

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2006-115845

(P2006-115845A)

(43) 公開日 平成18年5月11日(2006.5.11)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
C 1 2 N 7/00 (2006.01)	C 1 2 N 7/00	4 B O 5 0
C O 7 K 14/18 (2006.01)	C O 7 K 14/18	4 B O 6 3
C O 7 K 19/00 (2006.01)	C O 7 K 19/00	4 B O 6 4
C O 7 K 7/08 (2006.01)	C O 7 K 7/08	4 B O 6 5
審査請求 有 請求項の数 22 O L (全 337 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2005-320175 (P2005-320175)	(71) 出願人	398055462
(22) 出願日	平成17年11月2日 (2005.11.2)		ジェネラプス テクノロジーズ, インコーポレイテッド
(62) 分割の表示	特願平7-530387の分割		アメリカ合衆国 カリフォルニア 94063, レッドウッド シティ, ペノプスコット ドライブ 505
原出願日	平成7年5月19日 (1995.5.19)		
(31) 優先権主張番号	08/246, 985	(74) 代理人	100078282
(32) 優先日	平成6年5月20日 (1994.5.20)		弁理士 山本 秀策
(33) 優先権主張国	米国 (US)	(74) 代理人	100062409
(31) 優先権主張番号	08/285, 543		弁理士 安村 高明
(32) 優先日	平成6年8月3日 (1994.8.3)	(74) 代理人	100113413
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 森下 夏樹
(31) 優先権主張番号	08/285, 558		
(32) 優先日	平成6年8月3日 (1994.8.3)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	08/329, 729		
(32) 優先日	平成6年10月26日 (1994.10.26)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 G型肝炎ウイルスおよびその分子クローニング

(57) 【要約】 (修正有)

【課題】実質的に単離された形態の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)を提供する。

【解決手段】実質的に単離された形態の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)であって、ここでHGVが、(i) 霊長類において伝染可能であり、(i i) A型肝炎ウイルス(HAV)、B型肝炎ウイルス(HBV)、C型肝炎ウイルス(HCV)、D型肝炎ウイルス(HDV)、およびE型肝炎ウイルス(HEV)と血清学的に異なり、(i i i) フラビウイルス科のメンバーであり、そして(i v) 複数の特定の配列、またはそれらの相補体として示される配列を有するポリヌクレオチドに対してストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドを含有することを特徴とする肝炎ウイルス。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

実質的に単離された形態の非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス (H G V) で あって、
ここで該 H G V が、

(i) 霊長類において伝染可能であり、

(i i) A 型肝炎ウイルス (H A V)、B 型肝炎ウイルス (H B V)、C 型肝炎ウイルス (H C V)、D 型肝炎ウイルス (H D V)、および E 型肝炎ウイルス (H E V) と血清学的に異なり、

(i i i) フラビウイルス科のメンバーであり、そして

(i v) 配列番号 37、もしくは配列番号 19、またはそれらの相補体として示される
配列を有するポリヌクレオチドに対してストリンジェントな条件でハイブリダイズするポリ
ヌクレオチドを含有する：

ことを特徴とする肝炎ウイルス。

【請求項 2】

実質的に単離された形態の非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス (H G V) ポリペプチド
であって、ここで該 H G V が、

(i) 請求項 1 に記載の H G V ウイルスの特徴を有し、そして

(i i) 配列番号 38 の 190 アミノ酸配列、および配列番号 20 の 67 アミノ酸配列
から選択されるアミノ酸配列を有するポリペプチドをコードするポリヌクレオチドに対し
てストリンジェントな条件でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされる
ポリペプチドを含むことをさらに特徴とする、
ポリペプチド。

【請求項 3】

請求項 2 に記載のポリペプチドであって、ここで、該ポリペプチドは少なくとも 1 つの抗
H G V 抗体と特異的に免疫反応し、そして、該ポリペプチドは H G V 陽性被験体由来の体
液または組織サンプルと特異的に免疫反応する能力を有する、ポリペプチド。

【請求項 4】

請求項 2 に記載の H G V ポリペプチドおよび第二のポリペプチドからなる組換え融合ポリ
ペプチドであって、ここで該第二のポリペプチドが、 β -ガラクトシダーゼタンパク質、
グルタチオン-S-トランスフェラーゼタンパク質、および粒子形成タンパク質からなる
群より選択される、融合ポリペプチド。

【請求項 5】

H G V ゲノム、その c D N A またはその相補体によりコードされる少なくとも 15 個の連
続するアミノ酸配列を含有し、ここで該アミノ酸配列が、

(i) 配列番号 38 の 190 アミノ酸配列、またはそのフラグメント、および

(i i) 配列番号 20 の 67 アミノ酸配列、またはそのフラグメント、
からなる群より選択される、請求項 2 に記載のポリペプチド。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス (H G V) に対する特異的な抗体
を含有する体液または組織サンプルのスクリーニングに使用するための診断キットであっ
て、

請求項 3 に記載のポリペプチド、および

該ポリペプチドと該サンプル中の該抗体との特異的な免疫反応により形成される免疫学
的複合体を検出するための手段、
を含む、診断キット。

【請求項 7】

血清のスクリーニングにおいて使用するための、請求項 6 に記載の診断キット。

【請求項 8】

非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス (H G V) 抗原を含有する体液または組織サンプル
のスクリーニングに使用するための診断キットであって、

請求項 3 に記載の非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス（H G V）ポリペプチドと特異的に免疫反応する実質的に単離された抗体、および

該抗体に対する該ポリペプチドの結合を検出するための手段、を含む、診断キット。

【請求項 9】

インビトロにおいて非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス（H G V）感染を検出する方法であって、

試験被験体から得られた体液または組織サンプルと、請求項 8 に記載のキットの実質的に単離された H G V 特異的抗体とを反応させる工程、および

結合抗原の存在について抗体を試験する工程、を含む、方法。

10

【請求項 10】

請求項 3 に記載の非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス（H G V）ポリペプチドと特異的に免疫反応するモノクローナル抗体。

【請求項 11】

請求項 3 に記載の非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス（H G V）ポリペプチドと特異的に免疫反応するポリクローナル抗体の実質的に単離された調製物。

【請求項 12】

請求項 1 に記載の非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス（H G V）に対して特異的な抗体を含有する体液または組織サンプルをスクリーニングする方法であって、

20

該サンプルと請求項 3 に記載のポリペプチドとを接触させる工程、および

該ポリペプチドと該サンプル中の抗体との特異的な免疫反応により形成される免疫学的複合体を検出する工程、を含む、方法。

【請求項 13】

請求項 1 に記載の非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス（H G V）に対する抗体を生成するための組成物であって、

請求項 3 に記載のポリペプチドを含む、組成物。

【請求項 14】

モザイク状ポリペプチドであって、請求項 3 に記載の少なくとも 2 つの異なるポリペプチドを含有し、ここで該モザイク状ポリペプチドは、天然の H G V ポリペプチドにおける該ポリペプチド間に通常、介在するアミノ酸を欠失する、ポリペプチド。

30

【請求項 15】

実質的に単離された形態の非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス（H G V）ポリヌクレオチドであって、ここで該 H G V が請求項 1 に記載の H G V の特徴を有する、ポリヌクレオチド。

【請求項 16】

配列番号 37、もしくは配列番号 19、またはそれらの相補体として示される配列を有するポリヌクレオチドに対してストリンジェントな条件でハイブリダイズする、請求項 15 に記載のポリヌクレオチド。

40

【請求項 17】

非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス（H G V）の P C R 検出に有用である、請求項 15 に記載のポリヌクレオチド。

【請求項 18】

インビトロにおいて非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス（H G V）核酸を検出する方法であって、以下の工程を含む方法：

被験体から得られた核酸含有サンプルを、適切なハイブリダイゼーション条件下で、請求項 15 に記載のポリヌクレオチドからなるプローブと組み合わせる工程、および

H G V 核酸と該プローブとのハイブリダイゼーションにより形成される、H G V 核酸／プローブ複合体の存在を検出する工程。

50

【請求項 19】

請求項 18 に記載の方法であって、前記検出工程が HGV 核酸特異的プローブを使用する工程、ここで 2 つの該プローブは HGV 核酸の内部領域を規定し、そして各プローブは該領域の 3' 末端内側を含有する 1 つのストランドを有し、前記核酸／プローブハイブリダイゼーション複合体をプライマー伸長反応により 2 本鎖のプローブ含有フラグメントに転換する工程、

以下の工程を連続的に繰り返すことによりプローブ含有フラグメントの数を増幅する工程：(i) 2 本鎖フラグメントを変性して 1 本鎖フラグメントを生成する工程、(ii) 該 1 本鎖フラグメントを該プローブとハイブリダイズさせてストランド／プローブ複合体を形成させる工程、(iii) 酵素および 4 つのすべてのデオキシリボヌクレオチドの存在下で、該ストランド／プローブ複合体から 2 本鎖フラグメントを作製する工程、および (iv) 所望の増幅度が達成されるまで工程 (i) から (iii) を繰り返す工程、

10

該増幅産物を同定する工程、
を包含する、方法。

【請求項 20】

請求項 1 に記載の非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス (HGV) 由来のポリヌクレオチドの存在についてサンプルを分析するためのキットであって、

請求項 15 に記載の HGV ポリヌクレオチドとストリンジェントな条件で特異的にハイブリダイズするヌクレオチド配列を含有する少なくとも 1 つのポリヌクレオチドプローブ、および

20

適切な容器、
を含有する、キット。

【請求項 21】

適切な条件下で、非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス (HGV) ゲノム由来の cDNA のオープンリーディングフレーム (ORF)、またはその相補体を発現し得るクローニングベクターであって、ここで該ウイルスが請求項 1 に記載の特徴を有し、そして該 ORF が所望の宿主に適合し得る制御配列に作動可能に連結される、クローニングベクター。

【請求項 22】

非 A 非 B 非 C 非 D 非 E 型肝炎ウイルス (HGV) ポリペプチドを生産する方法であって、前記オープンリーディングフレーム (ORF) 配列の発現をもたらす条件下で、請求項 21 に記載のベクターで形質転換した細胞を培養する工程を包含する、方法。

30

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、非 A / 非 B / 非 C / 非 D / 非 E (N-(ABCDE)) 型肝炎関連ウイルス因子 (HGV) に関連する核酸、ポリペプチド、抗原、エピトープ、ワクチンおよび抗体組成物に関する。本発明はまた、診断方法および治療方法に関する。

【背景技術】

【0002】

(参考文献)

40

【0003】

【化 1】

Abstracts, *The 1992 San Diego Conf.: Genetic Recognition, Clin. Chem.* 39(4):705 (1993).

Alexander, W. A., § , *J. Virol.* 66:2934-2942 (1992).

Alter, H.J., § , *New Eng. J. Med.* 321:1494-1500 (1989a).

Alter, H.J., § , *N. Engl. J. Med.* 327:1899 (1989b).

Alter, H.J., *Abstracts of Int. Symp. on Viral Hepatitis and Liver Dis.*, 47th(1993).

Altschul, S., § , *J. Mol. Biol.* 215:403-10 (1990).

Ascadi, G., § , *Nature* 352:815 (1991).

Ausubel, F.M., § , CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley and Sons, Inc., Media PA.

Barany, F., *PCR Methods Appl.* 1:5 (1991).

Barham, W. B., § , *J. Med. Virol.* 42:129-132 (1994).

Baron, S., § , *JAMA* 266:1375 (1991).

Bazan, J. F., § , *Virology* 171:637-639 (1989).

Beames, § , *Biotechniques* 11:378 (1991).

Belyavsky, A., § , *Nuc. Acids Res.* 17:2919-2932 (1989).

Blackburn, G.F., § , *Clin. Chem.* 37:1534-1539 (1991).

Bradley, D.W., § , *J. Infec. Dis.*, 148:2 (1983).

Bradley, D.W., § , *J Gen. Virol.*, 69:1 (1988).

Bradley, D.W., § , *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 84:6277 (1987).

10

20

30

【 0 0 0 4】

【化 2】

- Briand, J.-P., ら , *J. Immunol. Meth.* 156:255 (1992).
- Cahill, P., ら , *Clin. Chem.* 37:1482 (1991).
- Carter, J.M., ら , *Methods Mol. Biol.* 36:207-223 (1994).
- Chambers, T.J., ら , *Ann. Rev. Microbiol.* 44:649 (1990a).
- Chambers, T.J., ら , *PNAS* 87:8898 (1990b).
- Chomczynski ら , *Anal. Biochem.* 162:159 (1987).
- Christian, R.B., ら , *J. Mol. Biol.* 227:771 (1992).
- Commandeur, ら , *Virology* 198:282-287 (1994).
- Crea, R., 1989年12月19日に発行された米国特許第4,888,286号 .
- DeGraaf, M.E., ら , *Gene* 128:13 (1993).
- DiBisceglie, A.M., ら , *Hepatology* 16:649 (1992).
- DiBisceglie, A.M., ら , *NEJM* 321:1506 (1989).
- DiCesare, J., ら , *Biotechniques* 15:152-157 (1993).
- Dienstag, J.L., ら , *Sem Liver Disease* 6:67 (1986).
- Earl, P. L., ら , "Expression of proteins in mammalian cells using vaccinia" In *Current Protocols in Molecular Biology* (F. M. Ausubel, ら 編), Greene Publishing Associates & Wiley Interscience, New York (1991).
- Eaton, M. A. W., ら , 1988年1月12日に発行された米国特許第4,719,180号 .
- Egholm, ら , *Nature* 365:566 (1993).
- Elroy-Stein, O., ら , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 86:6126-6130 (1989).
- 1988年11月18日に出願されたヨーロッパ特許出願第88310922.5号
- Falkner, F.G., ら , *J. Virol.* 62:1849-1854 (1988).
- Farci, P., ら , *NEJM* 330:88 (1994).
- Felgner ら Rhodes, *Nature* 349:251 (1991).
- Fickett, J.W., *Nuc. Acids Res.* 10:5303-5318 (1982).
- Fling, S. P., ら , *Analytical Biochem.* 155:83-88 (1986).

10

20

30

【0005】

【化 3】

- Folgori, A., *ら*, *EMBO J.* 13:2236 (1994).
- Francki, R.I.B., *ら*, *Arch. Virol. Suppl* 2:223 (1991).
- Frank, R., *ら* Doring, R., *Tetrahedron* 44:6031-6040 (1988).
- Frohman, M.A., *ら*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:8998-9002 (1988).
- Fuerst, T. R., *ら*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:8122-8126 (1986).
- Gellissen, G., *ら*, *Antonie Van Leeuwenhoek*, 62(1-2):79-93 (1992).
- Geysen, M., *ら*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:3998-4002 (1984).
- Gingeras, T.R., *ら*, *Ann. Biol. Clin.* 48:498 (1990).
- Gingeras, T.R., *ら*, *J. Inf. Dis.* 164:1066 (1991).
- Goeddel, D.V., *Methods in Enzymology* 185 (1990).
- Grakoui, A., *ら*, *J. Virol.* 67:2832 (1993).
- Grakoui, A., *ら*, *J. Virol.* 67:1385-1395 (1993).
- Guatelli, J.C., *ら*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874 (1990).
- Gubler, U., *ら*, *Gene*, 25:263 (1983).
- Guthrie, C., *ら* G.R. Fink, *Methods in Enzymology* 194 (1991).
- Guterman, J.U., *PNAS* 91:1198 (1994).
- Harlow, E., *ら*, *ANTIBODIES: A LABORATORY MANUAL*, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1988).
- Haynes, J., *ら*, *Nuc. Acid. Res.* 11:687-706 (1983).
- Hieter, P.A., *ら*, *Cell* 22:197-207 (1980).
- Hijikata, M., *ら*, *PNAS* 88:5547 (1991).
- Hochuli, E., in *GENETIC ENGINEERING, PRINCIPALS AND PRACTICE, VOL. 12* (J. Stelow 編) Plenum, NY, 87-98 (1990).
- Holodniy, M., *ら*, *Biotechniques* 12:36 (1992).
- Hopp, T.P., *ら*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78:3824-3828 (1981).

10

20

30

【0 0 0 6】

【化 4】

- Horn, T., および Urdea, M.S., *Nuc. Acids. Res.* 17:6959 (1989).
- Houghten, R.A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 82:5131 (1985).
- Hudson, D., *J. Org. Chem.* 53:617 (1988).
- Irwin, M.J., ら , *J. Virol.* 58:5036 (1994).
- Jacob, J.R., ら , in THE MOLECULAR BIOLOGY OF HCV, 4 節 , 387-392頁(1991).
- Jacob, J.R., ら , *Hepatology* 10:921-927 (1989).
- Jacob, J.R., ら , *J. Infect. Dis.* 161:1121-1127 (1990).
- Janknecht, R., ら , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:8972-8976 (1991).
- Kaufman, R. J., "Selection and coamplification of heterologous genes in mammalian cells," in *Methods in Enzymology*, 185 巻 , 537-566頁 Academic Press, Inc., San Diego CA (1991).
- Kakumu, S., ら , *Gastroenterol.* 105:507 (1993).
- Katz, E.D., および Dong, M., *Biotechniques* 8:546 (1990).
- Kawasaki, E.S., ら , in PCR TECHNOLOGY: PRINCIPLES AND APPLICATIONS OF DNA AMPLIFICATION (H.A. Erlich, 編) Stockton Press (1989).
- King, L. A., ら , *The baculovirus expression system. A laboratory guide*, Chapman & Hall, London, New York, Tokyo, Melbourne, Madras, 1992.
- Kyte, J., および Doolittle, R. F., *J. Mol. Biol.* 157:105-132 (1982).
- Koonin, E.V., および Dolja, V.V., *Critical Reviews in Biochem. & Mol. Biol.* 28:375-430 (1993).
- Krausslich, H.G., ら , VIRAL PROTEINASES AS TARGETS FOR CHEMOTHERAPY (Cold Spring Harbor Press, Plainville, NY) (1989).
- Kumar, R., ら , *AIDS Res. Human Retroviruses* 5(3):345-354 (1989).
- Lanford, R.E., ら , *In Vitro Cell. Dev. Biol.* 25:174-182 (1989).
- Larder, B.A., および Kemp, S.D., *Science* 246:1155 (1989).

10

20

30

【0007】

【化 5】

- Lau, Y.F., ら , *Mol. Cell. Biol.* 4:1469-1475 (1984).
- Lomell, H., ら , *Clin. Chem.* 48:492 (1990).
- Maniatis, T., ら , MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory (1982).
- Marshall, W.S., ら Caruthers, M.H., *Science* 259:1564 (1993).
- Messing, J., *Methods in Enzymol.* 101:20 (1983).
- Michelle, ら , *International Symposium on Viral Hepatitis*.
- Miller, J. H., EXPERIMENTS IN MOLECULAR GENETICS, Cold Spring Harbor Laboratories, Cold Spring Harbor, NY (1972).
- Morrissey, D.V., ら , *Anal. Biochem.* 181:345 (1989).
- Moss, B., ら , CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY (IV 節 , 16 エント) (1991).
- Moss, B., ら , 1992年8月4日に発行された米国特許第5,135,855号.
- Mullis, K.B., 1987年7月28日に発行された米国特許第4,683,202号.
- Mullis, K.B., ら , 1987年7月28日に発行された米国特許第4,683,195号.
- Obeid, O.E., ら , *Virus Research* 32:69-84 (1994).
- Osikowicz, G., ら , *Clin. Chem.* 36:1586 (1990).
- Patterson, J.L., ら Fernandez-Larsson, R., *Rev. Infect. Dis.* 12:1139 (1990).
- Pearson, W.R. ら Lipman, D.J., *PNAS* 85:2444-2448 (1988).
- Pearson, W.R., *Methods in Enzymology* 183:63-98 (1990).
- Pitha, *Biochem Biophys Acta*, 204:39 (1970a).
- Pitha, *Biopolymers*, 9:965 (1970b).
- Porath, J., *Protein Exp. and Purif.* 3:263 (1992).
- Pritchard, C.G., ら Stefano, J.E., *Ann. Biol. Chem.* 48:492 (1990).
- Reichard, O., ら , *Lancet* 337:1058 (1991).
- Reilly, P.R., ら , BACULOVIRUS EXPRESSION VECTORS: A LABORATORY MANUAL (1992).

10

20

30

【0008】

【化 6】

- Reyes, G., ら , *Science*, 247:1335 (1990).
 Reyes, G., ら , *Molecular and Cellular Probes* 5:473-481 (1991).
 Rice, C.M., ら , *New Biol.* 1:285-296 (1989).
 Roberts, N.A., ら , *Science* 248:358 (1990).
 Romanos, M.A., ら , *Yeast* 8(6):423-488 (1992).
 Sanger, ら , *Proc. Natl. Acad. Sci.* 74:5463 (1977).
 Sambrook, J., ら , In MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2巻 (1989).
 Saiki, R.K., ら , *Science* 239:487-491 (1988).
 Schagger, H., ら , *Anal. Biochem.* 166:368-379 (1987).
 Scharf, S. J., ら , *Science* 233:1076 (1986).
 Schuler, G.D., ら , *Proteins: Struc., Func. and Genet.* 9:180 (1989).
 Scott, J.K., ら Smith, G.P., *Science* 249:386 (1990).
 Scott, J.K., ら , *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5398 (1992).
 Smith, D.B., ら , *Gene* 67:31 (1988).
 Smith, J.P., *Curr. Opin. Biotechnol.* 2:668 (1991).
 Sreenivasan, M.A., ら , *J. Gen. Virol.* 65:1005 (1984).
 Sumiyoshi, H., ら , *J. Virol.* 66:5425-5431 (1992).
 Summerton, J., ら , 1992年8月25日に発行された米国特許第5,142,047号
 Summerton, J., ら , 1993年2月9日に発行された米国特許第5,185,444号
 Tam, A., ら , *Virology* 185:120 (1991).
 Tam, J.P., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:5409 (1988).
 Tessier, D. C., *Gene* 98:177-183 (1991).
 Tonkinson, J.L., ら Stein, C.A., *Antiviral Chem. and Chemother.* 4(4):193-200 (1993).
 Ulmer, ら , *Science* 259:1745 (1993).
 Urdea, M., *Clin. Chem.* 39:725 (1993).
 Urdea, M., ら , *AIDS* 7:S11 (1993).
 Wages, J.M., ら , *Amplifications* 10:1-6 (1993).
 Walker, G.T., *PCR Methods Appl.* 3:1-6 (1993).

10

20

30

【0009】

【化 7】

- Wang, A.M., ら in PCR PROTOCOLS: A GUIDE TO METHODS AND APPLICATIONS (M.A. Innis, ら, 編) Academic Press (1990).
- Wang, B., ら, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:4156 (1993).
- Whetsell, A.J., ら, *J. Clin. Micro.* 30:845 (1992).
- Wolf, J.A., ら, *Nature* 247:1465 (1990).
- Vacca, J.P., ら, *PNAS* 91:4096 (1994).
- VanGemen, B., ら, *J. Virol. Methods* 43:177 (1993).
- Valenzuela, P., ら, *Nature* 298:344 (1982).
- Valenzuela, P., ら, in HEPATITIS B, 第 I 版 Millman, ら, Plenum Press, 225-236頁(1984).
- Yarbrough, ら, *J. Virol.* 65:5790 (1991).
- Yoo, B.J., ら, *J. Virol.* 69:32-38 (1995).
- Yoshio, T., ら, 1989年7月18日に発行された米国特許第4,849,350号
- Zhang, Y., ら, *J. Virol.* 65:6101-6110 (1991).

10

20

A型肝炎ウイルス(HAV)およびB型肝炎ウイルス(HBV)以外のウイルスから生じるウイルス肝炎は、非A型肝炎、非B型肝炎(NANBH)と呼ばれている。NANBHはさらに、個々のタイプの伝染の様式(例えば、腸対母体(enteric versus parenteral))に基づいて規定される。

【0010】

腸により伝染されるNANBHまたはET-NANBHとして知られているNANBHの1つ形態は、食物および飲水が排泄物により汚染されている、衛生状態が悪い地域で広くかかわっている。E型肝炎ウイルスと呼ばれる、原因となる媒介物の分子クローニングが、最近記載されている(Reyesら, 1990; Tamら)。

30

【0011】

母体により伝染されるNANBH、またはPT-NANBHとして知られているNANBHの第二の形態は、母体経路により、代表的には血液または血液製品に曝されることにより伝染される。この肝炎の割合は、(i)現場、(ii)ALT試験を血液バンクで行ったかどうか、および(iii)AIDSについて高リスクの患者の除外によって変化した。

【0012】

輸血の約10%はPT-NANBH感染を引き起こし、そしてそれらの約半分は慢性疾患状態に至った(Dienstag)。抗HCV試験の実施の後、1単位の輸血あたり、HCVの血清型変換(seroconversion)は心臓外科患者において1%以下に低下した(Alter)。

40

【0013】

ヒトレシピエントにおいて輸血後NANBHを産生することが確認されたヒト血漿サンプルを用いて、チンパンジーにPT-NANBHを感染させるのに成功した(Bradley)。感染したチンパンジー血漿から単離されたRNAを使用して、慢性PT-NANBH感染を有するヒト被験体からの血清を用いる免疫スクリーニングのための発現ベクターにおいてcDNAライブラリーを構築した。この手順はPT-NANBH特異的cDNAクローンを同定し、そして続いて、ウイルス配列をプローブとして用いて、連続した7,300塩基対のPT-NANBHウイルス因子を構成する1セットの重複フラグメントを同定した。配列決定したウイルス因子はC型肝炎ウイルス(HCV)と名付けられた(例えば、HCVの配列は、1988年11月18日に出願されたEPO特許出願第883

50

10922. 5号に示されている)。現在、HCVの全長配列(約9,500nt)が入手可能である。

【0014】

Centers for Disease Control (CDC; Phoenix, AZ, 1973-1975; 1978-1983)で行われた霊長類の伝染研究は、最初に、非A型、非B型肝炎(NANBH)の複合因子の存在の実質的な証拠を提供した: NANBHの症例の大部分と関連する第1の因子は、PT-NANBHおよびET-NANBHに関して、それぞれHCVおよびHEV(上記を参照)であると現在確認されている。その後、CDC (Atlanta, GA, 1989年に提出)で抗HCV抗体について研究(原型)および商業試験の両方を用いて行われた疫学研究は、全ての群集獲得型の(community-acquired) NANBHの約20%もまた、非C型であったことを示した。これらのサンプルのHEVの存在についてのさらなる研究(Ryersら, WOA9115603 (Genelabs Inc.) 1991年10月17日)は、群集獲得型の非A型、非B型、非C型肝炎のこれらの症例もまた非E型であることを示した。 10

【0015】

センチネル郡(Sentinel County)の患者の肝臓生検の標本、血清および血漿(Miriam Alter博士およびKris Krawczynski博士の研究)もまた、多くのNANBHの真の症例も、(血清学的におよびHCV感染の全てのマーカーに対して陰性である逆転写酵素ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR; Kawasakira; Wangら、1990)により)結果として慢性持続性肝炎(CPH)の症状を有する慢性肝炎またはウイルス感染と一致した慢性活動性肝炎(CAH)を発症した非C型肝炎であることを示した。 20

【発明の開示】

【課題を解決するための手段】

【0016】

(発明の要旨)

本発明は、ポリペプチド抗原を開示する。該ポリペプチド抗原は、非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(本明細書中ではG型肝炎ウイルス(HGV)と称される)を有する個体の血清と免疫反応する。該抗原ポリペプチドのオープンリーディングフレーム配列をコードするポリヌクレオチドを含有する、対応するゲノムフラグメントクローンを教示する。該抗原は、試験被験体におけるHGVの存在を検出するための診断方法において有用である。該抗原はまた、ワクチンおよび抗体の調製において有用である。さらに、2つのHGV単離物の全コード配列を開示する。サンプル中HGVの、核酸に基づく検出の方法を示す。そしてHGVに対応するさらなるゲノム配列を単離するための方法もまた、示す。 30

【0017】

本発明は、本明細書中でG型肝炎ウイルス(HGV)と名付けた、新たに発見した非A/非B/非C/非D/非E(N-(ABCDE))型肝炎関連ウイルス因子の特徴付けおよび単離に関する。本明細書には、HGVゲノム部分のcDNAレプリカの一族が開示される。さらなるHGV配列およびHGV変異体の配列の単離および特徴付けのための方法もまた開示される。 40

【0018】

本発明は、HGVゲノムポリヌクレオチド、それに対するcDNAおよびそれらの相補体を包含する。ポリヌクレオチドに関して、本発明のいくつかの局面は以下を含む: 精製されたG型肝炎ウイルスゲノムポリヌクレオチド; HGV由来のRNAおよびDNAポリヌクレオチド; 組換えHGVポリヌクレオチド; HGVまたはHGV変異体cDNAまたはそれらの相補体に由来する配列を構成する組換えポリヌクレオチド; HGVのエピトープをコードする組換えポリペプチド; 上記組換えポリヌクレオチドのいずれかを含む組換えベクター、およびこれらのベクターのいずれかで形質転換された宿主細胞。本発明の別の局面は、HGVおよび/またはその変異体のためのポリヌクレオチドプローブである。 50

【0019】

配列情報を用いてHGVを他のウイルス配列と比較する、HGVのゲノムの性質に対する現在の研究は、HGVがフラビウイルス科 (Flaviviridae) のウイルスのメンバーであることを示唆する。

【0020】

HGV由来のcDNA配列部分は、天然に存在するウイルスの変異体を単離するため、またはサンプル中のウイルスの存在を測定するためのプローブとして有効である。これらのcDNAはまた、HGV特異的ポリペプチド抗原を含む、HGVをコードしたポリペプチド配列の入手を可能にする。これらのコード配列は、診断試験の試薬および／またはワクチンの成分として、または標準品として有用であるポリペプチドの産生を可能にする。さらに、これらのcDNA由来のプローブを利用してHGVゲノムの他の部分を単離し、そして配列決定することが可能であり、それにより、予防、治療および診断の適用に有用である別のプローブおよびポリペプチドを与える。

10

【0021】

本発明の他の局面は以下を含む：HGV cDNAまたはその相補体由来のオープンリーディングフレーム (ORF) を組み込む組換え発現系（この場合、ORFが、所望の宿主に適合性の制御配列に作動可能に結合されている）、この組換え発現系で形質転換された細胞、およびこの形質転換細胞により産生されたポリペプチド。

【0022】

本発明のさらなる別の局面は、精製されたHGV粒子；精製されたHGVからのポリペプチドの調製；精製されたHGVポリペプチド；精製されたHGVペプチド；およびHGVまたはHGV変異体に含まれたエピトープで免疫学的に同定可能なエピトープを包含する精製されたポリペプチドである。

20

【0023】

本発明に含まれる局面は、HGVポリペプチド；HGVゲノム、HGV cDNAまたはその相補体由来の配列からなる組換えポリペプチド；HGVエピトープから作られる組換えポリペプチド、およびHGVポリペプチドから構成される融合ポリペプチドである。

【0024】

ポリペプチド配列内に含まれるHGVエピトープに向けられるポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体の両方もまた、治療薬剤として、診断試験、HGV因子（そこから、これらのcDNAが由来する）の単離、および抗ウイルス薬剤のスクリーニングに有用である。本発明はまた、HGVエピトープに向けられるポリクローナル抗体の精製された調製物；およびHGVエピトープに向けられるモノクローナルを包含する。

30

【0025】

キットに関する本発明のいくつかの局面は、以下のことを行うためのものである：適切な容器において、HGV由来の約8個のまたはそれ以上のヌクレオチドのヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドプローブを含むHGV由来のポリヌクレオチドの存在についてサンプルを調べること；適切な容器において、HGV抗原に存在するHGVエピトープを含有するポリペプチドを構成するHGV抗原に向けられる抗体の存在についてサンプルを分析すること；および適切な容器において、抗HGV抗体を構成するHGV抗原の存在についてサンプルを分析すること。

40

【0026】

本発明のさらに他の局面は、HGVエピトープから構成されるポリペプチド（これは固体基質に付着される）；およびHGVエピトープに対する抗体（これは固体基質に付着される）である。

【0027】

本発明の他の局面は、発現ベクターで形質転換された、HGVポリペプチドをコードする配列を含有する宿主細胞を、このポリペプチドの発現を可能にする条件下でインキュベートすることを含むHGVポリペプチドの産生のための技術；およびこの方法により産生されたポリペプチド（例えば、HGVエピトープを含有する）である。

50

【0028】

本発明はまた、サンプル中のHGV核酸を検出のための方法を包含し、この方法は、プローブおよびサンプルからのHGV核酸の間のポリヌクレオチド2本鎖の創出を可能にする条件下で、サンプルの核酸をHGVポリヌクレオチドのプローブと反応させる工程、およびこのプローブを含有するポリヌクレオチド2本鎖を検出する工程を包含する。本発明は、以下のハイブリダイゼーションに基づく検出方法を包含する：レポーター標識；ポリメラーゼ連鎖反応；自己持続性配列複製；

リガーゼ連鎖反応；およびストランド置換増幅。さらに、検出方法は、シグナル増幅（例えば、分枝状DNAプローブおよびQ-βレプリカーゼ法）を包含する。

【0029】

本発明はまた、HGVを検出するための免疫アッセイを含む免疫アッセイを包含し、この免疫アッセイは、サンプル（これはHGVで感染されたと疑われる）と抗原／HGVのエピトープ（抗原－抗体複合体の形成を可能にする条件下で検出される）に向けられるプローブ抗体とをインキュベートする工程；およびプローブ抗体を含有する抗原－抗体複合体を検出する工程を包含する。HGV抗原に向けられる抗体の検出のための免疫アッセイは、抗体－抗原複合体の形成を可能にする条件下で、HGVを含有すると疑われているサンプルとHGVのエピトープを含むプローブポリペプチドとをインキュベートする工程；およびプローブ抗原を含有する抗体－抗原複合体を区別する工程を包含する。

【0030】

HGV感染の処置および／または予防のためのHGVワクチンもまた、本発明の一部を形成し、これには、HGVエピトープを含有する免疫原性ペプチド、またはHGVの不活性化された調製物、またはHGVの低減された調製物を包含する。

【0031】

さらに別の局面において、本発明は、HGVに感染した、組織培養増殖細胞を含む。1つの実施態様において、組織培養増殖細胞は霊長類の肝細胞である。

【0032】

本発明の別の局面は、HGVエピトープを含有する免疫原性ポリペプチドを免疫応答を引き出すのに適切な量で被験体に投与する工程を包含する、HGV抗体を産生するための方法である。

【0033】

本発明はまた、HGVモザイクポリペプチドを包含し、ここで、このモザイクポリペプチドは少なくとも2つのHGVのエピトープを含有し、そして、このポリペプチドは、本来のHGVコード配列中のエピトープの間に通常存在するアミノ酸を実質的に欠いている。このようなモザイクポリペプチドは、上述した適用および方法に有用である。

【0034】

本発明はさらに、エピトープの提示の間で天然のHGVの抗原性エピトープを模倣するランダムなペプチドエピトープ（ミミトープ）を包含する。このようなミミトープは、上述した適用症および方法に有用である。本発明はまた、ランダムなペプチドHGVエピトープを同定するための方法を包含する。この方法では、ランダムなペプチドエピトープのライブラリーが生成されるか、または選択される。

【0035】

このライブラリーは抗HGV抗体と接触される。この抗体と特異的に免疫反応するミミトープが同定される。血清（抗HGV抗体を含有する）または本発明の方法により産生される抗体は使用され得る。ランダムなペプチドライブラリーは、例えば、ファージで提示され得るか、または組み合わせライブラリーとして産生され得る。

【0036】

別の局面では、本発明は、HGV感染の予防および／または処置のための治療化合物および方法を包含する。

【0037】

本発明のこれらおよび他の目的および特徴は、本発明の以下の詳細な説明を添付の図面

10

20

30

40

50

とともに読むと、より充分に理解される。

【0038】

本発明においては、以下が提供される。

1. 実質的に単離された形態の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)であって、ここで該HGVが、(i) 霊長類において伝染可能であり、(ii) A型肝炎ウイルス(HAV)、B型肝炎ウイルス(HBV)、C型肝炎ウイルス(HCV)、D型肝炎ウイルス(HDV)、およびE型肝炎ウイルス(HEV)と血清学的に異なり、(iii) フラビウイルス科のメンバーであり、そして(iv) 配列番号14、配列番号37、および配列番号19、またはそれらの相補体からなる群より選択されるポリヌクレオチドに対して少なくとも55%の配列相同性を有するポリヌクレオチドを含有する：ことを特徴とする肝炎ウイルス。 10
2. 実質的に単離された形態の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)ポリペプチドであって、ここで該HGVが、(i) 項目1に記載のHGVウイルスの特徴を有し、そして(ii) 配列番号15の2873アミノ酸配列、配列番号38の190アミノ酸配列、および配列番号20の67アミノ酸配列からなる群より選択されるアミノ酸配列に対して少なくとも40%の配列相同性を有するアミノ酸配列のポリペプチドであることをさらに特徴とする、ポリペプチド。
3. HGV陽性被験体由来の体液または組織サンプルと特異的に免疫反応する抗原の能力により示されるような、少なくとも1つの抗HGV抗体と特異的に免疫反応する抗原を含有する、項目2に記載のポリペプチド。 20
4. 組換えDNA発現により調製され、配列番号14により、または配列番号14の相補体によりコードされるポリペプチド配列を含有する、項目2に記載のポリペプチド。
5. HGVポリペプチドおよび第二のポリペプチドからなる組換え融合ポリペプチドであって、ここで該第二のポリペプチドが、 β -ガラクトシダーゼタンパク質、グルタチオン-S-トランスフェラーゼタンパク質、および粒子形成タンパク質からなる群より選択される、項目2に記載のポリペプチド。
6. HGVゲノム、そのcDNAまたはその相補体によりコードされる少なくとも15個の連続するアミノ酸配列を含有し、ここで該アミノ酸配列が、(i) 配列番号15の2873アミノ酸配列、またはそのフラグメント、(ii) 配列番号38の190アミノ酸配列、またはそのフラグメント、(iii) 配列番号20の67アミノ酸配列、またはそのフラグメント、および(iv) PNF2161cDNA供給源の λ gt11ライブラリー内にコードされるアミノ酸配列からなる群より選択される、項目2に記載のポリペプチド。 30
7. 項目1に記載の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)に対する特異的な抗体を含有する体液または組織サンプルのスクリーニングに使用するための診断キットであって、項目3に記載のポリペプチド抗原、および該抗原と該サンプル中の該抗体との特異的な免疫反応により形成される免疫学的複合体を検出するための手段、を含む、診断キット。
8. 血清のスクリーニングにおいて使用するための、項目7に記載の診断キット。
9. 非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)抗原を含有する体液または組織サンプルのスクリーニングに使用するための診断キットであって、項目3に記載の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)ポリペプチド抗原と特異的に免疫反応する実質的に単離された抗体、および該抗体に対する該ポリペプチド抗原の結合を検出するための手段、を含む、診断キット。 40
10. 試験被験体における非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)感染を検出する方法であって、試験被験体由来の体液または組織サンプルと、項目9に記載のキットの実質的に単離されたHGV特異的抗体とを反応させる工程、および結合抗原の存在について抗体を試験する工程、を包含する、方法。
11. 項目3に記載の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)抗原と特異的に免疫反応するモノクローナル抗体。 50

12. 項目3に記載の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)抗原と特異的に免疫反応するポリクローナル抗体の実質的に単離された調製物。

13. 項目1に記載の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)に対して特異的な抗体を含有する体液または組織サンプルをスクリーニング方法であって、該サンプルと項目3に記載のポリペプチド抗原とを接触させる工程、および該抗原と該サンプル中の抗体との特異的な免疫反応により形成される免疫学的複合体を検出する工程、を包含する、方法。

14. 項目1に記載の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)に対する抗体を生成する方法であって、免疫応答を生じるに十分な量で少なくとも1つの抗HGV抗体と特異的に免疫反応するエピトープを含有する抗原を含む、項目2に記載の実質的に単離され

10

たHGVポリペプチドを試験被験体に投与する工程、を包含する、方法。

15. モザイク状ポリペプチドであって、項目3に記載の少なくとも2つの異なる抗原、ここで該モザイク状ポリペプチドは、天然のHGVポリペプチドにおける該抗原間に通常、介在するアミノ酸を欠失する、ポリペプチド。

16. 非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)ワクチン組成物であって、項目3に記載の実質的に単離されたHGVポリペプチドを含有し、薬学的に受容可能なキャリア中で薬学的有効用量で存在する、組成物。

17. 実質的に単離された形態の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)ポリヌクレオチドであって、ここで該HGVが項目1に記載のHGVの特徴を有する、ポリヌクレオチド。

20

18. 配列番号14、配列番号37、および配列番号19、またはそれらの相補体からなる群より選択されるポリヌクレオチドに対して少なくとも55%の配列相同性を有する、項目17に記載のポリヌクレオチド。

19. 非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)のPCR検出に有用である、項目17に記載のポリヌクレオチド。

20. 試験被験体において非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)核酸を検出する方法であって、以下の工程を包含する方法：該被験体から核酸含有サンプルを得る工程、適切なハイブリダイゼーション条件下で、核酸を含有する該サンプルと項目17に記載のポリヌクレオチドからなるプローブとを組み合わせる工程、およびHGV核酸の該プローブとのハイブリダイゼーションにより形成される、HGV核酸／プローブ複合体の存在

30

を検出する工程。

21. 項目20に記載の方法であって、前記検出工程がHGV核酸特異的プローブを使用する工程、ここで2つの該プローブはHGV核酸の内部領域を規定し、そして各プローブは該領域の3'末端内側を含有する1つのストランドを有し、前記核酸／プローブハイブリダイゼーション複合体をプライマー伸長反応により2本鎖のプローブ含有フラグメントに転換する工程、以下の工程を連続的に繰り返すことによりプローブ含有フラグメントの数を増幅する工程：(i) 2本鎖フラグメントを変性して1本鎖フラグメントを生成する工程、(ii) 該1本鎖フラグメントを該プローブとハイブリダイズさせてストランド／プローブ複合体を形成させる工程、(iii) 酵素および4つのすべてのデオキシリボヌクレオチドの存在下で、該ストランド／プローブ複合体から2本鎖フラグメントを作製する工程、および(iv) 所望の増幅度が達成されるまで工程(i)から(iii)を繰り返す工程、該増幅産物を同定する工程、を包含する、方法。

40

22. 項目1に記載の非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)由来のポリヌクレオチドの存在についてサンプルを分析するためのキットであって、項目17に記載のHGVポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズするヌクレオチド配列を含有する少なくとも1つのポリヌクレオチドプローブ、および適切な容器、を含有する、キット。

23. 適切な条件下で、非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス(HGV)ゲノム由来のcDNAのオープンリーディングフレーム(ORF)、またはその相補体を発現し得るクローニングベクターであって、ここで該ウイルスが項目1に記載の特徴を有し、そして該ORFが所望の宿主に適合し得る制御配列に作動可能に連結される、クローニングベクター

50

。

24. 非A非B非C非D非E型肝炎ウイルス（HGV）ポリペプチドを生産する方法であって、前記オープンリーディングフレーム（ORF）配列の発現をもたらす条件下で、項目23に記載のベクターで形質転換した細胞を培養する工程を包含する、方法。

【0039】

（発明の詳細な説明）

（I. 定義）

以下で定義される用語は、本明細書中では以下の意味を有する：1. 本明細書中で暫定的にHGVと名付けた、「非A／非B／非C／非D／非E型肝炎ウイルス因子 {N- (A B C D E) }」は、(i) マイスタックス (my st ax)、チンパンジーまたはヒトを含むいくつかの霊長類で伝染可能であり、(ii) 血清学的に、A型肝炎ウイルス (H A V)、B型肝炎ウイルス (H B V)、C型肝炎ウイルス (H C V)、D型肝炎ウイルス、およびE型肝炎ウイルス (H E V) と異なり（しかし、HGVはこれらのウイルスと同時に被験体に感染し得る）、そして (iii) フラビウイルス科のウイルスのメンバーであるウイルス、ウイルス型、またはウイルスクラスを意味する。

10

【0040】

2. 「HGV変異体」は、本明細書中に開示されているHGVポリヌクレオチド配列（例えば、配列番号14）に対して、少なくとも約40%、好ましくは55%または65%、あるいはより好ましくは80%の全配列相同性、すなわち、ウイルスゲノムポリヌクレオチド配列の長さの全体での配列同一性を有するウイルス単離体として定義される。

20

【0041】

「配列相同性」は本質的に以下のように決定される。類似した長さ（好ましくはウイルスゲノム全体）の2つのポリヌクレオチド配列は、これらがA L I G Nプログラムを用いてアライメントされるときに、最も高い得点のアライメントにおける核酸の、40%、好ましくは55%または65%、またはより好ましくは80%より多くが、k t u pを1とすること、省略時 (d e f a u l t) のパラメーターおよび省略時のP A M行列を用いて同一的にアライメントされるならば、互いに相同と考えられる。

【0042】

A L I G Nプログラムは、配列比較プログラムのF A S T Aバージョン1.7セットに見出される (Pearsonら、1988; Pearson、1990; William R. Pearsonから入手可能なプログラム、Department of Biological Chemistry, Box 440, Jordan Hall, Charlottesville, VA)。

30

【0043】

2つのウイルスが互いに「高度に相同的」であるかどうかを決定する際、1つのウイルスの全てのウイルスタンパク質（またはそのポリタンパク質）の完全な配列は、k t u pを1とすること、省略時のパラメーターおよび省略時のP A M行列を用いて上記セットのA L I G Nプログラムを用いて、他のウイルスのウイルスタンパク質またはポリタンパク質と最適に、全体的にアライメントされる。非類似または類似の領域はこの分析から除外されない。2つの配列の間の長さの相違は、ミスマッチと考えられる。あるいは、ウイルスの構造タンパク質領域は、代表的に、ウイルス単離体間の関連性を決定するために使用される。高度に相同的ウイルスは、40%、あるいは好ましくは55%または65%、あるいはより好ましくは80%を越える完全なポリペプチド配列同一性を有する。

40

【0044】

3. 2つの核酸フラグメントが、以下の条件下で、これらが、HGVポリヌクレオチドまたはその変異体に特異的にハイブリダイズし得るか（例えば、HGV核酸にハイブリダイズするが、フラビウイルス科のウイルスの他のメンバー由来のポリヌクレオチドにハイブリダイズしないプローブ）、またはポリメラーゼ連鎖反応を特異的に開始させ得る場合、HGVポリヌクレオチドに「選択的にハイブリダイズ可能」であると考えられる：(i) 例えば、Maniatisら、320-328頁、および382-389頁に記載され

50

ているような代表的なハイブリダイゼーションおよび洗浄条件下で、(i i) 多くても約 25～30%塩基対のミスマッチを可能にする低いストリンジェンシー洗浄条件を用いること(例えば: 2×SSC、0.1%SDS、室温で2回、30分間ずつ; 続いて、2×SSC、0.1%SDS、37℃で1回、30分間; 続いて、2×SSC、室温で2回、10分間ずつ)、または(i i i) 標準的条件下(例えば、S a i k i, R. Kら)での代表的なポリメラーゼ連鎖反応(PCR)における使用のためのプライマー(これはHGVまたはその変異体の配列の特異的増幅を生じる)を選択すること。

【0045】

好ましくは、高度に相同的な核酸鎖は、20～30%未満の塩基対ミスマッチ、さらに好ましくは、5～20%未満の塩基対ミスマッチを含有する。これらの程度の相同性は、当該分野で周知のように、遺伝子ライブラリー(または他の供給源の遺伝子物質)由来のクローンの同定のための適切なストリンジェンシーの洗浄条件を用いることにより選択され得る。

10

【0046】

4. 本明細書中で使用されている「HGVポリヌクレオチド」は、以下のように定義される。約100ヌクレオチドよりも大きいポリヌクレオチドについては、HGVポリヌクレオチドは、HGV変異体および上記「2」で定義されているような相同的配列によりコードされるポリヌクレオチド配列を包含する。長さが約100ヌクレオチド未満のポリヌクレオチドについては、HGVポリヌクレオチドは、HGVまたはその変異体の配列に選択的にハイブリダイズする配列を包含する。さらに、HGVポリヌクレオチドは、HGVポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを包含する(以下を参照のこと)。

20

【0047】

本明細書中で使用されている用語「ポリヌクレオチド」とは、代表的な核酸に水素結合し得る塩基を支持する骨格を有するポリマー性分子を意味し、ここで、このポリマー骨格は、ポリマー性分子と代表的な核酸(例えば、1本鎖DNA)との間で配列特異的な様式でこのような水素結合を可能にするように、塩基を提示する。このような塩基は、代表的に、イノシン、アデノシン、グアノシン、シトシン、ウラシルおよびチミジンである。多くのポリヌクレオチドの改変は、当該分野で公知であり、例えば、標識、メチル化、および天然に存在する1つまたはそれ以上のヌクレオチドのアナログでの置換がある。

【0048】

ポリマー性分子は、2本鎖および1本鎖のRNAおよびDNA、およびそれらの骨格修飾体(例えば、メチルホスホネート結合)を包含する。さらに、このようなポリマー性分子は、ポリビニル骨格(P i t h a、1970a/b)、モルホリノ骨格(S u m m e r t o nら、1992、1993)のような別のポリマー骨格構造を包含するが、これらに限定されない。種々の他の荷電または荷電していないポリヌクレオチドアナログが報告されている。多くの骨格修飾体は当該分野で公知であり、荷電していない結合(例えば、メチルホスホネート、ホスホトリエステル、ホスホアミデート、およびカルバメート)および荷電結合(例えば、ホスホロチオエートおよびホスホロジチオエート)を包含するが、これらに限定されない。さらに、結合は、以下の代表的な修飾を含み得る: ペンダント部分、例えば、タンパク質(例えば、ヌクレアーゼ、トキシン、抗体、シグナルペプチドおよびポリーLーリジンを含む); インターカレーター(例えば、金属、放射活性金属、ホウ素および酸化性金属)、アルキル化剤、および他の修飾された結合(例えば、αアノマー核酸)。

30

40

【0049】

5. 本明細書中の「HGVポリペプチド」は、HGVポリペプチドに相同的な任意のポリペプチドとして定義される。本明細書中で使用されている「相同性」は以下のように定義される。1つの実施態様では、ポリペプチドは、これがHGVまたはその変異体の配列に選択的にハイブリダイズする核酸によりコードされる場合、HGVポリペプチドに相同的である。

【0050】

50

別の実施態様では、ポリペプチドは、これがHGVまたはその変異体によりコードされる場合、上記で定義されるように、HGVポリペプチドに相同的であり、このグループのポリペプチドは、代表的に、15個、好ましくは25個、またはより好ましくは35個より大きい、連続するアミノ酸である。さらに、約60アミノ酸より長いポリペプチドについては、「ポリペプチド相同性」を決定する目的のための配列比較は、局所のアライメントプログラムLALIGNを用いて行われる。このポリペプチド配列は、HGVアミノ酸配列またはその任意の変異体に対して、上記で定義されたように、k t u pを1とすること、省略時のパラメーターおよび省略時のPAMでLALIGNプログラムを用いて比較される。

【0051】

10

60アミノ酸より長い最適なアライメント、および65%、好ましくは70%、またはより好ましくは80%より大きい同一的にアライメントされたアミノ酸を有する任意のポリペプチド（代表的には、HGV抗体と特異的に免疫反応しないポリペプチド）は、「相同的ポリペプチド」であると考えられる。LALIGNプログラムは、配列比較プログラムのFASTAバージョン1.7セットに見出される（Pearsonら、1988；Pearson、1990；William R. Pearsonから入手可能なプログラム、Department of Biological Chemistry, Box 440, Jordan Hall, Charlottesville, VA）。

【0052】

6. ポリヌクレオチドは、これが、HGVゲノムの領域、HGVのcDNAまたはその相補体と同じまたは実質的に同じ塩基対配列を有する場合、あるいはこれが上記の「2」、「3」または「4」に記載のような相同性を提示する場合、HGV「に由来する」。

20

【0053】

ポリペプチドまたはポリペプチド「フラグメント」は、これが、(i) HGVポリヌクレオチドのオープンリーディングフレームによりコードされ、または(ii)上記の「2」および「5」に記載のようなHGVポリペプチドに対して相同性を提示し、または(iii) HGV陽性血清と特異的に免疫反応する場合、HGV「に由来する」。

【0054】

7. 「実質的に単離された」および「精製された」は、いくつかの文脈で使用され、そして代表的には、関連のないまたは混入成分（例えば、血清細胞、タンパク質、非HGVポリヌクレオチドおよび非抗HGV抗体）からのHGVウイルス粒子、成分（例えば、ポリヌクレオチドまたはポリペプチド）、または関連化合物（例えば、抗HGV抗体）の少なくとも部分的な精製を意味する。目的の化合物または成分の単離および精製のための方法および手順は、以下に記載される（例えば、融合タンパク質のアフィニティー精製およびHGVポリペプチドの組換え産生）。

30

【0055】

8. 本発明の文脈で、用語「核酸配列」は、タンパク質、ポリペプチド、またはペプチドをコードする配列を示す場合、相同的なタンパク質、ポリペプチド、またはペプチドの配列、および開示された配列をコードする縮重核酸配列を包含することを意味する。

【0056】

40

9. 「エピトープ」は、抗原の特異的部分として定義される抗原性決定因子である。特異的抗体の抗原結合部分は、この特異的部分と相互作用する。

【0057】

10. 抗原またはエピトープは、エピトープ／抗原がHGV感染血清に存在する抗体と結合するが、HGVに感染していないか、または感染したことがない個体からの血清の大部分（約90%以上、好ましくは95%以上）に存在する抗体と反応しない場合、HGV陽性な血清と「特異的に免疫反応的」である。「特異的に免疫反応的」抗原またはエピトープはまた、特定のHGVエピトープまたは抗原に対して産生されるモノクローナル抗体またはポリクローナル抗体と免疫反応的であり得る。

【0058】

50

抗体または抗体組成物（例えば、ポリクローナル抗体）は、この抗体または抗体組成物がHGV抗原と免疫反応するが、HAV、HBV、HCV、HDVまたはHEV抗原と免疫反応しない場合、HGVと「特異的に免疫反応性」である。さらに、「特異的な免疫反応性抗体」は、HGV、HAV、HBV、HCV、HDVまたはHEVに感染していないかまたは曝されていない被験体から得られた正常な血清に代表的に存在する抗原と免疫反応しない。

【0059】

（I I . N - (A B C D E) 血清）

抗HCVに対する血清学的試験の有用性およびHCV-RNAに対するRT-PCRアッセイの開発（Kawasakiら；Wangら、1990）により、輸血後獲得型および地域獲得型の非HCV肝炎の両方のいくつかの症例の同定を可能にした。Centers for Disease Control and Preventionの支援による地域獲得型肝炎のSentinel Counties Studyを介して、ヒト肝炎の症例（PNF2161）がNANB型肝炎（NANBH）を有することが初めて確認された（Alterら、1989b）。PNF2161は、高齢のコカサス人男性患者から得られたサンプルであり、この患者は輸血約8週間後、急性肝炎を発症し、1141 IUの最高血清ALT（正常レベル、 ≤ 45 IU）を示した。急性肝炎のエピソードの消散後、患者は変動があるものの、以後7年間にわたって高ALTレベルが持続し、慢性肝炎と一致したが、この診断の組織病理学的確証は得られなかった。

10

【0060】

HGVのクローン化（本明細書中に記載）に使用した血漿試料は、急性肝炎のエピソードから約4年半後の1989年6月に得、そして冷凍保存した。患者のPNF2161は当初、HCVに感染したとは思われなかった。これは、第一世代の免疫アッセイ試験（Ortho HCV ELISA Test System； Ortho Diagnostics, Raritan, NJ）で一貫して陰性の結果であったことに基づく。しかし、第二世代のHCV免疫アッセイ（Ortho）およびHCV5'非コード領域プライマーによるPCRを用いるその後の試験では、患者がHCVに感染したことが認められた。

20

【0061】

（I I I . HGV 関連配列の単離）

HGV配列を含むクローンを同定するための1つのアプローチとして、発現ベクター、 λ gt11においてHGV感染血清からcDNAライブラリーを調製した（実施例1）。次いでポリヌクレオチド配列を、血清PNF2161と免疫反応するペプチドの発現について選択した。PNF2161血清（ファージライブラリーを作製するのに使用される）を用いて、一次スクリーニングを典型的に実施した。他のN-(ABCDE)と疑われる血清でスクリーニングするのもまた可能である。

30

【0062】

このアプローチによって同定される組換えタンパク質は、候補物に、診断検査において基質となり得るペプチドを提供する。さらに、このアプローチによって同定される核酸のコード配列は、さらなるHGVコード配列の同定のための有用なハイブリダイゼーションプローブとして働く。

40

【0063】

上記の血清を用いて、 λ gt11におけるcDNAライブラリーを作製した（実施例1）。実施例1に例示した方法では、感染血清を、希釈せずに8%PEG中で沈殿させ、そして得られたペレット化ウイルスからライブラリーを作製した。感染ヒト供給源由来の血清を、同様の様式で処理した。

【0064】

PEG沈殿に対する有利な代替法として、超遠心分離を用いて感染血清または他の生物学的試料から粒子因子をペレット化し得る。核酸を抽出し得るウイルス粒子を単離するために、血清（2mlまでの範囲）をPBSで約10mlに希釈し、3Kで10分間スピ

50

し、そして上清をTi70.1ローター(Beckman Instruments, Fullerton, CA)内で最低2時間、40,000rpm(約110,000×g)、4℃で遠心分離する。次いで上清を吸引し、そして標準的な核酸抽出技術でペレットを抽出する。

【0065】

出発物質としてペレット化した血清から抽出されるRNAとの逆転写反応におけるランダムプライマーを用いて、cDNAライブラリーを作製した。得られた分子を配列独立シングルプライマー増幅(SISPA; Reyesら、1991)リンカープライマーに連結し、そして非選択的方法で増幅し、次いでペプチド抗原の発現およびスクリーニングのために適切なベクター(例えば、λgt11)にクローン化した。あるいは、λgt10ベクターもまた、使用し得る。

10

【0066】

λgt11は、β-ガラクトシダーゼ遺伝子の翻訳終止コドンの53塩基対上流に唯一のEcoRI挿入部位を含む、特に有用な発現ベクターである。それゆえ、挿入配列は、β-ガラクトシダーゼ遺伝子産物のN末端部分を含むβ-ガラクトシダーゼ融合タンパク質(ヘテロペプチド)および必要に応じてβ-ガラクトシダーゼペプチドのC末端領域を含むβ-ガラクトシダーゼ融合タンパク質として発現される(ヘテロペプチドのコード配列が翻訳終止コドンを含まない場合は、C末端部分が発現される)。

【0067】

このベクターはまた、許容温度(例えば、32℃)でウイルスの溶原性を生じ、そして高温(例えば、42℃)でウイルスによる溶原化に至る温度感受性リプレッサー(cI857)を生産する。このベクターの利点としては、(1)高い効率の組換えクローンの作製、(2)許容温度での宿主細胞増殖において溶原化宿主細胞を選択するが、非許容温度では選択しない能力、および(3)組換え融合タンパク質の生産が挙げられる。さらに、ヘテロの挿入物を含むファージは、不活性なβ-ガラクトシダーゼ酵素を生産することから、挿入物を含むファージは、β-ガラクトシダーゼを使用する発色基質変換反応を用いて典型的に同定される。

20

【0068】

実施例1は、N-(ABCDE)肝炎血清PNF2161に対するcDNAライブラリーの調製を記載している。PNF2161を用いて、このライブラリーを免疫スクリーニングした(実施例3)。多くの免疫反応性のλgt11クローンを同定した。免疫陽性のクローンをプラーク精製し、そしてそれらの免疫反応性を再試験した。また、正常ヒト血清のクローンとの免疫反応性もまた、試験した。

30

【0069】

これらのクローンをまた、クローン化挿入配列の「外因性の」性質について調べた。この基礎的試験から、クローン化フラグメントが、ヒトの一部または他の潜在的な混入核酸(例えば、E.coli、S.cerevisiaeおよびミトコンドリアの核酸)を示さないことが確認される。ポリメラーゼ連鎖反応増幅後、EcoRI消化によってクローン挿入物を単離した。挿入物を精製し、次いで放射性標識し、そして膜結合正常ヒトDNA、正常マイスタックスDNA、および細菌DNA(コントロールDNA)に対するハイブリダイゼーションプローブとして使用した(実施例4A)。

40

【0070】

クローン470-20-1(PNF2161 cDNA供給源)は、PNF2161血清を用いる免疫スクリーニングにより単離されたクローンの1つであった。このクローンは、正常ヒト血清とは反応しなかった。このクローンは、インフレイム(in-frame)でλgt11ベクターのβ-ガラクトシダーゼ遺伝子を伴う大きなオープンリーディングフレーム(203塩基対;配列番号3)を有する。このクローンは、ヒト、酵母、およびE.coliゲノムDNAを用いる、ゲノムDNAハイブリダイゼーション分析およびゲノムPCR分析により外因性である(実施例4B)。

【0071】

50

この配列は、R T-P C Rにより決定されるように、P N F 2 1 6 1 血清中に存在した（実施例 4 C）。系列希釈した P N F 2 1 6 1 R N A の R T-P C R は、1 m l あたり少なくとも約 10^5 コピーの 4 7 0-2 0-1 特異的配列を示唆した。この配列はまた、ウイルス様粒子と関連して集まる配列と一致する密度で、ショ糖密度勾配画分中で検出された（実施例 5）。

【0072】

第 2 のクローンであるクローン 4 7 0-e x p 1（配列番号 3 7）を発現する E. c o l i の細菌溶解物はまた、クローン 4 7 0-2 0-1 に相当するレベルで P N F 2 1 6 1 血清と特異的に免疫反応することが示された。4 7 0-e x p 1 のコード配列は、終止コドンに隣接し（配列番号 1 4 との配列の比較に基づく、図 1 もまた参照のこと）、そして内部にメチオニンを有した。 10

【0073】

さらに、配列番号 1 4 に含まれる配列（クローン 4 7 0-2 0-1 に隣接する）は、クローン 4 7 0-2 0-1 由来のプライマーを用いるアンカーポリメラーゼ連鎖反応（A n c h o r P C R）によって得た（実施例 6）。この場合、P N F 2 1 6 1 2-c D N A 供給源ライブラリーをテンプレートとして用いた。この場合、c D N A / 相補 2 本鎖 D N A 生成物を入アームに連結したが、混合物はパッケージされなかった。

【0074】

4 7 0-2 0-1 特異的プライマーは、テンプレートとして S I S P A 増幅 P N F 2 1 6 1 c D N A を用いる増幅反応に使用された（実施例 4）。増幅 D N A フラグメントの同一性を、（i）大きさおよび（i i）4 7 0-2 0-1 特異的オリゴヌクレオチドプローブ（配列番号 1 6）とのハイブリダイゼーションにより確認した。S I S P A 増幅 P N F 2 1 6 1 からの P C R により増幅された c D N A に、4 7 0-2 0-1 特異的シグナルが検出され、供給原材料中に 4 7 0-2 0-1 の配列が存在することが明らかにされた。 20

【0075】

4 7 0-2 0-1 特異的プライマーはまた、基質として以下の R N A 供給源を用いる増幅反応に使用された：正常マイスタックス肝臓 R N A、正常タマリン（S a n g u i n s l a b o r i a t i s）肝臓 R N A、および M Y 1 3 1 肝臓 R N A（実施例 4）。これらの実験からの結果は、4 7 0-2 0-1 配列が、親血清サンプル（P N F 2 1 6 1）中および P N F 2 1 6 1 を抗原投与した動物由来の肝臓 R N A サンプル（M Y 1 3 1）中に存在することを示す。両方の正常コントロール R N A は、4 7 0-2 0-1 配列の存在について陰性であった。 30

【0076】

さらに、P N F 2 1 6 1 血清および他のクローニング供給源または関連の供給原材料を、選択されたクローン化配列由来のプライマーを用いる P C R により直接試験した。特異的オリゴヌクレオチドプローブ 4 7 0-2 0-1-1 5 2 F（配列番号 1 6）に対するハイブリダイゼーションにより、特異的増幅産物を検出した。P N F 2 1 6 1 の多数の抽出物中で、4 7 0-2 0-1 特異的プライマーにより、特異的シグナルを再現的に検出した。 40

【0077】

H G V と肝疾患との間の病的関連は、実施例 4 F のデータによってさらに支持される。肝炎患者由来の血清および肝機能異常の血液ドナー由来の血清を、H G V 特異的プライマーを用いる R T-P C R スクリーニングにより、H G V の存在について評価した。これらの血清サンプルのうち 6 / 1 5 2 に、H G V 特異的配列を検出した。コントロールサンプル間では、H G V 陽性は検出されなかった（n = 1 1）。

【0078】

上記の結果は、肝臓の N-（A B C D E）ウイルス感染（すなわち、肝炎）および／または他の組織および細胞タイプの感染（およびその結果生じる疾患）に関連するウイルス因子の単離を示す。 50

【0079】

(I V. HGV組換え抗原のさらなる特徴付け)

(A. 組換え体ライブラリーのスクリーニング)

さらなる候補HGV抗原は、上記のスクリーニング方法を用いて本発明のライブラリーから入手し得る。上記のcDNAライブラリーは、アメリカンタイプカルチャーコレクション(American Type Culture Collection)、12301 Parklawn Dr., Rockville, MD, 20852に寄託されており、そして以下の名称が割り当てられている: PNF 2161 cDNA供給源、ATCC 75268。

【0080】

第1のPNF2161 cDNAライブラリーについての記載と本質的に同様に、第2のPNF2161 cDNAライブラリーを作製した。ただし、第2のPNF2161 cDNA供給源ライブラリーをλgt11アームに連結したが、パッケージはしなかった。この非パッケージ化ライブラリーを用いて、以下に記載の拡張クローン(extension clone)を得た。この第2のライブラリーのパッケージ化バージョン(PNF2161 2-cDNA供給源ライブラリー)は、アメリカンタイプカルチャーコレクション、12301 Parklawn Drive, Rockville, MD, 20852に寄託されており、そして以下の名称が割り当てられている: PNF 2161 2-cDNA供給源、ATCC 75837。

【0081】

上記で作製した組換えライブラリーに加えて、N-(ABCDE)肝炎血清由来の他の組換えライブラリーも同様に本明細書に記載のように作製され、そしてスクリーニングされ得る。

【0082】

(B. エピトープマッピング、クロスハイブリダイゼーション、およびゲノム配列の単離)

抗原をコードするDNAフラグメントは、(i) 上記の免疫スクリーニングまたは(ii) 潜在的な抗原性領域を同定するためのアルゴリズム(例えば、「ANTIGEN」, Intelligentics, Mountain View, CA)を用いるコード配列(例えば、配列番号14)のコンピュータ分析により同定され得る。抗原をコードするDNAフラグメントは、サブクローン化され得る。次いで、サブクローン化挿入物は、DNase Iによる部分消化によってフラグメント化されてランダムフラグメントを作製し得るか、または特異的制限エンドヌクレアーゼ消化によってフラグメント化されて特異的サブフラグメントを生成し得る。得られたDNAフラグメントはλgt11ベクターに挿入され得、そしてクローン化挿入物のエピトープマップを提供するために免疫スクリーニングに供され得る。

【0083】

さらに、DNAフラグメントをハイブリダイゼーション実験のプロブとして使用し、重複するHGV配列を同定し得、そしてこれらは順番にさらにプロブとして使用して一組の連続クローン(contiguous clone)を同定し得る。数組の連続クローンを作製すれば、HGVゲノムの配列の解明が可能になる。

【0084】

上記のクローン配列(例えば、配列番号14またはクローン470-20-1由来)のいずれかを用いてcDNAおよびDNAライブラリー(λgt10または「LAMBDA ZAP II」(Stratagene, San Diego, CA)のようなベクター内で作製される)をプロブ化し得る。公知の配列の特異的サブフラグメントは、ポリメラーゼ連鎖反応により、またはこのような配列を保有するベクターの制限エンドヌクレアーゼ切断後、単離され得る。得られるDNAフラグメントは、任意の選択されたライブラリーに対する放射性標識プロブとして使用され得る。特に、クローン挿入物の5'および3'末端配列は、さらなるクローンを同定するためのプロブとして有用である。

10

20

30

40

50

【0085】

さらに、クローン化挿入物の5'末端により提供される配列は、第1ストランドcDNAまたはDNA合成反応中の配列特異的プライマーとして有用である(Maniatisら; Scharfら)。例えば、特異的にプライム(primed)したPNF2161 cDNAおよびDNAライブラリーは、PNF2161核酸上の配列番号14由来の特異的プライマーをテンプレートとして用いることによって調製され得る。第2ストランドの新たなcDNAは、RNaseHおよびDNAポリメラーゼIを用いて合成される。上記の手順は、既知のクローン挿入配列に5'隣接する核酸領域に対応するDNA/cDNA分子を同定するか、または生成する。これらの新たに単離された配列を順次使用してさらに接する配列などを同定し、HGVの全ゲノムを含む配列を同定し得る。上記のように、新たなHGV配列の単離後、ポリヌクレオチドをクリーン化し、そして免疫スクリーニングして、特異的配列をコードするHGV抗原を同定し得る。

【0086】

拡張クローンの配列(配列番号14)(目的とするさらなる配列を含む)を、実施例6に記載の「アンカーPCR」法を用いてクローンPNF470-20-1(配列番号3)について得た。簡単に説明すると、ストラテジーは、PNF2161 SISPA cDNAをλgt11アームに連結する工程、およびgt11特異的プライマーと2つの470-20-1特異的プライマーのうち1つとで連結反応物を増幅する工程を包含する。

【0087】

増幅産物を電気泳動的に分離し、フィルターに移し、そしてフィルターに結合したDNAを470-20-1特異的プローブでプローブした。ハイブリダイゼーション陽性バンドシグナルに対応するバンドをゲル精製し、クローン化し、そして配列決定した。

【0088】

(C. 抗原ポリペプチドおよび抗体の調製)

本発明の組換えペプチドは、標準的なタンパク質精製手順により精製され得る。この精製手順としては、分画沈殿(differential precipitation)、分子ふるいクロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、等電点フォーカシング、ゲル電気泳動、およびアフィニティークロマトグラフィーが挙げられる。

【0089】

本発明の1つの実施態様において、本発明の抗原のポリヌクレオチド配列は、プラスミドpGEX(実施例7A)またはその種々の誘導体(pGEX-GLI)内でクローン化されている。プラスミドpGEX(Smithら、1988)およびその誘導体は、タンパク質のグルタチオン-S-トランスフェラーゼに対してインフレイムで融合したクローン化挿入物(sj26)のポリペプチド配列を発現する。1つのベクター(プラスミドpGEX-hisB)の構築では、6個のヒスチジンのアミノ酸配列を融合タンパク質のカルボキシ末端で導入する。

【0090】

種々の組換えpGEXプラスミドをE. coliの適切な株に形質転換し得、そして実施例7Aに記載のように、IPTG(イソプロピルーチオガラクトピラノシド)の添加によって、融合タンパク質の生産を誘導し得る。次いで、可溶化した組換え融合タンパク質を、グルタチオンアガロースアフィニティークロマトグラフィーを用いて、誘導培養の細胞溶解物から精製し得る(実施例7A)。

【0091】

プラスミドpGEX-hisBによって発現される不溶性の融合タンパク質は、6M尿素または6M Guanidinium isothiocyanate(これらの両者とも、タンパク質の可溶化に有用である)を含有する緩衝液中での固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィー(Porath)により精製され得る。あるいは、pGEX-GLIまたはその誘導体において発現される不溶性タンパク質は、可溶性タンパク質を除去するための遠心分離に続いて不溶性タンパク質の可溶化と、標準的なクロマトグラフ方法(イオン交換またはサイズ排除クロマトグラフィーなど)との組合せを用いて精製され得、そして他のこのよう

な方法は、当該分野において既知である。

【0092】

β-ガラクトシダーゼ融合タンパク質(λgt11クローンによって生産されるような)の場合、融合タンパク質は、アフィニティークロマトグラフィーによって、細胞溶解材料を表面結合抗β-ガラクトシダーゼ抗体を有する固相支持体上に通過させることにより、容易に単離され得る。例えば、アフィニティークロマトグラフィーによる470-20-1コード配列由来のβ-ガラクトシダーゼ/融合タンパク質の精製が、実施例7Bに記載されている。

【0093】

HGVコード配列および適切な宿主内でのコード領域の発現を可能にする発現制御因子を含む、上記のλgt11またはpGEXベクターのような発現ベクターもまた、本発明に含まれる。制御因子は、一般にプロモーター、翻訳開始コドン、ならびに翻訳および転写終止配列、ならびに挿入物をベクターに導入するための挿入部位を含む。

【0094】

所望の抗原ポリペプチドをコードするDNAは、多くの市販のベクターにクローニングされ得、適切な宿主系内でポリペプチドの発現をもたらす。これらの系には、限定はされないが、以下のものが含まれる：バキュロウイルス発現(Reillyら; Beamesら; Pharmingen; Clontech, Palo Alto, CA)、ワクシニア発現(Earl, 1991; Mossら)、細菌における発現(Ausubelら; Clontech)、酵母における発現(Gellissen, 1992; Romanos, 1992; Goeddel; GuthrieおよびFink)、哺乳動物細胞における発現(Clontech; Gibco-BRL, Ground Island, NY)(例えば、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞株(Haynes, 1983, Lau, 1984, Kaufman, 1990))。これらの組換えポリペプチド抗原は、直接発現されるか、または融合タンパク質として発現され得る。多くの特徴を発現ベクターに取り入れることができる(例えば、発現された配列の培養培地への分泌を促進するリーダー配列)。

【0095】

多くのこれらの系を用いる、大きなHGVポリペプチドの発現については、実施例16に記載している。

【0096】

酵母系での発現は、商業的生産に有利である。ワクシニアおよびCHO細胞株による組換えタンパク質の生産は、哺乳動物発現系である点で有利である。さらに、ワクシニアウイルス発現は、以下を含むいくつかの利点を有する：(i)広範な宿主範囲；(ii)組換えタンパク質の正確な転写後修飾、プロセッシング、折り畳み、分泌、および構築(assembly)；(iii)比較的可溶な組換えタンパク質の高レベルの発現；および(iv)外来DNAを収容する大きな能力。

【0097】

組換え体から発現されるポリペプチドから生産されるHGVポリペプチド抗原は、溶解した細胞または培養培地から典型的に単離される。精製は、当該分野において公知の方法によって行われ得、これらには、塩分画、イオン交換クロマトグラフィー、およびアフィニティークロマトグラフィーが含まれる。免疫アフィニティークロマトグラフィーは、本発明の方法によって同定されるHGV抗原に基づいて作製される抗体を用いて、使用され得る。

【0098】

HGVポリペプチド抗原もまた、HGV粒子から単離され得る(下記を参照のこと)。

【0099】

ポリペプチドの連続抗原決定基は、一般に比較的小さく、代表的に6個から10個のアミノ酸の長さである。より小さいフラグメントが、例えば、配座エピトープ内で抗原領域

10

20

30

40

50

として同定されている。HGVポリペプチド抗原は、上記のように同定される。いずれかのストランドの得られるDNAコード領域は、融合タンパク質または単離されたペプチドのいずれかとして組み換え的に発現され得る。さらに、アミノ酸配列は、市販の合成機（Applied Biosystems, Foster City, CA）

または「PIN」技術（Applied Biosystems）を用いて簡便に化学的に合成され得る。

【0100】

別の実施態様において、本発明は多数のエピトープを含有するモザイクタンパク質を包含する。HGVモザイクポリペプチドは、代表的に、HGVの少なくとも2つのエピトープを含有する。ここで、このポリペプチドは、通常、ネガティブなHGVコード配列中の
10
エピトープ間に介在するアミノ酸を実質的に欠く。多数のタンデムなエピトープをコードする合成遺伝子（Crea; Yoshioら; Eatonら）が構築され得る。この合成遺伝子は、上記のポリペプチド発現ベクター／宿主系を用いる標準的な組換えDNA技術を用いてモザイクタンパク質を産生する。

【0101】

さらに、多数の抗原ペプチドが、以前に記載された方法（Tam, J. P., 1988; Briandら）により化学的に合成され得る。例えば、 α -アミノ基および ϵ -アミノ基を有するリジン残基の小さな免疫学的に不活性なコアマトリックスを用いて、目的のエピトープを提示する多コピーの同一または異なる合成ペプチド（代表的には6～15残基の長さ）をつなぎ止め得る。モザイクタンパク質または多数の抗原ペプチド抗原は、免
20
疫アッセイにおいて多数のエピトープの分布により生じるシグナル増幅に起因するより高い感度および特異性を与える。

【0102】

これらの方法のいずれかにより得られる抗原は、抗原生成、診断試験、およびワクチン開発に用いられ得る。

【0103】

別の局面において、本発明は、本発明のポリペプチド抗原に対する特異抗体を包含する。これらの方法のいずれかにより得られる抗原は、抗体の生成に直接用いられ得るか、またはこれらの抗体は適切なキャリア分子に結合され得る。このような多くのキャリアが当該分野で公知であり、そして市販されている（例えば、Pierce, Rockford
30
IL）。代表的には、抗体を調製するために、宿主動物（例えば、ウサギ）が、精製抗原または融合タンパク質抗原で免疫される。ハイブリッドタンパク質または融合タンパク質は、他のタンパク質（例えば、グルタチオン-S-トランスフェラーゼまたは β -ガラクトシダーゼ）に由来する種々のコード配列を用いて生成され得る。適切な時間間隔を置いた後に宿主の血清または血漿を収集し、そしてこの血清を抗原に対して特異的な抗体について試験する。実施例8は、ウサギ血清抗体の産生を記載する。この抗体は、sj26/470-20-1ハイブリッドタンパク質中の470-20-1抗原に対して特異的である。これらの技術は、配列番号14として示されるコード配列に由来する配列を包含するがこれに限定されない、HGVに由来する全ての免疫原性配列に平等に適用できる。

【0104】

免疫動物の γ グロブリン画分またはIgG抗体は、例えば、飽和硫酸アンモニウム沈澱またはDEAEセファデックスクロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、またはポリクローナル抗体を産生するための当業者に公知の他の技術の使用により得られ得る。

【0105】

あるいは、精製抗原または融合抗原タンパク質は、モノクローナル抗体を産生するために用いられ得る。ここで、免疫動物に由来する脾臓またはリンパ球が取り出され、そして不死化されるか、またはこれを用いて当業者に公知の方法によりハイブリドーマを調製する。ヒト由来のハイブリドーマを生成するために、ヒトリンパ球ドナーが選択される。HGVに感染したことが公知であるドナーは、適切なリンパ球ドナーとして供され得る。リ
50

ンパ球は、末梢血サンプルから単離され得る。E p s t e i n - B a r r ウイルス (E B V) を用いてヒトリンパ球を不死化し得るか、または適切な融合パートナーを用いてヒト由来ハイブリドーマを生成し得る。ウイルス特異的ポリペプチドでの一次インビトロ感作はまた、ヒトモノクローナル抗体の生成に用いられ得る。

【0106】

不死化細胞により分泌される抗体は、所望の特異性の抗体を分泌するクローンを決定するために、例えば、E L I S A またはウェスタブロット法 (実施例 10 ; A u s u b e l ら) を用いることによりスクリーニングされる。

【0107】

H G V 陽性の血清または血漿、あるいは本発明の抗体を用いて、他の抗原性ペプチドおよびエピトープが単離され得る。例えば、多くのペプチドの同時合成のために多くの異なる方法が開発されている (G e y s e n ら ; H o u g h t e n ; F r a n k および D o r i n g ; H u d s o n)。G e y s e n らにより開発された方法は、特に有用である。なぜなら、比較的簡単に多くの異なるペプチド配列が生成され、そして抗原性について試験され得るからである。G e y s e n 法 (M U L T I - P I N ペプチド合成ともいう) においては、ペプチドは、マイクロタイタープレートに結合したポリアクリルアミド酸グラフト化ポリエチレンロッド上で合成される。M U L T I - P I N ストラテジーは、本発明のポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体、ならびに市販の試薬および装置を用いて免疫学的にスクリーニングされる多数の合成を可能にする (プレートあたり 96 ペプチド)。

10

20

【0108】

報告によれば、6,000 オリゴペプチドまでは、2 週間の期間で合成され得、従って単一のアミノ酸が決定するエピトープについてのウイルス抗原配列のスクリーニングを (特定の抗原の全ての可能な重複するアミノ酸配列を合成することにより) 実施可能にする (G e y s e n ら)。

【0109】

免疫優勢な (i m m u n o d o m i n a t e) ペプチドを精査するための別の方法は、従来の自動ペプチド合成を用いて H G V 配列に対応するより長いペプチド (例えば、10 ~ 30 アミノ酸) を合成することである (C a r t e r ら, 1994 ; O b e i d ら, 1994 ; C o m m a n d a e u r ら, 1994)。この方法は、より長いペプチドは構造的なエピトープを真似る形に折り畳まれ得るという利点を有する。

30

【0110】

また、H G V 抗体、特にモノクローナル抗体を用いて、それらのウイルスがコードする標的ポリペプチドを真似るランダムポリペプチドを同定し得る (S c o t t および S m i t h, 1990 ; S m i t h, 1991)。例えば、ファージで提示されるランダムペプチドライブラリー (R P L) (S c o t t および S m i t h, 1990) は、抗体生成またはワクチン開発のペプチドリガンド供給源として用いられ得る。R P L のアプローチにより、ファージ表面での融合タンパク質を含有するペプチドリガンドの発現、および抗体を用いるアフィニティー選択によりこれらのリガンドをコードするファージの富化が可能となる (S m i t h, J. P., 1991 ; C h r i s t i a n ら ; S c o t t ら, 1992 ; F o l g o r i ら)。特異抗体により検出されるこれらのランダムペプチドエピトープは、エピトープ提示の間に、天然の抗原性エピトープを真似る (ミモトープ (m i m o t o p e))。H G V 抗原性模倣物 (ミモトープ) は、R P L から単離され得る。R P L を発現するヘキサペプチドからデカペプチドファゴトープ (p h a g o t o p e) (ファージ上に提示されたミモトープ) は、公表された方法 (S c o t t および S m i t h ; S m i t h, J. P., 1991 ; C h r i s t i a n ら ; S c o t t ら ; D e G r a a f ら ; F o l g o r i ら) により作成され得、そして H G V 関連ヒト血清または本発明の抗体によりスクリーニングされ得る。

40

【0111】

470-20-1 ミモトープの単離のための R P L の使用の 1 例は、以下の通りである

50

。

【0112】

ランダムデカペプチド-p I I I 融合ファージディスプレイライブラリーは、以前に記載された方法 (De Graaf ら, 1993) に従って構築される。簡略に述べると、化学的に合成した1本鎖変性挿入物を、SfiI 制限突出を生成するより短いオリゴヌクレオチドにアニールする。アニールしたDNAを、SfiI 切断 f U S E - 5 ベクターDNA中に連結する。

【0113】

E. coli MC1061 を、連結したDNAで形質転換する。ライブラリーを、20 mg / ml テトラサイクリンを有するLB培地中の約10集団の倍加により増幅する。このライブラリーを、1つ以上の470-20-1免疫反応性血清 (または本発明の抗体) を用いてアフィニティー選択する。ポリスチレンビーズ (Precision Plastic Ball Company, Chicago, Ill) を、50 mM NaHCO₃ (pH 9.6) 中の硫酸アンモニウム分画の陽性血清 (例えば、PNF 2161) で一晩、4℃にてコートする。抗体コートビーズを、PBSで完全に洗浄し、そしてBSAでブロックする。

10

【0114】

これらの血清コートし、ブロックしたビーズを、過剰量のM13K07-UV死滅ファージで4℃にて4時間、プレインキュベートする。次いで、ライブラリーファージを上記のプレインキュベーション混合物に添加し、そして4℃にて12時間インキュベートする。非結合のファージを除去し、そしてビーズを大量のTTB (50 mM Tris (pH 7.5)、150 mM NaCl、0.5% 「TWEEN 20」 (v/v)、1 mg / ml BSA) 緩衝液で洗浄する。結合したファージを溶出緩衝液 (2 M Tris-HCl (pH 9.0) で pH 2.2 に調整した 0.1 M HCl) で溶出する。溶出した富化ファージを第2の陽性血清 (例えば、Mys 136 血清) でプラーク免疫スクリーニングによりスクリーニングする。

20

【0115】

選択されたファゴトープのさらなるスクリーニングを、陽性および陰性の血清、または特異的なHGVMonoclonal抗体のより大きなパネルを用いて実施し得る。選択されたファゴトープは、直接ELISAアッセイまたは抗体生成に用いられ得る。あるいは、ファゴトープをコードするヌクレオチドの配列は、従来のベクター/宿主系において決定および発現され得、そして抗原として使用され得る。

30

【0116】

上記のように同定された模倣ポリペプチドを、次に検出アッセイにおいて抗原として供され得るか、または抗原特異的抗体の生成に使用され得る。

【0117】

(D. ELISAおよびタンパク質ブロットスクリーニング)

HGV抗原が同定される場合、代表的には上記のプラーク免疫スクリーニングにより、抗原は発現され、そして精製され得る。次いで、抗原は、別の免疫アッセイ (例えば、単離された抗原ペプチドを用いるELISAまたはタンパク質ブロットアッセイ (ウェスタンブロット)) を用いて、多数の疑わしいHGV肝炎血清に対して迅速にスクリーニングされ得る。抗原ポリペプチド融合物は、通常、融合パートナー (例えば、 β -ガラクトシダーゼまたはグルタチオン-S-トランスフェラーゼ) に対するアフィニティークロマトグラフィーにより上記のように単離され得る。あるいは、抗原自体が、それに対して生成された抗体を用いて単離され得る (以下を参照のこと)。

40

【0118】

一般的なELISAアッセイ形式は、実施例10に示されている。Harlowらは、免疫アッセイおよび抗体/抗原スクリーニングのための多数の有用な技術を記載する。

【0119】

精製抗原ポリペプチドまたは目的の抗原を含有する融合ポリペプチドを、固体支持体 (

50

例えば、マルチウェルポリスチレンプレート）に結合する。試験される血清を希釈し、そしてウェルに添加する。抗体が結合抗原に結合するのに十分な時間が経過した後、血清をウェルから洗い流す。標識レポーター抗体を適切な基質とともに各ウェルに添加する：精製抗原ポリペプチドまたは抗原を含有する融合ポリペプチドと結合した抗体を含有するウェルを、陽性シグナルにより検出する。

