCTCTCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
 GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
 CCAGCACTTGGCCGGTGCTGGCAGACGGCCCCACGCTTGCCTGCTTAAAX
 20 ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

7. Rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que son ARN génomique contient une séquence gag correspondant à la séquence de nucléotide :

25 GAGRODE .
 ATGGCGCGGAGAACTCCGTTTTCAGAGGAAAAAGCAGATGAA
 30 TTAGAAAGAATCAGGTTACGGCCCGCGGAAAGAAAAAGTACAGG
 CTAAGACATATTGTGTGGGCAGCCAATAAATTGGACAGATTCCGA
 35 100
 TTAGCAGACAGCCTGTTGGAGTCAAAAGAGGGTTGTCAAAAAATT
 40 CTTACAGTTTTAGATCCAATGGTACCGACAGGTTACAGAAAATTTA
 200
 AAAAGTCTTTTTAATACTGCTCTGCGTCATTTGGTGCATACACGCA
 45 GAACAGAAAGTGAAGATACTGAAGGAGCAAAACAAATAGTGGGG
 300
 AGACATCTAGTGGCAGAAACAGGAACTGCAGAGAAAAATGCCAAGC
 50 ACAAGTAGACCAACAGCACCATCTAGCGAGAAGGGAGGAAATTAC
 400
 CCAGTGCACATGTAGCGCGAACTACACCCATATACCGCTCAGT
 55 CCCCCAACCCTAAATGCCTGGCTAAAATTAGTAGAGGAAAAAAG
 60 TTGGGGCCAGAAAGTAGTGGCAGGATTTACGGCACTCTCAGAAGGC
 500
 TGCACGGCCCTATGATATCAACCAAAATGCTTAATTGTGTGGCGGAC
 65



CATCAAGCAGCCATGCAGATAATCAGGCAGATTATCAATGAGGAA
600

GCAGCAGAATGGGATGTGCAACATCCAATACCAGGCCCTTACCA

GGGGGGCAGCTTAGAGAGCCAAAGGGGATCTGACATAGCAGGGACA
700

ACAAGCACAGTACAACAACAGATCCAGTGGATGTTTACGCCACAA

AATCCTGTACCAGTAGCAAAACATCTATAGAAGATGCATCCAGATA
800

GGATTGCAGAAAGTGTGTGAGGATGTACAACCCGACCAACATCCTA

GACATAAAACAGGCACCAAAAGGAGCCGTTCCAAAGCTATGTAGAT
900

AGATTCTACAAAAGCTTGAGGGCAGAACAAACAGATCCAGCAGTG

AAGAATTGGATGACCCAAACACTGCTAGTACAAAATGCCAACCEA

GACTGTAAATTAGTGTAAAAGGACTAGGGATGAACCCCTACCTTA
1000

GAAGAGATGCTGACCGCCTGTGAGGGGGTAGGTGGGCCAGGCCAG

AAAGCTAGATTAATGGCAGAGGCCCTGAAAGAGGTCATAGGACCT
1100

CCCCCTATCCCATTCCGAGCAGCCCAGCAGAGAAAGGCATTAAAA

TGCTGGAAGTGTGCAAAAGGAAGGGCACTCGGCAAGACAATGCCGA
1200

GCACCTAGAAGGCAGGGCTGCTGGAAGTGTGTAAGCCAGGACAG

ATCATGACAAACTGCCCAGATAGACAGGCAGGTTTTTTAGGACTG
1300

GGCCCTTGCGGAAAGAGCCCGCAACTTCCCCCTGGCCCAAGTT

CCGCAGGGGCTGACACCAACAGCACCCCCAGTGGATCCAGCAGTG

GATCTACTCGAGAAATATATGCAGCAAGGGAAGACAGAGAGAG
1400

CAGAGAGAGAGACCATAACAAGGAAGTGACAGAGGACTTACTGCAC

CTCGAGCAGGGGAGACACCATACAGCGAGCCACCAACAGAGGAG
1500

TTGCTGCACCTCAATTCTCTCTTTGGAAGAGACCAG



5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

GGCAGAGATAATAGAACTATCATCAGCTTAAACAAATATTATAAT
900

CTCAGTTTGCATTGTAAGAGGCCAGGGAATAAGACAGTGAAAACAA

5 ATAATCCTTATGTCAGGACATGTGTTTCACTCCCACTACCAGCCG

ATCAATAAAAAGACCCAGACAAGCATGGTGTGCTTCAAAGGCAAA
1000

10 TGGAAAAGACGCCATGCAGGAGGTGAAGACCCCTGCAAAACATCCG

AGGTATAGAGGAACCAATGACACAAGGAATATTAGCTTTGCAGCG
1100

CCAGCAAAAAGGCTCAGACCCAGAAAGTAGCATACATGTGGACTAAC

20 TGCAGAGGAGAGTTTCTCTACTGCAACATGACTTGGTTCTCTCAAT
1200

TGGATAGAGAATAAGACACACCGCAATTATGCACCGTCCCATATA

25 AAGCAAATAATTAACACATGGCATAAGGTAGGGAGAAATGTATAT
1300

30 TTGCCTCCCAGGGAAGGGGAGCTGTCTCTGCAACTCAACAGTAACC

AGCATAATTGCTAACATTGACTGGCAAAACAATAATCAGACAAAC

35 ATTACCTTTAGTGCAGAGGTGGCAGAACTATACAGATTGGAGTTG
1400

GGACATTATAAATTGCTAGAAATAACACCAATTGGCTTCGCACCT

40 ACAAAGAAAAAAGATACTCTCTGCTCAGGGGAGACATACAAGA
1500

45 GGTGTGTTGCTGCTAGGGTTCTTGGGTTTTCTCGCAACAGCAGGT

TCTGCAATGGGGCGCTCGACCGTCCCTGACCGTGTGGGCTCACTCC
1600

50 CGGACTTTACTGGCCGGGATAGTGCAGCAACAGCAACAGCTGTTG

GACGTGCTCAAGAGACAACAAGAACTGTTGGGACTGACCGTCTGG
1700

55 GGAACGAAAAACCTCCAGGCAAGAGTCACTGCTATAGAGAAGTAC

CTACAGGACCAGGCGCGGCTAAATTCATGGGGATGTGCGTTTACA
1800

60 CAACTCTGCCACACTACTGTACCATGGGTTAATGATTCCCTTAGCA

65 CCTGACTGGGACAATATGACGTGGCAGGAATGGGAAAAACAAGTC



CGCTACCTGGAGGCAAATATCAGTAAAAGTTTAGAACAGGCACAA
1900
ATTACGAAGAGAAAAATATGTATGAACTACAAAAATTAAATAGC
5
TGGGATATTTTTGCCAATTGGTTTGA CTTAACCTCCTGGGTCAAG
2000
TATATTCAATATGGAGTGCCTTATAATAGTAGCAGTAATAGCTTTA
10
AGAAATAGTGATATATCTAGTACAAATGTAACTAGGCTTAGAAAG
2100
GGCTATAGGCCTGTTTTCTCTTCCCCCCCCGGTTATATCCAAACAG
ATCCATATCCACAAGGACCGGGGACAGCCAGCCAACGAAGAAACA
2200
GAAGAAGACGGTGGAAAGCAACGGTGGAGACAGATACTGGCCCTGG
25
CGGATAGCATATATACATTTCTGATCCGCCAGCTGATTCCGCTC
TTGACCAGACTATACAGCATCTGCAGGGACTTACTATCCAGGAGC
2300
TTCCTGACCUUTCCAACCTCATCTACCAGAACTCTCAGAGACTGGCTG
30
AGACTTAGAACAGCCTTCTTGCAATATCGGTGCGAGTGGATCCAA
2400
GAAGCATTCCAGGCCGCCGCCGAGGGCTACAAGAGAGACTCTTGCG
35
GGCGCGTGCAGGGGCTTGTGGAGGGTATTGGAACGAATCGGGAGC
2500
GGAATACTCGCGGTCCAAGAACGATCAGACAGGGAGCAGAAATC
40
GCCCTCCTG
45

9. Rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que son ARN n'hybride pas dans des conditions stringentes avec l'ARN génomique de HIV-1 et n'hybride pas, dans des conditions non stringentes, avec le gène env et le LTR qui le jouxte, plus particulièrement avec la séquence de nucléotides 5290-9130, de HIV-1, et n'hybride pas, dans des conditions non stringentes, avec des séquences de la région pol du génome de HIV-1, en particulier avec la séquence de nucléotides 2170-2240.

10. Procédé pour la production d'antigènes spécifiques d'un rétrovirus HIV-2, caractérisé par :
— la lyse, notamment à l'aide de détergents, tels que le Sodium dodécylsulfate (par exemple SDS à 0,1 % dans un tampon RIPA), du rétrovirus HIV-2 selon l'une quelconque des revendications 1 à 9,
— la récupération du lysat contenant lesdits antigènes.

11. Procédé selon la revendication 10, comprenant en outre :
— la séparation à partir du lysat et la purification de l'un des antigènes consistant en l'une des protéines ou glycoprotéines p12, p16, p26, gp36, p42, gp140.

12. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'on sépare et purifie l'antigène ayant les caractéristiques immunologiques de la protéine p12 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, cet antigène ayant un poids moléculaire de l'ordre de 12.000 daltons.



13. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'on sépare et purifie l'antigène ayant les caractéristiques immunologiques de la protéine p16 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, cet antigène ayant un poids moléculaire de l'ordre de 16.000 daltons.

14. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'on sépare et purifie l'antigène ayant les caractéristiques immunologiques de la protéine p26 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, cet antigène ayant un poids moléculaire de l'ordre de 26.000 daltons.

15. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'on sépare et purifie l'antigène ayant les caractéristiques immunologiques de la glycoprotéine gp36 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, et antigène ayant un poids moléculaire de l'ordre de 36.000 daltons.

16. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'on sépare et purifie l'antigène ayant les caractéristiques immunologiques de la protéine p42 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, cet antigène ayant un poids moléculaire de l'ordre de 42.000-45.000 daltons.

17. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'on sépare et purifie l'antigène ayant les caractéristiques immunologiques de la glycoprotéine gp140 de HIV-2, reconnu immunologiquement par des anticorps formés contre un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, cet antigène ayant un poids moléculaire de l'ordre de 130.000-140.000 daltons.

18. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'on récupère et l'on purifie l'antigène ayant la séquence d'acides aminés ci-après ou partie de cette séquence, dès lors qu'elle donne lieu à une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment lorsque cet antigène est mis en contact avec un sérum d'un patient infecté avec HIV-2 :

ArgLysAlaPheLys

CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln

1400

GlnArgGlnArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis

LeuGluGlnGlyGlnThrProTyrArgGluProProThrGluAsp

1500

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

19. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'on récupère et l'on purifie l'antigène ayant la séquence d'acides aminés ci-après ou une partie de cette séquence, dès lors qu'elle donne lieu à une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment lorsque cet antigène est mis en contact avec un sérum d'un patient infecté avec HIV-2 :



MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu
 5 LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
 10 100
 LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle
 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
 15 200
 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
 20 GlnGlnLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
 300
 ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
 25 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr
 400

30 20. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'on récupère et l'on purifie l'antigène ayant la séquence d'acides aminés ci-dessus ou une partie de cette séquence, dès lors qu'elle donne lieu à une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment lorsque cet antigène est mis en contact avec un sérum
 35 d'un patient infecté avec HIV-2 :

ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
 40 ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
 PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly
 45 500
 CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp
 HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGlnIleIleAsnGluGln
 50 600
 AlaAlaGluTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro
 55 AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr
 700
 ThrSerThrValGlnGluGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln
 60 AsnProValProValGlnAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle
 65 800



5

AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe
 AsnHetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGln

500

ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr

10

AsnGlnThrGlnCysTyrHetAsnHisCysAsnThrSerValIle

600

ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg

15

TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr

700

20

AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer
 ThrCysThrArgHetHetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly

800

25

PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis

GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn

30

900

LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln

IleHetLeuHetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro

35

IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys

1000

40

TrpLysAspAlaHetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro

ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla

1100

45

ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrHetTrpThrAsn

CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnHetThrTrpPheLeuAsn

50

1200

TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle

LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr

55

1300

LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr

SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn

60

IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu

1400

65

GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro



GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu
 AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp
 ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGlnGlnThrAspProAlaVal
 LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro
 AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu
 GluGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln
 LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro
 AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln

21. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que l'on récupère et l'on purifie l'antigène ayant la séquence d'acides aminés ci-après, ou partie de cette séquence, dès lors qu'elle donne lieu à une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment lorsque cet antigène est mis en contact avec un sérum d'un patient infecté avec HIV-2 :

ZNYRN

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys
 LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro
 ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn
 ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp
 TyrGlnGluIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp
 AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu
 PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys
 ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn
 ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrProThrAsp
 GlnGluGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp



EP 0 239 425 B1

ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 1500
 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 5 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 10 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 1600
 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 15 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 1700
 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 20 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 1800
 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 25 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
 30 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 1900
 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 35 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 2000
 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
 40 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
 2100
 IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr
 45 GluGlnAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp
 2200
 ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu
 50 LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer
 2300
 PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu
 60 ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGlnTrpIleGln
 2400
 65



GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGluThrLeuAla

GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArg

2500

GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle

AlaLeuLeu

22. Méthode pour la détection in vitro de la présence d'anticorps induits chez l'homme infecté par un rétrovirus humain HIV-2 dans un échantillon biologique humain, tel qu'un sérum et, plus particulièrement pour le diagnostic in vitro d'un SLA ou SIDA potentiel ou existant dû à un tel rétrovirus et provenant de la personne faisant l'objet du diagnostic, caractérisée en ce que l'on met en contact cet échantillon biologique avec un antigène reconnu par un anticorps induit chez l'homme infecté par un rétrovirus humain HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, dans des conditions autorisant la formation d'un composé immunologique entre cet antigène et ledit anticorps et en ce que l'on détecte le conjugué immunologique éventuellement formé entre cet anticorps et l'antigène mis en œuvre.

23. Méthode selon la revendication 22, caractérisée en ce que l'échantillon biologique est mis en contact avec un antigène obtenu par le procédé selon l'une quelconque des revendications 12 à 21 ou un mélange de ces antigènes, dans des conditions autorisant la formation d'un composé immunologique entre cet antigène et lesdits anticorps et en ce que l'on détecte le conjugué immunologique éventuellement formé entre ces anticorps anti-HIV-2 et l'antigène mis en œuvre.

24. Méthode selon la revendication 23, caractérisée en ce que l'on réalise la détection dudit conjugué immunologique en faisant réagir le conjugué immunologique éventuellement formé avec un réactif marqué formé soit par des anticorps anti-immunoglobulines humaines, soit par une protéine A bactérienne et en ce que l'on détecte le complexe formé entre le réactif et le susdit conjugué immunologique.

25. Méthode pour la détection in vitro de la présence d'anticorps reconnaissant des antigènes d'un rétrovirus humain susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour les lymphocytes T4 humains, dans un échantillon biologique humain, tel qu'un sérum, et plus particulièrement pour le diagnostic in vitro d'un SLA ou SIDA potentiel ou existant dû à un rétrovirus humain caractérisée en ce que l'on met en contact cet échantillon biologique provenant de la personne faisant l'objet du diagnostic avec un mélange d'antigènes capables de donner une réaction immunologique spécifique avec les anticorps contre d'une part un rétrovirus humain HIV-2 susceptible d'avoir un effet cytopathogène tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, d'autre part un rétrovirus humain HIV-1 et, en ce que l'on détecte le conjugué immunologique éventuellement formé entre l'un au moins de ces antigènes et lesdits anticorps.

26. Méthode selon la revendication 25, caractérisée en ce que l'échantillon biologique provenant de la personne faisant l'objet du diagnostic est mis en contact avec un mélange d'antigènes issus à la fois de HIV-1 et d'un HIV-2 selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, notamment avec des antigènes obtenus par le procédé selon l'une quelconque des revendications 11 à 21 et des antigènes de HIV-1 obtenu par le même procédé, si ce n'est qu'il est appliqué à un rétrovirus HIV-1, et en ce que l'on détecte le conjugué immunologique éventuellement formé entre l'un au moins de ces antigènes et lesdits anticorps.

27. Procédé pour l'obtention d'anticorps reconnaissant spécifiquement un antigène un rétrovirus HIV-2, comprenant :

— l'immunisation d'un animal avec un rétrovirus HIV-2, selon l'une quelconque des revendications 1 à 9,

— la récupération des anticorps formés.

28. Procédé de production d'un acide nucléique ou d'un fragment d'acide nucléique dérivé de l'ARN d'un rétrovirus HIV-2 selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 comprenant :

— la ultracentrifugation du surnageant d'une culture de cellules infectées par un isolat du rétrovirus HIV-2 selon l'une quelconque des revendications 1 à 9, et récupération du culot de centrifugation,

— le cas échéant la centrifugation du culot récupéré sur un gradient de sucrose par la méthode décrite dans EP-A-0138667 et la récupération du culot sédimenté contenant l'ARN génomique,

— la synthèse d'un brin d'ADNc initiateur au contact de l'ARN du virus purifié sédimenté, en présence d'un initiateur oligo (dT) lors d'une réaction endogène activée par un détergent, selon la technique décrite dans Nature 312 : 757-760 (1984),

— le cas échéant la purification des hybrides ARN-ADNc par extraction par un mélange phénol-chloroforme et précipitation à l'éthanol,

— la fabrication d'un second brin d'ADNc en présence d'ADN polymérase I, de RNaseH et des



4 désoxynucléotides selon la méthode décrite dans Gene, 25 : 263-269 (1983), si besoin après extraction des protéines présentes dans le milieu de réaction,

— la récupération de l'acide nucléique ainsi obtenu.

29. Procédé selon la revendication 28, caractérisé en ce que l'on récupère un acide nucléique, le cas échéant marqué, dérivé d'une partie au moins de l'ARN du virus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, qui hybride avec l'ARN dudit virus HIV-2 dans les conditions stringentes, et qui n'hybride pas, dans ces conditions stringentes, avec les sondes 1 à 4 comprenant respectivement les nucléotides 990-1070, 990-1260, 2170-2240, 3370-3640 de l'ADN dérivé du génome de HIV-1.

30. Procédé selon la revendication 29, caractérisé en ce que l'on récupère un acide nucléique contenant une partie au moins d'une séquence d'ADNc capable de s'hybrider avec l'ARN génomique entier d'un rétrovirus HIV-2 selon une quelconque des revendications 1 à 9, et ne s'hybridant pas dans les conditions stringentes avec les sondes dont les fragments d'ADN dérivés du génome de HIV-1 respectivement constitués de fragments délimités par les nucléotides 990-1070, 990-1260, 2170-2240, 3370-3640 de l'ADN dérivé du génome de HIV-1.

31. Procédé selon la revendication 29, caractérisé en ce que l'on récupère un acide nucléique contenant la séquence de nucléotides :

GTGGAAGGCGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTAGTTAAAGGACAG
GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGCTGAG
ACTGCAGGGACTTTCCAGAAGGGGCTGTAACCAAGGGAGGGACATGGGAG
GAGCTGGTGGGGAACGCCCTCATATCTCTGTATAATATACCCGCTGCTTG
CATGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
CCAGCACTTGGCCGGTGCTGGCAGACGGCCCCACGCTTGCTGCTTAAAX
ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

32. Procédé selon la revendication 29, caractérisé en ce que l'on récupère un acide nucléique contenant une séquence nucléotidique codant pour tout ou partie de la séquence d'acides aminés indiquée ci-après, cette séquence ou partie de séquence d'acides aminés ayant la capacité de donner une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, lorsque cette séquence d'acides aminés est mise en contact avec un sérum d'un patient infecté avec un rétrovirus HIV-2 :

CACRODH

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu

LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg

LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly

100
LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle

LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu

200
LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla

GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg

300



ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr
 400
 ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
 10 ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
 PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly
 15 300
 CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp
 20 HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGluIleIleAsnGluGlu
 600
 AlaAlaGluTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro
 25 AlaGlyGluLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr
 700
 ThrSerThrValGluGluGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln
 30 AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle
 800
 GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu
 35 AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp
 900
 40 ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal
 LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro
 45 AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu
 1000
 GluGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln
 50 LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro
 1100
 55 AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGlnArgLysAlaPheLys
 CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg
 1200
 60 AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis
 IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu
 65 1300



GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

AspLeuLeuGluLysTyrHetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGlu

1400

GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis

LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp

1500

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

33. Procédé selon la revendication 29, caractérisé en ce que l'on récupère un acide nucléique contenant une séquence nucléotidique codant pour une partie au moins de la séquence d'acides aminés indiquée ci-après, cette séquence d'acides aminés étant capable de donner une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, lorsque cette séquence d'acides aminés est mise en contact avec un sérum d'un patient infecté avec un rétrovirus HIV-2 :

ArgLysAlaPheLys

CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleHetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

AspLeuLeuGluLysTyrHetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGlu

1400

GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis

LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp

1500

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

34. Procédé selon la revendication 29, caractérisé en ce que l'on récupère un acide nucléique contenant une séquence nucléotidique codant pour tout ou partie de la séquence d'acides aminés indiquée ci-après, la séquence codée d'acides aminés ayant la capacité de donner une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, lorsqu'elle est mise en contact avec un sérum d'un patient infecté avec un rétrovirus HIV-2 :



MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu
 5 LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
 10 100
 LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle
 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
 15 200
 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
 20 GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
 300
 ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
 25 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr
 400

30 35. Procédé selon la revendication 29, caractérisé en ce que l'on récupère un acide nucléique
 contenant une séquence nucléotidique codant pour tout ou partie de la séquence d'acides
 indiquée ci-après, la séquence codée d'acides ayant la capacité de donner une réaction
 immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une
 35 quelconque des revendications 1 à 9, lorsqu'elle est mise en contact avec un sérum d'un patient infecté
 spécifiquement avec un rétrovirus HIV-2 :

ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
 40 ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
 PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly
 45 500
 CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp
 50 HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGluIleIleAsnGluGlu
 600
 AlaAlaGluTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro
 55 AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr
 700
 ThrSerThrValGlnGluGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln
 60 AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle
 800
 65



GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu
 AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp
 ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal
 LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro
 AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu
 GlnGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln
 LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro
 AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln

36. Procédé selon la revendication 29, caractérisé en ce que l'on récupère un acide nucléique contenant une séquence nucléotidique codant pour tout ou partie de la séquence d'acides aminés indiquée ci-après, la séquence codée d'acide aminé ayant la capacité de donner une réaction immunologique spécifique avec des anticorps contre un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, lorsqu'elle est mise en contact avec un sérum d'un patient infecté avec un rétrovirus HIV-2 :

ENVRN
 MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys
 LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro
 ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn
 ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp
 TyrGlnGlnIleThrLeuAsnValThrGlnAlaPheAspAlaTrp
 AsnAsnThrValThrGlnGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu
 PheGlnThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys
 ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn
 ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp



5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

GlnGlnGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp
 AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe
 AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGlu
 300
 ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr
 AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle
 500
 ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg
 TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr
 700
 AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer
 ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly
 800
 PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis
 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
 900
 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln
 IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro
 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
 1000
 TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro
 ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla
 1100
 ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn
 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn
 1200
 TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle
 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
 1300
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr
 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn



IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu

1400

GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro

ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg

1500

GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly

SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer

1600

ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu

AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp

1700

GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr

LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg

1800

GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla

ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal

ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln

1900

IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer

TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys

2000

TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu

ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys

2100

GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln

IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr

2200

GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp

ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu

LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer

2300

PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu



ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGluTrpIleGln
 2400
 GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGluThrLeuAla
 GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGlnArgIleGlyArg
 2500
 GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle
 AlaLeuLeu

37. Procédé selon la revendication 28, caractérisé en ce qu'il comprend en outre les étapes suivantes :

— l'action de la T4 ADN polymérase jusqu'à obtention d'extrémités franches sur la double chaîne d'ADNc,

— l'insertion de l'ADNc muni d'adaptateurs et digéré par les enzymes adéquates dans l'acide nucléique d'un vecteur,

— la récupération d'un acide nucléique recombinant comprenant un ADNc ou une partie de cet ADNc obtenu par un procédé selon l'une quelconque des revendications 28 à 36, et/ou un ARN ou une partie d'un ARN correspondant à cet ADNc, inséré dans un article nucléique provenant dudit vecteur.

38. Procédé selon la revendication 37, caractérisé en ce que l'on marque l'acide nucléique recombinant récupéré.

39. Procédé de détection d'un rétrovirus susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour l'homme, du type HIV-2 ou de son ARN dans un liquide ou tissu biologique, notamment en vue du diagnostic in vitro chez l'homme de la potentialité ou de l'existence d'un SLA ou d'un SIDA, caractérisé par la mise en contact des acides nucléiques contenus dans ce liquide ou tissu biologique avec une sonde contenant un acide nucléique obtenu par un procédé selon l'une quelconque des revendications 32 à 36 dans des conditions d'hybridation stringentes, ou contenant un ADN présentant une homologie de séquence au moins égale à 70 %, de préférence au moins égale 90 % avec l'ARN d'un rétrovirus selon l'une quelconque des revendications 1 à 9 et capable de s'hybrider avec celui-ci, dans des conditions non stringentes, dans la technique du « spot blot » la mise en contact ci-dessus étant réalisée pendant le temps nécessaire à la réalisation de cette hybridation et étant suivie du lavage de l'hybride formé, avec une solution assurant la conservation de ces conditions stringentes, et la détection de l'hybride formé.

40. Procédé de production d'un rétrovirus susceptible d'avoir un effet cytopathogène pour l'homme du type HIV-2, caractérisé par la culture dans des lymphocytes T4 humains ou dans des lignées cellulaires permanentes dérivées de lymphocytes T4 et portant le phénotype T4, ces lymphocytes ou ces lignées ayant préalablement été infectés avec un isolat de virus HIV-2, tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9, et notamment lorsque le niveau d'activité de la transcriptase inverse (ou reverse-transcriptase) a atteint un seuil déterminé, par la récupération et la purification de quantités de virus libérées dans le milieu de culture de ces lymphocytes ou lignées, notamment par centrifugation différentielle dans un gradient de sucrose ou de métrizamide.

41. Procédé de production d'une sonde d'hybridation pour la détection d'un ARN de rétrovirus HIV-2, caractérisé par l'insertion d'une séquence d'ADN, notamment une sonde obtenue par un procédé selon l'une quelconque des revendications 28 à 36 dans un vecteur de clonage, par recombinaison in vitro, par le clonage du vecteur modifié obtenu dans un hôte cellulaire compétent et par la récupération des ADN-recombinants obtenus.

42. Les hybridomes sécréteurs d'un anticorps monoclonal reconnaissant spécifiquement un antigène d'un rétrovirus HIV-2 selon l'une quelconque des revendications 1 à 9.

43. Application des anticorps polyclonaux obtenus par un procédé selon la revendication 27, à la détection du rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9 dans une préparation biologique.

44. Application des anticorps polyclonaux obtenus par un procédé selon la revendication 27 à la détection d'antigènes du rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9 dans une préparation biologique.

45. Application des anticorps polyclonaux obtenus par un procédé selon la revendication 27, à la purification d'antigènes viraux d'un rétrovirus HIV-2 tel que défini dans l'une quelconque des revendications 1 à 9.

Claims (for the Contracting States : BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE)

1. HIV-2 human retrovirus, having the capacity of infecting human T4 lymphocytes and being capable of causing AIDS in man, this retrovirus being constituted of one of the retroviruses deposited with the



CNCM under n° I-502, I-532, I-642 and I-643 and with the ECACC under n° 87.011001 and 87.011002 (corresponding to n° I-502 and I-532 respectively), or a variant of one of these retroviruses comprising all the antigens which are recognized by the antibodies raised against the corresponding antigens of anyone of the retroviruses having been deposited with the CNCM or with the ECACC as said above.

- 5 2. Human retrovirus according to claim 1, characterised in that its genomic RNA is capable of hybridizing under stringent conditions with the complementary chain of a cDNA or cDNA fragment derived from the genomic RNA of anyone of the retroviruses deposited with the CNCM under n° I-502, I-532, I-642 and I-643 and with the ECACC under n° 87.011001 and 87.011002 (corresponding to n° I-502 and I-532 respectively).
- 10 3. Human retrovirus according to claim 1, characterised in that it comprises a set of antigens formed by core proteins having molecular weights of the order or 12000, 16000 and 26000 daltons respectively, proteins or glycoproteins having molecular weights respectively of the order of 36000 daltons and of the order of 42000-45000 daltons and a major envelope glycoprotein having a molecular weight of the order of 13000-14000 daltons.
- 15 4. Human purified retrovirus according to claim 1, pathogenic for man and capable of causing AIDS, characterised by the whole following properties :
 - the preferred target for the HIV-2 retrovirus consists of human Leu 3 cells (or T4 lymphocytes) and for permanent cell lines derived of said T4 lymphocytes ;
 - it is capable of having a cytopathogenic effect for the human T4 lymphocytes which it infects ;
 - 20 — it has a reverse transcriptase activity which requires the presence of Mg^{2+} ions and has a strong affinity for polyadenylate oligodeoxythymidylate (Lpoly(A)-oligo(dT)12-18) ;
 - it has a density of approximately 1.16 in a sucrose gradient ;
 - it has a mean diameter of 140 nanometres and a core having mean diameter of 41 nanometres ;
 - it can be cultivated in permanent cell lines expressing the T4 protein ;
 - 25 — it is not infectious in T8 lymphocytes ;
 - the lysates of this virus contain p26 protein which does not crossreact immunologically with p24 protein of the HTLV-1 virus or of the HTLV-2 ;
 - said lysates further contain p16 protein which is not recognized immunologically by p19 protein of HTLV-1 or of HTLV-2 in radioimmunoprecipitation assays ;
 - 30 — said lysates further contain an envelope glycoprotein having a molecular weight of the order of 130,000-140,000 daltons which does not crossreact immunologically with gp110 of HTLV-1 retrovirus ;
 - said lysates further contain a protein or a glycoprotein which can be labelled by ^{35}S -cystein, having a molecular weight of the order of 36,000 daltons ;
 - the genomic RNA of HIV-2 does not hybridize under stringent conditions with the genomic RNA of HIV-1 and does not hybridize under non-stringent conditions either with the env gene, or with the LTRs of HIV-1 ;
 - 35 — the genomic RNA of HIV-2 hybridizes weakly under non-stringent conditions with nucleotide sequences comprising on the one hand nucleotides 990-1070 and on the other hand nucleotides 990-1260 of the GAG region of the HIV-1 genome.
- 40 5. Retrovirus according to anyone of claims 1 to 4, characterised in that it does not multiply in chronic fashion in the lymphocytes of macaques rhesus monkeys, when it has been injected in vivo and in working conditions which permit the development of the STLVIII_{mac} virus, as have been described by Letvin et al., Science (1985) vol. 230, 71-75.
6. The retrovirus of any of claims 1 to 5, characterised in that the sequence comprising the R region and the U3 region of the sequence comprising its genomic RNA also contains a nucleotidic sequence which corresponds to the following nucleotide sequence.

GTGGAAAGGAGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTTAGTTAAAGGACAG
 50 GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGCTGAG
 ACTGCAGGGACTTCCAGAAAGGGCTGTAAACCAAGGGAGGGACATGGGAG
 55 GAGCTGGTGGGGAACGCCCTCATATTCTCTGTATAATATACCCGCTGCTTG
 CATTGTACTTCAGTCGCTCTGCCGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
 GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
 CCAGCACTTGGCCGGTGCTGGCAGACGGCCGCCAGCTTGCCTGCTTAA
 60 ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

7. Retrovirus according to anyone of claims 1 to 5 characterised in that its genomic RNA contains a 65 gag sequence corresponding to the following nucleotide sequence :



GAGRODN .

5 ATCGCGCGGAGAACTCCGTGTTGACAGCGAAAAAGCAGATCAA

TTAGAAAGAAATCAGCTTACGGCGCGCGGAAAGAAAACTACAGG

10 CTAAACATATTGTGTGGCGAGCGCAATAAATTGCACAGATTCCGA
100

TTAGCAGAGAGCCCTGTTGGAGTCAAAAGACGGTGTCAAAAAATT

15 GTTACAGTTTTAGATCCAATGGTACCGACAGGTTCAAAAAATTTA
200

20 AAAAGTCTTTTAATACTGTCTCGGTCAATTGGTGCATACACCGA

GAACAGAAAGTCAAAAGATACTGAAGGACCAAAACAAATAGTCCGG
25 300

AGCATCTAGTGGCAGAAACAGGAACTGCAGAGAAATGCCAAGC

30 ACAAGTAGACCAACAGCACCATCTAGCGAGAACGGACGAAATTAG
400

CCAGTCCAAATGTAGCGCGCAACTACACCCATATACCGCTCAGT

35 CCCCCAACCCCTAAATGCCCTGGGTAAAATTAGTAGAGGAAAAAAG

40 TTCCGGCGCAGAACTAGTCCCAGGATTTACGGCACTCTCAGAACCG
500

TGCACGCCCTATGATATCAACCAAAATGCTTAATTGTGTGGCGGAG

45 CATCAAGCAGCCATGCAGATAATCAGCGAGATTATCAATGAGGAA
600

GCAGCAGAAATGGGATGTGCAACATCCAATACCAGCGCCCTTACCA

50 GCGGGCGAGCTTAGCAGAGCCAAAGGGGATCTGACATAGCAGCGACA
700

55 ACAAGCAGAGTACAACAAACAGATCCACTCCATGTTAGCGCCACAA

AATCCCTGTACCAGTAGCAACATCTATAGAACATCCATCCAGATA
800

60 GGATTCCAGAAAGTGTGTACAGGATGTACAACCCGACCAACATCCTA

65 GACATAAAACAGCGACCAAAAGGAGCCGTTCCAAAGCTATGTAGAT
900



5 AGATTCTACAAAAGCTTGAGGGGACAAACACATCCAGCAGT
 AACAATTGGATGAGCCAAACACTGCTAGTACAAATGCCAACCA
 10 GACTGTAAATTAGTCTAAAAGGACTAGCGATCAACCTACCTTA
 1000
 GAAAGACATGCTGACCGCTGTACGGGGTAGGTGGCCAGCCCA
 AAAGCTACATTAAATGCCAGAGCCCTGAAACAGCTCATAGCAGT
 15 1100
 GCGGCTATCCCATTCGGCAGCAGCCAGCAGCAAAAGGCATTTAA
 20 TGCTGCAACTGTGCAAAAGCAAGGGCACTCGGCAACACAATGCCGA
 1200
 GCACCTAGAAGCCAGCGCTGCTGCAAGTGTGCTAAGCCAGGACAG
 25 ATCATGACAAACTGCCCAGATAGACAGGCAGGTTTTTTAGCACTG
 1300
 GCGGCTTGGGAAAGCAAGCCCGCAACTTCCCGTGGCCCAAGTT
 CCGCAGCGGCTGACACCAACAGCAGCCCGCAGTGGATCCAGCAGT
 35 CATCTACTGCAGAAATATATGCAGCAAGCCAAAGACAGACAGAG
 1400
 GAGACAGAGAGACCATAACAAGCAAGTGACAGAGCACTTACTGCAG
 CTCGAGCAGCGGACAGACACCATACAGCGAGCCACCAACAGAGCAG
 40 1500
 TTGCTGCACCTCAATTCTCTCTTTTGGAAAAGACCA

50 8. Retrovirus according to anyone of claims 1 to 6 characterised in that its genomic RNA contains a
 env sequence corresponding to the following nucleotide sequence :

55 ENVLE
 ATGATCAATCAGCTGCTTATTGCCATTTTATTAGCTAGTCTTGG
 60 TTAGTATATTGCACCCAATATGTAAGTGTCTTTCTATGGCGTACCG
 ACCTGCAAAAATGCAACCATTCGGCTCTTTTGTGCAACCAAGAAAT
 65 100



5

AGCGTACTTTGGGGAACCATACAGTCTTGGCTGACAATGATGAT
TATCAGCAATAAAGTTTGAATGTAACAGAGGCTTTGATGCATGG
200

10

AATAATACAGTAAACAGAAACAAGCAATAGAAATGCTCTGGCATCTA
TTGGAGACATCAATAAAACCATGTGTCAAACCTAACACCTTTATGT
300

15

GTAGCAATCAAATGCCAGCAGCACAGAGCAGCAGCAGCAACAAG
ACAACCTCAAAGAGCACAAGCACAACCCACACCCACCCACAGAG
400

20

CAGGAGCAAGACATAAGTCAGGATACTCCATGCCACCGCCAGAG
AACTGCTCAGGATTGGGAGAGCAAGCAACCATCAATTGCCAGTTC
500

25

AATATGACAGGATTAGAAAGACATAAGCAAAAACAGTATAATCAA
300

30

ACATGGTACTCAAAAGATGTGCTTTGTGAGACAAATAATAGCACA
AATCAGACCCAGTGTACATCAACCATTGCAACACATCAGTCATC
600

35

ACAGAAATCATGTGACAAGCACTATTGGCATGCTATAAGGTTTACA
TACTGTGACCAACCGGCTTATGCCCTATTAAGATGTAATGATACC
700

40

AATTATTACGGCTTTGCCACCAACTGTTCTAAAGTAGTAGCTTCT

45

ACATGCCAGGATGATGCAAAACGCAAACTTCCACATGGTTTGGG
800

50

TTTAATGGCACTAGAGCAAGCAATAGAAATATATCTATTGGCAT
GGCAGACATAATAAGACTATCATCAGCTTAAACIAATATTATAAT
900

55

CTCAGTTTGCATTGTAAGAGCGCCAGCGAATAAGACAGTGAACAA
ATAATGCTTATGTGAGGACATGTGTTTCACTCCCACTACCAGCCG

60

ATCAATAAAAGACCCAGACAAGCATGCTGCTGTTCAAAGCCAAA
1000

65

TGCAAGAGCGCCATGCCAGGAGGTGAAGACCCCTTCAAACATCCG





EP 0 239 425 B1

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

ACGTATAGAGGAACCAATGACACAAGCAATATTAGCTTTGCAGCG
1100
CCAGGAAAAGGCTCAGACCCACAAGTACCATACATGCTGACTAAG
TGCAGAGCAGACTTTCTCTACTGCAACATGACTTGGTTCTCAAT
1200
TGGATAGACAATAAGACACACGGCAATTATGCCACGCTGCCATATA
AAGCAATAATTAACACATGGCATAAGCTAGGACAAATGTATAT
1300
TTGCCTCCCAGGGAAGGGGAGCTGTCTCTGCAACTCAACAGTAACC
AGCATAATTGCTAACATTGACTGGCAAAACAAATATCAGACAAAG
ATTACCTTTAGTGCAGAGCTGGCAGAACTATACAGATTGCACTTG
1400
GGACATTATAAAATTGGTAGAAATAACACCAATTGGCTTGGCACCT
ACAAAAGAAAAAGATAGTCTCTGCTCAGCGGACACATACAAAG
1500
GGTGTCTTCGTCTAGGGTTCTTGGGTTTTCTGCCAACAGCAGGT
TCTGCAATGGGGCTCGAGCGTCCCTGACCGTGTGGCTCAGTGG
1600
CGGACTTTACTGGCCGGGATAGTGCAGCAACAGCAACAGCTGTTG
GACGTGCTCAAGAGACAACAAAGAACTGTTGGGACTGACCGTCTGG
1700
GGAACGAAAAACCTCCAGGCAAGAGTCACTGCTATAGAGAAGTAG
CTACAGGACCAGGCGCGGCTAAATTTCATGGGATGTGCGTTTAGA
1800
CAAGTCTGCCACACTACTGTACCATGGGTTAATGATTCTTTAGCA
CCTGACTGGGACAAATATGACGTGGCAGGAATGGGAAAAACAAGTC
CGCTACCTGGAGGCAATATCAGTAAAAAGTTAGAACAGGCACAA
1900
ATTGAGCAAGAGAAAAATATGTATGAAGTACAAAAATTAAATAGC

TGGGATATTTTGGCAATTGGTTTGAATAACCTCGGTCAAG
2000

TATATTCAATATGCAGTGCTTATAATAGTACCAGTAATAGCTTTA

AGAAATAGTCATATATCTAGTACAAATGTTAAGTACGCTTAGAAAG
2100

GGCTATAGGCGTGTCTTCTCTTCCCCCCCCGTTATATCCAAACAG

ATCCATATCCACAAGGAACCCGACAGCCAGCCAAACGAAGAAACA
2200

GAAGCAAGACGGTCCGAAGCAACGGTCCAGACAGATACTGGCCCTCG

CGCATAGCATATATACATTTCTTGATCCGCCAGCTGATTCCGCTC

TTGACCAGACTATACAGCATCTGCACGGACTTACTATCCAGGAGC
2300

TTCTTGACCCCTCCAACATCATCTACCAGAAATCTCAGAGACTGGCTC

AGACTTAGAACAGCCTTCTTGCAATATCGGTCCGAGTGGATCCAA
2400

GAAGCATTCACGGCCGCCGCGAGGGCTACAAGAGAGACTCTTGCG

GGCCCGTCCAGCCGCTTGTGCGAGCGTATTGGAACGAATCCGCCAGC
2500

CGAATACTCGCCGTTCCAAGAACGATCAGACAGCCAGCAGAAATC

CCCCCTCTC

9. Retrovirus according to anyone of claims 1 to 8, characterised in that its RNA does not hybridize under stringent conditions with the genomic RNA of HIV-1 and does not hybridize under non-stringent conditions, with the *env* gene and the LTR close to it, more particularly with the nucleotide sequence 5290-9130 of HIV-1 and does not hybridize under non-stringent conditions with sequences of the *pol* region of the HIV-1 genome, particularly with the nucleotide sequence 2170-2240.

10. Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 p12 protein, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 12000 daltons.

11. Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 p16 protein, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 16000 daltons.

12. Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 p26 protein, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 26000 daltons.

13. Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 p36 protein, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 36000 daltons.

14. Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 p42 protein, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 42000-45000 daltons.

15. Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2



glycoprotein gp140, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 130000-140000.

16. Antigen having the following aminoacid sequence or a part of said sequence, providing that it raises a specific immunological reaction with the antibodies against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9, especially when this antigen is contacted with the serum of a patient infected with HIV-2.

ArgLysAlaPheLys

10

CysTrpAsnCysGlyLysGlnGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200

15

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleHisThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

20

1300

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

25

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

AspLeuLeuGlnLysTyrHisGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln

30

1400

GlnArgGlnArgProTyrLysGlnValThrGlnAspLeuLeuHis

LeuGlnGlnGlyGlnThrProTyrArgGlnProProThrGlnAsp

35

1500

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

17. Antigen having the following aminoacid sequence or a part of said sequence, providing that it raises a specific immunological reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9, especially when this antigen is contacted with the serum of a patient infected with HIV-2.

45

HisGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln

50

LeuGlnArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg

LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly

55

100

LeuAlaGlnSerLeuLeuGlnSerLysGlnGlyCysGlnLysIle

LeuThrValLeuAspProHisValProThrGlySerGlnAsnLeu

60

200

LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla

GlnGlnLysValLysAspThrGlnGlyAlaLysGlnIleValArg

65

300



ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer

ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr

400

18. Antigen having the following aminoacid sequence or a part of said sequence, providing that it raises a specific immunological reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9, especially when this antigen is contacted with the serum of a patient infected with HIV-2.

ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGlnGluLysLys

PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly

500

CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp

HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGlnIleIleAsnGlnGln

600

AlaAlaGlnTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro

AlaGlyGlnLeuArgGlnProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

700

ThrSerThrValGlnGlnGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle

800

GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

AspIleLysGlnGlyProLysGlnProPheGlnSerTyrValAsp

900

ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGlnGlnThrAspProAlaVal

LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

1000

GlnGlnMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

LysAlaArgLeuMetAlaGlnAlaLeuLysGlnValIleGlyPro

1100

AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln



19. Antigen having the following aminoacid sequence of a part of said sequence, providing that it raises a specific immunological reaction with the antibodies against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9, especially when this antigen is contacted with the serum of a patient infected with HIV-2.

HIV2

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys

LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro

ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn

ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp

TyrGlnGluIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp

AsnAsnThrValThrGlnGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu

PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys

ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn

ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp

GlnGlnGlnGlnIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp

AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe

AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGln

ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr

AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle

ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg

TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr

AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer



ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly
 PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis 800
 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln 900
 IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro
 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
 TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro 1000
 ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla
 ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn 1100
 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn
 TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle 1200
 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr 1300
 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn
 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro 1400
 ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly 1500
 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu 1600
 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 1700



GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr

LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg

GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla

ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal

ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln

IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer

TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys

TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu

ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys

GlyTyrArgProValPheSerSerProPheGlyTyrIleGlnGln

IleIleIleIleLysAspArgGlyGlnProAlaAlaGlnGluThr

GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp

ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu

LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer

PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu

ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGlnTrpIleGln

GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGlnThrLeuIle

GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArg

GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle

AlaLeuLeu

again
char
retro
to 15

of th

the
p26

gp1

gp3

hur
lea
any
ant

20

HI

a.l

25

HI

30

1

ar

gl

h

ir

p

n

c

e

t

45

50

55

60

65



20. Composition for the in vitro diagnosis of the presence in a biological human sample of antibodies against a human HIV-2 virus capable of having a cytopathogenic effect for the T4 lymphocytes, characterised in that it contains at least one antigen, especially a protein or a glycoprotein of the HIV-2 retrovirus according to anyone of claims 1 to 9, or at least one antigen according to anyone of claims 10 to 19.

21. Composition according to claim 20, characterised in that it consists of a total extract or of a lysate of the abovesaid retrovirus.

22. Composition according to claim 20, characterised in that the antigen consists of at least one of the internal core protein of the abovesaid virus, chosen among proteins or glycoproteins p12, p16 and p26, having respectively molecular weights of the order of 12000, 16000 and 26000 daltons.

23. Composition according to claim 20 or claim 21, characterised in that it contains a glycoprotein gp140, having a molecular weight of the order of 130000 to 140000 daltons.

24. Composition according to claim 20 or claim 21, characterised in that it contains a glycoprotein gp36, having a molecular weight of the order of 36000 daltons.

25. Composition for the in vitro diagnosis in a biological human sample, of antibodies against a human retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for the T4 human lymphocytes, comprising at least one HIV-1 antigen, characterised in that it further comprises at least one HIV-2 antigen according to anyone of claims 1 to 9, especially a protein or a glycoprotein of this HIV-2 retrovirus or at least one antigen according to anyone of claims 10 to 19.

26. Composition according to claim 25, characterised in that it contains core proteins of HIV-1 and of HIV-2.

27. Composition according to claim 26, characterised in that it contains the p25 of a HIV-1 and p26 of a HIV-2.

28. Composition according to claim 26, characterised in that it contains the p18 of a HIV-1 and the p16 of a HIV-2.

29. Composition according to claim 25, characterised in that it contains envelope glycoproteins of a HIV-1 and envelope glycoproteins of a HIV-2.

30. Composition according to claim 29, characterised in that it contains the gp110 of HIV-1 and gp140 of HIV-2.

31. Composition according to claim 29, or claim 30, characterised in that it contains the gp42 of HIV-1 and the p36 of HIV-2.

32. Composition according to claim 26, characterised in that it contains mixtures on the one hand of antigens proteins or glycoproteins of HIV-1 or of the whole, on the other hand, mixtures of proteins or glycoproteins of HIV-2 or both together.

33. Process for the in vitro detection of the presence of antibodies, induced in man infected with a human HIV-2 retrovirus, in a human biological sample such as a serum and more particularly for the in vitro diagnosis of a potential or existing LAS or AIDS due to such a retrovirus and obtained from the person being diagnosed, characterised in that this biological sample is contacted with an antigen recognized by an antibody induced in the infected man, by a human HIV-2 retrovirus as defined in claims 1 to 9 in conditions authorizing the formation of an immunological complex between this antigen and said antibody and in that the possibly immunological conjugate formed between this antibody and the antigen used is detected.

34. Method according to claim 33, characterised in that the biological sample is contacted with an antigen according to anyone of claims 10 to 19 or a composition according to anyone of claims 20 to 24 in conditions authorizing the formation of an immunological complex between this antigen and said antibodies and in that the immunological conjugate possibly formed between these anti-HIV-2 antibodies and the antigen used is detected.

35. Method according to claim 34, characterised in that said immunological conjugate is detected by a reaction between the possibly formed immunological conjugate and a labelled reagent formed either by anti-human immunoglobulin antibodies either by bacterial A protein and in that the complex formed between the reagent and the above immunological conjugate is detected.

36. Method for the in vitro detection of the presence of antibodies recognizing antigens of a human retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for the T4 human lymphocytes in a human biological sample like a serum and more particularly for the in vitro diagnosis of a potential or existing LAS or AIDS caused by a human retrovirus, characterised in that this biological sample obtained from the person being diagnosed, is contacted with a mixture of antigens capable of giving a specific immunological reaction with the antibodies against, on the one hand a human HIV-2 retrovirus capable of having a cytopathogenic effect, as defined in anyone of claims 1 to 9 on the other hand a human HIV-1 retrovirus and in that the immunological conjugate possibly formed between at least one of these antigens and said antibodies is detected.

37. Method according to claim 36, characterised in that the biological sample obtained from the person being diagnosed is contacted with a mixture of antigens obtained both from both a HIV-1 and HIV-2 retrovirus according to any one of claims 1 to 9, especially with a composition according to anyone of claims 26 to 32 and in that the immunological complex possibly formed between at least one of these antigens and said antibodies is detected.



BNVRN

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys
 ATGATGAATCAGCTGCTTATTGCCATTTTATTAGCTAGTGCTTGC
 5
 LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro
 TTAGTATATTGCACCCAATATGTAACGTGTTTTCTATGGCGTACCC
 ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn
 ACGTGGAAAAATGCAACCATTCCCCTCTTTTGTGCAACCAGAAAT
 100
 ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp
 10
 AGGGATACTTGGGGAACCATAACAGTGCTTGCCTGACAATGATGAT
 TyrGlnGlnIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp
 TATCAGGAAATAACTTTTGAATGTAACAGAGGCTTTTGATGCATGG
 200
 AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu
 AATAATACAGTAACAGAACAAAGCAATAGAACATGTCTGGCATCTA
 15
 PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys
 TTCGAGACATCAATAAAACCATGTGTCAAACCTAACACCTTTATGT
 300
 ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn
 GTAGCAATGAAATGCAGCAGCACAGAGAGCAGCACAGGGAACAAC
 ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp
 20
 ACAACCTCAAAGAGCACAAGCACAACCACAACCACACCCACAGAC
 400
 GlnGluGlnGlnIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp
 CAGGAGCAAGAGATAAGTGAGGATACTCCATGCGCAGCGCAGAC
 AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe
 AACTGCTC...GGATTGGGAGAGGAAGAAACGATCAATTGCCAGTTC
 25
 AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGlu
 AATATGACAGGATTAGAAAGAGATAAGAAAAAACAGTATAATGAA
 500
 ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr
 ACATGGTACTCAAAAGATGTGGTTTGTGAGACAAATAATAGCACA
 30
 AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle
 AATCAGACCCAGTGTTACATGAACCATTGCAACACATCAGTCATC
 600
 ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg
 ACAGAATCATGTGACAAGCACTATTGGGATGCTATAAGGTTTAGA
 TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr
 TACTGTGCACCACCGGTTATGCCCTATTAAAGATGTAATGATACC
 700
 AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer
 AATTATTACGGCTTGCACCCAACCTGTTCTAAAGTAGTAGCTTCT

ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly
 ACATGCACCAGGATGAATGGAACGCCAACTTCCACATGGTTTGGC
 800
 PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis
 5 TTTAATGGCACTAGAGCAGAGAATAGAACATATATCTATTGGCAT
 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
 GGCAGAGATAATAGAACTATCATCAGCTTAAACAAATATTATAAT
 900
 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln
 10 CTCAGTTTGCATTGTAAGAGGCCAGGGAATAAGACAGTGAAACAA
 IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro
 ATAATGCTTATGTCAGGACATGTGTTTCACTCCCACTACCAGCCG
 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
 ATCAATAAAAGACCCAGACAAGCATGGTGCTGCTTCAAAGGCAAA
 1000
 TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro
 15 TCGAAAGACGCCATGCAGGAGGTGAAGACCCTTGCAAAACATCCC
 ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla
 AGGTATAGAGGAACCAATGACACAAGGAATATTAGCTTTGCAGCG
 1100
 ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn
 20 CCAGGAAAAGGCTCAGACCCAGAAGTAGCATACATGTGCACTAAC
 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn
 TGCAGAGGAGAGTTTCTCTACTGCAACATGACTTGGTTCTCAAT
 1200
 TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle
 TGCATAGAGAATAAGACACACCGCAATTATGCACCGTGCCATATA
 25 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
 AAGCAAATAATTAACACATGGCATAAGGTAGGGAGAAATGTATAT
 1300
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr
 TTGCCTCCCAAGGAAGGGGAGCTGTCTGCAACTCAACAGTAACC
 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn
 30 AGCATAATTGCTAACATTGACTGGCAAAACAATAATCAGACAAAC
 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 ATTACCTTTAGTGCCAGAGGTGGCAGAACTATACAGATTGCACTTG
 1400
 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro
 GCAGATTATAAATTGGTAGAAATAACACCAATTGGCTTCGCACCT

ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 ACAAAGAAAAAGATACTCCTCTGCTCAGGGACACATACAAGA
 1500
 5 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 GGTGTGTTTCGTGCTAGGGTTCTTGGGTTTTCTCGCAACAGCAGGT
 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 TCTGCAATGGGCGCTCGAGCGTCCCTGACCGTCTCGGCTCAGTCC
 1600
 10 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 CGGACTTTACTCGCCGGGATAGTGCAGCAACAGCAACAGCTGTTG
 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 CACGTGGTCAAGAGACAACAAGAACTGTTGGGACTGACCGTCTGG
 1700
 15 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 CGAACGAAAAACCTCCAGGCAAGAGTCACTGCTATAGAGAAGTAC
 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 GTACAGGACCAGGCGCGGCTAAATTTCATGGGGATGTGCGTTTAGA
 1800
 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 CAAGTCTGCCACACTACTGTACCATGGGTTAATGATTCTTAGCA
 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 20 CCTGACTGGGACAATATGACGTGGCAGGAATGGGAAAAACAAGTC
 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
 CGCTACCTGGAGGCAAAATATCAGTAAAAGTTTAGAACAGGCACAA
 1900
 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 ATTACGCAAGAGAAAAATATGTATGAACTACAAAAATTAAATAGC
 25 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 TGGGATATTTTTGGCAATTGCTTTGACTTAACCTCCTGGGTCAAG
 2000
 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 TATATTCAATATGGAGTGTCTTATAATAGTAGCAGTAATAGCTTA
 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
 30 ACAATAGTGATATATGTAGTACAAATGTTAAGTAGGCTTAGAAAG
 2100
 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
 CGCTATAGGCCTGTTTTCTCTTCCCCCCCCGTTATATCCAACAG

5 IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr
 ATCCATATCCACAAGGACCGGGGACAGCCAGCCAAACGAAGAAACA
 2200
 GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp
 GAACAAGACGGTGGAAAGCAACGGTGCAGACAGATACTGGCCCTCG
 10 ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu
 GCGATAGCATATATACATTTCCTGATCCGCCAGCTGATTCCGCTC
 LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer
 TTCACCAGACTATACAGCATCTGCAGGGACTTACTATCCAGGAGC
 2300
 PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu
 TTCCTGACCCTCCAACCTCATCTACCAGAATCTCAGAGACTGGCTG
 15 ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGluTrpIleGln
 AGACTTAGAACAGCCTTCTTGCAATATGGGTCCGAGTGGATCCAA
 2400
 GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGluThrLeuAla
 GAAGCATTCCAGGCCGCCGCGAGGGCTACAAGAGAGACTCTTGCG
 20 GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArg
 GCGCGTGCAGGGGCTTGTGGAGGGTATTGGAACGAATCGGGAGG
 2500
 GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle
 GCAATACTCGCGGTTCCAAGAAGGATCAGACAGGGAGCAGAAATC
 25 AlaLeuLeu
 CCCCTCCTC
 30

As already stated above, the invention naturally relates to all HIV-2 viruses whose RNAs possess characteristics resembling, in particular, the GAG and ENV regions containing sequences having homologies of at least 50%, preferably 70% and still more advantageously 90%, with respect to the gag and env HIV-2 ROD sequences.

The invention relates more especially to the cDNA fragments which code, respectively, for the p16, p26 and p12 proteins which are also comprised in GAGRODN. In particular, it relates to the sequences stretching:

- between nucleotide 1 and nucleotide 405 (coding for p16)
- between nucleotide 406 and nucleotide 1155 (coding for p26) and
- between nucleotide 1156 and nucleotide 1166 (coding for p12).

It relates also more particularly to the cDNA fragment coding for the gp140 included in ENVRN and stretching from the nucleotide 1 to the nucleotide 2574.

It also relates to the nucleotidic sequences which distinguish from the preceding one by substitutions of nucleotides taking benefit from the degeneracy of the genetic code, as far as these substitutions does not bring a modification of the amino acid sequences which said nucleotidic sequences encode.

The invention likewise relates to the proteins or glycoproteins whose amino acid sequences correspond to those which derive from the preceding pages as well the equivalent peptides, namely peptides which differ from those which derive from the preceding pages by addition, substitution or deletion of amino acids

which do not affect the overall immunogenic properties of the said peptides.

5 The invention relates more especially to the envelope glycoprotein possessing the amino acid sequence which derive from ENVRN.

10 The invention also relates to an immunogenic composition characterized in that it comprises dosage units of envelope antigen, particularly the gp140 of the HIV-2 virus, such as to enable the administration of dosage units from 10 to 500, particularly from 50 to 100 mg/kg of body weight.

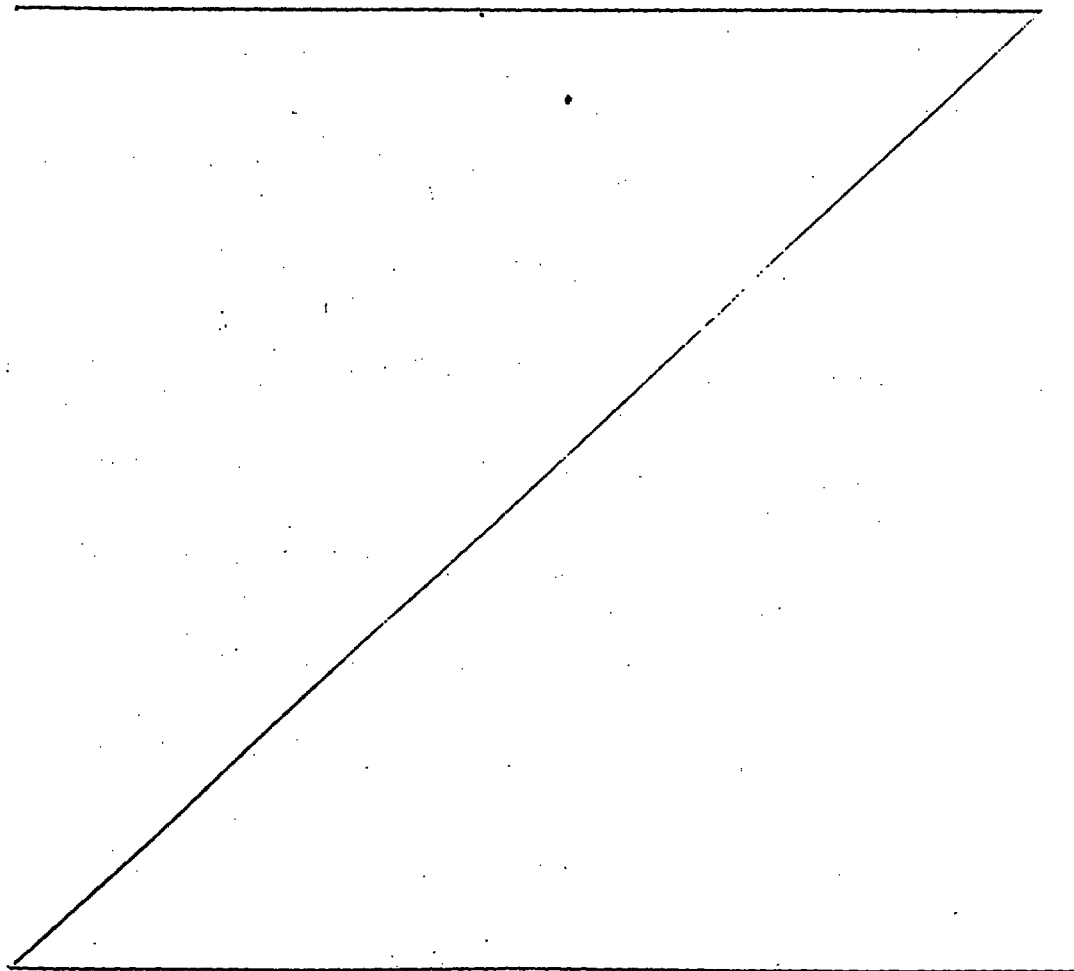
As an indication, molecular weights (MP) of HIV-2 proteins are given in comparison with those of HIV-1.

15

20

25

30



5	MP of HIV-2 proteins	MP of HIV-1 proteins
	kd	kd

	entire <u>gag</u>	entire <u>gag</u>
	58,3	55,8
	p 16	p 18
	15	14,9
10	p 26	
	27,6	
	p 12	
	15,8	
	<u>env</u>	<u>env</u>
	98,6	97,4
	external <u>env</u>	
	57,4	
	Transmembrane <u>env</u>	
	41,2	

15

HIV-2 Mir and HIV-2ROD have also been deposited in the "National Collection of Animal Cell Cultures" (ECACC) in Salisbury (Great-Britain) on January 9, 1987, under accessing numbers 87 011001 and 87 011002 respectively.

Moreover, plasmids pROD35 and pROD27.5 have been deposited at the "National Collection of Industrial Bacteria" (NCIB) in Aberdeen (Great-Britain) on January 9, 1987 under accessing numbers 12 398 and 12 399 respectively.

All the publications which are referred to in the present disclosure are incorporated herein by reference.