【0120】

本発明のポリペプチド抗原を用いるタンパク質ブロット分析の代表的な形式を実施例10に示す。一般的なタンパク質ブロット法は、Ausubelらにより記載されている。実施例10において、470-20-1/sj26融合タンパク質を用いて多数の血清サンプルをスクリーニングした。実施例10に表す結果は、いくつかの異なる供給源のN-（ABCDE）肝炎血清がポリペプチド抗原と免疫応答することを示す。 10

【0121】

上に示す結果は、HGVの検出のために、本発明のポリペプチド抗原が、HGV感染が疑われる血清サンプルのパネルに対してこれらの方法により迅速にスクリーニングされ得ることを示す。

【0122】

（E. 細胞培養系、動物モデル、およびHGVの単離）

HGV伝染性研究が、チンパンジー、カニクイザル、および4つのマイスタックス被験体において行われてきた（実施例4H）。これらの研究により、これらの動物モデルにおけるHGV伝染性についてのさらなる情報を得ている。本明細書で記載のHGVは、タマリン、カニクイザル属のサル、およびチンパンジーに感染し得るという利点を有する。 20

【0123】

あるいは、感染動物（チンパンジー、ヒヒ、サル、またはヒト）から得た初代肝細胞を、インビトロで培養し得る。分化した霊長類肝細胞の長期維持を可能にする成長因子およびホルモンを添加した無血清培地が記載されている（Lanfordら；Jacobら，1989，1990，1991）。初代肝細胞培養に加えて、感染細胞の不活化培養物もまた生成され得る。例えば、初代肝培養物は、（HepG2のような）種々の細胞に融合されて、安定的な不活化細胞株を提供し得る。初代肝細胞の細胞培養物もまた、オンコジーンまたはトランスフォーム表現型を生じる遺伝子の導入により不活化され得る。このようなオンコジーンまたは遺伝子は、SV40、ヒト細胞性オンコジーン、およびEpstein Barrウイルスを包含する当該分野で公知の多くの供給源に由来し得る。 30

【0124】

さらに、非感染肝細胞（例えば、初代肝細胞株または継続性肝細胞株）は、培養中の細胞を部分的に精製した粒子調製物（例えば、感染した血清から分別遠心分離および／または分子量ふるいにより調製される）としてか、または感染性血清中でHGVに曝すことにより感染され得る。次いで、これらの感染細胞を増殖させ、そしてウイルスを当該分野で公知の方法で継代する。さらに、他の細胞タイプ（例えば、リンパ球様細胞株）は、HGVの増殖に有用であり得る。

【0125】

HGVのタンパク質相同性研究により、フラビウイルス科の他のウイルスに類似したアミノ酸領域が検出されている。この科のウイルスのメンバーは、種々の組織培養系中で増殖可能であることが公知である（ATCC-ウイルスカタログ，1990）。類推によれば、HGVは、1つ以上の以下の組織培養系において増殖され得るようである：Hela細胞、初代ハムスター腎臓細胞、サル腎臓細胞、vero細胞、LLC-MK2（アカゲザル腎臓細胞）、KB細胞（ヒト口部類表皮ガン細胞）、アヒル胚細胞、初代ヒツジ軟膜細胞、初代ヒツジ脈絡叢細胞、ブタ腎臓細胞、ウシ胚腎臓細胞、ウシ鼻甲介細胞、ヒヨコ胚細胞、初代ウサギ腎臓細胞、BHD-21細胞、またはPK-13細胞。 40

【0126】

HGVの発現に加えて、HGVポリヌクレオチド配列の領域、cDNA、またはインビトロ転写RNAは、組換え手段により組織培養細胞中に導入され得る。このような組換え 50

操作により、H G V の個々の成分の別々の発現が可能となる。

【0127】

R N A サンプルは、感染組織、または特に感染細胞培養物から調製され得る。R N A サンプルは、ゲルで分画され、そしてクローン化されたH G V 配列に由来するプローブを用いるハイブリダイゼーション分析のためにメンブレンに転写され得る。

【0128】

H G V 粒子は、感染血清、感染組織、上記の細胞培養培地、または培養した感染細胞から当該分野で公知の方法により単離され得る。このような方法は、サイズ分画に基づく技術（例えば、限外濾過、沈澱、沈降法）、陰イオンおよび／または陽イオン交換物質を用いる技術、密度、親水性を基礎とする分離、およびアフィニティークロマトグラフィーを包含する。単離手順の間、H G V は、（i）本発明の抗H G V 肝炎会合試薬抗体を用いて、（i i）同定されたH G V 核酸配列（例えば、実施例5）に基づくハイブリダイゼーションプローブを用いて、または（i i i）R T - P C R により同定され得る。

10

【0129】

H G V に対する抗体は、免疫アフィニティークロマトグラフィー（H a r l o w ら；P i e r c e）によるH G V 粒子の精製に使用され得る。H G V ポリペプチドまたは融合ポリペプチド（例えば、470-20-1）に対する抗体は、抗体がその免疫選択性を維持するような方法で固体支持体に固定される。固体支持体への抗体のこのような結合を達成するために、スパーサー基を含有する2官能性カップリング剤（P i e r c e；P h a r m a c i a, P i s c a t a w a y, N J）は、しばしば抗体の抗原結合部位への接近し

20

【0130】

H G V 粒子は、免疫蛍光顕微鏡法、電子顕微鏡法、粒子を構成するタンパク質のウェスタンブロット分析、部分的に精製した粒子を用いる動物および／または細胞系における感染研究、および沈降特性を包含するが、これらに限定されない標準的な手順によりさらに特徴付けられ得る。実施例5に示す結果は、本発明のウイルス粒子が非エンベロープウイルス粒子よりも、エンベロープウイルス粒子に類似していることを示唆する。

【0131】

H G V 粒子を破碎してH G V ゲノムを得る。粒子の破碎は、例えば、キレート剤の存在下での界面活性剤処理により達成され得る。次いで、ゲノムの核酸は、さらに特徴付けられ得る。特徴付けは、D N a s e およびR N a s e 感受性の分析を包含し得る。

30

【0132】

ゲノムの撚り性（s t r a n d e d n e s s）（実施例41）および形態（例えば、環状）は、当該分野の技術により決定され得、これらは、電子顕微鏡での可視化および沈降特性を包含する。

【0133】

単離されたゲノムはまた、ゲノム全体の配列決定を可能にし、それがセグメント化されているか否か、およびそれがR N A ゲノムであるかD N A ゲノムであるか（例えば、R T - P C R、染色体歩行技術、または近隣のクローン化配列由来のプライマーを利用するP C Rを用いて）を決定し得る。H G V の全配列の決定により、ゲノム構成研究ならびに公知のウイルス病原体のコード配列および調節配列とH G V 配列との比較を可能にする。

40

【0134】

（F. 抗H G V 肝炎活性を有する薬剤についてのスクリーニング）

H G V の増殖のための細胞培養および動物モデル系の使用は、感染性H G V の産生を阻害する抗肝炎剤：特に、H G V の複製を阻害する薬物についてスクリーニングする能力を提供する。細胞培養および動物モデルは、正常な細胞機能および生存性へのこのような抗肝炎薬物の効果の評価を可能にする。潜在的な抗ウイルス剤（天然の産物または合成化合物を包含する；例えば、低分子、真菌抽出物のような複雑な混合物、およびアンチセンスオリゴヌクレオチド）は、代表的に濃度範囲にわたる抗ウイルス活性についてスクリーニングされる。次いで、H G V 複製および／または抗原産生への効果が、代表的には、ウイ

50

ルスの高分子の合成または高分子（例えば、DNA、RNA、またはタンパク質）の蓄積をモニターすることにより評価される。この評価は、正常な細胞機能（DNA複製、RNA転写、一般的なタンパク質翻訳など）への抗ウイルス剤の効果としばしば関連する。

【0135】

HGVの検出は、本明細書に記載の方法を包含する多くの方法により達成され得る。例えば、抗体は本発明の抗原に対して生成され得、そしてこれらの抗体は、細胞培養物中のHGV抗原を同定および定量するために抗体に基づくアッセイ（Harlowら）に用いられる。HGV抗原は、培養中に競合アッセイを用いて定量され得る：クローン化HGV配列によりコードされるポリペプチドがこのようなアッセイに用いられ得る。代表的には、組換えにより産生されるHGV抗原ポリペプチドを生成し、そしてこれを用いてモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体を生成する。組換えHGVポリペプチドは、レポーター分子を用いて標識される。次いで、この標識ポリペプチドのその同族抗体への結合の阻害が、HGV抗原を含有するサンプル（例えば、細胞培養培地または血清）の存在下で評価される。サンプル中のHGV抗原のレベルは、既知濃度の非標識組換えタンパク質を用いて作成した標準曲線に対する阻害レベルの比較により決定される。

【0136】

本発明のHGV配列は、細胞培養系で産生されるHGV核酸配列の量を定量するために用いられ得るポリヌクレオチドプローブ／プライマーの生成に特に有用である。このような定量は、種々の方法により達成され得る。例えば、レポーター分子で標識したプローブは、標準的なドットプロットハイブリダイゼーションまたは標識プローブと感染細胞の核酸との競合アッセイに用いられ得る。さらに、サンプル中の標的核酸レベルを定量するためにポリメラーゼ連鎖反応を用いる種々の方法が存在する（Osikowiczら）。

【0137】

保護抗体はまた、上記の細胞培養および動物モデル系を用いて同定され得る。

【0138】

例えば、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体は、本発明の抗原に対して生成される。次いで、これらの抗体は、細胞培養または動物の感染前に感染性HGV含有接種原（例えば、血清）を前処理するために用いられ得る。細胞培養物または動物を感染から保護する単一の抗体または抗体の混合物の能力が評価される。例えば、細胞培養および動物においては、ウイルス抗原および／または核酸産生が存在しないことが、スクリーニングとして供される。さらに動物においては、HGV肝炎疾患症状（例えば、ALT値の上昇）の不在はまた、保護抗体の存在の指標である。

【0139】

あるいは、回復期の血清が、保護抗体の存在についてスクリーニングされ得、次いで、これらの血清は抗体と結合するHGV肝炎関連病原体抗原を同定するために用いられる。次いで、同定されたHGV抗原は、組換えによりまたは合成により生成される。保護抗体を生成する抗原の能力が上記のように試験され得る。

【0140】

最初のスクリーニング後、保護抗体を生成し得ると同定された抗原（単数または複数）を、（単独または組み合わせてのいずれかで）ワクチンとして用いて試験動物を接種し得る。次いで、動物に感染性HGVで抗原投与する。感染からの保護は、それらを感染から保護する抗体を生成するための動物の能力を示す。さらに、動物モデルを用いることにより、細胞免疫を活性化する抗原の同定が可能となる。

【0141】

動物モデルでの研究において、ウイルス調製による抗原投与に応答した保護免疫応答（例えば、感染血清）は、（i）動物を感染から保護するか、または（ii）疾患の発現を防ぐ。

【0142】

（G. ワクチンおよび防御免疫の発生）

ワクチンは、本発明の方法により同定された1つまたはそれより多いの免疫原性ポリペ

プチドから調製され得る。HGVから単離された配列と他の既知のウイルスタンパク質との間のゲノム構成類似性は、有効なワクチンの候補となるようなポリペプチドに関する情報を提供し得る。さらに、多くのコンピュータプログラムを、タンパク質抗原決定領域をコードする単離された配列の有望な領域を同定するために用い得る（例えば、Hoppra、；「ANTIGEN」、Intelligenetics, Mountain View CA）。

【0143】

活性成分として免疫原性ポリペプチドを含むワクチンは、代表的には溶液または懸濁液としてのいずれかで注入可能なように調製される。さらに、免疫原性ポリペプチドは、注入前の水性形態中への再懸濁に適する固体または凍結乾燥状態で調製され得る。免疫原性ポリペプチドはまた、乳化またはリポソーム中にカプセル化され得る。ポリペプチドはしばしばポリペプチドと適合可能な薬学的に受容可能な賦形剤と混合される。このような賦形剤は、以下のものおよび以下のものの組合せを含むがこれらに限定されない：生理食塩水、水、糖（例えば、デキストロースおよびソルビトール）、グリセロール、アルコール（例えば、エタノール〔EtOH〕）、および当該技術分野で公知の他の物。さらに、ワクチン調製物は、湿潤剤、乳化剤（例えば、界面活性剤）、およびpH緩衝剤のような他の少量の補助物質を含み得る。さらに、多くのアジュバントが利用可能であり、ワクチン調製物の有効性を増強し得る。このようなアジュバントの例は以下のものを含むがこれらに限定されない：N-アセチル-L-アラニル-L-トレオニル-D-イソグルタミンおよびN-アセチル-L-ノル-L-アラニル-L-アラニル-D-イソグルタミンを含む関連化合物の群、および水酸化アルミニウム。

【0144】

本発明のワクチンに用いられる免疫原性ポリペプチドは、組換え体であり得、合成物であり得、または例えば弱毒化されたHGV粒子から単離され得る。ポリペプチドは通常ワクチン中に中性または塩の形態で処方される。薬学的に受容可能な有機塩および無機塩が当該技術分野で周知である。

【0145】

HGV肝炎関連因子ワクチンは、代表的には皮下または筋肉内注射により非経口投与される。他の可能な処方物は、経口処方物および坐剤処方物を含む。経口処方物は通常、賦形剤（例えば、医薬グレードの糖、サッカリン、セルロースなど）を用い、通常10～98%内の免疫原性ポリペプチドを含む。経口組成物は、丸剤、カプセル剤、錠剤、溶液、懸濁液、粉剤などの形態をとり、徐放性または長期放出を可能にするように処方され得る。坐剤処方物は従来の結合剤およびキャリアを用い、代表的には0.1%と10%との間の免疫原性ポリペプチドを含む。

【0146】

上記の情報を考慮すると、HGV肝炎関連因子に対する多価ワクチンが生成され得、これは1つまたはそれより多い構造的または非構造的のウイルス因子ポリペプチドから構成される。これらのワクチンは、例えば、組換え発現HGVポリペプチド、HGVビリオンから単離されたポリペプチド、合成ポリペプチド、またはモザイクポリペプチドの形態でアSEMBLしたエピトープを含み得る。さらに、不活性化HGVの使用を介してHGV肝炎感染に対する防御を与えるワクチンを調製することが可能であり得る。このような不活性化は、ウイルス溶解物の調製、次いで適切な有機溶媒、界面活性剤、またはホルマリンで溶解物を処理することにより達成され得る。

【0147】

ワクチンはまた、弱毒化したHGV株から調製され得る。このような弱毒化したHGVは、上記の細胞培養物および／または動物モデル系を用いて得られ得る。代表的には、弱毒化された株がインビトロまたはインビボでの多回継代後単離される。

【0148】

弱毒化された株の検出は当該技術分野で公知の方法により達成される。弱毒化されたHGVを検出する1つの方法は、HGV抗原に対する抗体プローブ、配列特異的ハイブリダ

10

20

30

40

50

イゼーションプローブの使用、あるいは感染動物またはHGV感染したインビトロ培養物のアッセイについての配列特異的プライマーを用いる増幅である。

【0149】

あるいは、または上記方法の他に、弱毒化されたHGV株は、本明細書中に示された情報から得られ得るゲノム情報に基づいて構築され得る。代表的には、例えばウイルス発病学に関連するポリペプチドをコードする感染因子ゲノムの領域が欠失され得る。欠失はウイルス複製を妨害すべきではない。さらに、組換え弱毒化HGV構築物は、HGVに対する防御免疫応答の惹起を与え得る1つあるいは複数のエピトープの発現を可能にする。所望の免疫応答は体液性免疫および細胞性免疫の両方を含み得る。次いで、弱毒化HGVのゲノムは細胞を形質転換するために用いられ、ウイルス複製を可能にする条件下で細胞が増殖される。このような弱毒化株は、ワクチンとしてのみならずウイルス抗原および／またはHGV粒子の産生ソースとしても有用である。

【0150】

HGVエピトープを含むハイブリッド粒子免疫原も生成され得る。HGVエピトープの免疫原性は、真核生物系（例えば、哺乳類系または酵母系）中にエピトープを発現することにより増強され得、ここでこのエピトープは公知の粒子形成タンパク質と融合またはアセンブルされる。このようなタンパク質の1つは、B型肝炎表面抗原である。HGVエピトープが粒子形成タンパク質のコード配列に直接連結される組換え構築物は、HGVエピトープおよび粒子形成タンパク質に関して免疫原性であるハイブリッドタンパク質を生成する。あるいは、粒子形成に関連しない粒子形成タンパク質コード配列の選択された部分が、HGVエピトープに対応するコード配列に置き換えられ得る。例えば、粒子形成タンパク質に対する特異的免疫反応性領域がHGVエピトープ配列に置き換えられ得る。

【0151】

B型肝炎表面抗原は、酵母の*Saccharomyces cerevisiae*中および哺乳類細胞中で発現し、そしてアセンブルされて粒子となることが示された（Valenzuelaら、1982および1984；Michelleら）。これらの粒子は免疫反応性を増強したことが示された。ハイブリッドタンパク質（すなわち、異種のウイルス配列を有する組換え構築物）を用いるこれらの粒子の形成が以前に開示されていた（ヨーロッパ特許第175,261号、1986年3月26日に公開）。HGVエピトープを含むこのようなハイブリッド粒子もワクチン適用に有用であり得る。

【0152】

本発明のワクチンは、処方方法に適合する用量でならびに予防処置または治療処置に薬理的に有効であるような量で投与される。投与される免疫原の量は、処置される被験体、防御免疫応答の発生についての処置被験体の免疫系の能力、および所望の防御レベルに依存する。

【0153】

本発明のHGVワクチンは単回または複数回の用量で投与され得る。用量レジメはまた、処置被験体の必要および耐性に関連して決定される。HGV免疫原性ポリペプチドに加えて、ワクチン処方物は他の免疫調節剤と共に投与され得る。

【0154】

HGVワクチン接種へのさらなるアプローチでは、適切な調節制御下にHGVタンパク質をコードするDNA構築物は、哺乳類組織にインビボで直接導入される。このような構築物の導入は「遺伝学的免疫」を生じる。同様のDNA構築物が細胞に取り込まれ、コードされたタンパク質が発現されることが示された（Wolfら；Ascadiら）。注入されたDNAは宿主細胞クロマチンへ組み込みまたは複製しないようである。この発現は、動物系におけるインビボでのウイルス抗原投与からの防御を含む、実質的な体液性および細胞性免疫応答を惹起する（Wangら、1993；Ulmerら）。1つの実施態様では、局所麻酔（例えば等張性食塩水中メチルパラベンを含む塩酸ブピバカイン）での前処置に続いてDNA構築物を骨格筋に注入し、細胞のDNA取り込みを促進する。注入したDNA構築物が筋肉細胞に取り込まれ、コードされたタンパク質が発現される。

【0155】

可溶性ウイルスサブユニットタンパク質でのワクチン接種に比較して、遺伝学的免疫はウイルスタンパク質の確実なインビボ発現の有利性を有する。これらのウイルスタンパク質は、宿主細胞組織適合性抗原、および天然のウイルス感染で起こるような他のタンパク質と関連して発現される。このタイプの免疫は、多くの可溶性サブユニットタンパク質ワクチンに対比して、体液性および細胞性免疫応答の両方を誘導し得る。従って、このタイプの免疫は、生弱毒化ワクチンの有利な特徴の多くを、ワクチン接種のための感染剤の使用および付随の安全性の心配なしで、維持する。

【0156】

所望のワクチン抗原をコードするプラスミドまたは他のDNA構築物のインビボでの組織中への直接注入は1つの送達手段である。DNA構築物の他の送達手段が同様に用いられ得る。これらは種々の脂質ベースのアプローチを含み、ここでDNAはリポソーム、カチオン性脂質試薬、またはサイトフェクチン(cytofectin)(例えばリポフェクチン)を用いてパッケージされる。これらのアプローチは、FelgnerおよびRhodes(1991)により要約されたようにインビボでの取り込みおよび発現を促進する。これらの基本のアプローチへの種々の改変は次を含む:(i)特定の細胞の標的化、(ii)取り込みに続くDNA構築物の細胞内配置、または(iii)発現を促進することを促進するためのペプチドまたは他の部分の取り込み。あるいは、所望のワクチン抗原をコードする配列は適切なレトロウイルスベクターに挿入され得る。得られた組換えレトロウイルスベクターをワクチン抗原のインビボ発現のために被験体に接種した。次いで、抗原は免疫応答を誘導する。上記のように、このアプローチはウイルス抗原に対する体液性および細胞性免疫の両方を誘導することを示している(Irwinら)。

【0157】

さらに、本発明のHGVワクチンは、他のワクチン剤、例えば他の肝炎ワクチンと組み合わせ投与され得る。

【0158】

(H. 合成ペプチド)

HGVポリペプチドのコード配列を用いて、合成ペプチドがこれらのポリペプチドに対応して生成され得る。合成ペプチドは、商業的に合成され得るか、または当該技術分野における標準的な方法および装置(Applied Biosystems, Foster City CA)を用いて調製され得る。

【0159】

あるいは、ペプチドをコードするオリゴヌクレオチド配列は、オリゴヌクレオチド合成の標準的な方法により直接合成されるか、または、大きなコード配列の場合、コード配列に対応する複数のオリゴヌクレオチドフラグメントのタンデム配列(array)を含む一連のクローニング工程により合成されるかのいずれかであり得る(Crea; Yoshioら; Eatonら)。オリゴヌクレオチドコード配列は標準的組換え手順により発現され得る(Maniatisら; Ausubelら)。

【0160】

(V. ウイルスゲノムの特徴付け)

実施例4に示すように、HGVゲノムはRNA分子であるようであり、ウイルスのフラビウイルス科のカテゴリーに分類されるウイルス配列に最も近い配列類似性を有する。この科はFlavivirus属、Pestivirus属、および1つのメンバー(C型肝炎ウイルス)から構成される非分類属を含む。HGVウイルスは、フラビウイルス科の他の認められたメンバー(下記のタンパク質モチーフを除く)との著しく広範な(すなわち、ウイルスの長さを通して)配列同一性を有さない。

【0161】

一般的には、フラビウイルス科のメンバーは、1.1~1.23g/mlの間のショ糖濃度勾配密度を有する包膜ウイルスであり、熱、有機溶媒、および界面活性剤に感受性である。実施例5に示すように、HGVは包膜フラビウイルス科のウイルス(HCV)に類

10

20

30

40

50

似の密度特性を有する。無傷のHGVビリオンも有機溶媒に感受性であるようである（実施例5）。

【0162】

フラビウイルス科のビリオンは直鎖状1本鎖（ss）RNAの単一分子を含み、これもまたウイルスタンパク質をコードする唯一のmRNAとして働く。ssRNA分子は代表的には9キロベース長と12キロベース長との間のサイズである。

【0163】

ウイルスタンパク質は、続いて成熟ウイルスタンパク質にプロセッシングされる1つのポリタンパク質前駆体に由来する。フラビウイルス科のほとんどのメンバーは、その3'末端にポリ（A）テイルを含まない。ビリオンは重量で約15～20%脂質である。

10

【0164】

フラビウイルス科中のメンバーは、コアタンパク質および2つまたは3つの膜結合タンパク質を有する。3つの属のフラビウイルス科中のメンバーの類似の構造タンパク質は、配列レベルで互いにほとんど類似性を示さない。非構造タンパク質は、RNA依存性RNAポリメラーゼ（RDRP）、ヘリカーゼ、およびセリンプロテアーゼについて保存されたモチーフを含む。これらの保存されたアミノ酸またはモチーフの短いブロックは、「MACAW」のように当該技術分野で公知のコンピュータアルゴリズムを用いて検出される（Schulerら）。これらのモチーフは、おそらくこれらのタンパク質によりプロセッシングされた基質により課せられる束縛に関連する（KooninおよびDolja）。これらのモチーフの順番は、フラビウイルス科の全メンバーにおいて保存される。HGVのゲノムは、フラビウイルス科のメンバーにおいて見られるタンパク質モチーフを含む；例えば、（i）ヘリカーゼ遺伝子、（ii）セリン様プロテアーゼドメイン、および（iii）RNA依存性RNAポリメラーゼ（RDRP）（実施例5、「GDD」配列を参照のこと）。

20

【0165】

配列情報は、HGVのいくつかの異なる株／単離物において本明細書中で開示される。この情報は、本明細書中に記載したような（例えば、開示されたHGV変異体配列に基づく縮重プライマーを用いる）ハイブリダイゼーション、プライマー伸長、およびRT-PCRの技法を用いて新規の株／単離物を単離するために、当業者により用いられ得る。

【0166】

この場合では、HGVは、フラビウイルス科のメンバーであると考えられる新規の単離物である。このウイルス科内で、ウイルスによりコードされる構造タンパク質の試験は、ウイルス単離物が別種のウイルスのメンバーであるかどうかの最も明確な決定を可能にする。非構造タンパク質は、ある科のウイルス種内の異なる種のウイルス間で最も保存される。これは例えば次のような酵素機能を保存する必要性の結果であると考えられる：ウイルスポリタンパク質のタンパク質分解的切断、ならびにウイルスヘリカーゼおよびウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼによるRNAゲノムの複製。

30

【0167】

フラビウイルス科の任意の属（例えば、フラビウイルス属）内の数種の試験は、これらの保存された機能のための遺伝子が構造タンパク質よりも種間でより高度に保存されることを示す。従って、ウイルス単離物が既知の種の「変異体単離物」に対して新規の種を示すかどうかの主要な決定ファクターの1つは、既知のウイルス種と新規のウイルス単離物との間の構造タンパク質の全体的な相同性の決定である。

40

【0168】

非構造タンパク質中に見られる約200アミノ酸またはそれより少ない領域内で見られた局所的相同性は、単離物が変異体または新規の種かどうかの不確定の指標である。代表的には、広範な構造タンパク質の約40%またはそれより少ない相同性を有するウイルス単離物は、異なる種（ウイルス）または異なる属のいずれかとして分類される。各HGVの構造領域は、「GENBANK」に記載されたあらゆるウイルスと比較して40%より少ない相同性を有する（比較は当該技術分野の標準方法により行った）。従って、HGV

50

は、ポジティブストランドRNAウイルスの新規の種およびおそらく新規の属であると考えられる。

【0169】

ウイルス単離物の系統発生的な位置の決定において試験される他の重要な領域は、5' および 3' 非翻訳領域 (UTR) である。これらの領域はウイルス単離物の間で比較される。例えば、全メンバーの HCV (フラビウイルス科の非分類属) は、その属中の他の全メンバーと約 90% より多く保存された 5' 非翻訳領域を有する。さらに、HCV のメンバーは約 24 ヌクレオチド長と約 50 ヌクレオチド長との間の 3' 非翻訳領域を共有する。

【0170】

5' 非翻訳領域が BLASTN 上の FASTA を用いる疑問の (query) 配列として用いられる場合、「GENBANK」(Ver. 86) 中のいかなるウイルスとも重要な配列は見られない。さらに、HGV は、あらゆる他の公知のウイルスに対する相溶性もほとんど含まない少なくとも約 250 ヌクレオチド長である 3' 非翻訳領域を含む。

【0171】

フラビウイルス科のメンバーは、(i) 食血性節足動物ベクター (ダニおよび蚊) (ここでそれらは疾病を引き起こさない) から (ii) 広範囲の脊椎動物宿主 (ヒト、霊長類、他の哺乳類、有袋類、および鳥類) までの範囲にわたる広範囲の動物において複製することが知られている。フラビウイルス科の 30 をこえるメンバーは、ヒトにおいて熱病または発疹から、出血熱、脳炎、または肝炎のような潜在的な致死疾患までの範囲にわたる疾患を引き起こす。フラビウイルス科の少なくとも 10 のメンバーは、家畜において重篤なおよび経済的に重大な疾患を引き起こす。

【0172】

(VI. 利用)

(A. 発明)

1つの局面では、本発明は実質的に単離された形態での G 型肝炎ウイルス (HGV) ポリヌクレオチド由来のポリヌクレオチドに関する。1つの実施態様では、HGV ポリヌクレオチドは、(i) 霊長類における伝搬、(ii) A 型肝炎ウイルス (HAV)、B 型肝炎ウイルス (HBV)、C 型肝炎ウイルス (HCV)、D 型肝炎ウイルス、および E 型肝炎ウイルス (HEV) から血清学的に区別し得ること、ならびに (iii) フラビウイルス科のメンバーであることにより特徴付けられる。本発明のポリヌクレオチドは、DNA または RNA (あるいはそのアナログまたはその変異体) から構成され得、そして当該技術分野で公知の方法に従って、組換え産生され得、単離され得、または合成され得る。

【0173】

一般的には、本発明の HGV ポリヌクレオチドは少なくとも 10 ヌクレオチド長である。別の実施態様では、HGV ポリヌクレオチドは少なくとも 15 ヌクレオチド長である。さらに別の実施態様では、HGV ポリヌクレオチドは少なくとも 20 ヌクレオチド長である。

【0174】

より詳細な実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、HGV ゲノムの cDNA または cDNA 相補物を含む。より詳細な実施態様では、このような cDNA または cDNA 相補物は、配列番号 14、配列番号 37、および配列番号 19 またはその相補物からなる群より選択されるポリヌクレオチドに対して少なくとも 40% の配列相溶性を有する。さらに他の実施態様では、このような cDNA は、配列番号 14、配列番号 37、および配列番号 19、またはその相補物からなる群より選択されるポリヌクレオチドに対して少なくとも 55% の配列相溶性を示す。より詳細な実施態様では、本発明の cDNA または cDNA 相補物ポリヌクレオチドは、配列番号 14、配列番号 37、および配列番号 19、またはその相補物からなる群より選択される配列由来の配列を有する。

【0175】

他の一般的な実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、HGV に特異的にハイブリ

10

20

30

40

50

ダイズするポリヌクレオチドプローブである。さらに他の一般的な実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、H G Vのエピトープをコードする。より詳細には、ポリヌクレオチドをコードするこのようなエピトープは、配列番号 1 4、配列番号 1 9、または配列番号 3 7 由来の配列を含み得る。

【0176】

他の一般的な実施態様では、本発明のポリヌクレオチドは、H G V ポリヌクレオチドに選択的にハイブリダイズし得るヌクレオチドの隣接する配列を含む。このことについては、H G V は、次のアミノ酸配列の 1 つに少なくとも 4 0 % の配列相同性を有するアミノ酸配列をコードするオープンリーディングフレーム (O R F) を含むゲノムとして特徴付けられる：配列番号 1 5 の 2 8 7 3 アミノ酸配列、配列番号 3 8 の 1 9 0 アミノ酸配列、または配列番号 2 0 の 6 7 アミノ酸配列。より詳細には、ポリヌクレオチドプローブは H G V に特異的にハイブリダイズする。このようなポリヌクレオチドプローブは、検出用標識または他の改変を有し得るか、または固相支持体に固定され得る。

10

【0177】

上記の D N A ポリヌクレオチドはまた、H G V 特異的免疫反応性抗原決定基をコードし得る。このことについては、H G V は、アミノ酸配列をコードするオープンリーディングフレーム (O R F) を含むゲノム、c D N A またはその相補物を有するとして特徴付けられる。このような次のアミノ酸配列の 1 つに少なくとも 4 0 % の配列相同性を有するアミノ酸配列：配列番号 1 5 の 2 8 7 3 アミノ酸配列、配列番号 3 8 の 1 9 0 アミノ酸配列、または配列番号 2 0 の 6 7 アミノ酸配列。

20

【0178】

他の詳細な実施態様では、本発明に従って H G V 抗原決定基と特異的に反応性である H G V コード D N A ポリヌクレオチドは、配列番号 1 5 の 2 8 7 3 アミノ酸配列、または配列番号 3 8 の 1 9 0 アミノ酸配列、または配列番号 2 0 の 6 7 アミノ酸配列に少なくとも 5 5 % の配列相同性を有するアミノ酸配列を含む。

【0179】

さらに他の詳細な実施態様では、D N A ポリヌクレオチドは、配列番号 1 4、配列番号 3 7、および配列番号 1 9、またはその相補物からなる群より選択されるポリヌクレオチドに少なくとも 4 0 % の配列相同性を示し得る。

【0180】

さらなる実施態様では、本発明は、H G V 誘導ポリペプチドをコードする D N A ポリヌクレオチドを包含する。より詳細には、ポリヌクレオチドにコードされるポリペプチドは、H G V ゲノム、c D N A またはその相補物にコードされる少なくとも 1 5 ~ 6 0 のアミノ酸の隣接する配列に 5 5 % の配列相同性を有する少なくとも 1 5 ~ 6 0 のアミノ酸の隣接する配列を含む。

30

【0181】

詳細な実施態様では、H G V ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドは、P N F 2 1 6 1 c D N A ソース λ g t 1 1 ライブラリー内にコードされ得る。さらに他の詳細な実施態様では、D N A ポリヌクレオチドは H G V のエピトープをコードし得る。さらなる実施態様では、ポリヌクレオチドは H G V と特異的にハイブリダイズするプローブであり得る。

40

【0182】

関連する局面では、本発明は、H G V ポリペプチドをコードする D N A ポリヌクレオチドを含む組換えベクターを包含する。他の関連する局面では、本発明は、このようなベクターで形質変換された細胞を包含する。

【0183】

さらに他の関連する局面では、本発明は、H G V 肝炎ウイルスゲノム、c D N A またはその相補物に特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドプローブを包含する。より詳細な実施態様では、ポリヌクレオチドプローブ配列は、配列番号 1 9、配列番号 3 7、または配列番号 1 4、あるいはその相補物由来の配列に少なくとも 4 0 % の相同性を有する

50

。他の詳細な実施態様では、ポリヌクレオチドプローブは、配列番号19、配列番号37、または配列番号14、あるいはその相補物由来である。

【0184】

他の関連する局面では、本発明は、被験体においてHGV肝炎ウイルス核酸を検出する方法を包含する。この方法に従って、核酸含有サンプルは被験体から得られる。次いでサンプルを、HGV肝炎ウイルスゲノムと特異的にハイブリダイズする少なくとも1つのポリヌクレオチドプローブと合わせる。次いで、HGV核酸／プローブ複合体（HGV核酸とプローブとのハイブリダイゼーションにより形成される）が検出される。このような検出は、少なくとも1つのリポーター部分を含むプローブのHGV核酸へのハイブリダイゼーションにより達成され得る。

10

【0185】

より詳細な実施態様では、上記の方法は、HGV核酸特異的プローブの使用を包含する。ここで、2つのプローブ（プライマー）はHGV核酸の内部領域を定義する。この実施態様では、各プローブはHGV核酸内部領域への3'末端の内部を含む1本鎖を有する。次いで、核酸／プローブハイブリダイゼーション複合体は、プライマー伸長反応により2本鎖プローブ含有フラグメントに転換される。プローブ含有フラグメントは、(i) 1本鎖フラグメントを生成するために2本鎖フラグメントを変性させる工程、(ii) スtrand／プローブ複合体を形成するために1本鎖をプローブとハイブリダイズする工程、(iii) DNAポリメラーゼおよび4つの全デオキシリボヌクレオチドの存在下で、strand／プローブ複合体から2本鎖フラグメントを生成する工程、ならびに(iv) (i) から(iii)の工程を所望の程度の増幅が達成されるまで繰り返す工程を、首尾良く繰り返すことにより増幅される。次いで、増幅産物は確立された手法に従って同定される。本発明の方法は、さらに上記の内部領域に選択的にハイブリダイズし得るが、増幅に用いられる特異的なプローブ／プライマー配列にはハイブリダイズしない第3のポリヌクレオチドプローブを包含し得る。

20

【0186】

他の詳細な実施態様では、HGV核酸／プローブ複合体の検出は、自己維持（self-sustained）配列複製、リガーゼ連鎖反応、または鎖置換増幅によるような標的増幅方法により達成される。さらに詳細な実施態様では、検出は分枝鎖DNAプローブ法またはQ-βレプリカーゼ法のようなシグナル増幅技法を用いて達成される。

30

【0187】

さらに他の関連する局面では、本発明は、HGV肝炎ウイルス由来ポリヌクレオチドの存在についてサンプルを分析するキットを包含する。一般的な実施態様では、キットは、HGVポリヌクレオチドと特異的にハイブリダイズするヌクレオチド配列を含む少なくとも1つのポリヌクレオチドプローブおよび適切な容器を含む。詳細な実施態様では、キットは、HGVポリヌクレオチドの内部領域を定義する2つのポリヌクレオチドプローブを含み、ここで各プローブは3'末端の内部側領域を含む1本鎖を有する。さらなる実施態様では、プローブはポリメラーゼ連鎖反応増幅用のプライマーとして有用であり得る。

【0188】

さらに関連する局面では、本発明は、実質的に単離された形態でのHGV肝炎ウイルス粒子を包含する。

40

【0189】

本発明はまた、実質的に単離された形態でのHGV肝炎ウイルス由来のポリペプチドまたはポリペプチド調製物を包含する。これについては、HGVウイルスは次のように特徴付けられる：(i) 霊長類において伝搬され得る；(ii) A型肝炎ウイルス（HAV）、B型肝炎ウイルス（HBV）、C型肝炎ウイルス（HCV）、D型肝炎ウイルス、およびE型肝炎ウイルス（HEV）とは血清学的に区別される；および(iii) フラビウイルス科のウイルスのメンバーである。HGVポリペプチド（上記で定義された）は、化学合成および組換えDNA発現を含む従来手段により調製され得る。このようなポリペプチドはまた固相に固定され得る。

50

【0190】

詳細な実施態様では、ポリペプチドは少なくとも1つの抗HGV抗体と特異的に免疫反応性である。さらに詳細な実施態様では、ポリペプチドはHGVに特異的に免疫反応性である抗原決定基を含む。この文脈においては、HGVは、配列番号15の2873アミノ酸配列、または配列番号38の190アミノ酸配列、または配列番号20の67アミノ酸配列に少なくとも40%の配列相同性を有するアミノ酸配列をコードするオープンリーディングフレーム（ORF）を含有するゲノムを有することにより特徴付けられる。より詳細な実施態様では、ORFは、前述のアミノ酸配列の1つに少なくとも55%の配列相同性を有するアミノ酸配列をコードする。さらなる実施態様では、ポリペプチド配列は、配列番号15の2873アミノ酸配列またはそのフラグメント、配列番号38の190アミノ酸配列またはそのフラグメント、あるいは配列番号20の67アミノ酸配列またはそのフラグメント由来である。

10

【0191】

他の詳細な実施態様では、HGV肝炎ウイルス由来のポリペプチドは、HGVゲノム、cDNA、またはその相補物によりコードされる少なくとも約60のアミノ酸の隣接する配列を含む。より詳細には、このようなペプチド配列は、PNF2161 cDNAソースλgt11ライブラリーによりコードされ得る。

【0192】

より詳細な実施態様では、組換え発現されるHGVポリペプチドは、配列番号20、配列番号38、または配列番号15由来のポリペプチド配列を含み得る。他の実施態様では、このようなポリペプチドは、配列番号14由来、または配列番号14の相補物由来の配列によりコードされ得る。

20

【0193】

さらに関連する実施態様では、本発明に従って、HGV肝炎ウイルスポリペプチドは、HGVポリペプチドおよび第二のポリペプチドを含有する融合ポリペプチドであり得る。より詳細には、このような融合ポリペプチドは、第二のポリペプチドシグナル配列として、β-ガラクトシダーゼまたはグルタチオン-S-トランスフェラーゼタンパク質配列を含み得る。あるいは、第二のポリペプチドは粒子形成タンパク質を含有し得る。

【0194】

上記のポリペプチドは、構造または非構造ウイルスタンパク質由来であり得る。

30

【0195】

さらに関連する局面では、本発明は、適切な条件下で、HGV肝炎ウイルスゲノム、cDNA、またはその相補物由来のcDNAのオープンリーディングフレーム（ORF）を発現し得るクローニングベクターを包含する。本発明のこの局面では、ORFは、所望の宿主に適合可能な制御配列に作動可能に連結される。関連する局面では、本発明はこのようなベクターで形質転換された細胞を包含する。ベクターのより詳細な実施態様では、ORFは配列番号14またはその相補物由来であり得る。さらに詳細な実施態様では、ORFは配列番号37または配列番号19由来であり得る。

【0196】

関連する局面では、本発明は、HGV肝炎ウイルスポリペプチドを産生する方法を包含する。この方法は、上記のベクターを含む細胞を、オープンリーディングフレーム（ORF）配列の発現を達成するに適切な条件下で培養することを包含する。より詳細な実施態様では、ORF配列は、配列番号15、配列番号38、および配列番号20からなるポリペプチド配列またはそのフラグメントの群より選択されるポリペプチド配列をコードする。さらに、ORF配列は、HGV cDNA、またはその相補物由来であり得る。さらに他の詳細な実施態様では、ベクターは、Escherichia coli細胞中で発現されるλgt11ファージベクターである。

40

【0197】

さらに関連する局面では、本発明は、HGV肝炎ウイルス感染に対して特異的な抗体を含む血清のスクリーニングに使用する診断キットを包含する。このようなキットは、少な

50

くとも1つの抗HGV抗体と特異的に免疫反応性であるエピトープを含有する実質的に単離されたHGVポリペプチド抗原を含み得る。このようなキットはまた、抗原に対する前記抗体の結合を検出する手段を含む。このようなキットに関して、HGVは、アミノ酸配列をコードするオープンリーディングフレーム（ORF）を含有するゲノム、cDNA、またはその相補物を有することにより特徴付けられる。このようなアミノ酸配列は、代表的には、配列番号15の2873アミノ酸配列、または配列番号38の190アミノ酸配列、または配列番号20の67アミノ酸配列に少なくとも40%の配列相同性を有する。詳細な実施態様では、キットは、組換え産生されたまたは化学合成されたポリペプチド抗原を含み得る。このキットのポリペプチド抗原はまた、固相支持体に接着され得る。

【0198】

10

より詳細な実施態様では、上記キットの検出手段は、前記ポリペプチド抗原が接着される固相支持体を含む。このようなキットはまた、非接着リポーター標識抗ヒト抗体を含み得る。この実施態様では、抗体のHGVポリペプチド抗原への結合は、リポーター標識抗体が抗体を結合することにより検出され得る。

【0199】

関連する局面では、本発明は、被験体でのHGV肝炎ウイルス感染を検出する方法を包含する。この検出方法は、HGV被験体由来の血清を実質的に単離されたHGVポリペプチド抗原と反応させる工程、および結合した抗体の存在について抗原を試験する工程を包含する。詳細な実施態様では、この方法は、固相支持体に接着されるポリペプチド抗原を含み、血清をその支持体と反応させる。続いて、支持体をリポーター標識抗ヒト抗体と反応させる。次いで、固相支持体をリポーター標識抗体の存在について試験する。

20

【0200】

さらなる局面では、本発明は、HGV肝炎ウイルスワクチン組成物を包含する。

【0201】

この組成物は、実質的に単離されたHGVポリペプチド抗原を含み、ここでこの抗原は少なくとも1つの抗HGV抗体と特異的に免疫反応性であるエピトープを含む。ペプチド抗原は、組換え発現または化学合成を含む当該技術分野で公知の方法に従って産生され得る。このペプチド抗原は、好ましくは薬学的に受容可能なキャリア中に薬理学的に有効な用量で存在する。

【0202】

30

さらに関連する局面では、本発明は、HGV肝炎ウイルスエピトープと特異的に免疫反応性であるモノクローナル抗体を包含する。他の関連する局面では、本発明は、HGVと特異的に免疫反応性のポリクローナル抗体の実質的に単離された調製物を包含する。より詳細な実施態様では、このようなポリクローナル抗体はアフィニティークロマトグラフィーにより調製される。

【0203】

関連する局面では、本発明は、HGVに対する抗体を産生するための方法を包含する。この方法は、実質的に単離されたHGVポリペプチド抗原を被験体に投与することを包含し、ここでこの抗原は、少なくとも1つの抗HGV抗体と特異的に免疫反応性であるエピトープを含む。抗原は被験体における免疫応答を生じるに十分な量で投与される。

40

【0204】

さらに他の関連する局面では、本発明は、HGV抗原を含む血清をスクリーニングするのに用いるための診断キットを包含する。診断キットは、HGVポリペプチド抗原と特異的に免疫反応性である実質的に単離された抗体、およびポリペプチド抗原の抗体への結合を検出する手段を含む。1つの実施態様では、抗体は固相支持体に接着される。詳細な実施態様では、抗体はモノクローナル抗体であり得る。キットの検出手段は第二の標識モノクローナル抗体を含み得る。

【0205】

あるいは、またはさらに、検出手段は標識された競合抗原を含み得る。

【0206】

50

他の関連する局面では、本発明は、被験体におけるH G V感染を検出する方法を包含する。本発明のこの局面に従って、被験体由来の血清は、上記のキットの実質的に単離されたH G V特異抗体と反応する。次いでH G V特異抗体は結合した抗原の存在について試験される。

【0207】

さらに関連する局面では、本発明は、H G Vで感染したインビトロで増殖した細胞を包含する。詳細な実施態様では、細胞は組織培養で増殖した肝細胞である。

【0208】

より詳細には、組織培養細胞は、不死化した肝細胞であり得るか、またはH G V感染した霊長類の肝臓由来の細胞株由来であり得る。

10

【0209】

関連する局面では、本発明は、H G Vを増殖する方法を包含する。この方法は、上記のように、インビトロで増殖したH G V感染細胞をH G Vの増殖を促進するに有効な条件下で培養する工程を包含する。他の関連する局面では、本発明はこのような増殖方法により産生されるH G V粒子を包含する。

【0210】

さらなる局面では、本発明はモザイクポリペプチドを包含する。このようなポリペプチドはH G Vの少なくとも2つのエピトープを含み得、ここでポリペプチドは天然のH G Vコード配列中のエピトープ間に通常介在するアミノ酸を実質的に欠失する。より詳細な実施態様では、モザイクポリペプチドは固相支持体に接着される。さらに関連する局面では、本発明は上記のモザイクポリペプチドをコードする核酸を包含する。

20

【0211】

他の関連する局面では、本発明は、被験体におけるH G V感染を検出する方法を包含する。この方法は、上記のように、被験体由来の抗体含有サンプルをモザイクポリペプチドと接触させる工程、および結合した抗体の存在について抗原を試験する工程を包含する。

【0212】

さらに関連する局面では、本発明はH G Vワクチン組成物を包含する。ワクチン組成物は、1つより多いH G Vエピトープを含むモザイクポリペプチドを含む。モザイクポリペプチドは薬学的に受容可能なキャリア中に薬理的に有効な用量で存在する。

【0213】

30

(B. H G Vについてのイムノアッセイ)

本発明の方法により得られた抗原についての1つの有用性は、H G V肝炎ウイルスに感染した被験体の血清中に存在する抗体の検出(それにより被験体における感染を示す)のための診断試薬としての利用である;例えば、470-20-1抗原、配列番号14またはその相補物によりコードされる抗原、および完全なウイルス配列のいずれかのストランドの部分によりコードされる抗原。本発明の抗原は、H G Vを検出するために、単独でまたは互いに組み合わせて用いられ得る。本発明の抗原はまた、H A V、H B V、H C V、およびH E Vのような他の肝炎因子についての診断アッセイと連結され得る。

【0214】

1つの診断形態(configuration)では、試験血清は、本発明の方法により得られる表面結合抗原(例えば470-20-1抗原)を有する固相試薬と反応する。試薬に抗H G V抗体を結合し、洗浄により非結合血清成分を除去した後、試薬をリポーター標識した抗ヒト抗体と反応させ、固相支持体上の結合した抗H G V抗体の量に比例してリポーターを試薬に結合させる。試薬を再び洗浄して非結合標識抗体を除去し、そして試薬に会合するリポーターの量を測定する。代表的には、リポーターは適切な蛍光基質または発色基質の存在下で固相をインキュベートすることにより検出される酵素である(Sigma、St. Louis、MO)。

40

【0215】

上記アッセイにおける固相表面試薬を、ポリマービーズ、ディップスティック、96ウェルプレート、またはフィルター材料のような固相支持体材料にタンパク質材料を接着す

50

るための公知の技法により調製する。これらの接着法は、一般的に、支持体へのタンパク質の非特異的吸着、または代表的には遊離アミノ基を介する活性化カルボキシル基、水酸基、またはアルデヒド基のような固相支持体上の化学反応性基へのタンパク質の共有接着を包含する。あるいは、ストレプトアビジンでコートされたプレートが1つまたは複数のビオチン化抗原と組み合わせて用いられ得る。

【0216】

本発明の形成部分はまた、この診断方法を行うためのアッセイ系またはキットである。キットは一般的には、表面結合組換えHGV抗原（例えば、上記の470-20-1抗原）を有する支持体、および表面結合抗HGV抗原抗体を検出するためのリポーター標識抗ヒト抗体を含む。

10

【0217】

均一アッセイとして公知の第二の診断形態では、固相支持体に結合する抗体は、培地中で直接検出され得る反応培地中でいくつかの変化を生じる。本明細書中に提示した公知の一般的なタイプの均一アッセイは、（a）スピン標識されたリポーター（ここで抗原に結合する抗体は報告された移動度における変化（スピン分裂ピークの拡大）により検出される）、（b）蛍光リポーター（ここで結合は蛍光収率または蛍光偏光における変化により検出される）、（c）酵素リポーター（ここで抗体結合は酵素／基質相互作用を生じる）、および（d）リポソーム結合リポーター（ここで結合はリポソーム溶解およびカプセル化されたリポーターの放出を引き起こす）を包含する。本発明のタンパク質抗原へのこれらの方法の適応は、均一アッセイ試薬の調製のための従来の方法に従う。

20

【0218】

上記各々のアッセイにおいて、アッセイ方法は、試験個体由来の血清をタンパク質抗原と反応させ、そして結合抗体の存在について抗原を試験することを包含する。試験は、第一の方法におけるように、標識抗ヒト抗体を（例えば、急性期、慢性期、または回復期からの）試験される抗体へ接着する工程、および固相支持体へ結合したりポーター量を測定する工程を含み得るか、または第二の方法におけるように均一アッセイ試薬における抗体結合の効果を観察する工程を包含し得る。

【0219】

第三の診断形態は、HGV特異抗原を検出し得るHGV抗体の使用を包含する。HGV抗原は、例えば抗原捕捉アッセイを用いて検出され得、ここで候補となる血清サンプルに存在するHGV抗原はHGV特異モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体と反応する。抗体は固相基質へ結合し、次いで抗原は第二の異なる標識抗HGV抗体により検出される。抗体は標準方法により本発明のペプチドを利用して調製され得る。さらに、実質的に単離された抗体を（反応性に影響し得る血清タンパク質を本質的に含まない）を生成し得る（例えば、アフィニティー精製（Harlowら））。

30

【0220】

（C. HGVについてのハイブリダイゼーションアッセイ）

本発明の方法により得られる核酸配列についての1つの有用性は、血清中に存在するHGV配列（それにより個体における感染を示す）についての診断剤としての使用である。本発明のコード配列（特にクローン470-20-1および配列番号14）由来のプライマーおよび／またはプローブは、HGVを検出するために単独で、または互いに組み合わせて用いられ得る。

40

【0221】

1つの診断形態では、試験血清を、例えば470-20-1配列由来のプライマーを用いるPCRまたはRT-PCR条件下で反応させる。増幅反応で用いた血清におけるHGVの存在は、プライマーにより標的された配列の特異的増幅により検出され得る。実施例4は、異なるソースの材料をスクリーニングするために、本発明のクローン由来のプライマーを用いるポリメラーゼ連鎖増幅反応の使用を記載する。これらの増幅反応の結果は、種々の異なるソースのテンプレートを用いる増幅反応により相同配列を検出するために、本発明のクローン（例えば、470-20-1）由来のプライマーの能力を示す。実施例

50

4における増幅反応は、テンプレート材料としての血清から直接得られる核酸の使用を含んでいた。

【0222】

あるいは、プローブは本発明のHGV配列由来であり得る。次いで、これらのプローブは標識され、そして試験血清または組織サンプルから得られる核酸に対するハイブリダイゼーションプローブとして用いられ得る。プローブは、種々のリポーター分子を用いて標識され得、従って検出され得る：例えば、放射性アイソトープ標識および化学発光検出リポーター系（Tropix、Bedford、Mass.）に。

【0223】

ポリメラーゼ連鎖反応、自己維持配列複製技法[「3SR」(Guatelliら; Gingersasら、1990)、「NASBA」(VanGemenら)としても公知である]、リガーゼ連鎖反応(Barany)、鎖置換増幅[「SDA」(Walker)]、および他の技法を包含する標的増幅法が、標的配列のコピー数を増加させる。シグナル増幅技法は、分枝鎖DNAプローブ(HornおよびUrdea; Urdea; Urdeaら)およびQ-βレプリカーゼ法(Cahillら; Lomelliら)により例示され、まず特異的分子プローブを結合し、次いでこのプローブの全部または一部を複製するかまたはまたはいくつかの他の方法でプローブシグナルを増幅する。

【0224】

本発明で開示された特異的な核酸配列、あるいは同じまたは類似の(関連した)ウイルスゲノム中の隣接配列の検出について、増幅方法および検出方法は、PCRによる増幅の代替方法として用いられ得る。多くのこのような技法は、核酸診断の分野で公知である(The 1992 San Diego Conference: Genetic Recognition, Clin. Chem. 39(4):705(1993))。

【0225】

(1. 自己維持配列複製)

自己維持配列複製(3SR)技法は、等温であるが、PCRと類似の規模(magnitude)までの増幅を生じる。温度サイクルで推し進められるPCRよりむしろ、3SRは、a)逆転写酵素によるcDNA合成、b)RNaseHによるRNA鎖分解、およびc)T7 RNAポリメラーゼによるRNA転写の協同の3つの酵素反応として作用する。

【0226】

全部の反応配列は等温(代表的には42℃)で生ずるので、高価な温度サイクル装置は必要ではない。加熱、有機溶媒、または他のメカニズムを経由する2本鎖の変性の不在下で、1本鎖テンプレートのみ(すなわち、主にRNA)が増幅される。

【0227】

3SR増幅における使用のための適切なプライマーは、当業者により本発明のウイルス配列から選択され得る。例えば、ウイルス配列の3SR技法による等温増幅のために、プライマー470-20-1-77F(配列番号9)がT7プロモーター配列およびオリゴヌクレオチドの5'末端に好適なT7転写開始部位の添加により改変される。この改変により適切な3SRプライマーT7-470-20-1-77F(配列番号9)が得られる。プライマー470-20-1-211R(配列番号10)は、改変なしまたはT7プロモーターなしのいずれかでこれらの反応に用いられ得る。

【0228】

PNF2161から抽出されたRNAを、20mM Tris-HCl、pH8.1(室温)、15mM MgCl₂、10mM KCl、2mM 塩酸スベルミジン、5mMジチオトレイトール(DTT)、1mMの各dATP、dCTP、dGTP、およびTTP、7mMの各ATP、CTP、GTP、およびUTP、ならびに0.15uMの各プライマーを含む100ulの反応液中のAMV逆転写酵素(30U)、RNaseH(3U)、T7 RNAポリメラーゼ(100U)とインキュベートする。増幅は42℃で1-2時間のインキュベーションの間に行われる。

10

20

30

40

50

【0229】

最初に、プライマー T7-470-20-1-77F は標的 RNA にアニーリングし、そして AMV 逆転写酵素により伸長し、開始 RNA 鎖に相補的な cDNA を形成する。RNAse H による RNA 鎖の分解に次いで、逆転写酵素は第二鎖 DNA の合成を触媒し、T7 プロモーター配列（2 本鎖）を含む 2 本鎖テンプレートを生じる。RNA 転写により、1 本鎖 RNA を生成する。次いでこの RNA をさらなる増幅ラウンドのためのサイクルに再導入し、最終的に、高濃度の RNA 産物のプールを得る。この産物は主に、かなり少量の cDNA とともに T7 プロモーターを含むプライマー（T7-470-20-1-77F）と同じ鎖の 1 本鎖 RNA である。

【0230】

あるいは、他のプライマー（470-20-1-211R）は T7 プロモーターを含み得るかまたは両プライマーがプロモーターを含み得、反応産物として RNA の両鎖を生成する。3 SR 反応の産物は、RNA 分析についての標準的技法（例えば、ノーザンブロッティング、RNA スロットまたはドットプロット、RNA 染色色素を用いた直接ゲル電気泳動）により検出、特徴付け、または定量され得る。さらに、これらの産物はビオチン-アビジンアフィニティ相互作用または核酸プローブの特異的ハイブリダイゼーションを使用する方法により検出され得る。

【0231】

3 SR 産物の迅速および特異的な分析のための 1 つの技法では、放射標識されたオリゴヌクレオチド 470-20-1-152R（配列番号 21）への産物の溶液ハイブリダイゼーションの後で、非変性ポリアクリルアミドゲル電気泳動を行う。このアッセイ（ゲル移動度シフトタイプのアッセイ）により、ハイブリダイズしなかったオリゴヌクレオチドに対応するバンドより運動性のバンドとして特異的プローブ産物ハイブリッドを検出する。

【0232】

（2. リガーゼ連鎖反応（LCR））

他の検出系の例として、HGV 配列はリガーゼ連鎖反応（LCR）プライマーの設計の基礎を形成し得る。LCR は、ニックを閉鎖する DNA リガーゼ活性を使用し、隣接する 5' リン酸（「ドナー」オリゴ）および 3' ヒドロキシル（「アクセプター」オリゴ）終末を有する 2 つのすぐ隣りのオリゴヌクレオチドを結合する。テンプレートに依存する方法で十分に相補的な末端部のみを結合する DNA リガーゼの特性は、連結される末端が標的鎖に対する配列において完全にマッチしなければ連結が起こらない点で、高度の特異性をもたらす。

【0233】

プライマーと標的核酸との間の単一塩基のミスマッチの識別に対する特異性に関していくつかの利点とともに PCR に代わる方法として、LCR が、HGV 配列に相同性を有するウイルスの「タイプ」株を検出するために用いられ得る。これらの技法は、このような塩基変化が薬剤耐性を与えることが知られている場合（例えば、Lardner および Kemp; Gingeras ら、1991）、特異的な変異の存在を評価するために適切である。

【0234】

テンプレートに相補的なドナーおよびアクセプターオリゴヌクレオチドならびにドナーおよびアクセプターに相補的なオリゴヌクレオチドの存在下では、LCR による指数関数的増幅が可能である。この実施態様では、連結の各ラウンドはサイクル反応における次のラウンドのための追加のテンプレートを生成する。

【0235】

例えば、プライマー 470-20-1-211R（配列番号 10）、隣接オリゴヌクレオチド（B、配列番号 22）、ならびに同種のオリゴ（211R'、配列番号 23、および B'、配列番号 24）が、本発明の配列の LCR 増幅を行うために用いられ得る。逆転写をまず標準方法により行い、cDNA を生成し、cDNA を、次いで、25 ul 反応物

10

20

30

40

50

中 0.1 – 1 μ M の 4 つの各 LCR プライマー、20 mM Tris-HCl、pH 8.3 (室温)、25 mM KCl、10 mM $MgCl_2$ 、10 mM ジチオトレイトール (DTT)、0.5 mM NAD⁺、0.01% Triton X-100、および 5 ユニットの DNA リガーゼ (Ampligase Epicentre Technologies、Madison、WI、または熱安定性 DNA リガーゼの他の市販供給者) を含む反応物中で増幅する。

【0236】

熱サイクルを、94℃で1分30秒間；94℃で1分間、65℃で2分間、25 – 40 サイクル繰り返して行う。生成物合成の特異性は、3' 末端の位置でのプライマーテンプレートマッチに依存する。生成物はポリアクリルアミドゲル電気泳動、次いでエチジウムブロマイド染色により検出される；あるいは、アクセプターオリゴの1つ (211R' または B) が、ゲル電気泳動に続くオートラジオグラフィによる可視化のために 5' 放射標識される。

10

【0237】

あるいは、ドナーオリゴは、特異的に結合し得る部分 (例えば、ビオチン) で 3' 末端標識され、そしてアクセプターは、固相捕捉および検出のために特異的に検出可能な基 (例えば、蛍光色素) で 5' 標識される。

【0238】

(3. 増幅された DNA の分析のための方法)

(多くの技法が増幅された DNA の分析のために記載されている。いくつかのこのような技法、例えば高速および高分解能の HPLC 技法 (Katz および Dong) は、ゲル電気泳動が実施不可能である高処理量用途に有利である。しかし、一般に、感染性疾患生物について核酸プローブを用いてスクリーニングする方法は、病原体検出について必須の特異性を確保するために別個の増幅後ハイブリダイゼーション工程を含む。

20

【0239】

1 つのこのような検出実施態様は、アフィニティに基づくハイブリッド捕捉技法 (Holodniy ら) である。この実施態様では、PCR は 1 つのビオチン化プライマーを用いて行われる。増幅に続いて、2 本鎖生成物を変性し、次いで取り込まれたビオチン化プライマーを有する鎖に相補的なペルオキシダーゼ標識されたプローブにハイブリダイズさせる。次いで、ハイブリダイズ生成物を、緩衝液中でインキュベートし、それはアビジン (またはストレプトアビジン) でコートされた表面 (例えば、メンブランフィルター、マイクロウエル、ラテックス、またはパラマグネットビーズ) と接触する。

30

【0240】

この方法により分析されるべき PCR 産物容量に接触するコートされた固相の量は、本質的に全ての遊離のビオチン化プライマーおよびかなり低濃度のビオチン化 PCR 産物を捕捉するに十分なビオチン結合部位を含まなければならない。固相を 3 – 4 回洗浄した後、結合したハイブリダイズ生成物を過酸化水素含有クエン酸緩衝液中の o-フェニレンジアミンとインキュベートすることにより検出する。

【0241】

あるいは、捕捉はプローブをコートした表面により媒介され得、次いでビオチン化プライマーおよびアビジンリポーター酵素結合体を介するアフィニティーに基づく検出を行い得る (Whetzel ら)。

40

【0242】

(4. 追加の方法)

本発明のウイルス配列はまた、分枝鎖 DNA プローブを用いる検出へのシグナル増幅アプローチの基礎を形成し得る。分枝鎖プローブ (Horn および Urdea; Urdea) は、まれな RNA および DNA 配列の検出および定量について記載している (Urdea ら)。この方法では、オリゴヌクレオチドプローブ (RNA、DNA、または核酸アナログ) が、標的 RNA または DNA に相補的な配列を用いて合成される。このプローブはまた、特有の分枝配列または標的 RNA または DNA に相補的ではない配列を含む。

50

【0243】

この特有の配列は、分枝した第2の検出プローブのハイブリダイゼーションのための標的を構成し、その各々は第3のプローブのための標的として提供される1つまたはそれ以上の他の特有の配列を含む。シグナル増幅経路における各分枝ポイントで、異なる特有の配列が第2、第3などの検出プローブのハイブリダイゼーションを指揮する。一連の最後のプローブは、代表的には、検出に有用な酵素（例えば、アルカリホスファターゼ）に連結される。プライマーの連続的なハイブリダイゼーションは、結局、高度に分枝した構造を構築し、その腕（arm）は酵素結合プローブで終結する。

【0244】

酵素的代謝回転は最終増幅を提供し、そして高感度化学発色基質の選択により、例えば、アルカリホスファターゼ標識のための基質として（LumiPhos、Lumigen、Detroit、MI）は、アッセイあたり当初の標的配列の10,000分子またはそれより少ないオーダーで、鋭敏な感度を得る。このような検出方法では、増幅は酵素的メカニズムよりむしろ分子ハイブリダイゼーションにのみ依存し、従って、例えば、PCRより臨床標本中の阻害物質の作用を受けるおそれははるかに少ない。従って、この検出方法は、アッセイ前の大規模な精製なしで試験サンプル中の核酸遊離についての粗野な技法の使用を可能にする。

【0245】

本発明のウイルス配列の高感度検出のための増幅はまた、Q-βレプリカーゼ技法により達成され得る（Cahillら；Lomellら；Pritchardら）。この方法では、特異的プローブが、標的配列に相補的であるように設計される。次いでこのプローブは、標準的な分子クロニング技法によりQ-βファージ由来の複製可能なRNAの配列中に挿入され得る。レプリコンの特異的領域への挿入はQ-βレプリカーゼによる複製を妨げない。

【0246】

分子ハイブリダイゼーション、および数サイクルの洗浄に続いて、レプリカーゼを添加し、そしてプローブRNAの増幅を確実にする。「可逆的標的捕捉」は、ハイブリダイズしないプローブの複製由来の潜在的なバックグラウンドを減少するための1つの公知の技法である（Morrissyら）。増幅されたレプリコンは、DNA、RNA、または核酸アナログプローブを用いる標準的な分子ハイブリダイゼーション技法により検出可能である。

【0247】

希薄なDNAまたはRNA配列の増幅および検出についてのさらなる方法が文献で公知であり、そして分子的診断学の分野におけるいくつかの用途のためのPCRに好適である。これらの代替技法は、検出、特徴付け（例えば、本明細書中に記載された配列の複数の関連する株として存在する配列多様性、薬剤耐性の遺伝子型変化の特性）、または本発明に開示された配列の定量の基礎を形成し得る。

【0248】

また、本発明の一部を形成するのは、直前に記載された増幅／ハイブリダイゼーションアッセイ法を行うためのアッセイ系またはキットである。このようなキットは一般に、増幅反応に用いられる特異的なプライマーまたはハイブリダイゼーションプローブのいずれかを含む。

【0249】

（D．治療用途）

（上記のように、本発明のHGV抗原はワクチン調製において用いられ得る。）

さらに、本発明のポリペプチド抗原に対して生成された抗体は、受動免疫療法または受動免疫予防に用いられ得る。抗体は、抗体の他の治療投与に用いられる抗体に類似の量で投与され得る。例えば、プールしたγグロブリンを、0.02～0.1ml／1b体重で、狂犬病、麻疹、およびB型肝炎のような他のウイルス疾患の初期のインキュベーションの間、感染の確立を妨害するために投与される。従って、HGV抗原に反応性の抗体は、

感染を処理する宿主の能力を増強するために、単独でまたは他の抗ウイルス剤と組み合わせて、HGVに感染した宿主に受動的に投与され得る。

【0250】

本明細書に開示されたHGV配列は、HGVをフラビウイルス科のメンバーとして同定する（上記参照）。フラビウイルス科は3つの属、フラビウイルス（*Flavivirus*）属、ペスチウイルス（*Pestivirus*）属、C型肝炎ウイルス属に分類される（*Frank*ら）。全てのフラビウイルス科は、3000～4000アミノ酸の単一の長いポリペプチドをコードする9.0～12kb長のポジティブストランドRNAゲノムを有する。このポリペプチドは、ウイルスクャプシドタンパク質、ウイルスエンベロプタンパク質、および最小限5つの非構造タンパク質（NS）を含む、約10のタンパク質にタンパク質分解的に切断される。非構造タンパク質は、キモトリプシン様セリンプロテアーゼ、RNAヘリカーゼ（NS3）、およびRNA依存性RNAポリメラーゼ（NS5）を含む。フラビウイルス科のNS3タンパク質は、ウイルスポリペプチドのタンパク質分解的切断に必要である。NS5タンパク質はウイルスゲノムの複製に必要である（*Chambers*ら、1990a）。

10

【0251】

さらに、いくつかの細胞タンパク質はフラビウイルス科の複製に関連すると同定されている。例えば、細胞性シグナルペプチダーゼ酵素は、いくつかの切断部位でウイルスポリペプチドを切断し、ウイルスプロテアーゼの発現を可能にするために必要であり得る（*Hijikata*ら）。

20

【0252】

これらのタンパク質がフラビウイルス複製に必要な機能を遂行することを妨害するインヒビターもまた、HGVの感染の処置に治療的価値を有し得る。最後に、サイトカインあるいは抗ウイルス活性を有するおよび／またはヒト免疫系を調節することが知られている他のポリペプチドが、HGV感染の処置に有効であり得る。

【0253】

フラビウイルス科のRNA依存性RNAポリメラーゼを阻害することが知られている1つの化合物は、類推によりHGVのNS5タンパク質の活性を阻害すると予測され得、ヌクレオチドアナログ1-B-D-リボフラノシル-1-2, 4-トリアゾール、3-カルボキシアミドであり、またリバビリン（*ribavirin*）として知られている（*Patterson*ら）。リバビリンの作用方法は、細胞内グアニプールの枯渇およびウイルスRNAのキャッピングの妨害を含むと考えられている（*Patterson*ら）。

30

【0254】

HCVで感染した個体において、ウイルス力価およびアラニンアミノトランスフェラーゼ（ALT・・・肝機能障害についての指標酵素）の血清レベルの有意な低減が、リバビリンが投与された間に観察された（*Reichard*ら；*Di Bisceglie*ら、1992）。リバビリンはフラビウイルス科感染を処置する広い効力を有するようであり、従って、有益な結果がHGV由来肝臓疾患を患う個体へのリバビリンの投与後に予測される。

【0255】

フラビウイルス科感染を処置するために有効であることが知られている他のクラスの化合物は、サイトカイン類、インターフェロン α 、インターフェロン β 、およびインターフェロン γ （*Baron*ら；*Guttmann*）を含む。インターフェロンは、（i）ウイルスRNAの複製および翻訳を妨害する細胞タンパク質の発現を誘導すること、および（ii）ヒト細胞免疫系の成分の活性化の両方により抗ウイルス薬として作用すると考えられている（*Baron*ら）。これらのインターフェロン類は、HBV、HDV、およびHCVの感染を含むウイルス感染の治療に広範な用途を有する（*Guttmann*；*Farci*ら）。特に、複数の研究が、インターフェロン（単独または他の抗ウイルス療法と組み合わせてのいずれか）がC型肝炎ウイルスの感染を処置するために有効であることを示している（*Di Bisceglie*ら、1989；*Kakumu*ら）。HGVの明

40

50

かな肝親和性の性質およびフラビウイルス科中のその分類の両方のため、HGV感染は類似のインターフェロン療法に応答すると予測され得る。

【0256】

強力な抗ウイルス活性を有するさらに他のクラスの化合物は、ウイルスプロテアーゼのインヒビターである (Krausslichら)。全てのフラビウイルス科は、非構造領域における複数の部位でゲノムポリペプチドの複数の部位を切断するために必要であるキモトリプシン様セリンプロテアーゼをコードする。このプロテアーゼの触媒部位を構成するアミノ酸残基はよく記載されており、そしてヒスチジン、アスパラギン酸、およびセリン残基を含む (Grakouiら)。フラビウイルス (黄熱ウイルス) のさらなる研究は、活性部位のセリン残基の変異がウイルス複製を阻害することを示した (Chambersら、1990b)。

10

【0257】

HGV NS3タンパク質のインヒビターは、酵素切断の遷移状態を模倣するように設計され得る。あるいは、このようなインヒビターは、先に合成された化合物の大量スクリーニングにより単離され得る。推定のHGV NS3プロテアーゼインヒビターの活性は、フラビウイルス調査において広く用いられているインビトロ転写／翻訳系の使用により測定され得る (Hijikataら; Grakouiら)。

【0258】

あるいは、HGVゲノムは、バキュロウイルスまたはワクシニアのような真核生物のタンパク質発現のための適切なベクター中にクローニングされ得、そしてこの化合物の効力は組織培養系で測定され得る (Grakouiら)。同様のアプローチが、HIVプロテアーゼの強力なインヒビターを得るために首尾良く用いられている (Vaccaら; Robertsら)。

20

【0259】

HGV感染により引き起こされた疾患を治療する他のアプローチは、アンチセンスオリゴヌクレオチド (TonkinsonおよびStein) または本発明で開示されたHGVの配列の一部分をコードするオリゴヌクレオチドアナログの合成による。全てのフラビウイルス科について真実であるように、HGVゲノムは9~12 kbサイズのポジティブストランドRNA分子であることが予測され得る。ウイルスゲノムの1本鎖の性質がアンチセンスオリゴヌクレオチドに対してHGVを鋭敏な感受性にする。ウイルス複製を阻害するために用いられ得る可能な標的配列には、HGVの5'非翻訳領域、HGVのリボソーム結合部位、またはHGVゲノムの翻訳を妨害し得る他の配列が含まれる。

30

【0260】

アンチセンスオリゴヌクレオチドは、市販の合成器を用いて合成され得る。好ましくは、オリゴヌクレオチドは、ヌクレアーゼ切断に耐える利点を有するホスホロジチオエート (phosphorodithioate) 骨格を用いて合成される (Marshall & Caruthers)。さらに他のオリゴヌクレオチドアナログ (例えば、非荷電またはアミド型骨格 (Egholmら) を有するアナログ) が用いられ得る。これらのオリゴヌクレオチドは市販されており (Biosearch、Millipore、Bedford、MA)、そしてそれらの荷電の欠落が、代表的には荷電高分子の通過に抵抗する生物学的な膜をそれらが横断し得るという点で有利である。

40

【0261】

アンチセンス用途のためのオリゴヌクレオチド (またはそのアナログ) は、代表的には、HGVゲノム内の標的配列へのハイブリダイゼーションを促進するために8ヌクレオチド長より大きい。例えばDNAオリゴマーのウイルスRNA標的配列へのハイブリダイゼーションに際し、ハイブリダイゼーション複合体はRNase Hのような細胞酵素により分解され得る。次いでHGVテンプレートの減少がHGV関連疾患の重篤度を小さくする。

【0262】

上記の治療方法の有用性および効力は、インビトロで上記の細胞系を用いて、およびイ

50

ンビボで上記の動物モデル系を用いて評価され得る。

【0263】

以下の実施例は例示であり、いかなる方法においても本発明を制限する意図はない。

【0264】

(材料および方法)

合成オリゴヌクレオチドリンカーおよびプライマーを市販の自動化オリゴヌクレオチド合成器を用いて調製した。あるいは、注文設計された合成オリゴヌクレオチドが市販供給者から購入され得る。

【0265】

標準的な分子生物学およびクローニング技法は、本質的にはAusubelら、Sambrookら、およびManiatisらに以前に記載されたように行った。

【0266】

免疫反応性タンパク質抗原のスクリーニングおよび検出に抗血清および／または抗体を用いることに関連する通常の操作は、本質的には記載されたように行った(Harlowら)。同様に、抗ウイルス抗体の検出のためのELISAおよびウエスタンブロットアッセイを、それらの製造者(Abbott, N. Chicago, IL, Genelabs Diagnostics, Singapore)に記載されたように、または当該技術分野で公知の標準的技法(Harlowら)を用いてのいずれかで行った。

【実施例】

【0267】

(実施例1 PNF2161 cDNAライブラリーの構築)

(A. 血清由来RNAの単離)

1ミリリットルの非希釈PNF2161血清を、PEG(分子量6,000)を8%になるように添加することにより沈殿させ、そしてマイクロ遠心器において4℃で15分間12Kで遠心分離した。本質的にChomczynskiにより記載されるように得られた血清ペレットからRNAを抽出した。

【0268】

ペレットを4Mのグアニジウムイソチオシアネート、0.18%2-メルカプトエタノール、および0.5%サルコシル(sarcosyl)を含有する溶液で処理した。処理したペレットを酸性フェノールクロロホルムで数回抽出し、そしてRNAをエタノールで沈殿させた。この溶液を約10分間-70℃で保持し、次いで4℃で10分間マイクロ遠心器で回転させた。得られたペレットを100μlのDEPC処理(ジエチルピロカーボネート)水中に再懸濁させ、そしてこの溶液に10μlの3M NaOAc(pH=5.2)、2容量の100%エタノールおよび1容量の100%イソプロパノールを添加した。

【0269】

この溶液を-70℃で少なくとも10分間保持した。5℃で15分間、12,000×gでのマイクロ遠心器における遠心分離によりRNAペレットを回収した。このペレットを70%エタノール中で洗浄し、そして減圧下で乾燥した。

【0270】

(B. cDNAの合成(i)第1鎖の合成)

cDNA分子の合成を以下のように行った。Gublerらの方法に従い、ランダムヌクレオチドヘキサマープライマー(cDNA合成キット、BMB、Indianapolis, INまたはGIBCO/BRL)を用いて上記のRNA調製物をcDNAに転写した。

【0271】

第2鎖cDNAの合成後、T4 DNAポリメラーゼを混合物に添加してcDNA分子の平滑末端数を最大にした。反応混合物を室温で10分間インキュベートした。この反応混合物をフェノール／クロロホルムおよびクロロホルムイソアミルアルコールで抽出した。

【0272】

10

20

30

40

50

cDNAを2容量の100%エタノールの添加により沈殿させ、そして-70℃で15分間冷却した。遠心分離によりcDNAを採集し、70%エタノールでペレットを洗浄し、そして減圧下で乾燥した。

【0273】

(C. 2本鎖cDNA分子の増幅)

cDNAペレットを12μlの蒸留水に再懸濁させた。再懸濁したcDNA分子に以下の成分を添加した：5μlのリン酸化リンカー(Linker AB、配列番号1および配列番号2からなる2本鎖リンカーであり、ここで配列番号2は、配列番号1に対して部分的に相補的な配列として、配列番号1に対して3'→5'方向にある)、2μlの10×ライゲーション緩衝液(0.66M Tris·Cl pH=7.6、50mM MgCl₂、50mM DTT、10mM ATP)および1μlのT4 DNAリガーゼ(0.3~0.6ワイス単位(Weiss Unit))である。代表的には、cDNAとリンカーとは1:100の割合で混合した。反応物を14℃で一晩インキュベートした。次の朝、反応物を70℃で3分間インキュベートして、リガーゼを不活性化した。

10

【0274】

1. 5mM MgCl₂ および50mM KClを含有する100μlの10mM Tris·Cl緩衝液、pH8.3(緩衝液A)に、約1μlのリンカー連結-cDNA調製物、2μMの配列番号1で示される配列を有するプライマー、各200μMのdATP、dCTP、dGTP、およびdTTP、および2.5ユニットのThermus aquaticus DNAポリメラーゼ(Taqポリメラーゼ)を添加した。この反応混合物を変性のために94℃で30秒間加熱し、プライマーのアニーリングのために50℃で30秒間冷却し、次いでTaqポリメラーゼによるプライマー伸長を可能にするために72℃で0.5~3分間加熱した。連続的な加熱、冷却、およびポリメラーゼ反応を含む増幅反応を、Perkin-Elmer Cetus DNA熱サイクラー(Mullis; Mullisら、; Reyesら、1991; Perkin-Elmer Cetus、Norwalk、CT)を用いてさらに25回~40回反復した。

20

【0275】

増幅反応後、次いで溶液をフェノール/クロロホルム、クロロホルム/イソアミルアルコール抽出し、そして2容量のエタノールで沈殿させた。得られた増幅cDNAペレットを20μlのTE(pH=7.5)中に再懸濁させた。

30

【0276】

(D. cDNAのλベクターへのクローニング)

cDNAの構築に使用されたリンカーは、λgt11ベクター(Promega、Maddison WIまたはStratagene、La Jolla、CA)への増幅cDNAの直接挿入を可能にするEcoRI部位を有していた。λベクターを製造業者(Promega)から購入したが、これらは既にEcoRIで消化され、そしてアルカリホスファターゼで処理されて5'リン酸が除去され、そしてベクターの自己ライゲーションが防止されていた。

【0277】

EcoRI消化cDNA調製物をλgt11(Promega)に連結した。ライゲーション反応の条件は以下の通りである：1μlのベクターDNA(Promega、0.5mg/ml)；0.5μlまたは3μlのPCR増幅挿入cDNA；0.5μlの10×ライゲーション緩衝液(0.5M Tris-HCl、pH=7.8；0.1M MgCl₂；0.2M DTT；10mM ATP；0.5mg/mlのウシ血清アルブミン(BSA)、0.5μlのT4 DNAリガーゼ(0.3~0.6ワイス単位)であり、蒸留水で最終反応容量を5μLにした。

40

【0278】

ライゲーション反応物を14℃で一晩(12~18時間)インキュベートした。連結されたcDNAをλDNAパッケージングシステム(「GIGAPAK」、Stratagene、La Jolla、CA)を用いる標準的な手順によりパッケージングし、次いで

50

種々の希釈度でプレーティングして、力価を測定した。標準的なX-galブルー／ホワイトアッセイを用いてライブラリーの組換え頻度を測定した（Miller; Maniatisら）。

【0279】

各ライブラリーの組換えのパーセントはまた、以下のように測定した。多くのランダムなクローンを選択し、そして対応するファージDNAを単離した。次いで、テンプレートとして単離したファージDNA、およびプライマーとしてcDNA分子のEcoRI挿入部位に隣接するλ配列由来のλDNA配列を用いて、ポリメラーゼ連鎖反応（Mullis; Mullisら）を行った。挿入物の存在または非存在は、ポリメラーゼ連鎖反応生成物のゲル分析から明らかであった。

10

【0280】

血清サンプルPNF2161から作製したcDNA挿入ファージライブラリーは、American Type Culture Collection、12301 Parklawn Dr.、Rockville MD 20852に寄託され、そして受託番号ATCC 75268（PNF2161 cDNA供給源）が与えられている。

【0281】

（実施例2 組換えライブラリーのイムノスクリーニング）

実施例1で作製したλgt11ライブラリーを、ライブラリーを作製したPNF2161血清により認識可能な抗原の産生についてイムノスクリーニングした。Escherichia coli細菌プレーティング株E. coli KM392を用いてプラーク形成のためにファージをプレート化した。あるいは、E. coli Y1090R（Promega, Madison WI）を使用し得る。

20

【0282】

λgt11クローンにより発現される融合タンパク質を、本質的にAusubelらにより記載される血清抗体を用いてスクリーニングした。

【0283】

各ライブラリーを、150mmプレートあたり約 2×10^4 個のファージでプレート化した。プレートをニトロセルロースフィルターで一晩覆った。このフィルターをTBST（10mM、Tris pH7.5；150mM NaCl）で洗浄し、AIB（1%ゼラチンを有するTBST緩衝液）でブロックし、そしてAIB中で100倍に希釈した一次抗体とインキュベートした。

30

【0284】

TBSTを用いて洗浄した後、このフィルターを二次抗体であるアルカリホスファターゼ（Promega）に結合したヤギ抗ヒトIgGとインキュベートした。反応性のプラークを、基質（例えば、BCIP、5-ブromo-4-クロロ-3-インドリル-ホスフェート）を用いて、NBT（ニトロブルーテトラゾリウム塩（Sigma））を用いて発色させた。一次スクリーニングの陽性領域を再プレート化し、そして純粋なプラークが得られるまでイムノスクリーニングした。

【0285】

（実施例3 PNF2161ライブラリーのスクリーニング）

λgt11中のPNF2161のcDNAライブラリーを、実施例2に記載されるように、PNF2161血清を用いてスクリーニングした。スクリーニングの結果を表1に示す。

40

【0286】

【表 1】

表 1
PNF2161ライブラリー

ライブラリー ¹	% 組換え率 ²	抗体 ³	# スクリーニングされた 数	# ブレイク精製 されたクローンの 数
PNF/RNA	85	PNF	5.5×10^5	4
PNF/RNA	90	PNF	8×10^4	7
総 計 :				11

10

- 示されたヒト供給源から構築されたcDNAライブラリー。
- ブルー/ホワイトブレイクアッセイにより測定し、そしてランダムに選択したクローンのPCR増幅により確認した、示されたλgt11ライブラリー中の組換えクローンのパーセント。
- 示された各ライブラリーのイムノスクリーニングのための使用された抗血清供給源。

20

上記のスクリーニングにより単離されたクローンの1つ（PNF 2161クローン470-20-1、配列番号3；βガラクトシダーゼのインフレーム融合翻訳配列、配列番号4）を用いて実施例6に記載のように拡大クローンを作製した。クローン470-20-1の核酸配列は配列番号3として表される（タンパク質配列配列番号4）。SISP Aクローニングリンカーを用いずに単離された核酸配列は配列番号19として表される（タンパク質配列番号20）。

30

【0287】

（実施例4 免疫反応性470-20-1クローンの特徴付け）

（A. 免疫反応性クローンのサザンブロット分析）

免疫反応性クローンの挿入物を、以下のコントロールDNA供給源にハイブリダイズするそれらの能力についてスクリーニングした：正常なヒト末梢血液リンパ球（Stanford University Blood Bank、Stanford、Californiaから購入）DNA、およびEscherichia coli KM392ゲノムDNA（Ausubelら；Maniatisら；Sambrookら）。10マイクログラムのヒトリンパ球DNAおよび2マイクログラムのE. coliゲノムDNAをEcoRIおよびHindIIIで消化した。制限消化産物を電気泳動によりアガロースゲルで分画し（Ausubelら）、そして製造業者の指示に従い、ナイロンまたはニトロセルロース膜（SchleicherおよびSchuell、Keene、NH）に移した。

40

【0288】

免疫反応性クローン由来のプローブを以下の様に調製した。gt11ベクターのEcoRIクローニング部位に隣接するλgt11配列に対応するプライマーを用いて各クローンを増幅した。各免疫反応性クローンをテンプレートとして用いるポリメラーゼ連鎖反応により増幅を行った。得られた増幅産物をEcoRIで消化し、増幅フラグメントをゲル精製し、そしてゲルから溶出した（Ausubelら）。次いで、得られた免疫反応性ク

50

ローン由来の増幅フラグメントを、 ^{32}P -dNTPを用いる市販のキット（BMB）を使用してランダムプライム標識した。

【0289】

次いで、ランダムプライムされたプローブを、上記で調製したナイロン膜にハイブリダイズさせて、挿入配列のコントロールDNAに対するハイブリダイゼーションについて試験した。470-20-1挿入物は、いずれのコントロールDNAともハイブリダイズしなかった。

【0290】

陽性のハイブリダイゼーションコントロールとして、ヒトC- κ 遺伝子フラグメント（Hietter）由来のプローブをヒトDNAに対する単一遺伝子コピーコントロールとして使用し、E. coli DNAに対しては、E. coliのポリメラーゼ遺伝子フラグメントを同様に使用した。

10

【0291】

（B. ゲノムPCR）

ライブラリーの構築の間に偶然クローニングされ得るいくつかのゲノムDNAに関する外因性を確認し、次いでクローニング供給源および関連の標本材料におけるクローニングされた配列の存在を試験するためにまずPCR検出を行った。SISPA増幅核酸および一次供給源から抽出された核酸、および関連の供給源材料から抽出した核酸（例えば、動物継代研究由来）を含む、いくつかの異なるタイプの標本を試験した。

【0292】

20

用語「ゲノムPCR」は、相当する生物由来のゲノムDNAにおける特定の配列の存在について試験することをいう。例えば、マイスタックス由来クローンについてのゲノムPCRは以下のようなゲノムDNAを包含し得る：1. ヒトDNA（ $1\mu\text{g}/\text{rxn.}$ ）2. マイスタックスDNA（ $0.1\sim 1\mu\text{g}/\text{rxn.}$ ）3. E. coli（ $10\sim 100\text{ng}/\text{rxn.}$ ）4. 酵母（ $10\sim 100\text{ng}/\text{rxn.}$ ）ヒトDNAおよびマイスタックスDNAを、因子についての直接かつ究極の供給源として試験する。市販の酵素調製物の常習的な混入物として、E. coliのゲノムDNAが試験された。遍在動物として酵母もまた試験され、そのDNAが試薬を汚染し得、そしてそれ故クローニングされる。

【0293】

30

さらに、陰性コントロール（すなわち緩衝液または水のみ）および約 10^5 細胞/ rxn. を有する陽性コントロールもまた増幅する。

【0294】

増幅条件は、個々の配列について決定され得るように変化するが、以下の標準的なPCRプロトコルに厳密に従う： 10mM Tris 、 $\text{pH}8.3$ 、 50mM KCl 、 1.75mM MgCl_2 、 $1.0\mu\text{M}$ の各プライマー、それぞれ $200\mu\text{M}$ のdATP、dCTP、およびdGTP、ならびに $300\mu\text{M dUTP}$ 、 2.5 ユニットのTaq DNAポリメラーゼ、および $100\mu\text{l}$ の反応物あたり 0.2 ユニットのウラシル-N-グリコシラーゼを含有する反応物中でPCRを行った。サイクルは 94°C で少なくとも1分間、続いて変性（ $92^\circ\text{C}\sim 94^\circ\text{C}$ 、 15 秒間）、アニーリング（ $55^\circ\text{C}\sim 56^\circ\text{C}$ 、 30 秒間）、および伸長（ 72°C 、 30 秒）を $30\sim 40$ 回反復した。増幅DNAの存在しないように維持された特別に指定された実験室でPCR試薬を合わせ、そして増幅反応物を構成した。

40

【0295】

増幅配列による汚染およびそれによる「偽陽性」による試験の弱体化に対するさらなる防御として、増幅配列を生化学的に天然DNAと区別可能にするために、dUTPをTTPと置き換えてPCRを行った。任意の汚染PCR産物を酵素的に増幅不可能にするために、ウラシル-N-グリコシラーゼ酵素を全てのゲノムPCR反応に含ませた。熱サイクルの終わりに際して、反応物を 72°C に保持して、ウラシル-N-グリコシラーゼの再性を防ぎ、かつ増幅U-含有配列の分解の可能性を防いだ。

50

【0296】

最大の感度および特異性のためには異なる増幅条件を理想的には必要とする種々の配列の増幅のために、上記の一般的なプロトコルをさらに強力にするために、標準的な技法を用いて（「AMPLIWAX」Perkin-Elmer Biotechnology；あるいは、手動技法を用いた）「ホットスタートPCR」を行った。

【0297】

2つのPCRプライマー配列の内部に位置し、そしてプライマーとの重複を有さないかまたは最小限の重複を有する特定のオリゴヌクレオチドプローブへのハイブリダイゼーションにより、増幅DNAの検出を行った。いくつかの場合では、臭化エチジウム蛍光を用いて電気泳動されたPCR産物の直接可視化を行うが、特異的な増幅産物と非特異的な増幅産物との間の識別を確実にするのに助けるために、各々の場合で、プローブハイブリダイゼーションを行った。溶液中の放射標識プローブへのハイブリダイゼーションに続いて、8～15%のポリアクリルアミドゲルでの電気泳動（増幅配列のサイズに対して適切のように）およびオートラジオグラフィを行った。

10

【0298】

クローン470-20-1を、ゲノムPCRによりヒトDNA、E. coli DNA、および酵母DNAに対して試験した。陰性コントロール反応物および試験したいずれのゲノムDNAにおいても特異的配列は検出されず、そして反応あたり 10^5 コピーのDNAが容易に検出可能なシグナルを生じた。この感度（すなわち、 10^5 ／反応）が $1\mu\text{g}$ の総DNAを含有する反応物における単一コピーヒト配列の検出に適切であり、約 1.5×10^5 細胞由来のDNAであることを表す。

20

【0299】

（C. 直接血清PCR）

血清または他のクローニング供給源または関連する供給源材料を、選択したクローニング配列由来のプライマーを用いるPCRにより直接試験した。これらの実験において、HGVウイルス粒子をポリエチレングリコール（PEG）を用いて血清から直接沈殿させるか、またはPNFおよび特定の他の血清の場合は、超遠心分離によりペレット化した。RNAの精製のために、ペレット化した材料をグアニジニウムチオシアネートに溶解させ、そして酸性グアニジニウムフェノール技法（Chomczynskiら）により抽出した。

30

【0300】

あるいは、市販の試薬（例えば、「TRI REAGENT」（Molecular Research Center, Cincinnati, OH）または「TRIZOL」（Life Technologies, Gaithersburg, MD）の使用により実施および補充される本方法の改変、ならびに関連のプロトコルを用いてRNAを単離した。さらに、「PURESCRIPT」試薬およびプロトコル（Gentra Systems, Minneapolis, MN）の使用により、血清またはウイルスを含有する他の液体から、予めウイルス粒子を濃縮またはペレット化することなく、PCR分析に適切なRNAを直接単離した。

【0301】

単離したDNAをPCRのためにテンプレートとして直接用いた。RNAを逆転写酵素（Gibco/BRL）を用いて逆転写し、次いでcDNA産物を次のPCR増幅のためのテンプレートとして用いた。

40

【0302】

470-20-1の場合、 $20\mu\text{l}$ ～ $50\mu\text{l}$ のPNF血清由来の核酸を、各RT-PCRまたはPCR反応中へのインプットテンプレートとして用いた。プライマーを以下のように470-20-1配列に基づいて設計した：470-20-1-77F（配列番号9）および470-20-1-211R（配列番号10）。MMLV-RT（Gibco/BRL）およびランダムヘキサマー（Promega）を用い、室温で約10分間、 42°C で15分間、そして 99°C で5分間インキュベートし、急速に 4°C まで冷却すること

50

により逆転写を行った。100 μ l の反応物あたり1.75 mM MgCl₂、0.2 μ M ~ 1 μ M の各プライマー、各々200 μ M の dATP、dCTP、dGTP および dTTP、および2.5 ~ 5.0 ユニットの Taq DNA ポリメラーゼ（「AMPLITAQ」、Perkin-Elmer）を含有する反応物中のPCRにより、精製することなく、合成cDNAを直接増幅した。サイクルは、「GENEAMP SYSTEM 9600」熱サイクラー（Perkin-Elmer）において、94℃で少なくとも1分間、続いて変性（10サイクルについては94℃で15秒間；

続くサイクルについては92℃または94℃で15秒間）、アニーリング（55℃で30秒間）、そして伸長（72℃で30秒間）の40 ~ 45 反復であるか、または他の熱サイクラー（Perkin-Elmer；MJ Research、Watertown、MA）において相当するサイクル条件であった。

10

【0303】

陽性コントロールは、(i) Hoechst 33258 蛍光アッセイを用いて推定された濃度を有する先に増幅したPCR産物、(ii) 目的のDNA配列を有する精製プラスミドDNA、または(iii) T7、T3、またはSP6のようなファージRNAプロモーターの転写制御下に置かれる目的のDNA配列を含むプラスミドクローン由来の精製RNA転写物、および市販のインビトロ転写キットの使用により調製されたRNAから構成した。さらに、DNA増幅反応物のインヒビターの存在についてのコントロールとして、約10 ~ 100 コピー/ rxn. に相当する陽性コントロールDNAのアリコートをクリック供給源標本から抽出した核酸を含有する反応物中に加え得る。それぞれ別々の抽出物を少なくとも1つの陽性コントロールを用いて試験した。

20

【0304】

特異性の確認のために、特異的産物を特異的なオリゴヌクレオチドプローブ470-20-1-152F（配列番号16）へのハイブリダイゼーションにより検出した。10 μ l のPCR産物のハイブリダイゼーションを、約1 $\times$ 10⁶ cpmの³²P-標識470-20-1-152Fを含有する20 μ l の反応物中溶液で行った。特異的ハイブリッドを、ポリアクリルアミドゲルでハイブリダイズしなかったオリゴから電気泳動分離およびオートラジオグラフィーの後検出した。

【0305】

PNFに加えて、「血清PCR」プロトコル配列を用いて、正常血清から抽出された核酸もまた逆転写し、そして増幅した。正常ヒト血清からはシグナルが検出されなかった。PNF血清における特異的なシグナルを、470-20-1 特異的プライマーを用いて複数の抽出物中で再現可能に検出した。

30

【0306】

(D. SISP A 非クロニング核酸からの増幅)

SISP A（配列非依存単一プライマー増幅）増幅したcDNAをテンプレートとして使用した（実施例1）。選択されたクロニング配列から設計された配列特異的プライマーを用いてテンプレート由来の目的のDNAフラグメントを増幅した。代表的には、テンプレートはクロニング操作において使用されるSISP A増幅されたサンプルであった。例えば、増幅プライマーである470-20-1-77F（配列番号9）および470-20-1-211R（配列番号10）をクローン470-20-1 配列（配列番号3）から選択した。テンプレートとしてSISP A-増幅PNF2161 cDNAを用いてこれらのプライマーを増幅反応に用いた。

40

【0307】

増幅されたDNAフラグメントの同一性は、(i) 470-20-1 配列（配列番号3）に基づいて設計された特異的なオリゴヌクレオチドプローブ470-20-1-152F（配列番号16）とのハイブリダイゼーション、および/または(ii) サイズにより確認した。DNAプロット検出のために使用されるプローブを、製造業者（BMB）の推奨に従い末端トランスフェラーゼを用いてジゴキシゲニンで標識した。次いで、増幅したDNAへのハイブリダイゼーションを、サザンプロット分析または液体ハイブリダイゼー

50

ション (Kumarら、1989) 分析のいずれかを用いて行った。

【0308】

増幅反応において使用した陽性コントロールDNAは、その濃度をHoechst 33258蛍光アッセイにより推定した先に増幅したPCR産物、またはそれに代わってクローニングした目的の挿入物を含む精製プラスミドDNAであった。

【0309】

470-20-1特異的シグナルが、SISPA-増幅PNF2161からPCRにより増幅したcDNAで検出された。陰性コントロール反応物は非反応性であり、そして陽性コントロールDNAテンプレートが検出された。

【0310】

(E. 肝臓RNAサンプルからの増幅)

肝臓生検材料から、Cathalらの方法に従ってRNAを調製した。ここでは、組織を5Mのグアニジンチオシアネート中で抽出し、次いで4M LiClによりRNAを直接沈殿させた。RNAペレットを2M LiClで洗浄した後、残留する混入タンパク質をフェノール：クロロホルム抽出により除去し、そしてRNAをエタノール沈殿により回収した。

【0311】

基質として以下のRNA供給源を用いる増幅反応では470-20-1特異的プライマーもまた使用した：正常なマイスタックス肝臓RNA、正常なタマリン (Sanguinus labiatus) の肝臓RNA、およびMY131肝臓RNAである。MY131は、1mlのPNF2161血漿で静脈内に接種したマイスタックスである。肝臓酵素 (SCID) の明らかな増加および明白なウイルス感染の組織学的な証拠が存在した。組織学的相関は、肝臓がSCID活性がピーク時またはピーク時近くで得たMY131の肝臓において最も明らかであった。マイスタックス131の肝臓RNAは、HCVの非コードプライマー (配列番号7および配列番号8) を用いては増幅産物を生じなかった。

【0312】

増幅反応を2回の実験について重複して行った。これらの増幅反応の結果を表2に示す。

【0313】

【表2】

表2

470-20-1プライマーを用いるPCR

	実験 1		実験 2	
	A	B	A	B
正常なMy肝臓 RNA	-	-	-	-
正常なタマリンの肝臓 RNA	-	-	-	-
My 131 肝臓 RNA	+	+	+	+
PNF 2161	++	++	++	++

これらの結果は、470-20-1配列が親の血清サンプル(PNF2161)およびPNF2161サンプルの継代動物由来の肝臓RNAサンプル(MY131)中に存在することを示す。しかし、コントロールRNAは両方とも、470-20-1配列の存在について陰性であった。

【0314】

(F. RNAテンプレートを用いたポリメラーゼ連鎖反応による、HGV配列についての血清パネルのスクリーニング)

(1. 高-ALTドナー)

HGV特異的プライマーを用いる、肝炎患者由来の血清および肝機能異常の血液ドナー由来の血清のポリメラーゼ連鎖反応スクリーニングにより、HGVと肝臓疾患との間の疾患関連性を評価した。後者は、血清ALTレベルが1ml当たり45国際単位(International Unit)を超えるドナー血液由来の血清より構成された。 10

【0315】

総数152の血清よりなる血清パネルを選択した。以下の血清を血清パネルとして選択した: Stanford University Blood Bank (SUBB)でスクリーニングしたドナー血液由来の104の高-ALT血清;北カリフォルニア、エジプト、およびペルーからの34のN-(ABCDE)肝炎血清;および肝臓疾患および/または肝炎ウイルス感染の疑いのある他のドナー由来の14の血清である。パネルに対する陰性コントロールは以下の通りであった: ウイルス感染の危険因子の非存在が明らかである9名の高度にスクリーニングされた血液ドナー(SUBB)(例えば、O-陰性、Rh陰性; HIV、既知の肝炎因子、およびCMVに対して陰性; その複数の以前のドナー血液が疾患を引き起こすことなく輸血された「スーパーノーマル(super normal)」血清); および2名のランダムな血液ドナーである。これらの血清を、470-20-1プライマー77F(配列番号9)および211R(配列番号10)を用いるRT-PCRにより、HGV特異的配列の存在についてアッセイした。 20

【0316】

RNA抽出およびRT-PCRを、プライマー470-20-1-211Rの5'末端をビオチン化し、溶液中のハイブリダイゼーションを含む方法により、次いでストレプトアビジンでコートした常磁性ビーズを用いて、ハイブリダイズされたプローブの親和性捕捉により増幅産物の迅速なスクリーニングを促進した以外は、本質的に実施例4Cに記載されるように行った。親和性相互作用によりハイブリダイズした配列の捕捉を用いて特異的に標識したプローブへのハイブリダイゼーションによる核酸の分析方法は、核酸分析の技術分野で周知である。 30

【0317】

試験に利用可能な血清の量に応じて、30μl~50μlの血清由来のRNAをRT/PCR反応に用いた。反応あたり10コピー、100コピーまたは1000コピーのRNA転写物に相当する陽性コントロールおよび適切な陰性コントロール(緩衝液)を用いて各々の血清を重複して試験した。陰性コントロールは反応せず、そして反応あたり少なくとも10コピーが各PCR反応において検出可能であった。特異的なハイブリダイジングシグナルが2つの重複する反応物の1つのみに存在するとき、不確かな結果であると定義した。 40

【0318】

この血清パネルの増幅分析由来の産物の、効率的で高い感度の分析を、電気化学発光オリゴヌクレオチドプローブを用いる親和性に基づくハイブリッド捕捉のために特別に設計された器具(QPCR System 5000TM、Perkin-Elmer)を用いて行った。QPCR 5000TMを利用するアッセイは先に記載されている(Dicesareら; Wagesら)。

【0319】

各反応の産物を、プローブ470-20-1-152F(電気化学発光ルテニウムキレートを用いて5'末端標識した)に対するハイブリダイゼーション、および「QPCR 50 50

5000」を用いる測定によりアッセイした。所定の増幅反応における陰性コントロールの平均値の合計および標準偏差の3倍のカットオフに基づいて、総数34の陽性の可能性を有するサンプルを確認試験のために選択した。

【0320】

34のサンプルを溶液ハイブリダイゼーションおよび電気泳動により分析した（実施例4C）。これら34のサンプルのうち、6つの血清（すなわち、6/152）が重複反応で特異的にハイブリダイズする配列を有することが示された。これらの6個のサンプルのうち、3個は陽性コントロールとの比較により強く反応性であった：SUBBからの1つの高ALT血清、およびエジプトからの2つのN-（ABCDE）血清である。

【0321】

第2の血液サンプルを、最初のサンプルが採血されてから1年後の高度に陽性なSUBB血清ドナーから得た。第2の血清サンプルは、上記のPCR法によりHGV陽性であることが確認された。この結果は、ヒトにおけるHGVによる持続性感染を確証する。この血清を「JC」と称した。さらに、この血清ドナーはHCV陰性であり（血清反応性試験およびPCRにより測定された）、そしてHAVおよびHBVに対して抗体陰性であった。

10

【0322】

さらに、エジプトからの第3のN-（ABCDE）血清、N-（ABCDE）肝炎の北カリフォルニア血液ドナー血清およびN-（ABCDE）肝炎血清もまた、この方法により弱く陽性であることが示された。2つの他の血清は、2つの増幅反応物の1つにおける特異的配列の存在として定義される不確かな結果を与えた。

20

【0323】

これらのHGV陽性血清および不確かな血清由来の重複した血清のアリコートの後のPCR分析は、試験した8つの血清うち6つがHGV陽性の結果を与え、そして残りの2つの血清が不確かな結果を与えた。

【0324】

第2のプライマーセットをHGV陽性サンプルの確認のために使用した。診断増幅のためのこのプライマーセット（GV57-4512MF、配列番号121、およびGV57-4657MR、配列番号122）を、推定のNS5コード領域に由来するHGVの保存領域から選択した。約2.2kbのフラグメントを5つの別々のHGV単離物から増幅した。増幅反応に使用したプライマーは、470EXT4-2189R（配列番号119）および470EXT4-29F（配列番号120）であった。増幅したDNAフラグメントを配列決定し、そして配列を並べた。並びから高度に保存された領域が同定された。そして最適プライマー配列を、5つの配列にわたって相違したままであるような位置で、混合された塩基合成を取り込んで設計した。得られたNS5プライマーは以下の通りであった：GV57-4512MF、配列番号121、およびGV57-4657MR、配列番号122。これらのプライマーを用いて試験サンプルから165bpの診断用フラグメントを増幅した。

30

【0325】

内部プローブ配列であるGV22dc-89MF（配列番号123）は、特異的に増幅された産物の検出のために、他の高度に保存された領域に由来した。このプローブはまた、低いストリンジエンシー条件下で相違が最小限であるHGV配列の検出を可能にするに十分な長さである。

40

【0326】

診断用NS5配列の存在についての標本の分析は、470-20-1プライマーについて記載されたような、サンプル調製、増幅、および液体ハイブリダイゼーションと同一条件（実施例4C）に従った。470-20-1およびNS5の両プライマー対を用いるPCRにより分析した血清サンプルの結果の一致を表3に示す。

【0327】

【表 3】

表 3

NS5-領域 プライマー 対 (GV57)	470-20-1 プライマー 対			
		+	-	不確実
	+	71	0	1
	-	6	13	2
	不確実	2	1	0

10

HGV陽性であると上で同定された8つの血清から得た別のアリコートのあるPCR分析を、470-20-1プライマーセット（配列番号9および配列番号10）およびNS5プライマーセットを用いて行った。これらのアッセイにおいて、HGV PCR分析は一致して8つの血清のうち5つにおいて陽性の結果を与えた。これらの結果を表4に表す。

【0328】

対照的に、2つのランダムドナー血清または9の高度にスクリーニングされた「スーパーノーマル」血清はどちらのセットのPCR分析においても陽性でなかった。

20

【0329】

これらの結果は、HGVと肝臓疾患との間の疾患関連性を強める。

【0330】

【表 4】

表 4

Specimen 群	試験した数	ポジティブの数
高 -ALT ドナー	104	1
非 -ABCDE, その他	48	4
正常なドナー	2	0
"スーパーノーマル"	9	0
総数	163	5

30

40

高 -ALT ドナー由来の血清のさらなる試験は以下の結果を与えた。上記の104の血清の最初のパネルに加えて、総数495の血清を試験した。これら495の標本のうち、6つはプライマー対470-20-1-77F（配列番号9）および470-20-1-211R（配列番号10）を用いてHGV陽性と同定された。これら6つの血清は以下のHCVプロファイルを有する：R25342、HCV陰性；R17749、HCV陽性；J53171、HCV陽性、HBV陽性；J54406、HCV陰性；R08074、HCV陰性；およびX31049、HCV陰性。陽性のスコアは、少なくとも2回の別の反

50

応における繰り返された反応性を基準とする。R 2 5 3 4 2 を試験し、そして N S 5 プライマー対を用いる P C R により陽性であることが確認された。従って、約 1. 2 % の検出率が観察された（試験した 5 9 9 のうち 7）。

【0 3 3 1】

P C R（4 7 0 - 2 0 - 1 プライマー対）による H G V R N A についての試験のために、A L T が上昇した血液ドナー由来の新たに得た血漿サンプルをまた、S U B B、P e n i n s u l a B l o o d B a n k（B u r l i n g a m e、C A）、および N e w Y o r k B l o o d C e n t e r（N e w Y o r k、N Y）から得た。試験した総数 2 1 4 のドナー血液のうち、総数 5 つ（約 2. 3 %）が H G V R N A 陽性であった。これらの 5 つの血清は以下の H C V プロファイルを有する：T 5 5 8 0 6、H C V 陽性；T 5 5 8 7 5、H C V 陰性；T 5 6 6 3 3、H C V 陰性；R 3 8 7 3 0、H C V 陰性；および 3 8 3 1 7 8 1、H C V 陰性である。これらのドナーの 2 名（T 5 5 8 0 6 および T 5 5 8 7 5）からの後のドナー血液もまた、H G V R N A 陽性であった。T 5 5 8 0 6、T 5 5 8 7 5 および T 5 6 6 3 3 を試験し、そして N S 5 プライマー対を用いる P C R により陽性であることが確認された。

10

【0 3 3 2】

（2. 受託された血液ドナーのスクリーニング）

正常な血液ドナー集団における H G V の流行を評価するために、S U B B で輸血のためにスクリーニングされた血液ドナーから血清を採血した。総数 9 6 8 の標本（7 6 9 名の個体ドナーを表す）を H G V R N A について試験した。サンプルを 4 7 0 - 2 0 - 1 プライマー対を用いる P C R によりスクリーニングした。

20

【0 3 3 3】

総数 1 6 の血清が検出可能な H G V R N A を有すると同定された。これらのうち、6 つは 3 名のドナー由来の重複した血清であり、試験された 7 6 9 名中総数 1 3 名の個体ドナーが R N A P C R により H G V 陽性であった。すべての陽性なサンプルを試験し、そして N S 5 プライマー対を用いる P C R により陽性であることが確認された。これらのドナーは、正常な A L T レベル、ならびにそうでなければ通常の血清学により特徴付けられた。従って、正常な血液ドナー集団中で試験した血清の約 1. 7 % が H G V 陽性であった。従って、H G V の存在は受託された血液ドナーおよび拒否された血液ドナーの両方で検出された。

30

【0 3 3 4】

（3. 種々の地理的な場所からの標本）

地理的に広範な供給源からの肝炎患者の集団における H G V 感染の存在を P C R により評価した。P C R 反応は、4 7 0 - 2 0 - 1 P C R プライマー対を用いて本質的に実施例 4 C に記載されるように行った。エジプト、ギリシャ、オーストラリア（実施例 4 F - 4 を参照のこと）、ペルー、イギリス、イタリア、ドイツ、韓国、アメリカ合衆国、および日本からの血清サンプルを試験した。試験した全ての集団のサブセットで H G V R N A が検出可能であった。

【0 3 3 5】

（4. 輸血後関連 H G V 感染および非経口伝染）

40

H G V R N A がいくつかの輸血後肝炎症例において検出された（実施例 4 F - 3 に含まれた日本およびヨーロッパからの症例）。日本からの 1 つ、アメリカからの 2 つ、およびオーストラリアからの 1 つの総数 4 つの症例について、H G V R N A の存在について、複数の時点でアッセイした。これらの症例の 3 つについては、（i）輸血前サンプルが利用可能であり患者の以前の H G V の状態を確認し、そして（ii）これらの 3 つの症例に対する個々の血液ドナーからのサンプルが利用可能でありドナーの H G V の状態を確認した。

【0 3 3 6】

第 1 の症例は 1 9 8 0 年 1 2 月 2 日に輸血された日本人患者である。輸血後、この患者は非 B 型、非 C 型肝炎を発症した。この患者からの総数 5 つの血清を、4 7 0 - 2 0 - 1

50

プライマー対を用いるPCRによりHGV RNAについて試験した。HGV RNAは、輸血後約2週間から約8ヶ月検出可能であった。輸血後1年を超えて採取されたサンプルは不確か（すなわち、重複する反応の1つにおいてのみ陽性）であった。輸血前のサンプルは試験に利用可能でなかった。

【0337】

症例BIZおよびSTO（それぞれ、表5および表6）は、将来を見通して追跡したNIHで行われた心臓手術研究（Alterら、1989）からの患者である。これらの患者の各々について、輸血後血清が利用可能であり、そして470-20-1プライマー対を用いるPCRによりHGV RNAについて陰性であると測定された。BIZを試験すると、輸血後1日目から輸血後198週目までHGV RNAについて陽性であった。BIZについては総数9名の血液ドナーのうち、試験した8名のうち2名がHGV陽性であることが見出された。STOを試験すると、輸血後5週目から輸血後92週目までHGV RNAについて陽性であった。

10

【0338】

【表5】

表5

HGVの輸血関連伝染：症例BIZ

採取日	時間	ALT (IU/L)	470 PCR の結果
10/30/78	-4 日	23	-
11/01/78	-1 日	31	-
11/03/78	+1 日	29	+
11/17/78	+2 週	51	+
03/22/79	+20 週	135	+
06/28/79	+34 週	133	+
04/06/81	+127 週	141	+
08/20/82	+198 週	39	+

20

30

【0339】

【表 6】

表 6

HGVの輸血関連伝染：症例ST0

採血日	時間	ALT (IU/L)	470 PCR の結果
06/15/83	-1 日	23	-
07/18/83	+5 週	80	+
10/31/83	+20 週	75	+
12/31/83	+28 週	30	+
01/02/85	+81 週	90	-
03/20/85	+92 週	23	+

10

4 番目の症例はまた、オーストラリアのシドニーで行われた輸血後肝炎研究に参加した、将来を見込んで追跡された心臓手術患者であった。他の同定可能な危険因子を有さない患者（PA-124）に、手術の間に14ユニット（4ユニットのパックされた赤血球細胞、10ユニットの血漿板）の血液が輸血された。これらの14ユニットのうち、1つはHGV陽性であり、他の13はHGV陰性であった。14名の血液ドナーのHBVおよびHCV血清学分析は、反応性のHCV EIA（第1世代試験）を除いて陰性であった。他のHCV試験では陽性の知見は確認されなかった。

20

【0340】

患者PA-124（表7）では、手術後2週間目に採血されたサンプルから血清ALTが上昇し始め、そして14週間の期間に少なくとも手術前の10倍のレベルが観察された。PA-124由来の輸血前4週間目、および8週間目の血清において行われたHCVについてのPCRの結果は、全て陰性であった。この患者由来の血清を470-20-1 PCRプライマーを用いてHGV RNAについて試験した。輸血前サンプルはHGV RNAについて陰性であった。輸血後に陽性の結果が示され、ALTの上昇に伴い、そしてそれに一致した。HGV RNAの存在は、輸血後1年まで検出された。これらのデータはHGVは非経口的に伝染し得るという結論を支持する。

30

【0341】

【表 7】

表 7

HGVの輸血関連伝染：症例PA-124

手術後の日数(週)	ALT (IU/L)	470 PCR の結果
輸血前	7	-
2	74	+
4	86	+
8	135	+
12	179	+
14	78	+

手術後の日数(週)	ALT (IU/L)	470 PCR の結果
18	9	+
24	6	+
36	11	+
52	11	+
64	23	-
84	10	-

40

将来を見込んで追跡した輸血後の症例に加えて、複数の輸血および静脈内薬剤使用（I

50

V D U) により定義される危険グループにおいてさらなる H G V 感染の症例が同定された (表 8)。

【0342】

【表 8】

表 8

コードされた血清の HGV RT-PCR 試験：選択された肝炎および非経口危険グループ

グループ	試験した数	陽性数
自己免疫性肝炎	10	0
原発性胆硬変	20	0
急性非 A-E 肝炎の疑い	24	2
慢性肝炎 (非 A-C) (肝臓生検により確認)	34	3
造血細胞ガン	20	2
慢性 HBV	20	2
慢性 HCV	50	6
血友病	49	9
IVDU	54	15
複数回輸血された貧血	100	19

100 名の複数回輸血された鎌形細胞性貧血患者および地中海貧血患者中、19 名 (19%) が検出可能な血清 HGV RNA を有することが見出された。同様に、49 名の血友病患者中 9 名 (18%) が、470-20-1 および NS5 プライマーを用いると HGV 陽性であることが見い出された。重要なことに、54 名の IVDU 中 15 名 (28%) が HGV RNA について PCR 陽性であった。これらの非経口危険グループにおける感染率 (18%~28%) は、ALT の上昇した血液ドナーの感染率 (1%~2%) より高いようである。これらの結果は、HGV 伝染について非経口的経路の重要性を増援する。

【0343】

(5. 選択された肝炎疾患グループの PCR スクリーニング)

急性および慢性肝炎、造血細胞ガン、HBV 感染または HCV 感染の患者由来の血清を、ポリメラーゼ連鎖反応を用いて HGV の存在について試験した (データを表 8 に示す)。肝臓疾患の患者由来の標本のセットの各々で、HGV 陽性の標本が示された (自己免疫性肝炎および原発性胆硬変を除く；両方の病態は感染因子と強く関連していないと考えられる)。

【0344】

輸血後の肝臓患者由来の血清のコレクションにおいて示されるように (実施例 4F-4)、HGV 感染が急性肝炎の間に確認されているが、循環するウイルス RNA は月単位から年単位で測定された期間について慢性感染の間継続して検出される。

【0345】

HBV 感染および HCV 感染患者において、約 10%~20% の同時感染率が観察された。従って、HGV 感染は、他の肝炎ウイルスとの同時感染を伴う肝炎または伴わない肝炎と関連することを示す。同時感染は、これらの肝炎ウイルスの伝染と類似の危険因子および経路を反映し得る。上記のように、血友病患者、IVDU 患者、および複数回輸血さ

れた貧血患者のような非経口危険グループでは、（他の肝炎危険グループに比較して）HGVの罹患率がより高かった。

【0346】

（6. ヒトにおけるHGVによる持続性感染）

輸血後の肝炎症例であるBIZ、STO、およびPA-124は、輸血後および急性肝炎後、それぞれ3.8年、1.8年、および1.0年までPCRで検出可能なウイルスRNAを有することが示された。さらなる血清サンプルを、ドナーJC（実施例4F-1）から、最初の陽性サンプルの後1年目および1.5年目に得た。これらの追跡血清サンプルもまたHGV陽性であった。他の高ALTドナー（T55806、T55875、R25342）から、最初にHGV感染が検出された血清サンプルの数カ月後に得られたさらなる血清もまた、陽性であった。同様に、HGV感染が実験霊長類（CH1356、実施例4H）において確認された場合、HGV RNAは接種後1.5年にわたって検出された。これらのデータは、ヒトおよび実験霊長類における持続性HGVウイルス血症を確立する。

10

【0347】

（G. 配列決定のための患者RNA由来の長いフラグメントの増幅）

種々のHGV単離体の配列情報を得るために、PCRプライマーを設計してHGVゲノムのいくつかの有益な領域を増幅した。当初の470-20-1配列を含んでいた2.2kbのフラグメントを増幅するためにプライマー470EXT4-2189R（配列番号119）および470EXT4-29F（配列番号120）を設計した。サンプル由来のRNAを「SUPERSCRIPT II」逆転写酵素（Gibco/BRL、Gaitheersburg、MD）を用いて逆転写した。得られたcDNAを、効率的な長範囲PCRのための試薬（「XL PCR BUFFERS」および「rTth-XL」、Perkin Elmer/Applied Biosystems Div.、Foster City、CA）を用いて増幅した。

20

【0348】

アガロースゲル電気泳動で正しいサイズのバンドが検出される場合、増幅反応は陽性と考えられる。増幅産物の予備的DNA配列決定によりサンプルを陽性として確認した。以下の血清サンプルを試験したところ、この増幅法によりHGV RNAについて陽性であった：PNF2161；R10291（JC）；および北アメリカ人、エジプト人、および日本人グループのそれぞれ由来の標本。しかし、ペルー人の血清からは陽性サンプルは検出されなかった。

30

【0349】

種々のHGV陽性標本からの成功した増幅により、上記の470-20-1プライマー対を用いるPCR増幅により得られた結果が確認された。しかし、増幅が得られないことは、乏しいRNA量または低コピー数、または選択されたプライマーセットが全般的に機能しないため単離体間の局所的な配列の差異を反映し得る。

【0350】

HGVゲノムの推定の5'非翻訳領域から配列情報を得るために、プライマーを設計して5'非翻訳領域由来のフラグメント（HGV PNF2161変異体に基づく）を増幅した。2つのフラグメントを以下のプライマーセットにより規定した：FV94-22F（配列番号124）およびFV94-724R（配列番号125）、728塩基対のフラグメントを生じる；およびFV94-94F（配列番号126）およびFV94-912R（配列番号127）、847塩基対のフラグメントを生じる。

40

【0351】

効率的な長範囲PCRを促進するために記載された方法をそのまま使用した。試験したほとんどのサンプルから産物が得られ、サンプル中のHGV RNAの存在のさらなる確認を提供した。

【0352】

（H. 霊長類におけるHGVの感染力）

50

2匹のチンパンジー（CH1323およびCH1356と称する）、6匹のカニクイザル（CY143、CY8904、CY8908、CY8912、CY8917、およびCH8918）、および6匹のマイスタックス（MY29、MY131、MY98、MY187、MY229、MY254）被験体にPNF2161を接種した。接種前血清および接種後血清を、ALTおよびHGV RNA配列の存在（上記のPCRスクリーニングにより決定される）についてモニターした。

【0353】

1匹のカニクイザル（CY8904）が総数17の別々の採血血液から陽性のRNA PCR結果（接種後39日）、および1つの不確かな結果を示した。CH1356と称する1匹のチンパンジーにおいて、持続性ウイルス血症がRT-PCRにより観察された。表9に示されるように、有意なALTの上昇は観察されず、そして循環するウイルスは、接種のかなり後の時点でのみ検出された。ウイルス血症は接種後118日目およびそれ以後に観察された。最初の接種後時点（8日目）において示唆的な反応性もまた観察されたが、これは接種物の残留を示し得る。

10

【0354】

【表 9】

表 9

PNF 2161接種後のCH1356からのALT結果およびPCR結果

接種後の日数	ALT*	HGV PCR
0	59	-
8	65	±
15	85	-
22	89	-
29	89	-
36	86	-
39	31	-
47	74	-
54	40	-
61	57	-
84	65	±
89	63	+
98	64	-
118	84	+
125	73	+
134	74	+
159	80	+
610	(ALT は利用不可)	+

* 接種前の平均ALTベースラインは50であった。

上に表す結果は、実験霊長類においてHGV感染から1.7年まで持続したことを示す。

【0355】

(I. ウイルスゲノムの特徴付け)

cDNAライブラリー（実施例1）からの470-20-1の単離は、PNF2161において検出されたウイルスゲノムがRNAであったことを示す。HGVウイルスゲノムのRNAとしての同一性を確認するさらなる実験は以下を包含する。

【0356】

最初のクローニング供給源におけるRNAまたはDNAのいずれかの選択的な分解（例えば、DNaseフリーのRNaseまたはRNaseフリーのDNaseによる）に続くHGV特異的プライマーを用いる増幅、およびRNAテンプレートをDNAテンプレートと区別する役割をする増幅産物の検出。

【0357】

代替方法は、増幅反応物（テンプレートとして最初のクローニング供給源由来の核酸、およびHGV特異的プライマー）を利用する。この方法は、(i) 反応物中のRNA依存

性DNAポリメラーゼ（すなわち、逆転写酵素）の非存在下で、DNA依存性DNAポリメラーゼ、および（i i）反応物中のDNA依存性DNAポリメラーゼおよびRNA依存性DNAポリメラーゼを用いる。この方法では、HGVゲノムがDNAであるまたはDNA中間体を有する場合、増幅産物は両方のタイプの増幅反応物で検出される。HGVゲノムがRNAのみである場合、増幅産物は逆転写酵素含有反応物のみにおいて検出される。

【0358】

実施例4Cに記載されるように、プロテイナーゼKおよびSDSに続いてフェノール抽出を用いてPNF2161から総核酸（すなわち、DNAまたはRNA）を抽出した。この精製された核酸を、次いでポリメラーゼ連鎖反応（PCR）を用いて増幅した。ここで、（i）PCRに先だって逆転写工程を行うか、または（i i）逆転写工程を省略した。PCR反応に先だって逆転写を行った場合のみ増幅が再現性良く得られた。コントロールとして、DNAテンプレートが別の反応でうまく増幅された。これらの結果は、HGVウイルスゲノムの本質はRNAであることを示す。

10

【0359】

本来PNF2161に存在していたクローン化された鎖である2本鎖DNA配列は、以下を含む種々の手段により推定され得る。感染した供給源血清由来の増幅されなかったゲノムRNAのノーザンブロッティングまたはドットブロッティングに続いてクローン化配列の各鎖に対応するプローブに対する重複プロットハイブリダイゼーションを行い得る。あるいは、感度を高めるために、M13ベクター（Messing）から単離された1本鎖cDNAプローブ、または複数の鎖に特異的なオリゴヌクレオチドプローブを使用する。供給源血清が1本RNAを含有する場合、1つのプローブのみ（すなわち470-20-1クローンの1つの鎖由来の配列）が、適切な条件のハイブリダイゼーションストリンジェンシーの下でシグナルを生じる。供給源血清が2本鎖RNAを含有する場合、両鎖プローブがシグナルを生じる。

20

【0360】

逆転写を先に行い、1つまたは他の特異的なプライマーを用いるポリメラーゼ連鎖反応は、ノーザンブロッティングよりもはるかに高い感度を示す。PNF2161血清に存在する精製ビリオンから抽出したゲノムRNAを、各RT/PCRにおいてインプットテンプレートとして用いる。ランダムヘキサマーを用いるcDNA合成よりむしろ、HGV配列特異的プライマーを用いた。1つのcDNA合成反応を、クローン化配列の1つの鎖に相補的なプライマー（例えば、470-20-1-77F）を用いて行い；第2のcDNA合成反応をさらに、対向する鎖に由来するプライマー（例えば、470-20-1-211R）を用いて行った。

30

【0361】

得られた第1鎖cDNAを、2つのHGV特異的プライマーを用いて増幅した。PCRによる首尾良い増幅のためにコントロールを含めた（例えば、DNAコントロール）。

【0362】

記載される特異的プライマーを用いる場合、クローン化配列の各鎖のRNA転写物もまた、得られた逆転写効率についてのコントロールとして用いた。

【0363】

臭化エチジウム染色を用いて、アガロースゲル電気泳動により特異的産物を検出した。DNAコントロール（すなわち、PCR増幅についての2本鎖DNAコントロール）は、逆転写に用いられるプライマーに関係なく首尾良く増幅された。1本鎖RNA転写物（すなわち、逆転写効率および鎖特異性についてのコントロール）は、対向鎖プライマーがcDNA合成に使用された場合にのみ増幅された。

40

【0364】

PNF由来HGVポリヌクレオチドは、プライマー470-20-1-211Rが逆転写に用いられた場合のみ特異的な増幅産物を生じた。従って、これは、血清に存在する当初のHGVポリヌクレオチド配列は470-20-1-211Rに相補的であり、そしておそらく1本鎖RNAであることを示す。

50

【0365】

(実施例5 PNF 2161のスクロース密度勾配分離)

(A. PNF-2161因子のバンド化)

TNE (50mM Tris-Cl, pH 7.5、100mM NaCl、1mM EDTA) 中の連続勾配の10%~60%スクロース (「ULTRAPURE」、Gibco/BRL) を、Hoefler Scientific (San Francisco, CA) 製の勾配メーカーを用いて調製した。-70℃で保存し、37℃で迅速に解凍させ、次いでTNEで希釈した0.4mlのPNF血清を、約12.5mlの勾配に重層した。

【0366】

10

次いで、この勾配をSW40ローター (Beckman Instruments) 中で、4℃で約18時間、40,000rpm (r_{av} で約200,000×g) で遠心分離した。容量約0.6mlの画分をチューブの底から採集し、そして密度の算定のために、超遠心分離チューブ中で直接0.5mlの重さを計量した。

【0367】

【表 10】

表10

PNF画分の測定密度および470-20-1の存在

画 分	密 度	470-20-1 の 検 出 *
1	1.274	-
2	1.274	-
3	1.266	-
4	1.266	-
5	1.260	-
6	1.254	-
7	1.248	+
8	1.206	+
9	1.146	+
10	1.126	+++
11	1.098	++++
12	1.068	+++
13	1.050	+
14	1.034	+
15	1.036	+
16	1.018	-
17	1.008	+
18	1.020	+

*「+」および「-」のスコアは、最初に40サイクルのPCRに基づいた。

「+」、「++」、「+++」および「++++」を区別するために、最初の陽性スコアを与える画分(7-18)を30サイクルのPCRで増幅した。

次いで、推定ウイルス粒子を、Ti70.1ローター中で、4℃で2時間、40,000rpm（約110,000×g）で遠心分離することによりペレット化し、そして酸性グアニジニウムフェノール技法（「TRI REAGENT」、Molecular Research Center、Cincinnati、OH）を用いて抽出し、そして回収を改善するためのキャリアとしてグリコーゲンを用いてアルコール沈殿した。この精製核酸を、2mM DTTおよび1U/μlの組換えRNasinを含有する緩衝液（RNaseを含まない）に溶解した。

【0368】

RNA PCR（実施例4C）による勾配画分の分析は、 $1.126\text{ g/ml} \sim 1.068\text{ g/ml}$ の範囲の密度の画分に局在化する470-20-1特異的シグナルの明瞭なピークを示した（表10）。従って、これらの条件下で、470-20-1シグナルは、スクロース勾配におけるウイルス粒子の予想される挙動と一致する分離したバンドを形成することが示された。

【0369】

（B．ウイルス粒子相対密度）

PNF2161はHCVと同時感染することが示された（上記参照）。他の概知の肝炎ウイルス粒子に対する470-20-1ウイルス粒子の性質を比較するために、血清PNF2161および精製A型肝炎ウイルスのサンプルを（上記のように）スクロース勾配上に載せた。画分（ 0.6 ml ）を採集し、ペレット化し、そしてRNAを抽出した。各画分由来の単離したRNAを、HAV（配列番号5；配列番号6）、HCV（配列番号7；配列番号8）および470-20-1（配列番号9、配列番号10）特異的プライマーを用いる増幅反応（PCR）に供した。

10

【0370】

アガロースゲル上の増幅反応物の電気泳動的分離と後の臭化エチジウム染色により産物バンドを同定した。この分析の結果を表11に示す。

【0371】

【表 1 1】

表11

平均密度	HAV	HCV	470-20-1
1.269	-	-	-
1.263	+	-	-
1.260	+	-	-
1.246	++	-	-
1.238	++	-	-
1.240	+	-	-
1.207	+	-	-
1.193	+	-	-
1.172	+	±	-
1.150	+	±	±
1.134	+	+	±
1.118	+	+	+
1.103	+	+	+
1.118	+	+	+
1.103	+	+	+
1.088	±	+	+
1.084	-	+	+
1.080	-	+	+
1.070	-	+	+
1.057	-	+	±
1.035	-	±	-
1.017	-	-	-
1.009	-	-	-

これらの結果は、470-20-1粒子がHAVよりもHCV粒子に類似することを示唆する。

【0372】

さらに、血清PNF2161およびHAV粒子をスクロス勾配遠心分離の前にクロロホルムで処理した。これらの実験の結果は、470-20-1因子がエンベロープウイルスであり得ることを示唆する。なぜならそれは非エンベロープウイルス（HAV）よりもエンベロープしたフラビウイルス科のメンバー（HCV）に類似の性質を有するからである。

【0373】

（実施例6 470-20-1伸長クローンの作製）

（A. アンカーPCR）

10

20

30

40

50

実施例 1 に記載されるように、PNF 2161 血清から直接 RNA を抽出した。RNA を「CHROMA SPIN」100 ゲル濾過カラム (Clontech) を通過させて小分子量の不純物を除去した。cDNA を BMB cDNA 合成キットを用いて合成した。cDNA 合成の後、PNF cDNA を、50 倍～100 倍過剰の KL-1 / KL-2 SISPALinker または JML-A / JML-B Linker (それぞれ、配列番号 11 / 配列番号 12、および配列番号 17 / 配列番号 18) に連結し、そしてプライマー KL-1 またはプライマー JML-A のいずれかを用いて 35 サイクルの増幅を行った。

【0374】

EcoRI 消化 (脱リン酸化) λ gt11 アーム (1 μ g) および EcoRI 消化 PNF cDNA (0.2 μ g) を含有する 10 μ l ライゲーション反応物からの 1 μ l のア
10
リコートのアンカー PCR により 470 の伸長クローンを作製した。ライゲーション反応物の PCR 増幅 (40 サイクル) を、470-20-77F (配列番号 9) または 470-20-1-211R (配列番号 10) のいずれかと組み合わせた λ gt11 逆プライマー (配列番号 13) を用いて行った。PCR について全てのプライマー濃度は 0.2 μ M であった。

【0375】

増幅産物 (9 μ l / 100 μ l) を 1.5% アガロースゲルで分離して、「NYTRAN」(Schleicher and Schuell、Keene、NH) にブロット
20
し、そして 470-20-1 に特異的なジゴキシゲニン標識されたオリゴヌクレオチドプローブを用いてプローブした。ジゴキシゲニン標識はターミナルトランスフェラーゼ (BMB) を用いて製造業者の推奨に従って行った。ハイブリダイズしたバンドをゲル精製し、「TA CLONING VECTOR PCR II」(Invitrogen) にクローン化し、配列決定した。

【0376】

470-20-1 の 5' 側および 3' 側の両方の伸長部を有する多くのクローンが同定された。全ての配列は、少なくとも 2 つの独立した単離体の配列決定からのコンセンサス配列に基づく。このアンカー PCR アプローチを同様の方法で反復してさらなる 5' およ
30
び 3' 伸長配列を得た。 λ gt11 逆プライマー (配列番号 13) を先の伸長クローンから得た配列に由来する HGV 特異的プライマーと組み合わせてこれらの PCR 増幅反応を行った。これらの反応の基質は、パッケージされていない PNF 2161 2-cDNA 供給源 DNA であった。

【0377】

配列決定を、Applied Biosystems モデル 373A DNA 配列決定システムを用いて製造業者 (Applied Biosystems、Foster City、CA) の推奨に従って「ジデオキシターミネーターサイクル配列決定法」(Sanger らの手順の改変法) により行った。配列データを配列表に示す。配列を、「GENBANK」、EMBL データベースおよび dbEST (National Library of Medicine) の配列と核酸レベルおよびアミノ酸レベルの両方で比較した。サーチプログラム FASTA、BLASTP、BLASTN および BLASTX (Altschul ら) は、これらの配列が核酸およびアミノ酸配列の両方で新規であるこ
40
を示した。

【0378】

選択されたプライマー対を用いて得た個々のクローンを並べてコンセンサス配列を得た。HGV-PNF 2161 変異体の配列を構築するために用いた 1 連のコンセンサス配列は以下の通りである：4E3、配列番号 26；3E3、配列番号 27；2E5、配列番号 28；1E5、配列番号 29；4E5、配列番号 30；3E5、配列番号 31；2E3、配列番号 32；1E3、配列番号 33、4E5-20、配列番号 34；5E3、配列番号 39；6E3、配列番号 40；7E3、配列番号 42；5E5、配列番号 43、6E5 (44F)、配列番号 44；8E3、配列番号 98；9E3、配列番号 109；10E3、配列番号 110；11E3、配列番号 116；12E3、配列番号 118；5' 末端、配
50

列番号175；および3'末端、配列番号167。

【0379】

個々のコンセンサス配列を並べ、重複する配列を同定し、そしてHGV-PNF2161変異体のコンセンサス配列を決定した。このコンセンサス配列を4つの他のHGV変異体：JC（配列番号182）、BG34（配列番号176）、T55806（配列番号178）、およびEB20-2（配列番号180）について得られた配列と比較した。

【0380】

HGV-PNF2161変異体のコンセンサス配列は配列番号14に示される9391塩基対からなる。この配列は連続するオープンリーディングフレームを表す（配列番号15）。

10

【0381】

ポリタンパク質のKyte-Doolittle疎水性プロットを図11に示す。

【0382】

当初の470-20-1クローンと伸長により得られた配列との間の関係を図1に概略的に示す。図に見られるように、このDNA鎖は長い連続するオープンリーディングフレームを含む470-20-1のタンパク質コード配列とは反対の極性を有する。

【0383】

HGVのアミノ酸配列を、PIRデータベース（IntelliGenetics, Inc.、Mountain View, CA）のタンパク質配列中の全てのウイルス配列の配列に対して比較した。プログラムバージョン1.7（Pearsonら）の「FASTA」スーツ（suite）の「SSEARCH」プログラムを用いて比較を行った。HGV配列と、フラビウイルス科ウイルスの2つのウイルスとの間に局部的に配列が類似する領域を見出した。類似性アラインメントを図5Aおよび図5Bに示す。

20

【0384】

これらのアラインメントには、これらのウイルスのRNA依存性RNAポリメラーゼ（RDRP）のモチーフが存在する。保存されたRDRPアミノ酸モチーフを図5Aおよび図5Bに星印および上付き太字で示す（KooninおよびDolja）。これらのアラインメントは、HGVコード配列のこの部位がRDRPに対応することを示す。HGVのRNAゲノムに関するデータと組み合わせると、このアラインメントデータはフラビウイルス科のメンバーとしてのHGVの位置づけを支持する。

30

【0385】

HGVポリタンパク質（配列番号15）と、HCoV（ブタコレラウイルス）およびHCVとの全体的なアミノ酸配列同一性は、それぞれ17.1%および25.5%である。このようなレベルの全体的な配列同一性は、HGVがHCoVおよびHCVの両方とは別のウイルス実体であることを示す。例示すると、フラビウイルス科の2つのメンバーのウイルスであるBVDV（ウシジフテリアウイルス）およびHCVでは、16.2%のアミノ酸がHGVと全体的に並べられ得る。

【0386】

一般的に高い相同性を示す属内のメンバーは、全体的に並べられた場合、例えば、BVDVとHCoVは71.2%の同一性を示す。HCVがメンバーである命名されていない属の種々のメンバー（変異体）は、全体的に並べられた場合、65%から100%同一である。

40

【0387】

（B. RACE PCR：5'末端のクローニング）

HGVゲノムの5'末端を代表するクローンを、改変したアンカーPCRアプローチにより得た。このアプローチはRACE（cDNA末端の迅速な増幅）技法を利用した。RACE法はFrohmanら（1988）およびBelyauskyyら（1989）により最初に記載された。簡単に述べれば、HGVの5'末端クローンを以下のように得た。

【0388】

第1鎖cDNA合成をランダムヘキサマーを用いてプライムし、そして「SUPER S

50

C R I P T I I」または「r T t h」逆転写酵素 (G I B C O / B R L) のいずれかを用いて合成を行った。第 1 鎖の合成後、RNA テンプレートを塩基加水分解 (N a O H) により分解した。c D N A サンプルを酢酸の添加により中和し、そしてガラスマトリックス支持体 (「G E N O - B I N D」、C l o n t e c h、P a l o A l t o、C A) への吸収により精製した。精製後、c D N A をエタノール沈殿により濃縮し、そして 8 0 % エタノールで 2 回洗浄した。

【0389】

最初に記載された R A C E 法を以下のように改変した。1 本鎖オリゴヌクレオチドアンカー (配列番号 174) (C l o n t e c h) を、塩化コバルトの存在下で T 4 R N A リガーゼを用いて第 1 鎖 c D N A の 3' 末端に連結した。オリゴヌクレオチドアンカーを製造業者から得、2 回改変した: (i) アンカーの 3' 末端をアミノ基で修飾し、コンカテマー形成を防ぐ、そして (ii) 5' 末端はリン酸基を有し、第 1 鎖 c D N A へのライゲーションを可能にする。

【0390】

アンカーのライゲーションの後、いくつかの H G V 特異的プライマーをアンカー配列に相補的なプライマー (A P プライマー、配列番号 134) と組み合わせて用いる P C R 増幅のテンプレートとして、c D N A を用いた。得られた増幅産物をアガロースゲル電気泳動により分離し、フィルターに移し、そしてネストした H G V 特異的オリゴヌクレオチドプローブとハイブリダイズさせた。H G V プローブにハイブリダイズしたバンドを単離し、「p C R - I I」(I n v i t o r o g e n、S a n D i e g o、C A) にクローン化し、そして配列決定した。

【0391】

(C. H G V 3' 末端のクローニング)

H G V ゲノムの 3' 末端を代表するクローンを、改変したアンカー R T - P C R 法により得た。簡単に述べると、ポリ A ポリメラーゼ (G I B C O / B R L、G a i t h e r s b u r g、M D) を用いて c D N A 合成の前に P N F 2161 RNA にポリ (A) テール (t a i l) の付加を触媒した。ポリ (A) 付加は製造業者の推奨に従って行った。ポリ (A) 修飾 RNA の精製の後、「S U P E R S C R I P T I I」(G I B C O / B R L) を用いる逆転写をプライマー G V - 5446 I R T (配列番号 184) を用いて行った。得られた c D N A を以下のプライマーセットを用いる P C R により増幅した: G V 59-5446 F (配列番号 171) および G V - 5446 I R (配列番号 172)。

【0392】

増幅後、産物をアガロースゲル電気泳動により分離し、フィルターに移し、そしてジゴキシゲニン標識オリゴヌクレオチドプローブ (E 5-7-PRB、配列番号 173) とハイブリダイズさせた。オリゴヌクレオチドとハイブリダイズした産物を単離し、精製し、「p C R - I I」にクローン化して配列決定した。この方法により単離された 2 つのクローンは M P 3-3 (配列番号 168) および M P 3-7 (配列番号 169) であった。

【0393】

(実施例 7 470-20-1 融合タンパク質の単離)

(A. 470-20-1 / グルタチオン-S-トランスフェラーゼ融合タンパク質の発現および精製)

470-20-1 ペプチドを含有するグルタチオン-S-トランスフェラーゼ (s j 26) 融合タンパク質の発現を以下のように達成した。当初の λ g t 11 470-20-1 クローンに対応する 237 塩基対挿入物 (両側に 17 ヌクレオチドの S I S P A リンカーを有する) を、プライマー g t 11 F (配列番号 25) および g t 11 R (配列番号 13) を用いるポリメラーゼ連鎖反応および続く E c o R I 消化により当初の λ g t 11 470-20-1 クローンから単離した。

【0394】

挿入物を改変 p G E X ベクターである p G E X M O V にクローン化した。p G E X M O V はカルボキシ末端で 6 つのヒスチジンが融合した s j 26 タンパク質 (s j 26 h

i s) をコードする。この 470-20-1 ポリペプチドコード配列を、ベクター中の s j 26 h i s コード配列の下流に位置するコード部位でベクターに導入した。従って、470-20-1 ポリペプチドは、s j 26 h i s / 470-20-1 融合タンパク質として発現される。融合タンパク質の s j 26 タンパク質および 6 つのヒスチジン領域は、グルタチオン結合ビーズ (S m i t h, D. B ら) および固定化金属イオンビーズ (H o c h u l a ; P o r a t h) を用いる 2 重クロマトグラフィー法による融合タンパク質のアフィニティー精製を可能にする。

【0395】

E. c o l i W3110 株 (A T C C カタログ番号 27352) を p G E X M O V および 470-20-1 挿入物を含む p G E X M O V で形質転換した。s j 26 h i s タンパク質および 470-20-1 融合タンパク質は 2 m M イソプロピル-β-チオガラクトピラノシド (I P T G) の添加により誘導される。従来のイオン交換クロマトグラフィーと組合わせた公開された方法 (S m i t h, D. B ら; P o r a t h) に従って、融合タンパク質をグルタチオンアフィニティークロマトグラフィーまたは固定化金属イオンクロマトグラフィー (I M A C) のいずれかにより精製した。

【0396】

精製 470-20-1 融合タンパク質は P N F 2161 と免疫反応性であった。しかし、精製 s j 26 h i s タンパク質は P N F 2161 と免疫反応性ではなかった。これは 470-20-1 ペプチドと P N F 2161 との間の特異的な免疫反応の存在を示す。

【0397】

(B. 470-20-1 / B-ガラクトシダーゼ融合タンパク質の単離)

λファージ g t 11 または g t 11 / 470-20-1 のいずれかで感染した K M 392 溶原菌を、培養の O D が 0.4 に到達するまで 32℃ でインキュベートする。次いで、培養を 43℃ の水浴中で 15 分間インキュベートして g t 11 ペプチド合成を誘導し、そして 37℃ で 1 時間インキュベートした。細菌細胞をペレット化し、そして細胞溶解緩衝液 (10 m M T r i s, p H 7.4、2% 「T R I T O N X-100」 および 1% アプロチニン) 中で溶解した。細菌溶解物を遠心分離 (10 K、10 分間、S o r v a l l J A 20 ローター) により清澄化し、そして清澄化溶解物を抗 β-ガラクトシダーゼと結合した S e p h a r o s e 4 B ビーズ (P r o m e g a) とインキュベートする。

【0398】

β-ガラクトシダーゼ融合タンパク質の結合および溶出を製造業者の指示に従って行う。代表的には、タンパク質の結合およびカラムの洗浄は細胞溶解緩衝液で行った。結合したタンパク質を 0.1 M 炭酸/重炭酸緩衝液 (p H 10) で溶出する。精製 470-20-1 / b-ガラクトシダーゼタンパク質は P N F 2161 および抗 b-ガラクトシダーゼ抗体の両方と免疫反応性である。しかし、g t 11 溶原菌により発現され精製された β-ガラクトシダーゼは P N F 2161 とは免疫反応性でなく、抗 β-ガラクトシダーゼ抗体とは免疫反応性である。

【0399】

(実施例 8 470-20-1 融合タンパク質の精製および抗 470-20-1 抗体の調製)

(A. グルタチオンアフィニティー精製)

材料は、50 m l のグルタチオンアフィニティマトリックス還元型 (S i g m a)、X K 26 / 30 P h a r m a c i a カラム、2.5 × 10 c m B i o - R a d 「E C O N O - C O L U M N」 (R i c h m o n d, C A)、G i l s o n (M i d d l e t o n, W T) H P L C、D T T (S i g m a)、グルタチオン還元型 (S i g m a)、尿素、および二塩基性リン酸ナトリウムを含んでいた。

【0400】

融合タンパク質の精製には以下の溶液を用いた：緩衝液 A：リン酸緩衝生理食塩水、p H 7.4、

および緩衝液 B：50 m M T r i s p H 8.5、8 m M グルタチオン (還元型グルタ

10

20

30

40

50

チオン)

ストリップ緩衝液：8 M尿素、100 mM Tris pH 8.8、10 mMグルタチオン、1.5 NaCl。

【0401】

470-20-1挿入物を含むプラスミドpGEX MOVを有するE. coliを発酵槽(20リットル)中で増殖させた。細菌を採集し、そしてマイクロフリューダイザーを用いて2 mMフッ化フェニルメチルスルフォニル(PMSF)を含有するリン酸緩衝化生理食塩水(PBS)中で溶解した。他に示さない限り、以下の全ての手順は4℃で行われた。

【0402】

溶解細菌を「OAKRIDGE」チューブに入れそしてBeckmanモデルJA-20ローター中で20 K rpm (40 k×g)で回転させることにより、充填のための粗溶解物を調製した。上清を0.4 μmのフィルター、次いで0.2 μmフィルターを通して濾過した。

【0403】

2.5×10 cmの「ECONO-COLUMN」に、室温で2時間PBS中で膨潤させたグルタチオンアフィニティマトリックスを詰めた。カラムを4ベッド量のPBSで洗浄することにより平衡化した。

【0404】

このカラムを1分当たり8 mlの流速で粗細胞溶解物を充填した。続いて、カラムを5カラム容量のPBSを用いて同じ流速で洗浄した。

【0405】

流速を0.75~1 ml/分に設定して緩衝液Bを導入することによりカラムを溶出した。5カラム容量の緩衝液Bをカラムにポンプで送り、そして2分間毎の画分を採取した。例示の溶出プロファイルを図2に示す。画分に存在するタンパク質の含有量および純度を標準的なSDS PAGEで評価した(図3)。470-20-1/sj26his融合タンパク質を、その推定分子量およびPNF2161血清に対するその免疫反応性に基づいて同定した。さらなる操作のために、タンパク質を、融合タンパク質を含有する画分から、または融合タンパク質を含有するゲル領域の抽出によりゲルから単離し得る。

【0406】

(B. アニオン交換によるクローン470-20-1融合タンパク質の精製)

溶液は以下を含む：緩衝液A(10 mMリン酸ナトリウム(pH 8.0)、4 M尿素、10 mM DTT)；

緩衝液B(10 mMリン酸ナトリウム(pH 8.0)、4 M尿素、10 mM DTT、2.0 M NaCl)；

およびストリップ緩衝液(8 M尿素、100 mM Tris pH 8.8、10 mMグルタチオン、1.5 NaCl)。

【0407】

粗溶解物(または上記からのプールした画分のような他のタンパク質供給源)を、「HIGH-Q-50」(Biorad、Richmond、CA)カラムに4.0 ml/分の流速で充填した。

【0408】

次いで、カラムを4.0 ml/分の流速で5カラム容量の緩衝液Aで洗浄した。

【0409】

これらの洗浄の後、グラジエントを開始し、そして15カラム容量で緩衝液Aから緩衝液Bへと移行した。次いで、グラジエントは1カラム容量の100%緩衝液Bへと進んだ。例示のグラジエントを図4Aに示す。画分を10分ごとに採取した。470-20-1/sj26his融合タンパク質の純度を標準的なSDS-PAGEにより評価し(図4Bおよび図4C)、そして関連する画分をプールした(ほぼ画分34~37、図4C)。

【0410】

10

20

30

40

50

(C. 抗470-20-1抗体の調製)

精製470-20-1/sj26his融合タンパク質をウサギにフロインドアジュバントで皮下注射した。0日目および21日目に約1mgの融合タンパク質を注射し、そしてウサギ血清を、代表的には6週目および8週目に採取した。

【0411】

第2のウサギを精製sj26hisタンパク質で同様に免疫化した。

【0412】

470-20-1/sj26his融合タンパク質、sj26hisタンパク質、およびβ-ガラクトシダーゼ/470-20-1融合タンパク質を発現する細菌から少量の溶解物を調製した。

10

【0413】

この溶解物をゲルで分画し、そして膜に移した。2匹のウサギ由来の血清を用いて別々のウエスタンブロットを行う。

【0414】

470-20-1誘導タンパク質で免疫化した動物由来の血清は、pGEX MOVまたは470-20-1挿入物含有pGEX MOVのいずれかを用いて形質転換した、IPTG誘導E. coli W3110の少量の溶解物中の全てのsj26his融合タンパク質と免疫反応性である。この血清はまた、470-20-1λgt11構築物由来の少量の溶解物中の融合タンパク質と免疫反応性である。

【0415】

第2のウサギ血清は少量の溶解物中のsj26hisおよび470-20-1/sj26his融合タンパク質の両方と免疫反応性である。この血清は、470-20-1λgt11構築物由来の少量の溶解物中の470-20-1/β-ガラクトシダーゼ融合タンパク質と免疫反応性であるとは予想されない。血清はいずれもβ-ガラクトシダーゼと免疫反応性であるとは予想されない。

20

【0416】

融合タンパク質で免疫化した動物由来の血清に存在する抗470-20-1抗体を(470-20-1リガンドを用いた)アフィニティークロマトグラフィーにより精製した。

【0417】

あるいは、融合タンパク質を切断してsj26タンパク質配列を含まない470-20-1抗原を提供し得る。次いで、470-20-1抗原を単独で用いて上記のように抗体を作製する。

30

【0418】

(実施例9 ウサギ抗ペプチド血清)

HGV配列全体を含むように、特に非構造遺伝子および構造遺伝子中の各々の官能基を含むようにペプチドを設計した。ペプチドを従来の技術により商業的に合成させた。代表的なペプチドを表12に示す。

【0419】

【表 1 2】

表12

名 称	ペプチドのサイズ (aa)	配列番号14に対する 末端 ポイント
PEP1/NS2a	30	2674/2763
PEP2/E1	16	733/780
PEP3/E2	18	1219/1272
PEP4/NS2B	18	3061/3114
PEP5/NS3	21	3571/3633
PEP6/NS3**	18	4909/4959
PEP7/NS4A	18	5275/5328
PEP8/NS4B	16	6097/6144
PEP9/NS5A	16	7033/7080
PEP10/NS5B	18	7783/7836

10

20

** NS3ペプチドは、HGV-PNF 2161変異体ポリペプチド配列にない外来性システムをC末端に有する；実際の配列はQである。

ペプチドをKLHに連結した。ウサギを宿主として用いて、結合ペプチドを複数の部位に皮下注射した。抗ペプチドウサギ血清を商業機関に作製させた。2週間の免疫化プロトコルを用い、採血を隔週に行った。

30

【0420】

ウサギ抗ペプチド血清はペプチド特異的であり、そして高い力価を有することが示された。ウサギ抗ペプチド血清はまた、E. coli およびバキュロウイルスにおいて発現される対応する組換えタンパク質を認識する。抗体の終点力価は1:50, 000希釈から1:625, 000希釈の範囲である。ウサギ抗ペプチド7 (NS4a) は、わずか1:1, 000の低い終点力価を有していた。従って、例えば、バキュロウイルス系で発現されたNS4aタンパク質に対するウサギ抗血清は、より有用な試薬であり得る。

【0421】

ウサギ抗ペプチド血清は、例えばバキュロウイルスおよびワクシニアウイルスにおいて発現される対応するHGVタンパク質の免疫沈降に有用である。ウサギ抗ペプチド血清はまた、HGV抗原を検出するためのEIAにおける捕捉抗体としても有用である。ウサギ抗ペプチド血清はさらに、HGVタンパク質の特徴付けに有用である。

40

【0422】

(実施例10 血清学)

(A. 血清パネルのウェスタンブロット分析)

470-20-1融合抗原(上記)を用いて血清パネルをスクリーニングした。多くのパネルは、肝炎を患う個体および非感染コントロールの両方に由来するヒト血清であった。

【0423】

50

アフィニティー精製した470-20-1融合抗原（実施例8）を $2\mu\text{g}/\text{cm}$ で12% SDS-PAGEに充填した。ゲルを200Vで2時間電気泳動した。抗原をゲルからニトロセルロースフィルターへ移した。

【0424】

次いで、1%のウシ血清アルブミン、3%の正常なヤギ血清、0.25%のゼラチン、100mM NaPO_4 、100mM NaCl 、および1%の脱脂粉ミルクの溶液を用いて2時間ブロックした。次いで膜を乾燥し、そして1mm~2mmの細片に切り出した；各細片は470-20-1融合抗原を含んでいた。細片を、代表的には、TBS（150mM NaCl ；

20mM Tris HCl 、pH7.5）を用いて再水和し、そして室温に保持して一晩パネル血清（1：100）中でインキュベートした。 10

【0425】

細片を2回、各回ともTBSプラス「TWEEN 20」（0.05%）中で5分間洗浄し、次いで2回（各回ともTBS中で）5分間洗浄した。次いで、細片を室温に保持して1時間二次抗体（Promega 抗ヒトIgGアルカリ性ホスファターゼ結合体、1：7500）中でインキュベートした。次いで、細片を、TBS+「TWEEN 20」中での細片5分間の洗浄を2回行い、次いでTBS中での5分間の洗浄を2回行った。

【0426】

pH9.5の緩衝液（100mM Tris 、100mM NaCl 、5mM MgCl_2 ）中にBCIP（実施例2）およびNBT（実施例2）を含有する基質溶液中で細片をインキュベートすることにより、結合した抗体を検出した。発色を約15分間進行させ、その時点で蒸留 H_2O 中で3回の洗浄により発色を停止させた。 20

【0427】

試験血清は以下のグループの個体に由来した：（i）血液ドナー、HBV Ab、表面Agについて陰性、HCV、HIV、HTLV-1 Abについて陰性；（ii）HBV、B型肝炎ウイルスに感染した個体由来の血清；（iii）HCV、第2世代HCV ELISAアッセイにおいて反応性であるためC型肝炎ウイルスに感染した個体由来の血清；および（iv）HIV、HAV、HBV、HCV、またはHEVについて血清学的に陰性な個体。

【0428】

これらのスクリーニングの結果を表13に示す。

【0429】

【表 1 3】

表13

470-20-1血清パネリングの結果の要約

サンプル	試験した ヒト血清数*	+	IND*	-
血液ドナー	30	1 (3.3%)	2 (6.7%)	27 (90.0%)
HBV	40	7 (17.5%)	4 (10.0%)	29 (72.5%)
HCV	38	11 (28.95%)	11 (28.95%)	16 (42.1%)
HXV	122	20 (16.4%)	12 (9.8%)	90 (73.8%)

* 不確か、弱い反応性。

これらの結果は、多くの異なる血清サンプルにおける470-20-1抗原の存在を示唆する。抗原は正常なヒト血清とは免疫反応性でない。

【0430】

(B. 抗体の検出のための一般的なELISAプロトコル)

ポリスチレン96ウェルプレート(「IMMULON II」(PGC))を、0.1 M 重炭酸ナトリウム緩衝液(pH 9.5)中の5 µg/ml(1ウェル当たり100 µL)の抗原でコートする。プレートを「PARAFILM」でシールし、そして一晩4℃で保存する。

【0431】

プレートを吸引し、そして300 µLの10%の正常なヤギ血清でブロックし、そして37℃で1時間インキュベートする。

【0432】

プレートをPBS 0.5%「TWEEN 20」で5回洗浄する。

【0433】

抗血清を1×PBS、pH 7.2で希釈する。1つまたは複数の抗血清(0.1 mL)の所望の希釈液を各ウェルに添加し、そしてプレートを37℃で1時間インキュベートする。次いで、プレートをPBS 0.5%「TWEEN 20」で5回洗浄した。

【0434】

西洋ワサビペルオキシダーゼ(HRP)結合ヤギ抗ヒト抗血清(Cappel)をPBSで1/5,000に希釈する。この溶液の0.1 mLを各ウェルに添加する。プレートを37℃で30分間インキュベートし、次いでPBSで5回洗浄する。

【0435】

Sigma ABTS(基質)をプレートへの添加の直前に調製する。

【0436】

試薬は、50 mL、0.05 Mのクエン酸(pH 4.2)、0.078 mL 30%の過酸化水素溶液および15 mgのABTSからなる。0.1 mLの基質を各ウェルに添加し、次いで室温で30分間インキュベートする。0.050 mLの5% SDS(w/v)の添加により反応を停止させる。相対吸光度を410 nmで測定する。

【0437】

(実施例 1 1 選択された H G V 抗原の発現)

H G V のコード配列全体を 5 0 より多い別個の重複する c D N A フラグメントにサブクローン化した。ほとんどの c D N A フラグメントの長さは約 2 0 0 b p ～約 5 0 0 b p の範囲であった。c D N A フラグメントを別々に発現ベクター p G E X - H i s B にクローン化した。

【0 4 3 8】

このベクターは上記の p G E X - M O V に類似する。

【0 4 3 9】

p G E X - h i s B は、p G E X - 2 T (G e n b a n k 受託番号 A 0 1 4 3 8 ; 市販の発現ベクター) を改変したものである。ベクター p G E X - 2 T は、トロンビン切断部位の下流に直接 N c o I を挿入することにより改変されている。この部位には、B a m H I 部位が続き、それにポリヒスチジン (6 つのヒスチジン) コード配列が続き、そこに p G E X - 2 T に見出される E c o R I 部位が続く。目的のコード配列は、代表的には、N c o I 部位と B a m H I 部位の間に挿入される。図 6 (配列番号 1 1 5) において、挿入される配列は G E 3 - 2 抗原をコードする。ベクター配列の残りは p G E X - 2 T と同一である。融合タンパク質の発現は本質的に他の p G E X 由来発現ベクターを用いた上記のように行う。

【0 4 4 0】

全ての 5 0 のフラグメントのクローニングを本質的に以下に記載するように行った。ここで、特異的プライマーは 5 0 のコード領域の各々について選択した。P N F 2 1 6 1 または他の H G V (+) 血清から抽出した R N A から、実施例 4 C に記載されるように特異的なプライマーセットを用いて各 H G V 挿入 D N A を P C R 増幅した。代表的には、5 ' プライマーは N c o I 制限部位を含み、そして 3 ' プライマーは B a m H I 制限部位を含んでいた。増幅フラグメント中の N c o I プライマーにより、発現ベクター p G E X - H i s b または p G E X M O V 中の G S T - s j 2 6 コード配列に対する増幅コード配列のインフレーム融合が可能になった。

【0 4 4 1】

増幅 H G V 挿入 D N A を制限酵素 N c o I および B a m H I で消化する。消化した挿入 D N A をゲル精製し、そして N c o I および B a m H I 消化した p G E X h i s B または p G E X M O V と連結する。E . c o l i W 3 1 1 0 株 (A T C C # 2 7 3 2 5 , A m e r i c a n T y p e C u l t u r e C o l l e c t i o n , R o c k v i l l e , M D) をライゲーション産物で形質転換した。アンピシリン耐性コロニーを選択した。挿入された分子に隣接する p G E X ベクター配列に相同なプライマー (プライマー G L I F (配列番号 2 3 5) および G L I R (配列番号 2 3 6) を用いてアンピシリン耐性コロニー由来の挿入物の P C R 増幅により、挿入物の存在を確認した。

【0 4 4 2】

P C R 増幅産物のサイズは挿入物のサイズ + ベクター由来の約 1 6 0 b p である。適切な挿入物による形質転換体を選択し、そして実施例 7 に記載されるように I P T G によるタンパク質誘導に供した。発現された組換えタンパク質を、ウエスタンブロットにより、推定の H G V 感染ヒト血清に対する特異的免疫反応性について分析した。

【0 4 4 3】

G E 3 、 G E 9 、 G E 1 5 、 G E 1 7 、 G E 4 、 E X P 3 、 G E I - N および G E - 5 7 と称する 8 つのフラグメントが、推定の H G V 感染ヒト血清と反応させたとき明らかな免疫原性反応を与える抗原をコードしていた。

【0 4 4 4】

(A . G E 3 、 G E 9 、 G E 1 5 、 G E 1 7 、 G E 4 、 E X P 3 、 G E I - N および G E 5 7 のクローニング)

クローン G E 3 、 G E 9 、 G E 1 5 、 G E 1 7 、 G E 4 、 E X P 3 、 G E I - N および G E 5 7 のコード配列挿入物を、P N F 2 1 6 1 または T 5 5 8 0 6 から得た S I S P A 増幅 2 本鎖 c D N A または R N A から、各フラグメントに特異的な P C R プライマーを用

いるポリメラーゼ連鎖反応により作製した。以下の表14に、各クローンの配列番号14に対する位置および各クローン挿入物の作製に使用したプライマーセットを列挙する。

【0445】

【表14】

表14

クローン	血清供給源	配列番号14上の位置	F プライマー (配列番号)	P プライマー (配列番号)
GE3	PNF 2161	6615-6977	GE-3F (配列番号 46)	GE-3R (配列番号 47)
GE9	PNF 2161	8154-8441	GE-9F (配列番号 48)	GE-9R (配列番号 49)
GE15	PNF 2161	3615-3935	GE-15F (SEQ ID NO:111)	GE-15R (配列番号 112)
GE17	PNF 2161	3168-3305	GE-17F (配列番号 113)	GE-17R (配列番号 114)
GE4	PNF 2161	6825-7226	GE4F (SEQ ID NO 149)	GE4R (配列番号 150)
EXP3	PNF 2161	6648-7658	470EXP3F (配列番号 151)	470EXP3R (配列番号 152)
GE1-N	PNF 2161	5850-6239	GE1-NF (配列番号 237)	GE1-NR (配列番号 238)
GE57	T55806	271'-456'	GE57F (配列番号 239)	GE57R (配列番号 240)

10

20

* これらの配列は配列番号178に対して示されている。

30

GE57のアミノ酸配列を配列番号241として表されている。

【0446】

GE3-5'プライマー(GE-3F、配列番号46)において、サイレント点変異を導入して、天然のNcoI制限部位を修飾した。上記のプライマーを用いて、PCR増幅産物を作製した。増幅産物をゲル精製し、NcoIおよびBamHIで消化し、そして再びゲル精製した。精製NcoI/BamHI GE3、GE9、GE15、GE17、GE4、GE1-NおよびGE57フラグメントを、脱リン酸化、NcoI/BamHI切断pGEX-HisBベクターに独立に連結した。精製NcoI/BamHI EXP3フラグメントを、脱リン酸化、NcoI/BamHI切断pGEX-MOVベクターに連結した。

40

【0447】

各ライゲーション混合物をE. coli W3110株に形質転換し、そしてアンピシリン耐性コロニーを選択した。アンピシリン耐性コロニーをTris/EDTA緩衝液中に再懸濁し、そしてプライマーGLIF(配列番号235)およびGLIR(配列番号236)を用いるPCRにより分析し、挿入配列の存在について確認した。8つの候補クローンをそれぞれ、GE3-2、GE9-2、GE15-1、GE17-2、GE4-8、EXP3-7、GE1-NおよびGE57と名付けた。

【0448】

(B. GE3-2、GE9-2、GE15-1、GE17-2、GE4-8、EXP3-7、GE1-NおよびGE57融合タンパク質の発現)

50

GE3-2、GE9-2、GE15-1、およびGE17-2、GE4-8、EXP3-7、GE1-NおよびGE57を含むベクターを有するアンピシリン耐性細菌のコロニーを、個々に、アンピシリンを含有するLB培地に播種した。培養をODが0.8~0.9になるまで増殖させ、この時点でタンパク質発現を誘導するために、IPTG（イソプロピルチオ-β-ガラクトシド；Gibco-BRL）を最終濃度が0.3mM~1mMになるように添加した。IPTGの存在下でのインキュベーションを3~4時間継続した。

【0449】

細菌細胞を遠心分離により回収し、そしてSDSサンプル緩衝液（0.0625M Tris (pH6.8)、10% グリセロール、5% メルカプトエタノール、2.3% SDS）中に再懸濁した。再懸濁したペレットを5分間煮沸し、次いで、不可溶性細胞片を遠心分離により除去した。GE3-2、GE9-2、GE15-1、GE17-2、GE4-8、EXP3-7、GE1-NおよびGE57のIPTG誘導培養物から得た上清液を、非誘導溶解物と共にSDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動（PAGE）により分析した。次いでこれらのゲルからタンパク質をニトロセルロースフィルターに移した（すなわち、ウエスタンブロットによる）。

【0450】

フィルターをまず、GSTタンパク質に対して惹起されたウサギポリクローナル抗体またはマウスモノクローナル抗体（RM001、Sierra Biosource、CA製）とインキュベートして、適切なサイズのGST融合タンパク質発現を検出した。上記クローンの予想されるタンパク質サイズは、それぞれ40、38、39、32、42、64、42および33kDaである。融合タンパク質に対して適切な分子量のバンドとRM001の免疫反応性は、細菌細胞による上記クローンの融合タンパク質の成功した発現を示した。クローンタンパク質の発現はまた、クマシーブルー染色ゲル上のIPTG誘導に際して適切なサイズの過剰発現タンパク質の出現によりモニターされる。

【0451】

（C. HGVタンパク質のウエスタンブロット分析）

一旦、HGVクローンタンパク質の発現を、抗GST抗体を用いるウエスタンブロット分析により確認されたなら、次に上記のように調製した第2のフィルターセットをいくつかのHGV（+）およびHGV（-）ヒト血清に曝した。全細胞溶解物のウエスタンブロット分析のために使用されたヒト血清はλ-gt11-ニトロセルロースフィルターに予め吸着させた。λ-gt11-ニトロセルロースフィルターは以下のように調製した。簡単に述べると、KM392培養の一晚培養物をLB中に調製した。この培養物を、0.2%マルトースを含有する新鮮なLBで10倍希釈し、そして37℃で1時間振とうしながらインキュベートした。

【0452】

1時間後、培養物を等量のMgCa溶液（0.01M MgCl₂ および0.01M CaCl₂）と混合した。この混合物に2×10⁴ PFU/mlの力価になるようにλgt11を添加し、そして振とうすることなく30分間インキュベートした。30分後、（このファージ/E. coli混合物の各ml当たり）15mlの溶解（55℃）LB上層寒天（0.8%寒天を有するLB）を加えた：この混合物の8mlを、各15cm LB寒天プレート上に播いた。上層寒天が固化した後、プレートを37℃で3~5時間インキュベートした。

【0453】

ブランクが生じた後、ニトロセルロースフィルターをプレート上に置き、そしてプレートをさらに一晚37℃でインキュベートした。ニトロセルロースフィルターを除去し、そしてTBS（50mM Tris-HCl (pH7.5)、150mM NaCl）プラス0.05%の「TWEEN 20」を用いて完全に洗浄した。洗浄したフィルターをTBS中の1%ゼラチンでブロックした。次いで、このフィルターをTBSで3回洗浄した（各洗浄5分）。

【0454】

ヒト血清の前吸着のために、各血清をブロック溶液（実施例10に記載）に100倍希釈した。次いで、10mlの希釈血清を、上記のように調製した2つのλgt11フィルターと一晚インキュベートした。λgt11フィルターを除去し、そして前吸着した血清をウエスタンブロット分析に用いた。

【0455】

ウエスタンブロット分析は、クローンGE3-2、GE9-2、GE15-1、GE17-2、GE4-8、EXP3-7、GE1-NおよびGE57がHGV(+)血清に対して特異的な免疫反応性を示したことを明らかにした。GE4-8タンパク質はJ21689血清と免疫反応性であった。J21689はHGV PCR（実施例4）により測定されたようにHGV(+)血清であり、そしてHCV PCRおよび血清学的分析により測定されたようにHCV(+)であった。EXP3-7タンパク質はJCおよびT55806と免疫反応性であった。JCは、血液バンクにより高ALTであるため拒絶されている、実施例4Fにおいて同定されたHGV陽性血清である。最初の血清サンプルの1年後に採血された第2のJCサンプルもまた、PCR分析によりHGV陽性であった。T55806もまた、血液バンクにより高ALTであるため拒絶されている、実施例4Fにおいて同定されたHGV陽性血清である。この血清はHCVについても同時に陽性である。

10

【0456】

さらに、GE15-1およびGE-17は、PNF2161およびT55806に対して弱い、しかし特異的な免疫反応性を示した。GE1-NはPNF2161、JC、T55806、T56633、T27034およびR0001に対して免疫反応性であった。T56633、T27034およびR0001は実施例4Fで同定されたHGV(+)血清である。GE57はE57963およびR0001と免疫反応性であった。E57963はHGVおよびHCVについて同時に陽性の血清である。GE3-2およびGE9-2もまた、HGV血清と特異的に免疫反応性であった。しかし、8つの抗原はいずれも、HGV陰性血清であるT43608およびR05072と免疫反応性でなかった。

20

【0457】

グルタチオン結合ビーズ（Smith, D. Bら）および固定化金属イオンビーズ（Hochuliら；Porath）を使用する二重クロマトグラフィー法を用いて、本質的に実施例7のように細菌細胞溶解液からGE3-2およびGE9-2融合タンパク質を精製した。精製タンパク質を以下のようにウエスタンブロット分析に供した。

30

【0458】

種々の量の精製HGVタンパク質（例えば、GE3-2およびGE9-2タンパク質）を12%アクリルアミドゲルに充填した。PAGEの後、標準的な手順を用いてタンパク質をゲルからニトロセルロース膜へ移した。個々の膜を、多くのヒト血清またはマウス血清のうちの1つとインキュベートした。過剰な血清は膜を洗浄することにより除去した。

【0459】

これらの膜を、スクリーニングに使用された血清に応じて、アルカリホスファターゼ結合ヤギ抗ヒト抗体（Promega）またはアルカリホスファターゼ結合ヤギ抗マウス抗体（Sigma）とインキュベートした。再び膜を洗浄して過剰なヤギ抗ヒトIgG抗体を除去し、そしてNBT/BCIPに曝した。GE3融合タンパク質を有する染色された膜の例示の写真を図7A～図7Dに示す。

40

【0460】

これらの図は、以下の血清を用いる精製GE3-2タンパク質のウエスタンブロット分析の結果を示す：N-(ABCDE)ヒト(JC)血清（図7A）、N-(ABDE)ヒト(PNF2161)血清（図7B）、スーパーノーマル(SN2)血清（図7C）、およびGST-sj26タンパク質に対して惹起されたマウスモノクローナル抗体(RM001)（図7D）。

【0461】

各図において、レーン1は予め染色した分子量標準(Bio-Rad)を含み、そして

50

レーン 2～5 はそれぞれ以下の量の G E 3－2 融合タンパク質を含む：4 μ g、2 μ g、1 μ g および 0.5 μ g。数字は 0.6 cm のゲル（ウェルサイズ）当たりのマイクログラム単位の充填量を表す。ヒト J C、P N F 2 1 6 1 およびスーパーノーマル 2 血清の希釈は 1：100 であった。抗 s j 2 6 希釈は 1：1000 であった。J C プロットにおいて約 97 K に見られたバンドは、G E 3. 2 融合タンパク質調製物における少量の混入物に対して反応性である。タンパク質マーカーサイズは 142.9 K D、97.2 K D、50 K D、35.1 K D、29.7 K D および 21.9 K D である。

【0462】

図 7 A～図 7 D に示されるように、G E 3－2 は J C 血清と特異的な免疫反応性を示した。G E 3－2 は、P N F 2 1 6 1 血清とは弱く反応し、そして不確かまたは陰性として

10

【0463】

平行実験において、G E 9－2 は、P N F 2 1 6 1 血清に対して弱いがしかし特異的な免疫反応性を示した。

【0464】

（実施例 12 例示のエピトープライブラリーの構築）

（A. Y5 ライブラリー）

ポリメラーゼ連鎖反応を用いて、P N F 2 1 6 1 S I S P A 増幅 c D N A から 3 つの重複する D N A フラグメントを増幅した。P N F 2 1 6 1 S I S P A 増幅 c D N A を、J M L－A/B リンカー（配列番号 54 および配列番号 55）を用いて調製した。1 μ l のこの物質を、1 μ M の J M L－A プライマーを用いて、30 サイクル（94℃で 1 分、55℃で 1.5 分および 72℃で 2 分）で再増幅した。総反応容量は 100 μ l であった。3 つのこれらの増幅からの産物を合わせ、そして製造者の指示に従って、「W I Z A R D P C R C O L U M N」（P r o m e g a）に 1 回通すことにより過剰の P C R プライマーから分離した。「W I Z A R D P C R C O L U M N」はシリカベースの樹脂であり、高イオン強度緩衝液中で D N A を結合し、そして低イオン強度緩衝液中で D N A を遊離する。増幅した D N A を、100 μ l の蒸留水でカラムから溶出した。