30

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - F. Barré-Sinoussi et al., Science 220, 868 (1983).
- 2 - L. Montagnier et al., In : Human Tcell leukemia
Orlym-
phoma viruses (Gallo, R.C., Essex, M.E., Gross, L.,
eds.) Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 363
(1984).
- 3 - M. Popovic, M.G. Sarngadharan, E. Read, R.C. Gallo,
Science 224, 497 (1984).
- 4 - J. Levy et al., Science 225, 840 (1984).
- 5 - P. Sonigo et al., Cell 42, 369 (1985).
- 7 - J.W. Curran et al., Science 229, 1352 (1985).
- 8 - A. Ellrodt et al., Lancet i, 1383 (1984).
- 9 - P. Piot et al., Lancet ii, 65 (1984).
- 10 - F. Brun-Vezinet et al., Science 226, 453 (1984).
- 11 - N. Clumeck et al., N. Engl. J. Med. 313, 182 (1985).
- 12 - A.B. Rabson and M.A. Martin, Cell 40, 477 (1985).
- 13 - S. Benn et al., Science 230, 949 (1985).
- 14 - M. Alizon, Manuscript in preparation.
- 15 - F. Brun-Vezinet, Unpublished data.
- 16 - M.D. Daniel et al., Science 228, 1201 (1985).
- 17 - P.J. Kanki et al., Science 228, 1199 (1985).
- 18 - N.L. Letwin et al., Science 230, 71 (1985).
- 19 - A. Gatzar et al., Blood 55, 409 (1980).
- 20 - D. Klatzmann et al., Science 225, 59 (1984).
- 21 - L. Montagnier et al., Virology 144, 283 (1985).
- 22 - J.S. Allan et al., Science 228, 1091 (1985).
- 23 - F. CHIVel, Manuscript in preparation.
- 24 - F. diMarzo Veronese et al., Science 229, 1402 (1985).
- 25 - V.S. Kalyanaraman et al., Science 218, 571 (1982).
- 26 - I.S.Y. Chen, J. McLaughlin, J.C. Gasson, S.C. Clark
and D.W. Golde, Nature 305, 502 (1983).
- 27 - F. Barin et al., Lancet ii, 1387 (1985).
- 28 - P.J. Kanki, J. Alroy, M. Essex, Science 230, 951
(1985).

- 29 - H. Towbin et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 4350 (1979).
- 30 - S. Wain-Hobson, P. Sonigo, O. Danos, S. Cole et M. Alizon, Cell 40, 9 (1985).
- 31 - M. Alizon et al., Nature 312, 757 (1984).

C L A I M S

- 1/ HIV-2 human retrovirus, having the capacity of infecting human T4 lymphocytes and being capable of causing AIDS in man, this retrovirus being constituted of one of the retroviruses deposited with the CNCM under n° I-502, I-532, I-642 and I-643 and with the ECACC under n° 87.011001 and 87.011002 (corresponding to n° I-502 and I-532 respectively), or a variant of one of these retroviruses comprising all the antigens which are recognized by the antibodies raised against the corresponding antigens of anyone of the retroviruses having been deposited with the CNCM or with the ECACC as said above.
- 2/ Human retrovirus according to claim 1, characterised in that its genomic RNA is capable of hybridizing under stringent conditions with the complementary chain of a cDNA or cDNA fragment derived from the genomic RNA of anyone of the retroviruses deposited with the CNCM under n° I-502, I-532, I-642 and I-643 and with the ECACC under n° 87.011001 and 87.011002 (corresponding to n° I-502 and I-532 respectively).
- 3/ Human retrovirus according to claim 1, characterised in that it comprises a set of antigens formed by core proteins having molecular weights of the order or 12000, 16000 and 26000 daltons respectively, protéins or glycoproteins having molecular weights respectively of the order of 36000 daltons and of the order of 42000-45000 daltons and a major envelope glycoprotein having a molecular weight of the order of 130000-140000 daltons.
- 4/ Human purified retrovirus according to claim 1, pathogenic for man and capable of causing AIDS, characterised by the whole following properties :



- the preferred target for the HIV-2 retrovirus consists of human Leu 3 cells (or T4 lymphocytes) and for permanent cell lines derived of said T4 lymphocytes ;
- 5 - it is capable of having a cytopathogenic effect for the human T4 lymphocytes which it infects ;
- it has a reverse transcriptase activity which requires the presence of Mg^{2+} ions and has a strong affinity for polyadenylate oligodeoxythymidylate
- 10 (Lpoly(A)-oligo(dT)12-18) ;
- it has a density of approximately 1.16 in a sucrose gradient ;
- it has a mean diameter of 140 nanometres and a core having mean diameter of 41 nanometres ;
- 15 - it can be cultivated in permanent cell lines expressing the T4 protein ;
- it is not infectious in T8 lymphocytes ;
- the lysates of this virus contain p26 protein which does not crossreact immunologically with p24 protein
- 20 of the HTLV-1 virus or of the HTLV-2 ;
- said lysates further contain p16 protein which is not recognized immunologically by p19 protein of HTLV-1 or of HTLV-2 in radioimmunoprecipitation assays
- 25 ;
- said lysates further contain an envelope glycoprotein having a molecular weight of the order of 130,000-140,000 daltons which does not crossreact immunologically with the envelope glycoprotein gp110 of HTLV-1 retrovirus ;
- 30 - said lysates further contain a protein or a glycoprotein which can be labelled by ^{35}S -cystein, having a molecular weight of the order of 36,000 daltons ;
- the genomic RNA of HIV-2 does not hybridize under stringent conditions with the genomic RNA of HIV-1 and



does not hybridize under non-stringent conditions either with the env gene, or with the LTRs of HIV-1 ;
 - the genomic RNA of HIV-2 hybridizes weakly under
 5 non-stringent conditions with nucleotide sequences comprising on the one hand nucleotides 990-1070 and on the other hand nucleotides 990-1260 of the GAG region of the HIV-1 genome.

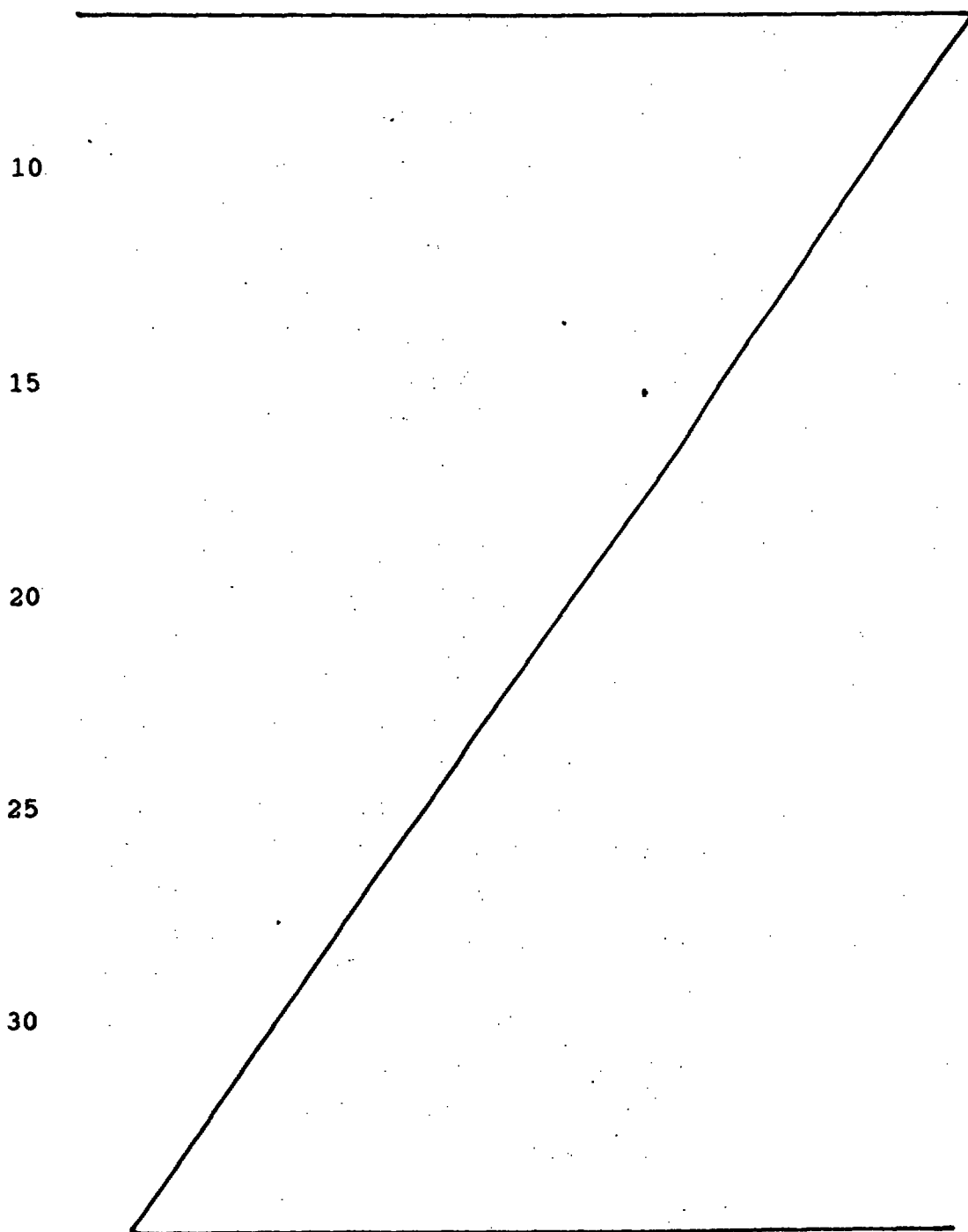
5/ Retrovirus according to anyone of claims 1 to 4,
 10 characterised in that it does not multiply in chronic fashion in the lymphocytes of macaques rhesus monkeys, when it has been injected in vivo and in working conditions which permit the development of the STLVIII_{mac} virus, as have been described by Letvin et
 15 al, Science (1985) vol.230, 71-75.

6/ The retrovirus of any of claims 1 to 5, characterised in that the sequence comprising the R region and the U3 region of the sequence comprising its genomic RNA also contains a nucleotidic sequence
 20 which corresponds to the following nucleotide sequence

25 GTGGAAGGCGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTTAGTTAAAGGACAG
 GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAACAGCTGAG
 ACTGCAGGGACTTTCCAGAAAGGGCTGTAACTAAGGGAGGGACATGGGAG
 GAGCTGGTGGGGAACGCCCTCATATTCCTGTATAATATACCGCTGCTTG
 CATTTGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
 30 GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
 CCAGCACTTGGCCGGTGCTGGCAGACGGCCCCACGCTTGCCTGCTTAAAX
 ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA



7/ Retrovirus according to anyone of claims 1 to 5
characterised in that its genomic RNA contains a gag
sequence corresponding to the following nucleotide
5 sequence :



CAGRODN .

5

ATCGCGCGGAGAACTCCGTCTTCAGAGGGAAAAAGCAGATCAA

TTACAAAGCAATCAGGTTACGGCCCGCGCAAAAGTACAGG

CTAAACATATTGTGTGGGCAGCGAATAAATGCACAGATTCCGA
100

10

TTAGCAGACAGCGTGTTCGAGTCAAAACAGGGTGTCAAAAAATT

CTTACAGTTTTAGATCCAATGGTACCGACAGGTTACGAAATTTA
200

15

AAAAGTCTTTTTAATACTGTCTCGGTCAATTCGTGCATACACCGA

GAACAGAAAGTCAAAGATACTGAAGGAGCAAAACAAATAGTCCGG
300

20

AGACATCTAGTCCGAGAAACAGGAACTGCACAGAAATGCCAAGG

ACAAGTAGACCAACAGCACCATCTAGCCAGACGGGAGGAAATTAG
400

25

CCAGTCCAACATGTAGGCGGAACTACACCCATATACCGCTGAGT

CCCCGAACCTAAATGCCCTGGCTAAATTTAGTAGAGGAAAAAAG

TTCGGGGCAGAACTAGTCCGAGGATTTACGGCACTCTCAGAAAGG
500

30

TGCACGGCCCTATGATATCAACCAAATGCTTAATGTGTGGCGAG

CATCAAGCAGCCATGCCAGATAATCAGGGAGTTATCAATCAGGAA
600

GCAGCAGAAATCGGATGTGCAACATCCAATACCGGGCCCTTACCA

CGCGGGCAGCTTAGAGAGCCAAGGGGATCTGCATAGCAGCGACA
700

ACAAGCACAGTAGAACAACAGATCCAGTCCATGTTTAGGCCACAA



* C L M S *



5
10
15
20
25
30

AATCGTGTACCACTAGCAACATCTATAGAGATGGATCCAGATA
100
CGATTGCAGAAAGTGTCTCAGCATGTACAACCCGACCAACATCCTA
GACATAAAACAGGCACCAAGGAGCCGTTCCAAAGCTATGTAGAT
900
AGATTCTACAAAAGCTTGAGGGCAGAACAAACAGATCCAGCAGT
AACAATTGGATGACCCAAACACTGCTAGTACAAAATGCCAACCCA
GACTGTAAATTAGTGTCTAAAAGGACTAGGCATCAACCTACCTTA
1000
GAACAGATGCTGACCCGCTGTCTCAGGGGTAGGTGGGGCAGGCCAG
AAAGCTACATTAATGCCAGAGGCCCTGAAAGAGCTCATAGCAGCT
1100
GCCCCATATCCCATTCGCAGCAGCCAGCAGACAAAGCCATTTAAA
TGCTGGAAGTGTGGAAGGAAGGGCACTCGGAAAGACAATGCCGA
1200
GCACCTAGAAGGCAGGGCTGCTGGAAGTGTGGAAGGCAGGACAG
ATCATGACAAACTGCCCAGATAGACAGGCAGGTTTTTTAGGACTG
1300
GCCCCCTGGGGAAAGAACCCCCGCAACTTCCCCGTGGCCCAAGTT
CGGCAGGGGCTGACACCAACAGCAGCCCCAGTGGATCCAGCAGT
GATCTACTGGAGAAATATATGCAGCAAGGGAAGACACAGACAG
1400
GAGACAGAGAGACCATAAAGGAAGTGACAGAGGACTTACTGCAG
CTCCAGCAGGGGAGACACCATAAGGGAGCCACCAACAGAGGAG
1500
TTGCTGCACCTCAATTCTCTCTTTGGAAGACAGCAG

8/ Retrovirus according to anyone of claims 1 to 6 characterised in that its genomic RNA contains a env sequence corresponding to the following nucleotide sequence :

10

15

20

25

30



* C L N S *

BNVRE

5 ATGATCAATCAGCTGCTTATTGCCATTTTATTAGCTAGTCTTGG
 TTAGTATATTGCACCCAATATGTAACGTTTTCTATGGCGTACCG
 10 ACGTGGAAAAATGCAACCATTCCCCTGTTTTGTCGAACCAGAAAT
 100
 ACCGATACTTGGGGAACCATACAGTGGTTGGCTGACAATGATCAT
 TATCAGGAATAAAGTTTGAATGTAACACAGCGCTTTTATGTCATCG
 200
 15 AATAATACAGTAACAGAACAAAGCAATAGACATGCTGCGCATCTA
 TTGGAGACATCAATAAAACCATGTGTGTAAGTAACTAACCGTTTATGT
 300
 GTAGCAATGAAATGCAGCAGCACAGAGAGCAGCACAGGGAACAAAG
 20 ACAACCTCAAAGAGCACAAGCACAACCCACAACCAACCCACAGAG
 400
 CAGGAGCAAGAGATAAGTCAAGGATACTCCATGCGCAGCGGCAGAG
 25 AACTGCTCAGGATTGGGACAGGAAGAAACGATCAATTGGCAGTTG
 AATATGACAGGATTAGAAAGACATAAGAAAAACAGTATAATGAA
 500
 ACATGGTACTCAAAAGATGTGGTTTGTGACACAAATAATAGCACA
 30 AATCAGACCCAGTGTATCATGAACCATTGCAACACATCAGTCATG
 600
 ACAGAAATCATGTGACAAGCACTATTGGGATGCTATAAGGTTTACA
 TACTGTGCACCACCGGGTTATGCCCTATTAAAGATGTAATGATACG
 700
 AATTATTACGGCTTTGCACCCAAGTGTCTTAAAGTAGTACCTTCT



* C L M S *

ACATGCCACCAGGATGATGGAAACGCAAACTTCCACATGGTTTGGG
 800
 5 YTTAATGGCACTAGAGCAGACAATAGAACATATATCTATTGGCAT
 GGCAGAGATAATACAACTATCATCAGCTTAAACAAATATTATAAT
 900
 10 CTCAGTTTGCATTGTAAAGAGGCCAGGCAATAGACAGTGAACAA
 ATAATGCTTATGTACGGACATGTGTTTCACITCCCACTACCAGCCB
 ATCAATAAAACACCCAGACAAAGCATGGTGGTGGTTCAAAGCCAAA
 1000
 15 TGGAAAGACGGCCATGCCAGGAGGTGAAGACCCCTTCCAAAACATCCG
 AGGTATAGAGCAACCAATGACACAAAGCAATATTAGCTTTGCAGCB
 1100
 20 CCAGCAAAAGGCTCAGACCCAGAAAGTACCATACATGTGGACTAAG
 TGCAGAGCAGAGTTTCTCTACTGCAACATGACITGGTTCTCAAT
 1200
 25 TGGATAGAGAATAAGACACACCCGCAATTATGCACCGTGGCATATA
 AAGCAATAATTAACACATGGCATAAGGTAGCCAGAAATGTATAT
 1300
 TTGCTCCCAAGGAAGGGGAGCTGTCTGCAACTCAACAGTAACG
 30 AGCATAATTGCTAACATTGACTGGCAAAACAAATACAGACAAAG
 ATTACCTTTAGTGCAGAGGTGGCAGAACTATACAGATTGGACTTG
 1400
 GGAGATTATAAATTGGTAGAAATAACACCAATTGGCTTGGCAGCT



* C L M S *

ACAAAGAAAAAGATAGTCTCTGCTCAGCGGAGACATACAAGA
 1500
 5 GGTGTGTTGGTCTAGCGTTCTTGGGTTTTCTCGCAACAGCAGGT
 TCTGCAATGGGGCTCGAGCGTCCCTGACCGTGTGGCTCACTCG
 1600
 10 CCGACTTTACTGGCCGGGATAGTGCAGCAACAGCAACAGCTGTTG
 CACGTGCTCAAGAGACAACAAGAACTGTTGGCACTGACCGTCTGG
 1700
 GGAACGAAAAACCTCCAGGCAAGAGTCACTGCTATAGACAAGTAG
 15 CTACAGGACCAGGCGCGGCTAAATTCATGGGATGTGGGTTTACA
 1800
 CAAGTCTGCCACACTACTGTACCATCGGTTAATGATTCTTAGCA
 CCTGACTGGGACAATATGACGTGGCAGGAATCGGAAAAACAAGTC
 20 CGGTACCTGGAGCGCAATATCAGTAAAAATTTAGAACAGGCACAA
 1900
 ATTCAGCAAGAGAAAAATATGTATGAAGTACAAAAATTAAATAGC
 25 TGGGATATTTTTGGCAATTGGTTTGACTTAACCTCCCTGGGTCAAG
 2000
 TATATTCAATATCGAGTGTATATAATAGTAGCAGTAATAGCTTTA
 AGAATAGTCATATATGTAGTACAAATGTTAAGTACGCTTAGAAAG
 2100
 30 CGCTATAGCCCTGTTTTCTCTTCCCCCCCCGGTTATATCCAACAG



5

ATCCATATCCACAAGGAACCGGGACAGCCAGCCAAACGAAGAAACA
2200

10

GAAGAAGACGGTGGAAAGCAACGGTGGAGACAGATACTGGCCCTCG

CCCATAGCATATATACATTTCCTGATCCGCCAGCTGATTCCGCTC

15

TTGACCAGACTATACAGCATCTGCAGGGACTTACTATCCAGGAGC
2300

TTCCTGACCCCTCCAACATCTTACCAGAACTCAGAGACTCGCTC

AGACTTAGAACAGCCCTTCTTCCAATATCGGTCCGAGTGGATCCAA
2400

20

GAAGCATTCAGGGCCGCGCGAGGGCTACAGAGAGACTCTTGGC

GGCCGCTCCAGCGGCTTGTGGAGGGTATTGGAACGAATCCGGAGC
2500

25

CGAATACTCGCGGTCCAAGAACGATCAGACAGCCAGCAGAAATC

GGCCCTCGCTC

30



* C L M S *

9/ Retrovirus according to anyone of claims 1 to 8, characterised in that its RNA does not hybridize under stringent conditions with the genomic RNA of HIV-1 and does not hybridize under non-stringent conditions, with the env gene and the LTR close to it, more particularly with the nucleotidic sequence 5290-9130 of HIV-1 and does not hybridize under non-stringent conditions with sequences of the pol region of the HIV-1 genome, particularly with the nucleotide sequence 2170-2240.

10/ Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 p12 protein, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 12000 daltons.

11/ Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 p16 protein, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 16000 daltons.

12/ Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 p26 protein, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 26000 daltons.

13/ Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 p36 protein, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 36000 daltons.



- 5 14/ Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 p42 protein, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight of the order of 42000-45000 daltons.
- 10 15/ Purified antigen of the retrovirus HIV-2 having the immunological characteristics of the HIV-2 glycoprotein gp140, immunologically recognized by antibodies raised against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and having a molecular weight
- 15 of the order of 130000-140000.
- 20 16/ Antigen having the following aminoacid sequence or a part of said sequence, providing that it raises a specific immunological reaction with the antibodies against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9, especially when this antigen is contacted with the serum of a patient infected with HIV.2.

25

30

35



5 ArgLysAlaPheLys
 CysTrpAsnCysGlyLysGlnGlyHisSerAlaArgGlnCysArg
 10 AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis
 IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu
 GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal
 15 ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal
 AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln
 1400
 GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis
 20 LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp
 1500
 LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

25

30

35



* C L M S *

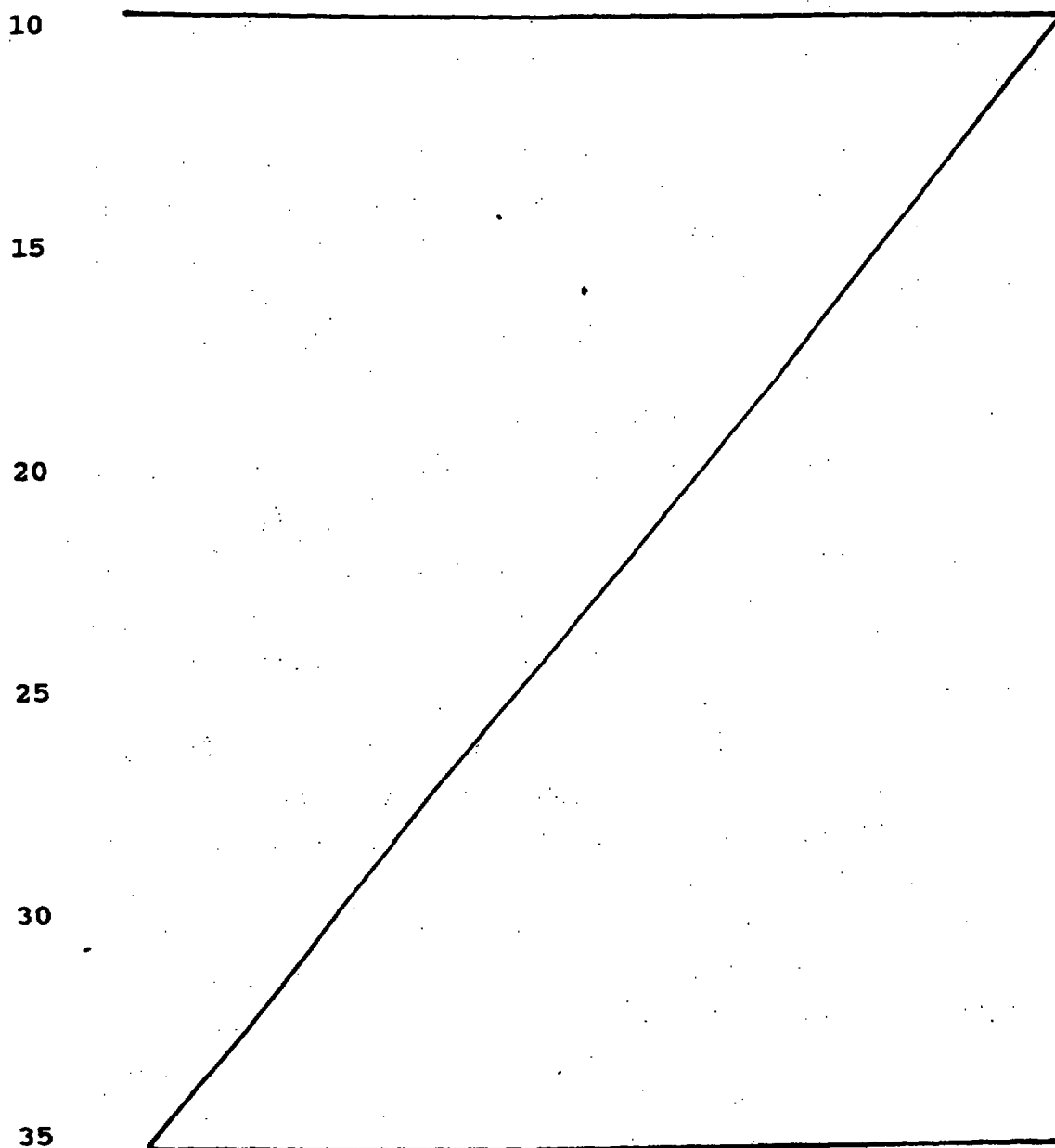
17/ Antigen having the following aminoacid sequence
 or a part of said sequence, providing that it raises a
 specific immunological reaction with antibodies
 against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of
 claims 1 to 9, especially when this antigen is
 contacted with the serum of a patient infected with
 HIV-2.

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln
 LeuGlnArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
 100
 LeuAlaGlnSerLeuLeuGlnSerLysGlnGlyCysGlnLysIle
 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGlnAsnLeu
 200
 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
 GlnGlnLysValLysAspThrGlnGlyAlaLysGlnIleValArg
 300
 ArgHisLeuValAlaGlnThrGlyThrAlaGlnLysMetProSer
 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGlnLysGlyGlyAsnTyr
 400



* C L M S *

18/ Antigen having the following aminoacid sequence
or a part of said sequence, providing that it raises a
specific immunological reaction with antibodies
against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of
claims 1 to 9, especially when this antigen is
contacted with the serum of a patient infected with
HIV-2.



ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
 ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
 5 PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly
 500 CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp
 10 HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGluIleIleAsnGluGlu
 600 AlaAlaGluTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro
 AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr
 15 ThrSerThrValGlnGluGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln
 700 AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle
 800 GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu
 20 AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp
 900 ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal
 25 LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro
 AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu
 1000 GluGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln
 30 LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro
 1100 AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln
 35



* C L M S *

19/ Antigen having the following aminoacid sequence
of a part of said sequence, providing that it raises a
specific immunological reaction with the antibodies
5 against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of
claims 1 to 9, especially when this antigen is
contacted with the serum of a patient infected with
HIV-2.

10

15

20

25

30



* C L M S *

ENVRN

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys
 LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro
 5 ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn
 100
 ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp
 10 TyrGlnGluIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp
 200
 AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu
 PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys
 15 ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn
 300
 ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp
 400
 20 GlnGluGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp
 AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe
 AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGlu
 25 500
 ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr
 AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnEisCysAsnThrSerValIle
 600
 30 ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg
 TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr
 700
 35 AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer



* C L M S *

ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly
 5 PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis 800
 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
 10 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrVallysGln 900
 IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro
 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
 15 TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro 1000
 ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla
 20 ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn 1100
 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn
 TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle 1200
 25 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr 1300
 30 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn
 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 1400
 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro

35



* C L M S *

ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 1500
 5 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 1600
 10 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 1700
 15 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 1800
 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 20 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
 1900
 25 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 2000
 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 30 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
 2100
 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln

35



* C L M S *

5 IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr
 GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp 2200
 10 ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu
 LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer
 2300 PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu
 15 ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGluTrpIleGln
 2400 GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGlnThrLeuAla
 GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArg
 20 GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle
 2500 AlaLeuLeu***GlyThrAlaValSerAlaGlyArgLeuTyrGlu
 25 TyrSerMetGluGlyProSerSerArgLysGlyGluLysPheVal
 2600 GlnAlaThrLysTyrGly

30

35



* C L M S *

20/ Composition for the in vitro diagnosis of the presence in a biological human sample of antibodies against a human HIV-2 virus capable of having a cytopathogenic effect for the T4 lymphocytes, characterised in that it contains at least one antigen, especially a protein or a glycoprotein of the HIV-2 retrovirus according to anyone of claims 1 to 9, or at least one antigen according to anyone of claims 10 to 19.

21/ Composition according to claim 20, characterised in that it consists of a total extract or of a lysate of the abovesaid retrovirus.

22/ Composition according to claim 20, characterised in that the antigen consists of at least one of the internal core protein of the abovesaid virus, chosen among proteins or glycoproteins p12, p16 and p26, having respectively molecular weights of the order of 12000, 16000 and 26000 daltons.

23/ Composition according to claim 20 or claim 21, characterised in that it contains a glycoprotein gp140, having a molecular weight of the order of 130000 to 140000 daltons.

24/ Composition according to claim 20 or claim 21, characterised in that it contains a glycoprotein gp36, having a molecular weight of the order of 36000 daltons.

25/ Composition for the in vitro diagnosis in a biological human sample, of antibodies against a human retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for the T4 human lymphocytes, comprising at least one HIV-1 antigen, characterised in that it further comprises at least one HIV-2 antigen according to anyone of claims 1 to 9, especially a protein or a



* C L M S *

glycoprotein of this HIV-2 retrovirus or at least one antigen according to anyone of claims 10 to 19.

5 26/ Composition according to claim 25, characterised in that it contains core proteins of HIV-1 and of HIV-2.

27/ Composition according to claim 26, characterised in that it contains the p25 of a HIV-1 and p26 of a HIV-2.

10 28/ Composition according to claim 26, characterised in that it contains the p18 of a HIV-1 and the p16 of a HIV-2.

15 29/ Composition according to claim 25, characterised in that it contains envelope glycoproteins of a HIV-1 and envelope glycoproteins of a HIV-2.

30/ Composition according to claim 29, characterised in that it contains the gp110 of HIV-1 and gp140 of HIV-2.

20 31/ Composition according to claim 29, or claim 30, characterised in that it contains the gp42 of HIV-1 and the p36 of HIV-2.

25 32/ Composition according to claim 26, characterised in that it contains mixtures on the one hand of antigens proteins or glycoproteins of HIV-1 or of the whole, on the other hand, mixtures of proteins or glycoproteins of HIV-2 or both together.

30 33/ Process for the in vitro detection of the presence of antibodies, induced in man infected with a human HIV-2 retrovirus, in a human biological sample such as a serum and more particularly for the in vitro diagnosis of a potential or existing LAS or AIDS due to such a retrovirus and obtained from the person being diagnosed, characterised in that this biological sample is contacted with an antigen recognized by an
35 antibody induced in the infected man, by a human HIV-2 retrovirus as defined in claims 1 to 9 in conditions



authorizing the formation of an immunological complex between this antigen and said antibody and in that the possibly immunological conjugate formed between this antibody and the antigen used is detected.