20

【0465】

溶出した D N A を 1.5% アガロース T B E ゲルで分画し（M a n i a t i s ら）、エチジウムブロミド染色後に U V 光で可視化した。強い不鮮明な（s m e a r）な D N A フラグメントが、150～1000 b p の間で観測された。1 μ l の再増幅 c D N A を、表 15 に示す各プライマー対による P C R 反応において、テンプレートとして使用した。

30

【0466】

【表 15】

表15

プライマー	配列番号	増幅フラグメントのサイズ
470ep-F1 470ep-R1	配列番号 56 配列番号 57	810
470ep-F2 470ep-R3	配列番号 58 配列番号 59	750
470ep-F4 470ep-R4	配列番号 60 配列番号 61	669

10

20

プライマーを、表 15 に示すサイズの HGV 特異的 DNA フラグメントの増幅が生じるように設計した。増幅反応において、プライマー対を 1 μ M の濃度で使用した。

【0467】

増幅は、94℃で1分、54℃で1.5分および72℃で3分の30サイクルで、100 μ l の総反応容量であった。3つの異なるプライマー対のPCR反応のそれぞれは、予測されるサイズを有する産物の特異的増幅を生じた。各プライマー対の反応について、3つの独立したPCR反応からの増幅産物を合わせ、そして上記の「WIZARD PCR COLUMN」を用いて精製した。精製産物を50 μ l の dH₂O で溶出した。

【0468】

各精製産物からのサンプル（14 μ l、約1～2 μ g の各プライマー対の増幅 DNA フラグメントを含む）を合わせた。3つの異なる増幅フラグメントのすべてを合わせたサンプルを、5 μ l の 10×DNAse 消化緩衝液（500mM Tris pH 7.5、100mM MnCl₂）および2 μ l の dH₂O に添加した。この消化混合物から、10 μ l のサンプルを取り出し、そして5 μ l のストップ溶液（100mM EDTA、pH 8.0）を含むチューブ内に置いた。このサンプルを、0「分消化」の時点とした。残りの消化反応物を、25℃に置いた。消化反応物に、1/25希釈のRNAseを含まないDNAse（Stratagene）

30

の1 μ l を添加した。種々の時点で10 μ l のアリコートを取り出し、そして5 μ l のストップ溶液と混合した。DNAse I 消化DNA産物を、1.5%アガロースTBEゲルで分析した。

40

【0469】

いくつかの消化実験の結果は、40分の消化により100～300bpの範囲のサイズのDNAフラグメントの良好な分布が得られることを示した。次いで、DNAse I 消化を繰り返し、室温で40分間放置して完全に消化した。消化を18 μ l のストップ緩衝液の添加により停止し、そして消化DNA産物を「WIZARD PCR COLUMN」を用いて精製した。「WIZARD PCR COLUMN」を50 μ l の dH₂O で溶出し、そして溶出DNAを以下の反応混合物に添加した：7 μ l の制限酵素緩衝液C（Promega、10mM MgCl₂、1mM DTT、50mM NaCl、10mM Tris（pH 7.9）、1×濃度）；11 μ l の 1.25mM dNTP；および2 μ l の T4 DNAポリメラーゼ（Boehringer-Mannheim）。こ

50

の反応混合物を 37℃で 30 分間保った。その時点で、70 μ l の pH 8.0 のフェノール/CHCl₃ を添加し、そして混合した。フェノール/CHCl₃ を除き、そして 1 回抽出して、DNA サンプルを含む 150 μ l の水性の総容量を得た。DNA を、2 容量の無水エタノールおよび 0.5 容量の 7.5 M 酢酸 NH₄ を用いてエタノール沈澱した。DNA を、「EPENDORF MICROFUGE」で、15 分間、14,000 rpm での遠心分離によりペレット化し、42℃で 5 分間乾燥し、そして 25 μ l の dH₂O 中に再懸濁した。

【0470】

DNA を、5'リン酸化した SISPALINKER-KL1 (配列番号 62) および KL2 (配列番号 63) に連結した。いくつかの異なる濃度の SISPALINKER および DNA を試験した。 10

【0471】

最も高い連結度 (下記の通りの評価した) が、以下の連結反応条件下で生じた: 10 μ l の総反応容量において、6 μ l の DNA、2 μ l の 5.0 $\times 10^{-12}$ M KL1/KL2 リンカー、1 μ l の 10 $\times$ 連結緩衝液 (New England Biolabs)、および 1 μ l の 400 ユニット/ μ l の T4 DNA リガーゼ (New England Biolabs)。連結を、16℃で一晩行った。

【0472】

2つの反応を、以下のように並行して行った。2 μ l の連結物質を、100 μ l の総反応容量において KL1 SISPALINKER を用いて増幅した。(94℃で 1 分、55℃で 1.5 分および 72℃で 2 分の 25 サイクル)。連結度を、1.5% アガロース TBE ゲルを用いる電気泳動によって、1/5 の PCR 反応増幅産物を分離することにより評価した。ゲルをエチジウムブロミドで染色し、そしてバンドを UV 光で可視化した。 20

【0473】

2 連反応からの増幅産物を「WIZARD PCR COLUMN」を用いて精製し、そして精製 DNA を 50 μ l の dH₂O で溶出した。25 μ l アリコートの PCR KL1/KL2 増幅 DNA を、30 μ l の総容量中 36 ユニットの EcoRI (Promega) で消化した。反応を、37℃で一晩行った。消化 DNA を「セファデックス G25」スピニングカラムを用いて精製した。

【0474】

EcoRI 消化 DNA を、一晩の反応で λ gt11 アームに連結した。 λ gt11 アームは、EcoRI で予め消化し、そしてウシ小腸アルカリホスファターゼ (Stratagene、La Jolla、CA) で処理した。連結混合物を、製造者の指示に従って、「GIGAPACK GOLD PACKAGING EXTRACT」(Stratagene) を用いてパッケージした。得られた組換えファージの力価量の測定を、KM-392 のローン (lawn) 上に、1/10 希釈のパッケージされたファージをプレート化することにより行った。この場合、プレートは、100 mg/ml 溶液の x-gal (5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル- β -D-ガラクトシド; Sigma) の 20 μ l および 0.1 M 溶液の IPTG (イソプロピル-1-チオ- β -D-ガラクトシド; Sigma) の 20 μ l を含有した。75% を超える組換えファージを含有する、1.2 $\times 10^6$ ファージ/ml の力価を得た。 40

【0475】

組換えプラークの割合を、プライマー 11F (配列番号 25) および 11R (配列番号 13) を用いて、8 個の無作為に選んだプラークの PCR 分析により確認した。増幅 DNA (F1/R1、F2/R3、および F4/R4) の消化物由来の DNA フラグメントを含有するこのパッケージされたライブラリーは DNA を増幅し、そして Y5 ライブラリーと称した。

【0476】

(B. ENV ライブラリー)

発現ライブラリー (ENV ライブラリーと称する) を、以下のように作製した。 50

【0477】

1 μ l の PNF 2161 S I S P A 増幅 DNA を、以下のプライマー対を用いるポリメラーゼ連鎖増幅反応におけるテンプレートとして用いた：GEP-F15（配列番号128）およびGEP-R15（配列番号129）、これらは525ヌクレオチドのHGVフラグメントを生成する；ならびにGEP-F17（配列番号130）およびGEP-R16（配列番号131）、これらは765ヌクレオチドのHGVフラグメントを生成する。

【0478】

PCR増幅は、94℃で1分間、52℃で1.5分間、そして72℃で3分間の35サイクルであった。増幅産物を精製し、そしてDNAse Iで消化した。KL1およびKL2リンカーのcDNAへの連結、DNAフラグメントの増幅および λ gt11におけるライブラリーの構築は、実質的に実施例12Aに記載の通りに行った。ライブラリーの組換え頻度は、70%を超えた。 λ gt11のフランキング領域由来のプライマーを用いたポリメラーゼ連鎖反応による挿入物の分析によって、組換え頻度を確認し、そして挿入物のサイズ範囲が150～500ヌクレオチドであることが示された。

10

【0479】

（C. NS3ライブラリー）

NS3と称する発現ライブラリーを、以下のように構築した。第一のフラグメントを、プライマー470ep-F9（配列番号132）および470ep-R9（配列番号133）ならびに（テンプレートとして）PNF2161 S I S P A 増幅核酸を用いたポリメラーゼ連鎖反応により増幅した。この増幅反応の予測される産物は777塩基対であった。増幅フラグメントを、TAEゲルでの分離によりゲル精製した。フラグメントを、「GENECLEAN」（Bio 101、La Jolla、CA）を用いてさらに精製した。

20

【0480】

フラグメントF9/R9もまた、供給源物質として伸長クローンGE3L-11（配列番号41）を用いて増幅した。増幅反応において、約25ngのGE3L-11を、テンプレートとして、F9およびR9プライマーをともに用いた。

【0481】

両方のF9/R9増幅は、94℃で1分間、52℃で2分間、および72℃で3分間の30サイクルで、「TAQSTART」（Clontech、Pala Alto、CA）を用いた。両反応からの増幅産物を合わせた。産物をDNAse Iで消化した（10 μ lのGE3L産物および25 μ lのPNF S I S P A産物）。GE3Lに基づく増幅産物は、大多数の増幅産物出発物質を表した。KL1およびKL2リンカーのcDNAへの連結、DNAフラグメントの増幅および λ gt11におけるライブラリーの構築は、本質的に実施例12Aに記載の通りに行った。

30

【0482】

得られた力価は 2.5×10^6 ファージ/mlであった。そして組換えファージの割合は、99%を超えると測定された。挿入物のサイズのポリメラーゼ連鎖反応分析によって、組換え頻度を確認し、そして挿入物のサイズ範囲が150～550ヌクレオチドであることが示された。

40

【0483】

さらに、第二のフラグメントもまた、GEP-F10/GEP-R10プライマー（それぞれ、配列番号135および配列番号136）を用いて増幅した。1 μ lのPNF2161 S I S P A 増幅核酸をテンプレートとして使用した。570ヌクレオチドの予測されるフラグメントサイズが得られた。得られた増幅産物を、F9/R9増幅についての記載の通り操作した。このフラグメントについて得られた力価は、 λ gt11に挿入された場合、 1.47×10^6 ファージ/mlであり、組換え頻度は90%であった。

【0484】

（D. NS2ライブラリー）

50

NS2 エピトープライブラリーを、実施例12Aに記載の方法論を用いて構築した。HGVタンパク質（NS2、NS3、およびNS5b）のすべてまたは一部を含有する4つのDNAフラグメントを、1 μ lのPNF2161 SISPA DNA（本質的に、実施例12Aに記載の通りに調製した）から増幅した。ライブラリーを表16に示されるプライマー、およびテンプレートとしてSISPA増幅PNF2162 DNAを用いて作製した。

【0485】

【表16】

表16

フラグメント	nt	
9E3-REV（配列番号264） E394-R（配列番号265）	592	E2(389のうち)のaa358からNS-2のaa166まで
GEP-F12（配列番号266） GEP-R12（配列番号267）	663	NS-2（313のうち）のaa144からNS-3のaa51まで
GEP-F14（配列番号268） GEP-R13（配列番号269）	715	NS-3のaa357～594
470epF8（配列番号270） GEP-R14（配列番号271）	648	NS-5のaa716～847（716から末端まで）

すべての増幅は、94℃／1分間、48℃／2分間、および73℃／3分間の35サイクルであった。すべての増幅により、予測されるサイズのフラグメントが少なくとも得られた。増幅産物を混合して、約1：1：1：1の比にし、そして部分的にDNase Iで消化した。上記のように、消化産物をKL1 SISPAリンカーに連結し、増幅し、そしてEcoRI消化した。消化フラグメントを λ gt11内に連結した。連結産物をパッケージした。

【0486】

パッケージされた連結産物をプレート化した。得られたライブラリーを測定したところ、ライブラリーは約70%の組換えファージを含有し、150～500bpの挿入サイズが観測された。

【0487】

（E. VNS5Aライブラリー）

プライマー470EXT4-2189R（配列番号119）および470EXT4-29F（配列番号120）を用いて、2.1kb DNAフラグメントを単離した。このフラグメントは、HGVタンパク質（NS4bおよびNS5a、ならびにNS4aの3'末端およびNS5bの5'末端）の全コード配列を含有した。これらのプライマーを用いるPCR増幅を、実施例4Gに記載の通りに行った。以下のものを含む複数のHGV感染血清を用いて、首尾良い増幅が観察された：T56633は、カットオフ値を超えるALT値のために献血が拒否された献血者由来であった；サンプルE21-AおよびE20は、肝炎を患っているエジプト人個体由来であった；そして、サンプルAH0591は、劇症肝炎を発症したオーストラリア人由来である。

【0488】

E21-AおよびE20の増幅産物を、本質的には実施例6に記載の通り、ベクターT/A（Invitrogen、San Diego、CAから入手した）のT突出部位にクローン化した。

【0489】

次いで、これらの2つのプラスミドからの2.1 kb HGV挿入物を、約150ユニットの制限酵素 (EcoRI) で、約20 µgのプラスミドDNAを消化することにより単離した。37℃で一晩のインキュベーション後、消化産物を、TAEアガロースゲル電気泳動により分離した。産物を、目的のフラグメントを含有するアガロースゲルの切片から切り出した。アガロースを溶かし、そして遊離したDNAの抽出を、製造者の指示に従って「GENECLEAN II」キット (Bio 101、La Jolla、CA) を用いて行った。

【0490】

E21-AおよびE20のサンプルに由来する精製した2.1 kbフラグメント、ならびにサンプルT56633およびAH0591のPCR増幅から得られたDNAフラグメントを、実施例12Aに記載の通りに、DNase Iで別個に消化した。4つのすべてのサンプルについて、消化条件を決定し、その結果、サイズが100~1000 ntの間のフラグメントを単離した。精製およびトリミング (trimming) (実施例12A) の後、4つのHGV感染サンプルのそれぞれに由来するフラグメントを、異なる組のSISPAリンカーに別個に連結した。連結後、DNAをSISPA増幅した。

【0491】

増幅DNAを、約100ユニットのEcoRIで37℃で一晩、別個に消化した。次いで、消化DNAを、G25樹脂 (5'3' Inc、Boulder、CO) を用いてスピンカラムクロマトグラフィーにより精製した。T56633、AH0591、およびE21-Aのサンプル由来の消化DNAを1:1:1の比で合わせ、そしてDNA混合物を、実施例12Aに記載の通りに、λgt11のEcoRI部位に連結した。「GIGAPACK III XL」抽出物 (Stratagene、La Jolla、CA) を用いてパッケージした後、得られたライブラリーをIPTGおよびXGALの存在下でプレート化し、そして約 1.0×10^6 ファージ/mlの力価および約70%の組換え頻度であることが測定された。

【0492】

(実施例13 エピトープライブラリーの免疫スクリーニング)

(A. 免疫反応性Y5クローンの単離)

2つのHGV陽性血清 (PNF2161およびJC) を、本質的には実施例2に記載の通りに、Y5ライブラリーの免疫スクリーニングのために使用した。Y5ファージライブラリーを、1プレート当たり、約15、000ファージで20個のプレートにプレート化した。プレートを約5時間インキュベーションし、そしてニトロセルロースフィルター (Schleicher and Schuell) で一晩覆った。フィルターを、約6時間、AIB (1%ゼラチン+0.02%アジ化Na) 中でのインキュベーションによりブロック処理した。ブロックしたフィルターをTBSで一回洗浄した。

【0493】

10枚のY5ライブラリーフィルターを、攪拌しながら、PNF2161血清とともに一晩インキュベーションした。そして10枚のY5ライブラリーフィルターを、攪拌しながら、JC血清とともに一晩インキュベーションした。両血清は、AIBで1:10に希釈した。非特異的な抗体結合を減少させるために、希釈した血清を、野生型λgt11を吸着させたニトロセルロースフィルターで一晩インキュベーションすることにより前処理した。

【0494】

フィルターを血清から取り出し、TBSで3回洗浄し、そしてヤギ抗ヒトアルカリホスファターゼ結合2次抗体 (Promega; AIBで1/7500に希釈した) で1時間インキュベーションした。フィルターを4回TBSで洗浄した。結合した2次抗体を、NBTおよびBCIPを含有するAP緩衝液 (100 mM NaCl、5 mM MgCl₂、100 mM Tris pH 9.5) 中でフィルターをインキュベーションすることにより検出した。

10

20

30

40

50

【0495】

1次スクリーニングで陽性と判定されたプラークを拾い、そして500 μ lのPDB(100mM NaCl、8.1mM MgSO₄、50mM Tris pH 7.5、0.02%ゼラチン)中に溶出した。免疫反応性のファージを、100mmプレート当たり100~500プラークの総密度で溶出ファージを再プレート化することにより精製した。プレートを、本質的には上記の通りに、適切なHGV陽性血清で再度、免疫スクリーニングした。発色後、いくつかの単離された陽性プラークを拾い、そして500 μ lのPDB中に入れた。

【0496】

1時間のインキュベーション後、2 μ lの再精製ファージPDB溶液を、11F(配列番号25)および11R(配列番号13)PCRプライマーを含有するPCR反応におけるテンプレートとして使用した。これらのプライマーは、 λ gt11のEcoRI部位の70ヌクレオチド(nt)の5'および90ntの3'に位置する配列に対して相位的である。PCR反応物は、94℃で1分間、55℃で1.5分間および72℃で2分間の30サイクルにより増幅された。

10

【0497】

PCR増幅反応物をアガロースゲルでサイズ分画した。精製プラークのPCR増幅により、単一プラーク増幅反応のそれぞれについて単一のバンドが得られた。この場合、増幅フラグメントは、DNA挿入物+140bpの5'および3'のファージのランキング配列を含有した。単一のバンドを生じるPCR反応物由来の増幅産物を、製造者の指示に従って「S-300 HR」スピンカラム(Pharmacia)を用いて精製した。DNAを定量し、そしてApplied Biosystems自動化シーケンサー373Aおよび適切なプロトコルを用いてDNA配列決定をした。

20

【0498】

JC血清によるY5ライブラリーの上記のスクリーニングの結果、表17に示すポジティブストランドのクローンを精製し、そしてDNA配列決定をした。ポジティブストランドクローンは、配列番号14に示すHGV配列-ポリタンパク質リーディングフレームの5'から3'への翻訳物に対応する。

【0499】

【表 17】

表17

クローン	スクリーニング 血清	挿入物 サイズ ¹ (塩基対)	挿入物 サイズ ² (アミノ酸)	核酸 配列番号	コードタンパク質 配列番号
Y5-10	JC	210	62	64	65
Y5-12	JC	333	94	66	67
Y5-26	JC	303	93	68	69
Y5-5	JC	153	36	70	71
Y5-3	JC	162	44	72	73
Y5-27	JC	288	86	74	75
Y5-25	JC	165	36	76	77
Y5-20	JC	165	19 ¹	78	79
Y5-16	JC	234	56	80	81

10

20

¹ クローンは2重の挿入物を含有した。このクローン挿入物のnt69～126はHGV配列に対応する。

これらのクローンは、HGVの推定NS5タンパク質内の2つの免疫原性領域を示した。これらの2つの領域は、配列番号14として示される配列に関連し、6636～6821位および7278～7385位である。

【0500】

さらに、PNF2161血清によるY5ライブラリーのスクリーニングの結果、表18に示す以下のネガティブストランドクローンを精製し、そしてDNA配列決定をした。ネガティブストランドクローンは、配列番号14に示すHGV配列に相補的な配列の5'から3'への翻訳物に対応する。

30

【0501】

【表 18】

表18

クローン	スクリーニング 血清	挿入物サイズ (塩基対)	挿入物サイズ (アミノ酸)	核酸 配列番号	コードタンパク質 配列番号
Y5-50	PNF 2161	349	104	82	83
Y5-52	PNF 2161	119	20 ¹	84	85
Y5-53	PNF 2161	250	33 ²	86	87
Y5-55	PNF 2161	143	20 ³	88	89
Y5-56	PNF 2161	366	110	90	91
Y5-57	PNF 2161	231	65	92	93
Y5-60	PNF 2161	151	38	94	95
Y5-63	PNF 2161	125 ⁴	25	96	97

¹ クローンは2重の挿入物を含有した。このクローン挿入物のnt46～105はHGV配列に対応する。

² クローンは2重の挿入物を含有した。このクローン挿入物のnt19～118はHGV配列に対応する。

³ クローンは2重の挿入物を含有した。このクローン挿入物のnt70～126はHGV配列に対応する。

⁴ 挿入物は、余分な、ヌクレオチド19と35との間の非HGV配列を含む。

すべてのこれらの配列は、PNF 2161血清を用いて単離された元のHGVクローン470-20-1の部分を含む。

【0502】

Y5ライブラリー由来のさらなるエピトープクローンを、以下のように単離した。Y5ライブラリーを、実施例13に記載の方法を用いて、HGV感染血清J21689およびT56633でスクリーニングした。400を超える陽性プラークを得た。このことは、これらのHGV感染血清の両者により認識される強い免疫原性配列の存在を示す。これらの陽性プラークの10個を精製し、そしてDNA配列決定をした。DNA配列決定から得られた結果を、表19に示す。

【0503】

【表 19】

表19

クローン	HGV 変異体	血清	開始'	終了
Y5-114-1A	PNF	J21689	6636	6827
Y5-114-2B	PNF	J21689	6678	6935
Y5-121-19A	PNF	T56633	6678	7063
Y5-121-11A	PNF	T56633	6636	6917
Y5-121-12A	PNF	T56633	6636	6959
Y5-121-15A	PNF	T56633	6636	6917
Y5-121-16A	PNF	T56633	6636	6989
Y5-121-17A	PNF	T56633	6636	7082
Y5-121-20A	PNF	T56633	6636	6929
Y5-121-18A	PNF	T56633	6636	6896

10

開始／終了位置を、配列番号14と比較して示す。

20

これらの配列の結果とこのライブラリーのスクリーニングから以前に得られた結果との比較により、これらのクローンは、すべて同一のエピトープを含有することを示した。このエピトープは、以前に単離されたエピトープクローン Y5-10 内に含まれる。2つのクローン (Y5-114-2B および Y5-121-19A) は、それらの 5' 末端が、Y5-10、Y5-12、および Y5-26 の以前に観察された開始より、NS5a のカルボキシ末端の方に 14 アミノ酸近い所に位置するという事実により区別される。上記クローンのいずれも、クローン Y5-10 で観察されたエピトープに対してその 3' 末端を内部に有しない。従って、このエピトープの最小配列は、アミノ酸配列 (配列番号 272) 内に含有される。

30

【0504】

(B. ENV ライブラリー由来の抗原性クローン)

ENV ライブラリーを HGV 血清 J21094 でスクリーニングした。この血清 (J21094) は、第1世代 (c-100) HCV 試験に基づき、HCV 陽性と同定された。PCR および他の HCV 抗原を用いて、最初の J21094 血清サンプル、およびその後得られた J21094 サンプルのその後の試験は、血清供給源の個体は HCV 感染していたことを確認した。HGV 核酸の存在についての証拠が、470-20-1 と NS5 とのプライマーの組を用いる PCR 分析により得られた。

【0505】

多数のファージクローンが、J21094 血清と免疫反応性であると同定された。ファージをプラーク精製し、そして配列決定した。7 個のクローン (Q7-12-1、Q7-16-2-2、Q7-15-2、Q7-17-2-1、Q7-19-1、および Q7-19-2-1) は、同一の挿入物を含有した。Q7-12-1 のヌクレオチド配列を、配列番号 143 (ポリペプチド配列、配列番号 144) として示す。

40

【0506】

さらに 1 個のクローン (Q7-16-1) を上記の方法により得た。これは、Q7-12-1 と同じ 5' 末端を有するが、3' 末端で 26 アミノ酸短い。

【0507】

(C. NS3 ライブラリー由来の抗原性クローン)

50

F 9 / R 9 ファージおよび F 1 0 / R 1 0 ファージの 1 : 1 混合物を、以下の血清を用いてスクリーニングした： P N F 2 1 6 1、J 2 1 6 8 9 および E 5 7 9 6 3。J 2 1 6 8 9 および E 5 7 9 6 3 の両者は、（複数のプライマーを使用する）P C R により H C V および H G V について共に陽性と判定される血清である。それぞれの免疫スクリーニングは、10個のプレートすなわち約150、000個のファージからであった。これらのスクリーニングにおいて同定された免疫陽性クローンのいくつかは、以下の通りである。

【0508】

クローン Y 1 2 - 1 0 - 3 （ポリヌクレオチド配列、配列番号 1 4 5；ポリペプチド配列、配列番号 1 4 6）を、J 2 1 6 8 9 血清との免疫反応性により同定した。このクローンは、H G V N S 3 由来の 8 8 アミノ酸挿入物を発現する。

10

【0509】

クローン Y 1 2 - 1 5 - 1 （ポリヌクレオチド配列、配列番号 1 4 7；ポリペプチド配列、配列番号 1 4 8）を、E 5 7 9 6 3 血清との免疫反応性により同定した。このクローンは、H G V の N S 3 タンパク質由来の 6 4 アミノ酸挿入物を発現する。この配列は、クローン Y 1 2 - 1 0 - 3 に対して約 7 0 アミノ酸の 5' 側に位置する。

【0510】

（D. N S 2 ライブラリー由来の抗原性クローン）

複数の陽性プラークを、H G V 陽性血清 T 5 6 6 3 3 で N S 2 ライブラリーをスクリーニングすることにより単離した。11個のこれらのプラークを引き続き精製し、そして D N A 配列決定をした。これらのプラーク内に含有される挿入物の位置（配列番号 1 4 と比較して）を、表 2 0 に示す。

20

【0511】

【表 2 0】

表20

クローン	HGV 変異体	血清	開始*	終了
Q9-18-5	PNF	T56633	3071	2778
Q9-18-3	PNF	T56633	2951	2745
Q9-20-4	PNF	T56633	3002	2745
Q9-18-2	PNF	T56633	2990	2745
Q9-20-8	PNF	T56633	3062	2745
Q9-20-5	PNF	T56633	2972	2787
Q9-17-1	PNF	T56633	2990	2745
Q9-19-3	PNF	T56633	2982	2745
Q9-19-1	PNF	T56633	2982	2745
Q9-19-5	PNF	T56633	2984	2745
Q9-20-2	PNF	T56633	3027	2745

30

40

* この表において、位置を配列番号14と比較して示す。クローンの実際の配列は示されたフラグメントの相補配列である。

すべての免疫クローンは、同じオープンリーディングフレーム（O R F）の部分を発現する。このリーディングフレームは、ポリタンパク質をコードする配列に相補性である H G V ポリヌクレオチドストランドによりコードされる。この O R F は、配列番号 1 4 に相

50

補的な配列の n t 6 3 2 2 と n t 6 8 6 5 との間に広がる。相補ストランドの n t 6 3 8 8 に位置する翻訳開始部位として作用し得るメチオニンが存在し、このメチオニンは、1 5 9 個のアミノ酸タンパク質の産生を可能にする。

【0512】

1 1 個の配列決定したすべてのクローンに共通な最小のアミノ酸配列は、（配列番号 1 4 の相補ストランドと関連して）n t 6 3 4 2 から n t 6 6 0 6 の間に位置している。H G V - P N F 2 1 6 1 のネガティブストランドのこの領域によりコードされるアミノ酸配列を、配列番号 2 7 3 として示す。

【0513】

免疫反応性ネガティブストランド領域のサブクロニングおよびその後のウェスタンブロット分析を、以下に記載する。 10

【0514】

（E. V N S 5 A ライブラリー由来の抗原性クローン）

V N S 5 a ライブラリー由来の約 1.5×10^5 ファージをプレート化し、そして引き続いて実施例 1 3 に記載の手順を用いて H G V 陽性血清 J 2 9 3 7 4 でスクリーニングした。V N S 5 a ライブラリーの J 2 9 3 7 4 による免疫スクリーニングの結果、複数の陽性プラークを単離した。これらのプラークの 6 個を精製し、そして引き続いて D N A 配列決定をした。得られた D N A 配列の元の株を、いずれの S I S P A リンカー配列がクロンの 5 ' および 3 ' 末端に存在するかによって決定し得た。（配列番号 1 4 と関連して）

得られたクローンの開始および終了の位置ならびにそれらの供給源の血清を、表 2 1 に要約する。 20

【0515】

【表 2 1】

表21

クローン	HGV 変異体源	血清	開始*	終了
Q11-14-2	AH0591	J29374	6525	6749
Q11-16-1	E21-A	J29374	6432	6935
Q11-10-2	T56633	J29374	6579	6710
Q11-18-2	T56633	J29374	6579	6758
Q11-22-1	T56633	J29374	6576	6680
Q11-9-1	T56633	J29374	6531	6851

これらのすべてのクローンは、共通してクローン Q 1 1 - 2 2 - 1 の配列（配列番号 2 7 4）を含有する。このアミノ酸配列は、Y 5 - 1 0 エピトープの最小配列に対してすぐ 5 ' 側に位置する。従って、このアミノ酸配列は、H G V N S 5 a のもう 1 つの独特なエピトープを（Y 5 - 1 0 および Y 5 - 5 とともに）定義する。これらの 3 つの H G V 変異体の観察されたアミノ酸配列と P N F - 2 1 6 1 単離物および J C 単離物のアミノ酸配列との比較では、アミノ酸置換はほとんど見られない。

【0516】

（実施例 1 4 免疫反応性クローンのさらなる特徴付け）

（A. サブクロニング）

（1. Y 5 クローン）

Y 5 - 1 0、Y 5 - 1 6、および Y 5 - 5 クローンを選択し、発現ベクター p G E X - H i s B にサブクロニングした。これらのクローンの末端での無関係のリンカー配列を除いた P C R プライマーを設計した。これらのプライマーはまた、（i）各挿入物の（コード配列に対して）5 ' 末端での N c o I 部位、および（i i）各挿入物の 3 ' での B a 30

mH I 部位が導入された。これらのプライマー（表 2 2 を参照のこと）を用いて、DNA フラグメントを 2 μ l の純粋なプラークストックから増幅した。

【0517】

【表 2 2】

表22

クローン	プライマー 組		
Y5-10	Y5-10-F1	配列番号	99
	Y5-10-R1	配列番号	100
Y5-16	Y5-16F1	配列番号	101
	470ep-R3	配列番号	102
Y5-5	Y5-5-F1	配列番号	103
	470ep-R3	配列番号	102

増幅を、以下の通りに行った：94℃で1分間、50℃で1.5分間、および72℃での2分間の30サイクル。増幅後、得られたDNAを、「WIZARD PCR」、スピンカラムを用いて精製し、サンプルを50 μ l で溶出し、そしてNco I および BamH I で一晚消化した。30ユニットの各酵素の最少量を、制限エンドヌクレアーゼ消化において使用した（Nco I、Boehringer Mannheim；BamH I、Promega）。

【0518】

消化したPCRフラグメントを、Nco I および BamH I で消化した発現ベクター pGEX-HisB に一晚連結した。各セットの連結したプラスミドを別個に用いて、E. coli W3110 株を熱ショックプロトコル（Ausubel ら；Maniatis ら）を用いて形質転換した。形質転換体を、100 μ g/ml のアンピシリンを含有する LB プレート上で選択し、そして耐性クローンを用いて、100 μ g/ml のアンピシリンを含有する LB の 2 ml に接種した。非組換え s j 26 / his タンパク質を発現する培養物もまた、調製した。

【0519】

37℃で一晩インキュベーション後、培養物を 2 ml の新鮮な LB + アンピシリン中に 1/10 に希釈し、そして 37℃でさらに 1 時間増殖させた。IPTG を、0.2 mM の最終濃度に加え、そして培養物を 37℃でさらに 3 時間増殖させた。細菌を遠心分離によりペレット化し、そして細菌ペレットを 100 μ l の PBS 中に再懸濁した。ペレットに、100 μ l の 2 $\times$ SDS サンプル緩衝液（0.125 M Tris、pH 6.8、10% グリシン、5% β -メルカプトエタノール、2.3% SDS）を加えた。得られた溶解物をボルテックスし、そして 5 分間 100℃に加熱した。各溶解物のアリコート（15 μ l）を 12% アクリルアミド SDS-PAGE ゲルに載せた。

【0520】

発現したタンパク質を、電気泳動によりサイズ分画した。分離したタンパク質を、標準

的技術 (Harlowら) を用いてゲルからニトロセルロースフィルターに移した。発現タンパク質を含有するもう1つのゲルを、クマシーブルータンパク質染色を用いて染色した。

【0521】

Y5-10、Y5-5およびY5-16のプラスミドを有する形質転換体は、著量の正しいサイズの組換え融合タンパク質を発現した。組換え融合体の同一性を、sj26と特異的に免疫反応するマウスモノクローナル抗体 (Sierra BioSource、Gillroy、CA) を用いてウェスタンブロット (上記のように調製した) のインキュベーションにより確認した。

【0522】

拾ったコロニーが適切な挿入物を含有することを、以下の通りにしてさらに確認した。各コロニーのファージ溶液を、組換えクローンが接種されて発現が予想される細菌の少量を含有する爪楊枝で40 μ lのTE溶液に接種することにより調製した。5 μ lのサンプルを各溶液から取り出し、そして別個にPCR増幅した。

【0523】

増幅には、適切な正方向プライマー (例えば、Y5-10の発現が予想されるコロニーについてのY5-10F) およびプラスミドpGEX-HisBのクロニング部位の3'に位置する配列に相同的な逆方向プライマー (配列番号104) を用いた。PCR増幅は、以下の25サイクルであった: 94°Cで1分間、50°Cで1.5分間および72°Cで2分間。

【0524】

さらに分析するために選択したすべてのコロニーは、これらの条件下で他の明らかなバンドは全くなく、正しいサイズのDNAバンドを与えた。

【0525】

Y5-10、Y5-16、およびY5-5の挿入物から発現した抗原 (sj26-his融合タンパク質として発現した) の免疫反応性を、以下のように測定した。上記のように調製した各粗溶解物のアリコート (15 μ l) を、12%アクリルアミドゲルを用いるSDS-PAGEによりサイズ分画した。タンパク質を、ニトロセルロースフィルター上にエレクトロブロットした (「NOVEX MINICELL MINIBLOT II」、San Diego、CA)。

【0526】

次いで、フィルターを、以下の血清の1つで、個別にインキュベーションした: JC、PNF2161、および陰性コントロールとしてスーパーノーマル血清4 (SN4) (RO5072)。さらに、1枚のフィルターを抗sj26モノクローナル抗体 (RM001; Sierra BioSource) とインキュベーションした。

【0527】

予想されるように、Y5-10、Y5-5、およびY5-16の挿入物によりコードされる抗原を発現する細菌により産生される組換えタンパク質はすべて、JC血清と反応した。PNF2161血清またはSN4血清のいずれによっても反応性は観測されなかった。

【0528】

すべてのタンパク質は、抗sj26モノクローナル抗体に対するそれらの反応性により測定されるように、同じようなレベルで発現されるようであった。Y5-5およびY5-10によってコードされるタンパク質を選択し、そしてさらに精製した。

【0529】

Y5-5およびY5-10含有pGEX-HisBベクターを保有するE. coliを培養し、そして融合タンパク質の発現を上記のように誘導した。細胞を、フレンチプレスを用いて1500 psiで、PBS (2mM PMSFを含有する) 中で溶解した。粗溶解物をスピンドリ、細胞破砕物を除いた。上清を、高流速でグルタチオンアフィニティカラムに載せ、そしてカラムを10カラム容量のPBSで洗浄した。Y5-5およびY5-

10

20

30

40

50

10 融合タンパク質を、10 mM グルタチオンを含有する 10 mM Tris (pH 8.8) で溶出した。

【0530】

それぞれの融合タンパク質サンプルを緩衝液 A (10 mM Tris pH 8.8、8 M 尿素を含有する) で 1/10 に希釈し、そしてニッケルキレート化「SEPHAROSE」ファーストフロー (fast flow) カラムに載せた。それぞれのカラムを、夾雑物がそれ以上溶出されなくなるまで、緩衝液 A で繰り返し洗浄した。融合タンパク質を、緩衝液 A 中においてイミダゾールのグラジエントを用いて溶出した。イミダゾールグラジエントは、20 カラム容量において 0~0.5 M イミダゾールで行った。画分を集めた。

10

【0531】

分画のそれぞれのセットを、12% ポリアクリルアミドゲルを用いる標準的な SDS-PAGE により分析した。Y5-5 および Y5-10 融合タンパク質含有画分を、別々にブールした。

【0532】

図 8A~図 8D に、以下のサンプル ($\mu\text{g}/\text{レーン}$) のウェスタンブロット分析の結果を示す：レーン 1、Y5-10 抗原 1.6 μg ；レーン 2、Y5-10 抗原 0.8 μg ；レーン 3、Y5-10 抗原 0.4 μg ；およびレーン 4、Y5-10 抗原 0.2 μg 。ヒト血清 JC (図 8A) およびスーパーノーマル 2 血清 (図 8B) を 1:100 に希釈した。抗 GST マウスモノクローナル抗体 RM001 (図 8C) を 1:1000 に希釈した。図 8D に、Y5-10 抗原を示す。

20

【0533】

これは、SDS-PAGE により分離され、ニトロセルロースメンブレン上に移され、そしてボンソー S タンパク質染色で染色される (Kodak, Rochester, NY; Sigma)。矢印は、Y5-10 抗原の位置を示す。これらの結果は、Y5-10 が N-(ABCDE) ヒト血清 JC と特異的に免疫反応することを示す。

【0534】

図 9A~図 9D に、以下のサンプルのウェスタンブロット分析の結果を示す：レーン 1、Y5-5 抗原 3.2 μg ；レーン 2、Y5-5 抗原 1.6 μg ；レーン 3、Y5-5 抗原 0.8 μg ；レーン 4、Y5-5 抗原 0.4 μg ；レーン 5、Y5-5 抗原 0.2 μg ；レーン 6、GE3-2 抗原 0.4 μg ；およびレーン 7、Y5-10 抗原 0.4 μg 。ヒト血清 JC (図 9A)、T55806 (図 9B)、およびスーパーノーマル 2 血清 (図 9C) を 1:100 に希釈した。RM001 なる抗 GST マウスモノクローナル抗体 (図 9D) を 1:1000 に希釈した。矢印は、抗原 Y5-5、GE3-2 および Y5-10 の位置を示す。これらの結果は、Y5-5 抗原の JC 血清との特異的免疫反応性を示す。さらに、抗原 GE3-2 および Y5-10 は、T55806 と反応した。

30

【0535】

しかし、Y5-5 抗原は、HGV 陽性血清の T55806 と反応しなかった。

【0536】

Y5-10 抗原をまた、SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動によりサイズ分画した。ゲルをクマシーブルータンパク質染色を用いて染色した。ゲルを、レーザーデンシトメーターを用いて純度のために走査した。Y5-10 融合タンパク質の純度は、約 95% であった。

40

【0537】

(2. ENV クローン)

免疫クローン (Q7-12-1) を、ENV エピトプライブラリーを HGV 陽性血清の J21094 でスクリーニングすることにより、最初に単離した。配列特異的プライマーを用いて、Q7-12-1 $\lambda\text{gt}11$ クローン内に含有される HGV 挿入物を単離した。Q7-12-1 挿入物を切り出し、そして pGEX-Nde にクローン化した。挿入物の配列を DNA 配列決定により確認した (配列番号 275)。

50

【0538】

(3. NS3 クローン 免疫クローン)

(Y12-15-1) を、NS3 エピトープライブラリーを HGV 陽性血清の E57963 でスクリーニングすることにより、最初に単離した。配列特異的プライマーを用いて、Y12-15-1 λ gt11 クローン内に含有される HGV 挿入物を単離した。Y12-15-1 挿入物を切り出し、そして pGEX-Nde にクローン化した。挿入物の配列を DNA 配列決定により確認した (配列番号 276)。

【0539】

免疫クローン (Y12-10-3) を、NS3 エピトープライブラリーを HGV 陽性血清の J21689 でスクリーニングすることにより、最初に単離した。配列特異的プライマーを用いて、Y12-10-3 λ gt11 クローン内に含有される HGV 挿入物を単離した。Y12-10-3 挿入物を切り出し、そして pGEX-Nde にクローン化した。選択したクローンによる融合タンパク質の産生を、ウエスタンブロット分析により評価した。挿入物の配列を DNA 配列決定により確認した (配列番号 277)。

10

【0540】

(4. NS2 クローン)

配列番号 14 の NS2 領域の配列に対して相補的な配列由来の複数のネガティブストランドの免疫クローンを単離した。HGV のネガティブストランドによりコードされる、少なくとも 2 つの重要な ORF が存在する。これらの ORF の第 1 は、Q9 系列のクローンにより示され、上記に記載した。これらの ORF の第 2 は、配列番号 14 の相補体の nt 6723 と nt 7259 との間に位置し、そしてまた、nt 6774 に 5' メチオニンを有する。第 2 の ORF は 162 アミノ酸タンパク質をコードする。

20

【0541】

これらのネガティブストランド ORF の両方の配列の選択された部分を、発現ベクター pGEX-Nde にクローン化した。これらのすべてのサブクローンを、適切なオリゴヌクレオチドプライマーを用いて PNF2161 SISA 物質の PCR 増幅により得た。従って、これらは、HGV-PNF2161 変異体の配列を含有する。表 23 に、配列番号 14 の相補体に関連して、ORF の名称、サイズおよび位置を示す。

【0542】

【表 2 3】

表23

名称 / ORF	ORF	開始 NT (ATG)	終了 NT
5' NEG ORF	159 AA	6388	6865
3' NEG ORF	162 AA	6722	7258
NORF-F1/R1	3'	7107	7259
NORF-F4/R1	3'	6900	7259
NORF-F4/KR2	3'	6901	7172
NORF-F2/R1	3'	6744	7259
NORF-KF2/R4	5'	6684	6865
NORF-KF1/R2	5'	6881	6742
NORF-F3/R2	5'	6389	6742
NORF-F2/R3	3'	6744	6899
K3P-KF2/KR1	5'	6684	6772
	3'	6744	6791

この表の最初の2行は、配列番号14の相補体に関連して、NS2領域の5'および3'ネガティブストランドのORFの位置と同一である。残りの行は、9クローンのすべてにより発現された特定のヌクレオチド配列を示す。これらのクローンのいくつかは、推定されるHGVの開始メチオニンのORFに対して5'に位置するアミノ酸を発現することに留意されたい。さらに、最後に示したクローンのK3p-KF2/KR1は、指示部分の3'ORFが続く5'ORFの指示部分を発現するキメラ体であることに留意されたい。

【0543】

これらのDNAフラグメントのすべてを、引き続きpGEX-Ndeにクローン化した。

【0544】

挿入物を含有するクローンもまた、同定し、そして確認した。

【0545】

(5. NS5Aクローン)

表24に、いくつかのNS5aクローンおよびそれらが対応する配列番号14の領域を示す。

【0546】

【表 2 4】

表24

名称	HGV 供給源	開始	終了
EXY10-F2	PNF	6416	6827
EXY10-F3	PNF	6537	6827
Q11-F1-R1	T56633	6537	6680
Q11-F1-R2	T56633	6537	6827
Q11-F2-R1	T56633	6576	6680
Q11-F2-R2	T56633	6576	6827
Y5-12	PNF	6633	6917
EXY12	PNF	6918	6977
EXY10F14	PNF	6822	6977

これらの配列を、コードタンパク質抗原の発現のために、ベクター p G E X - N d e にクローン化した。

【0547】

(B. 選択されたHGVサブクロンのウェスタンブロット分析)

上記のネガティブおよびポジティブの両ストランド構築物の反応性を測定するために、種々のHGVサブクロンを発現する細菌由来の細胞全体の溶解物を、本質的に実施例13Bに記載の通りに調製した。次いで、発現タンパク質のアリコートにSDS-PAGEにより分画し、タンパク質をニトロセルロースフィルターに移し、そしてフィルターをHGV陽性血清またはコントロール血清（例えば、抗S J 2 6 M A B R M 0 1）でプローブした。ブロットを、適切なリポーター抗体でインキュベーションした。

【0548】

試験したHGVタンパク質に関して、タンパク質N O R F - F 3 / R 2 に対して明瞭な免疫反応性を、J 2 1 6 8 9 およびT 5 6 6 3 3 のHGV血清で検出した。N O R F - F 3 / R 2 サブクロンは、Q 9 系列のネガティブストランドのエピトープクローンによってもコードされるアミノ酸配列を発現する。HGV血清T 5 6 6 3 3 で観測された強い反応性により、HGVのネガティブストランドのこの領域の免疫反応性が確認される。N O R F - F 3 / R 2 タンパク質の反応性は、HGV陰性個体のR 0 4 3 1 6 または他の5つの試験したHGV陰性スーパーノーマル血清のいずれかに由来する血清では観測されなかった。

【0549】

さらなるプロットにより、他の主要な5'ORFクローンであるNORF-KF2-R4（これは、5'ネガティブストランドに位置するORFのカルボキシ末端半分のアミノ酸を発現する）は、HGV陽性血清のT56633と反応しないことが示される。この観測と上記のQ9エピトープクロンの位置とを一緒にすることにより、ネガティブストランドのこの領域の免疫原性エピトープが上記の55アミノ酸（配列番号273）内に含有されることを示唆する。この配列が、他のHGV抗血清（J21689を含む）により認識されるという事実は、この配列に対する免疫反応性がHGV感染個体間に比較的広がっていることを示す。

【0550】

さらに、Y12-10-3タンパク質との明瞭な免疫反応性がHGV感染血清のJ21689、J29374、およびE57963で観測された。この反応性の特異性は、IPTGによるY12-10-3タンパク質発現の誘導の非存在下において、HGV抗血清J29374またはE57963との免疫反応性が観測されないことにより、さらに支持される。Y12-10-3に対する反応性は、7つの試験したスーパーノーマル血清のいずれを用いても観測されなかった。

【0551】

（実施例15 マルチ抗原HGV診断アッセイ）

上記のエピトープクロンはすべてのHGV-PCR陽性血清と反応しないようであるが、これらのクロンの多くは、それらを試験したHGV感染血清の実質的な画分と反応する。そのうえ、これらのタンパク質は、HGV陰性血清と実質的な交差反応性を示していない。従って、タンパク質の個々の反応性を足し合わせるように、これらのタンパク質のいくつかを組み合わせた診断アッセイを構築し得る。このようなアッセイは、HGV陽性血清の検出のための比較的高い感度およびHGV陰性血清との比較的低いバックグラウンドの反応性を有することが予想される。

【0552】

このようなアッセイにおいて有用なエピトープ／抗原の例として、NORF-F3/R2（NS2ネガティブストランド）、Y12-10-3（NS3）、Q11-F2-R1（NS5a）、Y5-10（NS5a）、Y5-5（NS5a）、Q11-F2-R2（NS5aの2つのエピトープを組み合わせる）が挙げられるが、これらに限定されない。

【0553】

このアッセイについて、個々の抗原は、典型的には、HGV陽性血清の異なる部分（subset）を認識した異なる独特のエピトープを含有する抗原から選択される。

【0554】

さらに、このような抗原は、典型的には、HGV陰性血清と有為に反応しない。本発明のガイダンスに従って、有用なさらなる免疫原性クローンを単離し得る。

【0555】

マルチ抗原診断アッセイは、多くの形式を取り得る。1つの実施態様において、このアッセイは、5つのHGVタンパク質のそれぞれならびにニトロセルロース短片（strip）または他の便利な固相形式上の離れた位置でのコントロールタンパク質の固定化を必要とし得る。あるいは、例えば、HGV融合タンパク質の非ウイルス部分は、挿入または欠失のいずれかにより改変され得る。その結果、それらは、SDS-PAGEおよびその後のウェスタンブロット分析に際して容易に識別し得る位置に自然に移動する。次いで、短片を、試験血清中でインキュベーションする。結合した抗体の検出後、次いで血清は、（i）免疫反応性である抗原の数、および（ii）免疫学的反応の強度に基づいて評価される。非HGVコントロールタンパク質に対する反応性は、血清判定ができないことを示す。非HGVタンパク質との反応性により、血清はHGV陰性と分類される。

【0556】

ELISAに基づくスクリーニングアッセイを、単一の反応区域において精製した抗原タンパク質を組み合わせることにより、または2つ以上の反応性エピトープを単一タンパク質（例えば、HGVモザイクポリペプチド）として発現するタンパク質構築物を作製す

ることにより形成し得る。モザイクポリペプチドを構築する方法は、本明細書中に記載されている。上記のQ11-F2-R2構築物は、実際、単一のポリペプチド鎖中に2つの個別的なエピトープをコードする「マトリックスタンパク質」を表す。ウェスタンブロット分析は、このようなELISAスクリーニング試験のための確認アッセイとして作用し得る。

【0557】

あるいはまたはさらに、全長のHGVタンパク質（例えば、E2、NS5aおよびNS3）は、単一反応区域内に置かれ得る。このようなタンパク質と反応性である血清はまた、ウェスタンブロットアッセイによりHGV陽性と確認され得る。

【0558】

（実施例16 大きなHGVポリペプチドの発現）

（A. より大きなHGV抗原のE. coliにおける発現）

（1. クローニングおよび発現）

HGVエピトープ（小さな重複するHGV構築物により、またはファージライブラリースクリーニングによりカバーされない）の立体配置を同定するために、より大きなHGVタンパク質構築物を、予想される切断部位（Bazanら、1989；Chambersら、1990b；Grakouiら、1993；KyteおよびDoollittle、1982）に基づいて、pET-21a（+）ベクター（Novagen、WI）内に作製した。個々のHGVタンパク質構築物を、pGEXベクターにクローン化したHGV配列と同様の様式で作製した。

【0559】

簡潔に記すと、選択したHGV配列を、HGV配列特異的プライマーを用いて、HGV（+）ヒト血清供給源からRT-PCR増幅した。プライマーは、pETベクターにおけるクローニング操作のために、適切な制限部位を含むように操作した。目的のコード配列を、典型的には、ベクター内のEcoRI部位とHindIII部位との間に挿入し、T7. Tagリーダー配列を伴う5'インフレイム融合およびヘキサマーヒスチジン配列を伴う3'インフレイム融合を作製した。T7. Tag（11個のアミノ酸配列）は、抗T7. Tagモノクローナル抗体（Novagen、WI）を用いる融合タンパク質の検出を可能にする。融合タンパク質のカルボキシル末端のヒスチジンヘキサマーは、固定化金属イオンアフィニティークロマトグラフィーを用いるタンパク質の精製を可能にする。

【0560】

HGVフラグメントを、適切に消化したpET-21a（+）ベクター内に連結した。連結産物を、コンピテントE. coli（HMS174；Novagen、WI）に形質転換した。形質転換したHMS174由来のプラスミドDNAを、プライマーT7F（配列番号157）およびT7R（配列番号158）を用いるPCRによりHGV配列の存在について分析した。これらのプライマーは、挿入分子に隣接するpET-21a（+）ベクターの配列に相同である。PCR産物のサイズは、挿入サイズ+ベクター由来の約260bpであった。

【0561】

各構築物について、PCR結果は挿入配列の存在を確認した。適切な挿入物を有する形質転換体を選択し、HGV挿入物を有するプラスミドDNAを調製し、そしてHGVタンパク質の発現のために、コンピテントなE. coli HMS174（DE3）（Novagen、WI）に導入した。

【0562】

HGVタンパク質の発現を、1mM IPTGで誘導した。T7. Tag融合タンパク質の発現を、クマシーブルー染色ゲル上で、予想されるサイズのタンパク質の出現により追跡した。融合タンパク質の発現を、抗T7. Tag抗体（Novagen、WI）を用いるウェスタンブロット分析により確認した。pET-21a（+）ベクターにおいて発現したHGVタンパク質を、表25に示す。発現した配列の開始点および終了点は、配列番号14に関連して示す。GE-Capのアミノ酸配列を、配列番号185に示す。

【0563】

【表25】

表25

名称	ドメイン	血清 供給源	開始	終了	HGV aa	サイズ (kDa)
GE-Cap	カプシド	T55806	271*	480*	70	11
GE-E1a	E1	PNF	594	1148	185	24
GE-E2	E2/NS1	PNF	1149	2183	345	41
GE-NS2b	NS2b	PNF	2904	3254	117	16
GE-NS3	NS3	PNF	3255	5081	609	70
GE-NS4a	NS4a	PNF	5082	6083	334	40
GE-NS4b	NS4b	PNF	6084	6536	151	20
GE-NS4	NS4	PNF	5082	6536	485	57
GE-NS5a	NS5a	PNF	6537	7529	331	39
GE-NS5b	NS5b	PNF	7530	9044	505	59

10

20

* これらの配列は、配列番号178に関連して示す。

図12に、T7 Tagモノクローナル抗体を用いたウェスタンブロット分析により示される各HGVタンパク質の発現を示す。図12のレーンは、以下の通りである：レーン1、予め染色された分子量マーカー（Bio-Rad）；レーン2、非誘導GE-Capの溶解物；レーン3～11、それぞれIPTG誘導溶解物であるGE-Cap、E1a、E2、NS2b、NS3、NS4a、NS4b、NS4、およびNS5bの溶解物。レーン12は1μgの精製NS5aを含有した。各抗原の位置を矢の先で示す。図12に示すように、すべてのHGVタンパク質が、E. coliにおいて発現された。

30

【0564】

（2. pETベクターにおいて発現したHGVタンパク質のウェスタンブロット分析）
pETベクターにおいて発現したHGVタンパク質のウェスタンブロット分析を、実施例11Cに記載の通りに、E. coliの全細胞溶解物および前吸着させた血清を用いて行った。これらの分析の結果により、いくつかのpET HGVタンパク質がHGV陽性ヒト血清と特異的に免疫反応性であるが、しかしHGV陰性ヒト血清とは免疫反応性でないことが示された。GE-NS2b-1タンパク質は、J21689血清と免疫反応性であった。GE-NS5a-3タンパク質は、ウェスタンブロット分析において、JC、T55806、T56633、J21689、E57963およびR0001を含む、いくつかのHGV（+）血清と免疫反応性であった。これらの血清の中で、T55806、J21689およびE57963は、（PCR分析により）HCVとも同時に陽性である。GE-NS2b-1またはGE-NS5a-3はいずれも、いくつかの試験したHGV陰性血清と免疫反応性でなかった。

40

【0565】

図10A～図10Fに、抗原GE-NS2b-1およびGE-NS5a-3の反応性を試験する、一連のウェスタンブロット実験の例示的な結果を示す。図10A～図10Fの各ブロットにおけるレーンは、以下の通りである：レーン1、非誘導GE-NS2bの溶解物；レーン2、IPTG誘導GE-NS2bの溶解物；レーン3、非誘導GE-NS5aの溶解物；およびレーン4、IPTG誘導GE-NS5aの溶解物。各ブロットを、ヒト血清またはマウスのモノクローナル抗体でインキュベートした：図10A、J29374

50

；図10B、J21689；図10C、T56633；図10D、T43608（スーパーノーマル血清）；図10E、抗T7. Tag；および図10F、クマシーブルー染色ゲル。用いた血清またはモノクローナル抗体を、各ブロットの上部に示す。ヒト血清は1：100に希釈し、そして抗T7. Tagマウスモノクローナル抗体は1：1000に希釈した。

【0566】

上記に挙げた血清に加えて、GE-NS5aを用いて、さらにHGV-PCR陽性血清をスクリーニングした。これらのすべての分析の結果により、GE-NS5a抗原と複数のHGV感染血清との反応性が示された。GE-NS5bは、HGV（+）血清のJCおよびT55806と免疫反応性であったが、試験したHGV（-）陰性血清とは免疫反応性でなかった。図13A～図13Eに、抗原GE-NS5bの反応性を試験する、一連のウェスタンブロット実験の結果を示す。図の各ブロットにおけるレーンは、以下の通りである：レーン1、予め染色された分子量マーカー（Bio-Rad）；レーン2、非誘導GE-NS5bの溶解物；レーン3、IPTG誘導GE-NS5bの溶解物。

10

【0567】

各ブロットを、ヒト血清またはマウスのモノクローナル抗体でインキュベートした：図13A、抗T7. Tagモノクローナル抗体；図13B、JC；図13C、T55806；および図13D、T43608（スーパーノーマル血清）。図13Eはクマシー染色である。

【0568】

図14A～図14Dに、抗原GE-E2の反応性を試験する、一連のウェスタンブロット実験の結果を示す。図14A～図14Dの各々におけるレーンは、以下の通りである：レーン1、予め染色された分子量マーカー（Bio-Rad）；レーン2、非誘導GE-E2の溶解物；レーン3、IPTG誘導GE-E2の溶解物。各ブロットを、ヒト血清またはマウスのモノクローナル抗体でインキュベートした：図14A、抗T7. Tagモノクローナル抗体；図14B、3831781；および図14C、T43608（スーパーノーマル血清）。図14Dはクマシー染色である。用いた血清またはモノクローナル抗体を、各ブロットの上部に示す。GE-E2タンパク質は、HGV陽性血清3831781と免疫反応性であったが、スーパーノーマル血清のT43608とは免疫反応性でなかった（それぞれ、図14Bおよび図14C）。

20

30

【0569】

抗原GE-CapおよびGE-NS4aはまた、HGV（+）血清J21689と特異的に免疫反応性であった。

【0570】

（B. より大きなHGV抗原の昆虫細胞における発現）

組換えバキュロウイルスを用いるタンパク質発現は、以下の利点を提供する：（i）高レベルの組換えタンパク質の発現、そして（ii）効率的なタンパク質の輸送および修飾を含む高等真核生物系の利点。この系は、輸送されるタンパク質（例えば、HGV E1、E2およびNS2a）の発現に特に有用である。

【0571】

（1. クローニングおよび発現）

Spodoptera frugiperdaの昆虫細胞培養物であるSf21およびAutographa californicaの核多角症（nuclear polyhedrosis）ウイルスの誘導体である「BACULOGOLD」（Pharmingen、San Diego、CA）を、HGVポリペプチドの発現のために用いた。確立されたプロトコルを用いて、昆虫細胞を培養し、そしてバキュロウイルスプラスミド転移ベクターと線状化バキュロウイルスDNAとの同時トランスフェクションにより、組換えバキュロウイルスを作製した（King、1992）。バキュロウイルスプラスミド転移ベクターの構築には、従来技術を用いた（Maniatisら；Sambrookら）。

40

【0572】

50

バキュロウイルス転移ベクター pAcYM1 (Kingら、1992) を、ヒスチジンヘキサマーをコードする 2 本鎖オリゴヌクレオチドをベクターの BamHI クローニング部位に連結することにより改変した (ベクターを pAcYMIH と名付けた)。停止コドン (TAA) を、ヒスチジンヘキサマー配列の後に置いた。これにより、ヒスチジンヘキサマーが発現タンパク質のカルボキシ末端に置かれる。親ベクター pAcYMI の BamHI クローニング部位は、pAcYMIH 内にそのまま残り、ヒスチジンヘキサマーと種々の遺伝子をインフレームでクローン化するために使用し得た。ヒスチジンヘキサマーは、発現タンパク質の迅速で効率的な精製方法を提供する (Janknechtら、1991)。

【0573】

第二のバキュロウイルス転移ベクター (pVT-Bac) もまた、同様に改変し、発現タンパク質のカルボキシ末端にヒスチジンヘキサマーが置かれる。pAcYMI ベクターと同様に pVT-Bac は、強力な後期ポリヘドリンプロモーターを含有する。さらに、pVT-Bac はまた、強力な昆虫の輸送シグナル配列を備え、発現タンパク質の効率的な輸送を確実にする (Tessierら、1991)。pVT-Bac ベクターを、ヒスチジンヘキサマーをコードするの 2 本鎖オリゴヌクレオチドをベクターの BamHI クローニング部位に連結することにより改変した (pVT-BacH ベクターを得る)。親ベクター pVT-Bac の BamHI クローニング部位は、得られた pVT-BacH 内にそのまま残り、昆虫のリーダー配列およびヒスチジンヘキサマー配列と遺伝子とともにインフレームでクローン化するために使用し得る。

【0574】

種々の HGV 遺伝子をコードする DNA フラグメントを、逆転写 PCR により得た。HGV ゲノムの領域を、予想される切断部位 (Bazanら、1989; Chambersら、1990b; Grakouiら、1993; Kyte および Doolittle、1982) に従って選択した。以下のプライマー対を、PNF2161 起源の核酸を用いる RT-PCR 増幅反応において使用した: E1、配列番号 242、配列番号 243; E2B (HGV シグナル配列)、配列番号 244、配列番号 245; E2C (昆虫シグナル配列)、配列番号 246、配列番号 247; NS2a、配列番号 248、配列番号 249; NS2b、配列番号 250、配列番号 251; NS3、配列番号 252、配列番号 253; NS4a、配列番号 254、配列番号 255; NS4b、配列番号 256、配列番号 257; NS5a、配列番号 258、配列番号 259; NS5b、配列番号 260、配列番号 261; および E1-E2-NS2a、配列番号 262、配列番号 263。

【0575】

増幅した DNA フラグメントを、BamHI または BglII エンドヌクレアーゼで消化し、そして BamHI 切断した pAcYMI、pAcYMIH、pVT-Bac または pVT-BacH ベクターにクローン化した。E1 および E2 のカルボキシ末端のアンカー (anchor) をコードする配列ならびに NS5b のカルボキシ末端での疎水性配列を、その後のタンパク質精製を容易にするために除いた。

【0576】

HGV 配列を含有する組換えバキュロウイルスプラスミド転移ベクターを、線状化したバキュロウイルス DNA とともに同時トランスフェクションした。そして組換えウイルスを、X-gal の存在下で白斑として選択した (Kingら、1992)。組換えウイルスを、2 回プラーク精製し、そして増殖させた。単層の Sf21 細胞は、細胞当たり 5 p.f.u. の多重度で組換えバキュロウイルスを感染させ、そして 27°C で 60 時間インキュベートした。細胞を PBS で洗浄し、TNN 緩衝液 (50 mM Tris-HCl pH 8.0、150 mM NaCl、0.5% NONIDET-P40) 中で溶解した。封入体を、14 K で 5 分間細胞サンプルをスピンすることにより単離した。封入体をタンパク質解離緩衝液 (10% 2-メルカプトエタノール、10% SDS、25% グリセロール、10 mM Tris-HCl pH 6.8、0.02% ブロムフェノールブルー) 中に再懸濁し、そして 100°C で 10 分間インキュベートした。

10

20

30

40

50

【0577】

タンパク質の発現パターンを、SDS-PAGEにより分析した。タンパク質を、0.1% SDS-18% PAGEにより分離し、そしてクマシーブリリアントブルーで染色した。

【0578】

大部分のHGVタンパク質は高レベルに発現し、そしてクマシーブルー染色ゲル上で容易に検出し得た。NS5aおよびNS2aポリペプチドを、³⁵Sメチオニンタンパク質標識により検出した(Kingら、1992)。

【0579】

HGV E2タンパク質のグリコシル化を、以下のように試験した。Sf21細胞を組換えバキュロウイルスで感染させ、そして上記のようにプロセスした。タンパク質を0.1% SDS-12% PAGEにより分離し、「IMMOBILON-P」膜(Millipore、Bedford、MA)上にエレクトロブロットし、そしてマンノース残基に特異的なGalanthus nivalis凝集素(Boehringer Mannheim DIGグリカン識別キット)と反応させた。自身のシグナル配列を伴って発現したHGV E2タンパク質は、広範にグリコシル化されていた。このことは、予想されるE2シグナル配列がそのごとく機能し得ることを示す。

【0580】

(2. 免疫蛍光アッセイ分析)

SF21昆虫細胞を、上記のバキュロウイルスHGV構築物で感染させた。細胞を集め、1.5Krpmで3分間スピンし、1×PBSで洗浄し、そして再度スピンした。

【0581】

免疫蛍光アッセイ(IFA)(Kingら、1992)について、細胞をPBS中に再懸濁し、そしてガラススライドのウェルに載せ、細胞がスライドガラスのウェル内でサブコンフルエント層を形成するようにした。スライドガラスを風乾した。細胞を-70℃で予冷したアセトンで10分間固定し、PBSで5分間再度水和させた。過剰のPBSをブロッキングにより除いた。固定した細胞を、以下の「ブロッキング」

緩衝液で1時間処理した：40mM Tris-HCl pH 7.5、3%ヤギ血清、1%BSA、1%脱脂ミルクおよび0.1%ゼラチン。

【0582】

次いで、一次抗体を固定化細胞に加えた。一次抗体は、一連のヒトHGV陽性血清および陽性のコントロールモノクローナル抗体を含んだ。使用前に、血清を、昆虫細胞溶解物を用いて、非特異的タンパク質について前吸着させた。前吸着は、4℃で一晩行った。非感染のSF21細胞を、陰性コントロールとして用いた。選択した一次抗体(血清)の添加後、スライドガラスを2時間インキュベーションし、次いでPBSで数回洗浄し、そして過剰の緩衝液を除いた。次いで、フルオレセイン(0.5μg/mlの濃度)で結合させた二次抗体を、スライドガラス上のサンプルに添加した。二次抗体についてのインキュベーション時間および温度は、一次抗体と同じであった。インキュベーション後、スライドガラスをPBSで洗浄し、そしてカバースリップ(cover slip)を載せた。次いで、細胞の蛍光を、蛍光顕微鏡を用いて測定した。

【0583】

この分析の結果は、以下の通りであった。HGV抗原E1-E2-NS2aを発現する細胞は、4/10のHGV陽性血清と免疫反応性であり、そしてさらに2/10の血清と弱い免疫反応性であった。E1を発現する細胞は、1/10の血清と弱い免疫反応性であった。

【0584】

E2を発現する細胞は、3/10の血清と免疫反応性であり、そして1/10の血清と弱い免疫反応性であった。HGV抗原を有する細胞のいずれも、スーパーノーマルコントロール血清と免疫反応性でなかった。

【0585】

10

20

30

40

50

(3. バキュロベクターで発現したHGVタンパク質のウェスタンブロット分析)

組換えバキュロウイルス感染Sf21昆虫細胞で発現したHGVタンパク質のウェスタンブロット分析もまた、実施した。封入体を上記のように調製し、そしてウェスタンブロット分析に供した。ウェスタンブロット分析を、前吸着させた血清を用いて実施した。この分析の結果より、E2タンパク質(内在性のHGVシグナル配列(E2B)を有する1つの変異体、および昆虫のシグナル配列を有する第2の変異体(E2C))はHGV(+)血清の3831781と特異的に免疫反応性であることを示した。

【0586】

図15A～図15Dに、バキュロ抗原E2BおよびE2Cの反応性を試験した、一連のウェスタンブロット実験の結果を示す。図15A～図15Dの各ブロットにおけるレーンは、以下の通りであった：レーン1、予め染色された分子量マーカー(Bio-Rad)；レーン2、E2B溶解物；レーン3、E2C溶解物；レーン4、 β -ガラクトシダーゼ溶解物。各ブロットを、ヒトまたはウサギの血清でインキュベートした：図15A、ウサギ抗E2抗体；図15B、3831781(HGV-PCR陽性血清)；図15C、3838857(HGV陰性血清)。図15Dはクマシー染色である。用いた血清またはウサギ抗体は、各ブロットの上部に示す。ヒト血清は1:100に希釈し、そしてウサギ血清は1:1000に希釈した。

【0587】

さらに、昆虫細胞で発現したHGV抗原NS2bタンパク質は、J21689と免疫反応性であった。これらの結果は、pET発現HGVタンパク質で得られた結果と一致する。

【0588】

(C. より大きい抗原のワクシニアでの発現)

(1. クローニングおよび発現)

HGVゲノムの種々の領域を、発現のためにワクシニアウイルスゲノムに組み込んだ。例示的なHGVポリペプチド発現ストラテジーを、図16に示す。ワクシニアウイルスで発現したHGV(PNF2161変異体)タンパク質を、図16に模式的に図示する。完全長のポリタンパク質を、予想されるタンパク質の領域を示す四角枠により示す(比率は合っていない)：C=塩基性の高いタンパク質、4A=NS4A、4B=NS4B、5a=NS5A、5b=NS5B。ヌクレオチドの位置(ポリタンパク質の下部)を有する個々の四角は、ワクシニアウイルスでの発現についてのHGVの例示的な領域を表す。四角内の数字は、組換えウイルスの命名を表す。ウイルス#1は、HGV T55806株の塩基性の高いタンパク質領域(配列番号185)由来であった。

【0589】

2組の組換えウイルスを作製した。第一の組は、HGV cDNAの配列分析に基づく個々のタンパク質ドメインに対応するHGV配列を含有した(図16、フラグメント#1～#9)。第二の組は、複数のタンパク質ドメインに広がる、全長のHGVゲノムにまでのHGV配列を含有した(図16、#10、#11、#14)。

【0590】

HGVゲノムの種々の領域を、ワクシニア発現ベクターのマルチクローニング部位にクローン化した。組換えワクシニアウイルス発現系を用いた。これには、細菌性ファージのT7系および高レベルの誘導発現のためのE. coli lacリプレッサーを含んでいた(Fuers tら、1986；Elroy-ste in、1989；Alex ander、1992；Mossら)。従って、組換えタンパク質は、誘導剤(例えば、イソプロピル β -D-チオガラクトシド(IPTG))の存在下においてのみ発現される。直接的クローニングおよびPCRの両方を用いて、プラスミドを構築した。後者において、ワクシニアベクターへのクローニングに適切な制限エンドヌクレアーゼ部位を、使用したプライマー内に取り入れ、個々のDNAフラグメントを増幅した。

【0591】

ポリヒスチジンタグもまた、発現タンパク質を精製するために、個々のH

10

20

30

40

50

G Vドメインを含む各クローン内に取り入れた。H G V-PCR増幅産物適切な制限酵素で消化し、そしてワクシニアベクター内に連結した。標的H G V cDNAフラグメントを、相同組換えおよび薬剤（ミコフェノール酸）選択によりワクシニアウイルスゲノム内に組み込んだ（Falkner、1988、Earl、1991）。組換えウイルスを4回ブランク精製した後、ウイルスストックを作製した。

【0592】

ヌクレオチド中の各クローンの長さを図16に示す。小さなクローンの群（#1～#9）は、H G Vエピトープマッピングに有用である。大きなクローン（例えば、#10、#11および#14）もまた、H G Vポリタンパク質の切断部位を実験的にマッピングするのに有用である。さらに、図16に示すクローンの他に、NS3からNS5bの多数のドメインを含む他の組換えウイルスが構築され得る。 10

【0593】

発現プラスミドを、親のワクシニアウイルスを感染させていた哺乳動物細胞にトランスフェクトした。C V-1およびB S-C-1細胞を、10%ウシ胎児血清を補充した最少必須培地（MEM）中で維持した。この細胞を用いて、トランスフェクションし（C V-1）、そして組換えウイルスの選択および増殖（B S-C-1）を行った。

【0594】

（2. 組換えタンパク質発現の評価）

B S-C-1細胞を、IPTGの存在下または非存在下において7時間、組換えウイルスで感染させた。その後、細胞を³⁵S-メチオニンでさらに1時間標識した（Zhang、1991）。簡潔に記すと、 1×10^6 個のB S-C-1細胞を細胞当たり10プラーク形成ユニット（PFU）の感染多重度（MOI）で1時間、組換えウイルスで感染させ、次いで、さらに6時間、5mM IPTGの存在下または非存在下で培地を補充した。細胞を、メチオニンを含まない培地に2.5%の透析したウシ胎児血清+60uCiの³⁵S-メチオニン（「TRAN³⁵S-LABEL」、ICN、Costa Mesa、CA）を補充した600ulの培地を用いて、5mM IPTGの存在下または非存在下でさらに60分間パルス標識した。次いで、標識細胞を、100mM Tris pH 8.0、150mM NaCl、および1%「TRITON X-100」の存在下で、氷上で10分間溶解させた。核をスピンドウン（spin down）し、そして上清を分析のために集めた。 20 30

【0595】

細胞溶解物をSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動により分析した（Fling、1986；Schagger、1987）。ゲルを50%メタノールおよび10%酢酸で固定した後、フルオログラフ溶液「AMPLIFY」（Amersham、Arlington Heights、IL）で処理した。ゲルを乾燥し、そしてX線フィルムに感光させた。

【0596】

この方法を用いて、挿入物#4～#11、および#14（図16）を含有するウイルスによるH G Vポリペプチドの発現が確認された。他の領域に対応するポリペプチドの発現を、同様に確認した。例えば、NS5a構築物において、IPTGの誘導の際に、特別なポリペプチドが産生され、これは46kDaタンパク質標準のすぐ下に移動した。このタンパク質は、IPTGの非存在下での感染においては見られなかった。このことより、NS5a組換えタンパク質としての、このタンパク質の同一性を確証した。 40

【0597】

さらに、個々のウイルス感染物由来の³⁵S-Met標識細胞溶解物に対するH G V領域特異的抗血清（例えば、目的の領域由来の単離されたH G Vポリペプチドに対して惹起したウサギ抗血清）を用いる限定された免疫沈降を、組換えウイルス由来のタンパク質発現を評価するために行った。例えば、NS2、NS3、NS4B、NS5A、およびNS5Bの発現が確認された。組換えタンパク質発現を評価するための代替方法は、H G V領域特異的抗血清でウェスタンブロット分析を行うことである。 50

【0598】

#14 ウイルスにおいて全長のHGVのポリタンパク質が発現された場合（図16）、NS2、NS3およびNS5Aのプロセスされた産物が、HGV領域特異的抗血清での免疫沈降を用いて検出された。このことは、ポリタンパク質のプロセッシングを評価するための全長のHGVクロンの有用性を示す。

【0599】

図16に示す発現ストラテジーと類似の発現ストラテジーを用いて、候補のHGVタンパク質／抗原を、酵母またはCHO細胞で発現し得る。酵母は、高レベルの発現、経済的な操作、および商業的生産のための規模拡大の容易さを提供する。CHO細胞株は、例えば、ワクチン開発に有用な大規模なタンパク質生産および精製のための組換えタンパク質の増殖培地への分泌を可能にする。

10

【0600】

（実施例17 塩基性の高いタンパク質をコードするHGV）

（A. PNFおよびT55806由来のHGVの翻訳における開始のために使用されるメチオニンの決定）

HGV-PNF 2161変異体において、（配列番号14に関連して）ヌクレオチド（nt）459に位置するメチオニンは、ポリタンパク質に関してインフレームである。「カプシド」領域は、32アミノ酸の長さであるようである。単離した他のHGV（例えば、T55806）では、この領域はさらに長い（例えば、約83アミノ酸）。HGV-PNF 2161変異体において、（配列番号14に関連して）nt349に位置するメチオニンは、ポリタンパク質配列に関してインフレームでない。しかし、HGV-T55806変異体における同じ位置のメチオニンは、ポリタンパク質に関してインフレームである。HGV-PNF 2161において、この位置で読み通しまたはリボゾームのフレームシフトが存在するかを確認するために、以下の実験を行った。

20

【0601】

以下のものを含む構築物を作製した：（i）HGV E1領域の上流のすべてのMETコドンを含むHGVゲノム配列（例えば、HGV-PNF 2161では6個のこのようなMETが存在し、そしてT55806では5個のこのようなMETが存在する）、（ii）リボゾームのシフトまたは読み通しを生じるか否かの決定を可能にする各構築物についての2つの異なる3'末端。所定のゲノムDNAについて、両方の翻訳産物が同じサイズであれば、そのことは、翻訳産物が停止コドンで早まって停止したことを示唆する。一方、読み通しまたはフレームシフトが生じれば、2つの産物は55アミノ酸違うことが予想される。

30

【0602】

HGV-PNF 2161変異体およびHGV-T55806変異体由来の配列を含有する合計21個の構築物をpGEXベクターにサブクローン化し、そして対応するタンパク質をE. coliで発現させた。得られた翻訳産物のサイズを、クマシー染色ゲルならびにモノクローナル抗GST抗体でプロットされるウェスタンとの両方により測定した。誘導サンプルおよび非誘導サンプルを、各構築物について調製した。

【0603】

この結果は、タンパク質産物のサイズが、ポリタンパク質に関してインフレームにある最初のMETでの翻訳開始により予想されるサイズに対応したことを示した。フレームシフトまたは読み通しの証拠はなかった。

40

【0604】

（B. 塩基性の高いタンパク質をコードする代替物）

Fickett（1982）の方法を用いて、（i）前記のポリタンパク質に代わり得る、（ii）HGV-PNF 2161とHGV-JCとの間の保存性を示す、そして（iii）pH10以上に予想される等電点を有する、タンパク質を潜在的にコードし得る配列についてHGV-PNF 2161およびHGV-JCのゲノム配列を走査した。2つのこのような可能性を有するタンパク質が同定された。

50

【0605】

第一のタンパク質は、HGV-PNF2161において（配列番号14に関連して）残基628～残基882により、そしてHGV-JCにおいて（配列番号182に関連して）残基556～残基810によりコードされる。このタンパク質は85アミノ酸の長さであり、HFV94-1とJC9Bとの間の相同性は75%より大きく、そして予想されるpIは11.6～12.3である。

【0606】

第二のタンパク質は、HGV-PNF2161において（配列番号14に関連して）残基6844～残基7125により、そしてHGV-JCにおいて（配列番号182に関連して）残基6772～残基7053によりコードされる。このタンパク質は94アミノ酸の長さであり、HGV-PNF2161とHGV-JCとの間の相同性は88%より大きく、そして予想されるpIは12.4～12.7である。

10

【0607】

これらの2つのタンパク質の例は、HGVの塩基性の高いタンパク質が潜在的に発現され得ることを表す。

【0608】

（実施例18 さらなるHGV単離物のクローニングおよび診断プライマーの設計）

（A. HGV-PNF2161のcDNAクローンの構築）

PNF2161由来のほぼ完全長のHGVゲノムのcDNAクローンを、3個の重複したPCR産物をプラスミドベクターpGEM3Z（Promega、Madison、WI）にクローン化することにより構築した。この構築に用いたPCR産物は、「SUPERSCRIPT II」（Gibco/BRL、Gaithersburg、MD）を用いる逆転写、その後の長い標的配列の増幅を可能にする反応条件を用いたPCR（「rTth-XL」ポリメラーゼおよび「XL PCR BUFFERS」、Applied Biosystems、Foster City、CA）により得た。これらの「長範囲（long-range）」PCR反応のために使用したrTth酵素は、誤って取り込まれたヌクレオチドを訂正する校正活性（すなわち、3'から5'のエキソヌクレアーゼ活性）を有し、従って高い忠実度のPCRを提供する。

20

【0609】

以下の3つの産物を用いて、HGVゲノムを構築した：（i）GV75-36FE（配列番号228）およびGV75-7064RLE（配列番号229）のプライマーを用いて増幅した6.7kbの内部産物（配列番号14のnt2101～nt8834）、（ii）28F（配列番号230）およびFV94-2864R（配列番号231）を用いて増幅した2.8kbの5'末端産物（配列番号14のnt38～nt2899）、および（iii）FV94-6439F（配列番号232）およびFV94-9331R（配列番号233）を用いて増幅した2.9kbの3'末端産物（配列番号14のnt6449～nt9366）。

30

【0610】

最初に、6.7kbの内部フラグメントを「TA-ベクター」pCRIIにクローン化し、クローンHGV7を作製した。続いて、6.1kbKpnI/EcoRIフラグメントをHGV7から除き、KpnI/XbaI消化した2.8kbの5'末端産物（プライマー28Fは、人為的なXbaI部位を含有する）と合わせ、そしてXbaI/EcoRI消化したpGEM3Zにクローン化した。

40

【0611】

この8.8kbクローン（これは、HGVゲノムの3'部分の約0.6kbを欠く）を、HGV-KEX-2と称した。ほぼ完全長のHGVゲノムを構築するために、3'末端HGV産物をNheIおよびEcoRI（プライマーFV94-9331Rは、人為的なEcoRI部位を含有する）で消化し、そしてNheI/EcoRI消化したHGV-KEX-2プラスミドにクローン化し、9329ntのクローン化HGV-PNF2161配列（配列番号14のnt38～nt9366）を作製した。これを3Z-HGV94-

50

6と称する。3 Z-HGV94-6の完全配列を、配列番号234として示す。

【0612】

クローン3 Z-HGV94-6を用いて、インビトロ転写された完全長のHGV RNAまたはその一部分を作製し得る（例えば、SP6ポリメラーゼを用いる）。RNA分子を用いて、ヒト細胞株をトランスフェクトし得る。このアプローチを用いて、ウイルスゲノムの種々の領域をマップし、その複製を研究し、そしてヒト細胞におけるHGV病原性の機構を理解し得る（Riceら、1989；Sumiyoshiら、1992；Yooら、1995）。

【0613】

（B. JC変異体のクローニング）

1 mlのJC血清を、40,000 rpmで2時間スピンドした（Beckman、Spinco Rotor 70.1 Ti）。得られたペレットを「TRI REAGENT」（MRC、Cincinnati、OH）を用いて抽出した結果、3つの相が形成された。上相はRNAのみを含有した。この相を取り出し、そしてRNAをエタノール沈澱により回収した。

【0614】

HGV cDNA分子を2つの方法によりJCサンプルから生成した。第一の方法は、特異的かつネスト（nested）プライマーを用いるJC核酸サンプルの増幅（RT-PCR）であった。プライマー配列は、PNF2161血清から得られたHGV配列に基づいた。プライマーを選択するために用いた判断基準は、（i）高いG/C含量を有する領域、および（ii）非反復配列、であった。

【0615】

HGV cDNA分子を生成するために用いた第二の方法は、HGV（PNF2161）特異的プライマーを用いる増幅、その後の³²P標識オリゴヌクレオチドプローブを用いるHGV特異的配列の同定であった。このようなDNAハイブリダイゼーションを、本質的にSambrookら（1989）により記載されるように行った。PCR由来のクローンは、以下のいずれかを行った：（i）「TA」ベクター（Invitrogen、Sandiego、CA）へのクローン化およびベクタープライマー（TARおよびTAF）を用いた配列決定、または（ii）PCR増幅後の直接の配列決定。プローブ配列およびプライマー配列の両方は、PNF2161血清から得られたHGV変異体に基づいた。

【0616】

これらの2つのアプローチにより、JC血清由来の多数の重複HGVフラグメントを得た。これらのフラグメントのそれぞれを、クローン化し、そして配列決定した。配列をアライン（align）して、配列番号182（ポリペプチド配列、配列番号183）として示されるHGV（JC変異体）のコンセンサス配列を得た。HGV（JC変異体）ウイルスの各領域の配列は、少なくとも3つの異なる、重複した独立クローンからのコンセンサスに基づいた。

【0617】

（C. 他のHGV変異体）

HGV PNF2161変異体配列およびJC変異体配列に加えて、3つの部分的なHGV単離物を、上記と同様の方法により、BG34、T55806およびEB20の血清から得た。これらの単離物の部分配列を以下に示す：配列番号176（BG34核酸）、配列番号177（BG34ポリペプチド）、配列番号178（T55806核酸）、配列番号179（T55806ポリペプチド）、配列番号180（EB20-2核酸）、および配列番号181（EB20-2ポリペプチド）。

【0618】

（D. 診断PCRのための代わりのプライマー）

PCRプライマーおよび対応するアッセイ開発は、保存領域の解析に典型的に基づく、HGVゲノムの領域に由来し得る。HGV-JC変異体とHGV-PNF2161変異体

10

20

30

40

50

との比較に基づいて、H G V の 5 ' 非翻訳領域を、H G V 単離物の検出についてのさらなる P C R に基づく診断試験の開発のために、このような領域の 1 つとして選択した。2 つの例示的なプライマーは、F V - 9 4 - 2 2 F (配列番号 1 2 4) および F V 9 4 - 7 2 4 R (配列番号 1 2 5) である。これらのプライマーは、H G V ゲノムの約 7 2 8 b p フラグメントを増幅する。

【 0 6 1 9 】

配列分析を、H G V の 3 6 個の単離物 (P N F 2 1 6 1 および J C を含む、表 2 6 参照) についてこれらの 2 つのプライマーを用いた反応からの増幅産物に対して行った。複数の配列アラインメント (表 2 6) 、および保存領域のさらなる決定について、約 7 2 8 b p 増幅産物の約 4 0 0 b p の領域 (配列番号 1 4 の n t 6 9 ~ n t 4 6 9) を用いた (下記参照) 。 10

【 0 6 2 0 】

【表 2 6】

表26

配列番号	血清コード	国	% ID PNF 2161
186	S59	イギリス	96.8
187	S368	イギリス	98.8
188	S309	イギリス	95.5
189	FZ	オーストリア	96
190	G21	ギリシア	97.8
191	G23	ギリシア	94.3
192	G59	ギリシア	93.6
193	E36	エジプト	94
194	R38730	アメリカ	94.8
195	G281	ギリシア	97.8
196	G157	ギリシア	94.3
197	G154	ギリシア	96
198	G213	ギリシア	94.8
199	G204	ギリシア	98.3
200	G191	ギリシア	94.8
201	G299	ギリシア	94.8
202	T56957	アメリカ	95.3
203	C01698	アメリカ	98.8
204	T27034	アメリカ	93.5
205	E57963	アメリカ	98.5
206	R37166	アメリカ	97.5
207	B5	ドイツ	95.5
208	B33	ドイツ	95.5
209	FH010	オーストリア	95
210	PNF2161	アメリカ	100
211	JC	アメリカ	96.3

10

20

30

40

【0 6 2 1】

【表 2 7】

配列番号	血清コード	国	% ID PNF 2161
212	7155	ペルー	89.8
213	7244	ペルー	89
214	K27	韓国	89.5
215	K30	韓国	89.5
216	T55875	アメリカ	97.3
217	T56633	アメリカ	93.5
218	EB20	エジプト	94.1
219	T55806	アメリカ	95.6
220	BG34	ギリシア	94.8
221	BE12	ギリシア	95

サンプル中のHGV単離物の検出のために、増幅に基づく（例えば、PCR）またはプローブに基づく方法／アッセイの開発には、適切なプライマー／プローブ配列の選択が含まれる。このようなアッセイのための2つの判断基準は、低コピーの感度およびHGV配列に対する特異性である。配列のアラインメント（上記のような）は、プライマー／プローブ選択および設計を手助けし得る。

【0622】

プライマー選択のためのいくつかの判断基準は、以下の通りである：（i）正方向および逆方向プライマー対は、配列中に有意な相補性がないこと、および（ii）プライマーは有意な自己相補性または二次構造の形成能を有さないこと。これらの予防により、プライマーのダイマーまたはオリゴマー生成の可能性を最小にする。

【0623】

プライマーは、必要に応じて、異なる単離物間で変異を示さない配列領域から設計されるが、既知の単離物の相違の原因である塩基位置で、混合塩基合成または中和（neutral）塩基（例えば、イノシン）を組み込むことにより、相同性のより低い領域からもまた設計され得る。以下の2群のプライマーは、HGVゲノムの検出のためのPCRに基づくアッセイの開発において用いられ得るプライマーの例である：正方向プライマー（配列番号222、配列番号223および配列番号224）；ならびに逆方向プライマー（配列番号225、配列番号226および配列番号227）。

【0624】

種々の組合せのプライマーが、HGV診断アッセイの開発において用いられ得る。

【0625】

最適な組合せのプライマーは実験的に決定され、そして代表的には、アッセイ感度およびアッセイ特異性について考慮される。このような考慮には、以下が挙げられる：（i）

効率的な増幅および容易な産物検出のための100bp～300bp長のPCR産物；(i i) 少なくとも10コピーの標的HGVを再現よく検出する能力、および(i i i) 大部分のHGV変異体を再現よく検出する能力。

【0626】

さらに、プローブ配列は、混合塩基合成または中和塩基合成を伴って同様に設計され得、および／またはストリンジェンシーを下げて大部分のHGV変異体を検出し得る。

【0627】

本発明を特定の方法および実施態様について参考文献とともに記載したが、本発明から逸脱することなく、種々の改変および変更をなし得ることが理解される。

【図面の簡単な説明】

【0628】

【図1】図1は、配列番号14オープンリーディングフレームと470-20-1クローンとの関係を示す。

【図2】図2は、グルタチオンアフィニティーカラムから溶出したグラジエント画分由来の代表的なタンパク質プロファイルを示す。

【図3】図3は、図2からの画分サンプルの代表的なドデシル硫酸ナトリウムポリアクリルアミドゲル電気泳動分析を示す。

【図4A】図4Aは、アニオン交換カラムから溶出したグラジエント分画由来の代表的なタンパク質プロファイルを示す。

【図4B】図4Bは、図4Aからの分画サンプルの代表的なドデシル硫酸ナトリウムポリ
20
アクリルアミドゲル電気泳動分析を示す。

【図4C】図4Cは、図4Aからの分画サンプルの代表的なドデシル硫酸ナトリウムポリ
20
アクリルアミドゲル電気泳動分析を示す。

【図5A】図5Aおよび5Bは、HGVとフラビウイルス科の2つの他のメンバー（ブタコレラウイルスおよびC型肝炎ウイルス）とのアミノ酸アライメントを示す。

【図5B】図5Aおよび5Bは、HGVとフラビウイルス科の2つの他のメンバー（ブタコレラウイルスおよびC型肝炎ウイルス）とのアミノ酸アライメントを示す。

【図6】図6は、HGVエピトープを有する細菌性発現プラスミドであるベクターpGEX-HisB-GE3-2の部分地図を示す。

【図7】図7A～7Dは、精製されたHGV GE3-2タンパク質のウェスタンブロット
30
分析の結果を示す。

【図8】図8A～8Dは、精製されたHGV Y5-10抗原のウェスタンブロット分析の結果を示す。

【図9】図9A～9Dは、以下の抗原は、Y5-5、GE-3およびY5-10のウェスタンブロット分析の結果を示す。

【図10】図10A～10Fは、抗原GE-NS2bおよびGE-NS5aのウェスタンブロット分析の結果を示す。

【図11】図11は、HGVのコード配列のKyte-Doolittle疎水性プロットを表す。

【図12】図12は、抗T7 Tagモノクローナル抗体を有するHGV pETクロー
40
ンのウェスタンブロット分析の結果を示す。

【図13】図13A～13Dは、HGV pETクローンGE-NS5bのウェスタンブロット分析の結果を示す。図13Eは、対応するクマシー染色ゲルを示す。

【図14】図14A～14Cは、HGV pETクローンGE-E2のウェスタンブロット分析の結果を示す。図14Dは、対応するクマシー染色ゲルを示す。

【図15】図15A～13Cは、HGV pETクローンGE-NS5bのウェスタンブロット分析の結果を示す。図15Dは、対応するクマシー染色ゲルを示す。

【図16】図16は、HGVのコード領域の略図表示を示す。

【0629】

[配列表]

10

20

30

40

50

配列表

(1)一般的情報:

(i)出願人:

- (A)名称: ジェネラブス テクノロジーズ, インコーポレイテッド
- (B)番地: ペノブスコット ドライブ 505
- (C)市: レッドウッド シティ
- (D)州: カリフォルニア
- (E)国: アメリカ合衆国
- (F)郵便番号: 94063

10

(ii)発明の名称: G型肝炎ウイルスおよびその分子クローニング

(iii)配列数: 2 7 7

(iv)連絡住所:

- (A)名称: デリンジャー アンド アソシエイテス
- (B)番地: ケンブリッジ アベニュー 350, スイート 250
- (C)市: パロ アルト
- (D)州: カリフォルニア
- (E)国: アメリカ合衆国
- (F)郵便番号: 94306

20

(v)コンピューター読み出し形態:

- (A)媒体型: フロッピー ディスク
- (B)コンピューター: IBM PC 互換用
- (C)OS: PC-DOS/MS-DOS
- (D)ソフトウェア: パテントイン リリース #1.0, バージョン #1.25

(vi)現在の出願データ:

- (A)出願番号:
- (B)出願日:
- (C)分類:

30

(vii)先願データ:

- (A)出願番号: US 08/389,886
- (B)出願日: 1995年2月15日
- (C)登録番号: 4600-0201.35

(vii)先願データ:

- (A)出願番号: US 08/357,509

(B)出願日：1994年12月16日
(C)登録番号：4600-0201.34

(vii)先願データ：

(A)出願番号：US 08/329,729
(B)出願日：1994年10月26日
(C)登録番号：4600-0201.33

10

(vii)先願データ：

(A)出願番号：US 08/344,271
(B)出願日：1994年11月23日
(C)登録番号：4600-0202

(vii)先願データ：

(A)出願番号：US 08/285,558
(B)出願日：1994年8月3日
(C)登録番号：4600-0201.30

(vii)先願データ：

(A)出願番号：US 08/285,543
(B)出願日：1994年8月3日
(C)登録番号：4600-0201.32

20

(vii)先願データ：

(A)出願番号：US 08/246,985
(B)出願日：1994年5月20日
(C)登録番号：4600-0201

(viii)代理人／事務所情報：

(A)氏名：ファビアン, ガリー アール
(B)登録番号：33,875
(C)照会／記録番号：4600-0201.41/G100PCT

30

(ix)電話回線情報：

(A)電話：(415) 324-0880
(B)テレファックス：(415) 324-0960

(2)配列番号1の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：18塩基対
(B)型：核酸

- (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：SISPA プライマー、トップストランドリンカー AB
 (xi)配列：配列番号1：

GGAATTTCGCG GCCGCTCG

18

10

(2)配列番号2の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：20塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：リンカーAB、ボトムストランド
 (xi)配列：配列番号2：

CGAGCGGCCG CGAATTCCTT

20

20

(2)配列番号3の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：237塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：二本鎖
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：PNF 2161 クローン 470-20-1
 (ix)配列の特徴：
 (A)特徴を表す記号：CDS
 (B)存在位置：1..237
 (xi)配列：配列番号3：

GAA TTC GCG GCC GCT CGG GCT GTC TCG GAC TCT TGG ATG ACC TCG AAT
 Glu Phe Ala Ala Ala Arg Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn
 1 5 10 15

48

30

GAG TCA GAG GAC GGG GTA TCC TCC TGC GAG GAG GAC ACC GGC GGG GTC 96
 Glu Ser Glu Asp Gly Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr Gly Gly Val
 20 25 30

TTC TCA TCT GAG CTG CTC TCA GTA ACC GAG ATA AGT GCT GGC GAT GGA 144
 Phe Ser Ser Glu Leu Leu Ser Val Thr Glu Ile Ser Ala Gly Asp Gly
 35 40 45

GTA CGG GGG ATG TCT TCT CCC CAT ACA GGC ATC TCT CGG CTA CTA CCA 192
 Val Arg Gly Met Ser Ser Pro His Thr Gly Ile Ser Arg Leu Leu Pro
 50 55 60

CAA AGA GAG GGT GTA CTG CAG TCC TCC ACG AGC GGC CGC GAA TTC 237
 Gln Arg Glu Gly Val Leu Gln Ser Ser Thr Ser Gly Arg Glu Phe
 65 70 75

(2)配列番号4の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 79アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号4:

Glu Phe Ala Ala Ala Arg Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn
 1 5 10 15

Glu Ser Glu Asp Gly Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr Gly Gly Val
 20 25 30

Phe Ser Ser Glu Leu Leu Ser Val Thr Glu Ile Ser Ala Gly Asp Gly
 35 40 45

Val Arg Gly Met Ser Ser Pro His Thr Gly Ile Ser Arg Leu Leu Pro
 50 55 60

Gln Arg Glu Gly Val Leu Gln Ser Ser Thr Ser Gly Arg Glu Phe
 65 70 75

(2)配列番号5の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 22塩基対

(B)型: 核酸

- (C)鎖の数：一本鎖
- (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：HAV-R1
- (xi)配列：配列番号5：

GTGACCAAC TGAGTCTGAA GC

22

10

(2)配列番号6の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：22塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：HAV-F1
- (xi)配列：配列番号6：

GATTGGAAT CTGATCCGTC CC

22

20

(2)配列番号7の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：19塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：HCV-LANR
- (xi)配列：配列番号7：

TCGCGACCCA ACACTACTC

19

30

(2)配列番号8の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：18塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状

- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：HCV 1532
- (xi)配列：配列番号 8：

GGGGGCGACA CTCCACCA

18

(2)配列番号 9 の情報：

10

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：25塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー 470-20-1-77F
- (xi)配列：配列番号 9：

CTCTTTGTGG TAGTAGCCGA GAGAT

25

20

(2)配列番号 10 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：24塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー 470-20-1-211R
- (xi)配列：配列番号 10：

CGAATGAGTC AGAGGACGGG GTAT

24

30

(2)配列番号 11 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：27塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状

- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー KL-1
- (xi)配列：配列番号 1 1：

GCAGGATCCG AATTCGCATC TAGAGAT

27

(2)配列番号 1 2 の情報：

10

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：29塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー KL-2
- (xi)配列：配列番号 1 2：

ATCTCTAGAT GCGAATTCGG ATCCTGCGA

29

20

(2)配列番号 1 3 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：20塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：λGT11、逆方向プライマー
- (xi)配列：配列番号 1 3：

GGCAGACATG GCCTGCCCCG

20

30

(2)配列番号 1 4 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：9392塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：二本鎖
 - (D)トポロジー：不明

- (ii)配列の種類 : cDNA
(iii)ハイボセティカル : NO
(iv)アンチセンス : NO
(vi)起源 :
 (C)個体・単離生物名 : HGV-PNF 2161 変異体
(ix)配列の特徴 :
 (A)特徴を表す記号 : CDS
 (B)存在位置 : 459..9077
(xi)配列 : 配列番号 1 4 :

```
ACGIGGGGGA GTTGATCCCC CCCCCCGGC ACTGGGTGCA AGCCCCAGAA ACCGACGCCT    60
ATCTAAGTAG ACGCAATGAC TCGGCGCCGA CTCGGCGACC GGCCAAAAGG TGGTGGATGG    120
GTGATGACAG GGTGGTAGG TCGTAAATCC CGGTCACCTT GGTAGCCACT ATAGGTGGGT    180
CTTAAGAGAA GGITAAGATT CCTCTGTGC CTGCGGCGAG ACCGCGCAGC GTCCACAGGT    240
GTTGGCCCTA CCGGTGGGAA TAAGGGCCCG ACGTCAGGCT CGTCGTAAA CCGAGCCCGT    300
TACCCACCTG GGCAAACGAC GCCCACGTAC GGTCCACGTC GCCCTTCAAT GTCTCTCTTG    360
ACCAATAGGC GTAGCCGGCG AGTTGACRAG GACCAGTGGG GGCCGGGGGC TTGGAGAGGG    420
ACTCCAAGTC CCGCCCTTCC CGGTGGGCGG GGAAATGC ATG GGG CCA CCC AGC    473
                        Met Gly Pro Pro Ser
                        1             5

TCC GCG GCG GCC TGC AGC CGG GGT AGC CCA AGA ATC CTT CGG GTG AGG    521
Ser Ala Ala Ala Cys Ser Arg Gly Ser Pro Arg Ile Leu Arg Val Arg
                10             15             20

GCG GGT GGC ATT TCC TTT TTC TAT ACC ATC ATG GCA GTC CTT CTG CTC    569
Ala Gly Gly Ile Ser Phe Phe Tyr Thr Ile Met Ala Val Leu Leu Leu
                25             30             35

CTT CTC GTG GTT GAG GCC GGG GCC ATT CTG GCC CCG GCC ACC CAC GCT    617
Leu Leu Val Val Glu Ala Gly Ala Ile Leu Ala Pro Ala Thr His Ala
                40             45             50

TGT CGA GCG AAT GGG CAA TAT TTC CTC ACA AAT TGT TGT GCC CCG GAG    665
Cys Arg Ala Asn Gly Gln Tyr Phe Leu Thr Asn Cys Cys Ala Pro Glu
                55             60             65
```

10

20

30

30

TCG CGT TTT TCG ACT GGG GAG AAG GTG TGG GAC CGT GGG AAC GTT ACG Ser Arg Phe Ser Thr Gly Glu Lys Val Trp Asp Arg Gly Asn Val Thr 265 270 275	1289
CTT CAG TGT GAC TGC CCT AAC GGC CCC TGG GTG TGG TTG CCA GCC TTT Leu Gln Cys Asp Cys Pro Asn Gly Pro Trp Val Trp Leu Pro Ala Phe 280 285 290	1337
TGC CAA GCA ATC GGC TGG GGT GAC CCC ATC ACT TAT TGG AGC CAC GGG Cys Gln Ala Ile Gly Trp Gly Asp Pro Ile Thr Tyr Trp Ser His Gly 295 300 305	1385
CAA AAT CAG TGG CCC CTT TCA TGC CCC CAG TAT GTC TAT GGG TCT GCT Gln Asn Gln Trp Pro Leu Ser Cys Pro Gln Tyr Val Tyr Gly Ser Ala 310 315 320 325	1433
ACA GTC ACT TGC GTG TGG GGT TCC GCT TCT TGG TTT GCC TCC ACC AGT Thr Val Thr Cys Val Trp Gly Ser Ala Ser Trp Phe Ala Ser Thr Ser 330 335 340	1481
GGT CGC GAC TCG AAG ATA GAT GTG TGG AGT TTA GTG CCA GTT GGC TCT Gly Arg Asp Ser Lys Ile Asp Val Trp Ser Leu Val Pro Val Gly Ser 345 350 355	1529
GCC ACC TGC ACC ATA GCC GCA CTT GGA TCA TCG GAT CGC GAC ACG GTG Ala Thr Cys Thr Ile Ala Ala Leu Gly Ser Ser Asp Arg Asp Thr Val 360 365 370	1577
CCT GGG CTC TCC GAG TGG GGA ATC CCG TGC GTG ACG TGT GTT CTG GAC Pro Gly Leu Ser Glu Trp Gly Ile Pro Cys Val Thr Cys Val Leu Asp 375 380 385	1625
CGT CGG CCT GCC TCC TGC GGC ACC TGT GTG AGG GAC TGC TGG CCC GAG Arg Arg Pro Ala Ser Cys Gly Thr Cys Val Arg Asp Cys Trp Pro Glu 390 395 400 405	1673
ACC GGG TCG GTT AGG TTC CCA TTC CAT CGG TGC GGC GTG GGG CCT CGG Thr Gly Ser Val Arg Phe Pro Phe His Arg Cys Gly Val Gly Pro Arg 410 415 420	1721
CTG ACA AAG GAC TTG GAA GCT GTG CCC TTC GTC AAC AGG ACA ACT CCC Leu Thr Lys Asp Leu Glu Ala Val Pro Phe Val Asn Arg Thr Thr Pro 425 430 435	1769

10

20

30

TTC ACC ATT AGG GGG CCC CTG GGC AAC CAG GGC CGA GGC AAC CCG GTG 1817
 Phe Thr Ile Arg Gly Pro Leu Gly Asn Gln Gly Arg Gly Asn Pro Val
 440 445 450

CGG TCG CCC TTG GGT TTT GGG TCC TAC GCC ATG ACC AGG ATC CGA GAT 1865
 Arg Ser Pro Leu Gly Phe Gly Ser Tyr Ala Met Thr Arg Ile Arg Asp
 455 460 465

ACC CTA CAT CTG GTG GAG TGT CCC ACA CCA GCC ATT GAG CCT CCC ACC 1913
 Thr Leu His Leu Val Glu Cys Pro Thr Pro Ala Ile Glu Pro Pro Thr
 470 475 480 485

GGG ACG TTT GGG TTC TTC CCC GGG ACG CCG CCT CTC AAC AAC TGC ATG 1961
 Gly Thr Phe Gly Phe Phe Pro Gly Thr Pro Pro Leu Asn Asn Cys Met
 490 495 500

CTC TTG GGC ACG GAA GIG TCC GAG GCA CTT GGG GGG GCT GGC CTC ACG 2009
 Leu Leu Gly Thr Glu Val Ser Glu Ala Leu Gly Gly Ala Gly Leu Thr
 505 510 515

GGG GGG TTC TAT GAA CCC CTG GTG CGC AGG TGT TCG AAG CTG ATG GGA 2057
 Gly Gly Phe Tyr Glu Pro Leu Val Arg Arg Cys Ser Lys Leu Met Gly
 520 525 530

AGC CGA AAT CCG GTT TGT CCG GGG TTT GCA TGG CTC TCT TCG GGC AGG 2105
 Ser Arg Asn Pro Val Cys Pro Gly Phe Ala Trp Leu Ser Ser Gly Arg
 535 540 545

CCT GAT GGG TTT ATA CAT GTC CAG GGT CAC TTG CAG GAG GTG GAT GCA 2153
 Pro Asp Gly Phe Ile His Val Gln Gly His Leu Gln Glu Val Asp Ala
 550 555 560 565

GGC AAC TTC ATC CCG CCC CCG CGC TGG TTG CTC TTG GAC TTT GTA TTT 2201
 Gly Asn Phe Ile Pro Pro Pro Arg Trp Leu Leu Leu Asp Phe Val Phe
 570 575 580

GTC CTG TTA TAC CTG ATG AAG CTG GCT GAG GCA CGG TTG GTC CCG CTG 2249
 Val Leu Leu Tyr Leu Met Lys Leu Ala Glu Ala Arg Leu Val Pro Leu
 585 590 595

ATC TTG CTG CTG CTA TGG TGG TGG GTG AAC CAG CTG GCA GTC CTA GGG 2297
 Ile Leu Leu Leu Leu Trp Trp Trp Val Asn Gln Leu Ala Val Leu Gly
 600 605 610

CTG CCG GCT GTG GAA GCC GCC GTG GCA GGT GAG GTC TTC GCG GGC CCT 2345

10

20

30

Leu Pro Ala Val Glu Ala Ala Val Ala Gly Glu Val Phe Ala Gly Pro
 615 620 625
 GCC CTG TCC TGG TGT CTG GGA CTC CCG GTC GTC AGT ATG ATA TTG GGT 2393
 Ala Leu Ser Trp Cys Leu Gly Leu Pro Val Val Ser Met Ile Leu Gly
 630 635 640 645
 TTG GCA AAC CTG GTG CTG TAC TTT AGA TGG TTG GGA CCC CAA CGC CTG 2441
 Leu Ala Asn Leu Val Leu Tyr Phe Arg Trp Leu Gly Pro Gln Arg Leu
 650 655 660
 AIG TTC CTC GTG TTG TGG AAG CTT GCT CGG GGA GCT TTC CCG CTG GCC 2489
 Met Phe Leu Val Leu Trp Lys Leu Ala Arg Gly Ala Phe Pro Leu Ala
 665 670 675
 CTC TTG AIG GGG ATT TCG GCG ACC CGC GGG CGC ACC TCA GTG CTC GGG 2537
 Leu Leu Met Gly Ile Ser Ala Thr Arg Gly Arg Thr Ser Val Leu Gly
 680 685 690
 GCC GAG TTC TGC TTC GAT GCT ACA TTC GAG GTG GAC ACT TCG GTG TTG 2585
 Ala Glu Phe Cys Phe Asp Ala Thr Phe Glu Val Asp Thr Ser Val Leu
 695 700 705
 GGC TGG GTG GTG GCC AGT GTG GTA GCT TGG GCC ATT GCG CTC CTG AGC 2633
 Gly Trp Val Val Ala Ser Val Val Ala Trp Ala Ile Ala Leu Leu Ser
 710 715 720 725
 TCG ATG AGC GCA GGG GGG TGG AGG CAC AAA GCC GTG ATC TAT AGG ACG 2681
 Ser Met Ser Ala Gly Gly Trp Arg His Lys Ala Val Ile Tyr Arg Thr
 730 735 740
 TGG TGT AAG GGG TAC CAG GCA ATC CGT CAA AGG GTG GTG AGG AGC CCC 2729
 Trp Cys Lys Gly Tyr Gln Ala Ile Arg Gln Arg Val Val Arg Ser Pro
 745 750 755
 CTC GGG GAG GGG CGG CCT GCC AAA CCC CTG ACC TTT GCC TGG TGC TTG 2777
 Leu Gly Glu Gly Arg Pro Ala Lys Pro Leu Thr Phe Ala Trp Cys Leu
 760 765 770
 GCC TCG TAC ATC TGG CCA GAT GCT GTG ATG ATG GTG GTG GTT GCC TTG 2825
 Ala Ser Tyr Ile Trp Pro Asp Ala Val Met Met Val Val Val Ala Leu
 775 780 785
 GTC CTT CTC TTT GGC CTG TTC GAC GCG TTG GAT TGG GCC TTG GAG GAG 2873
 Val Leu Leu Phe Gly Leu Phe Asp Ala Leu Asp Trp Ala Leu Glu Glu
 790 795 800 805

10

20

30

ATC TTG GTG TCC CGG CCC TCG TTG CGG CGT TTG GCT CGG GTG GTT GAG Ile Leu Val Ser Arg Pro Ser Leu Arg Arg Leu Ala Arg Val Val Glu 810 815 820	2921
TGC TGT GTG ATG GCG GGT GAG AAG GCC ACA ACC GTC CGG CTG GTC TCC Cys Cys Val Met Ala Gly Glu Lys Ala Thr Thr Val Arg Leu Val Ser 825 830 835	2969
AAG ATG TGT GCG AGA GGA GCT TAT TTG TTC GAT CAT ATG GGC TCT TTT Lys Met Cys Ala Arg Gly Ala Tyr Leu Phe Asp His Met Gly Ser Phe 840 845 850	3017
TCG CGT GCT GTC AAG GAG CGC CTG TTG GAA TGG GAC GCA GCT CTT GAA Ser Arg Ala Val Lys Glu Arg Leu Leu Glu Trp Asp Ala Ala Leu Glu 855 860 865	3065
CCT CTG TCA TTC ACT AGG ACG GAC TGT CGC ATC ATA CGG GAT GCC GCG Pro Leu Ser Phe Thr Arg Thr Asp Cys Arg Ile Ile Arg Asp Ala Ala 870 875 880 885	3113
AGG ACT TTG TCC TGC GGG CAG TGC GTC ATG GGT TTA CCC GTG GTT GCG Arg Thr Leu Ser Cys Gly Gln Cys Val Met Gly Leu Pro Val Val Ala 890 895 900	3161
CGC CGT GGT GAT GAG GTT CTC ATC GGC GTC TTC CAG GAT GIG AAT CAT Arg Arg Gly Asp Glu Val Leu Ile Gly Val Phe Gln Asp Val Asn His 905 910 915	3209
TTG CCT CCC GGG TTT GTT CCG ACC GCG CCT GTT GTC ATC CGA CGG TGC Leu Pro Pro Gly Phe Val Pro Thr Ala Pro Val Val Ile Arg Arg Cys 920 925 930	3257
GGA AAG GGC TTC TTG GGG GTC ACA AAG GCT GCC TTG ACA GGT CGG GAT Gly Lys Gly Phe Leu Gly Val Thr Lys Ala Ala Leu Thr Gly Arg Asp 935 940 945	3305
CCT GAC TTA CAT CCA GGG AAC GTC ATG GTG TTG GGG ACG GCT ACG TCG Pro Asp Leu His Pro Gly Asn Val Met Val Leu Gly Thr Ala Thr Ser 950 955 960 965	3353
CGA AGC ATG GGA ACA TGC TTG AAC GGC CTG CTG TTC ACG ACC TTC CAT Arg Ser Met Gly Thr Cys Leu Asn Gly Leu Leu Phe Thr Thr Phe His 970 975 980	3401
GGG GCT TCA TCC CGA ACC ATC GCC ACA CCC GTG GGG GCC CTT AAT CCC	3449

10

20

30

Gly Ala Ser Ser Arg Thr Ile Ala Thr Pro Val Gly Ala Leu Asn Pro
 985 990 995
 AGA TGG TGG TCA GCC AGT GAT GAT GTC ACG GTG TAT CCA CTC CCG GAT 3497
 Arg Trp Trp Ser Ala Ser Asp Asp Val Thr Val Tyr Pro Leu Pro Asp
 1000 1005 1010
 GGG GCT ACT TCG TTA ACA CCT TGT ACT TGC CAG GCT GAG TCC TGT TGG 3545
 Gly Ala Thr Ser Leu Thr Pro Cys Thr Cys Gln Ala Glu Ser Cys Trp
 1015 1020 1025
 GIC AIC AGA ICC GAC GGG GCC CTA TGC CAT GGC TTG AGC AAG GGG GAC 3593
 Val Ile Arg Ser Asp Gly Ala Leu Cys His Gly Leu Ser Lys Gly Asp
 1030 1035 1040 1045
 AAG GTG GAG CTG GAT GTG GCC ATG GAG GTC TCT GAC TTC CGT GGC TCG 3641
 Lys Val Glu Leu Asp Val Ala Met Glu Val Ser Asp Phe Arg Gly Ser
 1050 1055 1060
 TCT GGC TCA CCG GTC CTA TGT GAC GAA GGG CAC GCA GTA GGA ATG CTC 3689
 Ser Gly Ser Pro Val Leu Cys Asp Glu Gly His Ala Val Gly Met Leu
 1065 1070 1075
 GTG TCT GTG CTT CAC TCC GGT GGT AGG GTC ACC GCG GCA CGG TTC ACT 3737
 Val Ser Val Leu His Ser Gly Gly Arg Val Thr Ala Ala Arg Phe Thr
 1080 1085 1090
 AGG CCG TGG ACC CAA GTG CCA ACA GAT GCC AAA ACC ACT ACT GAA CCC 3785
 Arg Pro Trp Thr Gln Val Pro Thr Asp Ala Lys Thr Thr Thr Glu Pro
 1095 1100 1105
 CCT CCG GTG CCG GCC AAA GGA GTT TTC AAA GAG GCC CCG TTG TTT ATG 3833
 Pro Pro Val Pro Ala Lys Gly Val Phe Lys Glu Ala Pro Leu Phe Met
 1110 1115 1120 1125
 CCT ACG GGA GCG GGA AAG AGC ACT CGC GTC CCG TTG GAG TAC GAT AAC 3881
 Pro Thr Gly Ala Gly Lys Ser Thr Arg Val Pro Leu Glu Tyr Asp Asn
 1130 1135 1140
 ATG GGG CAC AAG GTC TTA ATC TTG AAC CCC TCA GTG GCC ACT GTG CCG 3929
 Met Gly His Lys Val Leu Ile Leu Asn Pro Ser Val Ala Thr Val Arg
 1145 1150 1155
 GCC ATG GGC CCG TAC ATG GAG CGG CTG GCG GGT AAA CAT CCA AGT ATA 3977
 Ala Met Gly Pro Tyr Met Glu Arg Leu Ala Gly Lys His Pro Ser Ile
 1160 1165 1170

10

20

30

TAC TGT GGG CAT GAT ACA ACT GCT TTC ACA AGG ATC ACT GAC TCC CCC 4025
 Tyr Cys Gly His Asp Thr Thr Ala Phe Thr Arg Ile Thr Asp Ser Pro
 1175 1180 1185

CTG ACG TAT TCA ACC TAT GGG AGG TTT TTG GCC AAC CCT AGG CAG ATG 4073
 Leu Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly Arg Phe Leu Ala Asn Pro Arg Gln Met
 1190 1195 1200 1205

CTA CGG GGC GTT TCG GTG GTC ATT TGT GAT GAG TGC CAC AGT CAT GAC 4121
 Leu Arg Gly Val Ser Val Val Ile Cys Asp Glu Cys His Ser His Asp
 1210 1215 1220

TCA ACC GTG CTG TTA GGC ATT GGG AGA GTC CGG GAG CTG GCG CGT GGG 4169
 Ser Thr Val Leu Leu Gly Ile Gly Arg Val Arg Glu Leu Ala Arg Gly
 1225 1230 1235

TGC GGG GTG CAA CTA GTG CTC TAC GCC ACC GCT ACA CCT CCC GGA TCC 4217
 Cys Gly Val Gln Leu Val Leu Tyr Ala Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ser
 1240 1245 1250

CCT ATG ACG CAG CAC CCT TCC ATA ATT GAG ACA AAA TTG GAC GTG GGC 4265
 Pro Met Thr Gln His Pro Ser Ile Ile Glu Thr Lys Leu Asp Val Gly
 1255 1260 1265

GAG AIT CCC TTT TAT GGG CAT GGA ATA CCC CTC GAG CGG ATG CGA ACC 4313
 Glu Ile Pro Phe Tyr Gly His Gly Ile Pro Leu Glu Arg Met Arg Thr
 1270 1275 1280 1285

GGA AGG CAC CTC GTG TTC TGC CAT TCT AAG GCT GAG TGC GAG CGC CTT 4361
 Gly Arg His Leu Val Phe Cys His Ser Lys Ala Glu Cys Glu Arg Leu
 1290 1295 1300

GCT GGC CAG TTC TCC GCT AGG GGG GTC AAT GCC ATT GCC TAT TAT AGG 4409
 Ala Gly Gln Phe Ser Ala Arg Gly Val Asn Ala Ile Ala Tyr Tyr Arg
 1305 1310 1315

GGT AAA GAC AGT TCT ATC ATC AAG GAT GGG GAC CTG GTG GTC TGT GCT 4457
 Gly Lys Asp Ser Ser Ile Ile Lys Asp Gly Asp Leu Val Val Cys Ala
 1320 1325 1330

ACA GAC GCG CTT TCC ACT GGG TAC ACT GGA AAT TTC GAC TCC GTC ACC 4505
 Thr Asp Ala Leu Ser Thr Gly Tyr Thr Gly Asn Phe Asp Ser Val Thr
 1335 1340 1345

GAC TGT GGA TTA GTG GTG GAG GAG GTC GTT GAG GTG ACC CTT GAT CCC 4553
 Asp Cys Gly Leu Val Val Glu Glu Val Val Glu Val Thr Leu Asp Pro
 1350 1355 1360 1365

10

20

30

ACC ATT ACC ATC TCC CTG CGG ACA GTG CCT GCG TCG GCT GAA CTG TCG Thr Ile Thr Ile Ser Leu Arg Thr Val Pro Ala Ser Ala Glu Leu Ser 1370 1375 1380	4601
ATG CAA AGA CGA GGA CGC ACG GGT AGG GGC AGG TCT GGA CGC TAC TAC Met Gln Arg Arg Gly Arg Thr Gly Arg Gly Arg Ser Gly Arg Tyr Tyr 1385 1390 1395	4649
TAC GCG GGG GTG GGC AAA GCC CCT GCG GGT GTG GTG CGC TCA GGT CCT Tyr Ala Gly Val Gly Lys Ala Pro Ala Gly Val Val Arg Ser Gly Pro 1400 1405 1410	4697
GTC TGG TCG GCG GTG GAA GCT GGA GTG ACC TGG TAC GGA ATG GAA CCT Val Trp Ser Ala Val Glu Ala Gly Val Thr Trp Tyr Gly Met Glu Pro 1415 1420 1425	4745
GAC TIG ACA GCT AAC CTA CTG AGA CTT TAC GAC GAC TGC CCT TAC ACC Asp Leu Thr Ala Asn Leu Leu Arg Leu Tyr Asp Asp Cys Pro Tyr Thr 1430 1435 1440 1445	4793
GCA GCC GTC GCG GCT GAT ATC GGA GAA GCC GCG GTG TTC TTC TCT GGG Ala Ala Val Ala Ala Asp Ile Gly Glu Ala Ala Val Phe Phe Ser Gly 1450 1455 1460	4841
CTC GCC CCA TTG AGG ATG CAC CCT GAT GTC AGC TGG GCA AAA GTT CGC Leu Ala Pro Leu Arg Met His Pro Asp Val Ser Trp Ala Lys Val Arg 1465 1470 1475	4889
GGC GTC AAC TGG CCC CTC TTG GTG GGT GTT CAG CGG ACC ATG TGT CGG Gly Val Asn Trp Pro Leu Leu Val Gly Val Gln Arg Thr Met Cys Arg 1480 1485 1490	4937
GAA ACA CTG TCT CCC GGC CCA TCG GAT GAC CCC CAA TGG GCA GGT CTG Glu Thr Leu Ser Pro Gly Pro Ser Asp Asp Pro Gln Trp Ala Gly Leu 1495 1500 1505	4985
AAG GGC CCA AAT CCT GTC CCA CTC CTG CTG AGG TGG GGC AAT GAT TTA Lys Gly Pro Asn Pro Val Pro Leu Leu Leu Arg Trp Gly Asn Asp Leu 1510 1515 1520 1525	5033
CCA TCT AAA GTG GCC GGC CAC CAC ATA GTG GAC GAC CTG GTC CGG AGA Pro Ser Lys Val Ala Gly His His Ile Val Asp Asp Leu Val Arg Arg 1530 1535 1540	5081
CTC GGT GTG GCG GAG GGT TAC GTC CGC TGC GAC GCT GGG CCG ATC TTG Leu Gly Val Ala Glu Gly Tyr Val Arg Cys Asp Ala Gly Pro Ile Leu 1545 1550 1555	5129

10

20

30

ATG ATC GGT CTA GCT ATC GCG GGG GGA ATG ATC TAC GCG TCA TAC ACC Met Ile Gly Leu Ala Ile Ala Gly Gly Met Ile Tyr Ala Ser Tyr Thr 1560 1565 1570	5177
GGG TCG CTA GTG GIG GTG ACA GAC TGG GAT GTG AAG GGG GGT GGC GCC Gly Ser Leu Val Val Val Thr Asp Trp Asp Val Lys Gly Gly Gly Ala 1575 1580 1585	5225
CCC CTT TAT CGG CAT GGA GAC CAG GCC ACG CCT CAG CCG GTG GTG CAG Pro Leu Tyr Arg His Gly Asp Gln Ala Thr Pro Gln Pro Val Val Gln 1590 1595 1600 1605	5273
GTT CCT CCG GTA GAC CAT CGG CCG GGG GGT GAA TCA GCA CCA TCG GAT Val Pro Pro Val Asp His Arg Pro Gly Gly Glu Ser Ala Pro Ser Asp 1610 1615 1620	5321
GCC AAG ACA GTG ACA GAT GCG GTG GCA GCC ATC CAG GTG GAC TGC GAT Ala Lys Thr Val Thr Asp Ala Val Ala Ala Ile Gln Val Asp Cys Asp 1625 1630 1635	5369
TGG ACT ATC ATG ACT CTG TCG ATC GGA GAA GTG TTG TCC TTG GCT CAG Trp Thr Ile Met Thr Leu Ser Ile Gly Glu Val Leu Ser Leu Ala Gln 1640 1645 1650	5417
GCT AAG ACG GCC GAG GCC TAC ACA GCA ACC GCC AAG TGG CTC GCT GGC Ala Lys Thr Ala Glu Ala Tyr Thr Ala Thr Ala Lys Trp Leu Ala Gly 1655 1660 1665	5465
TGC TAT ACG GGG ACG CGG GCC GTT CCC ACT GTA TCC ATT GTT GAC AAG Cys Tyr Thr Gly Thr Arg Ala Val Pro Thr Val Ser Ile Val Asp Lys 1670 1675 1680 1685	5513
CTC TTC GCC GGA GGG TGG GCG GCT GTG GTG GGC CAT TGC CAC AGC GTG Leu Phe Ala Gly Gly Trp Ala Ala Val Val Gly His Cys His Ser Val 1690 1695 1700	5561
ATT GCT GCG GCG GTG GCG GCC TAC GGG GCT TCA AGG AGC CCG CCG TTG Ile Ala Ala Ala Val Ala Ala Tyr Gly Ala Ser Arg Ser Pro Pro Leu 1705 1710 1715	5609
GCA GCC GCG GCT TCC TAC CTG ATG GGG TTG GGC GTT GGA GGC AAC GCT Ala Ala Ala Ala Ser Tyr Leu Met Gly Leu Gly Val Gly Gly Asn Ala 1720 1725 1730	5657
CAG ACG CGC CTG GCG TCT GCC CTC CTA TTG GGG GCT GCT GGA ACC GCC Gln Thr Arg Leu Ala Ser Ala Leu Leu Leu Gly Ala Ala Gly Thr Ala 1735 1740 1745	5705

TTG GGC ACT CCT GTC GTG GGC TTG ACC ATG GCA GGT GCG TTC ATG GGG Leu Gly Thr Pro Val Val Gly Leu Thr Met Ala Gly Ala Phe Met Gly 1750 1755 1760 1765	5753
GGG GCC AGT GTC TCC CCC TCC TTG GTC ACC ATT TTA TTG GGG GCC GTC Gly Ala Ser Val Ser Pro Ser Leu Val Thr Ile Leu Leu Gly Ala Val 1770 1775 1780	5801
GGA GGT TGG GAG GGT GTT GTC AAC GCG GCG AGC CTA GTC TTT GAC TTC Gly Gly Trp Glu Gly Val Val Asn Ala Ala Ser Leu Val Phe Asp Phe 1785 1790 1795	5849
ATG GCG GGG AAA CTT TCA TCA GAA GAT CTG TGG TAT GCC ATC CCG GTA Met Ala Gly Lys Leu Ser Ser Glu Asp Leu Trp Tyr Ala Ile Pro Val 1800 1805 1810	5897
CTG ACC AGC CCG GGG GCG GGC CTT GCG GGG ATC GCT CTC GGG TTG GTT Leu Thr Ser Pro Gly Ala Gly Leu Ala Gly Ile Ala Leu Gly Leu Val 1815 1820 1825	5945
TTG TAT TCA GCT AAC AAC TCT GGC ACT ACC ACT TGG TTG AAC CGT CTG Leu Tyr Ser Ala Asn Asn Ser Gly Thr Thr Thr Trp Leu Asn Arg Leu 1830 1835 1840 1845	5993
CTG ACT ACG TTA CCA AGG TCT TCA TGT ATC CCG GAC AGT TAC TTT CAG Leu Thr Thr Leu Pro Arg Ser Ser Cys Ile Pro Asp Ser Tyr Phe Gln 1850 1855 1860	6041
CAA GTT GAC TAT TGC GAC AAG GTC TCA GCC GTG CTC CGG CGC CTG AGC Gln Val Asp Tyr Cys Asp Lys Val Ser Ala Val Leu Arg Arg Leu Ser 1865 1870 1875	6089
CTC ACC CGC ACA GTG GTT GCC CTG GTC AAC AGG GAG CCT AAG GTG GAT Leu Thr Arg Thr Val Val Ala Leu Val Asn Arg Glu Pro Lys Val Asp 1880 1885 1890	6137
GAG GTA CAG GTG GGG TAT GTC TGG GAC CTG TGG GAG TGG ATC ATG CGC Glu Val Gln Val Gly Tyr Val Trp Asp Leu Trp Glu Trp Ile Met Arg 1895 1900 1905	6185
CAA GTG CGC GTG GTC ATG GCC AGA CTC AGG GCC CTC TGC CCC GTG GTG Gln Val Arg Val Val Met Ala Arg Leu Arg Ala Leu Cys Pro Val Val 1910 1915 1920 1925	6233
TCA CTA CCC TTG TGG CAT TGC GGG GAG GGG TGG TCC GGG GAA TGG TTG	6281

10

20

30

Ser Leu Pro Leu Trp His Cys Gly Glu Gly Trp Ser Gly Glu Trp Leu
1930 1935 1940

CTT GAC GGT CAT GTT GAG AGT CGC TGC CTC TGT GGC TGC GTG ATC ACT 6329
Leu Asp Gly His Val Glu Ser Arg Cys Leu Cys Gly Cys Val Ile Thr
1945 1950 1955

GGT GAC GTT CTG AAT GGG CAA CTC AAA GAA CCA GTT TAC TCT ACC AAG 6377
Gly Asp Val Leu Asn Gly Gln Leu Lys Glu Pro Val Tyr Ser Thr Lys
1960 1965 1970

CTG TGC CGG CAC TAT TGG ATG GGG ACT GTC CCT GTG AAC ATG CTG GGT 6425
Leu Cys Arg His Tyr Trp Met Gly Thr Val Pro Val Asn Met Leu Gly
1975 1980 1985

TAC GGT GAA ACG TCG CCT CTC CTG GCC TCC GAC ACC CCG AAG GTT GTG 6473
Tyr Gly Glu Thr Ser Pro Leu Leu Ala Ser Asp Thr Pro Lys Val Val
1990 1995 2000 2005

CCC TTC GGG ACG TCT GGC TGG GCT GAG GTG GTG GTG ACC ACT ACC CAC 6521
Pro Phe Gly Thr Ser Gly Trp Ala Glu Val Val Val Thr Thr Thr His
2010 2015 2020

GTG GTA ATC AGG AGG ACC TCC GCC TAT AAG CTG CTG CGC CAG CAA ATC 6569
Val Val Ile Arg Arg Thr Ser Ala Tyr Lys Leu Leu Arg Gln Gln Ile
2025 2030 2035

CTA TCG GCT GCT GTA GCT GAG CCC TAC TAC GTC GAC GGC ATT CCG GTC 6617
Leu Ser Ala Ala Val Ala Glu Pro Tyr Tyr Val Asp Gly Ile Pro Val
2040 2045 2050

TCA TGG GAC GCG GAC GCT CGT GCG CCC GCC ATG GTC TAT GGC CCT GGG 6665
Ser Trp Asp Ala Asp Ala Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly
2055 2060 2065

CAA AGT GTT ACC ATT GAC GGG GAG CGC TAC ACC TTG CCT CAT CAA CTG 6713
Gln Ser Val Thr Ile Asp Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu
2070 2075 2080 2085

AGG CTC AGG AAT GTG GCA CCC TCT GAG GTT TCA TCC GAG GTG TCC ATT 6761
Arg Leu Arg Asn Val Ala Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile
2090 2095 2100

GAC ATT GGG ACG GAG ACT GAA GAC TCA GAA CTG ACT GAG GCC GAT CTG 6809
Asp Ile Gly Thr Glu Thr Glu Asp Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu

10

20

30

2105	2110	2115	
CCG CCG GCG GCT GCI GCT CTC CAA GCG ATC GAG AAT GCT GCG AGG ATT			6857
Pro Pro Ala Ala Ala Ala Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala Arg Ile			
2120	2125	2130	
CTT GAA CCG CAC ATT GAT GTC ATC ATG GAG GAC TGC AGT ACA CCC TCT			6905
Leu Glu Pro His Ile Asp Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr Pro Ser			
2135	2140	2145	
CTT TGT GGT AGT AGC CGA GAG ATG CCT GTA TGG GGA GAA GAC ATC CCC			6953
Leu Cys Gly Ser Ser Arg Glu Met Pro Val Trp Gly Glu Asp Ile Pro			
2150	2155	2160	2165
CGT ACT CCA TCG CCA GCA CTT ATC TCG GTT ACT GAG AGC AGC TCA GAT			7001
Arg Thr Pro Ser Pro Ala Leu Ile Ser Val Thr Glu Ser Ser Ser Asp			
2170	2175	2180	
GAG AAG ACC CCG TCG GTG TCC TCC TCG CAG GAG GAT ACC CCG TCC TCT			7049
Glu Lys Thr Pro Ser Val Ser Ser Ser Gln Glu Asp Thr Pro Ser Ser			
2185	2190	2195	
GAC TCA TTC GAG GTC ATC CAA GAG TCC GAG ACA GCC GAA GGG GAG GAA			7097
Asp Ser Phe Glu Val Ile Gln Glu Ser Glu Thr Ala Glu Gly Glu Glu			
2200	2205	2210	
AGT GTC TTC AAC GTG GCT CTT TCC GTA TTA AAA GCC TTA TTT CCA CAG			7145
Ser Val Phe Asn Val Ala Leu Ser Val Leu Lys Ala Leu Phe Pro Gln			
2215	2220	2225	
AGC GAC GCG ACC AGG AAG CTT ACC GTC AAG ATG TCG TGC TGC GTT GAA			7193
Ser Asp Ala Thr Arg Lys Leu Thr Val Lys Met Ser Cys Cys Val Glu			
2230	2235	2240	2245
AAG AGC GTC ACG CGC TTT TTC TCA TTG GGG TTG ACG GTG GCT GAT GTT			7241
Lys Ser Val Thr Arg Phe Phe Ser Leu Gly Leu Thr Val Ala Asp Val			
2250	2255	2260	
GCT AGC CTG TGT GAG ATG GAA ATC CAG AAC CAT ACA GCC TAT TGT GAC			7289
Ala Ser Leu Cys Glu Met Glu Ile Gln Asn His Thr Ala Tyr Cys Asp			
2265	2270	2275	
CAG GTG CGC ACT CCG CTT GAA TTG CAG GTT GGG TGC TTG GTG GGC AAT			7337
Gln Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val Gly Cys Leu Val Gly Asn			
2280	2285	2290	

30

Leu Asp Phe Arg Ile Ala Glu Lys Leu Ile Leu Gly Asp Pro Gly Arg	
2470 2475 2480 2485	
GTA GCC AAG GCG GTG TTG GGG GGG GCC TAC GCC TTC CAG TAC ACC CCA	7961
Val Ala Lys Ala Val Leu Gly Gly Ala Tyr Ala Phe Gln Tyr Thr Pro	
2490 2495 2500	
AAT CAG CGA GTT AAG GAG ATG CTC AAG CTA TGG GAG TCT AAG AAG ACC	8009
Asn Gln Arg Val Lys Glu Met Leu Lys Leu Trp Glu Ser Lys Lys Thr	
2505 2510 2515	
CCT TGC GCC ATC TGT GTG GAC GCC ACC TGC TTC GAC AGT AGC ATA ACT	8057
Pro Cys Ala Ile Cys Val Asp Ala Thr Cys Phe Asp Ser Ser Ile Thr	
2520 2525 2530	
GAA GAG GAC GIG GCT TTG GAG ACA GAG CTA TAC GCT CTG GCC TCT GAC	8105
Glu Glu Asp Val Ala Leu Glu Thr Glu Leu Tyr Ala Leu Ala Ser Asp	
2535 2540 2545	
CAT CCA GAA TGG GTG CGG GCA CTT GGG AAA TAC TAT GCC TCA GGC ACC	8153
His Pro Glu Trp Val Arg Ala Leu Gly Lys Tyr Tyr Ala Ser Gly Thr	
2550 2555 2560 2565	
ATG GTC ACC CCG GAA GGG GTG CCC GTC GGT GAG AGG TAT TGC AGA TCC	8201
Met Val Thr Pro Glu Gly Val Pro Val Gly Glu Arg Tyr Cys Arg Ser	
2570 2575 2580	
TCG GGT GTC CTA ACA ACT AGC GCG AGC AAC TGC TTG ACC TGC TAC ATC	8249
Ser Gly Val Leu Thr Thr Ser Ala Ser Asn Cys Leu Thr Cys Tyr Ile	
2585 2590 2595	
AAG GTG AAA GCT GCC TGT GAG AGA GTG GGG CTG AAA AAT GTC TCT CTT	8297
Lys Val Lys Ala Ala Cys Glu Arg Val Gly Leu Lys Asn Val Ser Leu	
2600 2605 2610	
CTC ATA GCC GGC GAT GAC TGC TTG ATC ATA TGT GAG CGG CCA GTG TGC	8345
Leu Ile Ala Gly Asp Asp Cys Leu Ile Ile Cys Glu Arg Pro Val Cys	
2615 2620 2625	
GAC CCA AGC GAC GCT TTG GGC AGA GCC CTA GCG AGC TAT GGG TAC GCG	8393
Asp Pro Ser Asp Ala Leu Gly Arg Ala Leu Ala Ser Tyr Gly Tyr Ala	
2630 2635 2640 2645	
TGC GAG CCC TCA TAT CAT GCA TCA TTG GAC ACG GCC CCC TTC TGC TCC	8441
Cys Glu Pro Ser Tyr His Ala Ser Leu Asp Thr Ala Pro Phe Cys Ser	

10

20

30

2650	2655	2660	
ACT TGG CTT GCT GAG TGC AAT GCA GAT GGG AAG CGC CAT TTC TTC CTG			8489
Thr Trp Leu Ala Glu Cys Asn Ala Asp Gly Lys Arg His Phe Phe Leu			
2665	2670	2675	
ACC ACG GAC TTC CGG AGG CCG CTC GCT CGC ATG TCG AGT GAG TAT AGT			8537
Thr Thr Asp Phe Arg Arg Pro Leu Ala Arg Met Ser Ser Glu Tyr Ser			
2680	2685	2690	
GAC CCG ATG GCT TCG GCG ATC GGT TAC ATC CTC CTT TAT CCT TGG CAC			8585
Asp Pro Met Ala Ser Ala Ile Gly Tyr Ile Leu Leu Tyr Pro Trp His			
2695	2700	2705	
CCC ATC ACA CGG TGG GTC ATC ATC CCT CAT GTG CTA ACG TGC GCA TTC			8633
Pro Ile Thr Arg Trp Val Ile Ile Pro His Val Leu Thr Cys Ala Phe			
2710	2715	2720	2725
AGG GGT GGA GGC ACA CCG TCT GAT CCG GTT TGG TGC CAG GTG CAT GGT			8681
Arg Gly Gly Gly Thr Pro Ser Asp Pro Val Trp Cys Gln Val His Gly			
2730	2735	2740	
AAC TAC TAC AAG TTT CCA CTG GAC AAA CTG CCT AAC ATC ATC GTG GCC			8729
Asn Tyr Tyr Lys Phe Pro Leu Asp Lys Leu Pro Asn Ile Ile Val Ala			
2745	2750	2755	
CTC CAC GGA CCA GCA GCG TTG AGG GTT ACC GCA GAC ACA ACT AAA ACA			8777
Leu His Gly Pro Ala Ala Leu Arg Val Thr Ala Asp Thr Thr Lys Thr			
2760	2765	2770	
AAG ATG GAG GCT GGT AAG GTT CTG AGC GAC CTC AAG CTC CCT GGC TTA			8825
Lys Met Glu Ala Gly Lys Val Leu Ser Asp Leu Lys Leu Pro Gly Leu			
2775	2780	2785	
GCA GTC CAC CGA AAG AAG GCC GGG GCG TTG CGA ACA CGC ATG CTC CGC			8873
Ala Val His Arg Lys Lys Ala Gly Ala Leu Arg Thr Arg Met Leu Arg			
2790	2795	2800	2805
TCG CGC GCT TGG GCT GAG TTG GCT AGG GGC TTG TTG TGG CAT CCA GGC			8921
Ser Arg Gly Trp Ala Glu Leu Ala Arg Gly Leu Leu Trp His Pro Gly			
2810	2815	2820	
CTA CGG CTT CCT CCC CCT GAG ATT GCT GGT ATC CCG GGG GGT TTC CCT			8969
Leu Arg Leu Pro Pro Pro Glu Ile Ala Gly Ile Pro Gly Gly Phe Pro			
2825	2830	2835	

CTC TCC CCC CCC TAT ATG GGG GTG GTA CAT CAA TTG GAT TTC ACA AGC 9017
 Leu Ser Pro Pro Tyr Met Gly Val Val His Gln Leu Asp Phe Thr Ser
 2840 2845 2850

CAG AGG AGT CGC TGG CGG TGG TTG GGG TTC TTA GCC CTG CTC ATC GTA 9065
 Gln Arg Ser Arg Trp Arg Trp Leu Gly Phe Leu Ala Leu Leu Ile Val
 2855 2860 2865

GCC CTC TTC GGG TGAACAAAT TCATCTGTTG CGGCAAGGTC TGGTGAAGA 9117
 Ala Leu Phe Gly
 2870

TCATCACCGG AGGAGGTTCC CGCCCTCCCC GCGCCAGGGG TCTCCCCGCT GGGTAAAAAG 9177

GGCCCGGCCT TGGGAGGCAT GGTGGTTACT AACCCCTGG CAGGGTCAAA GCCTGATGGT 9237

GCTAATGCAC TGCCACTTCG GTGGCGGGTC GCTACCTTAT AGCGTAATCC GTGACTACGG 9297

GCTGCTCGCA GAGCCCTCCC CGGATGGGGC ACAGTGCACT GTGATCTGAA GGGGTGCACC 9357

CCGGGAAGAG CTCGGCCCGA AGGCCGGSTT CTACT 9392

10

(2)配列番号15の情報:

20

(i)配列の特色:

(A)長さ: 2873アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号15:

Met Gly Pro Pro Ser Ser Ala Ala Ala Cys Ser Arg Gly Ser Pro Arg
 1 5 10 15

Ile Leu Arg Val Arg Ala Gly Gly Ile Ser Phe Phe Tyr Thr Ile Met
 20 25 30

Ala Val Leu Leu Leu Leu Val Val Glu Ala Gly Ala Ile Leu Ala
 35 40 45

Pro Ala Thr His Ala Cys Arg Ala Asn Gly Gln Tyr Phe Leu Thr Asn
 50 55 60

30

177

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

10

20

30

Tyr Trp Ser His Gly Gln Asn Gln Trp Pro Leu Ser Cys Pro Gln Tyr
 305 310 315 320
 Val Tyr Gly Ser Ala Thr Val Thr Cys Val Trp Gly Ser Ala Ser Trp
 325 330 335
 Phe Ala Ser Thr Ser Gly Arg Asp Ser Lys Ile Asp Val Trp Ser Leu
 340 345 350
 Val Pro Val Gly Ser Ala Thr Cys Thr Ile Ala Ala Leu Gly Ser Ser
 355 360 365
 Asp Arg Asp Thr Val Pro Gly Leu Ser Glu Trp Gly Ile Pro Cys Val
 370 375 380
 Thr Cys Val Leu Asp Arg Arg Pro Ala Ser Cys Gly Thr Cys Val Arg
 385 390 395 400
 Asp Cys Trp Pro Glu Thr Gly Ser Val Arg Phe Pro Phe His Arg Cys
 405 410 415
 Gly Val Gly Pro Arg Leu Thr Lys Asp Leu Glu Ala Val Pro Phe Val
 420 425 430
 Asn Arg Thr Thr Pro Phe Thr Ile Arg Gly Pro Leu Gly Asn Gln Gly
 435 440 445
 Arg Gly Asn Pro Val Arg Ser Pro Leu Gly Phe Gly Ser Tyr Ala Met
 450 455 460
 Thr Arg Ile Arg Asp Thr Leu His Leu Val Glu Cys Pro Thr Pro Ala
 465 470 475 480
 Ile Glu Pro Pro Thr Gly Thr Phe Gly Phe Phe Pro Gly Thr Pro Pro
 485 490 495
 Leu Asn Asn Cys Met Leu Leu Gly Thr Glu Val Ser Glu Ala Leu Gly
 500 505 510
 Gly Ala Gly Leu Thr Gly Gly Phe Tyr Glu Pro Leu Val Arg Arg Cys
 515 520 525
 Ser Lys Leu Met Gly Ser Arg Asn Pro Val Cys Pro Gly Phe Ala Trp
 530 535 540

10

20

30

Leu Ser Ser Gly Arg Pro Asp Gly Phe Ile His Val Gln Gly His Leu
545 550 555 560

Gln Glu Val Asp Ala Gly Asn Phe Ile Pro Pro Pro Arg Trp Leu Leu
565 570 575

Leu Asp Phe Val Phe Val Leu Leu Tyr Leu Met Lys Leu Ala Glu Ala
580 585 590

Arg Leu Val Pro Leu Ile Leu Leu Leu Trp Trp Trp Val Asn Gln
595 600 605

Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Ala Val Glu Ala Ala Val Ala Gly Glu
610 615 620

Val Phe Ala Gly Pro Ala Leu Ser Trp Cys Leu Gly Leu Pro Val Val
625 630 635 640

Ser Met Ile Leu Gly Leu Ala Asn Leu Val Leu Tyr Phe Arg Trp Leu
645 650 655

Gly Pro Gln Arg Leu Met Phe Leu Val Leu Trp Lys Leu Ala Arg Gly
660 665 670

Ala Phe Pro Leu Ala Leu Leu Met Gly Ile Ser Ala Thr Arg Gly Arg
675 680 685

Thr Ser Val Leu Gly Ala Glu Phe Cys Phe Asp Ala Thr Phe Glu Val
690 695 700

Asp Thr Ser Val Leu Gly Trp Val Val Ala Ser Val Val Ala Trp Ala
705 710 715 720

Ile Ala Leu Leu Ser Ser Met Ser Ala Gly Gly Trp Arg His Lys Ala
725 730 735

Val Ile Tyr Arg Thr Trp Cys Lys Gly Tyr Gln Ala Ile Arg Gln Arg
740 745 750

Val Val Arg Ser Pro Leu Gly Glu Gly Arg Pro Ala Lys Pro Leu Thr
755 760 765

Phe Ala Trp Cys Leu Ala Ser Tyr Ile Trp Pro Asp Ala Val Met Met
770 775 780

/ 80

10

20

30

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

10

20

30

Ala Glu Ser Cys Trp Val Ile Arg Ser Asp Gly Ala Leu Cys His Gly
 1025 1030 1035 1040

 Leu Ser Lys Gly Asp Lys Val Glu Leu Asp Val Ala Met Glu Val Ser
 1045 1050 1055

 Asp Phe Arg Gly Ser Ser Gly Ser Pro Val Leu Cys Asp Glu Gly His
 1060 1065 1070

 Ala Val Gly Met Leu Val Ser Val Leu His Ser Gly Gly Arg Val Thr
 1075 1080 1085

 Ala Ala Arg Phe Thr Arg Pro Trp Thr Gln Val Pro Thr Asp Ala Lys
 1090 1095 1100

 Thr Thr Thr Glu Pro Pro Val Pro Ala Lys Gly Val Phe Lys Glu
 1105 1110 1115 1120

 Ala Pro Leu Phe Met Pro Thr Gly Ala Gly Lys Ser Thr Arg Val Pro
 1125 1130 1135

 Leu Glu Tyr Asp Asn Met Gly His Lys Val Leu Ile Leu Asn Pro Ser
 1140 1145 1150

 Val Ala Thr Val Arg Ala Met Gly Pro Tyr Met Glu Arg Leu Ala Gly
 1155 1160 1165

 Lys His Pro Ser Ile Tyr Cys Gly His Asp Thr Thr Ala Phe Thr Arg
 1170 1175 1180

 Ile Thr Asp Ser Pro Leu Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly Arg Phe Leu Ala
 1185 1190 1195 1200

 Asn Pro Arg Gln Met Leu Arg Gly Val Ser Val Val Ile Cys Asp Glu
 1205 1210 1215

 Cys His Ser His Asp Ser Thr Val Leu Leu Gly Ile Gly Arg Val Arg
 1220 1225 1230

 Glu Leu Ala Arg Gly Cys Gly Val Gln Leu Val Leu Tyr Ala Thr Ala
 1235 1240 1245

 Thr Pro Pro Gly Ser Pro Met Thr Gln His Pro Ser Ile Ile Glu Thr
 1250 1255 1260

10

20

30

Lys Leu Asp Val Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly His Gly Ile Pro Leu
 1265 1270 1275 1280
 Glu Arg Met Arg Thr Gly Arg His Leu Val Phe Cys His Ser Lys Ala
 1285 1290 1295
 Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Gln Phe Ser Ala Arg Gly Val Asn Ala
 1300 1305 1310
 Ile Ala Tyr Tyr Arg Gly Lys Asp Ser Ser Ile Ile Lys Asp Gly Asp
 1315 1320 1325
 Leu Val Val Cys Ala Thr Asp Ala Leu Ser Thr Gly Tyr Thr Gly Asn
 1330 1335 1340
 Phe Asp Ser Val Thr Asp Cys Gly Leu Val Val Glu Glu Val Val Glu
 1345 1350 1355 1360
 Val Thr Leu Asp Pro Thr Ile Thr Ile Ser Leu Arg Thr Val Pro Ala
 1365 1370 1375
 Ser Ala Glu Leu Ser Met Gln Arg Arg Gly Arg Thr Gly Arg Gly Arg
 1380 1385 1390
 Ser Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Gly Val Gly Lys Ala Pro Ala Gly Val
 1395 1400 1405
 Val Arg Ser Gly Pro Val Trp Ser Ala Val Glu Ala Gly Val Thr Trp
 1410 1415 1420
 Tyr Gly Met Glu Pro Asp Leu Thr Ala Asn Leu Leu Arg Leu Tyr Asp
 1425 1430 1435 1440
 Asp Cys Pro Tyr Thr Ala Ala Val Ala Ala Asp Ile Gly Glu Ala Ala
 1445 1450 1455
 Val Phe Phe Ser Gly Leu Ala Pro Leu Arg Met His Pro Asp Val Ser
 1460 1465 1470
 Trp Ala Lys Val Arg Gly Val Asn Trp Pro Leu Leu Val Gly Val Gln
 1475 1480 1485
 Arg Thr Met Cys Arg Glu Thr Leu Ser Pro Gly Pro Ser Asp Asp Pro
 1490 1495 1500

10

20

30

Gln Trp Ala Gly Leu Lys Gly Pro Asn Pro Val Pro Leu Leu Leu Arg
 1505 1510 1515 1520
 Trp Gly Asn Asp Leu Pro Ser Lys Val Ala Gly His His Ile Val Asp
 1525 1530 1535
 Asp Leu Val Arg Arg Leu Gly Val Ala Glu Gly Tyr Val Arg Cys Asp
 1540 1545 1550
 Ala Gly Pro Ile Leu Met Ile Gly Leu Ala Ile Ala Gly Gly Met Ile
 1555 1560 1565
 Tyr Ala Ser Tyr Thr Gly Ser Leu Val Val Val Thr Asp Trp Asp Val
 1570 1575 1580
 Lys Gly Gly Gly Ala Pro Leu Tyr Arg His Gly Asp Gln Ala Thr Pro
 1585 1590 1595 1600
 Gln Pro Val Val Gln Val Pro Pro Val Asp His Arg Pro Gly Gly Glu
 1605 1610 1615
 Ser Ala Pro Ser Asp Ala Lys Thr Val Thr Asp Ala Val Ala Ala Ile
 1620 1625 1630
 Gln Val Asp Cys Asp Trp Thr Ile Met Thr Leu Ser Ile Gly Glu Val
 1635 1640 1645
 Leu Ser Leu Ala Gln Ala Lys Thr Ala Glu Ala Tyr Thr Ala Thr Ala
 1650 1655 1660
 Lys Trp Leu Ala Gly Cys Tyr Thr Gly Thr Arg Ala Val Pro Thr Val
 1665 1670 1675 1680
 Ser Ile Val Asp Lys Leu Phe Ala Gly Gly Trp Ala Ala Val Val Gly
 1685 1690 1695
 His Cys His Ser Val Ile Ala Ala Ala Val Ala Ala Tyr Gly Ala Ser
 1700 1705 1710
 Arg Ser Pro Pro Leu Ala Ala Ala Ala Ser Tyr Leu Met Gly Leu Gly
 1715 1720 1725
 Val Gly Gly Asn Ala Gln Thr Arg Leu Ala Ser Ala Leu Leu Leu Gly
 1730 1735 1740

10

20

30

Ala Ala Gly Thr Ala Leu Gly Thr Pro Val Val Gly Leu Thr Met Ala
 1745 1750 1755 1760

Gly Ala Phe Met Gly Gly Ala Ser Val Ser Pro Ser Leu Val Thr Ile
 1765 1770 1775

Leu Leu Gly Ala Val Gly Gly Trp Glu Gly Val Val Asn Ala Ala Ser
 1780 1785 1790

Leu Val Phe Asp Phe Met Ala Gly Lys Leu Ser Ser Glu Asp Leu Trp
 1795 1800 1805

Tyr Ala Ile Pro Val Leu Thr Ser Pro Gly Ala Gly Leu Ala Gly Ile
 1810 1815 1820

Ala Leu Gly Leu Val Leu Tyr Ser Ala Asn Asn Ser Gly Thr Thr Thr
 1825 1830 1835 1840

Trp Leu Asn Arg Leu Leu Thr Thr Leu Pro Arg Ser Ser Cys Ile Pro
 1845 1850 1855

Asp Ser Tyr Phe Gln Gln Val Asp Tyr Cys Asp Lys Val Ser Ala Val
 1860 1865 1870

Leu Arg Arg Leu Ser Leu Thr Arg Thr Val Val Ala Leu Val Asn Arg
 1875 1880 1885

Glu Pro Lys Val Asp Glu Val Gln Val Gly Tyr Val Trp Asp Leu Trp
 1890 1895 1900

Glu Trp Ile Met Arg Gln Val Arg Val Val Met Ala Arg Leu Arg Ala
 1905 1910 1915 1920

Leu Cys Pro Val Val Ser Leu Pro Leu Trp His Cys Gly Glu Gly Trp
 1925 1930 1935

Ser Gly Glu Trp Leu Leu Asp Gly His Val Glu Ser Arg Cys Leu Cys
 1940 1945 1950

Gly Cys Val Ile Thr Gly Asp Val Leu Asn Gly Gln Leu Lys Glu Pro
 1955 1960 1965

Val Tyr Ser Thr Lys Leu Cys Arg His Tyr Trp Met Gly Thr Val Pro
 1970 1975 1980

10

20

30

Val Asn Met Leu Gly Tyr Gly Glu Thr Ser Pro Leu Leu Ala Ser Asp
 1985 1990 1995 2000

 Thr Pro Lys Val Val Pro Phe Gly Thr Ser Gly Trp Ala Glu Val Val
 2005 2010 2015

 Val Thr Thr Thr His Val Val Ile Arg Arg Thr Ser Ala Tyr Lys Leu
 2020 2025 2030

 Leu Arg Gln Gln Ile Leu Ser Ala Ala Val Ala Glu Pro Tyr Tyr Val
 2035 2040 2045

 Asp Gly Ile Pro Val Ser Trp Asp Ala Asp Ala Arg Ala Pro Ala Met
 2050 2055 2060

 Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Asp Gly Glu Arg Tyr Thr
 2065 2070 2075 2080

 Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala Pro Ser Glu Val Ser
 2085 2090 2095

 Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr Glu Asp Ser Glu Leu
 2100 2105 2110

 Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala Leu Gln Ala Ile Glu
 2115 2120 2125

 Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile Asp Val Ile Met Glu Asp
 2130 2135 2140

 Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly Ser Ser Arg Glu Met Pro Val Trp
 2145 2150 2155 2160

 Gly Glu Asp Ile Pro Arg Thr Pro Ser Pro Ala Leu Ile Ser Val Thr
 2165 2170 2175

 Glu Ser Ser Ser Asp Glu Lys Thr Pro Ser Val Ser Ser Ser Gln Glu
 2180 2185 2190

 Asp Thr Pro Ser Ser Asp Ser Phe Glu Val Ile Gln Glu Ser Glu Thr
 2195 2200 2205

 Ala Glu Gly Glu Glu Ser Val Phe Asn Val Ala Leu Ser Val Leu Lys
 2210 2215 2220

10

20

30

Ala Leu Phe Pro Gln Ser Asp Ala Thr Arg Lys Leu Thr Val Lys Met
 2225 2230 2235 2240
 Ser Cys Cys Val Glu Lys Ser Val Thr Arg Phe Phe Ser Leu Gly Leu
 2245 2250 2255
 Thr Val Ala Asp Val Ala Ser Leu Cys Glu Met Glu Ile Gln Asn His
 2260 2265 2270
 Thr Ala Tyr Cys Asp Gln Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val Gly
 2275 2280 2285
 Cys Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu Ala
 2290 2295 2300
 Arg Gln Glu Thr Leu Ala Ser Phe Ser Tyr Ile Trp Ser Gly Val Pro
 2305 2310 2315 2320
 Leu Thr Arg Ala Thr Pro Ala Lys Pro Pro Val Val Arg Pro Val Gly
 2325 2330 2335
 Ser Leu Leu Val Ala Asp Thr Thr Lys Val Tyr Val Thr Asn Pro Asp
 2340 2345 2350
 Asn Val Gly Arg Arg Val Asp Lys Val Thr Phe Trp Arg Ala Pro Arg
 2355 2360 2365
 Val His Asp Lys Tyr Leu Val Asp Ser Ile Glu Arg Ala Lys Arg Ala
 2370 2375 2380
 Ala Gln Ala Cys Leu Ser Met Gly Tyr Thr Tyr Glu Glu Ala Ile Arg
 2385 2390 2395 2400
 Thr Val Arg Pro His Ala Ala Met Gly Trp Gly Ser Lys Val Ser Val
 2405 2410 2415
 Lys Asp Leu Ala Thr Pro Ala Gly Lys Met Ala Val His Asp Arg Leu
 2420 2425 2430
 Gln Glu Ile Leu Glu Gly Thr Pro Val Pro Phe Thr Leu Thr Val Lys
 2435 2440 2445
 Lys Glu Val Phe Phe Lys Asp Arg Lys Glu Glu Lys Ala Pro Arg Leu
 2450 2455 2460

10

20

30

Ile Val Phe Pro Pro Leu Asp Phe Arg Ile Ala Glu Lys Leu Ile Leu
 2465 2470 2475 2480

 Gly Asp Pro Gly Arg Val Ala Lys Ala Val Leu Gly Gly Ala Tyr Ala
 2485 2490 2495

 Phe Gln Tyr Thr Pro Asn Gln Arg Val Lys Glu Met Leu Lys Leu Trp
 2500 2505 2510

 Glu Ser Lys Lys Thr Pro Cys Ala Ile Cys Val Asp Ala Thr Cys Phe
 2515 2520 2525

 Asp Ser Ser Ile Thr Glu Glu Asp Val Ala Leu Glu Thr Glu Leu Tyr
 2530 2535 2540

 Ala Leu Ala Ser Asp His Pro Glu Trp Val Arg Ala Leu Gly Lys Tyr
 2545 2550 2555 2560

 Tyr Ala Ser Gly Thr Met Val Thr Pro Glu Gly Val Pro Val Gly Glu
 2565 2570 2575

 Arg Tyr Cys Arg Ser Ser Gly Val Leu Thr Thr Ser Ala Ser Asn Cys
 2580 2585 2590

 Leu Thr Cys Tyr Ile Lys Val Lys Ala Ala Cys Glu Arg Val Gly Leu
 2595 2600 2605

 Lys Asn Val Ser Leu Leu Ile Ala Gly Asp Asp Cys Leu Ile Ile Cys
 2610 2615 2620

 Glu Arg Pro Val Cys Asp Pro Ser Asp Ala Leu Gly Arg Ala Leu Ala
 2625 2630 2635 2640

 Ser Tyr Gly Tyr Ala Cys Glu Pro Ser Tyr His Ala Ser Leu Asp Thr
 2645 2650 2655

 Ala Pro Phe Cys Ser Thr Trp Leu Ala Glu Cys Asn Ala Asp Gly Lys
 2660 2665 2670

 Arg His Phe Phe Leu Thr Thr Asp Phe Arg Arg Pro Leu Ala Arg Met
 2675 2680 2685

 Ser Ser Glu Tyr Ser Asp Pro Met Ala Ser Ala Ile Gly Tyr Ile Leu
 2690 2695 2700

10

20

30

Leu Tyr Pro Trp His Pro Ile Thr Arg Trp Val Ile Ile Pro His Val
2705 2710 2715 2720

Leu Thr Cys Ala Phe Arg Gly Gly Gly Thr Pro Ser Asp Pro Val Trp
2725 2730 2735

Cys Gln Val His Gly Asn Tyr Tyr Lys Phe Pro Leu Asp Lys Leu Pro
2740 2745 2750

Asn Ile Ile Val Ala Leu His Gly Pro Ala Ala Leu Arg Val Thr Ala
2755 2760 2765

Asp Thr Thr Lys Thr Lys Met Glu Ala Gly Lys Val Leu Ser Asp Leu
2770 2775 2780

Lys Leu Pro Gly Leu Ala Val His Arg Lys Lys Ala Gly Ala Leu Arg
2785 2790 2795 2800

Thr Arg Met Leu Arg Ser Arg Gly Trp Ala Glu Leu Ala Arg Gly Leu
2805 2810 2815

Leu Trp His Pro Gly Leu Arg Leu Pro Pro Pro Glu Ile Ala Gly Ile
2820 2825 2830

Pro Gly Gly Phe Pro Leu Ser Pro Pro Tyr Met Gly Val Val His Gln
2835 2840 2845

Leu Asp Phe Thr Ser Gln Arg Ser Arg Trp Arg Trp Leu Gly Phe Leu
2850 2855 2860

Ala Leu Leu Ile Val Ala Leu Phe Gly
2865 2870

10

20

30

(2)配列番号16の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:27塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:一本鎖

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名:プローブ 470-20-1-152F

(xi)配列:配列番号16:

TCGGTTACTG AGAGCAGCTC AGATGAG

27

10

(2)配列番号17の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:20塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:一本鎖

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名:JML-A、プライマー

(xi)配列:配列番号17:

AGGAATTCAG CGGCCGCGAG

20

20

(2)配列番号18の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:22塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:一本鎖

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名:JML-B、プライマー

(xi)配列:配列番号18:

CTCGCGGCCG CTGAATTCCT TT

22

30

(2)配列番号19の情報:

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：203塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：二本鎖
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：SISPA リンカーをもたない、470-20-1 クローン
 (ix)配列の特徴：
 (A)特徴を表す記号：CDS
 (B)存在位置：2..203
 (xi)配列：配列番号19：

G GCT GTC TCG GAC TCT TGG ATG ACC TCG AAT GAG TCA GAG GAC GGG	46
Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp Gly	
1 5 10 15	
GTA TCC TCC TGC GAG GAG GAC ACC GGC GGG GTC TTC TCA TCT GAG CTG	94
Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr Gly Gly Val Phe Ser Ser Glu Leu	
20 25 30	
CTC TCA GTA ACC GAG ATA AGT GCT GGC GAT GGA GTA CGG GGG ATG TCT	142
Leu Ser Val Thr Glu Ile Ser Ala Gly Asp Gly Val Arg Gly Met Ser	
35 40 45	
TCT CCC CAT ACA GGC ATC TCT CGG CTA CTA CCA CAA AGA GAG GGT GTA	190
Ser Pro His Thr Gly Ile Ser Arg Leu Leu Pro Gln Arg Glu Gly Val	
50 55 60	
CTG CAG TCC TCC A	203
Leu Gln Ser Ser	
65	

(2)配列番号20の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：67アミノ酸
 (B)型：アミノ酸
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：タンパク質
 (xi)配列：配列番号20：

Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp Gly Val
 1 5 10 15
 Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr Gly Gly Val Phe Ser Ser Glu Leu Leu
 20 25 30
 Ser Val Thr Glu Ile Ser Ala Gly Asp Gly Val Arg Gly Met Ser Ser
 35 40 45
 Pro His Thr Gly Ile Ser Arg Leu Leu Pro Gln Arg Glu Gly Val Leu
 50 55 60
 Gln Ser Ser
 65

10

(2)配列番号 2 1 の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 27塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 一本鎖
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 470-20-1-152R

(xi)配列: 配列番号 2 1:

CTCATCTGAG CTGCTCTCAG TAACCGA

27

20

(2)配列番号 2 2 の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 24塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 一本鎖
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: オリゴヌクレオチド B

(xi)配列: 配列番号 2 2:

CTGTCTCGGA CTCTGGATG ACCT

24

30

(2)配列番号 2 3 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 24塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 同一起源オリゴヌクレオチド 211R'

(xi)配列: 配列番号 2 3:

ATACCCCGTC CTCTGACTCA TTCG

24

10

(2)配列番号 2 4 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 24塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 同一起源オリゴヌクレオチド B'

(xi)配列: 配列番号 2 4:

AGGTCATCCA AGAGTCCGAG ACAG

24

20

(2)配列番号 2 5 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 20塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: λGT 11 正方向プライマー、20マー

30

(xi)配列：配列番号 2 5：

CACATGGCTG AATATCGACG

20

(2)配列番号 2 6 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：180塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

10

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：コンセンサス配列 4E3

(xi)配列：配列番号 2 6：

GCGAGCCTAG TCTTTGACTT CATGGCGGGG AAAC TTTCAT CAGAAGATCT GTG GTATGCC

60

ATCCCGGTAC TGACCAGCCC GGGGGCGGGC CTGCGGGGA TCGCTCTCGG GTTGGTTTTC

120

TATTCAGCTA ACAACTCTGG CACTACCACT TGGTTGAACC GTCTGCTGAC TACGTTACCA

180

20

(2)配列番号 2 7 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：430塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：コンセンサス配列 3E3

(xi)配列：配列番号 2 7：

GGCACTACCA CTTGGTTGAA CCGTCTGCTG ACTACGTTAC CAAGGTCTTC ATGTATCCCG

60

GACAGTIACT TTCAGCAAGT TGACTATTGC GACAAGGTCT CAGCCGTGCT CCGGCGCCTG

120

AGCCTCACCC GCACAGTGGT TGCCCTGGTC AACAGGGAGC CTAAGGTGGA TGAGGTACAG

180

30

GTGGGGTATG TCTGGGACCT GTGGGAGTGG ATCATGCGCC AAGTGCGCGT GGTGATGGCC 240
 AGACTCAGGG CCCTCTGCCC CGTGGTGTCA CTACCCCTTGT GGCATTGCGG GGAGGGGTGG 300
 TCCGGGGAAT GGTGCTTGA CGGTGATGTT GAGAGTCGCT GCCTCTGTGG CTGCGTGATC 360
 ACTGGTGACG TTCTGAATGG GCAACTCAA GAACCACTTT ACTCTACCAA GCTGTGCCGG 420
 CACTATTGGA 430

(2)配列番号 28 の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 180塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 2E5

(xi)配列: 配列番号 28:

CTTACCGTCA AGATGTCGTG CTGCGTTGAA AAGAGCGTCA CGCGCTTTTT CTCATTGGGG 60
 TTGACGGTGG CTGATGTTGC TAGCCTGTGT GAGATGGAAA TCCAGAACCA TACAGCCTAT 120
 TGTGACCAGG TGCCTACTCC GCTTGAATTG CAGGTTGGGT GCTTGGTGGG CAATGAACCT 180

(2)配列番号 29 の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 344塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 1E5

(xi)配列: 配列番号 29:

CTTCTCTTTG TGGTAGTAGC CGAGAGATGC CTGTATGGGG AGAAGACATC CCCCCTACTC 60

CATCGCCAGC ACTTATCTCG GTTACTGAGA GCAGCTCAGA TGAGAAGACC CCGTCGGTGT 120
 CCTCCTCGCA GGAGGATACC CCGTCCTCTG ACTCATTGGA GGTTCATCAA GAGTCCGAGA 180
 CAGCCGAAGG GGAGGAAAGT GTCTTCAACG TGGCTCTTTC CGTATTAAAA GCCTTATTTT 240
 CACAGAGCGA CGCGACCAGG AAGCTTACCG TCAAGATGTC GTGCTGCGTT GAAAAGAGCG 300
 TCACGCGCTT TTTCTCATTG GGGTTGACGG TGGCTGATGT TGCT 344

10

(2)配列番号30の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 423塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 4E5

(xi)配列: 配列番号30:

20

GTAAGGCCAC ATGCTGCCAT GGGCTGGGGA TCTAAGGTGT CGGTTAAGGA CTTAGCCACC 60
 CCCGCGGGGA AGATGGCCGT CCATGACCGG CTTCAGGAGA TACTTGAAGG GACTCCGGTC 120
 CCCTTTACTC TTAAGGTGAA AAAGGAGGTG TTCTTCAAAG ACCGGAAGGA GGAGAAGGCC 180
 CCCCCTTCA TTGTGTTCCC CCCCCTGGAC TTCCGGATAG CTGAAAAGCT CATCTTGGGA 240
 GACCCAGGCC GGGTAGCCAA GGCGGTGTTG GGGGGGGCCT ACGCCTTCCA GTACACCCCA 300
 AATCAGCGAG TTAAGGAGAT GCTCAAGCTA TGGGAGTCTA AGAAGACCCC TTGCGCCATC 360
 TGTGTGGACG CCACCTGCTT CGACAGTAGC ATAAGTGAAG AGGACGTGGC TTTGGAGACA 420
 GAG 423

30

(2)配列番号31の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 516塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態

- (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：コンセンサス配列 3E5
 (xi)配列：配列番号 3 1：

TACAGCCTAT TGTGACCAGG TGCCTACTCC GCTTGAATTG CAGGTTGGGT GCTTGGTGGG 60
 CAATGAACCT ACCTTTGAAT GTGACAAGTG TGAGGCTAGG CAAGAAACCT TGGCCTCCTT 120
 CTCTTACATT TGGTCTGGAG TGCCGCTGAC TAGGGCCACG CCGGCCAAGC CTCCCGTGGT 180
 GAGGCCGGTT GGCTCTTTGT TAGTGGCCGA CACTACTAAG GTGTATGTTA CCAATCCAGA 240
 CAATGTGGGA CGGAGGGTGG ACAAGGTGAC CTTCTGGCGT GCTCCTAGGG TTCATGATAA 300
 GTACCTCGTG GACTCTATTG AGCGCGCTAA GAGGGCCGCT CAAGCCTGCC TAAGCATGGG 360
 TTACACTTAT GAGGAAGCAA TAAGGACTGT AAGGCCACAT GCTGCCATGG GCTGGGGATC 420
 TAAGGTGTCG GTTAAGGACT TAGCCACCCC CGCGGGGAAG ATGGCGGTCC ATGACCGGCT 480
 TCAGGAGATA CTTGAAGGGA CTCCGGTCCC CTTTAC 516

10

(2)配列番号 3 2 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：518塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：コンセンサス配列 2E3
 (xi)配列：配列番号 3 2：

GAATGGGCAA CTCAAAGAAC CAGTTACTC TACCAAGCTG TGCCGGCACT ATTGGATGGG 60
 GACTGTCCCT GIGAACATGC TGGGTTACGG TGAAACGTCG CCTCTCCTGG CCTCCGACAC 120
 CCCGAAGGTT GTGCCCTTCG GGACGTCTGG CTGGGCTGAG GTGGTGGTGA CCACTACCCA 180

20

30

CGTGSTAATC AGGAGGACCT CCGCCTATAA GCTGCTGCGC CAGCAAATCC TATCGGCTGC 240
 TGTAGCTGAG CCCTACTACG TCGACGGCAT TCCGGTCTCA TGGGACGCGG ACGCTCGTGC 300
 GCCCGCCATG GTCTATGGCC CTGGGCAAAG TGTTACCATT GACGGGGAGC GCTACACCTT 360
 GCCTCATCAA CTGAGGCTCA GGAATGTGGC ACCCTCTGAG GTTTCATCCG AGGTGTCCAT 420
 TGACATTGGG ACGGAGACTG AAGACTCAGA ACTGACTGAG GCCGATCTGC CGCCGGCGGC 480
 TGCTGCTCTC CAAGCGATCG AGAATGCTGC GAGGATTC 518

10

(2)配列番号 3 3 の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 268塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 1E3

(xi)配列: 配列番号 3 3 :

20

CTTACTGAGG CCGATCTGCC GCCGGCGGCT GCTGCTCTCC AAGCGATCGA GAATGCTGCG 60
 AGGATTCTTG AACCGCACAT TGATGTCATC ATGGAGGACT GCAGTACACC CTCTCTTTGT 120
 GGTAGTAGCC GAGAGATGCC TGTATGGGA GAAGACATCC CCCGTACTCC ATCGCCAGCA 180
 CTTATCTCGG TTACIGAGAG CAGCTCAGAT GAGAAGACCC CGTCGGTGTC CTCCTCGCAG 240
 GAGGATACCC CGTCCTCTGA CTCATTCG 268

30

(2)配列番号 3 4 の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 781塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：独立クローン 4E5-20

(xi)配列：配列番号34：

```

GTAAGGCCAC ATGCTGCCAT GGGCTGGGGA TCTAAGGTGT CGGTTAAGGA CTTAGCCACC      60
CCCCCGGGGA AGATGGCCGT CCATGACCGG CTTCAGGAGA TACTTGAAGG GACTCCGGTC      120
CCCTTTACTC TTAAGGTGAA AAAGGAGGTG TTCTTCAAAG ACCGGAAGGA GGAGAAGGCC      180
CCCCGCCTCA TTGTGTTCCC CCCCTGGAC TTCCGGATAG CTGAAAAGCT CATCTTGGGA      240
GACCCAGGCC GGGTAGCCAA GGCGGTGTTG GGGGGGGCCT ACGCCTTCCA GTACACCCCA      300
AATCAGCGAG TTAAGGAGAT GCTCAAGCTA TGGGAGTCTA AGAAGACCCC TTGCGCCATC      360
TGTGTGGACG CCACCTGCTT CGACAGTAGC ATAAGTGAAG AGGACGTGGC TTTGGAGACA      420
GAGTTATACG CTCTGGCCTC TGACCATCCA GAATGGGTGC GGGCACCTGG GAAATACTAT      480
GCCTCAGGCA CCATGGTCAC CCCGGAAGGG GTGCCCGTCG GTGAGAGGTA TTGCAGATCC      540
TCGGGIGTCC TAACAACTAG CGCGAGCAAC TGCCTGACCT GCTACATCAA GGTGAAAGCT      600
GCCIGIGAGA GAGTGGGGCT GAAAAATGTC TCTCTTCTCA TAGCCGGCGA TGAAGCTTGG      660
ATCATATGIG AGCGGCCAGT GTGCGACCCA AGCGACGCTT TGGGCAGAGC CCTAGCGAGC      720
TATGGGTACG CGTGGGAGCC CTCATATCAT GCATCATTGG ACACGGCCCC CTTCTGCTCC      780
A                                                                                   781

```

10

20

(2)配列番号35の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：27塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

30

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名:プローブ 470-201-1-142R

(xi)配列: 配列番号 3 5:

TCGGTTACTG AGAGCAGCTC AGATGAG

27

(2)配列番号 3 6 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 27塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プローブ 470-201-1-152F

(xi)配列: 配列番号 3 6:

TCGGTTACTG AGAGCAGCTC AGATGAG

27

(2)配列番号 3 7 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 570塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: クローン 470EXP1

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 1..570

(xi)配列: 配列番号 3 7:

GCT GTA TGG TTC TGG ATT TCC ATC TCA CAC AGG CTA GCA ACA TCA GCC
Ala Val Trp Phe Trp Ile Ser Ile Ser His Arg Leu Ala Thr Ser Ala
1 5 10 15

48

ACC GTC AAC CCC AAT GAG AAA AAG CGC GTG ACG CTC TTT TCA ACG CAG
Thr Val Asn Pro Asn Glu Lys Lys Arg Val Thr Leu Phe Ser Thr Gln
20 25 30

96

CAC GAC ATC TTG ACG GTA AGC TTC CTG GTC GCG TCG CTC TGT GGA AAT 144
His Asp Ile Leu Thr Val Ser Phe Leu Val Ala Ser Leu Cys Gly Asn
35 40 45
AAG GCT TTT AAT ACG GAA AGA GCC ACG TTG AAG ACA CTT TCC TCC CCT 192
Lys Ala Phe Asn Thr Glu Arg Ala Thr Leu Lys Thr Leu Ser Ser Pro
50 55 60
TCG GCT GTC TCG GAC TCT TGG ATG ACC TCG AAT GAG TCA GAG GAC GGG 240
Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp Gly
65 70 75 80
GTA TCC TCC TGC GAG GAG GAC ACC GAC GGG GTC TTC TCA TCT GAG CTG 288
Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr Asp Gly Val Phe Ser Ser Glu Leu
85 90 95
CTC TCA GTA ACC GAG ATA AGT GCT GGC GAT GGA GTA CGG GGG ATG TCT 336
Leu Ser Val Thr Glu Ile Ser Ala Gly Asp Gly Val Arg Gly Met Ser
100 105 110
TCT CCC CAT ACA GGC ATC TCT CGG CTA CTA CCA CAA AGA GAG GGT GTA 384
Ser Pro His Thr Gly Ile Ser Arg Leu Leu Pro Gln Arg Glu Gly Val
115 120 125
CTG CAG TCC TCC ATG ATG ACA TCA ATG TGC GGT TCA AGA ATC CTC GCA 432
Leu Gln Ser Ser Met Met Thr Ser Met Cys Gly Ser Arg Ile Leu Ala
130 135 140
GCA TTC TCG ATC GCT TGG AGA GCA GCA GCC GCC GGC GGC ACA TCG GCC 480
Ala Phe Ser Ile Ala Trp Arg Ala Ala Ala Gly Gly Arg Ser Ala
145 150 155 160
TCA GTC AGT TCT GAG TCT TCA GTC TCC GTC CCA ATG TCA ATG GAC ACC 528
Ser Val Ser Ser Glu Ser Ser Val Ser Val Pro Met Ser Met Asp Thr
165 170 175
TCG GAT GAA ACC TCA GAG GGT GCC ACA TTC CTG AGC CTC AGT 570
Ser Asp Glu Thr Ser Glu Gly Ala Thr Phe Leu Ser Leu Ser
180 185 190

10

20

30

(2)配列番号38の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:190アミノ酸

(B)型:アミノ酸

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:タンパク質

(xi)配列:配列番号38:

Ala Val Trp Phe Trp Ile Ser Ile Ser His Arg Leu Ala Thr Ser Ala
 1 5 10 15

Thr Val Asn Pro Asn Glu Lys Lys Arg Val Thr Leu Phe Ser Thr Gln
 20 25 30

His Asp Ile Leu Thr Val Ser Phe Leu Val Ala Ser Leu Cys Gly Asn
 35 40 45

Lys Ala Phe Asn Thr Glu Arg Ala Thr Leu Lys Thr Leu Ser Ser Pro
 50 55 60

Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp Gly
 65 70 75 80

Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr Asp Gly Val Phe Ser Ser Glu Leu
 85 90 95

Leu Ser Val Thr Glu Ile Ser Ala Gly Asp Gly Val Arg Gly Met Ser
 100 105 110

Ser Pro His Thr Gly Ile Ser Arg Leu Leu Pro Gln Arg Glu Gly Val
 115 120 125

Leu Gln Ser Ser Met Met Thr Ser Met Cys Gly Ser Arg Ile Leu Ala
 130 135 140

Ala Phe Ser Ile Ala Trp Arg Ala Ala Ala Gly Gly Arg Ser Ala
 145 150 155 160

Ser Val Ser Ser Glu Ser Ser Val Ser Val Pro Met Ser Met Asp Thr
 165 170 175

Ser Asp Glu Thr Ser Glu Gly Ala Thr Phe Leu Ser Leu Ser
 180 185 190

10

20

30

(2)配列番号 39 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:1288塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:両形態

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:cDNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名:コンセンサス配列 5E3

(xi)配列:配列番号 39:

ACGGGTAGGG GCAGGTCTGG ACCTACTAC TACGCGGGG TGGGCAAAGC CCCTGCGGGT 60
GTGGTGCCT CAGGTCTGT CTGGTCGGCG GTGGAAGCTG GAGTGACCTG GTACGGAATG 120
GAACCTGACT TGACAGCTAA CCTACTGAGA CTTTACGACG ACTGCCCTTA CACCGCAGCC 180
GTCGCGGCTG ATATCGGAGA AGCCGCGGTG TTCTTCTCTG GGCTCGCCCC ATTGAGGATG 240
CACCTGTATG TCAGCTGGGC AAAAGTTCGC GCGCTCAACT GGGCCCTCTT GGTGGGTGTT 300
CAGCGGACCA TGTGTCGGGA AACACTGTCT CCCGGCCCAT CGGATGACCC CCAATGGGCA 360
GGTCTGAAGG GCGCAAATCC TGTCCCACTC CTGCTGAGGT GGGGCAATGA TTTACCATCT 420
AAAGTGGCCG GCCACCACAT AGTGGACGAC CTGGTCCGGA GACTCGGTGT GCGGGAGGGT 480
TACGTCCGCT GCGACGCTGG GCCGATCTTG ATGATCGGTC TAGCTATCGC GGGGGGAATG 540
ATCTACGCGT CATACACCGG GTCGCTAGTG GTGGTGACAG ACTGGGATGT GAAGGGGGGT 600
GGCGCCCCC TTTATCGGCA TGGAGACCAG GCCACGCCTC AGCCGGTGGT GCAGGTTCTT 660
CCGGTAGACC ATCGGCCCGG GGGTGAATCA GCACATCGG ATGCCAAGAC AGTGACAGAT 720
GCGGTGGCAG CCATCCAGGT GGAATGCGAT TGGACTATCA TGAATCTGTC GATCGGAGAA 780
GTGTTGCTCT TGGCTCAGGC TAAGACGGCC GAGGCCTACA CAGCAACCGC CAAGTGGCTC 840
GCTGGCTGCT ATACGGGGAC GCGGGCCGTT CCCACTGTAT CCATTGTTGA CAAGCTCTTC 900

10

20

30

GCGGAGGGT GGGCGGCTGT GGTGGGCCAT TGCCACAGCG TGATIGCTGC GGCGGTGGCG 960
 GCCTACGGGG CTICAAGGAG CCGCGCGTTG GCAGCCGCGG CTCCTACCT GATGGGGTTG 1020
 GCGGTTGGAG GCAACGCTCA GACGCGCCTG GCGTCTGCCC TCCTATTGGG GGCTGCTGGA 1080
 ACCGCCTTGG GCACTCCTGT CGTGGGCTTG ACCATGGCAG GTGCGTTCAT GGGGGGGGCC 1140
 AGTGTCTCCC CCTCCTTGGT CACCATTTTA TTGGGGGCCG TCGGAGGTTG GGAGGGTGT 1200
 GTCAACGCGG CGAGCCTAGT CTTTGACTTC ATGGCGGGGA AACTTTCATC AGAAGATCTG 1260
 TGGTATGCCA TCCCGGTACT GACCAGCC 1288

(2)配列番号 40 の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 862塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 6E3

(xi)配列: 配列番号 40:

ACGGCAACAT GGGGCACAAG GTCTTAATCT TGAACCCCTC AGTGGCCACT GTGCGGGCCA 60
 TGGGCCCCGTA CATGGAGCGG CTGGCGGGTA AACATCCAAG TATATACTGT GGGCATGATA 120
 CAACTGCTTT CACAAGGATC ACTGACTCCC CCCTGACGTA TTCAACCTAT GGGAGGTTTT 180
 TGGCCAACCC TAGGCAGATG CTACGGGGCG TTTCGGTGGT CATTTGTGAT GAGTGCCACA 240
 GTCATGACTC AACCGTGCTG TTAGGCATTG GGAGAGTTCG GGAGCTGGCG CGTGGGTGCG 300
 GAGTGCAACT AGTGCTCTAC GCCACCGCTA CACCTCCCGG ATCCCCTATG ACGCAGCACC 360
 CTTCCATAAT TGAGACAAAA TTGGACGTGG GCGAGATTCC CTTTATGGG CAIGGAATAC 420
 CCCTCGAGCG GATGCGAACC GGAAGGCACC TCGTGTCTG CCATTCTAAG GCTGAGTGCG 480

AGCGCCTTGC TGGCCAGTTC TCCGCTAGGG GGGTCAATGC CATTGCCTAT TATAGGGGTA 540
 AAGACAGITC TATCATCAAG GATGGGGACC TGGTGGTCTG TGCTACAGAC GCGCTTTCCA 600
 CTGGGTACAC TGGAAATTTT GACTCCGTCA CCGACTGTGG ATTAGTGGTG GAGGAGGTCG 660
 TTGAGGTGAC CCTTGATCCC ACCATTACCA TCTCCCTGCG GACAGTGCCT GCGTCGGCTG 720
 AACTGTGCGAT GCAAAGACGA GGACGCACGG GTAGGGGCAG GTCTGGACGC TACTACTACG 780
 CGGGGGTGGG CAAAGCCCCT GCGGGTGTGG TCGGCTCAGG TCCTGTCTGG TCGGCGGTGG 840
 AAGCTGGAGT GACCTCGTAC GG 862

10

(2)配列番号41の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 865塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 独立クローン GE3L-11

(xi)配列: 配列番号41:

AGTACGGCAA CATGGGGCAC AAGGTCTTAA TCTTGAACCC CTCAGTGGCC ACTGTGCGGG 60
 CCATGGGGCC GTACATGGAG CGGCTGGCGG GTAAACATCC AAGTATATAC TGTGGGCATG 120
 ATACAACTGC TTTCACAAGG ATCACTGACT CCCCCCTGAC GTATTCAACC TATGGGAGGT 180
 TTTTGGCCAA CCCIAGGCAG ATGCTACGGG GCGTTTCGGT GGTCATTTGT GATGAGTGCC 240
 ACAGTCATGA CTCAACCGTG CTGTTAGGCA TTGGGAGAGT CCGGGAGCIG GCGCGTGGGT 300
 GCGGGGTGCA ACTAGTGCIC TACGCCACCG CTACACCTCC CGGATCCCCT ATGACGCAGC 360
 ACCCTTCCAT AATTGAGACA AAATTGGACG TGGGCGAGAT TCCCTTTTAT GGACATGGAA 420
 TACCCCTCGA GCGGATGCCA ACCGGAAGGC ACCTCGTGTT CTGCCATTCT AAGGCTGAGT 480

30

GCGAGCGCCT TGCTGGCCAG TTCTCCGCTA GGGGGGTCAA TGCCATTGCC TATTATAGGG 540
 GTAAAGACAG TTCTATCATC AAGGATGGGG ACCTGGTGGT CTGTGCTACA GACGCGCTTT 600
 CCACTGGGTA CACTGGAAAT TTCGACTCCG TCACCGACTG TGGATTAGTG GTGGAGGAGG 660
 TCGTTGAGGT GACCCTTGAT CCCACCATT A CATCTCCCT GCGGACAGTG CCTGCGTCGG 720
 CTGAACTGTC GATGCAAAGA CGAGGACGCA CGGGTAGGGG CAGGTCTGGA CGCTACTACT 780
 ACGCGGGGGT GGGCAAAGCC CCTGCGGGTG TGGTGCGCTC AGGTCTGTG TGGTCGGCGG 840
 TGGAAAGCTGG AGTGACCTCG TACGG 865

10

(2)配列番号42の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 596塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 7E3

(xi)配列: 配列番号42:

AGCATGGGAA CATGCTGAA CGGCCTGCTG TTCACGACCT TCCATGGGGC TTCATCCCGA 60
 ACCATCGCCA CACCCGTGGG GGCCCTTAAT CCCAGATGGT GGTCAGCCAG TGATGATGTC 120
 ACGGTGTATC CACTCCCGGA TGGGGCTACT TCGTTAACAC CTTGTACTTG CCAGGCTGAG 180
 TCCIGTTGGG TCATCAGATC CGACGGGGCC CTATGCCATG GCTTGAGCAA GGGGGACAAG 240
 GTGGAGCTGG ATGTGGCCAT GGAGGTCTCT GACTTCCGTG GCTCGTCTGG CTCACCGGTC 300
 CTATGTGACG AAGGGCACGC AGTAGGAATG CTCGTGTCTG TGCTTCACTC CGGTGGTAGG 360
 GTCACCGCGG CACGGTTCAC TAGGCCGTGG ACCCAAGTGC CAACAGATGC CAAAACCACT 420
 ACTGAACCCC CTCCGGTGCC GGCCAAAGGA GTTTTCAAAG AGGCCCCGTT GTTTATGCCT 480

30

ACGGGAGCGG GAAAGAGCAC TCGCGTCCCG TTGGAGTACG ATAACATGGG GCACAAGGTC 540

TTAATCTTGA ACCCCTCAGT GGCCACTGTG CGGGCCATGG GCCCGTACAT GGAGCG 596

(2)配列番号 4 3 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 586塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 5E5

(xi)配列: 配列番号 4 3:

GAGCTATGGG TACGCGTGGC AGCCCTCATA TCATGCATCA TTGGACACGG CCCCTTCTG 60

CTCCACTTGG CTTGCTGAGT GCAATGCAGA TGGGAAGCGC CATTCTTCC TGACCACGGA 120

CTTCCGGAGG CCGCTCGCIC GCATGTCGAG TGAGTATAGT GACCCGATGG CTTGCGCGAT 180

CGGTIACATC CTTCTTIATC CTTGGCACCC CAICACACGG TGGGTCATCA TCCCTCATGT 240

GCTAACGIGC GCATTACAGG GTGGAGGCAC ACCGTCTGAT CCGGTTTGGT GCCAGGTGCA 300

TGGTAACTAC TACAAGTTTC CACTGGACAA ACTGCCTAAC ATCATCGTGG CCCTCCACGG 360

ACCAGCAGCG TTGAGGGTTA CCGCAGACAC AACTAAAACA AAGATGGAGG CTGGTAAGGT 420

TCTGAGCGAC CTCAAGCTCC CTGGCTTAGC AGTCCACCGA AAGAAGGCCG GGGCGTTGCG 480

AACACGCATG CTCCGCTCGC GCGGTTGGGC TGAGTTGGCT AGGGGCTTGT TGTGGCATCC 540

AGGCCTACGG CTTCTTCCCC CTGAGATTGC TGGTATCCCG GGGGGT 586

(2)配列番号 4 4 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 242塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：コンセンサス配列 6E5(44F)

(xi)配列：配列番号 4 4：

```
CGAACGCGCA TGCTCCGCTC GCGCGGTTGG GCTGAGTTGG CTAGGGGCTT GTTGTGGCAT    60
CCAGGCCTAC GGCTTCCTCC CCCTGAGATT GCTGGTATCC CGGGGGGTTT CCCTCTCTCC    120
CCCCCTATA TGGGGGTGGT ACACCAATTG GATTTCACAA GCCAGAGGAG TCGCTGGCGG    180
TGGTGGGGT TCTTAGCCCT GCTCATCGTA GCCCTCTTCG GGTGAACTAA ATTCATCTGT    240
TG                                                                                   242
```

10

(2)配列番号 4 5 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：27塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー Gtl1 rev-JL

(xi)配列：配列番号 4 5：

```
TGGTAATGGT AGCGACCGGC GCTCAGC    27
```

20

(2)配列番号 4 6 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：45塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー GE-3F

30

(xi)配列：配列番号 4 6：

GCCGCCATGG TCTCATGGGA CGCGGACGCT CGTGCGCCCG CGATG

45

(2)配列番号 4 7 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：34塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

10

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー GE-3R

(xi)配列：配列番号 4 7：

GCGCGGATCC GATAAGTGCT GCGGATGGAG TACG

34

(2)配列番号 4 8 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：22塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

20

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー GE-9F

(xi)配列：配列番号 4 8：

GGCACCATGG TCACCCCGGA AG

22

(2)配列番号 4 9 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：28塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

30

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C) 個体・単離生物名：プライマー GE-9R
 (xi) 配列：配列番号 49：

GCTCGGATCC GGAGCAGAAG GGGGCCGT

28

(2) 配列番号 50 の情報：

(i) 配列の特色：

- (A) 長さ：364塩基対
- (B) 型：核酸
- (C) 鎖の数：両形態
- (D) トポロジー：直鎖状

10

(ii) 配列の種類：DNA

(iii) ハイボセティカル：NO

(iv) アンチセンス：NO

(vi) 起源：

(C) 個体・単離生物名：GE3-2

(ix) 配列の特徴：

(A) 特徴を表す記号：CDS

(B) 存在位置：2..364

(xi) 配列：配列番号 50：

G GTC TCA TGG GAC GCG GAC GCT CGT GCG CCC GCG ATG GTC TAT GGC
 Val Ser Trp Asp Ala Asp Ala Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly
 1 5 10 15

46

20

CCT GGG CAA AGT GTT ACC ATT GAC GGG GAG CGC TAC ACC TTG CCT CAT
 Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Asp Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His
 20 25 30

94

CAA CTG AGG CTC AGG AAT GTG GCA CCC TCT GAG GTT TCA TCC GAG GTG
 Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val
 35 40 45

142

TCC ATT GAC ATT GGG ACG GAG ACT GAA GAC TCA GAA CTG ACT GAG GCC
 Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr Glu Asp Ser Glu Leu Thr Glu Ala
 50 55 60

190

30

GAT CTG CCG CCG GCG GCT GCT GCT CTC CAA GCG ATC GAG AAT GCT GCG
 Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala
 65 70 75

238

AGG ATT CTT GAA CCG CAC ATT GAT GTC ATC ATG GAG GAC TGC AGT ACA
 Arg Ile Leu Glu Pro His Ile Asp Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr
 80 85 90 95

286

CCC TCT CTT TGT GGT AGT AGC CGA GAG ATG CCT GTA TGG GGA GAA GAC 334
 Pro Ser Leu Cys Gly Ser Ser Arg Glu Met Pro Val Trp Gly Glu Asp
 100 105 110

ATC CCC CGT ACT CCA TCG CCA GCA CTT ATC 364
 Ile Pro Arg Thr Pro Ser Pro Ala Leu Ile
 115 120

(2)配列番号51の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:121アミノ酸

(B)型:アミノ酸

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:タンパク質

(xi)配列:配列番号51:

Val Ser Trp Asp Ala Asp Ala Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro
 1 5 10 15

Gly Gln Ser Val Thr Ile Asp Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln
 20 25 30

Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser
 35 40 45

Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr Glu Asp Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp
 50 55 60

Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala Arg
 65 70 75 80

Ile Leu Glu Pro His Ile Asp Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr Pro
 85 90 95

Ser Leu Cys Gly Ser Ser Arg Glu Met Pro Val Trp Gly Glu Asp Ile
 100 105 110

Pro Arg Thr Pro Ser Pro Ala Leu Ile
 115 120

(2)配列番号52の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:290塩基対

(B)型:核酸

- (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：クローン GE9-2
 (ix)配列の特徴：
 (A)特徴を表す記号：CDS
 (B)存在位置：3..290
 (xi)配列：配列番号5 2：

CC ATG GTC ACC CCG GAA GGG GTG CCC GTT GGT GAG AGG TAT TGC AGA	47
Met Val Thr Pro Glu Gly Val Pro Val Gly Glu Arg Tyr Cys Arg	
1 5 10 15	
TCC TCG GGT GTC CTA ACA ACT AGC GCG AGC AAC TGC TTG ACC TGC TAC	95
Ser Ser Gly Val Leu Thr Thr Ser Ala Ser Asn Cys Leu Thr Cys Tyr	
20 25 30	
ATC AAG GTG AAA GCC GCC TGT GAG AGG GTG GGG CTG AAA AAT GTC TCT	143
Ile Lys Val Lys Ala Ala Cys Glu Arg Val Gly Leu Lys Asn Val Ser	
35 40 45	
CTT CTC ATA GCC GGC GAT GAC TGC TTG ATC ATA TGT GAG CGG CCA GTG	191
Leu Leu Ile Ala Gly Asp Asp Cys Leu Ile Ile Cys Glu Arg Pro Val	
50 55 60	
TGC GAC CCA AGC GAC GCT TTG GGC AGA GCC CTA GCG AGC TAT GGG TAC	239
Cys Asp Pro Ser Asp Ala Leu Gly Arg Ala Leu Ala Ser Tyr Gly Tyr	
65 70 75	
GCG TGC GAG CCC TCA TAT TAT GCA TGC TCG GAC ACG GCC CCC TTC TGC	287
Ala Cys Glu Pro Ser Tyr Tyr Ala Cys Ser Asp Thr Ala Pro Phe Cys	
80 85 90 95	
TCC	290
Ser	

(2)配列番号5 3の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：96アミノ酸
 (B)型：アミノ酸
 (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(xi)配列：配列番号 5 3：

Met Val Thr Pro Glu Gly Val Pro Val Gly Glu Arg Tyr Cys Arg Ser
1 5 10 15

Ser Gly Val Leu Thr Thr Ser Ala Ser Asn Cys Leu Thr Cys Tyr Ile
20 25 30

Lys Val Lys Ala Ala Cys Glu Arg Val Gly Leu Lys Asn Val Ser Leu
35 40 45

Leu Ile Ala Gly Asp Asp Cys Leu Ile Ile Cys Glu Arg Pro Val Cys
50 55 60

Asp Pro Ser Asp Ala Leu Gly Arg Ala Leu Ala Ser Tyr Gly Tyr Ala
65 70 75 80

Cys Glu Pro Ser Tyr Tyr Ala Cys Ser Asp Thr Ala Pro Phe Cys Ser
85 90 95

10

(2)配列番号 5 4 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：20塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：JML-A SISPA プライマー

(xi)配列：配列番号 5 4：

AGGAATTCAG CGGCCGCGAG

20

20

(2)配列番号 5 5 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：22塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

30

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: JML-B SISPA プライマー

(xi)配列: 配列番号 5 5:

CTCGCGGCCG CTGAATTCCT TT

22

(2)配列番号 5 6 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 32塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 470ep-f1 プライマー

(xi)配列: 配列番号 5 6

GCGAATTCGC CATGGCGGGG AGACTTTCAT CA

32

(2)配列番号 5 7 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 35塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 470ep-R1 プライマー

(xi)配列: 配列番号 5 7:

GCGAATTCGG ATCCAGGGCC ATAGACCATC GCGGG

35

(2)配列番号 5 8 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 26塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

10

20

30

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：470ep-f2 プライマー

(xi)配列：配列番号58：

GCGAATTCCG TCGCGCCGCC ATGGTC

26

(2)配列番号59の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：32塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：470ep-R3 プライマー

(xi)配列：配列番号59：

GCGAATTCCG ATCCCAAGGT TTCTTGCCTA GC

32

(2)配列番号60の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：26塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：470ep-f4 プライマー

(xi)配列：配列番号60：

GCGAATTCAG GTGTGAGGCT AGGCAA

26

(2)配列番号61の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：35塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：470ep-R4 プライマー
- (xi)配列：配列番号 6 1：

GCGAATTCGG ATCCCCACAC AGATGGCGCA AGGGG

35

(2)配列番号 6 2 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：27塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：両形態
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：KL-1 SISPA プライマー
- (xi)配列：配列番号 6 2：

GCAGGATCCG AATTCGCATC TAGAGAT

27

10

20

(2)配列番号 6 3 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：29塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：両形態
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：KL-2 SISPA プライマー
- (xi)配列：配列番号 6 3：

ATCTCTAGAT GCGAATTCGG ATCCTGCGA

29

30

(2)配列番号 6 4 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：186塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：両形態
 - (D)トポロジー：直鎖状

- (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：クローン Y5-10

- (ix)配列の特徴：
 (A)特徴を表す記号：CDS
 (B)存在位置：1..186

(xi)配列：配列番号 6 4：

CGT GCG CCC GCC ATG GTC TAT GGC CCT GGG CAA AGT GTT GCC ATT GAC 48
 Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Ala Ile Asp
 1 5 10 15

GGG GAG CGC TAC ACC TTG CCT CAT CAA CTG AGG CTC AGG AAT GIG GCA 96
 Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala
 20 25 30

CCC TCT GAG GTT TCA TCC GAG GTG TCC ATT GAC ATT GGG ACG GAG GCT 144
 Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Ala
 35 40 45

GAA AAC TCA GAA CTG ACT GAG GCC GAT CTG CCG CCG GCG GCT 186
 Glu Asn Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala
 50 55 60

(2)配列番号 6 5 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：62アミノ酸
 (B)型：アミノ酸
 (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(xi)配列：配列番号 6 5：

Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Ala Ile Asp
 1 5 10 15

Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala
 20 25 30

Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Ala
 35 40 45

Glu Asn Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala
 50 55 60

(2)配列番号 6 6 の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 282塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: クローン Y5-12

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 1..282

(xi)配列: 配列番号 6 6:

CGT GCG CCC GCC ATG GTC TAT GGC CCT GGG CAA AGT GTT ACC ATT GAC	48
Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Asp	
1 5 10 15	
GGG GAG CGC TAC ACC TTG CCT CAT CAA CTG AGG CTC AGG AAT GTG GCA	96
Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala	
20 25 30	
CCC TCT GAG GTT TCA TCC GAG GTG TCC ATT GAC ATT GGG ACG GAG ACT	144
Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr	
35 40 45	
GAA GAC TCA GAA CTG ACT GAG GCC GAT CTG CCG CCG GCG GCT GCT GCT	192
Glu Asp Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala	
50 55 60	
CTC CAA GCG ATC GAG AAT GCT GCG AGG ATT CTT GAA CCG CAC ATT GAT	240
Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile Asp	
65 70 75 80	
GTC ATC ATG GAG GAC TGC AGT ACA CCC TCT CTT TGT GGT AGT	282
Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly Ser	
85 90	

(2)配列番号 6 7 の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 94アミノ酸
- (B)型: アミノ酸

- (D)トポロジー：直鎖状
(ii)配列の種類：タンパク質
(xi)配列：配列番号 6 7：

```

Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Asp
 1             5             10             15

Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala
      20             25             30

Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr
      35             40             45

Glu Asp Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala
      50             55             60

Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile Asp
      65             70             75             80

Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly Ser
      85             90

```

10

(2)配列番号 6 8 の情報：

- (i)配列の特色：
(A)長さ：279塩基対
(B)型：核酸
(C)鎖の数：両形態
(D)トポロジー：直鎖状
(ii)配列の種類：cDNA
(iii)ハイボセティカル：NO
(iv)アンチセンス：NO
(vi)起源：
(C)個体・単離生物名：クローン Y5-26
(ix)配列の特徴：
(A)特徴を表す記号：CDS
(B)存在位置：1..279
(xi)配列：配列番号 6 8：

20

```

CGT GCG CCC GCC ATG GTC TAT GGC CCT GGG CAA AGT GTT TCC ATT GAC
Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Ser Ile Asp
 1             5             10             15

GGG GAG CGC TAC ACC TTG CCT CAT CAA CTG AGG CTC AGG AAT GTG GCA
Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala
      20             25             30

```

48

96

30

CCC TCT GAG GTT TCA TCC GAG GTG TCC ATT GAC ATT GGG ACG GAG ACT 144
 Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr
 35 40 45

GAA GAC TCA GAA CTG ACT GAG GCC GAC CTG CCG CCG GCG GCT GCT GCT 192
 Glu Asp Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala
 50 55 60

CTC CAA GCG ATC GAG AAT GCT GCG AGG ATT CTT GAA CCG CAC ATC GAT 240
 Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile Asp
 65 70 75 80

GTC ATC ATG GAG GAC TGC AGT ACA CCC TCT CTT TGT GGT 279
 Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly
 85 90

10

(2)配列番号69の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:93アミノ酸

(B)型:アミノ酸

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:タンパク質

20

(xi)配列:配列番号69:

Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Ser Ile Asp
 1 5 10 15

Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala
 20 25 30

Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr
 35 40 45

Glu Asp Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala
 50 55 60

Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile Asp
 65 70 75 80

Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly
 85 90

30

(2)配列番号70の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:108塩基対

- (B)型：核酸
 (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：

(C)個体・単離生物名：クローン Y5-5

- (ix)配列の特徴：

(A)特徴を表す記号：CDS

(B)存在位置：1..108

- (xi)配列：配列番号7 0：

GCC TAT TGT GAC AAG GTG CGC ACT CCG CTT GAA TTG CAG GTT GGG TGC	48
Ala Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val Gly Cys	
1 5 10 15	
TTG GTG GGC AAT GAA CTT ACC TTT GAA TGT GAC AAG TGT GAG GCT AGG	96
Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu Ala Arg	
20 25 30	
CAA GAA ACC TTG	108
Gln Glu Thr Leu	
35	

- (2)配列番号7 1の情報：

- (i)配列の特色：

(A)長さ：36アミノ酸

(B)型：アミノ酸

(D)トポロジー：直鎖状

- (ii)配列の種類：タンパク質

- (xi)配列：配列番号7 1：

Ala Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val Gly Cys	30
1 5 10 15	
Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu Ala Arg	
20 25 30	
Gln Glu Thr Leu	
35	

- (2)配列番号7 2の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：132塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：クローン Y5-3
 (ix)配列の特徴：
 (A)特徴を表す記号：CDS
 (B)存在位置：1..132
 (xi)配列：配列番号7 2：

GAG ATG GAA ATC CAG AAC CAT ACA GCC TAT TGT GAC AAG GTG CGC ACT	48
Glu Met Glu Ile Gln Asn His Thr Ala Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr	
1 5 10 15	
CCG CTT GAA TTG CAG GTT GGG TGC TTG GTG GGC AAT GAA CTT ACC TTT	96
Pro Leu Glu Leu Gln Val Gly Cys Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe	
20 25 30	
GAA TGT GAC AAG TGT GAG GCT AGG CAA GAA ACC TTG	132
Glu Cys Asp Lys Cys Glu Ala Arg Gln Glu Thr Leu	
35 40	

(2)配列番号7 3の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：44アミノ酸
 (B)型：アミノ酸
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：タンパク質
 (xi)配列：配列番号7 3：

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

(i)配列の特色:

- (A)長さ：258塩基対
(B)型：核酸
(C)鎖の数：両形態
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイポセティカル：NO

(iv) アンチセンス : NO

(vi)起源：

(C) 個体・単離生物名: クローン Y5-27

(ix)配列の特徴：

(A)特徴を表す記号：CDS

(B)存在位置: 1..258

(xi)配列：配列番号74：

AAA GCC TTA TTT CCA CAG AGC GAC GCG ACC AGG AAG CTT ACC GTC AAG 48
Lys Ala Leu Phe Pro Gln Ser Asp Ala Thr Arg Lys Leu Thr Val Lys
1 5 10 15

ATG TCA TGC TGC GTT GAA AAG AGC GTC ACG CGC TTT TTC TCA TTG GGG 96
Met Ser Cys Cys Val Glu Lys Ser Val Thr Arg Phe Phe Ser Leu Gly
20 25 30

TTG ACG GTG GCT GAT GTT GCT AGC CTG TGT GAG ATG GAA ATC CAG AAC 144
Leu Thr Val Ala Asp Val Ala Ser Leu Cys Glu Met Glu Ile Gln Asn
35 40 45

CAT ATA GCC TAT TGT GAC AAG GTG CGC ACT CCG CTT GAA TTG CAG GTT 192
His Ile Ala Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val
50 55 60

GGG TGC TTG GTG GGC AAT GAA CTC ACC TTT GAA TGT GAC AAG TGT GAG 240
Gly Cys Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu
65 70 75 80

GCT AGG CAA GAA ACC TTG 258
Ala Arg Gln Glu Thr Leu
85

(i)配列の特色:

- (A)長さ：86アミノ酸
(B)型：アミノ酸

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(xi)配列：配列番号75：

```

Lys Ala Leu Phe Pro Gln Ser Asp Ala Thr Arg Lys Leu Thr Val Lys
 1             5             10             15

Met Ser Cys Cys Val Glu Lys Ser Val Thr Arg Phe Phe Ser Leu Gly
             20             25             30

Leu Thr Val Ala Asp Val Ala Ser Leu Cys Glu Met Glu Ile Gln Asn
             35             40             45

His Ile Ala Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val
             50             55             60

Gly Cys Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu
             65             70             75             80

Ala Arg Gln Glu Thr Leu
             85

```

10

(2)配列番号76の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：108塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：クローン Y5-25

(ix)配列の特徴：

(A)特徴を表す記号：CDS

(B)存在位置：1..108

(xi)配列：配列番号76：

```

ACC TAT TGT GAC AAG GTG CGC ACT CCG CTT GAA TTG CAG GTT GGG TGC      48
Thr Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val Gly Cys
 1             5             10             15

TTG GTG GGC AAT GAA CTT ACC TTT GAA TGT GAC AAG TGT GAG GCT AGG      96
Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu Ala Arg
             20             25             30

```

20

30

CAA GAA ACC TTG

108

Gln Glu Thr Leu

35

(2)配列番号77の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:36アミノ酸

(B)型:アミノ酸

(D)トポロジー:直鎖状

10

(ii)配列の種類:タンパク質

(xi)配列:配列番号77:

Thr Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val Gly Cys

1

5

10

15

Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu Ala Arg

20

25

30

Gln Glu Thr Leu

35

(2)配列番号78の情報:

20

(i)配列の特色:

(A)長さ:108塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:両形態

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:cDNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名:クローン Y5-20

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号:CDS

(B)存在位置:52..108

30

(xi)配列:配列番号78:

GCCGACACTA CTAAGGTGTA TGTACCAAT CCAGACAATG TGGGACGAAG G GTG GGC

57

Val Gly

1

AAT GAA CTT ACC TTT GAA TGT GAC AAG TGT GAG GCT AGG CAA GAA ACC

105

Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu Ala Arg Gln Glu Thr
 5 10 15

TTG
 Leu
 108

(2)配列番号79の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:19アミノ酸

(B)型:アミノ酸

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:タンパク質

(xi)配列:配列番号79:

Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu Ala Arg Gln
 1 5 10 15

Glu Thr Leu

(2)配列番号80の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:168塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:両形態

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:cDNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名:クローン Y5-16

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号:CDS

(B)存在位置:1..168

(xi)配列:配列番号80:

TTG GGG TTG ACG GTG GCT GAT GTT GCT AGC CTG TGT GAG ATG GAA ATC
 Leu Gly Leu Thr Val Ala Asp Val Ala Ser Leu Cys Glu Met Glu Ile
 1 5 10 15

CAG AAC CAT ACA GCC TAT TGT GAC AAG GTG CGC ACT CCG CTT GAA TTG
 Gln Asn His Thr Ala Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu
 20 25 30

CAG GTT GGG TGC TTG GTG GGC AAT GAA CTT ACC TTT GAA TGT GAC AAG
 144

Gln Val Gly Cys Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys
 35 40 45

TGT GAG GCT AGG CAA GAA ACC TTG 168
 Cys Glu Ala Arg Gln Glu Thr Leu
 50 55

(2)配列番号 8 1 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 56アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号 8 1:

Leu Gly Leu Thr Val Ala Asp Val Ala Ser Leu Cys Glu Met Glu Ile
 1 5 10 15

Gln Asn His Thr Ala Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu
 20 25 30

Gln Val Gly Cys Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys
 35 40 45

Cys Glu Ala Arg Gln Glu Thr Leu
 50 55

(2)配列番号 8 2 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 313塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: クローン Y5-50

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 1..313

(xi)配列: 配列番号 8 2:

ATC ACC GTC AAC CCC AAT GAG AAA AAG CGC GTG ACG CTC TTT TCA ACG 48
 Ile Thr Val Asn Pro Asn Glu Lys Lys Arg Val Thr Leu Phe Ser Thr

1	5	10	15	
CAG CAC GAC ATC TTG ACG GTA AGC TTC CTG GTC GCG TCG CTC TGT GGA	96			
Gln His Asp Ile Leu Thr Val Ser Phe Leu Val Ala Ser Leu Cys Gly				
20	25	30		
AAT AAG GCT TTT AAT ACG GAA AGA GCC ACG TTG AAG ACA CTT TCC TCC	144			
Asn Lys Ala Phe Asn Thr Glu Arg Ala Thr Leu Lys Thr Leu Ser Ser				
35	40	45		
CCT TCG GCT GTC TCG GAC TCT TGG ATG ACC TCG AAT GAG TCA GAG GAC	192			
Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp				
50	55	60		
GGG GTA TCC TCC TGC GAG GAG GAC ACC GAC GGG GTC TTC TCA TCT GAG	240			
Gly Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr Asp Gly Val Phe Ser Ser Glu				
65	70	75	80	
CTG CTC TCA GTA ACC GAG ATA AGT GCT GGC GAT GGA GTA CGG GGG ATG	288			
Leu Leu Ser Val Thr Glu Ile Ser Ala Gly Asp Gly Val Arg Gly Met				
85	90	95		
TCT TCT CCC CAT ACA GGC ATC TCT C	313			
Ser Ser Pro His Thr Gly Ile Ser				
100				

(2)配列番号83の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 104アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号83:

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

Gly Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr Asp Gly Val Phe Ser Ser Glu
65 70 75 80

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

Ser Ser Pro His Thr Gly Ile Ser
100

(2)配列番号84の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 89塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: クローン Y5-52

(ix)配列の特徴:

- (A)特徴を表す記号: CDS
- (B)存在位置: 28..87

(xi)配列: 配列番号84:

ACTGAGAGCA GCTCAGATGA GAAGACC CCT TCG GCT GTC TCG GAC TCT TGG 51
Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp

1 5

ATG ACC TCG AAT GAG TCA GAG GAC GGG GTA TCC TCG CA 89

Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp Gly Val Ser Ser
10 15 20

(2)配列番号85の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 20アミノ酸
- (B)型: アミノ酸
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号85:

Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp
1 5 10 15

Gly Val Ser Ser
20

(2)配列番号86の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 214塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: クローン Y5-53

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 1..100

(xi)配列: 配列番号86:

AAT AAG GCT TTT AAT ACG GAA AGA GCC ACG TTG AAG ACA CTT TCC TCC 48
 Asn Lys Ala Phe Asn Thr Glu Arg Ala Thr Leu Lys Thr Leu Ser Ser
 1 5 10 15

CCT TCG GCT GTC TCG GAC TCT TGG ATG ACC TCG AAT GAG TCA GAG GAC 96
 Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp
 20 25 30

GGG G ATCTCTAGAT GCGAATTCAA GTGTGAGGCT AGGCAAGAAA CCTTGGCCTC 150
 Gly

CTTCTCTTAC ATTTGGTCTG GAGTGCCGCT GACTAGGGCC ACGCCGGCCA AGCCTCCCGT 210

GGTG 214

(2)配列番号87の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 33アミノ酸
- (B)型: アミノ酸
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号87:

Asn Lys Ala Phe Asn Thr Glu Arg Ala Thr Leu Lys Thr Leu Ser Ser
 1 5 10 15

Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp
 20 25 30

Gly

(2)配列番号 88 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 113塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: クローン Y5-55

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 52..113

(xi)配列: 配列番号 88:

CCATCGCCAG CACTTATCTC GGTACTGAG AGCAGCTCAG ATCAGAAGAC C CCT TCG 57
 Pro Ser
 1

GCT GTC TCG GAC TCT TGG ATG ACC TCG AAT GAG TCA GAG GAC GGG GTA 105
 Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp Gly Val
 5 10 15

TCC TCG CA 113
 Ser Ser
 20

(2)配列番号 89 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 20アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号 89:

Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp
 1 5 10 15

Gly Val Ser Ser
20

(2)配列番号90の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 330塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: クローン Y5-56

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 1..330

(xi)配列: 配列番号90:

ACG TTG AAG ACA CTT TCC TCC CCT TCG GCT GTC TCG GAC TCT TGG ATG 48
Thr Leu Lys Thr Leu Ser Ser Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met
1 5 10 15

ACC TCG AAT GAG TCA GAG GAC GGG GTA TCC TCC TGC GAG GAG GAC ACC 96
Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp Gly Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr
20 25 30

GAC GGG GTC TTC TCA TCT GAG CTG CTC TCA GTA ACC GAG ATA AGT GCT 144
Asp Gly Val Phe Ser Ser Glu Leu Leu Ser Val Thr Glu Ile Ser Ala
35 40 45

GGC GAT GGA GTA CGG GGG ATG TCT TCT CCC CAT ACA GGC ATC TCT CGG 192
Gly Asp Gly Val Arg Gly Met Ser Ser Pro His Thr Gly Ile Ser Arg
50 55 60

CTA CTA CCA CAA AGA GAG GGT GTA CTG CAG TCC TCC ATG ATG ACA TCA 240
Leu Leu Pro Gln Arg Glu Gly Val Leu Gln Ser Ser Met Met Thr Ser
65 70 75 80

ATG TGC GGT TCA AGA ATC CTC GCA GCA TTC TCG ATC GCT TGG AGA GCA 288
Met Cys Gly Ser Arg Ile Leu Ala Ala Phe Ser Ile Ala Trp Arg Ala
85 90 95

GCA GCC GCC GGC GGC AGA TCG GCC TCA GTC AGT TCT GAG TCT 330
 Ala Ala Ala Gly Gly Arg Ser Ala Ser Val Ser Ser Glu Ser
 100 105 110

(2)配列番号 9 1 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 110アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号 9 1:

Thr Leu Lys Thr Leu Ser Ser Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met
 1 5 10 15

Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp Gly Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr
 20 25 30

Asp Gly Val Phe Ser Ser Glu Leu Leu Ser Val Thr Glu Ile Ser Ala
 35 40 45

Gly Asp Gly Val Arg Gly Met Ser Ser Pro His Thr Gly Ile Ser Arg
 50 55 60

Leu Leu Pro Gln Arg Glu Gly Val Leu Gln Ser Ser Met Met Thr Ser
 65 70 75 80

Met Cys Gly Ser Arg Ile Leu Ala Ala Phe Ser Ile Ala Trp Arg Ala
 85 90 95

Ala Ala Ala Gly Gly Arg Ser Ala Ser Val Ser Ser Glu Ser
 100 105 110

(2)配列番号 9 2 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 195塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：クローン Y5-57

(ix)配列の特徴：

(A)特徴を表す記号：CDS

(B)存在位置：1..195

(xi)配列：配列番号 9 2：

ACG GAA AGA GCC ACG TTG AAG ACA CTT TCC TCC CCT TCG GCT GCC TCG	48
Thr Glu Arg Ala Thr Leu Lys Thr Leu Ser Ser Pro Ser Ala Ala Ser	
1 5 10 15	
GAC TCT TGG ATG ACC TCG AAT GAG TCG GAG GAC GGG GTA TCC TCC TGC	96
Asp Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp Gly Val Ser Ser Cys	
20 25 30	
GAA GAG GAC ACC GAC GGG GTC TTC TCA TCT GAG CTG CTC TCA GTA ACC	144
Glu Glu Asp Thr Asp Gly Val Phe Ser Ser Glu Leu Leu Ser Val Thr	
35 40 45	
GAG ATA AGT GCT GGC GGT GGA GTA CGG GGG ATG TCT TCT CCC CAT ACG	192
Glu Ile Ser Ala Gly Gly Gly Val Arg Gly Met Ser Ser Pro His Thr	
50 55 60	
GGC	195
Gly	
65	

10

20

(2)配列番号 9 3 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：65アミノ酸

(B)型：アミノ酸

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(xi)配列：配列番号 9 3：

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

30

Glu Ile Ser Ala Gly Gly Gly Val Arg Gly Met Ser Ser Pro His Thr
 50 55 60

Gly
 65

(2)配列番号94の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 115塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: クローン Y5-60

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 1..115

(xi)配列: 配列番号94:

AAG ACA CTT TCC TCC CCT TCG GCT GTC TCG GAC TCT TGG ATG ACC TCG 48
 Lys Thr Leu Ser Ser Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser
 1 5 10 15

AAT GAG TCA GAG GAC GGG GTA TCC TCC TGC GAG GAG GAC ACC GAC TGG 96
 Asn Glu Ser Glu Asp Gly Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr Asp Trp
 20 25 30

GTC TTC TCA TCT GAG CTG C 115
 Val Phe Ser Ser Glu Leu
 35

(2)配列番号95の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 38アミノ酸
- (B)型: アミノ酸
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号95:

Lys Thr Leu Ser Ser Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser
 1 5 10 15

Asn Glu Ser Glu Asp Gly Val Ser Ser Cys Glu Glu Asp Thr Asp Trp
 20 25 30

Val Phe Ser Ser Glu Leu
 35

(2)配列番号 9 6 の情報：

(i)配列の特色：

- (A)長さ：93塩基対
- (B)型：核酸
- (C)鎖の数：両形態
- (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイポセチカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：クローン Y5-63

(ix)配列の特徴：

(A)特徴を表す記号：CDS

(B)存在位置：19..93

(xi)配列：配列番号 9 6：

GAGAGCAGCT CAGATGAG AAG ACA CTT TCC TCC CCT TCG GCT GTC TCG GAC 51
 Lys Thr Leu Ser Ser Pro Ser Ala Val Ser Asp
 1 5 10

TCT TGG ATG ACC TCG AAT GAG TCA GAG GAC GGG GTA TCC TCG 93
 Ser Trp Met Thr Ser Asn Glu Ser Glu Asp Gly Val Ser Ser
 15 20 25

(2)配列番号 9 7 の情報：

(i)配列の特色：

- (A)長さ：25アミノ酸
- (B)型：アミノ酸
- (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(xi)配列：配列番号 9 7：

Lys Thr Leu Ser Ser Pro Ser Ala Val Ser Asp Ser Trp Met Thr Ser
 1 5 10 15

Asn Glu Ser Glu Asp Gly Val Ser Ser
20 25

(2)配列番号 9 8 の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 1181塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 8E3

(xi)配列: 配列番号 9 8:

```

GCTGGCTGAG GCACGGTTGG TCCGCTGAT CTTGCTGCTG CTATGGTGGT GGGTGAACCA    60
GCTGGCAGTC CTAGGGCTGC CGGCTGTGGA AGCCGCCCTG GCAGGTGAGG TCTTCGCGGG    120
CCCTGCCCTG TCCTGGTGTC TGGGACTCCC GGTCTCAGT ATGATATTGG GTTTGGCAAA    180
CCTGGTGCTG TACTTTAGAT GGTGGGACC CCAACGCCTG ATGTTCTCTG TGTGTGGAA    240
GCTTGCTCGG GGAGCTTTCC CGCTGGCCCT CTTGATGGGG ATTCGGCGA CCCGCGGGCG    300
CACCTCAGTG CTCGGGGCCG AGTTCTGCTT CGATGCTACA TTCGAGGTGG AACTTCGGT    360
GTTGGGCTGG GTGGTGGCCA GTGTGGTAGC TTGGGCCATT GCGCTCCTGA GCTCGATGAG    420
CGCAGGGGGG TGGAGGCACA AAGCCGTGAT CTATAGGACG TGGTGTAAGG GGTACCAGGC    480
AATCCGTCAA AGGGTGGTGA GGAGCCCCCT CGGGGAGGGG CGGCCTGCCA AACCCTGAC    540
CTTTGCCCTG TGCTTGGCCT CGTACATCTG GCCAGATGCT GTGATGATGG TGGTGGTTGC    600
CTTGGTCCTT CTCTTTGGCC TGTTGACGCG GTTGGATGG GCCTTGGAGG AGATCTTGGT    660
GTCCCGGCC TCCTTGGCGC GTTTGGCTCG GGTGGTTGAG TGCTGTGTGA TGGCGGGTGA    720
GAAGGCCACA ACCGTCCGGC TGGTCTCCAA GATGTGTGCG AGAGGAGCTT ATTTGTTTGA    780
TCATATGGGC TCTTTTCGCG GTGCTGTCAA GGAGCGCCTG TTGGAATGGG ACGCAGCTCT    840
TGAACCTCTG TCATTCACTA GGACGGACTG TCGCATCATA CGGGATGCCG CGAGGACTTT    900

```

10

20

30

GTCTGCGGG CAGTGCCTCA TGGGTTTACC CGTGGTTGCG CGCCGTGGTG ATGAGGTTCT 960
 CATCGGCGTC TTCCAGGATG TGAATCATTT GCCTCCCGGG TTTGTTCCGA CCGCGCCTGT 1020
 TGTCACTCCA CGGTGCGGAA AGGGCTTCTT GGGGGTCACA AAGGCTGCCT TGACAGGTCG 1080
 GGATCCTGAC TTACATCCAG GGAACGTCAT GGTGTGGGG ACGGCTACGT CGCGAAGCAT 1140
 GGGAACATGC TTGAACGGCC TGCTGTTTAC GACCTTCCAT G 1181

10

(2)配列番号99の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 30塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー Y5-10-F1

(xi)配列: 配列番号99:

TCAGCCATGG CTCGTGCGCC CGCGATGGTC 30

20

(2)配列番号100の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 27塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー Y5-10-R1

(xi)配列: 配列番号100:

CGAGGATCCA GCCGCCGGCG GCAGATC 27

30

(2)配列番号101の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 32塩基対
- (B)型: 核酸

- (C)鎖の数：両形態
- (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー Y5-16F1
- (xi)配列：配列番号 1 0 1：

10

GATTCCATGG GTTTGGGGTT GACGGTGGCT GA

32

(2)配列番号 1 0 2 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：32塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：両形態
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー 470EP-R3
- (xi)配列：配列番号 1 0 2：

20

GCGAATTCGG ATCCCAAGGT TTCTTGCCTA GC

32

(2)配列番号 1 0 3 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：27塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：両形態
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー Y5-5-F1
- (xi)配列：配列番号 1 0 3：

30

GAGGCCATGG CCTATTGTGA CAAGGTG

27

(2)配列番号 1 0 4 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：17塩基対

- (B)型：核酸
 (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：プライマー PGEX-R
 (xi)配列：配列番号104：

10

GACCGTCTCC GGGAGCT

17

(2)配列番号105の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：326塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：クローン GE15
 (ix)配列の特徴：
 (A)特徴を表す記号：CDS
 (B)存在位置：3..326
 (xi)配列：配列番号105：

20

CC ATG GAG GTC TCT GAC TTC CGT GGC TCG TCT GGC TCA CCG GTC CTA 47
 Met Glu Val Ser Asp Phe Arg Gly Ser Ser Gly Ser Pro Val Leu
 1 5 10 15

TGT GAC GAA GGG CAC GCA GTA GGA ATG CTC GTG TCT GTG CTT CAC TCC 95
 Cys Asp Glu Gly His Ala Val Gly Met Leu Val Ser Val Leu His Ser
 20 25 30

30

GGT GGT AGG GTC ACC GCG GCA CGG TTC ACT AGG CCG TGG ACC CAA GTG 143
 Gly Gly Arg Val Thr Ala Ala Arg Phe Thr Arg Pro Trp Thr Gln Val
 35 40 45

CCA ACA GAT GCC AAA ACC ACC ACT GAA CCC CCT CCG GTG CCG GCC AAA 191
 Pro Thr Asp Ala Lys Thr Thr Thr Glu Pro Pro Pro Val Pro Ala Lys
 50 55 60

GGA GTT TTC AAA GAG GCC CCG TTG TTT ATG CCT ACG GGA GCG GGA AAG 239
 Gly Val Phe Lys Glu Ala Pro Leu Phe Met Pro Thr Gly Ala Gly Lys
 65 70 75

AGC ACT CGC GTC CCG TTG GAG TAC GGC AAC ATG GGG CAC AAG GTC TTA 287
 Ser Thr Arg Val Pro Leu Glu Tyr Gly Asn Met Gly His Lys Val Leu
 80 85 90 95

ATC TTG AAC CCC TCA GTG GCC ACT GTG CCG GCG ATG GGC 326
 Ile Leu Asn Pro Ser Val Ala Thr Val Arg Ala Met Gly
 100 105

10

(2)配列番号106の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:108アミノ酸

(B)型:アミノ酸

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:タンパク質

(xi)配列:配列番号106:

Met Glu Val Ser Asp Phe Arg Gly Ser Ser Gly Ser Pro Val Leu Cys
 1 5 10 15

Asp Glu Gly His Ala Val Gly Met Leu Val Ser Val Leu His Ser Gly
 20 25 30

Gly Arg Val Thr Ala Ala Arg Phe Thr Arg Pro Trp Thr Gln Val Pro
 35 40 45

Thr Asp Ala Lys Thr Thr Thr Glu Pro Pro Pro Val Pro Ala Lys Gly
 50 55 60

Val Phe Lys Glu Ala Pro Leu Phe Met Pro Thr Gly Ala Gly Lys Ser
 65 70 75 80

Thr Arg Val Pro Leu Glu Tyr Gly Asn Met Gly His Lys Val Leu Ile
 85 90 95

Leu Asn Pro Ser Val Ala Thr Val Arg Ala Met Gly
 100 105

20

30

(2)配列番号107の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:138塩基対

(B)型:核酸

- (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：クローン GE17
 (ix)配列の特徴：
 (A)特徴を表す記号：CDS
 (B)存在位置：1..138
 (xi)配列：配列番号107：

```

GGT GAT GAG GTT CTC ATC GGC GTC TTC CAG GAT GTG AAT CAT TTG CCT      48
Gly Asp Glu Val Leu Ile Gly Val Phe Gln Asp Val Asn His Leu Pro
  1             5             10             15

CCC GGG TTT GTT CCG ACC GCG CCT GTT GTC ATC CGA CGG TGC GGA AAG      96
Pro Gly Phe Val Pro Thr Ala Pro Val Val Ile Arg Arg Cys Gly Lys
          20             25             30

GGC TTC TTG GGG GTC ACA AAG GCT GCC TTG ACA GGT CGG GAT      138
Gly Phe Leu Gly Val Thr Lys Ala Ala Leu Thr Gly Arg Asp
  35             40             45

```

10

20

(2)配列番号108の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：46アミノ酸
 (B)型：アミノ酸
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：タンパク質
 (xi)配列：配列番号108：

```

Gly Asp Glu Val Leu Ile Gly Val Phe Gln Asp Val Asn His Leu Pro
  1             5             10             15

Pro Gly Phe Val Pro Thr Ala Pro Val Val Ile Arg Arg Cys Gly Lys
          20             25             30

Gly Phe Leu Gly Val Thr Lys Ala Ala Leu Thr Gly Arg Asp
  35             40             45

```

30

(2)配列番号109の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 395塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 9E3

(xi)配列: 配列番号109:

```

TGATTATTGTC CTGTTATACC TGATGAAGCT GGCTGAGGCA CGGTTGGTCC CGCTGATCTT      60
GCTGCTGCTA TGGTGGTGGG TGAACCAGCT GGCAGTCCTA GGGCTGCCGG CTGTGGAAGC      120
CGCCGTGGCA GGTGAGGTCT TCGCGGGCCC TGCCCTGTCC TGGTGTCTGG GACTCCCGGT      180
CGICAGTATG ATATTGGGTT TGGCAAACCT AGTGCTGTAC TTTAGATGGT TGGGACCCCA      240
ACGCCCTGAIG TTCCICGTGT TGTGGAAGCT TGCTCGGGGA GCTITCCCGC TGGCCCTCTT      300
GATGGGGATI TCGGCGACCC GCGGGCGCAC CTCAGTGCTC GGGGCCGAGT TCTGCTTCGA      360
TGCTACATTG GAGGTGGACA CTTCCGTGTT GGGCT      395

```

10

20

(2)配列番号110の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 460塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 10E3

(xi)配列: 配列番号110:

```

GCCCTTGGGC AACCAGGGCC GAGGCAACCC GGTGCGGTCT CCCTTGGGTT TTGGGTCCTA      60
CGCCATGACC AGGATCCGAG ATACCCTACA TCTGGTGGAG TGTCACACAC CAGCCATTGA      120

```

30

GCCTCCCACC GGGACGTTTG GGTTCCTCCC CGGGACGCCG CCTCTCAACA ACTGCATGCT 180
 CTTGGGCACG GAAGTGTCGG AGGCACTTGG GGGGGCTGGC CTCACGGGGG GGTTCATGA 240
 ACCCCTGGTG CGCAGGTGTT CGAAGCTGAT GGAAGCCGA AATCCGGTTT GTCCGGGGTT 300
 TGCATGGCTC TCTTCGGGCA GGCCTGATGG GTTATACAT GTCCAGGGTC ACTTGAGGA 360
 GGTGGATGCA GGCAACTTCA TCCCGCCCCC GCGCTGGTTG CTCTTGGACT TTGTATTGT 420
 CCTGTATATC CTGATGAAGC TGGCTGAGGC ACGGTTGGTC 460

10

(2)配列番号1 1 1の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 28塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GE15F

(xi)配列: 配列番号1 1 1:

GCCGCCATGG AGGTCTCTGA CTTCCGTG 28

20

(2)配列番号1 1 2の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 31塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GE15R

(xi)配列: 配列番号1 1 2:

GCGCGGATCC GCCCATCGCC CGCACAGTGG C 31

30

(2)配列番号1 1 3の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ：31塩基対
- (B)型：核酸
- (C)鎖の数：両形態
- (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー GE17F
- (xi)配列：配列番号 1 1 3：

10

CGCTCCATGG GTGATGAGGT TCTCATCGGC G

31

(2)配列番号 1 1 4 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：28塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：両形態
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー GE17R
- (xi)配列：配列番号 1 1 4：

20

GTAAGTCAGG ATCCCGACCT GTCAAGGC

28

(2)配列番号 1 1 5 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：452塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：二本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：cDNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：pGEX-HISb-GE3-s HGV プラスミドのフラグメントを含むNcoI/EcoRI
- (xi)配列：配列番号 1 1 5：

30

CAAAATCGGA TCTGGTTCCG CGTGGTTCCA TGGTCTCATG GGACGCGGAC GCTCGTGGCG

60

CCGCGATGGT CTATGGCCCT GGGCAAAGTG TTACCATTGA CGGGGAGCGC TACACCTTGC 120
 CTCATCAACT GAGGCTCAGG AATGTGGCAC CCTCTGAGGT TTCATCCGAG GTGTCCATTG 180
 ACATTGGGAC GGAGACTGAA GACTCAGAAC TGACTGAGGC CGATCTGCCG CCGGCGGGCTG 240
 CTGCTCTCCA AGCGATCGAG AATGCTGCGA GGATTCTTGA ACCGCACATT GATGTCATCA 300
 TGGAGGACTG CAGTACACCC TCTCTTTGTG GTAGTAGCCG AGAGATGCCT GTATGGGGAG 360
 AAGACATCCC CCGTACTCCA TCGCCAGCAC TTATCGGATC CCACCATCAC CATCACCATT 420
 AGAATTCATC GTGACTGACT GACGATCTAC CT 452

10

(2)配列番号116の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 590塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 11E3

(xi)配列: 配列番号116:

AGCAATCGGC TGGGGTGACC CCATCACTTA TTGGAGCCAC GGGCAAAATC AGTGGCCCCT 60
 TTCATGCCCC CAGTATGTCT ATGGGTCTGC TACAGTCACT TGCCTGTGGG GTTCCGCTTC 120
 TTGGTTTGCC TCCACCAGTG GTCGCGACTC GAAGATAGAT GTGTGGAGTT TAGTGCCAGT 180
 TGGCTCTGCC ACCTGCACCA TAGCCGCACT TGGATCATCG GATCGCGACA CGGTGCCTGG 240
 GCTCTCCGAG TGGGGAATCC CGTGCCTGAC GTGTGTTCTG GACCGTCGGC CTGCCTCCTG 300
 CGGCACCTGT GTGAGGGACT GCTGGCCCGA GACCGGGTCG GTTAGGTTCC CATTCCATCG 360
 GTGCGGCGTG GGGCCTCGGC TGACAAAGGA CTTGGAAGCT GTGCCCTTCG TCAACAGGAC 420
 AACTCCCTTC ACCATTAGGG GGCCCTGGG CAACCAGGCG CGAGGCAACC CGGTGCGGTC 480
 GCCCTTGGGT TTTGGGTCTC ACGCCATGAC CAGGATCCGA GATACCCTAC ATCTGGTGGA 540

20

30

GTGTCCACCA CCAGCCATCG AGCCTCCCAC CGGGACGTTT GGGTTCCTCC

590

(2)配列番号117の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 29塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

10

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プローブ E3-111PROB

(xi)配列: 配列番号117:

TGGTGAAGGG AGTTGTCCTA TTGACGAAG

29

(2)配列番号118の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 735塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

20

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 12E3

(xi)配列: 配列番号118:

ATTGTTGTGC CCCGGAGGAC ATCGGGTTCT GCCTGGAGGG TGGATGCCTG GTGGCCCTGG

60

GGTGACGAT TTGCACTGAC CAATGCTGGC CACTGTATCA GGCGGGTTTG GCTGTGCGGC

120

CTGGCAAGTC CGCGGCCCAA CTGGTGGGGG AGCTGGGTAG CCTATACGGG CCCCTGTCGG

180

TCTCGGCCTA TGTGGCTGGG ATCCTGGGCC TGGGTGAGGT GTACTCGGGT GTCCTAACGG

240

TGGGAGTCGC GTTGACGCGC CGGGTCTACC CGGTGCCTAA CCTGACGTGT GCAGTCGCGT

300

GTCAGCTAAA GTGGGAAAGT GAGTTTGGGA GATGGACTGA ACAGCTGGCC TCCAACTACT

360

GGATTCTGGA ATACCTCTGG AAGGTCCCAT TTGATTCTG GAGAGGCGTG ATAAGCCTGA

420

30

CCCCCTTGTT GGTTCGCTG GCCGCATTGC TGCTGCTTGA GCAACGGATT GTCATGGTCT 480
 TCCTGTGGT GACGATGGCC GGGATGTCGC AAGGCGCCCC TGCCTCCGTT TTGGGGTCAC 540
 GCCCCCTTGA CTACGGGTTG ACTTGGCAGA CCTGCTCTTG CAGGGCCAAC GGTCGCGTT 600
 TTTCGACIGG GGAGAAGGTG TGGGACCGTG GGAACGTTAC GCTTCAGTGT GACTGCCCTA 660
 ACGGCCCCCTG GGTGTGGTTG CCAGCCTTTT GCCAAGCAAT CGGCTGGGGT GACCCCATCA 720
 CTTATTGGAG CCACG 735

10

(2)配列番号119の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 22塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー 470EXT4-2189R

(xi)配列: 配列番号119:

ATCTGTGGTA TGCCATCCCG GT

22

20

(2)配列番号120の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 23塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー 470EXT4-29F

(xi)配列: 配列番号120:

GTTATGCTAC TGTCGAAGCA GGT

23

30

(2)配列番号121の情報:

278

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：24塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：NS5 プライマー GV57-4512 MF
 (xi)配列：配列番号 1 2 1：

10

GGACTTCCGG ATAGCTGARA AGCT

24

(2)配列番号 1 2 2 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：20塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：NS5 プライマー GV57-4657 MR
 (xi)配列：配列番号 1 2 2：

20

GCRTCCACAC AGATGGCGCA

20

(2)配列番号 1 2 3 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：28塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：NS5 プローブ GV22dc-89 MF
 (xi)配列：配列番号 1 2 3：

30

CYCGCTGRTT TGGGGTGTAC TGGAAAGGC

28

(2)配列番号124の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 31塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 5'-UTR プライマー FV94-22F

(xi)配列: 配列番号124:

GAAAGCCCCA GAAACCGACG CCTATCTAAG T

31

10

(2)配列番号125の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 26塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 5'-UTR プライマー FV94-724R

(xi)配列: 配列番号125:

GCACAGCCAA ACCCGCCTGA TACAGT

26

20

(2)配列番号126の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 28塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 5'-UTR プライマー FV94-94F

(xi)配列: 配列番号126:

30

GTGGTGGATG GGTGATGACA GGGTTGGT

28

(2)配列番号127の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 29塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 5'-UTR プライマー FV94-912R

(xi)配列: 配列番号127:

10

TAACTCACAC GCGACTGCAC ACGTCAGGT

29

(2)配列番号128の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 30塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: ENV ライブラリープライマー GEP-F15

(xi)配列: 配列番号128:

20

GCGGCCATGG TGCCCTTCGT CAATAGGACA

30

(2)配列番号129の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 29塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: ENV ライブラリープライマー GEP-R15

30

(xi)配列：配列番号 1 2 9：

CTTGCCATGG CCAGCTGGTT CACCCACCA

29

(2)配列番号 1 3 0 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：30塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

10

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー GEP-F17

(xi)配列：配列番号 1 3 0：

GCAGGATCCC CTCTGGAAGG TCCCATTGA

30

(2)配列番号 1 3 1 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：27塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

20

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー GEP-R16

(xi)配列：配列番号 1 3 1：

TGCGAATCCT CGGCCCTGGT TGCCCAG

27

(2)配列番号 1 3 2 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：30塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

30

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

- (C) 個体・単離生物名：プライマー 470ep-F9
 (xi) 配列：配列番号 1 3 2：

GCTAGATCTG GCAACATGGG GCACAAGGTC

30

- (2) 配列番号 1 3 3 の情報：

- (i) 配列の特色：

(A) 長さ：30塩基対

(B) 型：核酸

(C) 鎖の数：両形態

(D) トポロジー：直鎖状

10

- (ii) 配列の種類：DNA

- (iii) ハイボセティカル：NO

- (iv) アンチセンス：NO

- (vi) 起源：

(C) 個体・単離生物名：プライマー 470ep-R9

- (xi) 配列：配列番号 1 3 3：

CACAGATCTC GCGTAGTAGT AGCGTCCAGA

30

- (2) 配列番号 1 3 4 の情報：

- (i) 配列の特色：

(A) 長さ：38塩基対

(B) 型：核酸

(C) 鎖の数：両形態

(D) トポロジー：直鎖状

20

- (ii) 配列の種類：DNA

- (iii) ハイボセティカル：NO

- (iv) アンチセンス：NO

- (vi) 起源：

(C) 個体・単離生物名：Race PCRのためのAP プライマー

- (xi) 配列：配列番号 1 3 4：

CTGGTTCGGC CCACCTCTGA AGGTTCCAGA ATCGATAG

38

- (2) 配列番号 1 3 5 の情報：

- (i) 配列の特色：

(A) 長さ：30塩基対

(B) 型：核酸

(C) 鎖の数：両形態

(D) トポロジー：直鎖状

30

- (ii) 配列の種類：DNA

- (iii) ハイボセティカル：NO

- (iv) アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー GEP-F10

(xi)配列：配列番号 1 3 5：

GCTGGATCCA GCATGGGAAC ATGCTTGAAC

30

(2)配列番号 1 3 6 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：30塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー GEP-R10

(xi)配列：配列番号 1 3 6：

CGCGGATCCC ACAGTGGCCA CTGAGGGGTT

30

(2)配列番号 1 3 7 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：27塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー EXY10-F1

(xi)配列：配列番号 1 3 7：

GCCCATATGG TGATCACTGG TGACGTT

27

(2)配列番号 1 3 8 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：24塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

10

20

30

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー EXY10-F2

(xi)配列：配列番号 1 3 8：

GCCCATATGC TGGGTTACGG TGAA

24

(2)配列番号 1 3 9 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：27塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイポセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー EXY10-F3

(xi)配列：配列番号 1 3 9：

GCCCATATGA CCTCCGCCTA TAAGCTG

27

(2)配列番号 1 4 0 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：27塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイポセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー EXY10-R1

(xi)配列：配列番号 1 4 0：

GCCCATATGA GCCGCCGCG GCAGATC

27

(2)配列番号 1 4 1 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：24塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

- (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：プライマー EXY5-R1
 (xi)配列：配列番号 1 4 1：

TGCGGATCCC ACATTGTCTG GATT

24

(2)配列番号 1 4 2 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：27塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：プライマー Y5-5-F1
 (xi)配列：配列番号 1 4 2：

TCGGCCATGG CCTATTGTGA CAAGGTG

27

(2)配列番号 1 4 3 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：219塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：両形態
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：抗原クローン Q7-12-1

(ix)配列の特徴：

- (A)特徴を表す記号：CDS
 (B)存在位置：1..219

(xi)配列：配列番号 1 4 3：

GTG CCC TTC GTC AAT AGG ACA ACT CTC TTC ACC ATT AGG GGG CCC CTG
 Val Pro Phe Val Asn Arg Thr Thr Leu Phe Thr Ile Arg Gly Pro Leu
 1 5 10 15

48

GGC AAC CAG GGC CGA GGC AAC CCG GTG CGG TCG CCC TTG GGT TTT GGG

96

Gly Asn Gln Gly Arg Gly Asn Pro Val Arg Ser Pro Leu Gly Phe Gly
 20 25 30

TCC TAC GCC ATG ACC AGG ATC CGA GAT ACC CTA CAT CTG GTG GAG TGT 144
 Ser Tyr Ala Met Thr Arg Ile Arg Asp Thr Leu His Leu Val Glu Cys
 35 40 45

CCG ACA CCA GCC ATC GAG CCT CCC ACC GGG ACG TCT GGG TTC TTC CCC 192
 Pro Thr Pro Ala Ile Glu Pro Pro Thr Gly Thr Ser Gly Phe Phe Pro
 50 55 60

GGG ACG CCG CCT CTC AAC AGC TGC ATG 219
 Gly Thr Pro Pro Leu Asn Ser Cys Met
 65 70

10

(2)配列番号144の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 73アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号144:

20

Val Pro Phe Val Asn Arg Thr Thr Leu Phe Thr Ile Arg Gly Pro Leu
 1 5 10 15

Gly Asn Gln Gly Arg Gly Asn Pro Val Arg Ser Pro Leu Gly Phe Gly
 20 25 30

Ser Tyr Ala Met Thr Arg Ile Arg Asp Thr Leu His Leu Val Glu Cys
 35 40 45

Pro Thr Pro Ala Ile Glu Pro Pro Thr Gly Thr Ser Gly Phe Phe Pro
 50 55 60

Gly Thr Pro Pro Leu Asn Ser Cys Met
 65 70

30

(2)配列番号145の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 264塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

- (ii)配列の種類：cDNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：抗原クローン Y12-10-3
 (ix)配列の特徴：
 (A)特徴を表す記号：CDS
 (B)存在位置：1..264
 (xi)配列：配列番号145：

10

CCC CTC GAG CGG ATG CGA ACC GGA AGG CAC CTC GTG TTC TGC CAT TCT	48
Pro Leu Glu Arg Met Arg Thr Gly Arg His Leu Val Phe Cys His Ser	
1 5 10 15	
AAG GCT GAG TGC GAG CGC CTT GCT GGC CAG TTC TCC GCT AGG GGG GTC	96
Lys Ala Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Gln Phe Ser Ala Arg Gly Val	
20 25 30	
AAT GCC ATT GCC TAT TAT AGG GGT AAA GAC AGC TCT ATC ATC AAG GAT	144
Asn Ala Ile Ala Tyr Tyr Arg Gly Lys Asp Ser Ser Ile Ile Lys Asp	
35 40 45	
GGG GAC CTG GTG GTC TGT GCT ACA GAC GCG CTT TCC ACT GGG TAC ACT	192
Gly Asp Leu Val Val Cys Ala Thr Asp Ala Leu Ser Thr Gly Tyr Thr	
50 55 60	
GGA AAT TTC GAC TCC GTC ACC GAC TGT GGA TTA GTG GTG GAG GAG GTC	240
Gly Asn Phe Asp Ser Val Thr Asp Cys Gly Leu Val Val Glu Glu Val	
65 70 75 80	
GTT GAG GTG ACC CTT GAT CCC ACC	264
Val Glu Val Thr Leu Asp Pro Thr	
85	

20

- (2)配列番号146の情報：

30

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：88アミノ酸
 (B)型：アミノ酸
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：タンパク質
 (xi)配列：配列番号146：

Pro Leu Glu Arg Met Arg Thr Gly Arg His Leu Val Phe Cys His Ser
 1 5 10 15
 Lys Ala Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Gln Phe Ser Ala Arg Gly Val
 20 25 30
 Asn Ala Ile Ala Tyr Tyr Arg Gly Lys Asp Ser Ser Ile Ile Lys Asp
 35 40 45
 Gly Asp Leu Val Val Cys Ala Thr Asp Ala Leu Ser Thr Gly Tyr Thr
 50 55 60
 Gly Asn Phe Asp Ser Val Thr Asp Cys Gly Leu Val Val Glu Glu Val
 65 70 75 80
 Val Glu Val Thr Leu Asp Pro Thr
 85

(2)配列番号147の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 205塩基対
 (B)型: 核酸
 (C)鎖の数: 両形態
 (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 抗原クローン Y12-15-1

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 1..205

(xi)配列: 配列番号147:

GCT AGA TCT GGC AAC ATG GGG CAC AAG GTC TTA ATC TTG AAC CCC TCA 48
 Ala Arg Ser Gly Asn Met Gly His Lys Val Leu Ile Leu Asn Pro Ser
 1 5 10 15
 GTG GCC ACT GTG CGG GCC ATG GGC CCG TAC ATG GAG CGG CTG GCG GGT 96
 Val Ala Thr Val Arg Ala Met Gly Pro Tyr Met Glu Arg Leu Ala Gly
 20 25 30
 AAA CAT CCA AGT ATA TAC TGT GGG CAT GAT ACA ACT GCT TTC ACA AGG 144
 Lys His Pro Ser Ile Tyr Cys Gly His Asp Thr Thr Ala Phe Thr Arg
 35 40 45

ATC ACT GAC TCC CCC CTG ACG TAT TCA ACC TAT GGG AGG TTT TTG GCC 192
 Ile Thr Asp Ser Pro Leu Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly Arg Phe Leu Ala
 50 55 60

AAC CCT AGG CAG A 205
 Asn Pro Arg Gln
 65

(2)配列番号148の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 68アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号148:

Ala Arg Ser Gly Asn Met Gly His Lys Val Leu Ile Leu Asn Pro Ser
 1 5 10 15

Val Ala Thr Val Arg Ala Met Gly Pro Tyr Met Glu Arg Leu Ala Gly
 20 25 30

Lys His Pro Ser Ile Tyr Cys Gly His Asp Thr Thr Ala Phe Thr Arg
 35 40 45

Ile Thr Asp Ser Pro Leu Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly Arg Phe Leu Ala
 50 55 60

Asn Pro Arg Gln
 65

(2)配列番号149の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 32塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GE4F

(xi)配列：配列番号 1 4 9：

GCCGCCATGG CTCTCCAAGC GATCGAGAAT GC

32

(2)配列番号 1 5 0 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：31塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

10

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー GE4R

(xi)配列：配列番号 1 5 0：

GCGCGGATCC CAACCCCAAT GAGAAAAAGC G

31

(2)配列番号 1 5 1 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：23塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

20

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー 470EXP3F

(xi)配列：配列番号 1 5 1：

CCGCCATGGG ACGCGGACGC TCG

23

(2)配列番号 1 5 2 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：28塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

30

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー 470EXP3R
 (xi)配列：配列番号 1 5 2：

CGCGGATCCT TACTGTCTTA TTGCTTCC

28

(2)配列番号 1 5 3 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：34塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイポセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー FV94-2888F

(xi)配列：配列番号 1 5 3：

GCGGAATTCT TGGCTCGGGT GGTGAGTGC TGTG

34

(2)配列番号 1 5 4 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：32塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイポセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー FV94-3216R

(xi)配列：配列番号 1 5 4：

GCGAAGCTTC CGICGGATGA CAACAGGCGC GG

32

(2)配列番号 1 5 5 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：36塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイポセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

10

20

30

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー FV94-6521F

(xi)配列: 配列番号 1 5 5:

GC GGGAATTCA CCTCCGCCTA TAAGCTGCTG CGCCAG

36

(2)配列番号 1 5 6 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 42塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー FV94-7483R

(xi)配列: 配列番号 1 5 6:

GCTGCGGCCG CCCTCCGTCC CACATTGTCT GGATTGGTAA CA

42

(2)配列番号 1 5 7 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 22塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー T7F

(xi)配列: 配列番号 1 5 7:

ATTAATACGA CTCCTATAG GG

22

(2)配列番号 1 5 8 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 22塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：プライマー T7R

(xi)配列：配列番号158：

CAAGGGGTTA TGCTAGTTAT TG

22

(2)配列番号159の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：402塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：抗原クローン GE4-8

(ix)配列の特徴：

(A)特徴を表す記号：CDS

(B)存在位置：1..402

(xi)配列：配列番号159：

GCT CTC CAA GCG ATC GAG AAT GCT GCG AGG ATT CTT GAA CCG CAC ATT
Ala Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile
1 5 10 15

48

GAT GTC ATC ATG GAG GAC TGC AGT ACA CCC TCT CTT TGT GGT AGT AGC
Asp Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly Ser Ser
20 25 30

96

CGA GAG ATG CCT GTA TGG GGA GAA GAC ATC CCC CGT ACT CCA TCG CCA
Arg Glu Met Pro Val Trp Gly Glu Asp Ile Pro Arg Thr Pro Ser Pro
35 40 45

144

GCA CTT ATC TCG GTT ACT GAG AGC AGC TCA GAT GAG AAG ACC CCG TCG
Ala Leu Ile Ser Val Thr Glu Ser Ser Ser Asp Glu Lys Thr Pro Ser
50 55 60

192

GTG ICC TCC TCG CAG GAG GAT ACC CCG TCC TCT GAC TCA TTC GAG GTC
Val Ser Ser Ser Gln Glu Asp Thr Pro Ser Ser Asp Ser Phe Glu Val
65 70 75 80

240

10

20

30

ATC CAA GAG TCC GAG ACA GCC GAA GGG GAG GAA AGT GTC TTC AAC GTG 288
 Ile Gln Glu Ser Glu Thr Ala Glu Gly Glu Glu Ser Val Phe Asn Val
 85 90 95

GCT CTT TCC GTA TTA AAA GCC TTA TTT CCA CAG AGC GAC GCG ACC AGG 336
 Ala Leu Ser Val Leu Lys Ala Leu Phe Pro Gln Ser Asp Ala Thr Arg
 100 105 110

AAG CTT ACC GTC AAG ATG TCG TGC TGC GTT GAA AAG AGC GTC ACG CGC 384
 Lys Leu Thr Val Lys Met Ser Cys Cys Val Glu Lys Ser Val Thr Arg
 115 120 125

TTT TTC TCA TTG GGG TTG 402
 Phe Phe Ser Leu Gly Leu
 130

10

(2)配列番号160の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:134アミノ酸

(B)型:アミノ酸

(D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:タンパク質

(xi)配列:配列番号160:

20

Ala Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile
 1 5 10 15

Asp Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly Ser Ser
 20 25 30

Arg Glu Met Pro Val Trp Gly Glu Asp Ile Pro Arg Thr Pro Ser Pro
 35 40 45

Ala Leu Ile Ser Val Thr Glu Ser Ser Ser Asp Glu Lys Thr Pro Ser
 50 55 60

Val Ser Ser Ser Gln Glu Asp Thr Pro Ser Ser Asp Ser Phe Glu Val
 65 70 75 80

Ile Gln Glu Ser Glu Thr Ala Glu Gly Glu Glu Ser Val Phe Asn Val
 85 90 95

Ala Leu Ser Val Leu Lys Ala Leu Phe Pro Gln Ser Asp Ala Thr Arg
 100 105 110

30

Lys Leu Thr Val Lys Met Ser Cys Cys Val Glu Lys Ser Val Thr Arg
 115 120 125

Phe Phe Ser Leu Gly Leu
 130

(2)配列番号161の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 1011塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 抗原クローン EXP3-7

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 1..1011

(xi)配列: 配列番号161:

ATG GTC TAT GGC CCT GGG CAA AGT GTT ACC ATT GAC GGG GAG CGC TAC	48
Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Asp Gly Glu Arg Tyr	
1 5 10 15	
ACC TTG CCT CAT CAA CTG AGG CTC AGG AAT GTG GCA CCC TCT GAG GTT	96
Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala Pro Ser Glu Val	
20 25 30	
TCA TCC GAG GTG TCC ATT GAC ATT GGG ACG GAG ACT GAA GAC TCA GAA	144
Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr Glu Asp Ser Glu	
35 40 45	
CTG ACT GAG GCC GAT CTG CCG CCG GCG GCT GCT GCT CTC CAA GCG ATC	192
Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala Leu Gln Ala Ile	
50 55 60	
GAG AAT GCT GCG AGG ATT CTT GAA CCG CAC ATT GAT GTC ATC ATG GAG	240
Glu Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile Asp Val Ile Met Glu	
65 70 75 80	
GAC TGC AGT ACA CCC TCT CTT TGT GGT AGT AGC CGA GAG ATG CCT GTA	288

Asp Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly Ser Ser Arg Glu Met Pro Val	
85 90 95	
TGG GGA GAA GAC ATC CCC CGT ACT CCA TCG CCA GCA CTT ATC TCG GTT	336
Trp Gly Glu Asp Ile Pro Arg Thr Pro Ser Pro Ala Leu Ile Ser Val	
100 105 110	
ACT GAG AGC AGC TCA GAT GAG AAG ACC CCG TCG GTG TCC TCC TCG CAG	384
Thr Glu Ser Ser Ser Asp Glu Lys Thr Pro Ser Val Ser Ser Ser Gln	
115 120 125	
GAG GAT ACC CCG TCC TCT GAC TCA TTC GAG GTC ATC CAA GAG TCC GAG	432
Glu Asp Thr Pro Ser Ser Asp Ser Phe Glu Val Ile Gln Glu Ser Glu	
130 135 140	
ACA GCC GAA GGG GAG GAA AGT GTC TTC AAC GTG GCT CTT TCC GTA TTA	480
Thr Ala Glu Gly Glu Glu Ser Val Phe Asn Val Ala Leu Ser Val Leu	
145 150 155 160	
AAA GCC TTA TTT CCA CAG AGC GAC GCG ACC AGG AAG CTT ACC GTC AAG	528
Lys Ala Leu Phe Pro Gln Ser Asp Ala Thr Arg Lys Leu Thr Val Lys	
165 170 175	
ATG TCG TGC TGC GTT GAA AAG AGC GTC ACG CGC TTT TTC TCA TTG GGG	576
Met Ser Cys Cys Val Glu Lys Ser Val Thr Arg Phe Phe Ser Leu Gly	
180 185 190	
TTG ACG GTG GCT GAT GTT GCT AGC CTG TGT GAG ATG GAA ATC CAG AAC	624
Leu Thr Val Ala Asp Val Ala Ser Leu Cys Glu Met Glu Ile Gln Asn	
195 200 205	
CAT ACA GCC TAT TGT GAC CAG GTG CGC ACT CCG CTT GAA TTG CAG GTT	672
His Thr Ala Tyr Cys Asp Gln Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val	
210 215 220	
GGG TGC TTG GTG GGC AAT GAA CTT ACC TTT GAA TGT GAC AAG TGT GAG	720
Gly Cys Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu	
225 230 235 240	
GCT AGG CAA GAA ACC TTG GCC TCC TTC TCT TAC ATT TGG TCT GGA GTG	768
Ala Arg Gln Glu Thr Leu Ala Ser Phe Ser Tyr Ile Trp Ser Gly Val	
245 250 255	

10

20

30

CCG CTG ACT AGG GCC ACG CCG GCC AAG CCT CCC GTG GTG AGG CCG GTT 816
 Pro Leu Thr Arg Ala Thr Pro Ala Lys Pro Pro Val Val Arg Pro Val
 260 265 270

 GGC TCT TTG TTA GTG GCC GAC ACT ACT AAG GTG TAT GTT ACC AAT CCA 864
 Gly Ser Leu Leu Val Ala Asp Thr Thr Lys Val Tyr Val Thr Asn Pro
 275 280 285

 GAC AAT GTG GGA CGG AGG GTG GAC AAG GTG ACC TTC TGG CGT GCT CCT 912
 Asp Asn Val Gly Arg Arg Val Asp Lys Val Thr Phe Trp Arg Ala Pro
 290 295 300

 AGG GTT CAT GAT AAG TAC CTC GTG GAC TCT ATT GAG CGC GCT AAG AGG 960
 Arg Val His Asp Lys Tyr Leu Val Asp Ser Ile Glu Arg Ala Lys Arg
 305 310 315 320

 GCC GCT CAA GCC TGC CTA AGC ATG GGT TAC ACT TAT GAG GAA GCA ATA 1008
 Ala Ala Gln Ala Cys Leu Ser Met Gly Tyr Thr Tyr Glu Glu Ala Ile
 325 330 335

 AGG 1011
 Arg

10

20

(2)配列番号162の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 337アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号162:

Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Asp Gly Glu Arg Tyr
 1 5 10 15

 Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala Pro Ser Glu Val
 20 25 30

 Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr Glu Asp Ser Glu
 35 40 45

 Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala Leu Gln Ala Ile
 50 55 60

 Glu Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile Asp Val Ile Met Glu
 65 70 75 80

30

268

Asp Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly Ser Ser Arg Glu Met Pro Val
 85 90 95
 Trp Gly Glu Asp Ile Pro Arg Thr Pro Ser Pro Ala Leu Ile Ser Val
 100 105 110
 Thr Glu Ser Ser Ser Asp Glu Lys Thr Pro Ser Val Ser Ser Ser Gln
 115 120 125
 Glu Asp Thr Pro Ser Ser Asp Ser Phe Glu Val Ile Gln Glu Ser Glu
 130 135 140
 Thr Ala Glu Gly Glu Glu Ser Val Phe Asn Val Ala Leu Ser Val Leu
 145 150 155 160
 Lys Ala Leu Phe Pro Gln Ser Asp Ala Thr Arg Lys Leu Thr Val Lys
 165 170 175
 Met Ser Cys Cys Val Glu Lys Ser Val Thr Arg Phe Phe Ser Leu Gly
 180 185 190
 Leu Thr Val Ala Asp Val Ala Ser Leu Cys Glu Met Glu Ile Gln Asn
 195 200 205
 His Thr Ala Tyr Cys Asp Gln Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val
 210 215 220
 Gly Cys Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu
 225 230 235 240
 Ala Arg Gln Glu Thr Leu Ala Ser Phe Ser Tyr Ile Trp Ser Gly Val
 245 250 255
 Pro Leu Thr Arg Ala Thr Pro Ala Lys Pro Pro Val Val Arg Pro Val
 260 265 270
 Gly Ser Leu Leu Val Ala Asp Thr Thr Lys Val Tyr Val Thr Asn Pro
 275 280 285