5 34/ Method according to claim 33, characterised in that the biological sample is contacted with an antigen according to anyone of claims 10 to 19 or a composition according to anyone of claims 20 to 24 in
10 conditions authorizing the formation of an immunological complex between this antigen and said antibodies and in that the immunological conjugate possibly formed between these anti-HIV-2 antibodies and the antigen used is detected.

15 35/ Method according to claim 34, characterised in that said immunological conjugate is detected by a reaction between the possibly formed immunological conjugate and a labelled reagent formed either by anti-human immunoglobulin antibodies either by
20 bacterial A protein and in that the complex formed between the reagent and the above immunological conjugate is detected.

25 36/ Method for the in vitro detection of the presence of antibodies recognizing antigens of a human retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for the T4 human lymphocytes in a human biological sample like a serum and more particularly for the in vitro diagnosis of a potential or existing LAS or AIDS caused by a human retrovirus, characterised in that
30 this biological sample obtained from the person being diagnosed, is contacted with a mixture of antigens capable of giving a specific immunological reaction with the antibodies against, on the one hand a human HIV-2 retrovirus capable of having a cytopathogenic effect, as defined in anyone of claims 1 to 9 on the other hand a human HIV-1 retrovirus and in that the



immunological conjugate possibly formed between at least one of these antigens and said antibodies is detected.

37/ Method according to claim 36, characterised in that the biological sample obtained from the person being diagnosed is contacted with a mixture of antigens obtained both from both a HIV-1 and a HIV-2 retrovirus according to any one of claims 1 to 9, especially with a composition according to anyone of claims 26 to 32 and in that the immunological complex possibly formed between at least one of these antigens and said antibodies is detected.

38/ Kit for the detection of antibodies against a retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for man, of the HIV-2 type, in a biological sample, particularly of a person possibly carrying such antibodies, characterised in that it comprises :

- at least an antigen such as defined in any of claims 10 to 19, or a composition these as defined in anyone of claims 20 to 32 and 34 and

- means for detecting the immunological conjugate resulting from the immunological reaction between the antigen and said biological sample.

39/ Kit according to claim 38, characterised in that means for detecting the immunological conjugate formed comprises human anti-immunoglobulins or an A protein and means for detecting the complex formed between the anti-HIV-2 antibodies contained in the detected immunological conjugate.

40/ Kit for the in vitro diagnosis of the presence of antibodies against a retrovirus which is cytopathogenic for human T4 lymphocytes, particularly of a person possibly carrying these antibodies, characterised in that it comprises :

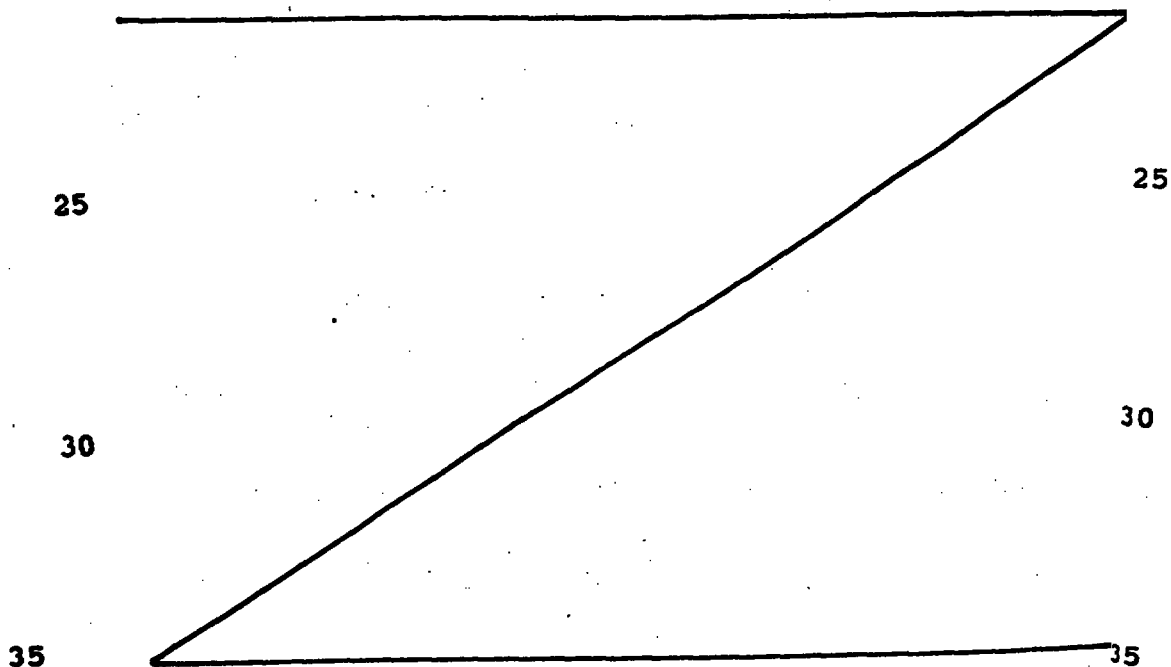


- a mixture of at least one HIV-1 antigen and at least one HIV-2 antigen, particularly a composition as defined in anyone of claims 25 to 32,

5 - means for detecting an immunological conjugate 5
resulting from the immunological reaction between the antigens and the antibodies of the biological fluid.

41/ Immunogenic composition containing an envelope glycoprotein of the HIV-2 human retrovirus as defined
10 in anyone of claims 1 to 9 such as the gp140 of this 10
retrovirus, or part of this glycoprotein capable of inducing antibodies against HIV-2 in association with a pharmaceutically acceptable vehicle, appropriate for the constitution of vaccines effective against HIV-2.

15 42/ Composition according to claim 41 characterised 15
in that it contains at least an immunogenic part of a glycoprotein containing a proteic backbone having the following sequence this immunogenic part being capable
of inducing antibodies against a human HIV-2
20 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9. 20



ENVRN

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys
 5 LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro
 ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn
 100
 10 ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp
 TyrGlnGluIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp
 200
 AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu
 15 PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys
 300
 ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn
 ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp
 20 GlnGluGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp
 400
 AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe
 25 AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGlu
 500
 ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr
 AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle
 30 ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg
 600
 TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr
 700
 35 AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer



ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly
 800
 5 PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis
 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
 900
 10 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln
 IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro
 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
 1000
 15 TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro
 ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla
 1100
 20 ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn
 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn
 1200
 25 TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle
 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
 1300
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr
 30 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn
 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 1400
 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro
 35



* C L M S *

5 ThrLysGlnLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 1500
 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 10 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 1600
 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 15 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 1700
 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 1800
 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 20 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
 1900
 25 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 2000
 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 30 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
 2100
 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
 35



* C L M S *

5 IleEisIleEisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr
 GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp 2200
 ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu
 10 LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer
 2300
 PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu
 ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGluTrpIleGln
 15 2400
 GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGluThrLeuAla
 GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArg
 20 2500
 GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle
 AlaLeuLeu,



43/ Immunogenic composition according to claim 41 or claim 42 characterised in that it is dosed in antigen in order to enable the administration of a dosage-unit of 10 to 500, particularly from 50 to 100µg/kg of bodyweight.

44/ Antibody specifically recognizing an antigen of a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9.

45/ Antibody according to claim 44, characterised in that it is monoclonal.

46/ Nucleic acid, optionally labelled, derived of part at least of RNA of the HIV-2 virus or of one of its variants, as defined in anyone of claims 1 to 9, characterised by its hybridization capacity with the RNA of said HIV-2 virus and by the absence of hybridization in stringent conditions with probes 1 to 4 respectively comprising the nucleotides 990-1070, 990-1260, 2170-2240, 3370-3640 of the DNA derived from the HIV-1 genome.

47/ Nucleic acid according to claim 46 containing at least part of a DNA sequence capable of hybridizing with the whole genomic RNA of a HIV-2 retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and not hybridizing in stringent conditions with the probes which DNA fragments derived from the HIV-1 genome are respectively constituted by fragments delimited by the nucleotides 990-1070, 990-1260, 2170-2240, 3370-3640 of the DNA derived from the HIV-1 genome.

48/ Nucleic acid according to claim 46, characterised in that it contains the nucleotidic sequence :



49/ Nuc
in that
all or
hereaft
having
reactio
defined
sequenc
infecte

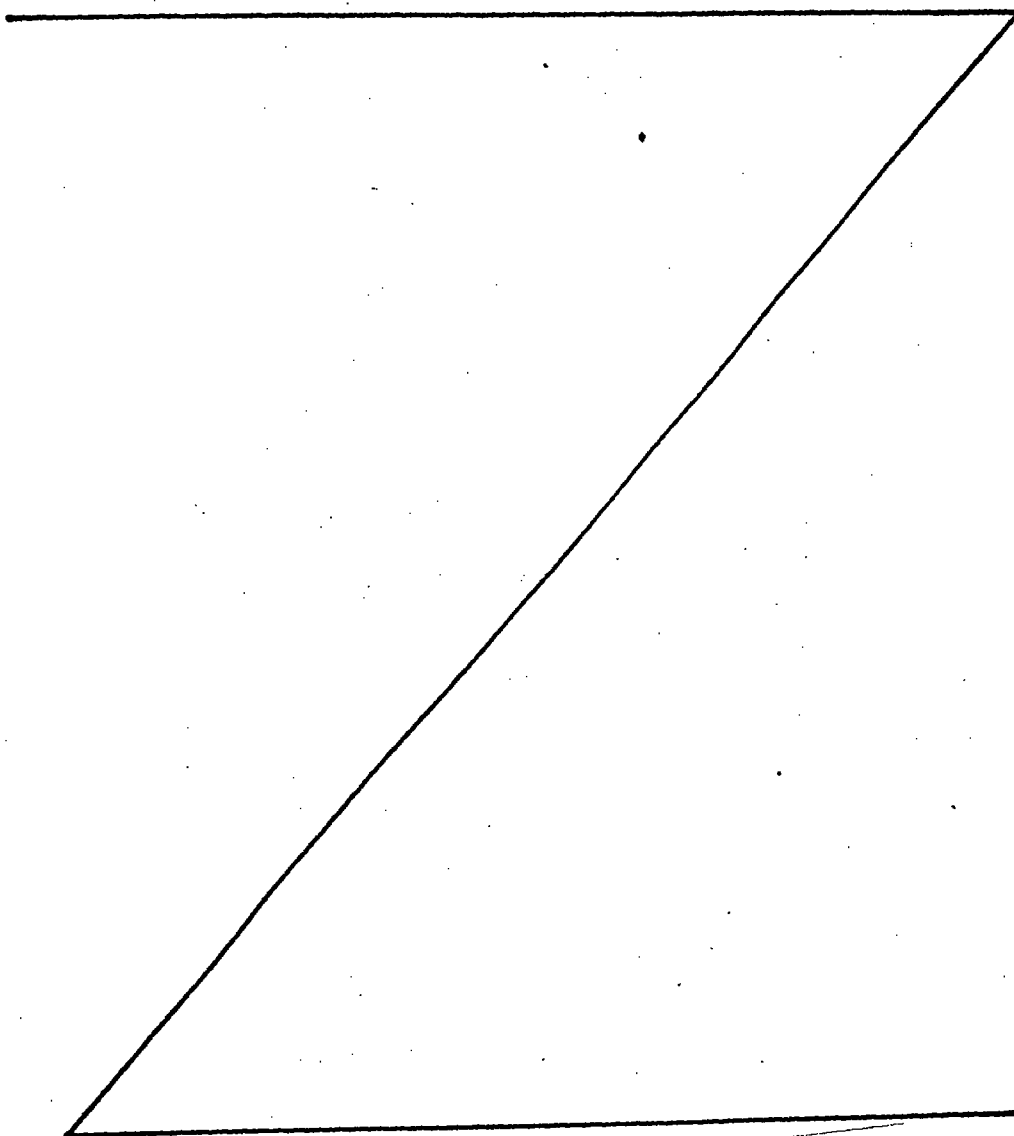
5 5
GTGGAAGGCGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTTAGTTAAAGG
GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGC
ACTGCAGGGACTTTCCAGAAGGGGCTGTAACCAAGGGAGGGACAT
10 GAGCTGGTGGGGAACGCCTCATATTCTCTGTATAATATACCCGCTN
CATTGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCC
GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGAC
CCAGCACTTGGCCGGTGCTGGCAGACGGCCCCACGCTTGCCTGC
15 5
ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

20 10
25 15
30 10
35 15



* C L N S *

49/ Nucleic acid according to claim 46, characterised
in that it contains a nucleotidic sequence coding for
all or part of the aminoacid sequence indicated
hereafter, this sequence or part of aminoacid sequence
having the capacity of giving a specific immunological
reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus as
defined in anyone of claims 1 to 9 when this aminoacid
sequence is contacted with a serum of a patient
infected with a HIV-2 retrovirus :



MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu
LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
100
LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle
LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
200
LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
300
ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr
400
ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly
500
CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp
HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGluIleIleAsnGluGlu
600
AlaAlaGluTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro
AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr
700
ThrSerThrValGluGluGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln



* C L M S *

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle

800

GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

5

AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp

900

ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal

10

LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

1000

GluGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

15

LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro

1100

AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGlnArgLysAlaPheLys

CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

20

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300

25

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGlu

30

1400

GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis

LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp

1500

35

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln



* C L M S *

50/ Nucleic acid according to claim 46, characterised
 in that it contains a nucleotidic sequence coding for
 part at least of the aminoacid sequence indicated
 hereafter, this aminoacid sequence being capable of
 giving a specific immunological reaction with
 antibodies against a HIV-2 retrovirus as defined in
 anyone of claims 1 to 9 when this aminoacid sequence
 is contacted with a serum of a patient infected with a
 HIV-2 retrovirus :

ArgLysAlaPheLys

15

CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

20

IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

25

AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGlu

1400

GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis

30

LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp

1500

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

35



* C L M S *

51/ Nucleic acid according to claim 46, characterised
 in that it contains a nucleotidic sequence coding for
 the totality or part of the aminoacid sequence
 5 indicated hereafter, the encoded aminoacid sequence
 having the capacity of giving a specific immunological
 reaction with antibodies against HIV-2 retrovirus as
 defined in anyone of claims 1 to 9 when it is
 contacted with a serum of a patient infected with a
 10 HIV-2 retrovirus :

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu
 15 LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
 100
 20 LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle
 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
 200
 25 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
 GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
 300
 ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
 30 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr

400

35



* C L N S *

38. Kit for the detection of antibodies against a retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for man, of the HIV-2 type, in a biological sample, particularly of a person possibly carrying such antibodies, characterised in that it comprises:

— at least an antigen such as defined in any of claims 10 to 19, or a composition these as defined in anyone of claims 20 to 32 and 34 and

— means for detecting the immunological conjugate resulting from the immunological reaction between the antigen and said biological sample.

39. Kit according to claim 38, characterised in that means for detecting the immunological conjugate formed comprises human anti-immunoglobulins or an A protein and means for detecting the complex formed between the anti-HIV-2 antibodies contained in the detected immunological conjugate.

40. Kit for the in vitro diagnosis of the presence of antibodies against a retrovirus which is cytopathogenic for human T4 lymphocytes, particularly of a person possibly carrying these antibodies, characterised in that it comprises:

— a mixture of at least one HIV-1 antigen and at least one HIV-2 antigen, particularly a composition as defined in anyone of claims 25 to 32,

— means for detecting an immunological conjugate resulting from the immunological reaction between the antigens and the antibodies of the biological fluid.

41. Immunogenic composition containing an envelope glycoprotein of the HIV-2 human retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 such as the gp140 of this retrovirus, or part of this glycoprotein capable of inducing antibodies against HIV-2 in association with a pharmaceutically acceptable vehicle, appropriate for the constitution of vaccines effective against HIV-2.

42. Composition according to claim 41 characterised in that it contains at least an immunogenic part of a glycoprotein containing a proteic backbone having the following sequence this immunogenic part being capable of inducing antibodies against a human HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9.

ENVIR

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys

LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro

ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn

100 ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp

TyrGlnGlnIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp

200 AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu

PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys

300 ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn

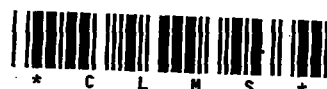
ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp

400 GlnGluGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp

AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe



AsnHetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGlu
 500
 ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr
 5
 AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle
 10
 ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg
 600
 TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr
 15
 AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer
 700
 ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly
 20
 PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis
 800
 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
 25
 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln
 900
 IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro
 30
 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
 35
 TrpLysAspAlaMetGlnGlnValLysThrLeuAlaLysHisPro
 1000
 ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla
 40
 ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn
 1100
 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn
 50
 TrpIleGlnAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle
 1200
 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
 55
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr
 1300
 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnGlnThrAsn
 60
 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 1400
 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro
 65



ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg

1500

GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly

SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer

1600

ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnLeuLeu

AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp

1700

GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr

LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg

1800

GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla

ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGlnTrpGluLysGlnVal

ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGlnGlnAlaGln

1900

IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer

TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys

2000

TrpIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu

ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys

2100

GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln

IleIleIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGlnThr

2200

GluGlnAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp

ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu

LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer

2300

PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu



ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGlnTrpIleGln

2400

GlnAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGlnThrLeuAla

GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGlnArgIleGlyArg

2500

GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGlnIle

AlaLeuLeu

43. Immunogenic composition according to claim 41 or claim 42 characterised in that it is dosed in antigen in order to enable the administration of a dosage-unit of 10 to 500, particularly from 50 to 100 µg/kg of bodyweight.

44. Antibody specifically recognizing an antigen of a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9.

45. Antibody according to claim 44, characterised in that it is monoclonal.

46. Nucleic acid, optionally labelled, derived of part at least of RNA of the HIV-2 virus or of one of its variants, as defined in anyone of claims 1 to 9, characterised by its hybridization capacity with the RNA of said HIV-2 virus and by the absence of hybridization in stringent conditions with probes 1 to 4 respectively comprising the nucleotides 990-1070, 990-1260, 2170-2240, 3370-3640 of the DNA derived from the HIV-1 genome.

47. Nucleic acid according to claim 46 containing at least part of a cDNA sequence capable of hybridizing with the whole genomic RNA of a HIV-2 retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and not hybridizing in stringent conditions with the probes which DNA fragments derived from the HIV-1 genome are respectively constituted by fragments delimited by the nucleotides 990-1070, 990-1260, 2170-2240, 3370-3640 of the DNA derived from the HIV-1 genome.

48. Nucleic acid according to claim 46, characterised in that it contains the nucleotidic sequence :

GTGGAAGCGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTAGTTAAAGGACAG
GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACGCTGAG
ACTGCAGGGACTTTCCAGAAAGGGGCTGTAACTAAGGAGGGACATGGGAG
GAGCTGGTGGGGAAAGCCTCATATTCCTCTGTATAATATACCGCTGCTTG
CATGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCTCTGCTAGACTCTCA
CCAGCACTTGGCCGGTGCTGGCAGACGGCCCCACGCTTGCCTGCTTAAAX
ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCX

49. Nucleic acid according to claim 46, characterised in that it contains a nucleotidic sequence coding for all or part of the aminoacid sequence indicated hereafter, this sequence or part of aminoacid sequence having the capacity of giving a specific immunological reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 when this aminoacid sequence is contacted with a serum of a patient infected with a HIV-2 retrovirus :

GACRODH

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln

LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg



LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly

100

LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGluLysIle

LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu

200

LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla

GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGluIleValArg

300

ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer

ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr

400

ProValGluHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys

PheGlyAlaGluValValProGlyPheGluAlaLeuSerGluGly

500

CysThrProTyrAspIleAsnGluMetLeuAlaCysValGlyAsp

HisGluAlaAlaMetGluIleIleArgGluIleIleAsnGluGlu

600

AlaAlaGluTrpAspValGluHisProIleProGlyProLeuPro

AlaGlyGluLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

700

ThrSerThrValGluGluGluIleGluTrpMetPheArgProGlu

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGluIle

800

GlyLeuGluLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

AspIleLysGluGlyProLysGluProPheGluSerTyrValAsp

900

ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGluThrAspProAlaVal

LysAsnTrpMetThrGluThrLeuLeuValGluAsnAlaAsnPro



AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

1000

GluGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro

1100

AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGlnArgLysAlaPheLys

CysTrpAsnCysGlyLysGlnGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln

1400

GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis

LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp

1500

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

50. Nucleic acid according to claim 46, characterised in that it contains a nucleotidic sequence coding for part at least of the aminoacid sequence indicated hereafter, this aminoacid sequence being capable of giving a specific immunological reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 when this aminoacid sequence is contacted with a serum of a patient infected with a HIV-2 retrovirus :

ArgLysAlaPheLys

CysTrpAsnCysGlyLysGlnGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal



AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln
 1400
 GlnArgGlnArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis
 LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp
 1500
 LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

51. Nucleic acid according to claim 46, characterised in that it contains a nucleotidic sequence coding for the totality or part of the aminoacid sequence indicated hereafter, the encoded aminoacid sequence having the capacity of giving a specific immunological reaction with antibodies against HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 when it is contacted with a serum of a patient infected with a HIV-2 retrovirus :

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln
 LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
 100
 LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle
 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
 200
 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
 GluGluLysValLysAsnThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
 300
 ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr
 400

52. Nucleic acid according to claim 46, characterised in that it contains a nucleotidic sequence coding for the totality or part of the aminoacid sequence indicated hereafter, the encoded aminoacid sequence having the capacity of giving a specific immunological reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 when it is contacted with a serum of a patient infected specifically with a HIV-2 retrovirus.

ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
 ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
 PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly
 500



CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp
 5 HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGlnIleIleAsnGlnGln
 600
 AlaAlaGlnTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro
 10 AlaGlyGlnLeuArgGlnProArgGlySerAspIleAlaGlyThr
 700
 ThrSerThrValGlnGlnGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln
 15 AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle
 200
 GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu
 25 AspIleLysGlnGlyProLysGlnProPheGlnSerTyrValAsp
 900
 ArgPheTyrLysSerLeuArgIleGlnGlnThrAspProAlaVal
 30 LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro
 AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu
 35 1000 ..
 GlnGlnMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln
 40 LysAlaArgLeuMetAlaGlnAlaLeuLysGlnValIleGlyPro
 1100
 AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln
 45

53. Nucleic acid according to claim 46, characterised in that it contains a nucleotidic sequence coding for the totality or part of the aminoacid sequence indicated hereafter, the encoded aminoacid sequence having the capacity of giving a specific immunological reaction with antibodies against HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 when this aminoacid sequence is contacted with a serum of a patient infected with a HIV-2 retrovirus :
 50

SEVEN
 55 MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys
 60 LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro
 ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn
 65 100



Arg Asp Thr Trp Gly Thr Ile Glu Cys Leu Pro Asp Asn Asp Asp
 Tyr Glu Glu Ile Thr Leu Asn Val Thr Glu Ala Phe Asp Ala Trp
 200
 Asn Asn Thr Val Thr Glu Glu Ala Ile Glu Asp Val Trp His Leu
 Phe Glu Thr Ser Ile Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys
 300
 Val Ala Met Lys Cys Ser Ser Thr Glu Ser Ser Thr Gly Asn Asn
 Thr Thr Ser Lys Ser Thr Ser Thr Thr Thr Thr Thr Pro Thr Asp
 400
 Glu Glu Glu Glu Ile Ser Glu Asp Thr Pro Cys Ala Arg Ala Asp
 Asn Cys Ser Gly Leu Gly Glu Glu Glu Thr Ile Asn Cys Glu Phe
 Asn Met Thr Gly Leu Glu Arg Asp Lys Lys Lys Glu Tyr Asn Glu
 500
 Thr Trp Tyr Ser Lys Asp Val Val Cys Glu Thr Asn Asn Ser Thr
 Asn Glu Thr Glu Cys Tyr Met Asn His Cys Asn Thr Ser Val Ile
 600
 Thr Glu Ser Cys Asp Lys His Tyr Trp Asp Ala Ile Arg Phe Arg
 Tyr Cys Ala Pro Pro Gly Tyr Ala Leu Leu Arg Cys Asn Asp Thr
 700
 Asn Tyr Ser Gly Phe Ala Pro Asn Cys Ser Lys Val Val Ala Ser
 Thr Cys Thr Arg Met Met Glu Thr Glu Thr Ser Thr Trp Phe Gly
 800
 Phe Asn Gly Thr Arg Ala Glu Asn Arg Thr Tyr Ile Tyr Trp His
 Gly Arg Asp Asn Arg Thr Ile Ile Ser Leu Asn Lys Tyr Tyr Asn
 900
 Leu Ser Leu His Cys Lys Arg Pro Gly Asn Lys Thr Val Lys Glu
 Ile Met Leu Met Ser Gly His Val Phe His Ser His Tyr Glu Pro
 Ile Asn Lys Arg Pro Arg Glu Ala Trp Cys Trp Phe Lys Gly Lys
 1000
 Trp Lys Asp Ala Met Glu Glu Val Lys Thr Leu Ala Lys His Pro



Arg Tyr Arg Gly Thr Asn Asp Thr Arg Asn Ile Ser Phe Ala Ala

1100

Pro Gly Lys Gly Ser Asp Pro Glu Val Ala Tyr Met Trp Thr Asn

Cys Arg Gly Glu Phe Leu Tyr Cys Asn Met Thr Trp Phe Leu Asn

1200

Trp Ile Glu Asn Lys Thr His Arg Asn Tyr Ala Pro Cys His Ile

Lys Glu Ile Ile Asn Thr Trp His Lys Val Gly Arg Asn Val Tyr

1300

Leu Pro Pro Arg Glu Gly Glu Leu Ser Cys Asn Ser Thr Val Thr

Ser Ile Ile Ala Asn Ile Asp Trp Glu Asn Asn Asn Glu Thr Asn

Ile Thr Phe Ser Ala Glu Val Ala Glu Leu Tyr Arg Leu Glu Leu

1400

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

Thr Lys Glu Lys Arg Tyr Ser Ser Ala His Gly Arg His Thr Arg

1500

Gly Val Phe Val Leu Gly Phe Leu Gly Phe Leu Ala Thr Ala Gly

Ser Ala Met Gly Ala Arg Ala Ser Leu Thr Val Ser Ala Glu Ser

1600

Arg Thr Leu Leu Ala Gly Ile Val Glu Glu Glu Glu Glu Leu Leu

Asp Val Val Lys Arg Glu Glu Glu Leu Leu Arg Leu Thr Val Trp

1700

Gly Thr Lys Asn Leu Glu Ala Arg Val Thr Ala Ile Glu Lys Tyr

Leu Glu Asp Glu Ala Arg Leu Asn Ser Trp Gly Cys Ala Phe Arg

1800

Glu Val Cys His Thr Thr Val Pro Trp Val Asn Asp Ser Leu Ala

Pro Asp Trp Asp Asn Met Thr Trp Glu Glu Trp Glu Lys Glu Val

Arg Tyr Leu Glu Ala Asn Ile Ser Lys Ser Lys Glu Glu Ala Glu

1900

Ile Glu Glu Glu Lys Asn Met Tyr Glu Leu Glu Lys Leu Asn Ser

Trp Asp Ile Phe Gly Asn Trp Phe Asp Leu Thr Ser Trp Val Lys

2000



Tyr Ile Gln Tyr Gly Val Leu Ile Ile Val Ala Val Ile Ala Leu
 Arg Ile Val Ile Tyr Val Val Gln Met Leu Ser Arg Leu Arg Lys
 Gly Tyr Arg Pro Val Phe Ser Ser Pro Pro Gly Tyr Ile Gln Gln
 Ile Ile Ile Ile Lys Asp Arg Gly Gln Pro Ala Ala Gln Gln Thr
 Glu Glu Asp Gly Gly Ser Asn Gly Gly Asp Arg Tyr Trp Pro Trp
 Pro Ile Ala Tyr Ile Ile Phe Leu Ile Arg Gln Leu Ile Arg Leu
 Leu Thr Arg Leu Tyr Ser Ile Cys Arg Asp Leu Leu Ser Arg Ser
 Phe Leu Thr Leu Gln Leu Ile Tyr Gln Asn Leu Arg Asp Trp Leu
 Arg Leu Arg Thr Ala Phe Leu Gln Tyr Gly Cys Glu Trp Ile Gln
 Glu Ala Phe Gln Ala Ala Ala Arg Ala Thr Arg Gln Thr Leu Ala
 Gly Ala Cys Arg Gly Leu Trp Arg Val Leu Gln Arg Ile Gly Arg
 Gly Ile Leu Ala Val Pro Arg Arg Ile Arg Gln Gly Ala Glu Ile
 Ala Leu Leu

54. Recombinant nucleic acid comprising a cDNA or part of this cDNA according to anyone of claims 46 to 53 and/or a RNA or part of a RNA corresponding to this cDNA inserted in a nucleic acid coming from a vector.

55. Recombinant nucleic acid according to claim 52, characterised in that it is labelled.

56. Process for the detection of a retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for man, of the HIV-2 type or of its RNA, in a biological liquid or tissue especially for the in vitro diagnosis in man for the potentially or existence of LAS or AIDS, characterised by contacting nucleic acids contained in this biological liquid or tissue with a probe containing a nucleic acid according to anyone of claims 49 to 53 in stringent hybridization conditions, or containing a DNA presenting a sequence homologie of at least 70 %, preferably of at least 90 % with the RNA of a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and capable of hybridizing with this one, in non stringent conditions with the « spot blot » technique the above contacting being realised for the time necessary for said hybridization to occur and being followed of the washing of the hybride formed, with a solution ensuring the preservation of said stringent conditions and the detection of the hybride formed.

57. A process for the production of a retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for man, of the HIV-2 type characterised by culturing in human T4 lymphocytes or in permanent cell lines derived from said T4 lymphocytes and carrying the T4 phenotype, which lymphocytes or cell lines had previously been infected with an isolate of HIV-2 virus as defined in anyone of claims 1 to 9, particularly when the level of reverse transcriptase activity has reached a determined threshold, recovering and purifying the amounts of virus released in the culture medium of said lymphocytes or cell lines, particularly by differential centrifugation in a gradient of sucrose or metrizamide.

58. A process for the production of specific antigens of the HIV-2 retrovirus characterised by lysing, particularly by means of detergent, such as sodium dodecylsulfate for instance 0.1 % SDS in a RIPA buffer) of the purified virus obtained after realisation of the process according to claim 57 and recovering the lysate containing said antigens.

59. Process for the production of a hybridization probe for the detection of RNA of HIV-2 retrovirus



characterised by the insertion of a DNA sequence, particularly according to anyone of claims 46 to 53, in a cloning vector, by in vitro recombination, cloning the modified vector obtained in a competent cellular host, and recovering the DNA-recombinants obtained.

60. The hybridoma secreting the monoclonal antibody according to claim 45.

5 61. Application of the polyclonal antibodies according to claim 44 or of the monoclonal antibodies according to claim 45, to the detection of HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 in a biological preparation.

62. Application of the polyclonal antibodies according to claim 44 or of the monoclonal antibodies according to claim 45, to the detection of antigens of the HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 in a biological preparation.

63. Application of the polyclonal antibodies according to claim 44 or of the monoclonal antibodies according to claim 45 to the purification of viral antigens of HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9.

15

Claims (for the Contracting States : AR, ES, GR)

1. HIV-2 human retrovirus, having the capacity of infecting human T4 lymphocytes and being capable of causing AIDS in man, this retrovirus being constituted of one of the retroviruses deposited with the CNCM under n° I-502, I-532, I-642 and I-643 and with the ECACC under n° 87.011001 and 87.011002 (corresponding to n° I-502 and I-532 respectively), or a variant of one of these retroviruses comprising all the antigens which are recognized by the antibodies raised against the corresponding antigens of anyone of the retroviruses having been deposited with the CNCM or with the ECACC as said above.

2. Human retrovirus according to claim 1, characterised in that its genomic RNA is capable of hybridizing under stringent conditions with the complementary chain of a cDNA or cDNA fragment derived from the genomic RNA of anyone of the retroviruses deposited with the CNCM under n° I-502, I-532, I-642 and I-643 and with the ECACC under n° 87.011001 and 87.011002 (corresponding to n° I-502 and I-532 respectively).

3. Human retrovirus according to claim 1, characterised in that it comprises a set of antigens formed by core proteins having molecular weights of the order of, 12000, 16000 and 26000 daltons respectively, proteins or glycoproteins having molecular weights respectively of the order of 36000 daltons and of the order of 42000-45000 daltons and a major envelope glycoprotein having a molecular weight of the order of 130000-140000 daltons.

4. Human purified retrovirus according to claim 1, pathogenic for man and capable of causing AIDS, characterised by the whole following properties :

- the preferred target for the HIV-2 retrovirus consists of human Leu 3 cells (or T4 lymphocytes) and for permanent cell lines derived of said T4 lymphocytes ;
- it is capable of having a cytopathogenic effect for the human T4 lymphocytes which it infects ;
- it has a reverse transcriptase activity which requires the presence of Mg^{2+} ions and has a strong affinity for polyadenylate oligodeoxycytidylylate (Lpoly(A)-oligo(dT)12-18) ;
- it has a density of approximately 1.16 in a sucrose gradient ;
- it has a mean diameter of 140 nanometres and a core having mean diameter of 41 nanometres ;
- it can be cultivated in permanent cell lines expressing the T4 protein ;
- it is not infectious in T8 lymphocytes ;
- the lysates of this virus contain p26 protein which does not crossreact immunologically with p24 protein of the HTLV-1 virus or of the HTLV-2 ;
- said lysates further contain p16 protein which is not recognized immunologically by p19 protein of HTLV-1 or of HTLV-2 in radioimmunoprecipitation assays ;
- said lysates further contain an envelope glycoprotein having a molecular weight of the order of 130,000-140,000 daltons which does not crossreact immunologically with gp110 of HTLV-1 retrovirus ;
- said lysates further contain a protein or a glycoprotein which can be labelled by ^{35}S -cystein, having a molecular weight of the order of 36,000 daltons ;
- the genomic RNA of HIV-2 does not hybridize under stringent conditions with the genomic RNA of HIV-1 and does not hybridize under non-stringent conditions either with the env gene, or with the LTRs of HIV-1 ;
- the genomic RNA of HIV-2 hybridizes weakly under non-stringent conditions with nucleotide sequences comprising on the one hand nucleotides 990-1070 and on the other hand nucleotides 990-1260 of the gag region of the HIV-1 genome.

5. Retrovirus according to anyone of claims 1 to 4, characterised in that it does not multiply in chronic fashion in the lymphocytes of macaques rhesus monkeys, when it has been injected in vivo and in working conditions which permit the development of the STLVIII_{mac} virus, as have been described by Letvin et al., Science (1985) vol. 230, 71-75.

6. The retrovirus of any of claims 1 to 5, characterised in that the sequence comprising the R region and the U3 region of the sequence comprising its genomic RNA also contains a nucleotidic sequence which corresponds to the following nucleotide sequence :



GTGGAAGGCGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTAGTTAAAGGACAG
 GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGCTGAG
 5 ACTGCAGGGACTTCCAGAAGGGGCTGTAACCAAGGGAGGGACATGGGAG
 GAGCTGGTGGGGAACGCCTCATATTCTCTGTATAATATACCCGCTGCTTG
 CATTGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
 10 GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
 CCAGCACTTGGCCGGTGTGGCAGACGGCCCCACGCTTGCCTGCTTAAAA
 ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

15 7. Retrovirus according to anyone of claims 1 to 5 characterised in that its genomic RNA contains a gag sequence corresponding to the following nucleotide sequence :

GAGRODH .

20 ATGGGGCGGAGAACTCCGTGTTGAGAGGGAAGGAGCAGATCAA
 TTACAAAGAATCAGGTTACGGCCCGGCGAAGAAAAAGTACAGG
 25 CTAAAAATATTGTGTGGCCAGCGAATAAATTGCACAGATTCCGA
 100
 TTAGCAGAGAGCCTGTTGGAGTCAAAAAGCGGTTGTCAAAAAATT
 CTTACAGTTTTAGATCCAATGGTACCGACAGCTTCAGAAAATTTA
 200
 AAAAGTCTTTTTAATACTGTCTGCGTCATTTCGTGCATACACGCA
 GAAGAGAAAGTCAAAGATACTGAAGCAGCAAAACAAATAGTCCGG
 300
 AGACATCTAGTGGCAGAAACAGGAACTGCAGAGAAAATGCCAAGC
 ACAAGTAGACCAACAGCACCATCTAGCGAGAAGGGAGGAAATTAG
 400
 CCAGTCCAACATGTAGGCGGAACTACACCCATATACCGCTGAGT
 CCCCCAACCCTAAATGCCTGGGTAAAATTAGTAGAGGAAAAAAG
 50 TTGGGGCCAGAACTAGTCCAGGATTTACGGCACTCTCAGAAAGC
 500
 TGCACGCCCTATGATATCAACCAAAATGCTTAATTGTGTGGCCGAC
 CATCAAGCAGCCATGCAGATAATCAGGGAGATTATCAATCAGGAA
 600
 GCAGCAGAATGGGATGTGCAACATCCAATACCAGGCCCTTACCA
 GCGGGGCAGCTTAGAGAGCCAAAGGGGATCTGACATAGCAGGGACA
 700
 ACAAGCACAGTACAACAACACATCCAGTGGATGTTTAGGCCACAA



AAATCCTGTACCACTAGCAACATCTATAGAAGATCGATCCAGATA
800

5 GGATTGCAGAAGTGTGTCAGGATGTACAACCCGACCAACATCCTA

GACATAAAACAGCGACCAAAAGGAGCCGTTCCAAAGCTATGTAGAT
900

10 ACATTCTACAAAAGCTTGAGCGCAGAACAAACAGATCCAGCAGTG

15 AAGAATTGGATGACCCAAACACTGCTAGTACAAAATGCCAACCCA

GACTGTAAATTACTGCTAAAAGGACTAGCGATGAACCCCTACCTTA
1000

20 GAAGAGATCCTGACCGCCTGTACGCGGTAGCTCGGCCAGGCCAG

25 AAAGCTAGATTAATGGCAGAGGCCCTGAAAGAGGTCATAGGACCT
1100

30 GCCCCATCCCATTCGCAGCAGCCGAGCAGAGAAAGGCATTTAAA

TGCTGGAACCTGTGCAAGGAAGGGCACTCGGCAAGACAATGCCGA
1200

35 GCACCTAGAAGGCAGCGCTGCTGGAAGTGTGCTAAGCCAGGACAG

ATCATGACAAACTGCCAGATAGACAGGCAGGTTTTTTAGGACTG
1300

40 GGGCCTTGCGCAAGCAAGCCCCGCAACTTCCCCGTGGCCCCAAGTT

45 CCGCAGCGGCTGACACCAACAGCACCCCCAGTGGATCCAGCAGTG

GATCTACTCGACAAATATATGCAGCAAGCGAAAGACAGAGAGAG
1400

QAGAGAGAGAGACCATAACAAGAACTGACAGAGGACTTACTGCAG

50 CTCGAGCAGGGGGAGACACCATACAGCGAGCCACCAACAGAGGAG
1500

TTGCTGCACCTCAATTCCTCTCTTTGCAAAAGACCAAG

55 8. Retrovirus according to anyone of claims 1 to 6 characterised in that its genomic RNA contains a env sequence corresponding to the following nucleotide sequence :

ENVEN

60 ATCATCAATCAGCTGCTTATTGCCATTTTATTAGCTAGTGCTTGC

65 TTAGTATATTGCACCCAATATGTAAGTGTCTTTCTATGGCGTACCC



ACGTGCAAAAATGCAACCATTCCCCTCTTTTGTGCAACCAGAAAT
100

ACGGATACTTGGGGAAACCATACAGTCTTGCCTGACAATGATGAT

TATCAGGAAATAACTTTGAATGTAACAGAGGCTTTTGATGCATGG
200

AATAATACAGTAACAGAAACAAGCAATAGAAGATGTCTGGCATCTA

TTGGAGACATCAATAAAAACCATGTCTCAAACTAACACCTTTATGT
300

GTAGCAATGAAATGCAGCAGCACAGAGAGCAGCACAGGGAAACAAC

ACAACCTCAAAGAGCACAAGCACAACCACAACCACCCACAGAG
400

CAGGAGCAAGAGATAAGTGAAGTACTCCATGCGCAGCGGCAGAG

AACTGCTCAGGATTGGCAGAGGAAGAAACCATCAATTGCCAGTTC

AATATGACAGGATTAGAAACAGATAAGAAAAACAGTATAATGAA
500

ACATGGTACTCAAAAGATGTGGTTTGTGAGACAAATAATAGCACA

AATCAGACCCAGTGTACATGAACCATTCGAACACATCAGTCATC
600

ACAGAATCATGTGACAAGCACTATTGGCATGCTATAAGGTTTAGA

TACTGTGCACCACCGGTTATGCCCTATTAAGATGTAATGATACC
700

AATTATTACGGCTTTGCACCCAACTGTTCCTAAAGTAGTAGCTTCT

ACATGCACCAGCATGATGGAACGCCAACTTCCACATGGTTTGGG
800

TTTAATGGCACTAGAGCAGAGAATAGAACATATATCTATTGGCAT

GGCAGAGATAATAGAACTATCATCAGCTTAAACAAATATTATAAT
900

CTCAGTTTGCATTGTAAGAGGCCAGGCAATAAGACAGTGAACAA

ATAATGCTTATGTGAGGACATGTGTTTCACTCCCACTACCAGCCG

ATCAATAAAAAGACCCAGACAAGCATGGTGGTTCAAAGGCAAA
1000



5

TGCAAGACGCCATGCAGGAGCTGAAGACCCTTGCAAAACATCCC
AGGTATAGAGGAACCAATGACACAAGGAATATTAGCTTTGCAGCG
1100

10

CCAGCAAAAGGCTCAGACCCAGAAGTAGCATACATGTGCGACTAAG
TGCAGAGGAGAGTTTCTCTACTGCAACATGACTTGGTTCTCTCAAT
1200

15

TGCATACAGAATAAGACACACCCGCAATTATGCACCGTGCCATATA
AAGCAAATAATTAACACATGGCATAAGGTAGGGAGAAATGTATAT
1300

20

TTCCTTCCAGGGAAGGGGAGCTGTCTGCAACTCAACAGTAACC
AGCATAATTGCTAACATTGACTGGCAAAACAATAATCAGACAAAC

25

ATTACGTTTAGTGCAGAGGTGGCAGAACTATACAGATTGCGACTTG
1400

30

CGACATTATAAATTGCTAGAAATAACACCAATTGCTTCCGACCT
ACAAAAGAAAAAGATACTCTCTGCTCAGCGGAGACATACAAGA
1500

35

GGTGTGTTGCTGCTAGGGTTCTTGGGTTTTCTCGCAACAGCAGGT
TCTGCAATGGGCGCTCGAGCGTCCCTGACCGTGTGCGGCTCAGTCC
1600

40

CGGACTTTACTGGCCGGGATAGTGCAGCAACAGCAACAGCTGTTG

45

GACGTGCTCAAGACACAACAAGAACTGTTGCCACTGACCGTCTCG
1700

50

GGAACGAAAAACCTCCAGGCAAGAGTCACTGCTATAGAGAAGTAC
CTACAGGACCAGGCGCGGCTAAATTTCATGGCGATGTGCGTTTAGA
1800

55

CAAGTCTGCCACACTACTGTACCATGGGTTAATGATTCTTAGCA

60

CCTGACTGGGACAATATGACGTGGCAGGAATGGCAAAAACAGTC
CGCTACCTGGAGGCAAATATCAGTAAAAAGTTAGAACAGGCACAA
1900

65

ATTACGAAGAGAAAAATATGTATGAACCTACAAAAATTAATAGC



TCGGATATTTTTGGCAATTGCTTTGACTTAACCTCCTGGGTCAAG
2000

TATATTCAATATGGAGTGCCTTATAATAGTAGCAGTAATAGCTTTA

AGAATAGTGATATATGCTAGTACAAATGTAAAGTAGGCTTAGAAAG
2100

GGCTATAGGCCCTGTTTTCTCTTCCCCCCCCGGTTATATCCAACAG
ATCCATATCCACAAGGAACCGGACAGCCAGCCAACGAAGAAACA
2200

GAAGAAGACGGTCCAAGCAACGGTGGAGACAGATACTGGCCCTGG
CGCATAGCATATATACATTTCTGATCCGCCAGCTGATTGGCCTC

TTGACCAGACTATACAGCATCTGCAGGGACTTACTATCCAGGAGC
2300

TTCTGACCCCTCCAACCTCATCTACCAGAATCTCAGAGACTGGCTG

AGACTTAGAACAGCCTTCTTGCAATATCGGTGCGAGTGGATCQAA
2400

GAAGCATTCCAGGCCGCCGCCAGGGCTACAAGACAGACTCTTGCG

GGCGCGTGCAGGGGCTTGTCGAGGGTATTGGAACGAATCGGGAGC
2500

CGAATACTCGCGGTTCCAAGAAGGATCAGACAGGGAGCAGAAATC

6CCCTCCTG

9. Retrovirus according to anyone of claims 1 to 8, characterised in that its RNA does not hybridize under stringent conditions with the genomic RNA of HIV-1 and does not hybridize under non-stringent conditions, with the env gene and the LTR close to it, more particularly with the nucleotidic sequence 5290-9130 of HIV-1 and does not hybridize under non-stringent conditions with sequences of the pol region of the HIV-1 genome, particularly with the nucleotide sequence 2170-2240.

10. A process for the production of specific antigens of the HIV-2 retrovirus characterised by the lysis, particularly by means of detergent, (such as sodium dodecylsulfate for instance 0.1 % SDS in a RIPA buffer) of the purified HIV-2 retrovirus according to claims 1 to 9 the recovery the lysate containing said antigens.

11. Process according to claim 10, comprising further :

— the separation from the lysate and the purification of one of the antigens consisting of one of the proteins or glycoproteins p12, p16, gp36, p43, gp140.

12. Process according to claim 11, characterised in that the antigen having the immunological characteristics of the HIV-2 p12 protein, recognized by antibodies formed against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 is separated and purified, this antigen having a molecular weight of the order of 12000 daltons.

13. Process according to claim 11, characterised in that the antigen having the immunological characteristics of the HIV-2 p16 protein, recognized by antibodies formed against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 is separated and purified, this antigen having a molecular weight of the order of 16000 daltons.

14. Process according to claim 11, characterised in that the antigen having the immunological characteristics of the HIV-2 p26 protein, recognized by antibodies formed against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 is separated and purified, this antigen having a molecular weight of the order of 26000 daltons.



15. Process according to claim 11, characterised in that the antigen having the immunological characteristics of the HIV-2 gp36 protein, recognized by antibodies formed against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 is separated and purified, this antigen having a molecular weight of the order of 36000 daltons.

5 16. Process according to claim 11, characterised in that the antigen having the immunological characteristics of the HIV-2 p42 protein, recognized by antibodies formed against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 is separated and purified, this antigen having a molecular weight of the order of 42000-45000 daltons.

10 17. Process according to claim 11, characterised in that the antigen having the immunological characteristics of the HIV-2 gp140 protein, recognized by antibodies formed against a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 is separated and purified, this antigen having a molecular weight of the order of 130000-140000 daltons.

15 18. Process according to claim 11, characterised in that the antigen separated and purified has the following aminoacid sequence or a part of said sequence, providing that it raises a specific immunological reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9, especially when this antigen is contacted with the serum of a patient infected with HIV-2.

ArgLysAlaPheLys

20

CysTrpAsnCysGlyLysGlnGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

I200

25

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

I300

30

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

35

AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln

I400

40

GlnArgGlnArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis

LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp

I500

45

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

19. Process according to claim 11, characterised in that the antigen separated and purified has the following aminoacid sequence or a part of said sequence, providing that it raises a specific immunological reaction with the antibodies against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9, especially when this antigen is contacted with the serum of a patient infected with HIV-2.

55

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln

LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg

60

LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly

I100

65

LeuAlaGlnSerLeuLeuGluSerLysGlnGlyCysGlnLysIle



LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu

200

LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleGlnAla

GlnGlnLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg

300

ArgHisLeuValAlaGlnThrGlyThrAlaGlnLysMetProSer

ThrSerArgProThrAlaProSerSerGlnLysGlyGlyAsnTyr

400

20. Process according to claim 11, characterised in that the antigen separated and purified has the following aminoacid sequence or a part of said sequence, providing that it raises a specific immunological reaction with the antibodies against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9, especially when this antigen is contacted with the serum of a patient infect with HIV-2:

ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGlnLysLys

PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGlnGly

500

CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp

HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGlnIleIleAsnGlnGln

600

AlaAlaGlnTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro

AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

700

ThrSerThrValGlnGlnGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle

800

GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp

900

ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGlnGlnThrAspProAlaVal

LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

1000



GlnGlnMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

LysAlaArgLeuMetAlaGlnAlaLeuLysGluValIleGlyPro

1100

AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln

21. Process according to claim 11, characterised in that the antigen separated and purified has the following aminoacid sequence or a part of said sequence, providing that it raises a specific immunological reaction with the antibodies against a HIV-2 retrovirus, according to anyone of claims 1 to 9, especially when this antigen is contacted with the serum of a patient infected with HIV-2:

ENVIR

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys

LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro

ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn

100

ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp

TyrGlnGluIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp

200

AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu

PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys

300

ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn

ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp

400

GlnGluGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp

AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe

AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGln

500

ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr

AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle

600

ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg

TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr

700

AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer



ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly
 5 PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis
 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
 10 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln
 IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro
 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
 20 TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro
 ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla
 25 ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn
 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn
 TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle
 35 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr
 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnGlnThrAsn
 45 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro
 ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 55 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 60 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 65



1700
 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 5 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 1800
 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 10 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
 15 1900
 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 20 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 2000
 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 25 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
 2100
 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
 30 IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr
 2200
 GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp
 35 ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu
 40 LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer
 2300
 PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu
 45 ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGlnTrpIleGln
 2400
 GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGlnThrLeuAla
 50 GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArg
 2500
 GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle
 55 AlaLeuLeu
 60

22. Process for the in vitro detection of the presence of antibodies, induced in man infected with a human HIV-2 retrovirus, in a human biological sample such as a serum and more particularly for the in vitro diagnosis of a potential or existing LAS or AIDS due to such a retrovirus and obtained from the person being diagnosed, characterised in that this biological sample is contacted with an antigen
 65 recognized by an antibody induced in the infected mean, by a human HIV-2 retrovirus as defined in claims



1 to 9 in conditions authorizing the formation of an immunological complex between this antigen and said antibody and in that the possibly immunological conjugate formed between this antibody and the antigen used is detected.

23. Method according to claim 22, characterised in that the biological sample is contacted with an antigen obtained by a process according to anyone of claims 12 to 21 in conditions authorizing the formation of an immunological complex between this antigen and said antibodies and in that the immunological conjugate possibly formed between these anti-HIV-2 antibodies and the antigen used is detected.

24. Method according to claim 23, characterised in that said immunological conjugate is detected by a reaction between the possibly formed immunological conjugate and a labelled reagent formed either by anti-human immunoglobulin-antibodies either by bacterial A. protein and in that the complex formed between the reagent and the above immunological conjugate is detected.

25. Method for the in vitro detection of the presence of antibodies recognizing antigens of a human retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for the T4 human lymphocytes in a human biological sample like a serum and more particularly for the in vitro diagnosis of a potential or existing LAS or AIDS caused by a human retrovirus, characterised in that this biological sample obtained from the person being diagnosed, is contacted with a mixture of antigens capable of giving a specific immunological reaction with the antibodies against, on the one hand a human HIV-2 retrovirus capable of having a cytopathogenic effect, as defined in anyone of claims 1 to 9 on the other hand a human HIV-1 retrovirus and in that the immunological conjugate possibly formed between at least one of these antigens and said antibodies is detected.

26. Method according to claim 25, characterised in that the biological sample obtained from the person being diagnosed is contacted with a mixture of antigens obtained both from a HIV-1 and a HIV-2, according to anyone of claims 1 to 9, especially with antigens obtained by the process according to anyone of claims 11 to 21 and HIV-1 antigens obtained by the same process, except that it is applied to a HIV-1 retrovirus and in that the immunological conjugate possibly formed between at least one of these antigens and said antibodies is detected.

27. Process for the obtention of antibodies specifically recognizing an antigen of a HIV-2 retrovirus comprising:

- the immunization of an animal with a HIV-2 retrovirus according to anyone of claims 1 to 9,
- the recovery of the antibodies formed.

28. Process for the production of a nucleic acid or of a nucleic acid fragment derived from the RNA of a HIV-2 retrovirus according to anyone of claims 1 to 9, comprising:

- the ultracentrifugation of the supernatant of a cells culture infected with an isolate of a HIV-2 retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and the recovery of the centrifugation pellet,
- when necessary the centrifugation of the pellet recovered on a sucrose gradient by the method described in EP-A-0138667 and the recovery of the sedimented pellet containing the genomic RNA,
- the synthesis of the initiator cDNA chain in contact with the RNA of the virus which is purified and sedimented in the presence of an oligo (dT) initiator, in an endogen reaction which is activated by a detergent, according to the technique described in Nature 312 :575-760 (1984)
- when necessary the purification of the RNA-cDNA hybrids by an extraction with a mixture of phenolchloroform, and precipitation with ethanol,
- the manufacture of a second cDNA chain in the presence of DNA polymerase I, RNaseH and of the 4 desoxynucleotides, according to the method described in gene 25 : 263-269 (1983), if necessary after extraction of the proteins present in the reaction mixture,
- the recovery of the nucleic acid obtained.

29. Process according to claim 28, characterised in that a nucleic acid is recovered being labelled if necessary, derived of at least a part of the RNA of the HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9, which hybridises with the RNA of said HIV-2 virus in stringent conditions, and not hybridizing in stringent conditions with the probes 1 to 4 respectively comprising the nucleotides 990-1070, 990-1260, 2170-2240, 3370-3640 of the DNA derived from the HIV-1 genome.

30. Process according to claim 29 characterised in that a nucleic acid is recovered which contains at least a part of a cDNA sequence capable of hybridising with the total genomic RNA of a HIV-2 retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and not hybridising with the probes whose DNA fragments derived from the HIV-1 genome are respectively constituted by fragments delimited by the nucleotides 990-1070, 990-1260, 2170-2240, 3370-3640 of the DNA derived from the HIV-1 genome.

31. Process according to claim 29, characterised in that a nucleic acid is recovered which contains the nucleotidic sequence:

GTGGAAGCGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTAGTTAAAGGACAG
GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGCTGAG
ACTGCAGGGACTTTCCAGAAAGGGCTGTAACCAAGGGAGGGACATGGGAG



GAGCTGGTGGGGAACGCCTCATATTCCTCTGTATAATATACCCGCTGCTTG
 CATGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
 5 GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
 CCAGCACTTGGCCGGTGCTGGCAGACGGCCCCACGCTTGCCTGCTTAAAX
 ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

- 10 32. Process according to claim 29, characterised in that a nucleic acid is recovered, which contains a nucleotidic sequence coding for all or part of the aminoacid sequence indicated hereafter, this sequence or part of aminoacid sequence having the capacity of giving a specific immunological reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 when this aminoacid sequence is contacted with a serum of a patient infected with a HIV-2 retrovirus :

GAGRODH

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu

LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg

LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly

100

LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGluLysIle

LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu

200

LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla

GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGluIleValArg

300

ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer

ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr

400

ProValGluHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys

PheGlyAlaGluValValProGlyPheGluAlaLeuSerGluGly

500

CysThrProTyrAspIleAsnGluMetLeuAsnCysValGlyAsp

HisGluAlaAlaMetGluIleIleArgGluIleIleAsnGluGlu

600

AlaAlaGluTrpAspValGluHisProIleProGlyProLeuPro



AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

5

ThrSerThrValGluGluGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle

10

GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

15

AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp

ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal

20

LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro

25

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

GluGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

30

LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro

AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGlnArgLysAlaPheLys

35

CysTrpAsnCysGlyLysGlnGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

40

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

45

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

50

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGlu

55

GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis

60

LeuGluGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

65



33. Process according to claim 29, characterised in that a nucleic acid is recovered, which contains a nucleotidic sequence coding for part at least of the aminoacid sequence indicated hereafter, this aminoacid sequence being capable of giving a specific immunological reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 when this aminoacid sequence is contacted with a serum of a patient infected with a HIV-2 retrovirus :

ArgLysAlaPheLys
 10 CysTrpAsnCysGlyLysGlnGlyHisSerAlaArgGlnCysArg
 ... 1200
 AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis
 15 IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu
 1300
 20 GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal
 ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal
 25 AspLeuLeuGlnLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln
 1400
 30 GlnArgGlnArgProTyrLysGlnValThrGluAspLeuLeuHis
 LeuGlnGlnGlyGlnThrProTyrArgGlnProProThrGluAsp
 35 1500
 LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

34. Process according to claim 29, characterised in that a nucleic acid is recovered, which contains a nucleotidic sequence coding for the totality or part of the aminoacid sequence indicated hereafter, the encoded aminoacid sequence having the capacity of giving a specific immunological reaction with antibodies against HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 when it is contacted with a serum of a patient infected with a HIV-2 retrovirus :

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln
 50 LeuGlnArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
 55 100
 LeuAlaGlnSerLeuLeuGlnSerLysGlnGlyCysGlnLysIle
 60 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
 200
 65 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla



GluGlnLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg

5

ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer

10

ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr

400

35. Process according to claim 29, characterised in that a nucleic acid is recovered, which contains a nucleotidic sequence coding for the totality or part of the aminoacid sequence indicated hereafter, the encoded aminoacid sequence having the capacity of giving a specific immunological reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 when it is contacted with a serum of a patient infected specifically with a HIV-2 retrovirus :

20

ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys

25

PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly

300

CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp

30

HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGluIleIleAsnGluGlu

600

AlaAlaGlnTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro

35

AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

40

ThrSerThrValGlnGluGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln

700

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle

45

GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

800

AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp

50

ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal

900

55

LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

60

GlnGlnMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

1000

65



LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro

5

1100

AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln

36. Process according to claim 29, characterised in that a nucleic acid is recovered, which contains a nucleotidic sequence coding for the totality or part of the aminoacid sequence indicated hereafter, this encoded aminoacid sequence having the capacity of giving a specific immunological reaction with antibodies against a HIV-2 retrovirus as defined in any one of claims 1 to 9 when this aminoacid sequence is contact with a serum of a patient infect with a HIV-2 retrovirus:

15

SEVERE

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys

20

LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro

ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn

25

100

ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp

TyrGlnGlnIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp

30

200

AsnAsnThrValThrGluGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu

PheGlnThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys

35

300

ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn

40

ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrProThrAsp

400

GlnGlnGlnGlnIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsn

45

AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe

50

AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGln

500

ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr

55

AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle

600

ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg

60

TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr

700

AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer

65



ThrCysThrArgMetMetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly

800

PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis

GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn

900

LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln

IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro

IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys

1000

TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro

ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla

1100

ProGlyLysGlySerAspProGlnValAlaTyrMetTrpThrAsn

CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn

1200

TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle

LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr

1300

LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr

SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn

IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu

1400

GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro

ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg

1500

GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly

SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer

1600

ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu

AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp



1700
 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 5
 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 1800
 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 10
 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 15
 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
 1900
 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 20
 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 2000
 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 25
 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
 2100
 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
 30
 IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr
 35
 GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp
 2200
 ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu
 40
 LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer
 45
 2300
 PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu
 50
 ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGluTrpIleGln
 2400
 GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGluThrLeuAla
 55
 GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGlnArgIleGlyArg
 2500
 GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle
 60
 AlaLeuLeu
 65



37. Process according to claim 28, characterised in that it further comprises the following steps :

— the action of the T4 DNA polymerase until the obtention of blunt ends on the double-stranded cDNA,

5 — the insertion of the cDNA containing adaptators and digested by adapted enzymes in the nucleic acid of a vector,

— the recovery of a recombinant nucleic acid comprising a cDNA or a part of this cDNA obtained by a process according to anyone of claims 28 to 36 and/or a RNA or a part of RNA corresponding to this cDNA, inserted in a nucleic acid obtained from said vector.

38. Process according to claim 37 characterised in that the recovered recombinant nucleic acid is 10 labelled.

39. Process for the detection of a retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for man, of the HIV-2 type or of its RNA, in a biological liquid or tissue especially for the in vitro diagnosis in man for the potentiality or existence of LAS or AIDS, characterised by contacting the nucleic acids contained in this biological liquid or tissue with a probe containing a nucleic acid obtained according to a process 15 according to anyone of claims 32 to 36 under stringent hybridization conditions, or containing a DNA presenting a sequence homologie of a least 70 %, preferably of at least 90 % with the RNA of a retrovirus according to anyone of claims 1 to 9 and capable of hybridizing with this one, in non stringent conditions with the « spot blot » technique the above contacting being realised for the time necessary for said hybridization to occur and being followed by the washing of the hybride formed, with a solution ensuring 20 the preservation of said stringent conditions and the detection of the hybride formed.

40. A process for the production of a retrovirus capable of having a cytopathogenic effect for man, of the HIV-2 type characterised by culturing in human T4 lymphocytes or in permanent cell lines derived from said T4 lymphocytes and carrying the T4 phenotype, which lymphocytes or cell lines had previously been infected with an isolate of HIV-2 virus as defined in anyone of claims 1 to 9, particularly when the 25 level of reverse transcriptase activity has reached a determined threshold, recovering and purifying the amounts of virus released in the culture medium of said lymphocytes or cell lines, particularly by differential centrifugation in a gradient of sucrose or metrizamide.

41. Process for the production of a hybridization probe for the detection of a RNA of a HIV-2 retrovirus, characterised by the insertion of a DNA sequence, especially a probe obtained by a process 30 according to anyone of claims 28 to 36 in a cloning vector, by in vitro recombination, by cloning the obtained modified vector in a competent cellular host and by the recovery of the obtained recombinant DNA.

42. The hybridoma secreting a monoclonal antibody specifically recognizing an antigen of a HIV-2 retrovirus according to anyone of claims 1 to 9.