10

20

30

Asp Asn Val Gly Arg Arg Val Asp Lys Val Thr Phe Trp Arg Ala Pro
290 295 300

Arg Val His Asp Lys Tyr Leu Val Asp Ser Ile Glu Arg Ala Lys Arg
305 310 315 320

Ala Ala Gln Ala Cys Leu Ser Met Gly Tyr Thr Tyr Glu Glu Ala Ile
325 330 335

Arg

10

(2)配列番号163の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 351塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 抗原クローン GENS2b-1

20

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 1..351

(xi)配列: 配列番号163:

TIG GCT CGG GTG GTT GAG TGC TGT GTG ATG GCG GGT GAG AAG GCC ACA	48
Leu Ala Arg Val Val Glu Cys Cys Val Met Ala Gly Glu Lys Ala Thr	
1 5 10 15	
ACC GTC CGG CTG GTC TCC AAG ATG TGT GCG AGA GGA GCT TAT TTG TTC	96
Thr Val Arg Leu Val Ser Lys Met Cys Ala Arg Gly Ala Tyr Leu Phe	
20 25 30	
GAT CAT ATG GGC TCT TTT TCG CGT GCT GTC AAG GAG CGC CTG TTG GAA	144
Asp His Met Gly Ser Phe Ser Arg Ala Val Lys Glu Arg Leu Leu Glu	
35 40 45	
TGG GAC GCA GCT CTT GAA CCT CTG TCA TTC ACT AGG ACG GAC TGT CGC	192
Trp Asp Ala Ala Leu Glu Pro Leu Ser Phe Thr Arg Thr Asp Cys Arg	
50 55 60	
ATC ATA CGG GAT GCC GCG AGG ACT TTG TCC TGC GGG CAG TGC GTC ATG	240
Ile Ile Arg Asp Ala Ala Arg Thr Leu Ser Cys Gly Gln Cys Val Met	

30

65	70	75	80	
GGT TTA CCC GTG GTT GCG CGC CGT GGT GAT GAG GTT CTC ATC GGC GTC				288
Gly Leu Pro Val Val Ala Arg Arg Gly Asp Glu Val Leu Ile Gly Val				
85	90	95		
TTC CAG GAT GTG AAT CAT TTG CCT CCC GGG TTT GTT CCG ACC GCG CCT				336
Phe Gln Asp Val Asn His Leu Pro Pro Gly Phe Val Pro Thr Ala Pro				
100	105	110		
GTT GTC ATC CGA CGG				351
Val Val Ile Arg Arg				
115				

(2)配列番号164の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 117アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号164:

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

(2)配列番号165の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 993塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 抗原クローン GENS5a-3

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 1..993

(xi)配列: 配列番号165:

ACC TCC GCC TAT AAG CIG CTG CGC CAG CAA ATC CTA TCG GCT GCT GTA	48
Thr Ser Ala Tyr Lys Leu Leu Arg Gln Gln Ile Leu Ser Ala Ala Val	
1 5 10 15	
GCT GAG CCC TAC TAC GTC GAC GGC ATT CCG GTC TCA TGG GAC GCG GAC	96
Ala Glu Pro Tyr Tyr Val Asp Gly Ile Pro Val Ser Trp Asp Ala Asp	
20 25 30	
GCT CGT GCG CCC GCC ATG GTC TAT GGC CCT GGG CAA AGT GTT ACC ATT	144
Ala Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile	
35 40 45	
GAC GGG GAG CGC TAC ACC TTG CCT CAT CAA CTG AGG CTC AGG AAT GTG	192
Asp Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val	
50 55 60	
GCA CCC TCT GAG GTT TCA TCC GAG GTG TCC ATT GAC ATT GGG ACG GAG	240
Ala Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu	
65 70 75 80	
ACT GAA GAC TCA GAA CTG ACT GAG GCC GAT CTG CCG CCG GCG GCT GCT	288

10

20

30

Thr Glu Asp Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala	
85 90 95	
GCT CTC CAA GCG ATC GAG AAT GCT GCG AGG ATT CTT GAA CCG CAC ATT	336
Ala Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile	
100 105 110	
GAT GTC ATC ATG GAG GAC TGC AGT ACA CCC TCT CTT TGT GGT AGT AGC	384
Asp Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly Ser Ser	
115 120 125	
CGA GAG ATG CCT GTA TGG GGA GAA GAC ATC CCC CGT ACT CCA TCG CCA	432
Arg Glu Met Pro Val Trp Gly Glu Asp Ile Pro Arg Thr Pro Ser Pro	
130 135 140	
GCA CTT ATC TCG GTT ACT GAG AGC AGC TCA GAT GAG AAG ACC CCG TCG	480
Ala Leu Ile Ser Val Thr Glu Ser Ser Ser Asp Glu Lys Thr Pro Ser	
145 150 155 160	
GTG TCC TCC TCG CAG GAG GAT ACC CCG TCC TCT GAC TCA TTC GAG GTC	528
Val Ser Ser Ser Gln Glu Asp Thr Pro Ser Ser Asp Ser Phe Glu Val	
165 170 175	
ATC CAA GAG TCC GAG ACA GCC GAA GGG GAG GAA AGT GTC TTC AAC GTG	576
Ile Gln Glu Ser Glu Thr Ala Glu Gly Glu Glu Ser Val Phe Asn Val	
180 185 190	
GCT CTT TCC GTA TTA AAA GCC TTA TTT CCA CAG AGC GAC GCG ACC AGG	624
Ala Leu Ser Val Leu Lys Ala Leu Phe Pro Gln Ser Asp Ala Thr Arg	
195 200 205	
AAG CIT ACC GTC AAG ATG TCG TGC TGC GTT GAA AAG AGC GTC ACG CGC	672
Lys Leu Thr Val Lys Met Ser Cys Cys Val Glu Lys Ser Val Thr Arg	
210 215 220	
TTT TTC TCA TTG GGG TTG ACG GTG GCT GAT GTT GCT AGC CTG TGT GAG	720
Phe Phe Ser Leu Gly Leu Thr Val Ala Asp Val Ala Ser Leu Cys Glu	
225 230 235 240	
ATG GAA ATC CAG AAC CAT ACA GCC TAT TGT GAC CAG GTG CGC ACT CCG	768
Met Glu Ile Gln Asn His Thr Ala Tyr Cys Asp Gln Val Arg Thr Pro	
245 250 255	

10

20

30

CTT GAA TTG CAG GTT GGG TGC TTG GTG GGC AAT GAA CTT ACC TTT GAA 816
 Leu Glu Leu Gln Val Gly Cys Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu
 260 265 270

TGT GAC AAG TGT GAG GCT AGG CAA GAA ACC TTG GCC TCC TTC TCT TAC 864
 Cys Asp Lys Cys Glu Ala Arg Gln Glu Thr Leu Ala Ser Phe Ser Tyr
 275 280 285

ATT TGG TCT GGA GTG CCG CTG ACT AGG GCC ACG CCG GCC AAG CCT CCC 912
 Ile Trp Ser Gly Val Pro Leu Thr Arg Ala Thr Pro Ala Lys Pro Pro
 290 295 300

GTG GTG AGG CCG GTT GGC TCT TTG TTA GTG GCC GAC ACT ACT AAG GTG 960
 Val Val Arg Pro Val Gly Ser Leu Leu Val Ala Asp Thr Thr Lys Val
 305 310 315 320

TAT GTT ACC AAT CCA GAC AAT GTG GGA CGG AGG 993
 Tyr Val Thr Asn Pro Asp Asn Val Gly Arg Arg
 325 330

10

(2)配列番号166の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 331アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号166:

Thr Ser Ala Tyr Lys Leu Leu Arg Gln Gln Ile Leu Ser Ala Ala Val
 1 5 10 15

Ala Glu Pro Tyr Tyr Val Asp Gly Ile Pro Val Ser Trp Asp Ala Asp
 20 25 30

Ala Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile
 35 40 45

Asp Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val
 50 55 60

Ala Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu
 65 70 75 80

Thr Glu Asp Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala
 85 90 95

20

30

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

10

20

30

(2)配列番号167の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 536塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

10

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: コンセンサス配列 3'-末端

(xi)配列: 配列番号167:

```

CTGAGCGACC TCAAGCTCCC TGGCTTAGCA GTCCACCGAA AGAAGGCCGG GGCCTTGCGA      60
ACACGCGATGC TCCGCTCGCG CGGTTGGGCT GAGTTGGCTA GGGGCTTGTT GTGGCATCCA      120
GGCCTACGGC TTCCTCCCCC TGAGATTGCT GGTATCCCGG GGGGTTTCCC TCTCTCCCCC      180
CCCTATATGG GGGTGGTACA TCAATTGGAT TTCACAAGCC AGAGGAGTCG CTGGCGGTGG      240
TTGGGGTICT TAGCCCTGCT CATCGTAGCC CTCTTCGGGT GAACTAAATT CATCTGTTGC      300
GGCAAGGTCT GGTGACTGAT CATCACCGGA GGAGGTTCCT GCCCTCCCCG CCCCAGGGGT      360
CTCCCGCTG GGTAAAAAGG GCCCGGCCTT GGGAGGCATG GTGGTTACTA ACCCCCTGGC      420
AGGGTCAAAG CCTGATGGTG CTAATGCACT GCCACTTCGG TGGCGGGTCG CTACCTTATA      480
GCGTAATCCG TGA CTACGGG CTGCTCGCAG AGCCCTCCCC GGATGGGGCA CAGTGC      536

```

20

30

(2)配列番号168の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 594塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：独立クローン MP3-3

(xi)配列：配列番号168：

```

CTGAGCGACC TCAAGCTCCC TGGCTTAGCA GTCCACCGAA AGAAGGCCGG GGCCTTGCGA    60
ACACGCATGC TCCGCTCGCG CGGTTGGGCT GAGTTGGCTA GGGGCTTGTT GTGGCATCCA    120
GGCCTACGGC TTCCTCCCCC TGAGATTGCT GGTATCCCGG GGGGTTTCCC TCTCTCCCCC    180
CCCTATATGG GGGTGGTIACA CCAATTGGAT TTCACAAGCC AGAGGAGTCG CTGGCGGTGG    240
TTGGGGTTCT IAGCCCICT CATCGTAGCC CTCTTCGGGT GAACTAAAT CATCTGTTGC    300
GGCAAGGTCT GTGACTGAT CATCACCAGA GGAGGTTCCC GCCCTCCCCG CCCCAGGGGT    360
CTCCCCGCTG GGTAAGAAAG GCCCGGCCTT GGGAGGCATG GTGGTTACTA ACCCCCTGGC    420
AGGGTCAAAG CCGTAGGGT CTAATGCACT GCCACTTCGG TGGCGGGTCG CTACCTTATA    480
GCGTAATCCG TGAATACGGG CTGCTCGCAG AGCCCTCCCC GGATGGGGCA CAGTGCACTG    540
TGATCTGAAG GGGTGCACCC CGGGAAGAGC TCGGCCCGAA GGCCGGGCTTC TACT        594

```

10

20

(2)配列番号169の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：594塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：独立クローン MP3-7

(xi)配列：配列番号169：

```

CTGAGCGACC TCAAGCTCCC TGGCTTAGCA GTCCACCGAA AGAAGGCCGG GGCCTTGCGA    60
ACACGCATGC TCCGCTCGCG CGGTTGGGCT GAGTTGGCTA GGGGCTTGTT GTGGCATCCA    120
GGCCTACGGC TTCCTCCCCC TGAGATTGCT GGTGTCCCGG GGGGTTTCCC TCTCTCCCCC    180

```

30

CCCTATATGG GGGTGGTACA CCAATTGGAT TTCACAAGCC AGAGGAGTCG CTGGCGGTGG 240
 TTGGGGTTCT TAGCCCTGCT CATCGTAGCC CTCTTCGGGT GAACTAAATT CATCTGTTGC 300
 GGCAAGGTCT GGTGACIGAT CATCACCGGA GGAGGTTCCC GCCCTCCCCG CCCCAGGGGT 360
 CTCCCCGCTG GGTAAAAAGG GCCCGGCCTT GGGAGGCATG GTGGTTACTA ACCCCCTGGC 420
 AGGGTCAAAG CCTGATGGTG CTAATGCACT GCCACTTCGG TGGCGGGTCG CTACCTTATA 480
 GCGTAATCCG TGACTACGGG CTGCTCGCAG AGCCCTCCCC GGATGGGGCA CAGTGCACTG 540
 TGATCTGAAG GGGTGCACCC CGGTAAGAGC TCGGCCCGAA GGCCGGGTTC TACT 594

10

(2)配列番号170の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 39塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GV5446IRT

(xi)配列: 配列番号170:

CGGTCCCTCG AACTCCAGCG AGTCTTTTTT TTTTTTTTT

39

20

(2)配列番号171の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 24塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GV59-5446F

(xi)配列: 配列番号171:

30

CTGAGCGACC TCAAGCTCCC TGGC

24

(2)配列番号172の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 24塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GV-5446IR

(xi)配列: 配列番号172:

10

CGGTCCCTCG AACTCCAGCG AGTC

24

(2)配列番号173の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 23塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プローブ E5-7-PRB

(xi)配列: 配列番号173:

20

CGTAGCCCTC GGGTGAAC TA AAT

23

(2)配列番号174の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 35塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 一本鎖
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: Race アンカー配列

30

(xi)配列：配列番号 1 7 4：

CACGAATTCA CTATCGATTG TGGAACTTC AGAGG

35

(2)配列番号 1 7 5 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：736塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：両形態

(D)トポロジー：直鎖状

10

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：コンセンサス配列 5' 末端

(xi)配列：配列番号 1 7 5：

ACGTGGGGGA GTTGATCCCC CCCCCCGGC ACTGGGTGCA AGCCCCAGAA ACCGACGCCT

60

ATCTAAGTAG ACGCAATGAC TCGGCGCCGA CTCGGCGACC GGCCAAAAGG TGGTGGATGG

120

GTGATGACAG GGTGGTAGG TCGTAAATCC CGGTCACCTT GGAGCCACT ATAGGTGGGT

180

CTTAAGAGAA GGTAAAGATT CCTCTTGTGC CTGCGGCGAG ACCGCGCACG GTCCACAGGT

240

GTGCGCCCTA CCGGTGGGAA TAAGGGCCCG ACGTCAGGCT CGTCGTTAAA CCGAGCCCGT

300

TACCCACCTG GGCAAACGAC GCGCACGTAC GGTCCACGTC GCCCTTCAAT GTCTCTCTTG

360

ACCAATAGGC GTAGCCGGCG AGTTGACAAG GACCAAGTGG GGCCGGGGGC TTGGAGAGGG

420

ACTCCAAGTC CCGCCCTTCC CGGTGGGCGG GGAAATGCAT GGGGCCACCC AGCTCCGCGG

480

CGGCCTGCAG CCGGGGTAGC CCAAGAATCC TTCGGGTGAG GCGGGGTGGC ATTTCCTTTT

540

TCTATACCAT CATGGCAGTC CTTCTGCTCC TTCTCGTGGT TGAGGCCGGG GCCATTCTGG

600

CCCCGGCCAC CCACGCTTGT CGAGCGAATG GGCAATATTT CCTCACAAAT TGTGTGCCCC

660

CGGAGGACAT CGGGTTCTGC CTGGAGGGTG GATGCCTGGT GGCCCTGGGG TGCACGATTT

720

GCACTGACCA ATGCTG

736

20

30

(2)配列番号176の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 688塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV 変異体 BG34

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 272..688

(xi)配列: 配列番号176:

GACTCGGCGC CGACTCGGCG ACCGGCCAAA AGGTGGTGGA TGGGTGATGA CAGGGTTGGT	60
AGGTCGTAAA TCCCGGTCAC CTTGGTAGCC ACTATAGGTG GGTCTTAAGA GAAGGTTAAG	120
ATTCTCTTTG TGCCTGCGGC GAGACCGCGC ACGGTCCACA GGTGTTGGCC CTACCGGTGT	180
GAATAAGGGC CCGACGTCAG GCTCGTCGTT AAACCGAGCC CGTCACCCAC CTGGGCAAAC	240
GACGCCCACG TACGGTCCAC GTCGCCCTTC A ATG CCT CTC TTG GCC AAT AGG	292
Met Pro Leu Leu Ala Asn Arg	
1 5	
AGT ATC CGG CGA GTT GAC AAG GAC CAG TGG GGG CCG GGA GTC ACG GGG	340
Ser Ile Arg Arg Val Asp Lys Asp Gln Trp Gly Pro Gly Val Thr Gly	
10 15 20	
ATG GAC CCC GGG CTC TGC CCT TCC CGG TGG AAC GGG AAA CGC ATG GGG	388
Met Asp Pro Gly Leu Cys Pro Ser Arg Trp Asn Gly Lys Arg Met Gly	
25 30 35	
CCA CCC AGC TCC GCG GCG GCC TGC AGC CGG GGT AGC CCA AGA ACC CTT	436
Pro Pro Ser Ser Ala Ala Ala Cys Ser Arg Gly Ser Pro Arg Thr Leu	
40 45 50 55	
CGG GTG AGG GCG GGT GGC ATT TCT CTT TTC TGT ATC ATC ATG GCA GTC	484
Arg Val Arg Ala Gly Gly Ile Ser Leu Phe Cys Ile Ile Met Ala Val	
60 65 70	

10

20

30

CTC CTG CTC CTT CTC GTG G1T GAG GCC GGG GCC ATT CTG GCC CCG GCC 532
 Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Glu Ala Gly Ala Ile Leu Ala Pro Ala
 75 80 85

ACC CAC GCT TGT CGA GCG AAT GGA CAA TAT TTC CTC ACA AAC TGT TGC 580
 Thr His Ala Cys Arg Ala Asn Gly Gln Tyr Phe Leu Thr Asn Cys Cys
 90 95 100

GCC CTC GAG GAC ATC GGG TTC TGC CTG GAA GGC GGG TGC CTG GTG GCC 628
 Ala Leu Glu Asp Ile Gly Phe Cys Leu Glu Gly Gly Cys Leu Val Ala
 105 110 115

TTA GGG TGC ACC ATT TGC ACT GAC CGT TGC TGG CCA CTG TAT CAG GCG 676
 Leu Gly Cys Thr Ile Cys Thr Asp Arg Cys Trp Pro Leu Tyr Gln Ala
 120 125 130 135

GGT TTG GCT GTG 688
 Gly Leu Ala Val

10

(2)配列番号177の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:139アミノ酸

(B)型:アミノ酸

(D)トポロジー:直鎖状

20

(ii)配列の種類:タンパク質

(xi)配列:配列番号177:

Met Pro Leu Leu Ala Asn Arg Ser Ile Arg Arg Val Asp Lys Asp Gln
 1 5 10 15

Trp Gly Pro Gly Val Thr Gly Met Asp Pro Gly Leu Cys Pro Ser Arg
 20 25 30

Trp Asn Gly Lys Arg Met Gly Pro Pro Ser Ser Ala Ala Ala Cys Ser
 35 40 45

Arg Gly Ser Pro Arg Thr Leu Arg Val Arg Ala Gly Gly Ile Ser Leu
 50 55 60

Phe Cys Ile Ile Met Ala Val Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Glu Ala
 65 70 75 80

Gly Ala Ile Leu Ala Pro Ala Thr His Ala Cys Arg Ala Asn Gly Gln
 85 90 95

Tyr Phe Leu Thr Asn Cys Cys Ala Leu Glu Asp Ile Gly Phe Cys Leu
 100 105 110

30

Glu Gly Gly Cys Leu Val Ala Leu Gly Cys Thr Ile Cys Thr Asp Arg
 115 120 125

Cys Trp Pro Leu Tyr Gln Ala Gly Leu Ala Val
 130 135

(2)配列番号178の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 663塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV 変異体 T55806

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS

(B)存在位置: 271..663

(xi)配列: 配列番号178:

GACTCGGCGC CGACTCGGCG ACCGGCCAAA AGGTGGTGA TGGGTGATGC CAGGGTTGGT	60
AGGTCGTAAA TCCCGGTCAT CTTGGTAGCC ACTATAGGTG GGTCTTAAGA GAAGGTTAAG	120
ATTCTCTTGG TGCCTGCGGC GAGACCGCGC ACGGTCCACA GGTGTTGGCC CTACCGGTGG	180
AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC TGGGCAAACG	240
ACGCTCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATG TCT CTC TTG ACC AAT AGG TTT	294
Met Ser Leu Leu Thr Asn Arg Phe	
1 5	
ATC CGG CGA GGT GAC AAG GAC CAG TGG GGG CCG GGG GII ACG GGG ACG	342
Ile Arg Arg Val Asp Lys Asp Gln Trp Gly Pro Gly Val Thr Gly Thr	
10 15 20	
GAC CCC GAA CCC TGC CCT TCC CGG TGG GCC GGG AAA TGC ATG GGG CCA	390
Asp Pro Glu Pro Cys Pro Ser Arg Trp Ala Gly Lys Cys Met Gly Pro	
25 30 35 40	
CCC AGC TCC GCG GCG GCC TGC AGC CGG GGT AGC CCA AGA ATC CTT CGG	438

10

20

30

Pro Ser Ser Ala Ala Ala Cys Ser Arg Gly Ser Pro Arg Ile Leu Arg
 45 50 55

GTG AGG GCG GGT GGC ATT TCT CTT TTC TAT ACC ATC ATG GCA GTC CTT 486
 Val Arg Ala Gly Gly Ile Ser Leu Phe Tyr Thr Ile Met Ala Val Leu
 60 65 70

CTG CTC TTC TTC GTG GTT GAG GCC GGG GCG ATT CTC GCC CCG GCC ACC 534
 Leu Leu Phe Phe Val Val Glu Ala Gly Ala Ile Leu Ala Pro Ala Thr
 75 80 85

CAC GCT TGT CGG GCG AAT GGG CAA TAT TTC CTC ACA AAT TGT TGC GCC 582
 His Ala Cys Arg Ala Asn Gly Gln Tyr Phe Leu Thr Asn Cys Cys Ala
 90 95 100

CCA GAG GAT GTT GGG TTC TGC CTG GAG GGC GGA TGC CTG GTG GCT CTG 630
 Pro Glu Asp Val Gly Phe Cys Leu Glu Gly Gly Cys Leu Val Ala Leu
 105 110 115 120

GGG TGT ACG ATT TGC ACT GAC CGT TGC TGG CCA 663
 Gly Cys Thr Ile Cys Thr Asp Arg Cys Trp Pro
 125 130

10

(2)配列番号179の情報:

20

(i)配列の特色:

(A)長さ: 181アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号179:

Met Ser Leu Leu Thr Asn Arg Phe Ile Arg Arg Val Asp Lys Asp Gln
 1 5 10 15

Trp Gly Pro Gly Val Thr Gly Thr Asp Pro Glu Pro Cys Pro Ser Arg
 20 25 30

Trp Ala Gly Lys Cys Met Gly Pro Pro Ser Ser Ala Ala Ala Cys Ser
 35 40 45

Arg Gly Ser Pro Arg Ile Leu Arg Val Arg Ala Gly Gly Ile Ser Leu
 50 55 60

Phe Tyr Thr Ile Met Ala Val Leu Leu Leu Phe Phe Val Val Glu Ala
 65 70 75 80

30

Gly Ala Ile Leu Ala Pro Ala Thr His Ala Cys Arg Ala Asn Gly Gln
 85 90 95

Tyr Phe Leu Thr Asn Cys Cys Ala Pro Glu Asp Val Gly Phe Cys Leu
 100 105 110

Glu Gly Gly Cys Leu Val Ala Leu Gly Cys Thr Ile Cys Thr Asp Arg
 115 120 125

Cys Trp Pro
 130

10

(2)配列番号180の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 632塩基対
 (B)型: 核酸
 (C)鎖の数: 両形態
 (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV 変異体 EB20-2

(ix)配列の特徴:

- (A)特徴を表す記号: CDS
 (B)存在位置: 271..632

(xi)配列: 配列番号180:

GACTCGGCGC CGACTCGGCG ACCGGCCAAA AGGTGGTGGA TGGGTGATGC CAGGGTTGGT 60

AGGTCGTAAA TCCCGGTCAT CTTGGTAGCC ACTATAGGTG GGTCTTAAGA GAAGGTTAAG 120

ATTCCTCTTG TGCCCTGCGC GAGACCGCGC ACGGTCCACA GGTGTGGCC CTACCGGTGT 180

AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC TGGGCAAACG 240

ACGCCCCAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATG CCT CTC TTG GCC AAT AGG AGT 294

Met Pro Leu Leu Ala Asn Arg Ser
 1 5

TAT CTC CGG CGA GTT GGC AAG GAC CAG TGG GGG CCG GGG GTT ACG GGG 342

Tyr Leu Arg Arg Val Gly Lys Asp Gln Trp Gly Pro Gly Val Thr Gly
 10 15 20

20

30

AAG GAC CCC GAA CCC TGC CCT TCC CGG TGG GCC GGG AAA TGC ATG GGG 390
 Lys Asp Pro Glu Pro Cys Pro Ser Arg Trp Ala Gly Lys Cys Met Gly
 25 30 35 40
 CCA CCC AGC TCC GCG GCG GCC TGC AGC CGG GGT AGC CCA AAA AAC CTT 438
 Pro Pro Ser Ser Ala Ala Ala Cys Ser Arg Gly Ser Pro Lys Asn Leu
 45 50 55
 CGG GTG AGG GCG GGT GGC ATT TTC TTT TCC TAT ACC ATC ATG GCA GTC 486
 Arg Val Arg Ala Gly Gly Ile Phe Phe Ser Tyr Thr Ile Met Ala Val
 60 65 70
 CTT CTG CTC CTT CTC GTG GTT GAG GCC GGG GCC ATT TTG GCC CCG GCC 534
 Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Glu Ala Gly Ala Ile Leu Ala Pro Ala
 75 80 85
 ACC CAC GCT TGC AGA GCT AAT GGG CAA TAT TTC CTC ACA AAC TGT TGT 582
 Thr His Ala Cys Arg Ala Asn Gly Gln Tyr Phe Leu Thr Asn Cys Cys
 90 95 100
 GCC TTG GAG GAC ATC GGG TTC TGC CTG GAA GGC GGA TGC TTG GTG GCG CT 632
 Ala Leu Glu Asp Ile Gly Phe Cys Leu Glu Gly Gly Cys Leu Val Ala
 105 110 115 120

10

20

(2)配列番号181の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 120アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号181:

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

30

Ser Arg Gly Ser Pro Lys Asn Leu Arg Val Arg Ala Gly Gly Ile Phe
 50 55 60

Phe Ser Tyr Thr Ile Met Ala Val Leu Leu Leu Leu Leu Val Val Glu
 65 70 75 80

Ala Gly Ala Ile Leu Ala Pro Ala Thr His Ala Cys Arg Ala Asn Gly
 85 90 95

Gln Tyr Phe Leu Thr Asn Cys Cys Ala Leu Glu Asp Ile Gly Phe Cys
 100 105 110

Leu Glu Gly Gly Cys Leu Val Ala
 115 120

(2)配列番号182の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 9103塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-JC 変異体

(ix)配列の特徴:

- (A)特徴を表す記号: CDS
- (B)存在位置: 276..9005

(xi)配列: 配列番号182:

CAATGACTCG GCGCCGACTC GCGGACCGGC CAAAAGGTGG TGGATGGGTG ATGACAGGGT 60

TGGTAGGTGCG TAAATCCCGG TCACCTTGGT AGCCACTATA GGTGGGTCTT AAGAGAAGGT 120

TAAGATTCTT CTGTGCTCTG CGGCGAGACC GCGCACGGTC CACAGGTGTT GGCCCTACCG 180

GTGGGAATAA GGGCCCCGACG TCAGGCTCGT CGTTAAACCG AGCCCGTAAC CCGCCTGGGC 240

AAACGACGCC CACGTACGGT CCACGTCGCC CTTCA ATG TCG CTC TTG ACC AAT 293

Met Ser Leu Leu Thr Asn
 1 5

AGG CTT AGC CGG CGA GTT GAC AAG GAC CAG TGG GGG CCG GGG TTT ATG 341

Arg Leu Ser Arg Arg Val Asp Lys Asp Gln Trp Gly Pro Gly Phe Met
 10 15 20
 GGG AAG GAC CCC AAA CCC TGC CCT TCC CGG CGG ACC GGG AAA TGC ATG 389
 Gly Lys Asp Pro Lys Pro Cys Pro Ser Arg Arg Thr Gly Lys Cys Met
 25 30 35
 GGG CCA CCC AGC TCC GCG GCG GCC TGC AGC CGG GGT AGC CCA AGA ATC 437
 Gly Pro Pro Ser Ser Ala Ala Ala Cys Ser Arg Gly Ser Pro Arg Ile
 40 45 50
 CTT CGG GTG AGG GCG GGT GGC ATT TCT CTT CCT TAT ACC ATC ATG GAA 485
 Leu Arg Val Arg Ala Gly Gly Ile Ser Leu Pro Tyr Thr Ile Met Glu
 55 60 65 70
 GCC CTC CTG TTC CTC CTC GGG GTG GAG GCC GGG GCC ATT CTG GCC CCG 533
 Ala Leu Leu Phe Leu Leu Gly Val Glu Ala Gly Ala Ile Leu Ala Pro
 75 80 85
 GCC ACC CAC GCT TGT CGA GCG AAT GGG CAA TAT TTC CTC ACA AAC TGT 581
 Ala Thr His Ala Cys Arg Ala Asn Gly Gln Tyr Phe Leu Thr Asn Cys
 90 95 100
 TGT GCT CCA GAG GAC ATT GGG TTC TGC CTC GAA GGC GGT TGC CTT GTG 629
 Cys Ala Pro Glu Asp Ile Gly Phe Cys Leu Glu Gly Gly Cys Leu Val
 105 110 115
 GCC CTG GGG TGC ACA GTT TGC ACT GAC CGA TGC TGG CCG CTG TAT CAG 677
 Ala Leu Gly Cys Thr Val Cys Thr Asp Arg Cys Trp Pro Leu Tyr Gln
 120 125 130
 GCG GGC TTG GCT GTG CCG CCT GGC AAG TCC GCA GCC CAG CTG GTG GGG 725
 Ala Gly Leu Ala Val Arg Pro Gly Lys Ser Ala Ala Gln Leu Val Gly
 135 140 145 150
 CAA CTG GGT GGC CTC TAC GGG CCC TTG TCG GTG TCG GCC TAC GTG GCC 773
 Gln Leu Gly Gly Leu Tyr Gly Pro Leu Ser Val Ser Ala Tyr Val Ala
 155 160 165
 GGC ATC CTG GGC CTG GGT GAG GTG TAC TCG GGT GTC CTA ACA GTT GGT 821
 Gly Ile Leu Gly Leu Gly Glu Val Tyr Ser Gly Val Leu Thr Val Gly
 170 175 180
 GTT GCG TTG ACG CGC CGG GTC TAC CCG ATG CCC AAC CTG ACG TGT GCA 869
 Val Ala Leu Thr Arg Arg Val Tyr Pro Met Pro Asn Leu Thr Cys Ala
 185 190 195

GTA GAG TGT GAG CTT AAG TGG GAA AGT GAG TTT TGG AGA TGG ACT GAG Val Glu Cys Glu Leu Lys Trp Glu Ser Glu Phe Trp Arg Trp Thr Glu 200 205 210	917
CAG CTG GCC TCC AAT TAC TGG ATT CTG GAA TAC CTT TGG AAG GTC CCG Gln Leu Ala Ser Asn Tyr Trp Ile Leu Glu Tyr Leu Trp Lys Val Pro 215 220 225 230	965
TTT GAC TTC TGG AGA GGC GTG CTA AGC CTG ACT CCC TTG CTG GTT TGC Phe Asp Phe Trp Arg Gly Val Leu Ser Leu Thr Pro Leu Leu Val Cys 235 240 245	1013
GTG GCC GCG TTG CTG CTG CTG GAG CAA CGG ATT GTC ATG GTC TTC CTG Val Ala Ala Leu Leu Leu Leu Glu Gln Arg Ile Val Met Val Phe Leu 250 255 260	1061
TTG GTG ACG ATG GCC GGG ATG TCG CAA GGC GCT CCG GCC TCC GTT TTG Leu Val Thr Met Ala Gly Met Ser Gln Gly Ala Pro Ala Ser Val Leu 265 270 275	1109
GGG TCT CGC CCC TTT GAC TAC GGG TTG ACA TGG CAG TCT TGT TCC TGC Gly Ser Arg Pro Phe Asp Tyr Gly Leu Thr Trp Gln Ser Cys Ser Cys 280 285 290	1157
AGG GCT AAT GGG TCG CGC TAT ACT ACT GGG GAG AAG GTG TGG GAC CGT Arg Ala Asn Gly Ser Arg Tyr Thr Thr Gly Glu Lys Val Trp Asp Arg 295 300 305 310	1205
GGG AAC GTC ACG CTC CTG TGT GAC TGC CCC AAC GGC CCC TGG GTG TGG Gly Asn Val Thr Leu Leu Cys Asp Cys Pro Asn Gly Pro Trp Val Trp 315 320 325	1253
TTG CCG GCC TTT TGC CAA GCA ATC GGC TGG GGC GAT CCC ATC ACT CAT Leu Pro Ala Phe Cys Gln Ala Ile Gly Trp Gly Asp Pro Ile Thr His 330 335 340	1301
TGG AGC CAC GGC CAA AAT CGG TGG CCC CTC TCA TGC CCC CAG TAT GTC Trp Ser His Gly Gln Asn Arg Trp Pro Leu Ser Cys Pro Gln Tyr Val 345 350 355	1349
TAT GGG TCT GTT TCA GTC ACT TGC GTG TGG GGT TCC GTC TCT TGG TTT Tyr Gly Ser Val Ser Val Thr Cys Val Trp Gly Ser Val Ser Trp Phe 360 365 370	1397
GCC TCG ACT GGC GGT CGC GAC TCG AAG ATC GAT GTG TGG AGT CTG GTG Ala Ser Thr Gly Gly Arg Asp Ser Lys Ile Asp Val Trp Ser Leu Val 375 380 385 390	1445

10

20

30

CCG GTT GGT TCC GCC AGC TGC ACC ATA GCC GCT CTT GGA TCG TCG GAT Pro Val Gly Ser Ala Ser Cys Thr Ile Ala Ala Leu Gly Ser Ser Asp 395 400 405	1493
CGG GAC ACG GTA GTT GAG CTC TCC GAG TGG GGA GTC CCG TGC GCA ACG Arg Asp Thr Val Val Glu Leu Ser Glu Trp Gly Val Pro Cys Ala Thr 410 415 420	1541
TGC ATT CTG GAT CGT CGG CCG GCC TCG TGC GGC ACC TGT GTG AGA GAC Cys Ile Leu Asp Arg Arg Pro Ala Ser Cys Gly Thr Cys Val Arg Asp 425 430 435	1589
TGC TGG CCC GAA ACC GGG TCG GTT AGG TTT CCA TTC CAT CGG TGC GGC Cys Trp Pro Glu Thr Gly Ser Val Arg Phe Pro Phe His Arg Cys Gly 440 445 450	1637
GCG GGG CCT AAG CTG ACA AAG GAC TTG GAA GCT GTG CCC TTC GTC AAT Ala Gly Pro Lys Leu Thr Lys Asp Leu Glu Ala Val Pro Phe Val Asn 455 460 465 470	1685
AGG ACA ACT CCC TTC ACC ATA AGG GGC CCC CTG GGC AAC CAG GGG AGA Arg Thr Thr Pro Phe Thr Ile Arg Gly Pro Leu Gly Asn Gln Gly Arg 475 480 485	1733
GGC AAC CCG GTG CGG TCG CCC TTG GGT TTT GGG TCC TAC GCC ATG ACC Gly Asn Pro Val Arg Ser Pro Leu Gly Phe Gly Ser Tyr Ala Met Thr 490 495 500	1781
AAG ATC CGA GAC TCC TTA CAT TTG GTG AAA TGT CCC ACA CCA GCC ATT Lys Ile Arg Asp Ser Leu His Leu Val Lys Cys Pro Thr Pro Ala Ile 505 510 515	1829
GAG CCT CCC ACC GGG ACG TTT GGG TTC TTC CCC GGA GTG CCG CCT CTT Glu Pro Pro Thr Gly Thr Phe Gly Phe Phe Pro Gly Val Pro Pro Leu 520 525 530	1877
AAC AAC TGC CTG CTG TTG GGC ACG GAA GTG TCC GAA GCG CTG GGC GGG Asn Asn Cys Leu Leu Leu Gly Thr Glu Val Ser Glu Ala Leu Gly Gly 535 540 545 550	1925
GCC GGC CTC ACG GGG GGG TTC TAT GAA CCC CTG GTG CGC AGG CGT TCG Ala Gly Leu Thr Gly Gly Phe Tyr Glu Pro Leu Val Arg Arg Arg Ser 555 560 565	1973
GAG CTG ATG GGG CGC CGA AAT CCG GTT TGC CCG GGG TTT GCA TGG CTG Glu Leu Met Gly Arg Arg Asn Pro Val Cys Pro Gly Phe Ala Trp Leu 570 575 580	2021

10

20

30

TCC TCG GGT CGA CCT GAC GGG TTT ATA CAC GTC CAG GGC CAC TTG CAG	2069
Ser Ser Gly Arg Pro Asp Gly Phe Ile His Val Gln Gly His Leu Gln	
585 590 595	
GAG GTC GAT GCT GGC AAC TTC ATC CCT CCA CCT CGC TGG TTG CTC TTG	2117
Glu Val Asp Ala Gly Asn Phe Ile Pro Pro Pro Arg Trp Leu Leu Leu	
600 605 610	
GAC TTT GTG TTT GTC CTG TTA TAC CTG ATG AAG CTG GCT GAG GCA CGG	2165
Asp Phe Val Phe Val Leu Leu Tyr Leu Met Lys Leu Ala Glu Ala Arg	
615 620 625 630	
CTG GTC CCG TTG ATC TTG CTT CTG CTG TGG TGG TGG GTG AAC CAG TTG	2213
Leu Val Pro Leu Ile Leu Leu Leu Leu Trp Trp Trp Val Asn Gln Leu	
635 640 645	
GCA GTC CIT GGA CTG CCG GCT GTG GAC GCC GCC GTG GCT GGT GAG GTC	2261
Ala Val Leu Gly Leu Pro Ala Val Asp Ala Ala Val Ala Gly Glu Val	
650 655 660	
TTC GCG GGC CCG GCC CTG TCG TGG TGT CTG GGC CTC CCC ACC GTT AGT	2309
Phe Ala Gly Pro Ala Leu Ser Trp Cys Leu Gly Leu Pro Thr Val Ser	
665 670 675	
ATG ATC CTG GGC TTA GCA AAC CTG GTG TTG TAT TTC CGG TGG ATG GGT	2357
Met Ile Leu Gly Leu Ala Asn Leu Val Leu Tyr Phe Arg Trp Met Gly	
680 685 690	
CCC CAA CGC CTC ATG TTC CTC GTG TTG TGG AAG CTC GCT CGG GGA GCC	2405
Pro Gln Arg Leu Met Phe Leu Val Leu Trp Lys Leu Ala Arg Gly Ala	
695 700 705 710	
TTC CCG CTG GCA CTT CTG ATG GGG ATC TCG GCA ACC CGC GGG CGC ACC	2453
Phe Pro Leu Ala Leu Leu Met Gly Ile Ser Ala Thr Arg Gly Arg Thr	
715 720 725	
TCG GTG CTC GGG GCC GAG TTC TGC TTC GAT GTC ACA TTC GAG GTG GAC	2501
Ser Val Leu Gly Ala Glu Phe Cys Phe Asp Val Thr Phe Glu Val Asp	
730 735 740	
ACG TCG GTT TTG GGC TGG GTG GTG GCC AGT GTG GTA GCC TGG GCC ATT	2549
Thr Ser Val Leu Gly Trp Val Val Ala Ser Val Val Ala Trp Ala Ile	
745 750 755	
GCG CTC CTG AGC TCG ATG AGC GCG GGA GGG TGG AGG CAC AAG GCC GTG	2597

10

20

30

Ala Leu Leu Ser Ser Met Ser Ala Gly Gly Trp Arg His Lys Ala Val	
760 765 770	
ATC TAT AGG ACG TGG TGT AAG GGG TAC CAG GCA ATA CGC CAA CGG GTG	2645
Ile Tyr Arg Thr Trp Cys Lys Gly Tyr Gln Ala Ile Arg Gln Arg Val	
775 780 785 790	
GTG CGG AGC CCC CTC GGG GAG GGG CGG CCC ACC AAA CCC TTG ACG TTT	2693
Val Arg Ser Pro Leu Gly Glu Gly Arg Pro Thr Lys Pro Leu Thr Phe	
795 800 805	
GCT IGG TGC TTG GCC TCA TAC ATC TGG CCG GAT GCT GTG ATG ATG GTG	2741
Ala Trp Cys Leu Ala Ser Tyr Ile Trp Pro Asp Ala Val Met Met Val	
810 815 820	
GTG GIA GCC TTG GTG CTC CTC TTT GGC CTG TTC GAC GCG TTG GAC TGG	2789
Val Val Ala Leu Val Leu Leu Phe Gly Leu Phe Asp Ala Leu Asp Trp	
825 830 835	
GCT TTG GAG GAG CTC TTG GTG TCC CGG CCC TCG TTA CGG CGT CTG GCC	2837
Ala Leu Glu Glu Leu Leu Val Ser Arg Pro Ser Leu Arg Arg Leu Ala	
840 845 850	
CGG GTG GTT GAG TGC TGT GTG ATG GCG GGA GAG AAG GCC ACA ACC GTC	2885
Arg Val Val Glu Cys Cys Val Met Ala Gly Glu Lys Ala Thr Thr Val	
855 860 865 870	
CGG CTG GTC TCC AAG ATG TGC GCG AGA GGG GCC TAT TTG TTT GAC CAT	2933
Arg Leu Val Ser Lys Met Cys Ala Arg Gly Ala Tyr Leu Phe Asp His	
875 880 885	
ATG GGC TCT TTT TCG CGC GCT GTC AAG GAG CGC CTG CTG GAG TGG GAC	2981
Met Gly Ser Phe Ser Arg Ala Val Lys Glu Arg Leu Leu Glu Trp Asp	
890 895 900	
GCG GCT TTG GAA CCC CTG TCA TTC ACT AGG ACG GAC TGT CGC ATC ATT	3029
Ala Ala Leu Glu Pro Leu Ser Phe Thr Arg Thr Asp Cys Arg Ile Ile	
905 910 915	
AGA GAT GCT GCG AGG ACC TTG GCC TGC GGG CAG TGC GTC ATG GGC TTG	3077
Arg Asp Ala Ala Arg Thr Leu Ala Cys Gly Gln Cys Val Met Gly Leu	
920 925 930	
CCT GTG GTA GCG CGC CGT GGT GAC GAG GTT CTT ATC GGT GTC TTT CAG	3125
Pro Val Val Ala Arg Arg Gly Asp Glu Val Leu Ile Gly Val Phe Gln	
935 940 945 950	

10

20

30

GAT GTG AAC CAT TTG CCT CCC GGA TTC GTC CCG ACC GCA CCC GTT GTC 3173
 Asp Val Asn His Leu Pro Pro Gly Phe Val Pro Thr Ala Pro Val Val
 955 960 965

ATC CGG CGG TGC GGG AAG GGG TTT CTG GGG GTC ACT AAG GCT GCC TTG 3221
 Ile Arg Arg Cys Gly Lys Gly Phe Leu Gly Val Thr Lys Ala Ala Leu
 970 975 980

ACT GGT CGG GAT CCT GAC TTA CAT CCA GGG AAC GTC ATG GTG TTG GGG 3269
 Thr Gly Arg Asp Pro Asp Leu His Pro Gly Asn Val Met Val Leu Gly
 985 990 995

ACG GCT ACG TCG CGA AGC ATG GGG ACA TGC CTG AAC GGC CTG CTG TTC 3317
 Thr Ala Thr Ser Arg Ser Met Gly Thr Cys Leu Asn Gly Leu Leu Phe
 1000 1005 1010

ACG ACT TTC CAT GGG GCT TCA TCC CGA ACC ATC GCC ACG CCC GTG GGG 3365
 Thr Thr Phe His Gly Ala Ser Ser Arg Thr Ile Ala Thr Pro Val Gly
 1015 1020 1025 1030

GCC CTI AAT CCC AGG TGG TGG TCC GCC AGT GAT GAC GTC ACG GTG TAC 3413
 Ala Leu Asn Pro Arg Trp Trp Ser Ala Ser Asp Asp Val Thr Val Tyr
 1035 1040 1045

CCG CTC CCG GAT GGG GCA ACC TCG TTG ACG CCC TGC ACT TGC CAG GCT 3461
 Pro Leu Pro Asp Gly Ala Thr Ser Leu Thr Pro Cys Thr Cys Gln Ala
 1050 1055 1060

GAG TCC TGT TGG GTC ATA CGG TCC GAC GGG GCT TTG TGC CAT GGC TTG 3509
 Glu Ser Cys Trp Val Ile Arg Ser Asp Gly Ala Leu Cys His Gly Leu
 1065 1070 1075

AGT AAG GGA GAC AAG GTG GAG CTA GAT GTG GCC ATG GAG GTC TCA GAT 3557
 Ser Lys Gly Asp Lys Val Glu Leu Asp Val Ala Met Glu Val Ser Asp
 1080 1085 1090

TTC CGT GGC TCG TCC GGC TCA CCT GTC CTG TGC GAC GAG GGG CAC GCA 3605
 Phe Arg Gly Ser Ser Gly Ser Pro Val Leu Cys Asp Glu Gly His Ala
 1095 1100 1105 1110

GTA GGA ATG CTC GTG TCG GTG CTC CAC TCG GGT GGT CGG GTC ACC GCG 3653
 Val Gly Met Leu Val Ser Val Leu His Ser Gly Gly Arg Val Thr Ala
 1115 1120 1125

GCT CGA TTC ACC AGG CCG TGG ACC CAG GTC CCA ACA GAT GCT AAG ACC 3701
 Ala Arg Phe Thr Arg Pro Trp Thr Gln Val Pro Thr Asp Ala Lys Thr
 1130 1135 1140

10

20

30

ACC ACT GAA CCC CCT CCG GTG CCG GCA AAG GGA GTT TTC AAG GAA GCC 3749
Thr Thr Glu Pro Pro Pro Val Pro Ala Lys Gly Val Phe Lys Glu Ala
1145 1150 1155

CCA CTG TTT ATG CCC ACG GGC GCA GGA AAG AGC ACG CGC GTC CCG TTG 3797
Pro Leu Phe Met Pro Thr Gly Ala Gly Lys Ser Thr Arg Val Pro Leu
1160 1165 1170

GAG TAT GGC AAC ATG GGG CAC AAG GTC CTG ATT TTG AAC CCC TCG GTG 3845
Glu Tyr Gly Asn Met Gly His Lys Val Leu Ile Leu Asn Pro Ser Val
1175 1180 1185 1190

GCG ACA GTG AGG GCC ATG GGC CCT TAC ATG GAG CGA CTG GCG GGA AAA 3893
Ala Thr Val Arg Ala Met Gly Pro Tyr Met Glu Arg Leu Ala Gly Lys
1195 1200 1205

CAT CCA AGT ATC TAC TGT GGC CAT GAC ACC ACT GCC TTC ACA AGG ATC 3941
His Pro Ser Ile Tyr Cys Gly His Asp Thr Thr Ala Phe Thr Arg Ile
1210 1215 1220

ACT GAT TCC CCC TTA ACG TAC TCT ACC TAT GGG AGG TTT CTG GCC AAC 3989
Thr Asp Ser Pro Leu Thr Tyr Ser Thr Tyr Gly Arg Phe Leu Ala Asn
1225 1230 1235

CCT AGG CAG ATG CTG CGA GGT GTG TCG GTG GTC ATT TGC GAT GAA TGC 4037
Pro Arg Gln Met Leu Arg Gly Val Ser Val Val Ile Cys Asp Glu Cys
1240 1245 1250

CAC AGT CAT GAT TCC ACT GTG TTG TTG GGG ATT GGA CGG GTC CGG GAG 4085
His Ser His Asp Ser Thr Val Leu Leu Gly Ile Gly Arg Val Arg Glu
1255 1260 1265 1270

CTG GCA CGA GAG TGT GGG GTG CAG CTT GTG CTC TAC GCC ACT GCC ACG 4133
Leu Ala Arg Glu Cys Gly Val Gln Leu Val Leu Tyr Ala Thr Ala Thr
1275 1280 1285

CCT CCT GGG TCC CCC ATG ACT CAG CAT CCG TCA ATC ATT GAG ACC AAA 4181
Pro Pro Gly Ser Pro Met Thr Gln His Pro Ser Ile Ile Glu Thr Lys
1290 1295 1300

TTG GAT GTG GGT GAG ATT CCC TTC TAT GGG CAT GGC ATA CCC CTC GAG 4229
Leu Asp Val Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly His Gly Ile Pro Leu Glu
1305 1310 1315

CGG ATG CGG ACC GGT AGG CAC CTC GTA TTC TGC TAC TCT AAG GCA GAG 4277
Arg Met Arg Thr Gly Arg His Leu Val Phe Cys Tyr Ser Lys Ala Glu

10

20

30

1320	1325	1330	
TGT GAG CGG CTA GCC GGT CAG TTT TCT GCT AGG GGA GTT AAC GCC ATA			4325
Cys Glu Arg Leu Ala Gly Gln Phe Ser Ala Arg Gly Val Asn Ala Ile			
1335	1340	1345	1350
GCC TAI TAC AGG GGA AAA GAC AGT TCT AIC ATC AAG GAC GGA GAT CTG			4373
Ala Tyr Tyr Arg Gly Lys Asp Ser Ser Ile Ile Lys Asp Gly Asp Leu			
	1355	1360	1365
GTG GTG TGC GCG ACC GAC GCG CTA TCC ACT GGA TAC ACT GGG AAC TTC			4421
Val Val Cys Ala Thr Asp Ala Leu Ser Thr Gly Tyr Thr Gly Asn Phe			
	1370	1375	1380
GAT TCT GTC ACC GAC TGT GGG TTA GTG GTG GAG GAG GTC GTC GAG GTG			4469
Asp Ser Val Thr Asp Cys Gly Leu Val Val Glu Glu Val Val Glu Val			
	1385	1390	1395
ACC CTT GAT CCC ACC ATT ACC ATC TCC CTG CGG ACA GTG CCC GCG TCG			4517
Thr Leu Asp Pro Thr Ile Thr Ile Ser Leu Arg Thr Val Pro Ala Ser			
	1400	1405	1410
GCA GAA CTG TCG ATG CAG AGA CGA GGA CGC ACG GGT AGA GGC AGG TCT			4565
Ala Glu Leu Ser Met Gln Arg Arg Gly Arg Thr Gly Arg Gly Arg Ser			
	1415	1420	1425
GGG CGC TAC TAC TAC GCC GGG GTC GGA AAG GCC CCC GCG GGT GTG GTG			4613
Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Gly Val Gly Lys Ala Pro Ala Gly Val Val			
	1435	1440	1445
CGC TCG GGT CCT GTC TGG TCG GCG GTG GAG GCC GGA GTG ACC TGG TAT			4661
Arg Ser Gly Pro Val Trp Ser Ala Val Glu Ala Gly Val Thr Trp Tyr			
	1450	1455	1460
GGA ATG GAA CCT GAC TTG ACA GCT AAC CTA TTG AGA CTT TAC GAC GAC			4709
Gly Met Glu Pro Asp Leu Thr Ala Asn Leu Leu Arg Leu Tyr Asp Asp			
	1465	1470	1475
TGC CCT TAC ACC GCA GCC GTC GCA GCT GAC ATC GGT GAA GCC GCG GTG			4757
Cys Pro Tyr Thr Ala Ala Val Ala Ala Asp Ile Gly Glu Ala Ala Val			
	1480	1485	1490
TTT TTC TCC GGG CTA GCC CCG TTG AGG ATG CAT CCC GAT GTT AGC TGG			4805
Phe Phe Ser Gly Leu Ala Pro Leu Arg Met His Pro Asp Val Ser Trp			
	1495	1500	1505
			1510

10

20

30

GCA AAA GTG CGC GGC GTC AAC TGG CCC CTC TTG GTG GGT GTT CAG CGG 4853
 Ala Lys Val Arg Gly Val Asn Trp Pro Leu Leu Val Gly Val Gln Arg
 1515 1520 1525

ACC ATG TGC CGG GAA ACA CTG TCT CCC GGA CCA TCG GAC GAC CCC CAA 4901
 Thr Met Cys Arg Glu Thr Leu Ser Pro Gly Pro Ser Asp Asp Pro Gln
 1530 1535 1540

TGG GCA GGT CTG AAG GGC CCG AAT CCT GTT CCA CTA CTG CTG AGG TGG 4949
 Trp Ala Gly Leu Lys Gly Pro Asn Pro Val Pro Leu Leu Leu Arg Trp
 1545 1550 1555

GGC AAT GAT TTA CCA TCA AAA GTG GCC GGC CAC CAC ATT GTT GAC GAC 4997
 Gly Asn Asp Leu Pro Ser Lys Val Ala Gly His His Ile Val Asp Asp
 1560 1565 1570

CTG GTT CGT AGG CTT GGT GTG GCG GAG GGT TAT GTC CGC TGC GAT GCG 5045
 Leu Val Arg Arg Leu Gly Val Ala Glu Gly Tyr Val Arg Cys Asp Ala
 1575 1580 1585 1590

GGG CCG ATC TTA ATG GTC GGC CTC GCT ATC GCG GGG GGG ATG ATC TAC 5093
 Gly Pro Ile Leu Met Val Gly Leu Ala Ile Ala Gly Gly Met Ile Tyr
 1595 1600 1605

GCA TCT TAC ACC GGG TCT TTA GTG GTG GTG ACA GAC TGG GAT GTA AAG 5141
 Ala Ser Tyr Thr Gly Ser Leu Val Val Val Thr Asp Trp Asp Val Lys
 1610 1615 1620

GGG GGT GGC AGC CCT CTT TAT CGG CAT GGA GAC CAG GCC ACG CCA CAG 5189
 Gly Gly Gly Ser Pro Leu Tyr Arg His Gly Asp Gln Ala Thr Pro Gln
 1625 1630 1635

CCG GTT GTG CAG GTC CCC CCG GTA GAC CAT CGG CCG GGG GGG GAG TCT 5237
 Pro Val Val Gln Val Pro Pro Val Asp His Arg Pro Gly Gly Glu Ser
 1640 1645 1650

GCG CCT TCG GAT GCC AAG ACA GTG ACA GAT GCG GTG GCG GCC ATC CAG 5285
 Ala Pro Ser Asp Ala Lys Thr Val Thr Asp Ala Val Ala Ala Ile Gln
 1655 1660 1665 1670

GTG GAT TGC GAT TGG TCA GTC ATG ACC CTG TCG ATC GGG GAA GTG CTG 5333
 Val Asp Cys Asp Trp Ser Val Met Thr Leu Ser Ile Gly Glu Val Leu
 1675 1680 1685

TCC TTG GCT CAG GCT AAA ACA GCT GAG GCC TAC ACG GCA ACC GCC AAG 5381
 Ser Leu Ala Gln Ala Lys Thr Ala Glu Ala Tyr Thr Ala Thr Ala Lys
 1690 1695 1700

10

20

30

TGG CTC GCT GGC TGC TAC ACG GGG ACG CGG GCC GTT CCC ACT GTT TCA 5429
 Trp Leu Ala Gly Cys Tyr Thr Gly Thr Arg Ala Val Pro Thr Val Ser
 1705 1710 1715

ATT GTT GAC AAG CTC TTT GCC GGA GGG TGG GCG GCT GTG GTT GGC CAC 5477
 Ile Val Asp Lys Leu Phe Ala Gly Gly Trp Ala Ala Val Val Gly His
 1720 1725 1730

TGT CAC AGC GTC ATA GCT GCG GCG GTG GCT GCC TAC GGG GCT TCC AGG 5525
 Cys His Ser Val Ile Ala Ala Ala Val Ala Ala Tyr Gly Ala Ser Arg
 1735 1740 1745 1750

AGT CCG CCG TTG GCA GCC GCG GCT TCC TAC CTG ATG GGA CTG GGC GTC 5573
 Ser Pro Pro Leu Ala Ala Ala Ala Ser Tyr Leu Met Gly Leu Gly Val
 1755 1760 1765

GGA GGC AAC GCT CAG ACG CGT TTG GCG TCT GCC CTC CTG TTG GGG GCC 5621
 Gly Gly Asn Ala Gln Thr Arg Leu Ala Ser Ala Leu Leu Leu Gly Ala
 1770 1775 1780

GCT GGC ACC GCC CTG GGC ACT CCC GTC GTG GGT TTA ACC ATG GCG GGG 5669
 Ala Gly Thr Ala Leu Gly Thr Pro Val Val Gly Leu Thr Met Ala Gly
 1785 1790 1795

GCG TTC ATG GGG GGT GCT AGC GTC TCT CCC TCC TTG GTC ACC ATC TTG 5717
 Ala Phe Met Gly Gly Ala Ser Val Ser Pro Ser Leu Val Thr Ile Leu
 1800 1805 1810

TTG GGG GCC GTG GGA GGC TGG GAG GGC GTC GTC AAC GCT GCT AGC CTT 5765
 Leu Gly Ala Val Gly Gly Trp Glu Gly Val Val Asn Ala Ala Ser Leu
 1815 1820 1825 1830

GTC TTT GAC TTC ATG GCG GGG AAA CTA TCG TCA GAA GAT CTG TGG TAC 5813
 Val Phe Asp Phe Met Ala Gly Lys Leu Ser Ser Glu Asp Leu Trp Tyr
 1835 1840 1845

GCC ATC CCA GTG CTC ACC AGC CCG GGG GCG GGC CTT GCG GGG ATC GCC 5861
 Ala Ile Pro Val Leu Thr Ser Pro Gly Ala Gly Leu Ala Gly Ile Ala
 1850 1855 1860

CTT GGG TTG GTG CTG TAC TCA GCT AAC AAC TCT GGT ACT ACC ACT TGG 5909
 Leu Gly Leu Val Leu Tyr Ser Ala Asn Asn Ser Gly Thr Thr Thr Trp
 1865 1870 1875

TTG AAC CGT CTG CTG ACT ACG TTA CCT AGG TCT TCT TGC ATC CCT GAC 5957
 Leu Asn Arg Leu Leu Thr Thr Leu Pro Arg Ser Ser Cys Ile Pro Asp

10

20

30

1880	1885	1890	
AGC TAT TIC CAA CAG GCC GAT TAC TGT GAC AAG GTC TCG GCC GTG CTT			6005
Ser Tyr Phe Gln Gln Ala Asp Tyr Cys Asp Lys Val Ser Ala Val Leu			
1895	1900	1905	1910
CGC CGA CIG AGC CTC ACC CGC ACT GTG GTG GCC CTA GTC AAT AGG GAA			6053
Arg Arg Leu Ser Leu Thr Arg Thr Val Val Ala Leu Val Asn Arg Glu			
	1915	1920	1925
CCC AAG GTG GAC GAG GTA CAG GTG GGG TAC GTC TGG GAT CTC TGG GAG			6101
Pro Lys Val Asp Glu Val Gln Val Gly Tyr Val Trp Asp Leu Trp Glu			
	1930	1935	1940
TGG ATC ATG CGT CAA GTG CGC ATG GTC ATG GCC AGG CTC CGG GCT CTC			6149
Trp Ile Met Arg Gln Val Arg Met Val Met Ala Arg Leu Arg Ala Leu			
	1945	1950	1955
TGC CCC GTG GTG TCA CTG CCT TTG TGG CAC TGC GGG GAG GGG TGG TCC			6197
Cys Pro Val Val Ser Leu Pro Leu Trp His Cys Gly Glu Gly Trp Ser			
	1960	1965	1970
GGA GAG TGG TTG TTG GAC GGC CAT GTG GAG AGT CGC TGT CTT TGC GGG			6245
Gly Glu Trp Leu Leu Asp Gly His Val Glu Ser Arg Cys Leu Cys Gly			
	1975	1980	1985
TGC GTG ATC ACC GGC GAT GTT TTC AAT GGG CAA CTC AAA GAG CCA GTT			6293
Cys Val Ile Thr Gly Asp Val Phe Asn Gly Gln Leu Lys Glu Pro Val			
	1995	2000	2005
TAC TCT ACA AAG TTG TGC CGG CAC TAT TGG ATG GGG ACC GTT CCT GTG			6341
Tyr Ser Thr Lys Leu Cys Arg His Tyr Trp Met Gly Thr Val Pro Val			
	2010	2015	2020
AAC ATG CTG GGT TAC GGC GAA ACA TCA CCC CTC TTG GCC TCT GAC ACC			6389
Asn Met Leu Gly Tyr Gly Glu Thr Ser Pro Leu Leu Ala Ser Asp Thr			
	2025	2030	2035
CCG AAG GTG GTG CCT TTT GGG ACG TCG GGC TGG GCT GAG GTG GTG GTG			6437
Pro Lys Val Val Pro Phe Gly Thr Ser Gly Trp Ala Glu Val Val Val			
	2040	2045	2050
ACC CCT ACC CAC GTG GTG ATC AGG AGA ACC TCT CCC TAC GAG TTG CTG			6485
Thr Pro Thr His Val Val Ile Arg Arg Thr Ser Pro Tyr Glu Leu Leu			
	2055	2060	2065
			2070

10

20

30

CGC CAA CAA ATC CTA TCA GCT GCA GTT GCT GAG CCC TAT TAT GTC GAC Arg Gln Gln Ile Leu Ser Ala Ala Val Ala Glu Pro Tyr Tyr Val Asp 2075 2080 2085	6533
GGC ATA CCG GTC TCA TGG GAC GCG GAC GCT CGT GCG CCT GCT ATG GTT Gly Ile Pro Val Ser Trp Asp Ala Asp Ala Arg Ala Pro Ala Met Val 2090 2095 2100	6581
TAT GGC CCI GGG CAA AGT GTT ACC ATT GAC GGG GAG CGC TAC ACC CTG Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Asp Gly Glu Arg Tyr Thr Leu 2105 2110 2115	6629
CCG CAT CAA CTG CGG CTC AGG AAT GTA GCG CCC TCT GAG GTT TCA TCC Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala Pro Ser Glu Val Ser Ser 2120 2125 2130	6677
GAG GTG TCC ATA GAC ATT GGG ACG GAG ACT GAA GAC TCA GAA CTG ACT Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr Glu Asp Ser Glu Leu Thr 2135 2140 2145 2150	6725
GAG GCC GAC CTG CCG CCG GCA GCT GCA GCC CTC CAG GCT ATC GAG AAT Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala Leu Gln Ala Ile Glu Asn 2155 2160 2165	6773
GCT GCG AGG ATT CTT GAG CCT CAT ATT GAT GTC ATC ATG GAG GAT TGC Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile Asp Val Ile Met Glu Asp Cys 2170 2175 2180	6821
AGT ACA CCC TCT CTT TGT GGT AGT AGC CGA GAG ATG CCT GTG TGG GGA Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly Ser Ser Arg Glu Met Pro Val Trp Gly 2185 2190 2195	6869
GAA GAC ATC CCC CGC ACT CCA TCG CCA GCA CTT ATC TCG GTT ACC GAG Glu Asp Ile Pro Arg Thr Pro Ser Pro Ala Leu Ile Ser Val Thr Glu 2200 2205 2210	6917
AGC AGC TCA GAT GAG AAG ACC CCG TCG GTG TCC TCC TCG CAG GAG GAT Ser Ser Ser Asp Glu Lys Thr Pro Ser Val Ser Ser Ser Gln Glu Asp 2215 2220 2225 2230	6965
ACC CCG TCC TCT GAC TCA TTC GAA GTC ATC CAA GAG TCT GAG ACA GCT Thr Pro Ser Ser Asp Ser Phe Glu Val Ile Gln Glu Ser Glu Thr Ala 2235 2240 2245	7013
GAA GGA GAG GAA AGT GTC TTC AAC GTG GCT CTT TCC GTA CTA GAA GCC	7061

10

20

30

Glu Gly Glu Glu Ser Val Phe Asn Val Ala Leu Ser Val Leu Glu Ala
 2250 2255 2260
 TTG TTT CCA CAG AGT GAT GCC ACT AGA AAG CTT ACC GTC AGG ATG AAT 7109
 Leu Phe Pro Gln Ser Asp Ala Thr Arg Lys Leu Thr Val Arg Met Asn
 2265 2270 2275
 TGC TGC GTT GAG AAG AGC GTC ACG CGC TTC TTT TCT TTG GGG CTG ACG 7157
 Cys Cys Val Glu Lys Ser Val Thr Arg Phe Phe Ser Leu Gly Leu Thr
 2280 2285 2290
 GTG GCT GAT GTG GCC AGT CTG TGT GAG ATG GAG ATC CAG AAC CAT ACA 7205
 Val Ala Asp Val Ala Ser Leu Cys Glu Met Glu Ile Gln Asn His Thr
 2295 2300 2305 2310
 GCC TAT TGT GAC AAG GTG CGC ACT CCG CTC GAA TTG CAA GTT GGG TGC 7253
 Ala Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr Pro Leu Glu Leu Gln Val Gly Cys
 2315 2320 2325
 TTG GTG GCC AAT GAA CTT ACC TTT GAA TGT GAT AAG TGT GAG GCT AGG 7301
 Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys Asp Lys Cys Glu Ala Arg
 2330 2335 2340
 CAA GAG ACT TTG GCC TCC TTC TCC TAT ATT TGG TCT GGG GTG CCA TTG 7349
 Gln Glu Thr Leu Ala Ser Phe Ser Tyr Ile Trp Ser Gly Val Pro Leu
 2345 2350 2355
 ACT AGG GCC ACA CCG GCT AAA CCA CCT GTG GTG AGG CCG GTG GGG TCC 7397
 Thr Arg Ala Thr Pro Ala Lys Pro Pro Val Val Arg Pro Val Gly Ser
 2360 2365 2370
 TTG TTG GTG GCT GAC ACC ACG AAA GTG TAT GTC ACA AAC CCG GAC AAT 7445
 Leu Leu Val Ala Asp Thr Thr Lys Val Tyr Val Thr Asn Pro Asp Asn
 2375 2380 2385 2390
 GTT GGG AGA AGA GTG GAC AAG GTG ACC TTC TGG CGC GCC CCC AGG GTC 7493
 Val Gly Arg Arg Val Asp Lys Val Thr Phe Trp Arg Ala Pro Arg Val
 2395 2400 2405
 CAT GAC AAA TAT CTC GTG GAC TCC ATC GAG CGT GCC AGG AGG GCG GCT 7541
 His Asp Lys Tyr Leu Val Asp Ser Ile Glu Arg Ala Arg Arg Ala Ala
 2410 2415 2420
 CAA GCC TGC CAA AGC ATG GGT TAC ACT TAT GAG GAA GCA ATA AGG ACT 7589
 Gln Ala Cys Gln Ser Met Gly Tyr Thr Tyr Glu Glu Ala Ile Arg Thr

10

20

30

2425	2430	2435	
GTT AGG CCA CAT GCT GCC ATG GGC TGG GGA TCT AAG GTG TCG CTC AAG			7637
Val Arg Pro His Ala Ala Met Gly Trp Gly Ser Lys Val Ser Val Lys			
2440	2445	2450	
GAC TTG GCC ACC CCT GCG GGG AAG ATG GCC GTC CAC GAC CGA CTT CAG			7685
Asp Leu Ala Thr Pro Ala Gly Lys Met Ala Val His Asp Arg Leu Gln			
2455	2460	2465	2470
GAG ATA CTT GAG GGG ACT CCG GTC CCT TTT ACT CTT ACT GTG AAA AAG			7733
Glu Ile Leu Glu Gly Thr Pro Val Pro Phe Thr Leu Thr Val Lys Lys			
2475	2480	2485	
GAG GTG TTC TTC AAA GAC CGT AAG GAG GAG AAG GCC CCC CGC CTC ATT			7781
Glu Val Phe Phe Lys Asp Arg Lys Glu Glu Lys Ala Pro Arg Leu Ile			
2490	2495	2500	
GTG TTC CCC CCC CTG GAC TTC CGG ATA GCT GAG AAG CTT ATC CTG GGA			7829
Val Phe Pro Pro Leu Asp Phe Arg Ile Ala Glu Lys Leu Ile Leu Gly			
2505	2510	2515	
GAC CCG GGG CGG GTG GCC AAG GCG GTG TTG GGG GGG GCT TAC GCC TTC			7877
Asp Pro Gly Arg Val Ala Lys Ala Val Leu Gly Gly Ala Tyr Ala Phe			
2520	2525	2530	
CAG TAC ACC CCA AAT CAG CGA GTT AAG GAG ATG CTC AAA CTG TGG GAG			7925
Gln Tyr Thr Pro Asn Gln Arg Val Lys Glu Met Leu Lys Leu Trp Glu			
2535	2540	2545	2550
TCA AAG AAA ACA CCT TGC GCC ATC TGT GTG GAC GCC ACT TGC TTC GAC			7973
Ser Lys Lys Thr Pro Cys Ala Ile Cys Val Asp Ala Thr Cys Phe Asp			
2555	2560	2565	
AGT AGC ATT ACT GAA GAG GAC GTG GCG CTG GAG ACA GAG CTG TAC GCT			8021
Ser Ser Ile Thr Glu Glu Asp Val Ala Leu Glu Thr Glu Leu Tyr Ala			
2570	2575	2580	
CTG GCC TCT GAC CAT CCA GAG TGG GTG CGA GCT TTG GGG AAG TAC TAT			8069
Leu Ala Ser Asp His Pro Glu Trp Val Arg Ala Leu Gly Lys Tyr Tyr			
2585	2590	2595	
GCC TCA GGA ACC ATG GTC ACC CCT GAG GGG GTT CCC GTA GGT GAG AGG			8117
Ala Ser Gly Thr Met Val Thr Pro Glu Gly Val Pro Val Gly Glu Arg			
2600	2605	2610	

10

20

30

30

Ile Ile Val Ala Leu His Gly Pro Ala Ala Leu Arg Val Thr Ala Asp
 2795 2800 2805

ACA ACT AAG ACA AAA ATG GAA GCT GGG AAG GTG CTG AGT GAC CTC AAG 8741
 Thr Thr Lys Thr Lys Met Glu Ala Gly Lys Val Leu Ser Asp Leu Lys
 2810 2815 2820

CTC CCT GGC CTA GCG GTC CAC CGA AAG AAG GCC GGA GCA CTG CGA ACA 8789
 Leu Pro Gly Leu Ala Val His Arg Lys Lys Ala Gly Ala Leu Arg Thr
 2825 2830 2835

CGC ATG CTT CGG TCG CGC GGT TGG GCC GAG TTG GCG AGG GGC CTG TTG 8837
 Arg Met Leu Arg Ser Arg Gly Trp Ala Glu Leu Ala Arg Gly Leu Leu
 2840 2845 2850

TGG CAT CCA GGC CTC CGG CTC CCT CCC CCT GAG ATT GCT GGT ATC CCG 8885
 Trp His Pro Gly Leu Arg Leu Pro Pro Pro Glu Ile Ala Gly Ile Pro
 2855 2860 2865 2870

GGG GGT TTC CCC CTC TCC CCC CCC TAC ATG GGG GTG GTG CAT CAA TTG 8933
 Gly Gly Phe Pro Leu Ser Pro Pro Tyr Met Gly Val Val His Gln Leu
 2875 2880 2885

GAT TTT ACA AGC CAG AGG AGT CGC TGG CGG TGG CTG GGG TTC TTA GCC 8981
 Asp Phe Thr Ser Gln Arg Ser Arg Trp Arg Trp Leu Gly Phe Leu Ala
 2890 2895 2900

CTG CTC ATC GTA GCC CTC TTC GGG TGAACATAAT TCATCTGTTG CCGCAAGGTC 9035
 Leu Leu Ile Val Ala Leu Phe Gly
 2905 2910

CAGTGACTGA TCATCACTGG AGGAGGTTCC CGCCCTCCCC GCCCCAGGGG TCTCCCCGCT 9095

GGGTAAAA 9103

10

20

(2)配列番号183の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 2910アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(xi)配列: 配列番号183:

30

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

10

20

30

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

10

20

30

305

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

10

20

30

705 710 715 720
 Ala Thr Arg Gly Arg Thr Ser Val Leu Gly Ala Glu Phe Cys Phe Asp
 725 730 735
 Val Thr Phe Glu Val Asp Thr Ser Val Leu Gly Trp Val Val Ala Ser
 740 745 750
 Val Val Ala Trp Ala Ile Ala Leu Leu Ser Ser Met Ser Ala Gly Gly
 755 760 765
 Trp Arg His Lys Ala Val Ile Tyr Arg Thr Trp Cys Lys Gly Tyr Gln
 770 775 780
 Ala Ile Arg Gln Arg Val Val Arg Ser Pro Leu Gly Glu Gly Arg Pro
 785 790 795 800
 Thr Lys Pro Leu Thr Phe Ala Trp Cys Leu Ala Ser Tyr Ile Trp Pro
 805 810 815
 Asp Ala Val Met Met Val Val Val Ala Leu Val Leu Leu Phe Gly Leu
 820 825 830
 Phe Asp Ala Leu Asp Trp Ala Leu Glu Glu Leu Leu Val Ser Arg Pro
 835 840 845
 Ser Leu Arg Arg Leu Ala Arg Val Val Glu Cys Cys Val Met Ala Gly
 850 855 860
 Glu Lys Ala Thr Thr Val Arg Leu Val Ser Lys Met Cys Ala Arg Gly
 865 870 875 880
 Ala Tyr Leu Phe Asp His Met Gly Ser Phe Ser Arg Ala Val Lys Glu
 885 890 895
 Arg Leu Leu Glu Trp Asp Ala Ala Leu Glu Pro Leu Ser Phe Thr Arg
 900 905 910
 Thr Asp Cys Arg Ile Ile Arg Asp Ala Ala Arg Thr Leu Ala Cys Gly
 915 920 925
 Gln Cys Val Met Gly Leu Pro Val Val Ala Arg Arg Gly Asp Glu Val
 930 935 940
 Leu Ile Gly Val Phe Gln Asp Val Asn His Leu Pro Pro Gly Phe Val

10

20

30

945 950 955 960
 Pro Thr Ala Pro Val Val Ile Arg Arg Cys Gly Lys Gly Phe Leu Gly
 965 970 975
 Val Thr Lys Ala Ala Leu Thr Gly Arg Asp Pro Asp Leu His Pro Gly
 980 985 990
 Asn Val Met Val Leu Gly Thr Ala Thr Ser Arg Ser Met Gly Thr Cys
 995 1000 1005
 Leu Asn Gly Leu Leu Phe Thr Thr Phe His Gly Ala Ser Ser Arg Thr
 1010 1015 1020
 Ile Ala Thr Pro Val Gly Ala Leu Asn Pro Arg Trp Trp Ser Ala Ser
 1025 1030 1035 1040
 Asp Asp Val Thr Val Tyr Pro Leu Pro Asp Gly Ala Thr Ser Leu Thr
 1045 1050 1055
 Pro Cys Thr Cys Gln Ala Glu Ser Cys Trp Val Ile Arg Ser Asp Gly
 1060 1065 1070
 Ala Leu Cys His Gly Leu Ser Lys Gly Asp Lys Val Glu Leu Asp Val
 1075 1080 1085
 Ala Met Glu Val Ser Asp Phe Arg Gly Ser Ser Gly Ser Pro Val Leu
 1090 1095 1100
 Cys Asp Glu Gly His Ala Val Gly Met Leu Val Ser Val Leu His Ser
 1105 1110 1115 1120
 Gly Gly Arg Val Thr Ala Ala Arg Phe Thr Arg Pro Trp Thr Gln Val
 1125 1130 1135
 Pro Thr Asp Ala Lys Thr Thr Thr Glu Pro Pro Pro Val Pro Ala Lys
 1140 1145 1150
 Gly Val Phe Lys Glu Ala Pro Leu Phe Met Pro Thr Gly Ala Gly Lys
 1155 1160 1165
 Ser Thr Arg Val Pro Leu Glu Tyr Gly Asn Met Gly His Lys Val Leu
 1170 1175 1180
 Ile Leu Asn Pro Ser Val Ala Thr Val Arg Ala Met Gly Pro Tyr Met

10

20

30

1185 1190 1195 1200
 Glu Arg Leu Ala Gly Lys His Pro Ser Ile Tyr Cys Gly His Asp Thr
 1205 1210 1215
 Thr Ala Phe Thr Arg Ile Thr Asp Ser Pro Leu Thr Tyr Ser Thr Tyr
 1220 1225 1230
 Gly Arg Phe Leu Ala Asn Pro Arg Gln Met Leu Arg Gly Val Ser Val
 1235 1240 1245
 Val Ile Cys Asp Glu Cys His Ser His Asp Ser Thr Val Leu Leu Gly
 1250 1255 1260
 Ile Gly Arg Val Arg Glu Leu Ala Arg Glu Cys Gly Val Gln Leu Val
 1265 1270 1275 1280
 Leu Tyr Ala Thr Ala Thr Pro Pro Gly Ser Pro Met Thr Gln His Pro
 1285 1290 1295
 Ser Ile Ile Glu Thr Lys Leu Asp Val Gly Glu Ile Pro Phe Tyr Gly
 1300 1305 1310
 His Gly Ile Pro Leu Glu Arg Met Arg Thr Gly Arg His Leu Val Phe
 1315 1320 1325
 Cys Tyr Ser Lys Ala Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Gln Phe Ser Ala
 1330 1335 1340
 Arg Gly Val Asn Ala Ile Ala Tyr Tyr Arg Gly Lys Asp Ser Ser Ile
 1345 1350 1355 1360
 Ile Lys Asp Gly Asp Leu Val Val Cys Ala Thr Asp Ala Leu Ser Thr
 1365 1370 1375
 Gly Tyr Thr Gly Asn Phe Asp Ser Val Thr Asp Cys Gly Leu Val Val
 1380 1385 1390
 Glu Glu Val Val Glu Val Thr Leu Asp Pro Thr Ile Thr Ile Ser Leu
 1395 1400 1405
 Arg Thr Val Pro Ala Ser Ala Glu Leu Ser Met Gln Arg Arg Gly Arg
 1410 1415 1420
 Thr Gly Arg Gly Arg Ser Gly Arg Tyr Tyr Tyr Ala Gly Val Gly Lys

10

20

30

1425 1430 1435 1440
 Ala Pro Ala Gly Val Val Arg Ser Gly Pro Val Trp Ser Ala Val Glu
 1445 1450 1455
 Ala Gly Val Thr Trp Tyr Gly Met Glu Pro Asp Leu Thr Ala Asn Leu
 1460 1465 1470
 Leu Arg Leu Tyr Asp Asp Cys Pro Tyr Thr Ala Ala Val Ala Ala Asp
 1475 1480 1485
 Ile Gly Glu Ala Ala Val Phe Phe Ser Gly Leu Ala Pro Leu Arg Met
 1490 1495 1500
 His Pro Asp Val Ser Trp Ala Lys Val Arg Gly Val Asn Trp Pro Leu
 1505 1510 1515 1520
 Leu Val Gly Val Gln Arg Thr Met Cys Arg Glu Thr Leu Ser Pro Gly
 1525 1530 1535
 Pro Ser Asp Asp Pro Gln Trp Ala Gly Leu Lys Gly Pro Asn Pro Val
 1540 1545 1550
 Pro Leu Leu Leu Arg Trp Gly Asn Asp Leu Pro Ser Lys Val Ala Gly
 1555 1560 1565
 His His Ile Val Asp Asp Leu Val Arg Arg Leu Gly Val Ala Glu Gly
 1570 1575 1580
 Tyr Val Arg Cys Asp Ala Gly Pro Ile Leu Met Val Gly Leu Ala Ile
 1585 1590 1595 1600
 Ala Gly Gly Met Ile Tyr Ala Ser Tyr Thr Gly Ser Leu Val Val Val
 1605 1610 1615
 Thr Asp Trp Asp Val Lys Gly Gly Gly Ser Pro Leu Tyr Arg His Gly
 1620 1625 1630
 Asp Gln Ala Thr Pro Gln Pro Val Val Gln Val Pro Pro Val Asp His
 1635 1640 1645
 Arg Pro Gly Gly Glu Ser Ala Pro Ser Asp Ala Lys Thr Val Thr Asp
 1650 1655 1660
 Ala Val Ala Ala Ile Gln Val Asp Cys Asp Trp Ser Val Met Thr Leu

10

20

30

1665 1670 1675 1680
 Ser Ile Gly Glu Val Leu Ser Leu Ala Gln Ala Lys Thr Ala Glu Ala
 1685 1690 1695
 Tyr Thr Ala Thr Ala Lys Trp Leu Ala Gly Cys Tyr Thr Gly Thr Arg
 1700 1705 1710
 Ala Val Pro Thr Val Ser Ile Val Asp Lys Leu Phe Ala Gly Gly Trp
 1715 1720 1725
 Ala Ala Val Val Gly His Cys His Ser Val Ile Ala Ala Val Ala
 1730 1735 1740
 Ala Tyr Gly Ala Ser Arg Ser Pro Pro Leu Ala Ala Ala Ala Ser Tyr
 1745 1750 1755 1760
 Leu Met Gly Leu Gly Val Gly Gly Asn Ala Gln Thr Arg Leu Ala Ser
 1765 1770 1775
 Ala Leu Leu Leu Gly Ala Ala Gly Thr Ala Leu Gly Thr Pro Val Val
 1780 1785 1790
 Gly Leu Thr Met Ala Gly Ala Phe Met Gly Gly Ala Ser Val Ser Pro
 1795 1800 1805
 Ser Leu Val Thr Ile Leu Leu Gly Ala Val Gly Gly Trp Glu Gly Val
 1810 1815 1820
 Val Asn Ala Ala Ser Leu Val Phe Asp Phe Met Ala Gly Lys Leu Ser
 1825 1830 1835 1840
 Ser Glu Asp Leu Trp Tyr Ala Ile Pro Val Leu Thr Ser Pro Gly Ala
 1845 1850 1855
 Gly Leu Ala Gly Ile Ala Leu Gly Leu Val Leu Tyr Ser Ala Asn Asn
 1860 1865 1870
 Ser Gly Thr Thr Thr Trp Leu Asn Arg Leu Leu Thr Thr Leu Pro Arg
 1875 1880 1885
 Ser Ser Cys Ile Pro Asp Ser Tyr Phe Gln Gln Ala Asp Tyr Cys Asp
 1890 1895 1900
 Lys Val Ser Ala Val Leu Arg Arg Leu Ser Leu Thr Arg Thr Val Val

10

20

30

1905 1910 1915 1920
 Ala Leu Val Asn Arg Glu Pro Lys Val Asp Glu Val Gln Val Gly Tyr
 1925 1930 1935
 Val Trp Asp Leu Trp Glu Trp Ile Met Arg Gln Val Arg Met Val Met
 1940 1945 1950
 Ala Arg Leu Arg Ala Leu Cys Pro Val Val Ser Leu Pro Leu Trp His
 1955 1960 1965
 Cys Gly Glu Gly Trp Ser Gly Glu Trp Leu Leu Asp Gly His Val Glu
 1970 1975 1980
 Ser Arg Cys Leu Cys Gly Cys Val Ile Thr Gly Asp Val Phe Asn Gly
 1985 1990 1995 2000
 Gln Leu Lys Glu Pro Val Tyr Ser Thr Lys Leu Cys Arg His Tyr Trp
 2005 2010 2015
 Met Gly Thr Val Pro Val Asn Met Leu Gly Tyr Gly Glu Thr Ser Pro
 2020 2025 2030
 Leu Leu Ala Ser Asp Thr Pro Lys Val Val Pro Phe Gly Thr Ser Gly
 2035 2040 2045
 Trp Ala Glu Val Val Val Thr Pro Thr His Val Val Ile Arg Arg Thr
 2050 2055 2060
 Ser Pro Tyr Glu Leu Leu Arg Gln Gln Ile Leu Ser Ala Ala Val Ala
 2065 2070 2075 2080
 Glu Pro Tyr Tyr Val Asp Gly Ile Pro Val Ser Trp Asp Ala Asp Ala
 2085 2090 2095
 Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser Val Thr Ile Asp
 2100 2105 2110
 Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn Val Ala
 2115 2120 2125
 Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr Glu Thr
 2130 2135 2140
 Glu Asp Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala Ala Ala

10

20

30

2145 2150 2155 2160
 Leu Gln Ala Ile Glu Asn Ala Ala Arg Ile Leu Glu Pro His Ile Asp
 2165 2170 2175
 Val Ile Met Glu Asp Cys Ser Thr Pro Ser Leu Cys Gly Ser Ser Arg
 2180 2185 2190
 Glu Met Pro Val Trp Gly Glu Asp Ile Pro Arg Thr Pro Ser Pro Ala
 2195 2200 2205
 Leu Ile Ser Val Thr Glu Ser Ser Ser Asp Glu Lys Thr Pro Ser Val
 2210 2215 2220
 Ser Ser Ser Gln Glu Asp Thr Pro Ser Ser Asp Ser Phe Glu Val Ile
 2225 2230 2235 2240
 Gln Glu Ser Glu Thr Ala Glu Gly Glu Glu Ser Val Phe Asn Val Ala
 2245 2250 2255
 Leu Ser Val Leu Glu Ala Leu Phe Pro Gln Ser Asp Ala Thr Arg Lys
 2260 2265 2270
 Leu Thr Val Arg Met Asn Cys Cys Val Glu Lys Ser Val Thr Arg Phe
 2275 2280 2285
 Phe Ser Leu Gly Leu Thr Val Ala Asp Val Ala Ser Leu Cys Glu Met
 2290 2295 2300
 Glu Ile Gln Asn His Thr Ala Tyr Cys Asp Lys Val Arg Thr Pro Leu
 2305 2310 2315 2320
 Glu Leu Gln Val Gly Cys Leu Val Gly Asn Glu Leu Thr Phe Glu Cys
 2325 2330 2335
 Asp Lys Cys Glu Ala Arg Gln Glu Thr Leu Ala Ser Phe Ser Tyr Ile
 2340 2345 2350
 Trp Ser Gly Val Pro Leu Thr Arg Ala Thr Pro Ala Lys Pro Pro Val
 2355 2360 2365
 Val Arg Pro Val Gly Ser Leu Leu Val Ala Asp Thr Thr Lys Val Tyr
 2370 2375 2380
 Val Thr Asn Pro Asp Asn Val Gly Arg Arg Val Asp Lys Val Thr Phe