35 43. Application of the polyclonal antibodies obtained by a process according to claim 27 to the detection of HIV-2 retrovirus as defined in anyone of Claims 1 to 9 in a biological preparation.

44. Application of the polyclonal antibodies obtained by a process according to claim 27 to the detection of antigens of the HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9 in a biological preparation.

45. Application of the polyclonal antibodies obtained by a process according to claim 27 to the purification of viral antigens of HIV-2 retrovirus as defined in anyone of claims 1 to 9.

Patentansprüche (für die Vertragsstaaten : BE, CH, DE, FR, GB, IT, LI, LU, NL, SE)

45 1. Menschliches Retrovirus HIV-2, das die Fähigkeit besitzt, menschliche T4-Lymphozyten zu infizieren und geeignet ist, beim Menschen Aids hervorzurufen, wobei dieses Retrovirus eines der bei CNCM unter der Nummer I-502, I-532, I-642 und I-643 und bei ECACC unter der Nummer 87011001 und 87011002 (jeweils den Nummern I-502 und I-532 entsprechend) hinterlegten Retroviren oder eine 50 Variation eines dieser Retroviren darstellt und alle Antigene enthält, die von den gegen die entsprechenden Antigene eines beliebigen Retrovirus, das Gegenstand der genannten Hinterlegungen bei CNCM oder ECACC ist, gebildeten Antikörper erkannt werden.

2. Menschliches Retrovirus nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sich seine Genom-RNS unter stringenten Bedingungen mit der Komplementärkette eines c-DNS oder c-DNS-Fragments, 55 gewonnen aus der Genom-RNS eines der bei CNCM unter der Nummer I-502, I-532, I-642 und I-643 und bei ECACC unter der Nummer 87011001 und 87011002 (jeweils den Nummern I-502 und I-532 entsprechend) hinterlegten Retroviren zu kreuzen vermag.

3. Menschliches Retrovirus nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Gesamtheit von Antigenen umfaßt, die durch Proteine des Kerns (Core) mit einem Molekulargewicht in der Größenord- 60 nung von 12000, 16000 bzw. 26000 Dalton, durch Proteine oder Glycoproteine mit jeweils einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 36000 Dalton und in der Größenordnung von 42000 bis 45000 Dalton, und durch ein Hauptglycoprotein der Hülle mit einem Molekulargewicht in der Größenord- nung von 130000 bis 140000 Dalton gebildet sind.

4. Gereinigtes menschliches Retrovirus nach Anspruch 1, das pathogen ist für den Menschen und 65 Aids hervorrufen kann, gekennzeichnet durch folgende Gesamtheit von Eigenschaften :



- bevorzugtes Zielobjekt des Retrovirus HIV-2 sind menschliche Leu3-Zellen (oder T4-Lymphozyten) und von diesen T4-Lymphozyten abgeleitete konstante Zelllinien ;
- es kann auf menschliche T4-Lymphozyten, die es infiziert, eine zytopathogene Wirkung ausüben ;
- es übt eine Reverse-Transkriptase-Aktivität aus, die die Anwesenheit von Mg^{2+} -Ionen erforderlich macht, und zeigt starke Aktivität gegenüber Poly(adenylat-oligodeoxythymidylat)-(poly(A)-oligo(DT) 12-18) ;
- es hat eine Dichte von ca. 1,16 in einem Saccharosegradienten ;
- es hat einen durchschnittlichen Durchmesser von 140 nm und einen Kern mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 41 nm ;
- es kann in konstanten, das Protein T4 exprimierenden Linien gezüchtet werden ;
- es ist für die T8-Lymphozyten nicht infektiös ;
- die Lysate dieses Virus enthalten ein Protein p26, das sich immunologisch nicht mit dem Protein p24 des Virus HTLV-1 oder des Virus HTLV-2 kreuzt ;
- diese Lysate enthalten außerdem ein Protein p16, das sich immunologisch nicht mit dem Protein p19 des HTLV-1 oder des HTLV-2 in Radioimmunaussfällungstests kreuzt ;
- sie enthalten außerdem ein Hauptglycoprotein der Hülle mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 130000 bis 140000 Dalton, das sich immunologisch nicht mit dem gp110 des Retrovirus HIV-1 kreuzt ;
- diese Lysate enthalten außerdem ein durch ^{35}S -Cystein markierbares Protein oder Glycoprotein mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 36000 Dalton ;
- die Genom-RNS des HIV-2 hybridisiert nicht, unter stringenten Bedingungen, mit der Genom-RNS des HIV-1, und hybridisiert nicht, unter nicht-stringenten Bedingungen, weder mit dem env-Gen noch mit den LTR des HIV-1 ;
- die Genom-RNS des HIV-2 hybridisiert schwach, unter nichtstringenten Bedingungen, mit den gag-Region des Genoms des HIV-1 enthalten.
5. Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß es sich nicht chronisch in Rhesusaffen-Lymphozyten vermehrt, wenn es in vivo injiziert wurde und unter Arbeitsbedingungen, welche die Entwicklung des Virus STLV-III_{mac} wie von Letvin et al., Science (1985), Band 230, 71-75 beschrieben, ermöglichen.
6. Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Sequenz, welche die R-Region und die U3-Region der ihre Genom-RNS umfassenden Sequenz enthält, eine Nukleotidsequenz aufweist, die der nachfolgenden Nukleotidsequenz entspricht :

35 GTGGAAAGGAGAGACTGAAGCAAGAGGAATACCATTAGTTAAAGGACAG
 GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACCTAACAGAAACAGCTGAG
 ACTGCAGGGACTTTCAGAAAGGGCTGTAAOCCAAGGGAGGGACATGGGAG
 40 GAGCTGGTGGGAAACGGCTCATATTCCTGTATATATACCGCTGCTTG
 CATGTACTTCAGTCCCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
 GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
 45 CCAGCACTTGGCCGGTGTCTGGCAGACGGCCCCACGCTTGCCTGCTTAA
 ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

7. Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß seine Genom-RNS eine gag-Sequenz enthält, die der folgenden Nukleotidsequenz entspricht :

55 GAGGDD .
 ATGCGCGCGAGAACTCCGTGTTGACAGGAAAAAGCAGATCAA
 TTACAAAGCAATCAGGTTACGGCCCCGGCCAAAGAAAACTACAG
 60 CTAACACATATTGTCTGGCCAGCCAAATAAATTGCACACATTCCGA
 100



TTAGCAGAGACCGCTGTTGGAGTCAAAACAGGGTTGTCAAAAAAT

5

CITACAGTTTTAGATCCAATGGTACCGACAGCTTCACAAAAATTA

200

AAAAGTCTTTTTAATACTGTCTCGGTGATTTCGTGCATACACCCA

10

GAAACAGAAAGTCAAAGATACTGAAGGAGCAAAACAAATAGTCCG

300

15

AGACATCTAGTGGCAGAAACAGGAACTGCAGACAAATGCCAAGC

ACAAGTAGACCAACAGCACCATCTAGCCAGAACGGAGCAAAATTAG

400

20

GCAGTGCACATGTAGCGCGCAACTACACCCATATACCGCTGAGT

CCCCGAAACCTAAATGCCCTGGCTAAAATTACTAGACCAAAAAAG

25

TTGGGGGCAGAACTAGTGGCAGGATTTACGGCACTCTCAGAAAGG

500

30

TGCACGCCCTATGATATCAACCAAAATGCTTAATTTGTGGGGGAG

CATCAAGCAGCCATGCAGATAATCAGCGAGATTATCAATCAGGAA

600

35

GCAGCAGAAATGGGATGTGCAACATCCAATACCAGGCCCTTACCA

GGGGGGCAGCTTAGAGAGCCAAAGGGGATCTGACATACCAGGCACA

700

40

ACAAACACAGTACAACAAACAGATCCAGTCCATGTTTACGCCACAA

45

AATCCTGTACCAGTAGCAAAACATCTATACAAGATCCATCCAGATA

800

50

GGATTGCAGAAGTGTGTGAGGATGTACAACCCGACCAACATCCTA

GACATAAAACAGGGACCAAAAGGAGCCGTTCCAAAGCTATGTAGAT

900

55

AGATTCTACAAAAGCTTGAGGGCAGAACAAACAGATCCAGCACTG

60

AAGAATTGGATGACCCAAACACTGCTAGTACAAATGCCAAGCCA

GACTGTAAATTAGTCTAAAAGGACTAGGGATCAACCCCTACCTTA

1000

65



GAAGAGATGCTGACCCCTGTCAGCCGGTAGGTGCCCCAGGCCAG
 5 AAAGCTAGATTAAATGGCAGAGGCCCTGAAAAGAGGTGATAGGACCT
 1100
 GCCCCATATCCCATTCGCAGCAGCCAGCAGAGAAAGGCATTTAAA
 10 TGCTGGAAGTGTGGAAGGAAGGCCACTCGGGAAGACAATGCCGA
 1200
 GCACCTAGAAGGCAGGCCCTGCTGGAAGTGTGCTAAGCCAGGCACG
 15 ATCATGACAAACTGCCCAGATAGACAGGCAGGTTTTTACGACTG
 1300
 20 GGGCGTGGGGAAAGAGCCCGCAACTTCCCCGTGCCCCAAGT
 CCGCAGCGGCTGACACCAACAGCAGCCCGCAGTCCATCCAGCAGT
 25 GATCTACTGAGAAATATATGACAGCAAGCGAAGACACAGACAG
 1400
 30 CAGACAGAGAGACCATAACGAAGTACACAGGACTTACTGCAG
 CTCAGCAGCGGCGACACACCATACAGGAGCCACCAACAGAGCAG
 35 1500
 TTGCTGCACCTCAATTCTCTTTTGGAAAAGACCCAG

40 8. Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß seine Genom-RNS eine env-Sequenz enthält, die der folgenden Nukleotidsequenz entspricht:

ENVRE
 45 ATGATGAATCAGCTGCTTATTGCCATTTTATTAGCTAGTGGTGG
 TTACTATATTGCACCCAATATGTAAGTGTCTTTCTATGGCGTACCG
 50 ACGTGGAAAAATGCAACCATTCCCCCTGTTTTGTCGAACCAGAAAT
 100
 55 AGCGATACTTGCGGAACCATACAGTGGCTTCCCTGACAATGATCAT
 TATCAGCAATAACTTTGAATGTAACAGAGGCTTTTGCATGCATGG
 60 200
 AATAATACAGTAACAGAACCAAGCAATAGAACATGCTCTGGCATCTA
 65



TTCCAGACATCAATAAAAACCATGTGTCAAACCTAACCTTTATGT
300

GTAGCAATGAAATGCAGCAGGACAGAGAGCAGCAGCGGAACAAAG

ACAACTCAAAGAGCACAAGCACAACCACAACCACACCCACAGAG
400

CAGGAGCAAGAGATAAGTCAAGGATACTCCATGCCGACGGCGCAGAG

AACTGCTCAGGATTGGGACAGCAAGCAAAACCATCAATTGCCAGTTC

AATATGACAGGATTAGAAAGACATAAGAAAAAACCTATAATGAA
300

ACATGGTACTCAAAAGATGTGGTTTGTGAGCAAAATAATAGCACA

AATCAGACCCAGTGTACATGAACCATTCGAAACATCAGTCATC
600

ACAGAAATCATGTGACAAGCACTATTGGCATGCTATAAGGTTTACA

TACTGTGCACCACCGGCTTATGCCCTATTAAAGATGTAATCATACC
700

AATTATTACGGCTTTGCCACCCAACTGTTCATAAAGTAGTAGCTTCT

ACATGCACCAGCATCATGGAACGCCAAACTTCCACATGGTTTGGG
800

TTTAATGGCACTAGAGCCAGACAATAGAACATATATCTATTGGCAT

GGCAGAGATAATAGAACTATCATCAGCTTAAACAAATATTATAAT
900

CTCAGTTTGCATTGTAAGAGGGCCAGGGAATAAGACAGTGAACAA

ATAATGCTTATGTCAAGCAGATGTGTTTCACTCCCACTACCAGCCB

ATCAATAAAAGACCCAGACAAGCATGGTGGCTGCTTCAAAGGCAAA
1000

TGCAAGACAGCCATGCAGGAGGTGAAGACCCCTTCCAAAACATCCG

ACGTATACAGCAACCAATGACACAAGGAATATTAGCTTTGCAGCG
1100



CCAGGAAAAGGCTCAGACCCAGAAAGTAGCATACATGTGCACTAAG

5 TGCAGAGGAGAGTTTCTCTACTGCAACATGACTTGGTTCTCAAT
1200

TGCATACAGCAATAAGACACACCGCAATTATGCACCGTCCCATATA

10 AAGCAATAATTAACAGATGGCATAAGCTAGCGAGAAATGTATAT
1300

TTGCCCTCCCAGGGAAGGGCAGCTGTCTGCAACTCAACAGTAACC

15 AGCATAATTGCTAACATTGACTGGCAAAACAATAATCAGACAAAG

20 ATTACGTTTACTGCAGAGCTGGCAGAACTATACAGATTGGAGTTG
1400

CCACATTATAAAATTCGTAGAAATAACACCAATTGGCTTCGCACCT

25
30 ACAAAAGAAAAAGATAGTCTCTGCTCAAGGAGACATACAAGA
1500

GGTGTGTTGGTCTAGCGTTCTTGGGTTTTCTCGCAACAGCAGGT

35 TCTGCAATGGCGGCTCGAGCGTCCCTGACCGTGTGGCTCACTCG
1600

CGGACTTTACTGGCGGGGATAGTGCAGCAACAGCAACAGCTGTTG

40 GACGTGCTCAAGACACAACAAGAACTGTTGGGACTGACCGTCTGG
1700

45 GGAACGAAAAACCTCCAGGCAAGAGTCACTGCTATACAGAACTAG

CTACAGGACCAGGCGGGCTAAATTTCATGGGATGTGGGTTTAGA
1800

50 CAAGTCTGCCACACTACTGTACCATGGCTTAATGATTTCCTTAGCA

55 CCTGACTGGGACAATATGACGTGGCAGGAATGGCAAAAACAAGTC

CGCTACCTGGAGGCAATATCACTAAAAATTAGAACAGGCACAA
1900

60 ATTACCAAGACAAAATATGTATGAACACAAAAATTAATAGC

65 TGGGATATTTTTGGCAATTGGTTTGACTTAACCTCCTGGGTCAAG
2000



TATATTCAATATCGAGTCTTATAATAGTACCAGTAATAGCTTTA

5 ACAATAGTCATATATGTAGTACAAATGTTAAGTAGGCTTAGAAA

2100

CGCTATAGCCCTGTTTTCTCTTCCCCCCCCGGTTATATCCAACAG

10 ATCCATATCCACAAGGAACGGGCGGACAGCCAGCCAAACGAAGAAACA

2200

GAAGAAGACGGTGGAAAGCAACGGCTCCAGACAGATACTGGCCCTGG

15 CGCATAGCATATATACATTTCTTGATCCGGCAGCTGATTGGCCTC

20 TTGACCAGACTATACAGCATCTCCAGGGACTTACTATCCAGGAGG

2300

TTCTGACCCCTCCAACCTCATCTACCAGAATCTCAGAGACTGGCTG

25 AGACTTAGAACAGCCTTCTTGCAATATCGGTCCGAGTGGATCQAA

2400

30 GAAGCATTCCAGGCCCGCCGGAGGGCTACAAGACAGACTCTTGGG

GGCGCGTCCAGCGGCTTGTCCAGCGTATTCGAACGAATCCGGAGG

2500

35 CGAATACTCGCGGTTCCAAGAACGATCAGACAGCCAGCAGAAATC

40 GCGCTCCTG

9. Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß seine RNS unter stringenten Bedingungen nicht mit der Genom-RNS des HIV-1 hybridisiert, und unter nicht-stringenten Bedingungen nicht mit dem env-Gen und dem angrenzenden LTR hybridisiert, insbesondere nicht mit der Nukleotidsequenz 5290-9130 des HIV-1, und unter nicht-stringenten Bedingungen nicht mit den Sequenzen der pol-Region des Genoms von HIV-1, insbesondere nicht mit der Nukleotidsequenz 2170-2240 hybridisiert.

10. Gereinigtes Antigen des Retrovirus HIV-2 mit den immunologischen Charakteristika des Proteins p12 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 12000 Dalton aufweist.

11. Gereinigtes Antigen des Retrovirus HIV-2 mit den immunologischen Charakteristika des Proteins p16 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 16000 Dalton aufweist.

12. Gereinigtes Antigen des Retrovirus HIV-2 mit den immunologischen Charakteristika des Proteins p26 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 26000 Dalton aufweist.

13. Gereinigtes Antigen des Retrovirus HIV-2 mit den immunologischen Charakteristika des Glycoproteins gp36 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 36000 Dalton aufweist.

14. Gereinigtes Antigen des Retrovirus HIV-2 mit den immunologischen Charakteristika des Proteins p42 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9



gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 42000 bis 45000 Dalton aufweist.

15. Gereinigtes Antigen des Retrovirus HIV-2 mit den immunologischen Charakteristika des Glycoproteins gp140 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 130000 bis 140000 aufweist Dalton aufweist.

16. Antigen, das die nachfolgend angeführte Aminosäuresequenz oder einen Teil dieser Sequenz enthält, von dem Zeitpunkt an, an dem sie eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 auslöst, insbesondere wenn dieses Antigen mit einem Serum eines mit HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird:

ArgLysAlaPheLys

15 CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

20

IleHisThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300

25 GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

30

AspLeuLeuGlnLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln

1400

35

GlnArgGlnArgProTyrLysGlnValThrGlnAspLeuLeuHis

LeuGlnGlnGlyGlnThrProTyrArgGlnProProThrGlnAsp

1500

40

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

17. Antigen, das die nachfolgend angeführte Aminosäuresequenz oder einen Teil dieser Sequenz enthält, von dem Zeitpunkt an, an dem sie eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 auslöst, insbesondere wenn dieses Antigen mit einem Serum eines mit HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird:

50

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln

LeuGlnArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg

55

LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly

100

60

LeuAlaGlnSerLeuLeuGlnSerLysGlnGlyCysGlnLysIle

LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGlnAsnLeu

200

65

LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla



GlnGlnLysValLysAspThrGlnGlyAlaLysGlnIleValArg

5

ArgHisLeuValAlaGlnThrGlyThrAlaGlnLysMetProSer

10

ThrSerArgProThrAlaProSerSerGlnLysGlyGlyAsnTyr

400

15

18. Antigen, das die nachfolgend angeführte Aminosäuresequenz oder einen Teil dieser Sequenz enthält, von dem Zeitpunkt an, an dem sie eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 auslöst, insbesondere wenn dieses Antigen mit einem Serum eines HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird:

20

ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGlnGlnLysLys

25

PheGlyAlaGlnValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGlnGly

300

30

CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp

HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGlnIleIleAsnGlnGln

35

AlaAlaGlnTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro

600

40

AlaGlyGlnLeuArgGlnProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

700

45

ThrSerThrValGlnGlnGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle

50

GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

800

AspIleLysGlnGlyProLysGlnProPheGlnSerTyrValAsp

55

ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGlnGlnThrAspProAlaVal

900

60

LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

65

1000 ..



GluGluMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

LysAlaArgLeuMetAlaGlnAlaLeuLysGluValIleGlyPro

AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln

19. Antigen, das die nachfolgend angeführte Aminosäuresequenz oder einen Teil dieser Sequenz enthält, von dem Zeitpunkt an, and dem sie eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 auslöst, insbesondere wenn dieses Antigen mit einem Serum eines HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird :

EXTR

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys

LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro

ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn

ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp

TyrGlnGluIleThrLeuAsnValThrGlnAlaPheAspAlaTrp

AsnAsnThrValThrGlnGlnAlaIleGluAspValTrpHisLeu

PheGlnThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys

ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn

ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp

GlnGlnGlnGlnIleSerGlnAspThrProCysAlaArgAlaAsn

AsnCysSerGlyLeuGlyGlnGlnGlnThrIleAsnCysGlnPhe

AsnMetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGln

ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr

AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle



600
ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg

5 TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr

700
AsaTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer

15 ThrCysThrArgMetMetGluThrGluThrSerThrTrpPheGly

800
PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis

20 GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn

900
25 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGlu

IleMetLeuMetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro

30 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys

1000
35 TrpLysAspAlaMetGluGluValLysThrLeuAlaLysHisPro

ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla

1100
40 ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn

CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn

1200
45 TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle

50 LysGluIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr

1300
55 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr

SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnLysAsnGlnThrAsn

60 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu

1400
65 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro



ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg

5

1500
GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly

SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer

10

1600
ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu

15

AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp

1700
GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr

20

LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg

25

1800
GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla

ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal

30

ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGlnGlnAlaGln

35

1900
IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGlnLeuGlnLysLeuAsnSer

TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys

40

2000
TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu

45

ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys

2100
GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln

50

IleHisIleHisLysAspIleGlyGlnProAlaAsnGlnGlnThr

55

2200
GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp

60

ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu

65

LeuThrArgGluTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer





2300
PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu

5 ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGlnTrpIleGln

2400
10 GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGlnThrLeuAla

GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGlnArgIleGlyArg

2500
15 GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGlnIle

AlaLeuLeu

20 20. Zusammensetzung für den Nachweis von Antikörpern gegen ein menschliches HIV-2 Virus, das eine zytopathogene Wirkung auf T4-Lymphozyten ausüben kann, in einer biologischen Probe vom Menschen in vitro, dadurch gekennzeichnet, daß sie wenigstens ein Antigen, insbesondere ein Protein oder ein Glycoprotein des Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 oder wenigstens ein Antigen nach einem der Ansprüche 10 bis 19 enthält.

21. Zusammensetzung nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß sie aus einem Gesamtextrakt oder einem Lysat des genannten Retrovirus besteht.

22. Zusammensetzung nach Anspruch 20, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen wenigstens aus einem der Innenproteine des Kerns (Core) des Virus besteht, ausgewählt unter den Proteinen oder Glycoproteinen p12, p16 und p26 mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von jeweils 12000, 16000 und 26000 Dalton.

23. Zusammensetzung nach Anspruch 20 oder Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Glycoprotein gp140 mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 130000 bis 140000 Dalton enthält.

24. Zusammensetzung nach Anspruch 20 oder Anspruch 21, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Glycoprotein gp36 mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 36000 Dalton enthält.

25. Zusammensetzung für den Nachweis von Antikörpern gegen ein menschliches Retrovirus, das eine zytopathogene Wirkung auf die T4-Lymphozyten ausüben kann und wenigstens ein HIV-1-Antigen enthält, in einer biologischen Probe vom Menschen in vitro, dadurch gekennzeichnet, daß sie ebenfalls wenigstens ein HIV-2 Antigen nach einem der Ansprüche 1 bis 9, insbesondere ein Protein oder ein Glycoprotein dieses Retrovirus HIV-2, oder wenigstens ein Antigen nach einem der Ansprüche 10 bis 19 enthält.

26. Zusammensetzung nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß sie Proteine des Kerns (Core) von HIV-1 und HIV-2 enthält.

27. Zusammensetzung nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß sie die p25 eines HIV-1 und die p26 eines HIV-2 enthält.

28. Zusammensetzung nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß sie das p18 eines HIV-1 und das p16 eines HIV-2 enthält.

29. Zusammensetzung nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß sie Hüllglycoproteine eines HIV-1 und Hüllglycoproteine eines HIV-2 enthält.

30. Zusammensetzung nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß sie das gp110 des HIV-1 und das gp140 des HIV-2 enthält.

31. Zusammensetzung nach Anspruch 29 oder Anspruch 30, dadurch gekennzeichnet, daß sie das gp42 des HIV-1 und das p36 des HIV-2 enthält.

32. Zusammensetzung nach Anspruch 26, dadurch gekennzeichnet, daß sie Mischungen, einerseits von Antigenen aus Proteinen oder Glycoproteinen von HIV-1 oder beides zusammen, und andererseits Mischungen aus Proteinen und Glycoproteinen von HIV-2 oder von beiden zusammen enthält.

33. Methode zum Nachweis der Anwesenheit von Antikörpern in vitro, die bei einem durch ein menschliches Retrovirus HIV-2 infizierten Menschen induziert wurden, in einer biologischen Probe vom Menschen, wie einem Serum, insbesondere zum Nachweis in vitro von möglicherweise oder tatsächlich vorhandenem SLA oder AIDS aufgrund eines solchen Nachweises, und die von der Person stammt, die Gegenstand des Diagnose ist, dadurch gekennzeichnet, daß man diese biologische Probe mit einem Antigen in Kontakt bringt, das durch einen bei dem durch ein menschliches Retrovirus HIV-2, wie es in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert wurde, infizierten Menschen induzierten Antikörper erkannt wurde, unter Bedingungen, welche die Bildung einer immunologischen Verbindung zwischen diesem Antigen

und dem besagten Antikörper ermöglichen, und daß man das gegebenenfalls zwischen diesem Antikörper und dem eingesetzten Antigen gebildete immunologische Konjugat nachweist.

34. Methode nach Anspruch 33, dadurch gekennzeichnet, daß man die biologische Probe mit einem Antigen nach einem der Ansprüche 10 bis 19 oder einer Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 20 bis 24 unter Bedingungen in Kontakt bringt, welche die Bildung einer immunologischen Verbindung zwischen diesem Antigen und den besagten Antikörpern ermöglichen, und daß man das gegebenenfalls zwischen diesen Antikörpern Anti-HIV-2 und dem eingesetzten Antigen gebildete immunologische Konjugat nachweist.

35. Methode nach Anspruch 34, dadurch gekennzeichnet, daß man den Nachweis des immunologischen Konjugats so durchführt, daß man das gegebenenfalls gebildete immunologische Konjugat mit einem markierten Reagens, gebildet durch menschliche Antiimmunoglobulin-Antikörper oder durch ein Bakterienprotein A, reagieren läßt und den gebildeten Komplex zwischen dem Reagens und dem genannten immunologischen Konjugat nachweist.

36. Methode zum Nachweis der Anwesenheit von Antikörpern in vitro, die Antigene eines menschlichen Retrovirus erkennen, das auf menschliche T4-Lymphozyten eine zytopathogene Wirkung auszuüben vermag, in einer biologischen Probe vom Menschen, wie einem Serum, insbesondere zum Nachweis in vitro von möglicherweise oder tatsächlich vorhandenem SLA oder AIDS aufgrund eines menschlichen Retrovirus, dadurch gekennzeichnet, daß man diese biologische Probe, die aus der Person stammt, die Gegenstand des Nachweises ist, mit einer Mischung von Antigenen in Kontakt bringt, die mit den Antikörpern einerseits gegen ein menschliches Retrovirus HIV-2, das eine zytopathogene Wirkung auszuüben vermag, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert wird, und andererseits gegen ein menschliches Retrovirus HIV-1 eine spezifische immunologische Reaktion einzugehen vermögen, und daß man das gegebenenfalls zwischen diesem Antikörper und wenigstens einem dieser Antigene gebildete immunologische Konjugat nachweist.

37. Methode nach Anspruch 36, dadurch gekennzeichnet, daß die aus der Person, die Gegenstand des Nachweises darstellt, stammende biologische Probe mit einem Gemisch von gleichzeitig aus HIV-1 und HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 stammenden Antigenen und insbesondere mit einer Zusammensetzung nach einem der Ansprüche 26 bis 32 in Kontakt gebracht wird, und daß man das gegebenenfalls zwischen diesem Antikörper und wenigstens einem dieser Antigene gebildete immunologische Konjugat nachweist.

38. Stoffkombination (Kit) zum Nachweis in vitro von Antikörpern gegen ein Retrovirus, das eine zytopathogene Wirkung auf den Menschen auszuüben vermag, vom Typ HIV-2 in einer biologischen Probe, insbesondere gegebenenfalls eines Trägers dieser Antikörper, dadurch gekennzeichnet, daß sie folgendes umfaßt:

— wenigstens ein Antigen nach einem der Ansprüche 10 bis 19, oder eine Zusammensetzung, wie in einem der Ansprüche 20 bis 32 und Anspruch 34 definiert,

— Mittel zum Nachweis des aus der immunologischen Reaktion zwischen dem Antigen und der besagten biologischen Probe resultierenden immunologischen Konjugats.

39. Stoffkombination (Kit) nach Anspruch 38, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel zum Nachweis des gebildeten immunologischen Konjugats menschliche Antiimmunoglobuline oder ein Protein A und Mittel zum Nachweis des zwischen den Antikörpern Anti-HIV-2, die im nachgewiesenen immunologischen Konjugat enthalten sind, gebildeten Komplexes umfassen.

40. Stoffkombination (Kit) zum Nachweis der Anwesenheit von Antikörpern gegen ein für menschliche T4-Lymphozyten zytopathogenes Retrovirus in vitro, insbesondere gegebenenfalls eines Trägers dieser Antikörper, dadurch gekennzeichnet, daß sie folgendes umfaßt:

— ein Gemisch aus wenigstens einem Antigen von HIV-1 und wenigstens einem Antigen von HIV-2, insbesondere eine Zusammensetzung, wie sie in einem der Ansprüche 25 bis 32 definiert ist,

— Mittel zum Nachweis des aus der immunologischen Reaktion zwischen den Antigenen und den Antikörpern der biologischen Flüssigkeit resultierenden immunologischen Konjugats.

41. Immunogene Zusammensetzung, die ein Hüllglycoprotein des menschlichen Retrovirus HIV-2 enthält, wie es in einer der Ansprüche 1 bis 9 definiert wird, wie zum Beispiel das gp140 dieses Retrovirus, oder einen Teil dieses Glycoproteins, der Antikörper gegen HIV-2 in Verbindung mit einem pharmazeutisch verträglichen Träger, der für die Bildung von Impfstoffen gegen HIV-2 geeignet ist, zu induzieren vermag.

42. Zusammensetzung nach Anspruch 41, dadurch gekennzeichnet, daß sie wenigstens einen immunogenen Teil eines Glycoproteins enthält, der ein Proteingerüst mit der nachfolgend angeführten Sequenz enthält, wobei dieser immunogene Teil Antikörper gegen ein menschliches Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, zu induzieren vermag:

EXVII

MetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys

LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro



Thr Trp Lys Asn Ala Thr Ile Pro Leu Phe Cys Ala Thr Arg Asn
 100
 Arg Asp Thr Trp Gly Thr Ile Glu Cys Leu Pro Asp Asn Asp Asp
 Tyr Glu Glu Ile Thr Leu Asn Val Thr Glu Ala Phe Asp Ala Trp
 200
 Asn Asn Thr Val Thr Glu Glu Ala Ile Glu Asp Val Trp His Leu
 Phe Glu Thr Ser Ile Lys Pro Cys Val Lys Leu Thr Pro Leu Cys
 300
 Val Ala Met Lys Cys Ser Ser Thr Glu Ser Ser Thr Gly Asn Asn
 Thr Thr Ser Lys Ser Thr Ser Thr Thr Thr Thr Thr Pro Thr Asp
 400
 Glu Glu Glu Glu Ile Ser Glu Asp Thr Pro Cys Ala Arg Ala Asp
 Asn Cys Ser Gly Leu Gly Glu Glu Glu Thr Ile Asn Cys Glu Phe
 500
 Asn Met Thr Gly Leu Glu Arg Asp Lys Lys Lys Glu Lys Thr Glu
 Thr Trp Tyr Ser Lys Asp Val Val Cys Glu Thr Asn Asn Ser Thr
 600
 Asn Glu Thr Glu Cys Tyr Met Asn His Cys Asn Thr Ser Val Ile
 Thr Glu Ser Cys Asp Lys His Tyr Trp Asp Ala Ile Arg Phe Arg
 700
 Tyr Cys Ala Pro Pro Gly Tyr Ala Leu Leu Arg Cys Asn Asp Thr
 Asn Tyr Ser Gly Phe Ala Pro Asn Cys Ser Lys Val Val Ala Ser
 800
 Thr Cys Thr Arg Met Met Glu Thr Glu Thr Ser Thr Trp Phe Gly
 Phe Asn Gly Thr Arg Ala Glu Asn Arg Thr Tyr Ile Tyr Trp His
 900
 Gly Arg Asp Asn Arg Thr Ile Ile Ser Leu Asn Lys Tyr Tyr Asn
 Leu Ser Leu His Cys Lys Arg Pro Gly Asn Lys Thr Val Lys Glu
 Ile Met Leu Met Ser Gly His Val Phe His Ser His Tyr Glu Pro



IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys

1000
TrpLysAspAlaMetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro

ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla

1100
ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrMetTrpThrAsn

CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnMetThrTrpPheLeuAsn

1200
TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle

LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr

1300
LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr

SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAlaGlnThrAsn

IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu

1400
GlyAspTyrLysLeuValGlnIleThrProIleGlyPheAlaPro

ThrLysGlnLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg

1500
GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly

SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer

1600
ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu

AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp

1700
GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr

LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg

1800
GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuIle

ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGlnTrpGluLysGlnVal



Arg Tyr Leu Glu Ala Asn Ile Ser Lys Ser Leu Glu Gln Ala Glu

1900

Ile Glu Glu Glu Lys Asn Met Tyr Glu Leu Glu Lys Leu Asn Ser

Trp Asp Ile Phe Gly Asn Trp Phe Asp Leu Thr Ser Trp Val Lys

2000

Ile Ile Glu Tyr Gly Val Leu Ile Ile Val Ala Val Ile Ala Leu

Arg Ile Val Ile Tyr Val Val Glu Met Leu Ser Arg Leu Arg Lys

2100

Gly Tyr Arg Pro Val Phe Ser Ser Pro Pro Gly Tyr Ile Glu Glu

Ile His Ile His Lys Asp Arg Gly Glu Pro Ala Asn Glu Glu Thr

2200

Glu Glu Asp Gly Gly Ser Asn Gly Gly Asp Arg Tyr Trp Pro Trp

Pro Ile Ala Tyr Ile His Phe Leu Ile Arg Glu Leu Ile Arg Leu

Leu Thr Arg Leu Tyr Ser Ile Cys Arg Asp Leu Leu Ser Arg Ser

2300

Phe Leu Thr Leu Glu Leu Ile Tyr Glu Asn Leu Arg Asp Trp Leu

Arg Leu Arg Thr Ala Phe Leu Glu Tyr Gly Cys Glu Trp Ile Glu

2400

Glu Ala Phe Glu Ala Ala Ala Arg Ala Thr Arg Glu Thr Leu Ala

Gly Ala Cys Arg Gly Leu Trp Arg Val Leu Glu Arg Ile Gly Arg

2500

Gly Ile Leu Ala Val Pro Arg Arg Ile Arg Glu Gly Ala Glu Ile

Ala Leu Leu

43. Immunogene Zusammensetzung nach Anspruch 41 oder Anspruch 42, dadurch gekennzeichnet, daß sie, im Hinblick auf das Antigen so dosiert ist, daß sie die Verabreichung einer Einheitsdosis von 10 bis 500, insbesondere von 50 bis 100 mg/kg Körpergewicht ermöglicht.

44. Antikörper, der ein Antigen eines Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 spezifisch erkennt.

45. Antikörper nach Anspruch 44, dadurch gekennzeichnet, daß er monoklonal ist.

46. Nukleinsäure, die gegebenenfalls von einem Teil wenigstens der RNS des HIV-2-Virus oder einem seiner Variationen, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, abgeleitet ist, gekennzeichnet durch ihre Fähigkeit zur Hybridisierung mit der RNS des HIV-2-Virus und durch die fehlende Hybridisierung unter stringenten Bedingungen mit den Sonden 1 bis 4, welche die Nukleotide 990-1070, 990-1260, 2170-2240 bzw. 3370-3640 des DNS-Derivats vom Genom des HIV-1 umfaßt.

47. Nukleinsäure nach Anspruch 46, die einen Teil wenigstens einer c-DNS-Sequenz enthält, der sich mit der gesamten Genom-RNS eines Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 zu kreuzen vermag, und sich unter stringenten Bedingungen nicht mit den Sonden kreuzt, deren DNS-Fragmente vom Genom des HIV-1 abgeleitet bzw. aus durch die Nukleotide 990-1070, 990-1260, 2170-2240 bzw. 3370-



3640 des DNS-Derivats vom Genom des HIV-1 begrenzte Fragmente gebildet sind.

48. Nukleinsäure nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, daß sie die folgende Nukleotidsequenz enthält:

5 GTGGAACGCGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTTAGTTAAAGGACAG
 GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGCTGAG
 ACTGCAGGGACTTTCCAGAAAGGGGCTGTAAOCAGGGAGGGACATGGGAG
 10 GAGCTGGTGGGGAACGCCCTCATATTCTCTGTATAATATACCCGCTGCTTG
 CATTGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
 GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGOCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
 15 CCAGCACTTGGCCGGTGCTGGCAGACGGCCCCACGCTTGCCTGCTTAAAX
 ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

20 49. Nukleinsäure nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Nukleotidsequenz enthält, welche die Gesamtheit oder einen Teil der nachfolgend angeführten Aminosäuresequenz kodiert, wobei diese Aminosäuresequenz oder ein Teil davon eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, auszulösen vermag, wenn diese Aminosäuresequenz mit einem Serum eines mit einem Retrovirus HIV-2 infizierten Patienten
 25 in Kontakt gebracht wird:

CACRODH

30 MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu
 LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
 35 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
 100
 40 LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle
 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
 45 200
 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
 50 GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
 300
 ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
 55 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr
 400
 60 ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
 ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
 65



PheGlyAlaGluValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly

500

CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp

HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGluIleIleAsnGluGln

600

AlaAlaGlnTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro

AlaGlyGlnLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

700

ThrSerThrValGlnGluGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle

800

GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

AspIleLysGlnGlyProLysGluProPheGlnSerTyrValAsp

900

ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGlnGlnThrAspProAlaVal

LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

1000

GluGlnMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

LysAlaArgLeuMetAlaGlnAlaLeuLysGlnValIleGlyPro

1100

AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGlnArgLysAlaPheLys

CysTrpAsnCysGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal



AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln

1400

GlnArgGlnArgProTyrLysGluValThrGlnAspLeuLeuHis

LeuGlnGlnGlyGlnThrProTyrArgGluProProThrGluAsp

1500

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

50. Nukleinsäure nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Nukleotidsequenz enthält, welche wenigstens einen Teil der nachfolgend angeführten Aminosäuresequenz kodiert, wobei diese Aminosäuresequenz eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, auszulösen vermag, wenn diese Aminosäuresequenz mit einem Serum eines mit Retrovirus HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird:

ArgLysAlaPheLys

CysTrpAsnGlyLysGluGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleMetThrAsnGlyProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln

1400

GlnArgGlnArgProTyrLysGluValThrGlnAspLeuLeuHis

LeuGlnGlnGlyGlnThrProTyrArgGlnProProThrGluAsp

1500

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

51. Nukleinsäure nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Nukleotidsequenz enthält, welche die Gesamtheit oder einen Teil der nachfolgend angeführten Aminosäuresequenz kodiert, wobei die kodierte Aminosäuresequenz eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, auszulösen vermag, wenn diese Aminosäuresequenz mit einem Serum eines mit Retrovirus HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird:

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln

LeuGlnArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg



LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAlaLysLeuAspArgPheGly
 100
 LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGluLysIle
 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
 200
 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
 GluGluLysValLysAsnThrGluGlyAlaLysGluIleValArg
 300
 ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
 400
 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr

- 25 52. Nukleinsäure nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Nukleotidsequenz enthält, welche die Gesamtheit oder einen Teil der nachfolgend angeführten Aminosäuresequenz kodiert, wobei die kodierte Aminosäuresequenz eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, auszulösen vermag, wenn diese Aminosäuresequenz mit einem Serum eines mit einem Retrovirus HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt
- 30 gebracht wird :

ProValGluHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer
 35 ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys
 PheGlyAlaGluValValProGlyPheGluAlaLeuSerGluGly
 40 500
 CysThrProTyrAspIleAsnGluMetLeuAsnCysValGlyAsp
 HisGluAlaAlaMetGluIleIleArgGluIleIleAsnGluGlu
 45 600
 AlaAlaGluTrpAspValGluHisProIleProGlyProLeuPro
 50 AlaGlyGluLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr
 700
 ThrSerThrValGluGluGluIleGluTrpMetPheArgProGlu
 55 AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGluIle
 800
 GlyLeuGluLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu
 65 AspIleLysGluGlyProLysGluProPheGluSerTyrValAsp



ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGluThrAspProAlaVal 900

LysAsnTrpMetThrGluThrLeuLeuValGluAsnAlaAsnPro

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

GluGluMetLeuThrAlaCysGluGlyValGlyGlyProGlyGlu 1000

LysAlaArgLeuMetAlaGluAlaLeuLysGluValIleGlyPro

AlaProIleProPheAlaAlaAlaGluGlu 1100

53. Nukleinsäure nach Anspruch 46, dadurch gekennzeichnet, daß sie eine Nukleotidsequenz enthält, welche die Gesamtheit oder einen Teil der nachfolgend angeführten Aminosäuresequenz kodiert, wobei die kodierte Aminosäuresequenz eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, auszulösen vermag, wenn diese Aminosäuresequenz mit einem Serum eines mit einem Retrovirus HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird:

SEQUENZ

MetMetAsnGluLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys

LeuValTyrCysThrGluTyrValThrValPheTyrGlyValPro

ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn

ArgAspThrTrpGlyThrIleGluCysLeuProAspAsnAspAsp 100

TyrGluGluIleThrLeuAsnValThrGluAlaPheAspAlaTrp

AsnAsnThrValThrGluGluAlaIleGluAspValTrpHisLeu 200

PheGluThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys

ValAlaMetLysCysSerSerThrGluSerSerThrGlyAsnAsn 300

ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp

GluGluGluGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp 400

AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGluPhe



AsnHetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGln

300

ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGlnThrAsnAsnSerThr

AsnGlnThrGlnCysTyrHetAsnHisCysAsnThrSerValIle

600

ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg

TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr

700

AsnTyrSerGlyPheAlaProAsaCysSerLysValValAlaSer

ThrCysThrArgHetHetGlnThrGlnThrSerThrTrpPheGly

800

PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis

GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn

900

LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln

IleHetLeuHetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro

IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys

1000

TrpLysAspAlaHetGlnGlnValLysThrLeuAlaLysHisPro

ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla

1100

ProGlyLysGlySerAspProGlnValAlaTyrHetTrpThrAsn

CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnHetThrTrpPheLeuAsn

1200

TrpIleGlnAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle

LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr

1300

LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr

SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn



IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu

1400

GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro

ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg

1500

GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly

SerAlaHisGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer

1600

ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu

AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp

1700

GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr

LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg

1800

GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla

...

ProAspTrpAspAsnHisThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal

ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGlnGlnAlaGln

1900

IleGlnGlnGluLysAsnHisTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer

TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys

2000

TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu

ArgIleValIleTyrValValGlnHisLeuSerArgLeuArgLys

2100

GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln

IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGlnGlnThr

2200

GluGlnAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp

ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu

LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer





EP 0 239 425 B1

2300
PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu
5 ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGluTrpIleGln
2400
GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGluThrLeuAla
10 GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGlnArgIleGlyArg
2500
GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle
15 AlaLeuLeu
20

54. Rekombinante Nukleinsäure die eine c-DNS oder einen Teil dieser c-DNS nach einem der Ansprüche 46 bis 53, und/oder eine RNS oder einen Teil einer RNS, der dieser c-DNS entspricht, die in eine aus einem Vektor stammende Nukleinsäure inseriert ist.
55. Rekombinante Nukleinsäure nach Anspruch 52, dadurch gekennzeichnet, daß sie markiert ist.
56. Verfahren zum Nachweis eines Retrovirus, das auf den Menschen eine zytopathogene Wirkung ausüben kann, vom Typ HIV-2, oder seiner RNS in einer biologischen Flüssigkeit oder einem biologischen Gewebe, insbesondere im Hinblick auf den Nachweis des möglichen oder tatsächlichen Vorliegens von SLA oder AIDS in vitro beim Menschen, gekennzeichnet durch die Kontaktierung von in dieser biologischen Flüssigkeit oder diesem biologischen Gewebe enthaltenen Nukleinsäuren mit einer Sonde, die eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 49 bis 53 enthält, unter stringenten Hybridisierungsbedingungen, oder eine DNS enthält, die eine Sequenzhomologie von wenigstens 70 %, vorzugsweise wenigstens 90 % mit der RNS eines Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 aufweist, und zur Hybridisierung mit dieser befähigt ist, unter nicht-stringenten Bedingungen, wobei die Kontaktierung nach der «Spot-Blot-Technik» während der für die Durchführung der Hybridisierung erforderlichen Zeitdauer durchgeführt wird, wonach das gebildete Hybrid mit einer Lösung gewaschen wird, welche die Beibehaltung der stringenten Bedingungen gewährleistet, sowie durch den Nachweis des gebildeten Hybrids.
57. Verfahren zur Herstellung eines Retrovirus, das auf den Menschen eine zytopathogene Wirkung auszuüben vermag, vom Typ HIV-2, gekennzeichnet durch die Züchtung in menschlichen T4-Lymphozyten oder in von T4-Lymphozyten abgeleiteten konstanten Zelllinien, wobei diese den Phänotyp T4 aufweisen, und diese Lymphozyten oder Zelllinien vorgängig mit einem Isolat des Virus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, infiziert worden waren, und insbesondere wenn das Aktivitätsniveau der Reverse-Transkriptase eine vorgegebene Schwelle erreicht hat, und durch Abtrennung und Reinigung der im Medium für die Züchtung dieser Lymphozyten oder Linien freigesetzten Virenmengen, insbesondere durch differentielle Zentrifugierung in einem Saccharose- oder Metrizamidgradienten.
58. Verfahren zur Herstellung von spezifischen Antigenen des Retrovirus HIV-2, gekennzeichnet durch die Lyse, insbesondere mit Hilfe von Detergentien wie Natriumdodecylsulfat (z.B. 0,1 % SDS in einem Puffer RIPA) des am Ende des Verfahrens nach Anspruch 37 erhaltenen gereinigten Virus, und die Abtrennung des, die genannten Antigene enthaltenen Lysats.
59. Verfahren zur Herstellung einer Hybridisierungssonde zum Nachweis einer RNS des Retrovirus HIV-2, gekennzeichnet durch die Inserierung einer DNS-Sequenz, insbesondere nach einem der Ansprüche 46 bis 53, in einen Klonierungsvektor durch Rekombination in vitro, durch die Klonierung des in einer kompetenten Wirtszelle erhaltenen modifizierten Vektors, sowie durch die Abtrennung der erhaltenen DNS-Rekombinanten.
60. Die sekretorischen Hybridome des monoklonalen Antikörpers nach Anspruch 45.
61. Verwendung der polyklonalen Antikörper nach Anspruch 44, oder der monoklonalen Antikörper nach Anspruch 45, zum Nachweis des Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, in einem biologischen Präparat.
62. Verwendung der polyklonalen Antikörper nach Anspruch 44, oder der monoklonalen Antikörper nach Anspruch 45, zum Nachweis der Antigene des Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, in einem biologischen Präparat.
63. Verwendung der polyklonalen Antikörper nach Anspruch 44, oder der monoklonalen Antikörper nach Anspruch 45, zur Reinigung der Virusantigene eines Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert.

Patentansprüche (für die Vertragsstaaten : AT, ES, GR)

1. Menschliches Retrovirus HIV-2, das die Fähigkeit besitzt, menschliche T4-Lymphozyten zu infizieren und geeignet ist, beim Menschen Aids hervorzurufen, wobei dieses Retrovirus eines der bei
5 CNCM unter der Nummer I-502, I-532, I-642 und I-643 und bei ECACC unter der Nummer 87011001 und 87011002 (jeweils den Nummern I-502 und I-532 entsprechend) hinterlegten Retroviren oder eine Variation eines dieser Retroviren darstellt und alle Antigene enthält, die von den gegen die entsprechenden Antigene eines beliebigen Retrovirus, das Gegenstand der genannten Hinterlegungen bei CNCM oder ECACC ist, gebildeten Antikörper erkannt werden.
- 10 2. Menschliches Retrovirus nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß sich seine Genom-RNS unter stringenten Bedingungen mit der Komplementärkette eines c-DNS oder c-DNS-Fragments, gewonnen aus der Genom-RNS eines der bei CNCM unter der Nummer I-502, I-532, I-642 und I-643 und bei ECACC unter der Nummer 87011001 und 87011002 (jeweils den Nummern I-502 und I-532 entsprechend) hinterlegten Retroviren zu kreuzen vermag.
- 15 3. Menschliches Retrovirus nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß es eine Gesamtheit von Antigenen umfaßt, die durch Proteine des Kerns (Core) mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 12000, 16000 bzw. 26000 Dalton, durch Proteine oder Glycoproteine mit jeweils einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 36000 Dalton und in der Größenordnung von 42000 bis
20 45000 Dalton, und durch ein Hauptglycoprotein der Hülle mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 130000 bis 140000 Dalton gebildet sind.
4. Gereinigtes menschliches Retrovirus nach Anspruch 1, das pathogen ist für den Menschen und Aids hervorrufen kann, gekennzeichnet durch folgende Gesamtheit von Eigenschaften :
 - bevorzugtes Zielobjekt des Retrovirus HIV-2 sind menschliche Leu3-Zellen (oder T4-Lymphozyten) und von diesen T4-Lymphozyten abgeleitete konstante Zelllinien ;
 - 25 — es kann auf menschliche T4-Lymphozyten, die es infiziert eine zytopathogene Wirkung ausüben ;
 - es übt eine Reverse-Transkriptase-Aktivität aus, die die Anwesenheit von Mg^{2+} -Ionen erforderlich macht, und zeigt dann starke Aktivität gegenüber Poly(adenylat-oligodeoxythymidylat)-(poly(A)-oligo(DT) 12-18 ;
 - es hat eine Dichte von ca. 1,16 in einem Saccharosegradienten ;
 - 30 — es hat einen durchschnittlichen Durchmesser von 140 nm und einen Kern mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 41 nm ;
 - es kann in konstanten, das Protein T4 exprimierenden Zelllinien gezüchtet werden ;
 - es ist für die T8-Lymphozyten nicht infektiös ;
 - die Lysate dieses Virus enthalten ein Protein p26, das sich immunologisch nicht mit dem Protein
35 p24 des Virus HTLV-1 oder des Virus HTLV-2 kreuzt ;
 - diese Lysate enthalten außerdem ein Protein p16, das sich immunologisch nicht mit dem Protein p19 des HTLV-1 oder des HTLV-2 in Radioimmunaussäufungstests kreuzt ;
 - sie enthalten außerdem ein Hauptglycoprotein der Hülle mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 130000 bis 140000 Dalton, das sich immunologisch nicht mit dem gp110 des
40 Retrovirus HIV-1 kreuzt ;
 - diese Lysate enthalten außerdem ein durch ^{35}S -Cystein markierbares Protein oder Glycoprotein mit einem Molekulargewicht in der Größenordnung von 36000 Dalton ;
 - die Genom-RNS des HIV-2 hybridisiert nicht, unter nicht-stringenten Bedingungen, mit der Genom-RNS des HIV-1, und hybridisiert nicht, unter nicht-stringenten Bedingungen, weder mit dem env-
45 Gen noch mit den LTR des HIV-1 ;
 - die Genom-RNS des HIV-2 hybridisiert schwach, unter nichtstringenten Bedingungen, mit den Nukleotidsequenzen, die einerseits die Nukleotide 990-1070, andererseits die Nukleotide 990-1260 der gag-Region des Genom-RNS des HIV-1 enthalten.
5. Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß es sich nicht
50 chronisch in Rhesusaffen-Lymphozyten vermehrt, wenn es in vivo injiziert wurde und unter Arbeitsbedingungen, welche die Entwicklung des Virus STLV-III_{mac}, wie von Letvin et al., Science (1985), Band 230, 71-75 beschrieben, ermöglichen.
6. Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Sequenz, welche
55 die R-Region und die U3-Region der ihre Genom-RNS umfassenden Sequenz enthält, eine Nukleotidsequenz aufweist, die der nachfolgenden Nukleotidsequenz entspricht :

GTGGAAGCGGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTAGTTAAAGGACAG
 GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGCTGAG
 ACTGCAGGGACTTTCCAGAAAGGGCTGTAAOCCAGGGAGGGAATGCGGAG
 GAGCTGGTGGGGAACGCGCTCATATTCCTCTGTATAATATACCGCTGCTTG
 CATTGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG



GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
 CCAGCACTTGGCCGGTGCTGCCAGACGGCCCCACGCTTGCCTGCTTAAAX
 ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

7. Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß seine Genom-RNS eine gag-Sequenz enthält, die der folgenden Nukleotidsequenz entspricht:

GAGRODH .

ATCGCGCGGAGAACTCCGTGTTGAGAGGGAAGAAAGCAGATGAA

TTACAAAGCAATCAGCTTACGGCCCGGCGGAAAGCAAGAGTACAGG

CTAAACATATTGTGTGGCCAGCGAATAAATTGCACAGATTCCGA
 100

TTACGACAGAGCCTGTTGAGTCAAAAGAGGGTTGTCAAAAAATT

CTTACAGTTTTACATCCAATGGTACCGACAGGTTACAGAAATTTA
 200

AAAAGTCTTTTAATACTGTCTGCGTCATTTGGTGCATACACCGA

GAACAGAAAGTGAAAGATACTGAAGCAGCAAAACAAATAGTCCGG
 300

AGACATCTAGTGGCAGAAACAGGAACTGCACAGAAATGCCAAGG

ACAAGTAGACCAACAGCACCATCTAGCGACAAGCGAGCAATTAG
 400

CCAGTSCAACATGTAGCGCGCAACTACACCCATATACCGCTGAGT

CCCCGAACCTAAATGCCTGCGTAAATATTAGTAGAGCAAAAAAG

TTCCGGGCGAGAACTAGTGGCAGGATTTGAGGCACTCTCAGAACGG
 500

TGCACGCGCTATCATATCAACCAAAATGCTTAATTGTGTGGCGGAG

GATCAAGCAGCCATGCACATAATCAGGACATTATCAATCAGCAA
 600

GCAGCAGAAATGGGATGTCCAACATCCAATACCAGGCGCCCTTACCA

CGCGGCGAGCTTAGAGAGCCAAAGGGGATCTGACATAGCAGGACAA
 700

ACAAGCACACTACAAAGACATCCAGTGGATGTTTACGCCACAA



AACTCTGTACCAGTACGAAACATCTATAGAACATGGATCCAGATA
800

CGATTGCCACAAGTGTGTGAGGATGTACAACCCGACCAACATCCTA

GACATAAAACAGCCACCAAAAGGAGCCGTTCCAAAGCTATGTAGAT
900

AGATTCTACAAAAGCTTGAGGGCAGAACAAACAGATCCAGCAGTG

AAACAATTGGATGACCCAAACACTGCTAGTACAAAATGCCAACCCA

CACCTGTAATTAGTCTGCTAAAAGGACTAGGGATGAACCCCTACCTTA
1000

CAAGACATGCTGACCCGCTGTGACCCGCTAGGTGCGCCACGCCAG

AAAGCTAGATTAAATGCCAGAGCCGCTGAAAGAGCTCATAGGACCT
1100

GCGCCATATCCCATTTCCGACGAGCCGACGAGAAAGGCATTTAAA

TGCTGCAACTGTGCAAAAGCAAGGCCACTCGGCAAGACAATGCCCA
1200

GCACCTAGAAGGCAGCCGCTGCTGCAAGTGTGCTAAGCCAGGACAG

ATCATGACAAACTGCCCAGATAGACAGGCAGCTTTTTTAGGACTG
1300

GCGCCCTGCGCAAAAGCAAGCCCGCAACTTCCCGCTGCGCCCAAGTT

CGCGAGGGGCTGACACCAACAGCAGCCCGCAGTGGATCCAGCAGTG

GATCTACTGACAAATATATGACAGCAAGCGAAGACAGACAGAG
1400

GACACAGAGACACCATACAAAGCAAGTGCACAGCAGCACTTACTGCAG

CTCGAGCAGGGGAGACACCATACAGGGAGCCACCAACAGAGGAG
1500

TTGCTGCACCTCAATTCTCTCTTTGCAAAAGACCAAG

8. Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß seine Genom-RNS eine env-Sequenz enthält, die der folgenden Nukleotidsequenz entspricht:

ENV12

ATGATCAATCAGCTGCTTATTGCCATTTTATTAGCTAGTCTTGC



TTAGTATATTGCACCCAATATGTAAGTGTITTTCTATGGCGTACCG

5 ACCTGGAAAAATGCAACCATTCCCGTCTTTTGTGCAACCAGAAAT
100

AGCGATACTTGGCGAACCATACAGTGGCTGGCTGACAATGATGAT

10 TATCAGGAAATAACTTTGAATGTAAACAGAGCGTTTTCATGCATCG
200

15 AATAATACAGTAACAGAACCAATAGAAATGCTGTGGCATCTA

TTGGAGACATCAATAAAACCATGTGTCAAACCTAACACCTTTATGT
300

20 GTAGCAATGAAATGCAGCAGCACAGACAGCAGCACAGCGAACAAAG

25 ACAACCTCAAAGAGCACAGCACAACCCACAACCACACCCACAGAG
400

CAGGACCAAGAGATAAGTCAAGGATCTCCATGGCGACGGCGCAGAG

30 AAGTGGTCAGGATTGGGAGAGGAAGAAACCATCAATTGCCAGTTC

35 AATATGACAGGATTACAAAGACATAAGAAAAACACTATAATCAA
500

ACATGGTACTCAAAGATGTGGTTTGTGAGACAAATAATAGCACA

40 AATCAGACCCAGTGTACATGAACCATTGCAACACATCAGTCATG
600

ACAGAAATCATGTGACAAGCACTATTGGGATGCTATAAGGTTTACA

45 TACTGTGCACCACCGCGTTATGCCCTATTAAGATGTAATGATACC
700

50 AATTATTCAGCGTTTGCACCCAACTGTCTAAAGTACTAGCTTCT

55 ACATGCACCAGCATGATCGAAACGCCAAACTTCCACATGCTTTGGG
800

TTTAATGGCACTAGAGCAGAGAAATAGAACATATATCTATTGGCAT

60 GGCAGAGATAATAGAACTATCATCAGCTTAAACAAATATTATAAT
900

65 CTCAGTTTGCATTGTAACAGGCCAGCGAATAAGACAGTCAAACAA



ATAATGCTTATGTCAGGACATGTGTTTCACTCCCACTACCAGCCB

ATCAATAAAAGACCCAGACAAGCATGGTGGCTGGTTCAAAGGCAAA
1000

TGCAAAAGACGGCCATGCAGGAGGTGAAGACCCTTGCAAAACATCCB

ACGTATAGAGCAACCAATGACACAAGCAATATTAGCTTTGCAGCB
1100

CCAGCAAAAGGCTCAGACCCAGAACTAGCATACATGTGGACTAAC

TGCAGAGCAGACTTTCTCTACTGCAACATGACTTGGTTCCCTCAAT
1200

TGATAGACAATAAGACACACCGCAATTATGCACCGTGCCATATA

AAGCAATAATTAAACACATGGCATAAGGTAGGAGCAAAATGTATAT
1300

TTCCTCCCAGCGAAGCGGACCTGTCTGCAACTCAACAGTAACB

AGCATAATTGCTAACATTGACTGCCAAAAGCAATAATCAGACAAAC

ATTACCTTTAGTGCAGAGGTGGCAGAACTATACAGATTGGAGTTB
1400

CGACATTATAAATTGCTAGAAATAACACCAATTGGCTTGGCACCT

ACAAAAGAAAAAGATACTCCTCTGCTCAGCGGAGACATACAAGA
1500

GGTGTGTTCGTGCTACGGTTCTTGGCTTTTCTCGCAACAGCAGGT

TCTGCAATGGCGGCTCGAGCGTCCCTGACCGTGTGGGCTCAGTCC
1600

CGGACTTTACTGGCCGGGATAGTGCAGCAACAGCAACAGCTGTTG

GACGTGCTCAAGAGACAACAAGAACTGTTGGGACTCAGCGTCTCG
1700

CGAACGAAAAACCTCCAGGCAAGAGTCACTGCTATAGACAAGTAG

CTACAGCACCAGCGCGCGCTAAATTTCATGGCGATGTGGCTTTAGA
1800

CAAGTCTGCCACACTACTGTACCATGGGTTAATGATTCCTTAGCA



CCTGACTGGGACAATATGACGTGGCAGGAATCGGAAAAACAAGTC

 CGCTACCTCGAGCCAAATATCACTAAAAGTTTACAACAGCCACAA
 1900
 ATTACCAACAGAAAATATGTATGAAGTACAAAAATTAAATAGC

 TGGGATATTTTGGCAATTGGTTTGACTTAACCTCCTCGGTCAAG
 2000
 TATATTCAATATCGAGTCTTTATAATAGTAGCAGTAATAGCTTTA

 AGAATAGTCATATATCTACTACAAATCTTAAGTAGGCTTAGAAAG
 2100
 CGCTATAGCCCTGTTTTCTCTTCCCCCCCCCGTTATATCCAAACAG

 ATCCATATCCACAAGGAACCGGGACAGCCAGCCAAACCAAGAAACA
 2200
 GAAGAAGACGGTGGAAAGCAACGGTGGACACAGATACTCGCCCTGG

 CGCATAGCATATATACATTTCTGATCCGGCAGCTGATTCCGCTC

 TTGACCAGACTATACAGCATCTGCGAGGGACTTACTATCCAGGAGC
 2300
 TTCTGACCTTCCAACTCATCTACCAGAATCTCAGAGACTGGCTG

 AGACTTAGAACAGCCCTTCTTCCAATATCGGTGCGAGTGGATCQAA
 2400
 GAAGCATTCAGGCCCGCCGCGAGGGCTACAAGAGAGACTCTTTGG

 GCGCGCTGCAGCGGCTTGTGCGAGGGTATTGCAACCAATCGCGAGC
 2500
 GCAATACTCGCGGTTCCAAGAACGATCAGACAGCGAGCAGAAATC

 GCGCTCCTG

9. Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß seine RNS unter
 stringenten Bedingungen nicht mit der Genom-RNS des HIV-1 hybridisiert, und unter nicht-stringenten
 55 Bedingungen nicht mit dem env-Gen und dem angrenzenden LTR hybridisiert, insbesondere nicht mit der
 Nukleotidsequenz 5290-9130 des HIV-1, und unter nicht-stringenten Bedingungen nicht mit den
 Sequenzen der pol-Region des Genoms von HIV-1, insbesondere nicht mit der Nukleotidsequenz 2170-
 2240 hybridisiert.