10

20

30

2385 2390 2395 2400
 Trp Arg Ala Pro Arg Val His Asp Lys Tyr Leu Val Asp Ser Ile Glu
 2405 2410 2415
 Arg Ala Arg Arg Ala Ala Gln Ala Cys Gln Ser Met Gly Tyr Thr Tyr
 2420 2425 2430
 Glu Glu Ala Ile Arg Thr Val Arg Pro His Ala Ala Met Gly Trp Gly
 2435 2440 2445
 Ser Lys Val Ser Val Lys Asp Leu Ala Thr Pro Ala Gly Lys Met Ala
 2450 2455 2460
 Val His Asp Arg Leu Gln Glu Ile Leu Glu Gly Thr Pro Val Pro Phe
 2465 2470 2475 2480
 Thr Leu Thr Val Lys Lys Glu Val Phe Phe Lys Asp Arg Lys Glu Glu
 2485 2490 2495
 Lys Ala Pro Arg Leu Ile Val Phe Pro Pro Leu Asp Phe Arg Ile Ala
 2500 2505 2510
 Glu Lys Leu Ile Leu Gly Asp Pro Gly Arg Val Ala Lys Ala Val Leu
 2515 2520 2525
 Gly Gly Ala Tyr Ala Phe Gln Tyr Thr Pro Asn Gln Arg Val Lys Glu
 2530 2535 2540
 Met Leu Lys Leu Trp Glu Ser Lys Lys Thr Pro Cys Ala Ile Cys Val
 2545 2550 2555 2560
 Asp Ala Thr Cys Phe Asp Ser Ser Ile Thr Glu Glu Asp Val Ala Leu
 2565 2570 2575
 Glu Thr Glu Leu Tyr Ala Leu Ala Ser Asp His Pro Glu Trp Val Arg
 2580 2585 2590
 Ala Leu Gly Lys Tyr Tyr Ala Ser Gly Thr Met Val Thr Pro Glu Gly
 2595 2600 2605
 Val Pro Val Gly Glu Arg Tyr Cys Arg Ser Ser Gly Val Leu Thr Thr
 2610 2615 2620
 Ser Ala Ser Asn Cys Leu Thr Cys Tyr Ile Lys Val Lys Ala Ala Cys

10

20

30

2625 2630 2635 2640
 Glu Arg Val Gly Leu Lys Asn Val Ser Leu Leu Ile Ala Gly Asp Asp
 2645 2650 2655
 Cys Leu Ile Ile Cys Glu Arg Pro Val Cys Asp Pro Cys Asp Ala Leu
 2660 2665 2670
 Gly Arg Ala Leu Ala Ser Tyr Gly Tyr Ala Cys Glu Pro Ser Tyr His
 2675 2680 2685
 Ala Ser Leu Asp Thr Ala Pro Phe Cys Ser Thr Trp Leu Ala Glu Cys
 2690 2695 2700
 Asn Ala Asp Gly Lys Arg His Phe Phe Leu Thr Thr Asp Phe Arg Arg
 2705 2710 2715 2720
 Pro Leu Ala Arg Met Ser Ser Glu Tyr Ser Asp Pro Met Ala Ser Ala
 2725 2730 2735
 Ile Gly Tyr Ile Leu Leu Tyr Pro Trp His Pro Ile Thr Arg Trp Val
 2740 2745 2750
 Ile Ile Pro His Val Leu Thr Cys Ala Phe Arg Gly Gly Gly Thr Pro
 2755 2760 2765
 Ser Asp Pro Val Trp Cys Gln Val His Gly Asn Tyr Tyr Lys Phe Pro
 2770 2775 2780
 Leu Asp Lys Leu Pro Asn Ile Ile Val Ala Leu His Gly Pro Ala Ala
 2785 2790 2795 2800
 Leu Arg Val Thr Ala Asp Thr Thr Lys Thr Lys Met Glu Ala Gly Lys
 2805 2810 2815
 Val Leu Ser Asp Leu Lys Leu Pro Gly Leu Ala Val His Arg Lys Lys
 2820 2825 2830
 Ala Gly Ala Leu Arg Thr Arg Met Leu Arg Ser Arg Gly Trp Ala Glu
 2835 2840 2845
 Leu Ala Arg Gly Leu Leu Trp His Pro Gly Leu Arg Leu Pro Pro Pro
 2850 2855 2860
 Glu Ile Ala Gly Ile Pro Gly Gly Phe Pro Leu Ser Pro Pro Tyr Met

10

20

30

2865 2870 2875 2880
Gly Val Val His Gln Leu Asp Phe Thr Ser Gln Arg Ser Arg Trp Arg
 2885 2890 2895
Trp Leu Gly Phe Leu Ala Leu Leu Ile Val Ala Leu Phe Gly
 2900 2905 2910

(2)配列番号184の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 39塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 両形態
- (D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GV5446IRT

(xi)配列: 配列番号184:

CGGTCCCTCG AACTCCAGCG AGTCITTTTT TTTTTTTT

39

(2)配列番号185の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 70アミノ酸
- (B)型: アミノ酸
- (C)鎖の数: 二本鎖
- (D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: タンパク質

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: T55806 由来 GE-CAP

(xi)配列: 配列番号185:

Met Ser Leu Leu Thr Asn Arg Phe Ile Arg Arg Val Asp Lys Asp Gln
1 5 10 15

Trp Gly Pro Gly Val Thr Gly Thr Asp Pro Glu Pro Cys Pro Ser Arg
20 25 30

Trp Ala Gly Lys Cys Met Gly Pro Pro Ser Ser Ala Ala Ala Cys Ser
35 40 45

Arg Gly Ser Pro Arg Ile Leu Arg Val Arg Ala Gly Gly Ile Ser Leu
50 55 60

10

20

30

Phe Tyr Thr Ile Met Ala
65 70

(2)配列番号186の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 401塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 二本鎖
- (D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-S59 変異体

(xi)配列: 配列番号186:

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGIA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTGGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTTACCCACC      240
TGGGCAAACG ACGCCACGCT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGCCTCTCT TGGCCAATAG      300
GTTTATCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GCTTGGGGAA GGACCTCAAG      360
CCCTGCCCTT CCCGGTGGGG CGGGAATGC ATGGGGCCAC C                        401

```

10

20

(2)配列番号187の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 401塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 二本鎖
- (D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-S368 変異体

(xi)配列: 配列番号187:

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC AACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120

```

30

AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC 180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTTACCCACC 240
CGGGCAAACG ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
GCTTAGCCCG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GCTTGGAGAG GGACTCCAAG 360
TCCTGCCCTT CCCGGTGGGC CGGGAATGC ATGGGGCCAC C 401

10

(2)配列番号188の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:402塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:二本鎖

(D)トポロジー:不明

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイボセティカル:N0

(iv)アンチセンス:N0

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-S309 変異体

(xi)配列: 配列番号188:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC 60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC CTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG 120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCATGCGGCG AGAACGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC 180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTTACCCACC 240
TGGGCAAACG ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
GTTTATCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GTCACGGGGA AGGACCCCGG 360
ATCCTGCCCT TCCCGGTGGG CCGGGAATG CATGGGGCCA CC 402

20

30

(2)配列番号189の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:402塩基対

(B)型:核酸

- (C)鎖の数：二本鎖
 (D)トポロジー：不明
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイポセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：HGV-FZ 変異体
 (xi)配列：配列番号 1 8 9：

10

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCGTAAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GCTACCCACC      240
TGGGCAAACG ACGCCCATGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG      300
GATTCGTCGG GCGAGTTGAC AAGGACCACT GGGGGCCGGG GGCTGGGGA AGGACCCAG      360
ACCTTCCCTT TCCCGGTGGG ACGGGAATG CATGGGGCCA CC                        402

```

20

(2)配列番号 1 9 0 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：401塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：二本鎖
 (D)トポロジー：不明
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイポセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：HGV-G21 変異体
 (xi)配列：配列番号 1 9 0：

30

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCGTAAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGTCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGACC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTTACCCACC      240

```

TGGGCAAACG ACGCCACAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGCTCTCT TGACCAATAG 300
 GCTTAGCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GCTTGGGGAA GGACCCCAAG 360
 CCCTGCCCTT CCCGGTGGGC CGGGAAATGC ATGGGGCCAC C 401

(2)配列番号191の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 402塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 二本鎖
- (D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-G23 変異体

(xi)配列: 配列番号191:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC AACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC 60
 AGGGTTGGTA GGTGTAAT CCCGGTCACC TTGTTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG 120
 AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCGAG GTGTTGGCCC 180
 TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACATCAGG CATC~CGTTA AACCGAGCCC GTTACCCGCC 240
 TGGGCTAACG ACGCCACAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGCTCTCT TGACCAATAG 300
 GTTATCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GTTACGGGA AGGACCCCGA 360
 ACCCTGCCCT TCCCGGCGGA CCGGAAATG CATGGGGCCA CC 402

(2)配列番号192の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 405塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 二本鎖
- (D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：HGV-G59 変異体

(xi)配列：配列番号 1 9 2：

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGCC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGGG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACTGAGCCC GTAACCCACC      240
TGGGCAAACG ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGCCTCTCT TGGCCAATAG      300
GGATTATTCC CGCGAGTTG GCAAGGACCA GTGGGGGCGG GGAGCTACAG AGAAGGACTC      360
TGAGCTCTGC CCTTCCCGGT GGAACGGGAA ATGCATGGGG CCACC                        405

```

10

(2)配列番号 1 9 3 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：402塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：二本鎖

(D)トポロジー：不明

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：HGV-E36 変異体

(xi)配列：配列番号 1 9 3：

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC ACTACCCACC      240
TGGGCAAACG ACGCCACGT ACGGTCTACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG      300
GCTAAGCCGG CGAGTTGACA AAGACCACTG GGGGCCGGGG GTCACAGGGA TGGACCCTGG      360

```

20

30

ACCCTGCCCT TCCCGGTGGA GTGGGAAAT CATGGGGCCA CC

402

(2)配列番号194の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 402塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 二本鎖
- (D)トポロジー: 不明

10

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-R38730 変異体

(xi)配列: 配列番号194:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC

60

AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG

120

AAGGTIAAGG ATCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTGGGCC

180

TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTATCCCACC

240

TGGGCRAACG ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG

300

GTTCGTCGGG CGAGTTGACA AGGACCACTG GGGGCCGGGG GTTCGGGGGA AGGACCCCGA

360

ACTCTGCCCT TCCCGGTGGG CCGGGAATG CATGGGGCCA CC

402

20

(2)配列番号195の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ: 401塩基対
- (B)型: 核酸
- (C)鎖の数: 二本鎖
- (D)トポロジー: 不明

30

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-G281 変異体

(xi)配列: 配列番号195:

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGTCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGACC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTTACCCACC      240
TGGGCAAACG ACGCCACGTC ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG      300
GCTTAGCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GCTTGGGGAA GGACCCCAAG      360
CCCTGCCCTT CCCGGTGGGC CGGGAATGC ATGGGGCCAC C      401

```

10

(2)配列番号196の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:402塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:二本鎖

(D)トポロジー:不明

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-G157変異体

(xi)配列:配列番号196:

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACCCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGCC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGGG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGTGGCG AGACAGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGACC GACACCCACC      240
TGGGCAAACG ACGCCACGTC ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG      300
GCTTTGCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGT GCTGGGGGAA GGACCCCTT      360
GCACCGCCCT TCCCGTGGG ACGGGAATG CATGGGGCCA CC      402

```

20

30

(2)配列番号197の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 401塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-G154 変異体

(xi)配列: 配列番号197:

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGCTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC CTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTAC GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGCTGGCCT      180
TACCGGTGTG AATAAAGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC      240
TGGGCAAAACG ACGCCACAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAGTAG      300
GTTTAACCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG CCTTGAGAT GGAATCCAAG      360
TCCTGCCCTT CCCGGTGGGC CGGGAAATGC ATGGGGCCAC C                      401

```

10

20

(2)配列番号198の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 401塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-G213 変異体

(xi)配列: 配列番号198:

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC AACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60

```

30

AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG 120
 AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGTCC 180
 TACCGGTGGG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC 240
 TGGGCAAACG ACGCCACGT ATGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGCCTCTCT TGGCCAATAG 300
 GTTATCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GTTCGGGGAA GGACCCCGTA 360
 CCCTGCCCTT CCCGGTGGAA CGGGAAATGC ATGGGGCCAC C 401

10

(2)配列番号199の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 401塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-G204 変異体

(xi)配列: 配列番号199:

20

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC 60
 AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG 120
 AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC 180
 TACCGGTGTT AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC 240
 TGGGCAAACG ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
 GCTTAGCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GCCTGGAGAG GGAATCCAGG 360
 TCCTGCCCTT CCCGGTGGGC CGGGAAATGC ATGGGGCCAC C 401

30

(2)配列番号200の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 402塩基対

(B)型: 核酸

- (C)鎖の数：二本鎖
 (D)トポロジー：不明
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：HGV-G191 変異体
 (xi)配列：配列番号 2 0 0：

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC CTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGG ATCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGCTA AACCGAGCCC GTATCCCACC      240
TGGGCAAAACG ACGCCACAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG      300
GTTATCCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGAG GTTACGGGGA AGGACCCCGA      360
GCCICGCCCT TCCCGGTGGG CCGGGAATG CATGGGGCCA CC                          402

```

10

20

(2)配列番号 2 0 1 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：402塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：二本鎖
 (D)トポロジー：不明
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：HGV-G299変異体

30

(xi)配列：配列番号 2 0 1：

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC      240

```

TGGGC~~AA~~ACG ACGCC~~C~~ACGC ACGGTCCAG TCGCCCTTCA ATGCCTCTCT TGGCCAATAG 300
 GAGTATCCGG CGAGTTGACA AGGACCA~~GT~~G GGGGCCGGGA GTCACGGGGA TGGACCCCGG 360
 GCTCTGCCCT TCCCGGTGGA ACGGGAAATG CATGGGGCCA CC 402

(2)配列番号202の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 402塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-T56957 変異体

(xi)配列: 配列番号202:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC 60
 AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG 120
 AAGSTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC 180
 TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC ATCACCACCC 240
 TGGGC~~AA~~ACG ACGCC~~C~~ACGT ACGGTCCAG TCGCCCTACA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
 GCTTAGCCGG CGAGTTGACA AGGACCA~~GT~~G GGGGCCGGG GTCACAGGGA TGGACCCTGG 360
 GCCCTGCCCT TCCCGGTGGG GTGGGAAATG CATGGGGCCA CC 402

(2)配列番号203の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 401塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：HGV-C01698 変異体

(xi)配列：配列番号 2 0 3：

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC      240
TGGGCAAACG ACGCCACAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG      300
GCTTAGCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GCTTGGAGAT GGAATCCAAG      360
TCCTGCCCTT CCCGGTGGGC CGGGAATGC ATGGGGCCAC C      401

```

10

(2)配列番号 2 0 4 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：402塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：二本鎖

(D)トポロジー：不明

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：HGV-T27034 変異体

(xi)配列：配列番号 2 0 4：

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC ATTTCCCGCC      240
TGGGCTAACG ACGCCACAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG      300
GTTTATCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGA GTCAGTGGGA TGGACCCAGG      360
GCTCTGCCCT TCCCGGCGGG GTGGGAAAAG CATGGGGCCA CC      402

```

20

30

(2)配列番号205の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 401塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-E57963 変異体

(xi)配列: 配列番号205:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC	60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG	120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCGCGAG GTGTGGGCC	180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC	240
TGGGCAAACG ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG	300
GCTTAGCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GCTTGGAGAA GGA CTCCAAG	360
TCCTGCCCTT CCCGGTGGGC CGGGAATGC ATGGGGCCAC C	401

(2)配列番号206の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 401塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-R37166 変異体

(xi)配列: 配列番号206:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC 60
 AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG 120
 AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC 180
 TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTAACCCGCC 240
 TGGGCAAACG ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
 GTTTAACCGG CGAGTTGACA AGGACCAAGT GGGGCCGGGG CCTTGAGAGT GGAATCCAAG 360
 TCCTGCCCTT CCCGGCGGGC CGGGAATGC ATGGGGCCAC C 401

10

(2)配列番号 207 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 404塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-B5 変異体

(xi)配列: 配列番号 207:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC 60
 AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGGG 120
 AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC 180
 TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC 240
 TGGGCTAACG ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
 GCTTTTGTCC GCGGAGTTGA CAAGGACCAG TGGGGGCCGG GGGTTATGGG GAAGACCCC 360
 AAACCTGTCC CTCCCGGTG GGCCGGGAAA TGCATGGGGC CACC 404

20

30

(2)配列番号208の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:402塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:二本鎖

(D)トポロジー:不明

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-B33 変異体

(xi)配列: 配列番号208:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC	60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC CTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG	120
AAGGTTAAGA TTCCTCTGT GCCTGCGGCG AGACGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC	180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTTCCCCGCC	240
TGGGCAAACG ACGCCACGT ACGGTCCAG TCGCCCTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG	300
GTTTATCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG ATCATGGGGA AGGACCCAG	360
ATCTGCCCC TCCCGGCGGG CCGGAAATG CATGGGGCCA CC	402

10

20

(2)配列番号209の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:401塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:二本鎖

(D)トポロジー:不明

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-FH010 変異体

(xi)配列: 配列番号209:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACCCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGCC	60

30

AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGGG 120
 AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGTGGCG AGACACGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC 180
 TACCGGTGTG AATAAGGGCC CCACGTCAGG CTCGTCGTTA AACTGAGACC GACACCCACC 240
 TGGGCAAACG ACGCCACAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
 GCTTTGCCCG CGAGTTGACA AGGACCAAGT GGGGCCGGGG GCTGGGGGAA GGACCCACAG 360
 TCCTGCCCTT CCCGGTGGGA CGGGAATGC ATGGGGCCAC C 401

10

(2)配列番号 2 1 0 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 401塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-PNF2161 変異体

(xi)配列: 配列番号 2 1 0:

20

AGACGAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC 60
 AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG 120
 AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACACGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC 180
 TACCGGTGGG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTTACCCACC 240
 TGGGCAAACG ACGCCACAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
 GCGTAGCCCG CGAGTTGACA AGGACCAAGT GGGGCCGGGG GCTTGGAGAG GGACTCCAAG 360
 TCCCGCCCTT CCCGGTGGGC CGGGAATGC ATGGGGCCAC C 401

30

(2)配列番号 2 1 1 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 402塩基対

(B)型: 核酸

- (C)鎖の数：二本鎖
 (D)トポロジー：不明
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：HGV-JC 変異体
 (xi)配列：配列番号 2 1 1：

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGGG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTAACCCGCC      240
TGGGCAAACG ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCGCTCT TGACCAATAG      300
GCTTAGCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG TTTATGGGGA AGGACCCCAA      360
ACCCTGCCCT TCCCGGCGGA CCGGGAATG CATGGGGCCA CC                        402

```

10

20

(2)配列番号 2 1 2 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：401塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：二本鎖
 (D)トポロジー：不明
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：HGV-7155 変異体
 (xi)配列：配列番号 2 1 2：

```

AGACGTTATG AACCGGCGCC GCCCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGCC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGGG      120
GTGGTCAAGG TCCCTCTAGC GCTTGTGGCG AGAAAGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180

```

30

TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC ATTATCCTCC 240
 TGGGCAAACG ACGCCACAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
 GCTTTGCCGG CGAGTTGACA AGGACCAAGT GGGGCCGGGT GCCGGGGGAA GGACCCCGG 360
 TACTGCCCCCT CCCGGAGGAG TGGGAAATGC ATGGGGCCAC C 401

(2)配列番号 2 1 3 の情報 :

(i)配列の特色 :

(A)長さ : 401塩基対

(B)型 : 核酸

(C)鎖の数 : 二本鎖

(D)トポロジー : 不明

(ii)配列の種類 : DNA

(iii)ハイボセティカル : NO

(iv)アンチセンス : NO

(vi)起源 :

(C)個体・単離生物名 : HGV-7244 変異体

(xi)配列 : 配列番号 2 1 3 :

AGACGTTAAG AACCGGCGCC GCCCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGCC 60
 AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGGG 120
 GTGGTCAAGG TCCTCTGGC GCTTGTGGCG AGAAAGCGCA CGGTCCACAG GTGTGGCCC 180
 TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC ATTACCCTCC 240
 TGGGCAAACG ACGCCCATGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
 GCITTGCCGG CGAGITGACA AGGACCAAGT GGGGCCGGGT GGCGGGGGAA GGACCCCGT 360
 CACTGCCCCIT CCCGGAGGGG TGGGAAATGC ATGGGGCCAC C 401

(2)配列番号 2 1 4 の情報 :

(i)配列の特色 :

(A)長さ : 401塩基対

(B)型 : 核酸

(C)鎖の数 : 二本鎖

(D)トポロジー : 不明

(ii)配列の種類 : DNA

(iii)ハイボセティカル : NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：HGV-K27 変異体

(xi)配列：配列番号 2 1 4：

```

AGACGTTAAG TACCGGCGCC GACCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGCC      60
AGGGTTGGTA GGTGCTAAAT CCCGGTCATC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGGG      120
TTGGTCAAGG TCCCTCTGGC GCTTGTGGCG AGAAAGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC ATTACCCACC      240
TGGGCAAAACA ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTACA ATGTCTCTCT TGACCAATAG      300
GCTTTGCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCTGGGC GGCAGGGGAA GGACCCTCGT      360
CGCTGCCCTT CCCGGCGGGG TGGGGAATGC ATGGGGCCAC C      401

```

10

(2)配列番号 2 1 5 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：401塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：二本鎖

(D)トポロジー：不明

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：HGV-K30 変異体

(xi)配列：配列番号 2 1 5：

```

AGACGTTAAG AACCGGCGCC TTCCCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGCC      60
AGGGTTGGTA GGTGCTAAGT CCCGGTCATC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGGG      120
AGGGTTAAGG TCCCTCTGGC GCTTGTGGCG AGAAAGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC ATTACCCACC      240
TGGGCAAAACA ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG      300
GCTTTGCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCTGGGC GGTAGGGGAA GGACCCTTGC      360

```

30

CGCTGCCCTT CCCGGTGGGG TGGGAAATGC ATGGGGCCAC C

401

(2)配列番号 2 1 6 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 401塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

10

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-T55875 変異体

(xi)配列: 配列番号 2 1 6:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC 60

AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG 120

AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGACG AGACCGCGCA CGGTCCGCAG GTGTTGGCCC 180

20

TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC 240

TGGGCAAACG ACGCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGCCTCTCI TGGCCAATAG 300

GTITTAACCG CGAGTTGGCA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GCTTGGAGAG GGACTCCAAG 360

TCCTGCCCTT CCCGGTGGGG CGGGAATGC ATGGGGCCAC C 401

(2)配列番号 2 1 7 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 402塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

30

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-T56633 変異体

(xi)配列: 配列番号 2 1 7:

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC 60
 AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG 120
 AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC 180
 TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC ACTACCCACC 240
 TGGGCTAACG ACGCCACAGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGTCTCTCT TGACCAATAG 300
 GCTAGTCCGG CGAGTTGACA AGGACCACTG GGGGCCCGAG GTCACAGGGA TGGACCCCTGG 360
 GCCTTGCCCT TCCCGGTGGA GTGGGAAAAG CATGGGGCCA CC 402

10

(2)配列番号 2 1 8 の情報 :

(i)配列の特色 :

(A)長さ : 404塩基対

(B)型 : 核酸

(C)鎖の数 : 二本鎖

(D)トポロジー : 不明

(ii)配列の種類 : DNA

(iii)ハイボセティカル : NO

(iv)アンチセンス : NO

(vi)起源 :

(C)個体・単離生物名 : HGV-EB20 変異体

(xi)配列 : 配列番号 2 1 8 :

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGCC 60
 AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG 120
 AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC 180
 TACCGGTGTA ATAAGGGCCC GACGTCAGGC TCGTCGTTAA ACCGAGCCCG TCACCCACCT 240
 GGGCAAACGA CGCCACGTA CGGTCCACGT CGCCCTTCAA TGCTCTCTTT GGCCAATAGG 300
 AGTTATCTCC GGCAGTTGG CAAGGACCAG TGGGGCCCG GGGTTACGGG GAAGGACCCC 360
 GAACCCTGCC CTTCCCGGTG GGCCGGGAAA TGCATGGGGC CACC 404

20

30

(2)配列番号219の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:401塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:二本鎖

(D)トポロジー:不明

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイポセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-T55806 変異体

(xi)配列: 配列番号219:

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGCC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCATC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGGA ATAAGGGCCC GACGTCAGGC TCGTCGTTAA ACCGAGCCCG TCACCCACCT      240
GGGCAAAACGA CGCTCACGTA CGGTCCACGT CGCCCTTCAA TGTCTCTCTT GACCAATAGG      300
TTTATCCGGC GAGTTGACAA GGACCACTGG GGGCCGGGGG TTACGGGGAC GGACCCCGAA      360
CCCTGCCCTT CCCGGTGGGC CGGGAATGC ATGGGGCCAC C                               401

```

10

20

(2)配列番号220の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ:402塩基対

(B)型:核酸

(C)鎖の数:二本鎖

(D)トポロジー:不明

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイポセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-BG34 変異体

(xi)配列: 配列番号220:

30

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCTGTAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGGCC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GTCACCCACC      240
TGGGCAAACG ACGCCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGCCTCTCT TGGCCAATAG      300
GAGTATCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGA GTCACGGGGA TGGACCCCGG      360
GCTCTGCCCT TCCCGGTGGA ACGGGAACG CATGGGGCCA CC                          402

```

10

(2)配列番号 2 2 1 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 402塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: HGV-BE12 変異体

(xi)配列: 配列番号 2 2 1:

20

```

AGACGCAATG ACTCGGCGCC GACTCGGCGA CCGGCCAAAA GGTGGTGGAT GGGTGATGAC      60
AGGGTTGGTA GGTCGTAAAT CCCGGTCACC TTGGTAGCCA CTATAGGTGG GTCTTAAGAG      120
AAGGTTAAGA TTCCTCTTGT GCCTGCGGCG AGACCGCGCA CGGTCCACAG GTGTTGGCCC      180
TACCGGTGTG AATAAGGACC CGACGTCAGG CTCGTCGTTA AACCGAGCCC GCCACCCACC      240
TGGGCAAACG ACGCCCACGT ACGGTCCACG TCGCCCTTCA ATGCCTCTCT TGGCCAATAG      300
GTTTATCCGG CGAGTTGACA AGGACCAGTG GGGGCCGGGG GTCACGGGGA AGAACCCCGA      360
GCCCCGCCCT TCCCGGTGGG ACGGGAATG CATGGGGCCA CC                          402

```

30

(2)配列番号 2 2 2 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 24塩基対

(B)型: 核酸

- (C)鎖の数：一本鎖
- (D)トポロジー：不明
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：HGV正方向プライマー
- (xi)配列：配列番号 2 2 2：

CCAAAAGGTG GTGGATGGGT GATG

24

10

(2)配列番号 2 2 3 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：24塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：不明
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：HGV正方向プライマー
- (xi)配列：配列番号 2 2 3：

GTGATGMCAG GGTGGTAGG TCGT

24

20

(2)配列番号 2 2 4 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：26塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：不明
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：HGV正方向プライマー
- (xi)配列：配列番号 2 2 4：

GGTAGCCACT ATAGGTGGGT CTTAAG

26

30

(2)配列番号 2 2 5 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：25塩基対

- (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：不明
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：HGV逆方向プライマー
 (xi)配列：配列番号225：

10

GAGMGRCATT GWAGGGCGAC GTRGA

25

(2)配列番号226の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：21塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：不明
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：HGV逆方向プライマー
 (xi)配列：配列番号226：

20

GRCATTGWAG GGCGACGTRG A

21

(2)配列番号227の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：22塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：不明
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイボセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：HGV逆方向プライマー
 (xi)配列：配列番号227：

30

CCCCACTGGT CYTTGYCAAC TC

22

(2)配列番号228の情報：

- (i)配列の特色：

- (A)長さ：29塩基対
- (B)型：核酸
- (C)鎖の数：一本鎖
- (D)トポロジー：不明
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー GV75-36FE
- (xi)配列：配列番号 2 2 8：

10

GCGAGATCTA AAATGCAGGC CTGATGGGT

29

(2)配列番号 2 2 9 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：29塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：不明
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー GV75-7064RLE
- (xi)配列：配列番号 2 2 9：

20

GCGAGATCTA AAATGTGGAC TGCTAAGCC

29

(2)配列番号 2 3 0 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：46塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：不明
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー FV94-28F
- (xi)配列：配列番号 2 3 0：

30

GCGAGATCTA AAATGGCAAG CCCCAGAAAC CGACGCCTAT CTAAGT

46

(2)配列番号 2 3 1 の情報：

392

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：39塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：不明
(ii)配列の種類：DNA
(iii)ハイボセティカル：NO
(iv)アンチセンス：NO
(vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：プライマー FV94-2864R
(xi)配列：配列番号 2 3 1：

10

GGCATGATGA ATTCGCAACG AGGGCCGGGA CACCAAGAT

39

(2)配列番号 2 3 2 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：39塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：不明
(ii)配列の種類：DNA
(iii)ハイボセティカル：NO
(iv)アンチセンス：NO
(vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：プライマー FV94-6439F
(xi)配列：配列番号 2 3 2：

20

GCGAGATCTA AAATGGGCCT CCGACACCCC GAAGGTTGT

39

(2)配列番号 2 3 3 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：39塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：不明
(ii)配列の種類：DNA
(iii)ハイボセティカル：NO
(iv)アンチセンス：NO
(vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：プライマー FV94-9331R
(xi)配列：配列番号 2 3 3：

30

GCGAGATCTG AATTCTTCCC GGGGTGCACC CCTTCAGAT

39

(2)配列番号234の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 9327塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 二本鎖

(D)トポロジー: 不明

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: 3ZHGCV-6、PNF2161由来HGCV

(xi)配列: 配列番号234:

```
GCAAGCCCCA GAAACCGACG CCTATCTAAG TAGACGCAAT GACTCGGCGC CGACTCGGCG      60
ACCGGCCAAA AGGTGGTGGA TGGGTGATGA CAGGGTTGGT AGGTCGTAAA TCCCGGTCAC      120
CTTGGTAGCC ACTATAGGTG GGTCTTAAGA GAAGGTTAAG ATTCTCTTTG TGCCTGCGGC      180
GAGACGCGCG ACGGTCCACA GGTGTTGGCC CTACCGGTGG GAATAAGGGC CCGACGTCAG      240
GCTCGTCGTT AAACCGAGCC CGTTACCCAC CTGGGCAAAC GACGCCCACG TACGGTCCAC      300
```

10

20

(次頁へ続く)

30

GTCGCCCTTC AATGCTCTCT TIGACCAATA GGCCTAGCCG GCGAGITGAC AAGGACCAGT 360
GGGGGCCGGG GGCITGGAGA GGGACTCCAA GTCCCGCCCT TCCCGGTGGG CCGGGAAATG 420
CATGGGGCCA CCCAGCTCCG CGCGGGCCTG CAGCCGGGGT AGCCCAAGAA TCCTTCGGGT 480
GAGGGCGGGT GGCATTTCCT TTTTCTATAC CATCATGGCA GTCCTTCTGC TCCTTCTCGT 540
GGTIGAGGCC GGGGCCATTG TGGCCCCGGC CACCCACGCT TGTGAGCGA ATGGGCAATA 600
TTTCTCACA AATGTTGTG CCCCAGGAGA CATCGGGTTC TGCCTGGAGG GTGGATGCCT 660
GGTGGCCCTG GGTGACAGA TTTGCACTGA CCAATGCTGG CCACTGTATC AGGCGGGTTT 720
GGCTGTGCGG CCTGGCAAGT CCGCGGCCCA ACTGGTGGGG GAGCTGGGTA GCCTATACGG 780
GCCCTGTGCG GTCTCGGCTT ATGTGGCTGG GATCCTGGGC CTGGGTGAGG TGTACTCGGG 840
TGTCTAACG GTGGGAGTCG CGTTGACGCG CCGGATCTAC CCGGTGCCCTA ACCTGACGTG 900
TGCAGTCGCG TGTGAGTTAA AGTGGGAAAG TGAGTTTGG AGATGGACTG AACAGCTGGC 960
CTCCAACTAC TGGATTCTGG AATACCTCTG GAAGGTCCCA TTTGATTCTT GGAGAGGCGT 1020
GATAAGCCTG ACCCCCTTGT TGGTTTGGCT GCGCGCATTG CTGCTGCTTG AGCAACGGGT 1080
TGTCAIGTTC TTCTGTGTGG TGACGATGGC CGGGATGTCG CRAAGCGCCC CTGCCTCCGT 1140
TTTGGGGTCA CGCCCTTTG ACTACGGGT GACTTGGCAG ACCTGCTCTT GCAGGGCCAA 1200
CGGTTTCGCT TTTTCGACTG GGGAGAAGGT GTGGGACCGT GGGAACGTTA CGCTTCAGTG 1260
TGAAGTCCCT AACGGCCCTT GGGTGTGGTT GCCAGCCTTT TGCCAAGCAA TCGGCTGGGG 1320
TGACCCCATC ACTTATTGGA GCCACGGGCA AAATCAGTGG CCCCTTTTCAT GCCCCCAGTA 1380
TGTCTATGGG TGTGCTACAG TCACTTGCCT GTGGGGTTCC GCTTCTTGGT ATGCCTCCAC 1440
CAGTGGTCGC GACTCGAAGA TAGATGTGT GAGTTTAGTG CCAATTGGCT CTGCCACCTG 1500
CACCATAGCC GCACTTGGAT CATCGGATCG CGACACGGTG CCTGGGCTCT CCGAGTGGGG 1560
AATCCCGTGC GTGACGTGTG TTCTGGACCG TCGGCCTGCT TCATGCGGCA CCTGTGTGAG 1620
GGACTGCTGG CCCGAGACCG GGTCCGTTAG GTTCCCATTC CATCGGTGCG GCGTGGGGCC 1680

10

20

30

TCGGCTGACA AAGGACTTGG AAGCTGTGCC CTTCGTCAAT AGGACAATC CCTTCACCAT 1740

TAGGGGGCCC CTGGGCAACC AGGGCCGAGG CAACCCGGTG CGGTGCCCCCT TGGGTTTTGG 1800

GTCCTACGCC ATGACCAGGA TCCGAGATAC CCTACATCTG GTGGAGTGTC CCACACCAGC 1860

CATCGAGCCT CCCACCGGGA CGTTTGGGTT CTTCCCCGGG ACGCCGCCTC TCAACAATG 1920

CATGCTCTTG GGCACGGAAG TGTCCGAGGC ACTTGGGGGG GCTGGCCTCA CGGGGGGGTT 1980

CTATGAACCC CTGGTGCGCA GGTGTTTCGA GCTGATGGGA AGCCGAAATC CGGTTTGTCC 2040

GGGGTTTGCA TGGCTCTCTT CGGGCAGGCC TGATGGGTTT ATACATGTCC AGGGTCACTT 2100

GCAGGAGGTG GATGCAGGCA ACTTCATCCC GCCCCGCGC TGGTTGCTCT TGGACTTTGT 2160

ATTGTCTCTG TTATACCTGA TGAAGCTGGC TGAGGCACGG TTGGTCCCGC TGATCTTGCT 2220

GCTGCTATGG TGGTGGGTGA ACCAGCTGGC AGTCTAGGG CTGCCGGCTG TGAAGCCGC 2280

CGTGGCAGGT GAGGTCTTCG CGGGCCCTGC CCTGTCTTGG TGTCTGGGAC TCCCGGTCTG 2340

CAGTATGATA TTGGGTTTGG CAAACCTGGT GCTGTACTTT AGATGGTTGG GACCCCAACG 2400

CCTGATGTTT CTCGTGTTGT GGAAGCTTGC TCGGGGAGCT TTCCCGCTGG CCCTCTTGAT 2460

GGGGATTTCG GCGACCCGCG GCGGCACCTC AGTGCTCGGG GCCGAGTTCT GCTTCGATGC 2520

TACATTCGAG GTGGACACTT CGGTGTTGGG CTGGGTGGTG GCCAATGTGG TAGCTTGGGC 2580

CATTGCGCTC CTGAGCTCGA TGAGCGCAGG GGGGTGGAGG CACAAAGCCG TGATCTATAG 2640

GACGTGGTGT AAGGGGTACC AGGCAATCCG TCAAAGGGTG GTGAGGAGCC CCCTCGGGGA 2700

GGGGCGGCCT GCCAAACCCC TGACCTTTGC CTGGTGCTTG GCCTCGTACA TCTGGCCAGA 2760

TGCTGTGATG ATGGTGGTGG TTGCCCTTGG TCTTCTCTTT GGCCTGTTTG ACGCGTTGGA 2820

TTGGGCCTTG GAGGAGATCT TGGTGTCCCG GCCCTCGCTG CGGCGTTTGG CTCGGGTGGT 2880

TGAGTGCTGT GTGATGGCGG GTGAGAAGGC CACAACCGTC CGGCTGGTCT CCAAGATGTG 2940

TGCGAGAGGA GCTTATTTGT TCGATCATAT GGGCTCATTT TCGCGTGCTG TCAAGGAGCG 3000

CCTGTTGCAA TGGGACGCGG CTCTTGAACC TCTGTCATTC ACTAGGACGG ACTGTGCGAT 3060

10

20

30

CATACGGGAT GCCGCGAGGA CTITGTCCTG CGGGCAATGC GTCATGGGTT TACCCGTGGT 3120
TGCGCGCCGT GGTGATGAGG TICTCATCGG CGTCTTCCAG GATGTGAATC ATTTGCCTCC 3180
CGGGTTTGT CCGACCGCGC CTGTTGTCAT CCGACGGTGC GGAAAGGGCT TCTTGGGGT 3240
CACAAAGGCT GCCTTGACAG GTCGGGATCC TGACTTACAT CCAGGGAACG TCATGGTGTT 3300
GGGGACGGCT ACGTCGCGAA GCATGGGAAC ATGCTTGAAC GGCCTGCTGT TCACGACCTT 3360
CCATGGGGCT TCATCCCGAA CCATCGCCAC ACCCGTGGG GCCCTTAATC CCAGATGGTG 3420
GTCAGCCAGT GATGATGTCA CGGTGTATCC ACTCCCGGAT GGGGCTACTT CGTTAACGCC 3480
TTGTACTTGC CAGGCTGAGT CCGTTGGGT CATCAGATCC GACGGGGCCC TATGCCATGG 3540
CTTGAGCAAG GGGGACAAGG TGGAGCTGGA TGTGGCCATG GAGGTCCCTG ATTTCCGTGG 3600
CTCGTCTGGC TCACCGGTCC TATGTGACGA GGGGCACGCA GTAGGAATGC TCGTGTCTGT 3660
GCTTCACTCC GGTGGTAGGG TCACCGCGGC ACGGTTCACT AGGCCGTGGA CCCAAGTGCC 3720
AACAGATGCC AAAACCACCA CTGAACCCCC TCCGGTGCCG GCCAAAGGAG TTTTCAAAGA 3780
GGCCCCGTTG TTTATGCCTA CGGGAGCGGG AAAGAGCACT CGCGTCCCGT TGGAGTACGG 3840
CAACATGGGG CACAAGGTCT TAGTCTTGAA CCCCTCAGTG GCCACTGTGC GGGCCATGGG 3900
CCCGTACATG GAGCGGCTGG CGGGTAAACA TCCAAGTATA TACTGTGGGC ATGATACAAC 3960
TGCTTTCAEA AGGATCACTG ACTCCCCCT GACGTATTCA ACCTATGCGA GGTTTTTGGC 4020
CAACCCTAGG CAGATGCTAC GGGGCGTTTC GGTGGTCATT TGTGATGAGT GCCACAGTTA 4080
TGACTCAACC GTGCTGTTAG GCATTGGGAG GGTTCGGGAG CTGGCGCGTG GGTGCGGAGT 4140
GCAACTAGTG CTCTACGCCA CCGCTACGCC TCCCGGATCC CCTATGACGC AGCACCCTTC 4200
CATAATTGAG ACAAATTTGG ACGTGGGCGA GATTCCCTTT TATGGGCACG GAATACCCCT 4260
CGAGCGGATG CGAACCGGAA GGCACCTCGT GTTCTGCCAT TCTAAGGCTG AGTGCAGCG 4320
CCTTGCTGGC CAGTTCTCCG CTAGGGGGGT CAATGCCATT GCCTATTATA GGGGTAAAGA 4380
CAGTTCTATC ATCAAGGATG GGGACCTGGT GGTCTGTGCC ACAGACGCGC TTTCCACTGG 4440

10

20

30

GTACACTGGA AATTTTCGACI CCGTCACCGA CTGTGGSATTA GIGGTGGAGG AGGTCGTTGA 4500
 GGTGACCCCTI GATCCTACCA TTACCATCTC CCGCCGGACA GIGCCTGCGT CGGCTGAACT 4560
 GTCGATGCAA AGACGAGGAC GCACGGGTAG GGGCAGGTCT GGACGCTACT ACTACGCGGG 4620
 GGTGGGCAAA GCCCCTGCGG GTGTGGTGGC CTCAGGTCCT GTCTGGTCGG CGGTGGAAGC 4680
 TGGAGTGACC TGGTACGGAA TGGAACTGA CTTGACAGCT AACCTACTGA GACTTTACGA 4740
 CGACTGCCCT TACACCGCAG CCGTCGCGGC TGATATCGGA GAAGCCGCGG TGTCTTCTC 4800
 TGGGCTCGCC CCATTGAGGA TGCACCCTGA TGTACAGCTG GCAAAAGTTC GCGGCGTCAA 4860
 CTGGCCCCCTC TTGGTGGGTG TTCAGCGGAC CATGTGTGCG GAAACACTGT CTCCCGGCCC 4920
 ATCGGATGAC CCCCATGGG CAGGTCTGAA GGGCCCAAAT CCTGTCCAC TCCTGCTGAG 4980
 GTGGGGCAAT GATTTACCAT CTAAAGTGGC CGGCCACCAC ATAGTGGACG ACCTGGTCCG 5040
 GAGACTCGGT GTGGCGGAGG GTTACGCCCC CTGCGACGCT GGGCCGATCT TGATGATCGG 5100
 TCTAGCTATC GCGGGGGGAA TGATCTACGC GTCGTACACC GGGTCGCTAG TGGTGGTGAC 5160
 AGACTGGGAT GTGAAGGGGG GTGGCGCCCC CCTTTATCGG CATGGAGACC AGGCCACGCC 5220
 TCAGCCGGTG GTGCAGGTTT CTCCGGTAGA CCATCGGCCG GGGGGTGAAT CAGCACCATC 5280
 GGATGCCAAG ACAGTGACAG ATGCGGTGGC AGCGATCCAG GTGGACTGCG ATTGGACTAT 5340
 CATGACTCTG TCGATCGGAG AAGTGTGTC CTTGGCTCAG GCTAAGACGG CCGAGGCCTA 5400
 CACAGCAGCC ACCAAGTGGC TCGCTGGCTG CTATACGGG ACGCGGGCCG TTCCCACTGT 5460
 ATCCATTGTT GACAAGCTCT TCGCCGGAGG GTGGGCGGCT GTGGTGGGCC ATTGCCACAA 5520
 CGTGATTGCT GCGGCGGTGG CGGCCTACGG GGCTTCAAAG AGCCCGCCGT TGGCAGCCGC 5580
 GGCTTCCTAC CTGATGGGGT TGGGCGTTGG AGGCAACGCT CAGACGCGTC TGGCATCTGC 5640
 CCTCCTATTG GGGGCTGCTG GAACCGCCTT GGGCACTCCT GTCGTGGGCT TGACCATGGC 5700
 AGGTGCGTTC ATGGGGGGCG CCAGTGTCTC CCCCTCCTTG GTCACCATT TATTGGGGGC 5760
 CGTCGGAGGT TGGGAGGGTG TTGTCAACGC GCGGAGCCTA GTCTTTGACT TCATGGCGGG 5820

10

20

30

GAAACTTTCA TCAGAAGATC TGTGGIATGC CATCCCGGTA CTGACCAGCC CGGGGGCGGG 5880
CCTTGCGGGG ATCGCTCTCG GGTGGGTTTT GIATTCAGCT AACAACTCTG GCACTACCAC 5940
TTGGTTGAAC CGTCTGCTGA CTACGTTACC AAGGTCTTCA TGTATCCCGG ACAGTTACTT 6000
TCAGCAAGTT GACTATTGCG ACAAGGTCTC AGCCGTGCTC CGGCGCCTGA GCCTCACCAG 6060
CACAGTGGTT GCCCTGGTCA ACAGGGAGCC TAAGGTGGAT GAGGTACAGG TGGGGTATGT 6120
CTGGGACCTG TGGGAGTGGG TCAATGCGCA AGTGCGCGTG GTCATGGCCA GACTCAGGGC 6180
CCTCTGCCCC GTGGTGTCTAT TACCCTTGTG GCACTGCGGG GAGGGGTGGT CCGGGGAATG 6240
GTTGCTTGAC GGTCTGTTG AGAGTCGCTG CCTCTGTGGC TCGCGGATCA CTGGTGACGT 6300
TCTGAATGGG CAACTCAAAG AACCAAGTTA CTCTACCAAG CTGTGCCGGC ACTATTGGAT 6360
GGGACTGTC CCTGTGAACA TGCTGGGTTA CGGTGAAACG TCGCCTCTCC TGGCCTCCGA 6420
CACCCCGAAG GTTGTGCCCT TCGGGACGTC TGGCTGGGCT GAGGTGGTGG TGACCACTAC 6480
CCACGTGTA ATCAGGAGAA CCTCCGCCTA TAAGCTGCTG CGCCAGCAA TCCTATCGGC 6540
TGCTGTAGCT GAGCCCTACT ACGTCGACGG CATTCCGGTC TCATGGGACG CGGACGCTCG 6600
TGCGCCCCGC ATGGTCTATG GCCCTGGGCA AAGTGTACC ATTGACGGG AGCGCTACAC 6660
CCTGCCTCAT CAACTGAGGC TCAGGAATGT GCGCCCTCT GAGGTTTCAT CCGAGGTGTC 6720
CATTGACATT GGGACGGAGA CTGGAGACTC AGAACTGACT GAGGCCGATC TGCCGCCGGC 6780
GGCTGCTGCT CTCCAAGCGA TCGAGAATGC TCGAGGATT CTTGAACCGC ACATTGATGC 6840
CATCATGGAG GACTGCAGTA CACCCTCTCT TTGTGGTAGT AGCCGAGAGA TGCTGTATG 6900
GGGAGAAGAC ATCCCCCGTA CTCCATCGCC AGCACTTATC TCGGTTACTG AGAGCAGCTC 6960
AGATGAGAAG ACCCCGTCGG TGTCCTCCTC GCAGGAGGAT ACCCCGTCCT CTGACTCATT 7020
CGAGGTCATC CAAGAGTCCG AGACAGCCGA AGGGGAGGAA AGCGTCTTCA ACGTGGCTCT 7080
TTCCGTATTA GAAGCTCAT TTCCACAGAG CGACGCGACC AGGAAGCTTA CCGTCAAGAT 7140
GTCGTGCTGC GTTGAAAAGA GCGTCACGCG CTTTTCTCA TTGGGTTGA CGGTGGCTGA 7200

10

20

30

TGTGCTAGC CTGTGIGAGA TGGAAATCCA GAACCATACA GCCTATTGTG ACAAGGTGCG 7260
 CACTCCGCTT GAATTGCAGG TTGGGTGCTT GGTGGGCAAT GAACCTACCT TTGAATGTGA 7320
 CAAGTGTGAG GCTAGGCAAG AAACCTTGGC CTCCTTCTCT TACATTGGT CTGGAGTGCC 7380
 GCTGACTAGG GCCACGCCGG CCAAGCCTCC CGTGGTGAGG CCGGTTGGCT CTTTATTAGT 7440
 GGCCGACACT ACTAAGGTGT ATGTTACCAA TCCAGACAAT GTGGGACGGA GGGTGGACAA 7500
 GGTGACCTTC TGGCGTGCTC CTAGGGTTCA TGATAAGTAC CTCGTGGACT CTATTGAGCG 7560
 CGCTAAGAGG GCCGCTCAAG CCTGCCTAAG CATGGGTAC ACTTATGAGG AAGCAATAAG 7620
 GACTGTAAGG CCACATGCTG CCATGGGCTG GGGATCTAAG GTGTCGGTTA AGGACTTAGC 7680
 CACCCCCGCG GGAAGATGG CCGTCCATGA CCGGCTCCAG GAGATACTTG AAGGGACTCC 7740
 GGTCCCTTT ACTCTTACTG TGA AAAAGGA GGTGTTCTTC AAAGACCGGA AGGAGGAGGA 7800
 GGCCCCCGC CTCATTGTGT TCCCCCCT GGA CTCCG ATAGCTGAAA AGCTCATCTT 7860
 GGGAGACCCA GACCGGGTAG CCAAGGCGGT GTGGGGGG GCCTACGCCT TCCAGTACAC 7920
 CCCAAATCAG CGAGTTAAG AGATGCTCAA GCTATGGGAG TCTAAGAAGA CCCCTTGCGC 7980
 CATCTGTGTG GACGCCACCT GCTTCGACAG TAGCATAACT GAAGAGGACG TGGCTTTGGA 8040
 GACAGAGCTG TACGCTCTGG COTCTGACCA TCCAGAATGG GTGCGGGCAC TTGGGAAATA 8100
 CTATGCCTCA GGCACCATGG TCACCCCGGA AGGGGTGCCC GTCGGTGAGA GGTATTGCAG 8160
 ATCCTCGGGT GTCCTAACAA CTAGCGCGAG CAACTGCTTG ACCTGCTACA TCAAGGTGAA 8220
 AGCCGCCTGT GAGAGGGTGG GGCTGAAGAA TGTCTCTCTT CTCATAGCCG GCGATGACTG 8280
 CTTGATCATA TGTGAGCGGC CAGTGTGCGA CCCAAGCGAC GCTTTGGGCA GAGCCCTAGC 8340
 GAGCTATGGG TACGCGTGCG AGCCCTCATA TCATGCATCC TTGGACACGG CCCCCTTCTG 8400
 CTCCACTTGG CTTGCTGAGT GCAATGCAGA TGGGAAGCGC CATTTCTTCC TGACCACGGA 8460
 CTTCCGAGG CCGCTCGCTC GCATGTCGAG TGAGTATAGT GACCCGATGG CTTCCGGCAT 8520
 CGGTTACATC CTCCTTTATC CTTGGCACCC CATCACACGG TGGGTCATCA TCCCTCATGT 8580

10

20

30

GCTAACGTGC GCATTCAGGG GTGGAGGCAC ACCGTCTGAT CCGGTTTGGT GCCAGGTACA 8640
TGGTAACTAC TACAAGTTTC CACTGGACAA ACIGCCTAAC ATCATCGTGG CCCTCCACGG 8700
ACCAGCAGCG TTGAGGGTTA CCGCAGACAC AACTAAAACA AAGATGGAGG CTGGTAAGGT 8760
TCTGAGCGAC CTCAAGCTCC CTGGCTTAGC AGTCCACCGA AAGAAGGCCG GGGCGTTGCG 8820
AACACGCATG CTCCGCTCGC GCGGTTGGGC TGAGTTGGCT AGGGGCTTGT TGTGGCATCC 8880
AGGCCTACGG CTTCCTCCCC CTGAGATTGC TGGTATCCCG GGGGGTTTCC CTCTCTCCCC 8940
CCCCATATG GGGGTGGTAC ACCAATTGGA TTTTACAAGC CAGAGGAGTC GCTGGCGGTG 9000
GTTGGGGTTC TTAGCCCTGC TCATCGTAGC CCTCTTCGGG TGAATAAAT TCATCTGTTG 9060
CGGCGAGGTC TGGTGAAGA TCGTCACCGG AGGAGGTTC CGCCCTCCCC GCCCCAGGGG 9120
TCTCCCCGCT GGGTAATAAG GGCCCGGCCT TGGGAGGCAT GGTGGTACT AACCCCTGG 9180
CAGGGTTAAA GCCTGATGGT GCTAATGCAC TGCCACTTCG GTGGCGGGTC GCTACCTTAT 9240
AGCGTAATCC GTGACTACGG GCTGCTCGCA GAGCCCTCCC CGGATGGGGC ACAGTGCAC 9300
GAGATCTGAA GGGGTGCACC CCGGGAA 9327

10

20

(次頁へ続く)

30

(2)配列番号235の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 22塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GLI-F

(xi)配列: 配列番号235:

TAGCATGGCC TTTCAGGGC TG

22

10

(2)配列番号236の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 18塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GLI-R

(xi)配列: 配列番号236:

AAGCTGTGAC CGTCTCCG

18

20

(2)配列番号237の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 31塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GE1-NF

(xi)配列: 配列番号237:

30

GCCGCCATGG CGGGGAAACT TTCATCAGAA G

31

(2)配列番号238の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 32塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GE1-NR

(xi)配列: 配列番号238:

10

GCGCGGATCC TAGTGACACC ACGGGGCAGA GG

32

(2)配列番号239の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 33塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GE57F

(xi)配列: 配列番号239:

20

GCCGCCATGG CTCTCTTGAC CAATAGGTTT ATC

33

(2)配列番号240の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 31塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイボセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: プライマー GE57R

30

(xi)配列：配列番号 2 4 0：

CGCGGGATCC AGAAATGCCA CCCGCCCTCA C

31

(2)配列番号 2 4 1 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：61アミノ酸

(B)型：アミノ酸

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(iii)ハイポセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：GE57アミノ酸配列

(xi)配列：配列番号 2 4 1：

Met Ser Leu Leu Thr Asn Arg Phe Ile Arg Arg Val Asp Lys Asp Gln
1 5 10 15

Trp Gly Pro Gly Val Thr Gly Thr Asp Pro Glu Pro Cys Pro Ser Arg
20 25 30

Irp Ala Gly Lys Cys Met Gly Pro Pro Ser Ser Ala Ala Ala Cys Ser
35 40 45

Arg Gly Ser Pro Arg Ile Leu Arg Val Arg Ala Gly Gly
50 55 60

(2)配列番号 2 4 2 の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：52塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：一本鎖

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイポセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：E1のための正方向プライマー

(xi)配列：配列番号 2 4 2：

CGCGAGATCT AAAATGAGCC GTGGTGGCAT TTCCTTTTTC TATACCATCA TG

52

(2)配列番号 2 4 3 の情報：

(i)配列の特色：

- (A)長さ：38塩基対
- (B)型：核酸
- (C)鎖の数：一本鎖
- (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：E1のための逆方向プライマー
- (xi)配列：配列番号 2 4 3：

10

CGCGAGATCT CCAGAAATCA AATGGGACCT TCCAGAGG

38

(2)配列番号 2 4 4 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：26塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：E2のための昆虫シグナル配列を有する
正方向プライマー
- (xi)配列：配列番号 2 4 4：

20

CGCGAGATCT GTCGCAAGGC GCCCCT

26

(2)配列番号 2 4 5 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：28塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：E2のための昆虫シグナル配列を有する
逆方向プライマー
- (xi)配列：配列番号 2 4 5：

30

GCGCAGATCT AGTTGCCTGC ATCCACCT

28

(2)配列番号246の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 42塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: E2のためのHGVシグナル配列を有する
正方向プライマー

(xi)配列: 配列番号246:

CGCGAGATCT AAAATGAAAC TGCTTGTCAT GGTCTTCCTG TT

42

(2)配列番号247の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 28塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: E2のためのHGVシグナル配列を有する
逆方向プライマー

(xi)配列: 配列番号247:

GCGCAGATCT AGTTGCCTGC ATCCACCT

28

(2)配列番号248の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 34塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

10

20

30

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: NS2aのための正方向プライマー

(xi)配列: 配列番号 2 4 8 :

GCGCAGATCT GGCCGTGGCA GGTGAGGTCT TCGC

34

(2)配列番号 2 4 9 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 31塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: NS2aのための逆方向プライマー

(xi)配列: 配列番号 2 4 9 :

GCGCAGATCT TAACGCCGCA ACGAGGGCCG G

31

(2)配列番号 2 5 0 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 46塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: NS2bのための正方向プライマー

(xi)配列: 配列番号 2 5 0 :

GCGCGGATCC AAAATGATCG CTCGGGTGGT TGAGTGCTGT GTGATG

46

(2)配列番号 2 5 1 の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 32塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

10

20

30

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：NS2bのための逆方向プライマー

(xi)配列：配列番号251：

GCGCGGATCC AGGCGCGGTC GGAACAAACC CG

32

(2)配列番号252の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：39塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：一本鎖

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：正方向プライマー NS3

(xi)配列：配列番号252：

GCGAGATCTA AAATGTGCGG AAAGGGCTTC TTGGGGGTC

39

(2)配列番号253の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：39塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：一本鎖

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

(iii)ハイボセティカル：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

(C)個体・単離生物名：逆方向プライマー NS3

(xi)配列：配列番号253：

GCGAGATCTC ATCTCCGGAC CAGGTCGTCC ACTATGTGG

39

(2)配列番号254の情報：

(i)配列の特色：

(A)長さ：31塩基対

(B)型：核酸

(C)鎖の数：一本鎖

(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：DNA

- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：正方向プライマー NS4a
- (xi)配列：配列番号 2 5 4：

GGCGGATCCA AAATGATCGG TGTGGCGGAG G

31

(2)配列番号 2 5 5 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：26塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：逆方向プライマー NS4a
- (xi)配列：配列番号 2 5 5：

GGCGGGATCC ATGCGCCGGA GCACGG

26

(2)配列番号 2 5 6 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：34塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：正方向プライマー NS4b
- (xi)配列：配列番号 2 5 6：

GCGGGATCCA AAATGATCAG CCTCACCCGC ACAG

34

(2)配列番号 2 5 7 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：29塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状

- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：N0
- (iv)アンチセンス：N0
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：逆方向プライマー NS5a
- (xi)配列：配列番号 2 5 7：

GGCGGGATCC TACCTCCTGA TTACCACGT

29

(2)配列番号 2 5 8 の情報：

10

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：42塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：N0
- (iv)アンチセンス：N0
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：正方向プライマー NS5a
- (xi)配列：配列番号 2 5 8：

GCGAGATCTA AAATGACCTC CGCCTATAAG CTGCTGCGCC AG

42

20

(2)配列番号 2 5 9 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：40塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：N0
- (iv)アンチセンス：N0
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：逆方向プライマー NS5a
- (xi)配列：配列番号 2 5 9：

GGCAGATCTA CCTCCGTCCC ACATTGCTCTG GATTGGTAAC

40

30

(2)配列番号 2 6 0 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：43塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖

- (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイポセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：正方向プライマー NS5b
 (xi)配列：配列番号 2 6 0：

GCGAGATCTA AAATGGTGGG CAAGGTGACC TTCTGGCGTG CTC

43

10

(2)配列番号 2 6 1 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：36塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイポセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：逆方向プライマー NS5b
 (xi)配列：配列番号 2 6 1：

GCGAGATCTC ACCCGAAGAG GGCTACGATG AGCAGG

36

20

(2)配列番号 2 6 2 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：52塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイポセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：正方向プライマー E1-E2-NS2a
 (xi)配列：配列番号 2 6 2：

GCGCAGATCT AAAATGAGCC GTGGTGGCAT TTCCTTTTTC TATACCATCA TG

52

30

(2)配列番号 2 6 3 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：31塩基対
 (B)型：核酸

- (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイポセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：逆方向プライマー E1-E2-NS2a
 (xi)配列：配列番号 2 6 3：

GCGCAGATCT TAACGCCGCA ACGAGGGCCG G

31

10

(2)配列番号 2 6 4 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：22塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイポセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：プライマー 9E3-REV
 (xi)配列：配列番号 2 6 4：

GCTGGCTGAG GCACGGTTGG TC

22

20

(2)配列番号 2 6 5 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：22塩基対
 (B)型：核酸
 (C)鎖の数：一本鎖
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：DNA
 (iii)ハイポセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：プライマー E39-94PR
 (xi)配列：配列番号 2 6 5：

CACCATCATC ACAGCATCTG GC

22

30

(2)配列番号 2 6 6 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：32塩基対

- (B)型：核酸
- (C)鎖の数：一本鎖
- (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー GEP-F12
- (xi)配列：配列番号 2 6 6：

10

GCAACCATGG AACCTGCCAA ACCCCTGACC TT

32

(2)配列番号 2 6 7 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：21塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー GEP-R12
- (xi)配列：配列番号 2 6 7：

20

AGCCCCATGG AAGGTCGTGA A

21

(2)配列番号 2 6 8 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：30塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイポセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー GEP-F14
- (xi)配列：配列番号 2 6 8：

30

TTGGGATCCC TCGTGTTCCG CCATTCTAAG

30

(2)配列番号 2 6 9 の情報：

- (i)配列の特色：

- (A)長さ：30塩基対
- (B)型：核酸
- (C)鎖の数：一本鎖
- (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー GEP-R13
- (xi)配列：配列番号 2 6 9：

10

TATGGATCCT GGTAAATCAT TGCCCCACCT

30

(2)配列番号 2 7 0 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：39塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー 470EP-F8
- (xi)配列：配列番号 2 7 0：

20

GCTGAATTCTG CCATGGCGAC GTGCGCATTC AGGGGTGGA

39

(2)配列番号 2 7 1 の情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：27塩基対
 - (B)型：核酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状
- (ii)配列の種類：DNA
- (iii)ハイボセティカル：NO
- (iv)アンチセンス：NO
- (vi)起源：
 - (C)個体・単離生物名：プライマー GEP-R14
- (xi)配列：配列番号 2 7 1：

30

GGAGGATCCG CGACCCGCCA CCGAAGT

27

(2)配列番号 2 7 2 の情報：

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：48アミノ酸
 (B)型：アミノ酸
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：タンパク質
 (iii)ハイポセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：Y5エピトープ
 (xi)配列：配列番号 2 7 2：

10

```

Ile Asp Gly Glu Arg Tyr Thr Leu Pro His Gln Leu Arg Leu Arg Asn
1           5           10           15

Val Ala Pro Ser Glu Val Ser Ser Glu Val Ser Ile Asp Ile Gly Thr
                20           25           30

Glu Ala Glu Asn Ser Glu Leu Thr Glu Ala Asp Leu Pro Pro Ala Ala
35           40           45

```

(2)配列番号 2 7 3 の情報：

20

- (i)配列の特色：
 (A)長さ：55アミノ酸
 (B)型：アミノ酸
 (D)トポロジー：直鎖状
 (ii)配列の種類：タンパク質
 (iii)ハイポセティカル：NO
 (iv)アンチセンス：NO
 (vi)起源：
 (C)個体・単離生物名：Q9エピトープ
 (xi)配列：配列番号 2 7 3：

```

Cys Gly Leu Leu Thr Arg His His Thr Ala Leu Asn His Pro Ser Gln
1           5           10           15

Thr Pro Gln Arg Gly Pro Gly His Gln Asp Leu Leu Gln Gly Pro Ile
                20           25           30

Gln Arg Val Glu Gln Ala Lys Glu Lys Asp Gln Gly Asn His His His
35           40           45

His His Ser Ile Trp Pro Asp
50           55

```

30

365

(2)配列番号274の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 35アミノ酸

(B)型: アミノ酸

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: タンパク質

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: Q11エピトープ

(xi)配列: 配列番号274:

Ala Ala Val Ala Glu Pro Tyr Tyr Val Asp Gly Ile Pro Val Ser Trp
 1 5 10 15

Asp Ala Asp Ala Arg Ala Pro Ala Met Val Tyr Gly Pro Gly Gln Ser
 20 25 30

Val Thr Ile
 35

10

20

(2)配列番号275の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 225塩基対

(B)型: 核酸

(C)鎖の数: 両形態

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: DNA

(iii)ハイポセティカル: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名: Q7-12-1 envクローン

(xi)配列: 配列番号275:

GTGCCCTTCG TCAACAGGAC AACTCTCTTC ACCATTAGGG GGCCCTGGG CAACCAGGGC 60

CGAGGCAACC CGGTGCGGTC GCCCTTGGGT TTTGGGTCCT ACGCCATGAC CAGGATCCGA 120

GATACCCCTAC ATCTGGTGA GTGTCCACCA CCAGCCATCG AGCCTCCAC CGGGACGTCT 180

GGGTTCTTCC CCGGGACGCC GCCTCTCAAC AACTGCATGC ATATG 225

30

(2)配列番号276の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ:192塩基対
- (B)型:核酸
- (C)鎖の数:両形態
- (D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名:Y12-15-1 NS3クローンDNA

(xi)配列:配列番号276:

```

AACATGGGGC ACAAGGTCTT AATCTTGAAC CCCTCAGTGG CCACTGTGCG GGCCATGGGC      60
CCGTACATGG AGCGGCTGGC GGGTAAACAT CCAAGTATAT ACTGTGGGCA TGATACAACT      120
GCTTTCACAA GGATCACTGA CTCCCCCCTG ACGTATTCAA CCTATGGGAG GTTTTGGGCC      180
AACCCTAGGC AA                                                                192

```

10

20

(2)配列番号277の情報:

(i)配列の特色:

- (A)長さ:264塩基対
- (B)型:核酸
- (C)鎖の数:両形態
- (D)トポロジー:直鎖状

(ii)配列の種類:DNA

(iii)ハイボセティカル:NO

(iv)アンチセンス:NO

(vi)起源:

(C)個体・単離生物名:Y12-10-2 NS3クローン

(xi)配列:配列番号277:

```

CCCCTCGAGC GGATGCGAAC CGGAAGGCAC CTCGTGTTCT GCCATTCTAA GGCTGAGTGC      60
GAGCGCCTTG CTGGCCAGTT CTCCGCTAGG GGGGTCAATG CCATTGCCTA TTATAGGGGT      120
AAAGACAGCT CTATCATCAA GGATGGGGAC CTGGTGGTCT GTGCTACAGA CGCGCTTTCC      180

```

30

ACTGGGTACA CTGGAATTT CGACTCCGTC ACCGACTGTG GATTAGTGGT GGAGGAGGTC 240

GTTGAGGTGA CCCTTGATCC CACC 264

10

20

30

【図 1】

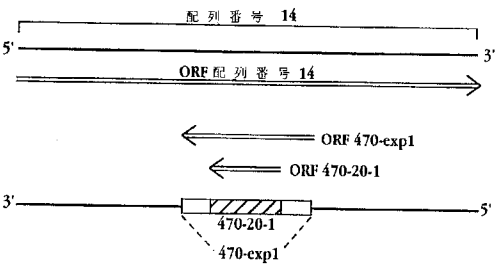


Fig. 1

【図 3】

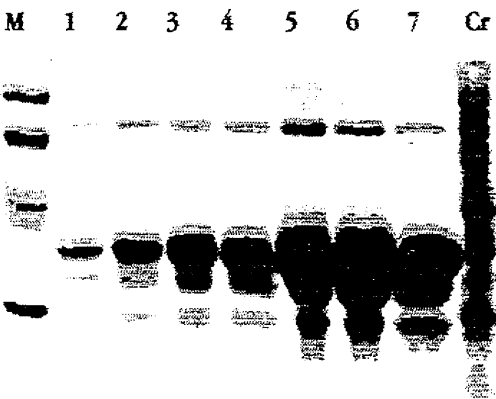


Fig. 3

【図 2】

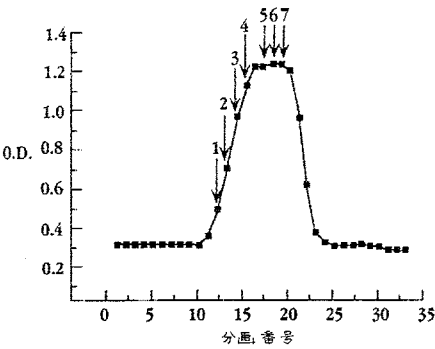


Fig. 2

【図 4 A】

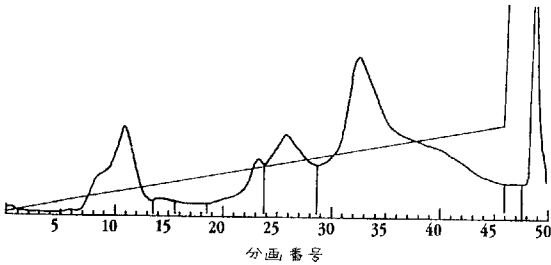


Fig. 4A

【図 4 B】



Fig. 4B

【図 4 C】

画分
30 32 34 36 38 40 50
M 31 33 35 37 39 41 51

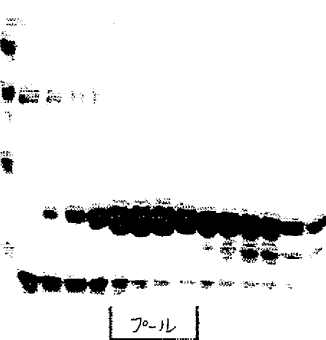


Fig. 4C

【図 5 A】

HGV
HocV
HGV
HocV
HGV
HocV

10 20 30
lveskktptcaicvDatoDssiteedvalet
ykwvkqkpvvipyegktplfifdkvkkewdgfgnpvavsfbtkawDdtqvtndialik
40 50 60 70 80
el--yalasdhpevrpkyasgtmtvtpgvpvgerycRsSgvitTsasNo-ltocyk
digkyfkkkwhkfidltmhasevptadagevyrkqgRgsdgqptTsagNamlvitm
90 100 110 120 130 140
vkaacervgl-----knvslliaGDBcllicerpvodpsdalgralasyygacepsyha
vyaaceatgvpyksfdrvakihvGDBqfiliteralgekfaskgvilyeagkpgkiteg

Fig. 5A

【図 6】

aj26 トロポン 切取所
K S D L V P R G S M V S W D A D A R A P
1 11 21 31 41 51
CAAAATCGGATCTGGTTCGCGGTGGTTCATGGTGTTCATGGGACGGGAGCGCTCGTGGCG
C*CATGG (NcoI)
A M V Y G P G Q S V T I D G E R Y T L P
61 71 81 91 101 111
CCCGATGGTCTATGGCCCTGGGCAAGTGTACCATTCAGCGGGAGCGCTACACCTGC
AGC*GCT (Eco47III)
H Q L R L R N V A P S E V S R V S I D
121 131 141 151 161 171
CTCATCACTGAGGCTCAGGAATGTGGACCCCTGAGGTTTCATCCGAGGTGTCCATTG
I G T E T R D S E L T E A D L F P A A A
181 191 201 211 221 231
ACATGGGACGGAGCTGAGAGCTCAGAACTGACTGAGGCGGATCTGCCCGCGGCTG
CTGAAG (Eco57I_16/14>)> GCC*GGC (NaeI)
CTTCAG (<-14/16_Eco57I)
A L Q A I E N A A R I L R P H I D V I M
241 251 261 271 281 291
CTGCTCTCCAAGCGATCGAGATGCTGCGAGGATCTTGAACCGCACATTGATGTCATCA
CGAT*CG (PvuI)
GAATGCN* (BamI)
E D C S T P S L C G S S R E M P V W G E
301 311 321 331 341 351
TGGAGGACTGCAGTACCCCTCTCTTTGGTAGTAGCCGAGAGATGCCGTATGGGGAG
CTGCA*G (PstI)
D I P R T P S P A L I G S H H H H Z <----- 注目
361 371 381 391 401 411
AAGACATCCCCGCTACTCCATCGCCAGCATTTATCGGATCCGACCATCACCATT
G*GATCC (BamHI)
pGEX
N S S Z L T D D L P
421 431 441 451
AGAATTTCATCTGACTGACTGACGATCTACCT
G*ATTC (EcoRI)

Fig. 6

【図 5 B】

10 20 30
HGV
HCV
HGV
HCV
HGV
HCV

lveskktptcaicvDatoDssiteedvalet
vvvtpqvvmgsaygfgyepggrvflvntwkskknpmgfsyDtrofDdtvtendirvae
2600 2610 2620 2630 2640 2650
40 50 60 70 80
elya---laadhpevrpkyasgtmtvtpgvpvgerycRsSgvitTsasNo-ltocyk
siygccdlapearqalkelterlyggpltnskgncggyrrcRsSgvitTsagNamlvitm
2660 2670 2680 2690 2700 2710
90 100 110 120 130 140
kvkaacervglknvslliaGDBcllicerpvodpsdalgralasyygacepsyhasldta
kasaacraaklgdctnlvGDBlvicesagtgdaslvftteamtrysapppgpppe
2720 2730 2740 2750 2760 2770

Fig. 5B

【図 7】

血清	JC	PNF2161	スポンジ-マール 2	RM001
GE 3-2 μg/1-μg	4 2 1 0.5	4 2 1 0.5	4 2 1 0.5	4 2 1 0.5
142.9	—	—	—	—
97.2	—	—	—	—
50	—	—	—	—
35.1	—	—	—	—
29.7	—	—	—	—
21.9	—	—	—	—

Fig. 7A Fig. 7B Fig. 7C Fig. 7D

【図 8】

血清	JC	スポンジ-マール 2	RM001	ボンソー染色
Y5-10 μg/1-μg	1.6 0.8 0.4 0.2	1.6 0.8 0.4 0.2	1.6 0.8 0.4 0.2	1.6 0.8 0.4 0.2
142.9	—	—	—	—
97.2	—	—	—	—
50	—	—	—	—
35.1	—	—	—	—
29.7	—	—	—	—

Fig. 8A Fig. 8B Fig. 8C Fig. 8D

【図 9】

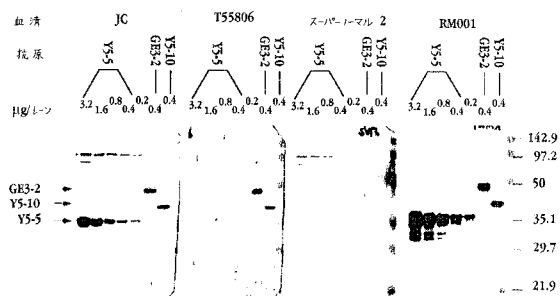
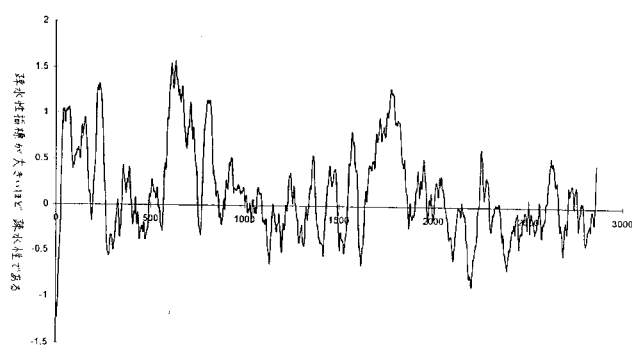


Fig. 9A Fig. 9B Fig. 9C Fig. 9D

【図 11】

アミノ酸位置
Fig. 11

【図 10】

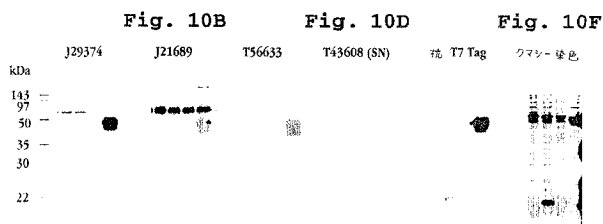


Fig. 10A Fig. 10C Fig. 10E

【図 12】

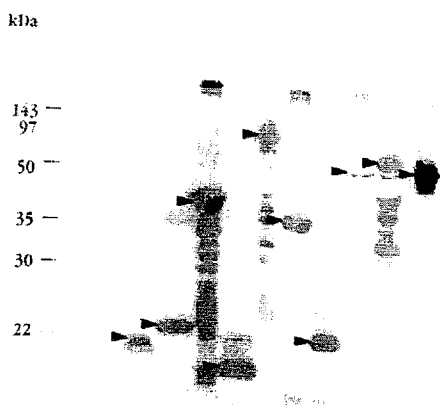


Fig. 12

【図 14】

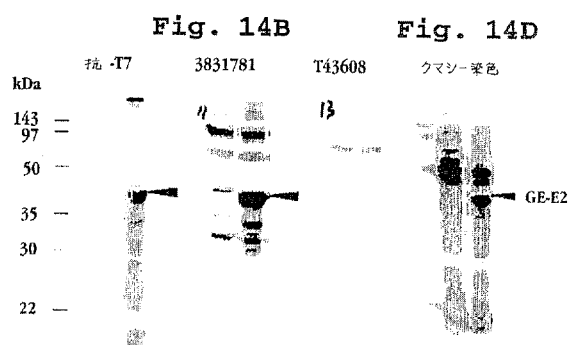


Fig. 14A

Fig. 14C

【図 13】

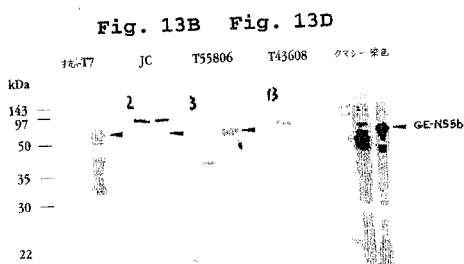
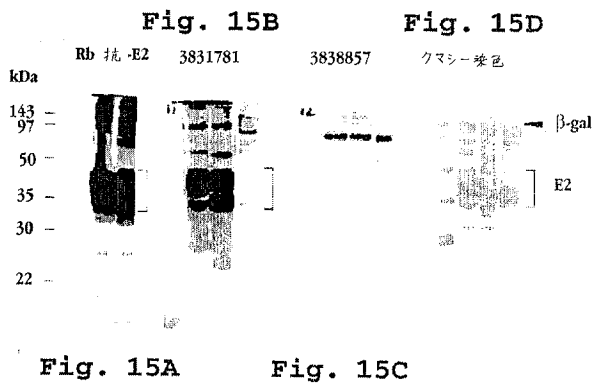


Fig. 13A Fig. 13C Fig. 13E

【図 15】



【図 16】

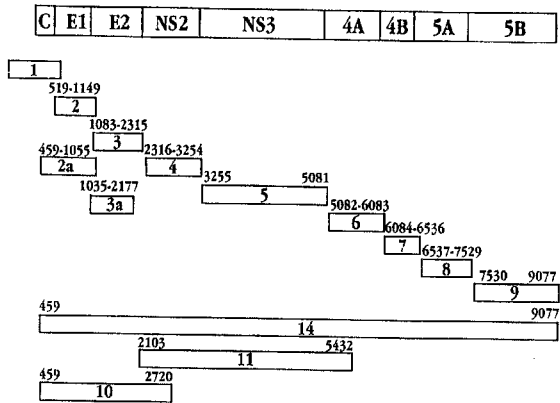


Fig. 16

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			F I			テーマコード (参考)
C 0 7 K	16/10	(2006.01)	C 0 7 K	16/10		4 H 0 4 5
C 0 7 K	16/40	(2006.01)	C 0 7 K	16/40		
C 1 2 N	9/38	(2006.01)	C 1 2 N	9/38		
C 1 2 N	9/10	(2006.01)	C 1 2 N	9/10		
C 1 2 P	21/02	(2006.01)	C 1 2 P	21/02	C	
C 1 2 Q	1/68	(2006.01)	C 1 2 Q	1/68	A	
C 1 2 Q	1/70	(2006.01)	C 1 2 Q	1/70		
G 0 1 N	33/569	(2006.01)	G 0 1 N	33/569	L	
C 1 2 P	21/08	(2006.01)	C 1 2 P	21/08		

(31)優先権主張番号 08/344,271

(32)優先日 平成6年11月23日(1994.11.23)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 08/357,509

(32)優先日 平成6年12月16日(1994.12.16)

(33)優先権主張国 米国(US)

(31)優先権主張番号 08/389,886

(32)優先日 平成7年2月15日(1995.2.15)

(33)優先権主張国 米国(US)

(72)発明者 ジャングシャー ピー. キム

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 6, パロ アルト, ガインダ ストリート 1 8 4 4

(72)発明者 カーク イー. フライ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 3, パロ アルト, ロス ロード 2 6 0 4

(72)発明者 ラボンネ マリー ヤング

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 3 0 6, パロ アルト, カレッジ アベニュー 1 4 5 0

(72)発明者 ジェフリー エム. リネン

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 4 0 4, フォスター シティ, カタマラン ストリート ナンバー 1 1 0 1 7

(72)発明者 ジョン ウェイジーズ

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 4 0 7 0, サン カルロス, チェリー ストリート ナンバー 6 1 2 4 4

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 AA14 BA33 BA51 CA04 CA05 CA06 CA07 CA09

CA11 DA02 DA06 EA02 EA04 FA02 FA10 GA01 GA11 GA18

GA19 HA03 HA08 HA12 HA14

4B050 CC05 DD01 FF14E LL03

4B063 QA01 QA18 QQ42 QQ52 QR08 QR32 QR35 QR39 QR42 QR55

QR62 QR66 QR79 QR82 QS10 QS12 QS16 QS25 QS28 QS34

QS36 QX02 QX07

4B064 AG27 AG33 CA02 CA10 CA19 CC24 CE12 DA13 DA15

4B065 AA96X AC20 CA44 CA46

4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 BA17 BA18 BA19 BA20 BA21

BA41 CA02 DA76 DA86 DA89 EA20 EA29 EA50 EA53 FA72

FA74 GA26

专利名称(译)	庚型肝炎病毒及其分子克隆		
公开(公告)号	JP2006115845A	公开(公告)日	2006-05-11
申请号	JP2005320175	申请日	2005-11-02
[标]申请(专利权)人(译)	基因实验室技术公司		
申请(专利权)人(译)	Jenerabusu Technologies公司		
[标]发明人	ジャングシャーピーキム カークイーフライ ラボンネマリーヤング ジェフリーエムリネン ジョンウェイジーズ		
发明人	ジャングシャー ピー. キム カーク イー. フライ ラボンネ マリー ヤング ジェフリー エム. リネン ジョン ウェイジーズ		
IPC分类号	C12N15/09 C12N7/00 C07K14/18 C07K19/00 C07K7/08 C07K16/10 C07K16/40 C12N9/38 C12N9/10 C12P21/02 C12Q1/68 C12Q1/70 G01N33/569 C12P21/08 G01N33/53 A61K A61K38/00 A61K39/29 C07K C12N C12N15/40 C12Q G01N G01N33/576		
CPC分类号	A61K38/00 A61P31/12 C07K14/005 C12N2770/24222		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12N7/00 C07K14/18 C07K19/00 C07K7/08 C07K16/10 C07K16/40 C12N9/38 C12N9/10 C12P21/02.C C12Q1/68.A C12Q1/70 G01N33/569.L C12P21/08 C12N15/00.A C12N15/00. AZN.A		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/AA14 4B024/BA33 4B024/BA51 4B024/CA04 4B024/CA05 4B024/CA06 4B024/CA07 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/FA10 4B024/GA01 4B024/GA11 4B024/GA18 4B024/GA19 4B024/HA03 4B024/HA08 4B024/HA12 4B024/HA14 4B050/CC05 4B050/DD01 4B050/FF14E 4B050/LL03 4B063/QA01 4B063/QA18 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR08 4B063/QR32 4B063/QR35 4B063/QR39 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR62 4B063/QR66 4B063/QR79 4B063/QR82 4B063/QS10 4B063/QS12 4B063/QS16 4B063/QS25 4B063/QS28 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX02 4B063/QX07 4B064/AG27 4B064/AG33 4B064/CA02 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA13 4B064/DA15 4B065/AA96X 4B065/AC20 4B065/CA44 4B065/CA46 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/BA17 4H045/BA18 4H045/BA19 4H045/BA20 4H045/BA21 4H045/BA41 4H045/CA02 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/DA89 4H045/EA20 4H045/EA29 4H045/EA50 4H045/EA53 4H045/FA72 4H045/FA74 4H045/GA26		
代理人(译)	夏木森下		
优先权	08/246985 1994-05-20 US 08/285543 1994-08-03 US 08/285558 1994-08-03 US 08/329729 1994-10-26 US 08/344271 1994-11-23 US 08/357509 1994-12-16 US 08/389886 1995-02-15 US		
其他公开文献	JP2006115845A5 JP4296174B2		

摘要(译)

要解决的问题：提供基本上分离的非A非B非C非D非戊型戊型肝炎病毒（HGV）形式。一种基本分离的非A非B非C非D非戊型戊型肝炎病毒（HGV），其中HGV可在灵长类动物中传播（i）ii）在血清学上不同于甲型肝炎病毒（HAV），乙型肝炎病毒（HBV），丙型肝炎病毒（HCV），丁型肝炎病毒（HDV）和戊型肝炎病毒（HEV），（iii）含有作为黄病毒科成员的多核苷酸，和（iv）在严格条件下与具有多个特定序列或显示为互补序列的多核苷酸杂交。 肝炎病毒为特征。 [选择图]无

特許庁 (P2006-111) (43) 公開日 平成18年5月11日 (2006.05.11)					
51) Int. Cl.		F I		テーマコード (参考)	
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00	Z N A A	4 B 0 2 4		
C 1 2 N 7/00 (2006.01)	C 1 2 N 7/00		4 B 0 5 0		
C 0 7 K 14/18 (2006.01)	C 0 7 K 14/18		4 B 0 6 3		
C 0 7 K 19/00 (2006.01)	C 0 7 K 19/00		4 B 0 6 4		
C 0 7 K 7/08 (2006.01)	C 0 7 K 7/08		4 B 0 6 5		
審査請求		有 請求項の数 22		O L	(全 337 頁) 最終頁
21) 出願番号	特願2005-320175 (P2005-320175)		71) 出願人	398055462	
22) 出願日	平成17年11月2日 (2005.11.2)			ジェネラプス テクノロジーズ, イン	
23) 分割の表示	特願平7-530387の分割			ボレイテッド	
原出願日	平成7年5月19日 (1985.5.19)			アメリカ合衆国 カリフォルニア 州	
31) 優先権主張番号	08/246, 985			6 3, レッドウッド シティ, ペノ	
32) 優先日	平成6年5月20日 (1994.5.20)			コット ドライブ 5 0 5	
33) 優先権主張国	米国 (US)		74) 代理人	100078282	
31) 優先権主張番号	08/285, 543			弁理士 山本 秀策	
32) 優先日	平成6年8月3日 (1994.8.3)		74) 代理人	100062409	
33) 優先権主張国	米国 (US)			弁理士 安村 高明	
31) 優先権主張番号	08/285, 558		74) 代理人	100113413	
32) 優先日	平成6年8月3日 (1994.8.3)			弁理士 森下 夏樹	
33) 優先権主張国	米国 (US)				
31) 優先権主張番号	08/329, 729				