10. Verfahren zur Herstellung von spezifischen Antigenen eines Retrovirus HIV-2, gekennzeichnet
 60 durch die Lyse, insbesondere mit Hilfe von Detergentien wie Natriumdodecylsulfat (z.B. 0,1 % SDS in
 einem Puffer RIPA) des Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9, sowie durch die Abtrennung
 des Lysats, worin die genannten Antigene enthalten sind.

11. Verfahren nach Anspruch 10, das außerdem die Trennung vom Lysat und die Reinigung eines der
 Antigene umfaßt, welches aus einem der Proteine oder Glycoproteine p12, p16, p26, gp36, p42, gp140
 65 besteht.





EP 0 239 425 B1

12. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen mit den immunologischen Charakteristika des Proteins p12 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde, und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 12000 Dalton aufweist, abgetrennt und gereinigt wird.

13. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen mit den immunologischen Charakteristika des Proteins p16 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 16000 Dalton aufweist, abgetrennt und gereinigt wird.

14. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen mit den immunologischen Charakteristika des Proteins p26 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 26000 Dalton aufweist, abgetrennt und gereinigt wird.

15. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen mit den immunologischen Charakteristika des Glycoproteins gp36 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 36000 Dalton aufweist, abgetrennt und gereinigt wird.

16. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen mit den immunologischen Charakteristika des Proteins p42 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 42000 bis 45000 Dalton aufweist, abgetrennt und gereinigt wird.

17. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen mit den immunologischen Charakteristika des Glycoproteins gp140 des HIV-2, das immunologisch durch gegen ein Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 gebildete Antikörper erkannt wurde und ein Molekulargewicht in der Größenordnung von 130000 bis 140000 Dalton aufweist, abgetrennt und gereinigt wird.

18. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen, das die nachfolgend angeführte Aminosäuresequenz oder einen Teil dieser Sequenz enthält, von dem Zeitpunkt an, an dem sie eine spezifische immunologische Reaktion mit den Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 auslöst, insbesondere wenn dieses Antigen mit einem Serum eines mit HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird, abgetrennt und gereinigt wird.

ArgLysAlaPheLys

CysTrpAsnCysGlyLysGlnGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200

AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

IleHetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300

GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

AspLeuLeuGlnLysTyrHetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln

1400

GlnArgGlnArgProTyrLysGlnValThrGlnAspLeuLeuHis

LeuGlnGlnGlyGlnThrProTyrArgGlnProProThrGlnAsp

1500

LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

19. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen, das die nachfolgend angeführte Aminosäuresequenz oder einen Teil dieser Sequenz enthält, von dem Zeitpunkt an, an dem sie eine spezifische immunologische Reaktion mit den Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 auslöst, insbesondere wenn dieses Antigen mit einem Serum eines mit HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird, abgetrennt und gereinigt wird.

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln

LeuGlnArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg

LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly

100
LeuAlaGlnSerLeuLeuGlnSerLysGlnGlyCysGlnLysIle

LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGlnAsnLeu

200
LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla

GlnGlnLysValLysAspThrGlnGlyAlaLysGlnIleValArg

300
ArgHisLeuValAlaGlnThrGlyThrAlaGlnLysMetProSer

ThrSerArgProThrAlaProSerSerGlnLysGlyGlyAsnTyr

400

20. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen, das die nachfolgend angeführte Aminosäuresequenz oder einen Teil dieser Sequenz enthält, von dem Zeitpunkt an, an dem sie eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 auslöst, insbesondere wenn dieses Antigen mit einem Serum eines HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird, abgetrennt und gereinigt wird.

ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGlnGlnLysLys

PheGlyAlaGlnValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGlnGly

500
CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp

HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGlnIleIleAsnGlnGln

600
AlaAlaGlnTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro

AlaGlyGlnLeuArgGlnProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

700
ThrSerThrValGlnGlnGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle



800
 GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu
 5 AspIleLysGlnGlyProLysGlnProPheGlnSerTyrValAsp
 900
 ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGlnGlnThrAspProAlaVal
 10 LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro
 15 AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu
 1000
 GlnGlnMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln
 LysAlaArgLeuMetAlaGlnAlaLeuLysGlnValIleGlyPro
 1100
 25 AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln

21. Verfahren nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Antigen, das die nachfolgend
 30 angeführte Aminosäuresequenz oder einen Teil dieser Sequenz erhält, von dem Zeitpunkt an, an dem sie
 eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2 nach einem der
 Ansprüche 1 bis 9 auslöst, insbesondere wenn dieses Antigen mit einem Serum eines HIV-2 infizierten
 Patienten in Kontakt gebracht wird, abgetrennt und gereinigt wird.

35 ENVRN

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys
 40 LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro
 ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn
 45 100
 ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp
 50 TyrGlnGlnIleThrLeuAsnValThrGlnAlaPheAspAlaTrp
 200
 AsnAsnThrValThrGlnGlnAlaIleGlnAspValTrpHisLeu
 55 PheGlnThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys
 300
 60 ValAlaMetLysCysSerSerThrGlnSerSerThrGlyAsnAsn
 ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrProThrAsp

400



GlnGluGlnGluIleSerGluAspThrProCysAlaArgAlaAsp

AsnCysSerGlyLeuGlyGluGluGluThrIleAsnCysGlnPhe

AsnHetThrGlyLeuGluArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGlu

300
ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGluThrAsnAsnSerThr

AsnGlnThrGlnCysTyrHetAsnHisCysAsnThrSerValIle

600
ThrGluSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg

TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr

700
AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer

ThrCysThrArgHetHetGluThrGlnThrSerThrTrpPheGly

800
PheAsnGlyThrArgAlaGluAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis

GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn

900
LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln

IleHetLeuHetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro

IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys

1000
TrpLysAspAlaHetGlnGluValLysThrLeuAlaLysHisPro

ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla

1100
ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrHetTrpThrAsn

CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnHetThrTrpPheLeuAsn

1200
TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle

LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr



1300
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr
 5 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn
 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 10 1400
 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro
 ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 15 1500
 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 20 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 25 1600
 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 30 1700
 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 35 1800
 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 40 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 ArgTyrLeuGlnAlaAsnIleSerLysSerLeuGlnGlnAlaGln
 45 1900
 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 50 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 2000
 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 55 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
 2100
 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
 60 IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr
 65



1300
 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr
 5 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn
 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 10 1400
 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro
 ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 15 1500
 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 20 SerAlaMetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 1600
 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 25 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 30 1700
 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg
 35 1800
 GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
 ...
 40 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGluTrpGluLysGlnVal
 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
 45 1900
 IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
 50 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
 2000
 TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
 55 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
 2100
 60 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
 65 IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGlnGluThr



2200
GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyr=TrpProTrp

5 ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu

10 LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeu=SerArgSer

2300
PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu

15 ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGln=TrpIleGln

2400
GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGlnThrLeuAla

20 GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArg

2500
25 GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGlnGlyAlaGluIle

AlaLeuLeu

30

22. Methode zum Nachweis der Anwesenheit von Antikörpern in vitro, die bei einem durch ein menschliches Retrovirus HIV-2 infizierten Menschen induziert wurden, in einer biologischen Probe vom Menschen, wie einem Serum, insbesondere zum Nachweis in vitro von möglicherweise oder tatsächlich vorhandenem SLA oder AIDS aufgrund eines solchen Retrovirus, und die von der Person stammt, die Gegenstand des Nachweises ist, dadurch gekennzeichnet, daß man diese biologische Probe mit einem Antigen in Kontakt bringt, das durch einen bei dem durch ein menschliches Retrovirus HIV-2, wie es in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert wurde, infizierten Menschen induzierten Antikörper erkannt wurde, unter Bedingungen, welche die Bildung einer immunologischen Verbindung zwischen diesem Antigen und dem besagten Antikörper ermöglichen, und daß man das gegebenenfalls zwischen diesem Antikörper und dem eingesetzten Antigen gebildete immunologische Konjugat nachweist.

23. Methode nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß man die biologische Probe mit einem, durch das Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 22 erhaltene Antigen, oder einer Mischung dieser Antigene, unter Bedingungen in Kontakt bringt, welche die Bildung einer immunologischen Verbindung zwischen diesem Antigen und dem besagten Antikörper ermöglichen, und daß man das gegebenenfalls zwischen diesem Antikörper Anti-HIV-2 und dem eingesetzten Antigen gebildete immunologische Konjugat nachweist.

24. Methode nach Anspruch 23, dadurch gekennzeichnet, daß man den Nachweis des immunologischen Konjugats so durchführt, daß man das gegebenenfalls gebildete immunologische Konjugat mit einem markierten Reagens, gebildet durch menschliche Antiimmunoglobulin-Antikörper oder durch ein Bakterienprotein A, reagieren läßt und den gebildeten Komplex zwischen dem Reagens und dem genannten immunologischen Konjugat nachweist.

25. Methode zum Nachweis der Anwesenheit von Antikörpern in vitro, die Antigene eines menschlichen Retrovirus erkennen, das auf menschliche T4-Lymphozyten eine zytopathogene Wirkung auszuüben vermag, in einer biologischen Probe vom Menschen, wie einem Serum, insbesondere zum Nachweis in vitro von möglicherweise oder tatsächlich vorhandenem SLA oder AIDS aufgrund eines menschlichen Retrovirus, dadurch gekennzeichnet, daß man diese biologische Probe, die aus der Person stammt, die Gegenstand des Nachweises ist, mit einer Mischung von Antigenen in Kontakt bringt, die mit den Antikörpern einerseits gegen ein menschliches Retrovirus HIV-2, das eine zytopathogene Wirkung auszuüben vermag, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert wird, und andererseits gegen ein menschliches Retrovirus HIV-1 eine spezifische immunologische Reaktion einzugehen vermögen, und daß man das gegebenenfalls zwischen diesen Antikörpern und wenigstens einem dieser Antigene gebildete immunologische Konjugat nachweist.

26. Methode nach Anspruch 25, dadurch gekennzeichnet, daß die aus der Person, die Gegenstand des Nachweises darstellt, stammende biologische Probe mit einem Gemisch von gleichzeitig aus HIV-1 und HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 stammenden Antigenen, und insbesondere mit den durch



das Verfahren nach einem der Ansprüche 11 bis 21 erhaltenen Antigenen, und den durch dasselbe Verfahren erhaltenen HIV-1-Antigenen, wenn es nur bei einem Retrovirus HIV-1 angewendet wird, in Kontakt gebracht wird, und daß man das gegebenenfalls zwischen diesen Antikörpern und wenigstens einem dieser Antigene gebildete immunologische Konjugat nachweist.

- 5 27. Verfahren zum Erhalt von Antikörpern, die spezifisch ein Antigen eines HIV-2 Retrovirus erkennen, das
- die Immunisierung eines Tieres mit einem HIV-2 Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 umfaßt, sowie
 - das Abtrennen der gebildeten Antikörper.
- 10 28. Verfahren zur Herstellung einer Nukleinsäure oder eines Nukleinsäurefragments der RNS eines HIV-2-Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9, das
- die Ultra-Zentrifugierung des Überstandes einer Zellkultur, die durch ein Isolat des HIV-2 Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 infiziert worden ist, sowie das Abtrennen des Zentrifugierungsrückstands,
 - gegebenenfalls die Zentrifugierung des abgetrennten Rückstands in einem Saccharosegradienten durch die in der EP-A 0 138 667 beschriebenen Methode, und das Abtrennen des Rückstandsediments, das das RNS-Genom enthält,
 - die Synthese eines c-DNS-Initiatorstranges in Kontakt mit der RNS des gereinigten, sedimentierten Virus in Anwesenheit eines Oligo (dT)-Initiators während einer endogenen Reaktion, aktiviert durch ein
- 20 Detergents, gemäß dem Verfahren, wie es in « Nature 312 : 757-760 (1984) » beschrieben ist,
- gegebenenfalls die Reinigung der RNS-c-DNS-Hybride durch Extraktion durch eine Phenol-Chloroformmischung und Ausfällung mit Ethanol,
 - die Herstellung eines zweiten c-DNS-Stranges in Anwesenheit von DNS-Polymerase I, RNaseH und von 4 Desoxynukleotiden, gemäß dem in « Gene, 25 : 263-269 (1983) » beschriebenen Verfahren, falls
- 25 erforderlich nach der Extraktion der Proteine die im Reaktionsmedium vorhanden sind,
- sowie das Abtrennen der so erhaltenen Nukleinsäure umfaßt.
29. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß man eine gegebenenfalls markierte Nukleinsäure abtrennt, die von wenigstens einem Teil der RNS HIV-2-Virus, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, stammt, der sich unter stringenten Bedingungen mit der RNS des genannten HIV-2 Virus
- 30 kreuzt, und sich unter stringenten Bedingungen nicht mit den Sonden 1 bis 4 zu kreuzt, die jeweils die Nukleotide 990-1070, 990-1260, 2170-2240 bzw. 3370-3640 der RNS des HIV-1-Genoms umfassen.
30. Verfahren nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß eine Nukleinsäure, die einen Teil wenigstens einer c-DNS-Sequenz enthält, der sich mit der gesamten Genom-RNS eines Retrovirus HIV-2 nach einem der Ansprüche 1 bis 9 zu kreuzen vermag, und sich unter stringenten Bedingungen nicht mit
- 35 den Sonden kreuzt, deren DNS-Fragmente vom Genom des HIV-1 abgeleitet bzw. aus durch die Nukleotide 990-1070, 990-1260, 2170-2240 bzw. 3370-3640 des RNS-Derivats vom Genom des HIV-1 begrenzte Fragmente gebildet sind, abgetrennt wird.
31. Verfahren nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Nukleinsäure abtrennt, die nachfolgend angeführte Nukleotidsequenz enthält :

GTGGAAGGCGAGACTGAAAGCAAGAGGAATACCATTAGTTAAAGGACAG
 GAACAGCTATACTTGGTCAGGGCAGGAAGTAACTAACAGAAACAGCTGAG
 ACTGCAGGGACTTCCAGAAAGGGCTGTAAOCAAAGGAGGGACATGGGAG
 GAGCTGGTGGGGAACGCCCTCATATTCTCTGTATAATATACCCGCTGCTTG
 CATTGTACTTCAGTCGCTCTGCGGAGAGGCTGGCAGATTGAGCCCTGGAG
 GATCTCTCCAGCACTAGACGGATGAGCCTGGGTGCCCTGCTAGACTCTCA
 CCAGCACTTGGCCGGTGCTGGCAGACGGCCACGCTTGCTTAAAX
 ACCTTCCTTAATAAAGCTGCAGTAGAAGCA

- 60 32. Verfahren nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Nukleinsäure abtrennt, die eine Nukleotidsequenz enthält, welche die Gesamtheit oder einen Teil der nachfolgend angeführten Aminosäuresequenz kodiert, wobei diese Aminosäuresequenz oder ein Teil davon eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, auszulösen vermag, wenn diese Aminosäuresequenz mit einem Serum eines mit einem
- 65 Retrovirus HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird :



GACRODN

5

MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGlu

10

LeuGluArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg

LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly

15

100
LeuAlaGluSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGluLysIle

LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu

20

200
LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla

GluGluLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGluIleValArg

25

300
ArgHisLeuValAlaGluThrGlyThrAlaGluLysMetProSer

30

ThrSerArgProThrAlaProSerSerGluLysGlyGlyAsnTyr

35

400
ProValGluHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGluGluLysLys

40

PheGlyAlaGluValValProGlyPheGluAlaLeuSerGluGly

45

500
CysThrProTyrAspIleAsnGluMetLeuAsnCysValGlyAsp

HisGluAlaAlaMetGluIleIleArgGluIleIleAsnGluGlu

50

600
AlaAlaGluTrpAspValGluHisProIleProGlyProLeuPro

AlaGlyGluLeuArgGluProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

55

700
ThrSerThrValGluGluGluIleGluTrpMetPheArgProGlu

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGluIle

60

800
GlyLeuGluLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

65

AspIleLysGluGlyProLysGluProPheGluSerTyrValAsp



900
ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGluGlnThrAspProAlaVal

5 LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

1000
GlnGlnMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

15 LysAlaArgLeuMetAlaGlnAlaLeuLysGluValIleGlyPro

1100
AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGlnArgLysAlaPheLys

20 CysTrpAsnCysGlyLysGlnGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200
AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

25 IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu

1300
GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal

30 ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal

35 AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGlu

1400
GlnArgGlnArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis

40 LeuGlnGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp

1500
LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln

33. Verfahren nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Nukleinsäure abtrennt, die eine Nukleotidsequenz enthält, welche wenigstens einen Teil der nachfolgend angeführten Aminosäuresequenz kodiert, wobei diese Aminosäuresequenz eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, auszulösen vermag, wenn diese Aminosäuresequenz mit einem Serum eines mit einem Retrovirus HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird:

55 ArgLysAlaPheLys
CysTrpAsnCysGlyLysGlnGlyHisSerAlaArgGlnCysArg

1200
AlaProArgArgGlnGlyCysTrpLysCysGlyLysProGlyHis

65 IleMetThrAsnCysProAspArgGlnAlaGlyPheLeuGlyLeu



1300
 GlyProTrpGlyLysLysProArgAsnPheProValAlaGlnVal
 5 ProGlnGlyLeuThrProThrAlaProProValAspProAlaVal
 AspLeuLeuGluLysTyrMetGlnGlnGlyLysArgGlnArgGln
 10 1400
 GlnArgGluArgProTyrLysGluValThrGluAspLeuLeuHis
 LeuGlnGlnGlyGluThrProTyrArgGluProProThrGluAsp
 15 1500
 LeuLeuHisLeuAsnSerLeuPheGlyLysAspGln
 20

34. Verfahren nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Nukleinsäure abtrennt, die eine Nukleotidsequenz enthält, welche die Gesamtheit der nachfolgend angeführten Aminosäuresequenz kodiert, wobei die kodierte Aminosäuresequenz eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, auszulösen vermag, wenn diese Aminosäuresequenz mit einem Serum eines mit einem Retrovirus HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird :

30 MetGlyAlaArgAsnSerValLeuArgGlyLysLysAlaAspGln
 LeuGlnArgIleArgLeuArgProGlyGlyLysLysLysTyrArg
 35 LeuLysHisIleValTrpAlaAlaAsnLysLeuAspArgPheGly
 100
 LeuAlaGlnSerLeuLeuGluSerLysGluGlyCysGlnLysIle
 LeuThrValLeuAspProMetValProThrGlySerGluAsnLeu
 40 200
 LysSerLeuPheAsnThrValCysValIleTrpCysIleHisAla
 GluGlnLysValLysAspThrGluGlyAlaLysGlnIleValArg
 50 300
 ArgHisLeuValAlaGlnThrGlyThrAlaGluLysMetProSer
 55 ThrSerArgProThrAlaProSerSerGlnLysGlyGlyAsnTyr
 400

35. Verfahren nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Nukleinsäure abtrennt, die eine Nukleotidsequenz enthält, welche die Gesamtheit oder einen Teil der nachfolgend angeführten Aminosäuresequenz kodiert, wobei die kodierte Aminosäuresequenz eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, auszulösen vermag, wenn diese Aminosäuresequenz mit einem Serum eines mit einem Retrovirus HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird :



ProValGlnHisValGlyGlyAsnTyrThrHisIleProLeuSer

ProArgThrLeuAsnAlaTrpValLysLeuValGlnGluLysLys

PheGlyAlaGlnValValProGlyPheGlnAlaLeuSerGluGly

300
CysThrProTyrAspIleAsnGlnMetLeuAsnCysValGlyAsp

HisGlnAlaAlaMetGlnIleIleArgGlnIleIleAsnGlnGln

600
AlaAlaGlnTrpAspValGlnHisProIleProGlyProLeuPro

AlaGlyGlnLeuArgGlnProArgGlySerAspIleAlaGlyThr

700
ThrSerThrValGlnGlnGlnIleGlnTrpMetPheArgProGln

AsnProValProValGlyAsnIleTyrArgArgTrpIleGlnIle

800
GlyLeuGlnLysCysValArgMetTyrAsnProThrAsnIleLeu

AspIleLysGlnGlyProLysGlnProPheGlnSerTyrValAsp

900
ArgPheTyrLysSerLeuArgAlaGlnGlnThrAspProAlaVal

LysAsnTrpMetThrGlnThrLeuLeuValGlnAsnAlaAsnPro

AspCysLysLeuValLeuLysGlyLeuGlyMetAsnProThrLeu

1000
GlnGlnMetLeuThrAlaCysGlnGlyValGlyGlyProGlyGln

LysAlaArgLeuMetAlaGlnAlaLeuLysGlnValIleGlyPro

1100
AlaProIleProPheAlaAlaAlaGlnGln

36. Verfahren nach Anspruch 29, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Nukleinsäure abtrennt; die eine Nukleotidsequenz enthält, welche die Gesamtheit oder einen Teil der nachfolgend angeführten Aminosäuresequenz kodiert, wobei die kodierte Aminosäuresequenz eine spezifische immunologische Reaktion mit Antikörpern gegen ein Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, auszulösen vermag, wenn diese Aminosäuresequenz mit einem Serum eines mit einem Retrovirus HIV-2 infizierten Patienten in Kontakt gebracht wird:



SEQUENCE

MetMetAsnGlnLeuLeuIleAlaIleLeuLeuAlaSerAlaCys

LeuValTyrCysThrGlnTyrValThrValPheTyrGlyValPro

ThrTrpLysAsnAlaThrIleProLeuPheCysAlaThrArgAsn

100
ArgAspThrTrpGlyThrIleGlnCysLeuProAspAsnAspAsp

TyrGlnGlnIleThrLeuAsnValThrGlnAlaPheAspAlaTrp

200
AsnAsnThrValThrGlnGlnAlaIleGlnAspValTrpHisLeu

PheGlnThrSerIleLysProCysValLysLeuThrProLeuCys

300
ValAlaMetLysCysSerSerThrGlnSerSerThrGlyAsnAsn

ThrThrSerLysSerThrSerThrThrThrThrThrProThrAsp

400
GlnGlnGlnGlnIleSerGlnAspThrProCysAlaArgAlaAsp

AsnCysSerGlyLeuGlyGlnGlnGlnThrIleAsnCysGlnPhe

AsnMetThrGlyLeuGlnArgAspLysLysLysGlnTyrAsnGln

500
ThrTrpTyrSerLysAspValValCysGlnThrAsnAsnSerThr

AsnGlnThrGlnCysTyrMetAsnHisCysAsnThrSerValIle

600
ThrGlnSerCysAspLysHisTyrTrpAspAlaIleArgPheArg

TyrCysAlaProProGlyTyrAlaLeuLeuArgCysAsnAspThr

700
AsnTyrSerGlyPheAlaProAsnCysSerLysValValAlaSer

ThrCysThrArgMetMetGlnThrGlnThrSerThrTrpPheGly

800
PheAsnGlyThrArgAlaGlnAsnArgThrTyrIleTyrTrpHis



GlyArgAspAsnArgThrIleIleSerLeuAsnLysTyrTyrAsn
 5 LeuSerLeuHisCysLysArgProGlyAsnLysThrValLysGln
 IleHetLeuHetSerGlyHisValPheHisSerHisTyrGlnPro
 10 IleAsnLysArgProArgGlnAlaTrpCysTrpPheLysGlyLys
 1000
 15 TrpLysAspAlaMetGlnGlnValLysThrLeuAlaLysHisPro
 ArgTyrArgGlyThrAsnAspThrArgAsnIleSerPheAlaAla
 20 ProGlyLysGlySerAspProGluValAlaTyrHetTrpThrAsn
 1100
 25 CysArgGlyGluPheLeuTyrCysAsnHetThrTrpPheLeuAsn
 1200
 30 TrpIleGluAsnLysThrHisArgAsnTyrAlaProCysHisIle
 LysGlnIleIleAsnThrTrpHisLysValGlyArgAsnValTyr
 1300
 35 LeuProProArgGluGlyGluLeuSerCysAsnSerThrValThr
 SerIleIleAlaAsnIleAspTrpGlnAsnAsnAsnGlnThrAsn
 40 IleThrPheSerAlaGluValAlaGluLeuTyrArgLeuGluLeu
 1400
 45 GlyAspTyrLysLeuValGluIleThrProIleGlyPheAlaPro
 ThrLysGluLysArgTyrSerSerAlaHisGlyArgHisThrArg
 1500
 50 GlyValPheValLeuGlyPheLeuGlyPheLeuAlaThrAlaGly
 SerAlaHetGlyAlaArgAlaSerLeuThrValSerAlaGlnSer
 1600
 55 ArgThrLeuLeuAlaGlyIleValGlnGlnGlnGlnGlnLeuLeu
 AspValValLysArgGlnGlnGluLeuLeuArgLeuThrValTrp
 60 GlyThrLysAsnLeuGlnAlaArgValThrAlaIleGluLysTyr
 1700
 65 LeuGlnAspGlnAlaArgLeuAsnSerTrpGlyCysAlaPheArg





EP 0 239 425 B1

1800
GlnValCysHisThrThrValProTrpValAsnAspSerLeuAla
5 ProAspTrpAspAsnMetThrTrpGlnGlnTrpGluLysGlnVal
10 ArgTyrLeuGluAlaAsnIleSerLysSerLeuGluGlnAlaGln
1900
IleGlnGlnGluLysAsnMetTyrGluLeuGlnLysLeuAsnSer
15 TrpAspIlePheGlyAsnTrpPheAspLeuThrSerTrpValLys
2000
TyrIleGlnTyrGlyValLeuIleIleValAlaValIleAlaLeu
20 ArgIleValIleTyrValValGlnMetLeuSerArgLeuArgLys
2100
25 GlyTyrArgProValPheSerSerProProGlyTyrIleGlnGln
IleHisIleHisLysAspArgGlyGlnProAlaAsnGluGluThr
2200
30 GluGluAspGlyGlySerAsnGlyGlyAspArgTyrTrpProTrp
ProIleAlaTyrIleHisPheLeuIleArgGlnLeuIleArgLeu
35 LeuThrArgLeuTyrSerIleCysArgAspLeuLeuSerArgSer
2300
40 PheLeuThrLeuGlnLeuIleTyrGlnAsnLeuArgAspTrpLeu
ArgLeuArgThrAlaPheLeuGlnTyrGlyCysGlnTrpIleGln
2400
45 GluAlaPheGlnAlaAlaAlaArgAlaThrArgGluThrLeuAla
GlyAlaCysArgGlyLeuTrpArgValLeuGluArgIleGlyArg
50 GlyIleLeuAlaValProArgArgIleArgGluGlyAlaGluIle
2500
55 AlaLeuLeu

37. Verfahren nach Anspruch 28, dadurch gekennzeichnet, daß es folgende Schritte umfaßt:

60 — die Einwirkung der T4-DNS-Polymerase bis zum Erhalt der freien Enden der Doppelkette der c-DNS,

— die Inserierung der mit Adaptoren versehenen und durch die adequate Enzyme in einer Nukleinsäure eines Vektors verdauten c-DNA,

65 — das Abtrennen einer rekombinanten Nukleinsäure, die eine nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 28 bis 36 erhaltenen c-DNS oder einen Teil dieser c-DNS umfaßt, und/oder eine RNS oder

einen Teil einer RNS, der dieser c-DNS entspricht, die in eine aus einem Vektor stammende Nukleinsäure inseriert ist.

38. Verfahren nach Anspruch 37, dadurch gekennzeichnet, daß die abgetrennte rekombinante Nukleinsäure markiert ist.

- 5 39. Verfahren zum Nachweis eines Retrovirus, das auf den Menschen eine zytopathogene Wirkung ausüben kann, vom Typ HIV-2, oder seiner RNS in einer biologischen Flüssigkeit oder einem biologischen Gewebe, insbesondere im Hinblick auf den Nachweis des möglichen oder tatsächlichen Vorliegens von SLA oder AIDS in vitro beim Menschen, gekennzeichnet durch die Kontaktierung von in dieser biologischen Flüssigkeit oder diesem biologischen Gewebe enthaltenen Nukleinsäuren mit einer Sonde, die eine durch ein Verfahren nach einem der Ansprüche 32 bis 36 erhaltenen Nukleinsäure enthält, unter stringenten Hybridisierungsbedingungen, oder eine DNS enthält, die eine Sequenz-homologie von 10 wenigstens 70 %, vorzugsweise wenigstens 90 % mit der RNS eines Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 aufweist, und zur Hybridisierung mit dieser befähigt ist, unter nicht-stringenten Bedingungen, wobei die Kontaktierung nach der « Spot-Blot-Technik » während der für die Durchführung der 15 Hybridisierung erforderlichen Zeitdauer durchgeführt wird, wonach das gebildete Hybrid mit einer Lösung gewaschen wird, welche die Beibehaltung der stringenten Bedingungen gewährleistet, sowie durch den Nachweis des gebildeten Hybrids.
40. Verfahren zur Herstellung eines Retrovirus, das auf den Menschen eine zytopathogene Wirkung auszuüben vermag, vom Typ HIV-2, gekennzeichnet durch die Züchtung in menschlichen T4-Lymphozyten oder in von T4-Lymphozyten abgeleiteten konstanten Zelllinien, wobei diese den Phänotyp T4 20 aufweisen, und diese Lymphozyten oder Zelllinien vorgängig mit einem Isolat des Virus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, infiziert worden waren, und insbesondere wenn das Aktivitätsniveau der Reverse-Transkriptase eine vorgegebene Schwelle erreicht hat, und durch Abtrennung und Reinigung der im Medium für die Züchtung dieser Lymphozyten oder Linien freigesetzten Virenmengen, 25 insbesondere durch differentielle Zentrifugierung in einem Saccharose- oder Metrizamidgradienten.
41. Verfahren zur Herstellung einer Hybridisierungssonde zum Nachweis einer RNS des Retrovirus HIV-2, gekennzeichnet durch die Inserierung einer DNS-Sequenz, insbesondere eine nach einem Verfahren nach einem der Ansprüche 28 bis 36, in einen Klonierungsvektor durch Rekombination in vitro, durch die Klonierung des in einer kompetenten Wirtszelle erhaltenen modifizierten Vektors, 30 sowie durch die Abtrennung der erhaltenen DNS-Rekombinanten.
42. Die sekretorischen Hybridome eines monoklonalen Antikörpers, die spezifisch ein Antigen eines HIV-2 Retrovirus nach einem der Ansprüche 1 bis 9 erkennen.
43. Verwendung der durch ein Verfahren nach Anspruch 27 erhaltenen polyklonalen Antikörper zum Nachweis des Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, in einem biologischen 35 Präparat.
44. Verwendung der durch ein Verfahren nach Anspruch 27 erhaltenen polyklonalen Antikörper, zum Nachweis der Antigene des Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert, in einem biologischen Präparat.
45. Verwendung der durch ein Verfahren nach Anspruch 27 erhaltenen polyklonalen Antikörper zur 40 Reinigung der Virusantigene eines Retrovirus HIV-2, wie in einem der Ansprüche 1 bis 9 definiert.

45

50

55

60

65

